مقاله پژوهشی

تاثیر ۸ هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا بر سطح فاکتور شبه‌هسته‌ای ۲ مشتق از اریتروئید۲ (Nrf2) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در موش‌های صحرایی نر چاق مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی

محمد هاشمی عزیزلی[۱]، فرهاد دریانوش[۲]*، هما شیخانی شاهین[۳]، علیرضا جوهری[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه ورزشی، موسسه آموزش عالی زند، شیراز، ایران

۲- دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، موسسه آموزش عالی زند، شیراز، ایران

٤- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

* نشانی نویسنده مسئول: ایران، استان فارس، شیراز، میدان ارم، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی

Email: shirazu.ac.ir

دریافت: ۱٤۰۱/٤/۲۹ پذیرش: ۱٤۰۱/٦/٦

چکیده

مقدمه و هدف: با افزایش بی‌تحرکی در دنیای مدرن امروزی، بسیاری از بیماری‌های متابولیکی ناشی از عدم فعالیت بدنی گسترش یافته‌اند. از جمله این بیماری‌های می‌توان به بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی اشاره کرد که با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است. هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا بر سطح فاکتور شبه‌هسته‌ای ۲ مشتق از اریتروئید ۲ (Nrf2) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در موش‌های صحرایی نر چاق مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) بود.

مواد و روش‌ها: در ابتدا موش‌های صحرایی در سن ٦ تا ۸ هفته به‌طور تصادفی به دو گروه سالم (n =۲۰) و بیمار (رژیم پرچرب (HFD)) (n =۲۰) تقسیم شدند. رژیم پرچرب به مدت ۸ هفته ادامه داشت تا موش‌های صحرایی مبتلا به NASH شوند. پس از القا بیماری، گروه بیمار به‌طور تصادفی به ۲ گروه بیمار – بی‌تحرک (n =۱۰)، بیمار – شنا (n =۱۰)، تقسیم شدند؛ هم‌چنین گروه سالم نیز به دو گروه سالم – بی‌تحرک (n =۱۰) و گروه سالم – شنا (n =۱۰) تقسیم گردیدند. تمرین HIIT شنا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت (سه روز در هفته به مدت هشت هفته) بود. در تمرین تناوبی، بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به میزان ۷ درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود و هر هفته ۱ درصد به آن اضافه شد. پروتئین Nrf2 از بافت کبد و از طریق تکنیک وسترن بلات و SOD از سرم خون اندازه‌گیری شدند. برای مشخص نمودن تفاوت میان گروه‌ها از آزمون آماری آنووای یکراهه و آزمون تعقیبی بونفرونی (P<۰/۰۵) استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج آنالیز آماری نشان داد در متغیر SOD، گروه بیمار بی‌تحرک نسبت به سالم بی‌تحرک و سالم – شنا کاهش معنادار (P<۰/۰۵) و گروه سالم – شنا نسبت به بیمار – شنا افزایش معنادار وجود داشت (P<۰/۰۵). در متغیر Nrf2 گروه سالم – بی‌تحرک نسبت به گروه‌های بیمار–بی‌تحرک و بیمار – شنا افزایش معنادار وجود داشت (P<۰/۰۵). هم‌چنین در گروه بیمار – شنا نسبت به بیمار – بی‌تحرک تغییر معناداری وجود نداشت (P>۰/۰۵) .

بحث و نتیجه‌گیری: تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا در بیماران مبتلا به NASH، می‌تواند بر سیستم آنتی‌اکسیدانی تاثیر مثبت داشته باشد با این وجود در این زمینه انجام پژوهش‌های دیگر ضروری است.

واژه‌های کلیدی: فاکتور شبه‌هسته‌ای ۲ مشتق از اریتروئید ۲، سوپراکسید دیسموتاز، تمرین ورزشی شنای تناوبی با شدت بالا، استئاتوهپاتیت غیرالکلی

مقدمه

کبدچرب غیرالکلی (NAFLD)[1] به‌عنوان شایع‌ترین علت بیماری مزمن کبدی در کشورهای پیشرفته شناخته شده است. شواهد نشان دادند که فراوانی NAFLD در افراد چاق ٤/٦ برابر بیشتر است و تا ٧٤ درصد این جمعیت، مبتلا به کبدچرب هستند (١). از طرف دیگر افزایش تجمع چربی باعث افزایش التهاب و استرس اکسیداتیو می‌شود. از جمله نشانه‌های بروز استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH)[2] افزایش استرس اکسیداتیو است که با کاهش عوامل آنتی‌اکسیدانی همراه است (٢،٣).

تولید بیش از حد ROS و استرس اکسیداتیو در NASH می‌تواند منجر به پراکسیداسیون لیپیدها، اختلال در اکسیداسیون میتوکندریایی و آزادسازی سایتوکاین‌ها شود که این امر می‌تواند باعث ایجاد التهاب و فعال شدن سلول‌های ماهواره‌ای شوند که این سلول‌ها باعث فیبروژنز خواهند شد (٤). علاوه بر این تولید گسترده ROS در NASH، عامل اکسیداسیون LDL خواهد شد، که این امر ممکن است باعث مهاجرت ماکروفاژها به داخل سلول‌های فوم۳ شوند که این عمل، اولین مرحله در تشکیل ضایعه آترواسکلروتیک است (٤،٥). بنابراین داده‌های تحقیقات گذشته نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو ناشی از ROS و التهاب ممکن است دلیل اصلی در پاتوژنز NASH باشد که متعاقباً می‌تواند با مرگ سلول‌های کبدی و آپوپتوز همراه باشند (٥). شواهد تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که اختلال عملکرد میتوکندریایی، کاهش آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی و التهاب نقش مهمی در استرس اکسیداتیو کبدی و توسعه NASH دارد (٥). چندین مطالعه نشان‌دهنده کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)[4]، کاتالاز (CAT)[5] و گلوتاتیون (GSH)[6] در NASH است (٦). دینگ و همکاران در سال ٢٠١٦ افزایش قابل توجهی در مقدار متوسط MDA و ROS را در کبد نشان دادند در حالی که فعالی SOD به طور قابل توجهی کاهش یافته بود (٧). به همین ترتیب کراوتبائر و همکاران در سال ٢٠١٣ نشان دادند که SOD در کبد موش‌های نر تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب کاهش می‌یابد (٨). سوپراکسید دیسموتاز یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها است که سوپراکسید آنیونی ($O^{2}\bullet$) را به پراکسید هیدروژن ($H2O2$)[7] و O^{2} تبدیل می‌کند. کاهش قابل توجهی از GSH، GR[8]، GPx، GST و SOD کبدی نیز قبلاً در گروه NAFLD گزارش شده بود. بنابراین کاهش سطح برخی از آنتی اکسیدان‌ها ممکن است دلیل اصلی پیشرفت NASH و آسیب بیشتر به کبد باشد (٥).

Nrf2 به عنوان یک عامل پایه برای دفاع آنتی اکسیدانی طبیعی محسوب می‌شود به‌طوری‌که وقتی این عامل در سلول-های اندوتلیال عروق حیوانات بیان شد، منجر به تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی این نوع سلول‌ها گردید. Nrf2 به‌وسیله ژن NFE2L2 کدگذاری می‌شود و باعث بیان پانصد ژن پایین دست مرتبط با عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌شود و عموما در نقش محافظتی ظاهر می‌شوند. Nrf2 وقتی با گونه‌های فعال اکسیژن روبرو می‌شود، از طریق مسیر Nrf2-ARE فعال می‌شوند و استرس اکسیداتیو را خنثی می‌کنند و موجب فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله SOD می‌شوند. از این‌رو این آنزیم‌ها باعث جلوگیری از التهاب می‌شوند و به بهبود عملکرد میتوکندریایی و تنفس سلولی کمک می‌کنند (٩). هم‌چنین Nrf2 باعث تعادل و تنظیم سوخت‌وساز می‌شود و به همئوستاز بدن کمک می‌کند. نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که Nrf2 با انجام ورزش منظم افزایش می‌یابد و در نتیجه می‌تواند به‌واسطه ورزش باعث جلوگیری از ابتلا به بیماری‌های متابولیکی شود (١٠). مطالعات نشان داده‌اند افرادی که سبک زندگی پرتحرک دارند نسبت به افراد بی‌تحرک از Nrf2 بیشتری برخوردارند و عملکرد آن در این افراد بالاتر است (١١). بی‌تحرکی موجب می‌شود مسیر سیگنال‌دهی Nrf2-KEAP1 مختل شود و باعث افزایش استرس اکسیداتیو سلول شود (١٢). اما با افزایش فعالیت بدنی این روند معکوس می‌شود. با توجه به گزارش پژوهش‌های قبلی می‌توان گفت که سبک زندگی فعال باعث افزایش عملکرد Nrf2 و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود (١٣). هم‌چنین به بهبود عملکرد تنفس میتوکندری سلولی منجر می‌شود. هم‌چنین در اثر سازگاری تمرین استقامتی پروتئین Nrf2 باعث بهبود ظرفیت تنفسی و میزان تولید ATP در طول ورزش را افزایش می‌دهد (١٤).

بر اساس تجزیه و تحلیل اخیر یاناسی و همکاران به‌نظر می‌رسد، NASH بار کلینیکی و اقتصادی قابل توجهی را برای اقتصاد ایالات متحده و اروپا به همراه دارند و توجه پزشکان،

1. Non-alcoholic fatty liver disease
2. Non-alcoholic steatohepatitis
3. Foam cells
4. Superoxide dismutase
5. Catalase
6. Glutathione
7. Hydrogen peroxide
8. Glutathione reductase

محققان و سیاست‌گذاران بهداشت را بیش از قبل به خود جلب کرده است (۱۵). برای مقابله با این شرایط مهم و بسیار شایع، درمان‌های NASH بسیار ضروری به‌نظر می‌رسند (۱۶). خوشبختانه NASH از جمله بیماری‌هایی است که قابل بازگشت هستند، خصوصاً قبل از این‌که به فیبروز پیشرفته و سیروز تبدیل و تثبیت شوند. در زمینه درمان این بیماری، محققان بر کاهش وزن اتفاق نظر دارند زیرا کاهش شاخص توده بدن (BMI)[1] به میزان ۵ درصد با کاهش نسبی ۲۵ درصدی چربی کبد همراه است (۱۷). از جمله استراتژی‌های مختلف درمانی بر پایه کاهش وزن، مداخلات رژیم غذایی، فعالیت‌ورزشی، گزینه‌های دارویی و هم‌چنین عمل‌های جراحی چاقی هستند. یکی از استراتژی‌های موفق و راهبردی درمان NASH، فعالیت بدنی و ورزش است (۱۶). فعالیت‌ورزشی باعث کاهش جذب اسیدچرب آزاد کبدی و کاهش تری‌گلیسیرید درون‌کبدی (IHTG)[2] می‌شود (۱۸). انواع مختلف فعالیت ورزشی (تمرینات تداومی در مقابل تمرینات مقاومتی در مقابل تمرینات تناوبی) و پروتکل‌های تمرینی که شامل متغیرهای تمرینی از جمله تکرار، مدت و شدت تمرینات است، ممکن است تأثیرات متفاوتی در بهبود چربی کبد و فیبروز داشته باشد، از این‌رو تحقیقات انجام شده تلاش کرده‌اند تا بهترین نوع تمرین و دوز تمرینی را برای کاهش محتوای چربی کبد، معکوس کردن روند پیشرفت NASH یا بهبود فیبروز را مشخص کنند که تا به‌حال به این هدف نائل نشده‌اند (۱۹). رهنمودهای متداول انجمن مطالعه بیماری‌های کبدی در آمریکا یادآور می‌شود که فعالیت‌ورزشی به تنهایی می‌تواند استئاتوز کبدی را بهبود بخشد اما تأثیرات آن بر NASH کمتر مشخص شده است (۱۹). اکثر مطالعات درمورد تاثیرات ورزش تداومی نسبت به نوع مقاومتی و تناوبی در کاهش چربی کبد پرداخته‌اند (۲۰).

از سوی دیگر اکثر پژوهش‌ها بر تمرینات ورزشی در خشکی متمرکز شده‌اند و و نتایج ضدو نقیضی از تاثیر این نوع تمرینات بر بهبود استرس اکسیداتیو در بیماران NASH گزارش کرده‌اند. از طرف دیگر پژوهش‌های بسیار اندکی درباره تاثیر محیط آبی و شنا بر میزان بهبود نشانگرهای استرس اکسیداتیو در بیماران NASH وجود دارند (۲۱). در همین راستا مارتینز و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی رت‌های نر جوان سالم پژوهشی انجام دادند و نشان دادند که تمرینات روزانه شنا با شدت متوسط با کاهش پراکسیداسیون لیپید و نشانگرهای استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان GPX همراه است (۲۲). زلبر و همکاران (۲۰۱۰)، بر اساس مطالعه‌ای به رت های مبتلا به کبدچرب غیرالکلی دوازده هفته تمرین استقامتی منظم شنا دادند. آن‌ها بعد از دوازده هفته مشاهده کردند که سطح پلاسمایی TNF-α کاهش یافته است. با این‌حال طی جستجوهای فراوان پژوهش‌های بسیار اندکی در زمینه تاثیر تمرینات آبی بر بهبود نشانگرهای استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی وجود دارد و هم‌چنین مکانیسم‌های سلولی و مولکولی اثرات بهبوددهنده چند عاملی فعالیت ورزشی به خصوص در محیط آبی بر NASH هم‌چنان مورد بحث است و ناشناخته مانده است (۲۰). از این‌رو به مطالعات بیشتری در زمینه بررسی نقش‌های خاص تمرین ورزشی در محیط آبی در شبکه‌های متابولیکی و مسیرهای سیگنالینگ اصلی مورد بحث، نیاز است. لذا محققان تحقیق حاضر به‌دنبال تاثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا بر سطح فاکتور شبه هسته‌ای ۲ مشتق از اریتروئید ۲ (Nrf2) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در موش‌های صحرایی نر چاق مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) بودند.

روش‌شناسی

روش تحقیق مورد استفاده در این پژوهش از نوع تجربی می‌باشد. در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر (سن: ۶ تا ۸ هفته) از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزن ۲۰±۲۳۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. ۲۰ سر موش صحرایی سالم از این ۴۰ سر، به دو گروه سالم-بی‌تحرک (C) و سالم-شنا (SH) تقسیم شدند. در ادامه، ۲۰ سر موش صحرایی دیگر از این نمونه آماری به بیماری کبد چرب غیرالکلی دچار شدند. بعد از ۸ هفته که این تعداد موش‌های صحرایی به بیماری کبد چرب غیرالکلی دچار شدند، آن‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه بیمار-بی‌تحرک (CD) و گروه بیمار-شنا (SD) تقسیم شدند. اصول اخلاقی (IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008) مطالعه مطابق با اصول

1. Body mass index
2. Intrahepatic triglycerides

کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

رژیم امولسیون پرچرب، که ۷۷ درصد از چربی، ١٤ درصد از پروتئین و ۹ درصد از کربوهیدرات‌ها است، تشکیل شد. در این امولسیون، پروتئین‌ها توسط پودر شیر خشک، کربوهیدرات‌ها توسط ساکاروز و چربی توسط روغن ذرت و کلسترول تأمین شدند. هر وعده با مخلوطی از ویتامین و مواد معدنی تکمیل شد. این امولسیون در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد ذخیره، در حمام آب با دمای ٤٢ درجه سانتیگراد گرم و قبل از استفاده کاملاً میکس و مخلوط شد. در گروه رژیم پرچرب علاوه بر غذای روزانه استاندارد جوندگان، به‌صورت خوراکی و توسط تکنیک گاواژ، موش‌های صحرایی با امولسیون پرچرب (۱۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم) یک‌بار در روز تحت درمان قرار گرفتند. به موش‌های صحرایی گروه سالم نیز از طریق تکنیک گاواژ، روزانه مقدار مساوی محلول نمک (سالین) داده شد. این شیوه تغذیه‌ای به‌مدت هشت هفته ادامه داشت تا بر اساس مقالات پیشینه موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی پیشرفته (NASH) شدند (۲۳).

در پژوهش حاضر، همه موش‌های صحرایی به‌مدت یک هفته مرحله آشنایی با استخر حیوانات (قطر ١٦٠ سانتی و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) را قبل از شروع تمرین اصلی گذراند (٢٤). در روز اول موش‌های صحرایی با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب ۵۰ سانتی‌متر و میانگین دمای ۰/۵±۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت ۵ دقیقه شنا کردند. در جلسات بعد که موش‌های صحرایی به‌خوبی با استخر حیوانات آشنا شدند؛ برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، چندین بار بعد از یک دقیقه شنا به‌وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده و دوباره در آب قرار داده شدند. بعد از گذشت ٤٨ ساعت از زمان آخرین جلسه آشنایی، موش‌های صحرایی گروه تمرین، تمرین HIIT شنا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. این برنامه ورزشی به‌مدت هشت هفته (سه روز در هفته، یک روز در میان) انجام شد. در تمرین تناوبی بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به‌میزان ۷ درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود و هر هفته ۱ درصد به آن اضافه شد؛ به‌طوری‌که در هفته آخر (هشتم) موش‌های صحرایی با وزنه‌ای به‌میزان ١٤ درصد وزن بدن خود که به ریشه دم آن‌ها بسته شد، شنا کردند (جدول۱) (۲۵). تمرینات، عصرهنگام (بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیتی طبیعی موش‌های صحرایی) انجام شد (٢٦). در مدت دوره تداخل، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس نمونه خونی از آن‌ها گرفته شد و پس از جداسازی سرم از آن‌ها برای سنجش‌های بعدی با دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد. با استفاده از روش آزمایشگاهی الایزا SOD سرم اندازه‌گیری شد. جداسازی سرم بدین شکل بود که پس از بیهوشی و نمونه‌گیری از قلب موش صحرایی به‌میزان ۵ میلی‌لیتر؛ بلافاصله آن‌را در داخل لوله آزمایش ژل کلات اکتیویتر انتقال داده و سپس توسط سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن توسط سمپلر به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتر سرم خون منتقل شد و برای آنالیز نهایی در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری SOD از کیت Rat SOD به شماره کاتالوگ ZB-SOD-96A، از شرکت ZellBio GmbH ساخت کشور آلمان استفاده شد. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری پروتئین بافتی، بافت کبد پس از جداسازی، در محلول نرمال سالین شستشو داده شد و بلافاصله در تانک ازت در دمای منهای ١٩٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس جهت انجام تکنیک وسترن بلات و آنالیزهای نهایی پروتئین Nrf2، به آزمایشگاه منتقل شد. به‌طور کلی مراحل انجام تکنیک وسترن بلات به‌ترتیب شامل لیزکردن بافت، تعیین غلظت پروتئین به‌وسیله بردفورد، تهیه غلظت‌های مختلف BSAبرای کشیدن منحنی استاندارد، غلظت‌های پروتئین، آب و سمپل بافر، آماده سازی نمونه، ساخت الکتروفورز بر روی ژل SDS page، تهیه محلول‌ها، روش انجام آزمایش و ساختن ژل پایین و بالا، الکتروفورز بر ژل SDS page، وسترن بلات یا ایمنوبلاتینگ، مرحله انتقال از ژل به کاغذ، مرحله بلاکینگ، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی اولیه (Nrf2 (A-10): sc-365949 ،β-Actin (C4): sc-47778)، مرحله انکوبه‌کردن با آنتی‌بادی ثانویه (m-IgGκ BP-HRP: sc-

mouse anti-rabbit IgG-HRP: sc-2357 ،516102)، مرحله آشکارسازی، ظهور فیلم در تاریک‌خانه، روش Striping بود.

روش‌های آماری

در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی، میانگین، انحراف معیار و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی اطلاعات جمع‌آوری شده برای تعیین نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. در صورت طبیعی‌بودن یافته‌ها، از روش تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در صورت معنادار بودن تفاوت‌ها، از آزمون تعقیبی بونفرونی برای تعیین محل دقیق تفاوت‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد. کلیه روش‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel2019 کمک گرفته شد.

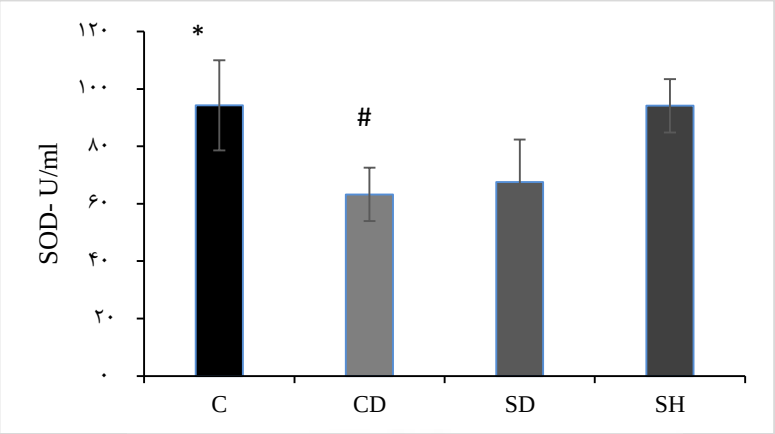
جدول ۱. پروتکل تمرینی شنا با شدت بالا (یک روز در میان)

	تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)
هفته اول	۲۰	۳۰	۳۰	۷
هفته دوم	۲۰	۳۰	۳۰	۸
هفته سوم	۲۰	۳۰	۳۰	۹
هفته چهارم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۰
هفته پنجم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۱
هفته ششم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۲
هفته هفتم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۳
هفته هشتم	۲۰	۳۰	۳۰	۱٤

در نمودار ۱ میانگین ± انحراف استاندارد وزن گروه‌های آزمایش طی دوره تداخل تمرینی در گروه‌های مختلف در هفته‌های اول تا یازدهم ارائه شده است. هفته‌های یک و دو سازگاری با آب و هفته‌های سه تا ده دوره تمرین اصلی و هفته یازدهم وزن کشی نهایی و کشتار رت‌ها بودند.

نمودار ۱. میانگین ± انحراف استاندارد وزن گروه‌های آزمایش طی دوره تداخل تمرینی

همان‌گونه که در نمودار ۲ مشخص است؛ بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، می‌توان گفت تفاوت معناداری بین میانگین متغیر SOD (F(۳،۲۰) =۱٤/۰۳۳، P<۰/۰۵) وجود داشت. با توجه به نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی این تفاوت‌ها در متغیر SOD، بین گروه‌های (CD-C)، (CD-SH)، (SH-SD)، (P<۰/۰۵) بود. با این‌حال میزان SOD سرم خون در گروه بیمار-شنا نسبت به گروه بیمار-بی‌تحرک به میزان ٦/۸۵۹ درصد بالاتر بود.



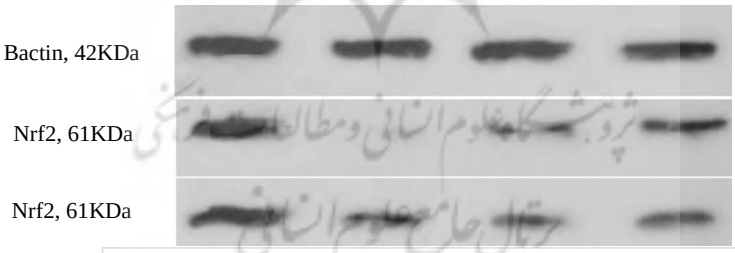
نمودار ۲. سطح سرمی SOD در میان چهار گروه

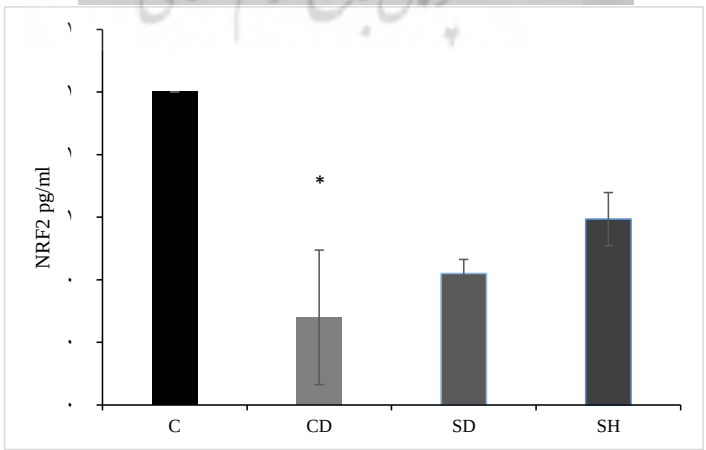
* تفاوت معنادار بین گروه بیمار-بی‌تحرک (CD) با سالم-بی‌تحرک (C) و سالم-شنا (SH)

تفاوت معنادار بین گروه بیمار-شنا (SD) با سالم-شنا (SH)- (p<۰/۰۵)

با توجه به نمودار ۳، تفاوت معنادار در متغیر Nrf2 (F(۳،٤) =۷/۱۳۸ ،P<۰/۰۵) در هر چهار گروه وجود دارد. با توجه به نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی درمی‌یابیم این متغیر، بین گروه‌های (C-CD)، (C-SD) تفاوت معناداری دارد (P<۰/۰۵).

هم‌چنین با توجه به میانگین‌ها درمی‌یابیم که ۳۳/۳۳ درصد افزایش در پروتئین Nrf2 در گروه بیمار-شنا نسبت به بیمار بی‌تحرک بوده است.





نمودار۳. سطح پروتئین Nrf2 بین ٤ گروه

* تفاوت معنی‌دار بین گروه سالم بی‌تحرک با بیمار بی‌تحرک، بیمار شنا (p<۰/۰۵)

بحث

در مطالعه حاضر تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا باعث افزایش SOD در گروه‌های تمرین نسبت به گروه بیمار- بی‌تحرک بود؛ به‌طوری‌که در گروه سالم-شنا افزایش معنادار و در گروه بیمار-شنا نسبت به بیمار- بی‌تحرک تغییر معناداری وجود نداشت. هم‌چنین Nrf2 در گروه بیمار-شنا نسبت به گروه بیمار-بی‌تحرک تغییر معناداری وجود نداشت. همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌توان به پژوهش اسکندری و همکاران در سال ۲۰۱٦ اشاره کرد. آن‌ها اثر هشت هفته تمرین بی‌هوازی افزایشی بر سطح سرمی آنزیم‌های SOD و CAT رت‌ها را مورد بررسی قرار دادند. در پایان نتایج آنالیز آن‌ها نشان داد که این مدل تمرینات باعث افزایش در سطح سرمی SOD شد (۲۷). عالویی و همکاران (۲۰۱۷)، اثر تمرین استقامتی با مکمل برگ‌های بابونه، بر فعالیت SOD و سطح MDA کبدی موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو بررسی کردند. در پایان آن‌ها دریافتند که سطح مالون‌دی‌آلدهید در گروه تمرین+ مکمل بابونه به اندازه‌ای کاهش معنادار یافته بود که هم‌سطح گروه سالم-تمرین شده بود. هم‌چنین SOD کبدی نیز در این گروه افزایش یافته بود. هم‌چنین در گروه تمرین بدون مصرف مکمل نیز همین نتایج بدست آمد با این وجود به اندازه تمرین+مکمل نبود. در پایان آن‌ها نتیجه گرفتند که تمرینات به همراه مصرف مکمل بابونه ممکن است بر بهبود عملکرد اکسایشی این بیماران تاثیر مثبت داشته باشد (۲۸). در پژوهش حاضر سطح SOD در گروه بیمار-شنا، نسبت به بیمار-بی‌تحرک افزایش داشت اما معنادار نبود. از جمله دلایل تناقض نتایج تحقیق حاضر با تحقیق یادشده می‌توان به نوع بیماری (دیابت نوع یک در برابر استئاتوهپاتیت غیرالکلی)، نوع تمرین (هوازی فزاینده طولانی‌مدت خشکی در برابر تناوبی پرشدت شنا) و هم‌چنین مصرف دائم رژیم غذایی پرچرب در تمام طول دوره تحقیق توسط موش‌های بیمار اشاره کرد؛ این در حالی است که تحقیق یاد شده از غذای پرچرب استفاده نکردند. در این رابطه حسینی و همکاران (۲۰۱۸)، طی پژوهشی تاثیر یک دوره تمرین شنا بر ظرفیت اکسایش موش‌های صحرایی نر بالغ مورد ارزیابی قرار دادند. در پایان پس از ارزیابی نهایی از سطح سرمی آن‌ها، دریافتند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی رت‌های گروه تمرین شنا نسبت به کنترل افزایش یافته بود (۲۹). با این‌حال نوناتا و همکاران (۲۰۱٦)، هیچ‌گونه تفاوتی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام غیرآنزیمی در مغز موش‌ها پس از تمرینات شنا مشاهده نکردند و نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد تمرینات شنا باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام غیرآنزیمی در مغز موش‌ها نمی‌شود (۳۰). هم‌چنین برخی مطالعات گزارش کرده‌اند تمرین شنا اثری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در کبد و عضله اسکلتی ندارد (۳۱). برخی محققان بیان کردند اسید آسکوربیک، آلفا توکوفرول، پروتیین‌ها و بیلی‌روبین از عوامل اصلی کمک‌کننده به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما هستند. بنابراین در صورتی‌که تمرین بتواند منجر به تغییر عوامل فوق گردد، تغییر در سطوح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما ممکن می‌شود؛ هرچند یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر، عدم اندازه‌گیری عوامل فوق برای شفاف‌تر شدن نتایج بود (۳۲). ناظم و همکاران (۲۰۱۵)، در پژوهشی اثر هشت هفته تمرین استقامتی را روی سوپراکسیددیسموتاز و استرس اکسیداتیو لیپیدی در رت‌های مبتلا به دیابت نوع یک بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که فعالیت ورزشی هوازی باعث کاهش در فشار اکسایشی می‌شود (۳۳). در مطالعه‌ای دیگر پیری و همکاران (۲۰۱۲)، اثر دو هفته ورزش هوازی بر عوامل آنتی‌اکسیدانی درون کبد رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو بررسی کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که ورزش هوازی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود (۳٤). از سوی دیگر Nrf2 یک عامل رونویسی است که دارای دومین زیپ لوسین است که تولید عوامل بالادستی پروتئین‌های آنتی اکسیدانی را کنترل می‌کند. نقش این پروتئین آنتی‌اکسیدان آن است که از تخریب اکسیداتیو سلولی در اثر التهاب یا صدمه به سلول‌ها از طریق افزایش پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کند و باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی شود. فعالیت ورزشی از طریق افزایش بیان ژن‌های Nrf-2 در هسته سلول‌ها منجر به افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند هم اکسیژناز (HO-1)، NADQO1، گلوتاتیون ترانسفراز (GST)، تیورودوکسین ردوکتاز (TXNRD1) می‌شود، علاوه بر این از پراکسیداسیون اسیدچرب جلوگیری می‌کند که می‌تواند آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو را در سلول‌ها و بافت‌ها کاهش دهد. علاوه بر این، فعالیت ورزشی از طریق افزایش بیان مسیر Nrf-2 منجر به سرکوب فعالیت NF-kβ از طریق مهار فسفوریلاسیون IKK-α می‌شود که می‌تواند از فسفریلاسیون IκBα و تولید پروتئین‌های ٤- هیدروکسی نونال (HNE-4) جلوگیری کرده و

از شدت استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به NAFLD و NASH بکاهد (۳۵). پینگ وانگ و همکاران (۲۰۱۶)، به بررسی اثر ورزش حاد بر سیگنال‌دهی فاکتور اکسایشی فاکتور ۱ (Ref1) و عامل هسته‌ای اریتروئید ۲ (Nrf2) و ارتباط با تولید آب اکسیژنه در اندامک میتوکندری و مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی در عضلات اسکلتی پرداختند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که تولید آب اکسیژنه بر اثر ورزش تک جلسه‌ای در اندامک میتوکندری در بافت عضله اسکلتی در موش ارتباط نزدیکی با تنظیم مثبت سیگنال‌دهی Ref1/Nrf2 دارد. در پایان آن‌ها نتیجه گرفتند که مسیر و تقویت اجزای دفاعی آنتی‌اکسیدانی، از جمله GSH و MnSOD باعث فعال‌سازی مسیرهای دفاعیRef1/Nrf2 آنتی اکسیدانی می‌شود و ممکن است باعث جلوگیری از استرس اکسیداتیو سلولی در طول ورزش حاد شود (۱۱). مندازو و همکاران (۲۰۱۹)، طی انجام یک مرور نظامند به بررسی تأثیر شیوه‌های مختلف فعالیت ورزشی بر پاسخ متابولیک آنتی‌اکسیدانی هدایت‌شده توسط Nrf2 پرداختند. آن‌ها بیان کردند که در طول فعالیت ورزشی، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) افزایش می‌یابد. بنابراین، اگر دفاع آنتی اکسیدانی درون‌زا و برون‌زا قادر به کنترل افزایش ROS نباشند، استرس اکسیداتیو ایجاد شده باعث فعال شدن فاکتور رونویسی Nrf2 برای القای پاسخ آنتی‌اکسیدانی می‌شود. بر اساس نتایج آن‌ها می‌توان این احتمال را داد که یکی از دلایل افزایش Nrf2 در گروه‌های تمرین (سالم و بیمار) افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از شدت بالای فعالیت ورزشی تحقیق حاضر بوده است که طی هشت هفته تمرین به یک افزایش در سازگاری رسیده است (۱۰). کیانیو و همکاران (۲۰۱۹)، مطالعه‌ای را با هدف بررسی مکانیسم‌های مولکولی اثرات بهبود تمرین هوازی مزمن بر استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH) در عضله اسکلتی موش صحرایی انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد فعالیت ورزشی هوازی طولانی مدت باعث افزایش Nrf2 و SOD و درنهایت موجب ارتقا دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود. هم‌چنین آن‌ها نتیجه گرفتند به‌دنبال یک دوره فعالیت ورزشی هوازی، تری‌گلیسرید درون کبدی در این بیماران کاهش می‌یابد (۳۶). افراد دارای کبد چرب، دچار استرس اکسیداتیو بالایی به همراه افزایش قندخون می‌شوند. در این حالت دفاع آنتی اکسیدانی طبیعی بدن مختل شده و تولید رادیکال‌های آزاد از جمله اکسیژن یکبار منفی افزایش می‌یابد و این عامل باعث آسیب بیشتر به غشا سلول‌های کبدی می‌شود و عملکرد آن‌ها را مختل می‌کند. از جمله دلیل‌های کاهش پروتئین Nrf2 در آزمودنی‌های بیمار و بی‌تحرک کاهش شدید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدن بود و از طرفی چون مالون‌دی‌آلدهید افزایش یافته بود می‌توان نتیجه گرفت که استرس اکسیداتیو در این بیماران بالا بوده است. با ادامه این روند انسولین کاهش یافته و باعث بیش‌فعالی آنزیم آسیل چرب کوآنزیم A اکسیداز می‌شود. این آنزیم باعث افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از لیپید می‌شود؛ درنتیجه عملکرد غشا سلول مختل می‌شود. به غشا آسیب می‌رسد و محتوای سلول به درون گردش خون رها می‌شوند. هم‌چنین با آسیب به غشا گیرنده‌ها کاهش می‌یابند یا تضعیف می‌شوند و در نتیجه سیگنالینگ درون سلولی مختل می‌شود. حال آن‌که پژوهش‌های پیشین نشان داده است که تمرینات HIIT باعث بهبود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدن می‌شود و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (۳۷). همسو با نتایج پژوهش گونزالز و همکاران، نتایج پژوهش حاضر نیز در گروه‌های سالم شنا و بیمار شنا افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی طبیعی و کاهش استرس اکسیداتیو را نشان داد. کوسکان و همکاران در سال ۲۰۰٤ طی پژوهشی به این نتیجه رسیدند که ورزش منظم با شدت‌های متوسط یا شدید می‌تواند سلول‌های بتای پانکراس را افزایش دهد، مقدار انسولین و عملکرد آن‌را افزایش دهد و هم‌چنین استرس اکسیداتیو در این سلول‌ها را کاهش دهد (۳۸). هم‌چنین با انجام فعالیت ورزشی آنزیم LDH افزایش می‌یابد و باعث جلوگیری از عملکرد مالون‌دی‌آلدهید می‌شود و در نتیجه استرس اکسیداتیو کاهش می‌یابد (۵).

مکانیسم احتمالی دیگر مسیرهای مربوط به پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK) می‌باشد. MAPK متشکل از سه قسمت اصلی ERK، P38kinase و JNK است که در کنترل برخی از فرآیندهای سلولی مانند تکثیر، تمایز و آپوپتوز نقش دارد. در میان این فاکتورها، P38 Kinase یکی از مسیرهای اصلی سیگنالینگ است که در پاسخ به استرس اکسیداتیو نقش دارد. مطالعات نشان داده‌اند که بی‌تحرکی می‌تواند محصولات اکسیدکننده مانند مالون‌دی‌آلدهید را افزایش داده، نسبت GSH / GSSG را کاهش داده و مسیر P38MAPK را تحریک کند. فعالیت ورزشی هم‌چنین تأثیر مستقیمی بر متیلاسیون ژن P38 MAPK دارد که بیان آن را کاهش می‌دهد و بنابراین مانع استرس اکسیداتیو و آپوپتوز سلولی می‌شود؛ بنابراین، سرکوب

P38 MAPK می‌تواند تولید ROS را در بیماری NAFLD و NASH کاهش دهد (۳۹). با این‌حال دلایل و مکانیسم‌های بیوشیمیایی ذکر شده در بالا می‌تواند از دلایل احتمالی افزایش Nrf2 و SOD به‌دنبال تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا در آب باشد. از طرف دیگر از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به کنترل کامل استرس رت‌ها در حین بیهوشی جهت تشریح اشاره کرد، یا این وجود بر اساس پروتکل اصول اخلاق در پژوهش؛ بیهوشی و تشریح رت‌ها انجام شد.

نتیجه‌گیری

در پایان باید گفت ورزش شنای تناوبی با شدت بالا بر اساس پروتکل مورد تحقیق در پژوهش حاضر می‌تواند باعث بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدن از جمله سوپراکسیددیسموتاز و Nrf2 شود و می‌تواند برای بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی مفید باشد. با این‌حال چون روی حیوان آزمایش شده است برای حصول نتایج قطعی می‌بایست مطالعه روی انسان نیز انجام شود.

منابع

1. Vernon G, Baranova A, Younossi Z. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *AP&T*. 2011;34(3):274-85.
2. Roeb E, Geier A. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH)–current treatment recommendations and future developments. *ZFG*. 2019;57(04):508-17.
3. Rosato V, Masarone M, Dallio M, Federico A, Aglitti A, Persico M. NAFLD and extra-hepatic comorbidities: current evidence on a multi-organ metabolic syndrome. *IJERPH*. 2019;16(18):3415.
4. Polimeni L, Del Ben M, Baratta F, Perri L, Albanese F, Pastori D, et al. Oxidative stress: New insights on the association of non-alcoholic fatty liver disease and atherosclerosis. *WJH*. 2015;7(10):1325.
5. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. *EJSS*. 2019;19(7):994-1003.
6. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. *APB*. 2019;125(2):142-9.
7. Ding C, Zhao Y, Shi X, Zhang N, Zu G, Li Z, et al. New insights into salvianolic acid A action: Regulation of the TXNIP/NLRP3 and TXNIP/ChREBP pathways ameliorates HFD-induced NAFLD in rats. *SR*. 2016;6:28734.
8. Krautbauer S, Eisinger K, Lupke M, Wanninger J, Ruemmele P, Hader Y, et al. Manganese superoxide dismutase is reduced in the liver of male but not female humans and rodents with non-alcoholic fatty liver disease. *EMP*. 2013;95(3):330-5.
9. Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional regulation by Nrf2. *A&RS*. 2018;29(17):1727-45.
10. Vargas-Mendoza N, Morales-González Á, Madrigal-Santillán EO, Madrigal-Bujaidar E, Álvarez-González I, García-Melo LF, et al. Antioxidant and Adaptative Response Mediated by Nrf2 during Physical Exercise. *ANTIGE*. 2019;8(6):196.
11. Wang P, Li CG, Qi Z, Cui D, Ding S. Acute exercise stress promotes Ref1/Nrf2 signalling and increases mitochondrial antioxidant activity in skeletal muscle.EP. 2016;101(3):410-20.
12. Li T, He S, Liu S, Kong Z, Wang J, Zhang Y. Effects of different exercise durations on Keap1-Nrf2-ARE pathway activation in mouse skeletal muscle. *FRR*. 2015;49(10):1269-74.
13. Ostrom EL, Valencia AP, Marcinek DJ, Traustadóttir T. High intensity muscle stimulation activates a systemic Nrf2-mediated redox stress response. *FRBM*. 2021;172:82-9.
14. Done AJ, Traustadóttir T. Nrf2 mediates redox adaptations to exercise. *RB*. 2016;10:191-9.
15. Younossi ZM, Blissett D, Blissett R, Henry L, Stepanova M, Younossi Y, et al. The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe. *HPTLD9*. 2016;64(5):1577-86.
16. Brunner KT, Henneberg CJ, Wilechansky RM, Long MT. Nonalcoholic fatty liver disease and obesity treatment. *COR*. 2019;8(3):220-8.
17. Patel NS, Doycheva I, Peterson MR, Hooker J, Kisselva T, Schnabl B, et al. Effect of weight loss on magnetic resonance imaging estimation of liver fat and volume in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *CGH*. 2015;13(3):561-8. 18. Marchesini G, Petta S, Dalle Grave R. Diet, weight loss, and liver health in nonalcoholic fatty liver disease: Pathophysiology, evidence, and practice. *HPTLD9*. 2016;63(6):2032-43.
19. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *HPTLD9*. 2018;67(1):328-57.
20. Zelber-Sagi S, Buch A, Yeshua H, Vaisman N, Webb M, Harari G, et al. Effect of resistance training on non-alcoholic fatty-liver disease a randomized-clinical trial. *WJG*. 2014;20(15):4382.
21. Nagle EF, Sanders ME, Franklin BA. Aquatic high intensity interval training for cardiometabolic health: benefits and training design. *AJLM*. 2017;11(1):64-76.
22. Martins RR, de Oliveira Macedo UB, Leite LD, Rezende AA, Brandão-Neto J, Almeida MdG. Lipoic acid and moderate swimming improves the estrous cycle and oxidative stress in Wistar rats. *APNM*. 2011;36(5):693-7.
23. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis.*LS*. 2006;79(11):1100-7.

24. Farzanegi P, habibian m, alinejad h. The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with Chronic Kidney Disease.*JAUMS*. 2016;19(3):62-70. [In Persian]
25. Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Guerra Martinez C, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, et al. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *PloS one*. 2015;10(6):e0131766.
26. Shafiee A, Gaeini A, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats.*JAUMS*. 2014;17(3):26-34. [In Persian]
27. Skandari M, Nazemzadegan GH, Daryanosh F, Samadi M, Honarpisheh S, Hasanpor M. Comparative effect of single bout of continuous endurance and high intensity interval exercise on serum BDNF in rat. *KAUMS (FEYZ)*. 2016;20(2):141-6. [Persian]
28. Alouie A, Zehsaz F, Pouzesh Jadidi R. Effect of endurance exercise with chamomile recutita leaves extract on liver superoxide dismutase activity and malondialdehyde levels in type 1 diabetic rats.RM. 2017;40(4):165-71. [In Persian]
29. Mohammad Hosseini F, Hosseini SA, Ahmadi M. The effect of a period of swimming training and chamomile extract on antioxidant status in adult male rats. *QUMSJ*. 2018;12(6):10-9. [In Persian]
30. Nonato L, Rocha-Vieira E, Tossige-Gomes R, Soares A, Soares B, Freitas D, et al. Swimming training attenuates oxidative damage and increases enzymatic but not non-enzymatic antioxidant defenses in the rat brain. *BJMBR*. 2016;49.
31. Casimiro-Lopes G, Ramos D, Sorenson MM, Salerno VP. Redox balance and mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase activity in trained rats. *EJAP*. 2012;112(11):3839-46.
32. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *ABJ*. 1996;239(1):70-6.
33. Nazem F, Farhangi N, Neshat-Gharamaleki M. Beneficial effects of endurance exercise with Rosmarinus officinalis labiatae leaves extract on blood antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *CJD*. 2015;39(3):229-34.
34. Peeri M, Haghigh MM, Azarbayjani MA, Atashak S, Behrouzi G. Effect of aqueous extract of saffron and aerobic training on hepatic non enzymatic antioxidant levels in streptozotocin-diabetic rats. *ADS*. 2012;65(10):525-32. [In Persian]
35. Henkel J, Buchheim-Dieckow K, Castro JP, Laeger T, Wardelmann K, Kleinridders A, et al. Reduced oxidative stress and enhanced FGF21 formation in livers of endurance-exercised rats with diet-induced NASH. *NUTRHU*. 2019;11(11):2709.
36. Keihanian A, Arazi H, Kargarfard M. Effects of aerobic versus resistance training on serum fetuin-A, fetuin-B, and fibroblast growth factor-21 levels in male diabetic patients. *PIJ*. 2019;106(1):70-80.
37. Gonzalez A, Huerta-Salgado C, Orozco-Aguilar J, Aguirre F, Tacchi F, Simon F, et al. Role of oxidative stress in hepatic and extrahepatic dysfunctions during nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *OMCL*. 2020.
38. Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, Kanter M. Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β-cell damage in rat pancreas. *TJEM*. 2004;203(3):145-54.
39. Zou Y, Chen Z, Sun C, Yang D, Zhou Z, Peng X, et al. Exercise intervention mitigates pathological liver changes in nafld zebrafish by activating sirt1/ampk/nrf2 signaling. *IJMS*. 2021;22(20):10940.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

The effect of 8 weeks of high-intensity swimming interval training on the factor level of Erythroid-Derived 2-nuclear Factor 2 (Nrf2) and Superoxide Dismutase (SOD) in obese male rats with Non-alcoholic Steatohepatitis

Mohammad Hashemi Azizli[1], Farhad Daryanoosh[2*], Homa Shakhani Shahin[3], Alireza Jowhari[4]

1. MSc Student of Sports Nutrionion, Zand Higher Education Institute, Shiraz, Iran
2. Associate Professor in Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Department of Sports Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Assistant Professor of Sport Physiology, Department of Sport Science, Zand Higher Education Institute, Shiraz, Iran
4. PhD Candidate in Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Department of Sports Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 2022/07/20 **Accepted:** 2022/08/28

∗Correspondence:
Email:
shirazu.ac.ir

Abstract

Introduction and purpose: With the increase of inactivity in today's modern world, many metabolic diseases caused by lack of physical activity have spread. Among these diseases, we can mention non-alcoholic steatohepatitis, which is associated with increased oxidative stress. This study aimed to investigate the effect of 8 weeks of high-intensity swimming interval training on the factor level of Erythroid-Derived 2-Nuclear Factor 2 (Nrf2) and superoxide dismutase (SOD) in obese male rats with non-alcoholic Steatohepatitis (NASH).

Materials and methods: At the beginning, rats aged 6 to 8 years were randomly divided into healthy (n=20) and sick (high fat diet (HFD)) (n=20) groups. The high-fat diet lasted eight weeks until the rats became infected with NASH. After induction of the disease, the patient group was divided into 2 groups: disease-immobile (n=10), disease-swimming (n=10) by chance; Also, the healthy group was divided into two groups: healthy-immobile (n=10) and healthy-swimming (n=10). The HIIT swimming exercise consisted of 20 30-second swimming sessions with a 30-second break between sessions (three days a week for eight weeks). In the interval training load applied in the first week, a weight of 7% of each rat's body weight added, and 1% added to it every week. Nrf2 protein measured from liver tissue through the western blotting technique and SOD from blood serum. One-way ANOVA and Bonferroni post hoc test ($p<0.05$) were used to determine the differences between the groups.

Results: The results of statistical analysis showed that in the SOD variable, there was a significant decrease ($P<0.05$) in the inactive disease group compared to the sedentary and sedentary healthy group and a significant increase in the healthy-swimming group compared to the patient-swimming group ($P<0.05$). There was a significant increase in the Nrf2 variable of the healthy-inactive group compared to the patient-inactive and disease-swimming groups ($P<0.05$). There was also a non-significant increase in the disease-swimming group compared to the patient-immobile.

Discussion and Conclusion: high-intensity swimming interval training in patients with NASH can have a positive effect on the anti-oxidant system, but it is necessary to conduct other research.

Key words: Erythroid-Derived 2-Nuclear Factor 2, Superoxide Dismutase, High-intensity swimming interval training, Non-alcoholic Steatohepatitis