اثر تمرین استقامتی و مکمل‌سازی عصاره آبی بذر شنبلیله بر آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما در رت‌های دیابتی شده نر

سکینه ادیبی[۱]✉، محمد علی آذربایجانی[۲]، مقصود پیری[۳]

۱. کارشناس ارشد، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز

۲. دانشیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز.

۳. دانشیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز.

تاریخ دریافت مقاله:۹۲/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۳/۰۲/۰۲

چکیده

هدف: از این مطالعه، بررسی اثر تمرین استقامتی و مکمل سازی عصاره آبی بذر شنبلیله (AEFS) بر سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در موش‌های دیابتی شده نر بود. **روش شناسی:** ۸۰ سر موش نر پس از دیابتی شدن به روش تزریق درون سفاقی در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی همراه با آب و غذای یکسان به ۸ گروه: تمرین استقامتی (ET)، تمرین استقامتی و دوز ۰/۸۷g/kg از عصاره شنبلیله (ET-F1)، تمرین استقامتی و دوز ۱/۷۴g/kg از عصاره شنبلیله (ET-F2)، دوز شنبلیله ۰/۸۷g/kg (F1)، دوز شنبلیله ۱/۷۴g/kg (F2)، گلی بن کلامید (G)، گلی بن کلامید و تمرین استقامتی (ET-G) و کنترل دیابت (CD) تقسیم شدند. تمرینات استقامتی شامل شنا در تانکر به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه یک ساعتی در هفته بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه‌های خون از قلب حیوان گرفته شده و برای اندازه گیری سوپر اکسیداز دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) مورد استفاده قرار گرفت. **نتایج**: تحلیل واریانس یک راهه نشان داد یک دوره مصرف شنبلیله بدون فعالیت بدنی (F1 و F2) نیز موجب افزایش سوپراکسیداز دیسموتاز گروه F1 در مقایسه با گروه CD ($P < ۰/۰۰۱$) و نه F2 ($P < ۰/۰۵$) می‌گردد، اما میزان افزایشCAT و SOD در موش‌های دیابتی که دوزهای ۰/۸۷g/kg و ۱/۷۴g/kg شنبلیله مصرف کرده بودند متفاوت نبود. ترکیب تمرین شنا و شنبلیله در دوزهای مختلف باعث افزایش معنادار و خیلی بیشتری در فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT شد ($P < ۰/۰۵$). **نتیجه گیری**: در کل نتایج تحقیق حاضر نشان داد تمرین شنا و مکمل دهی شنبلیله در موش‌های دیابتی نر هر یک به صورت جداگانه ظرفیت آنتی اکسیدانی را بهبود می‌بخشند، اما در صورتی که تمرین شنا و مصرف عصاره آبی شنبلیله همزمان باشد این دو اثر هم افزایی داشته و اثرات تقویت کننده سیستم آنتی اکسیدانی بیشتر.

کلید واژه‌ها: استرس اکسیداتیو، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز ، تمرین استقامتی

Effects of endurance training and supplementation of fenugreek seed aqueous extract on plasma antioxidants in male diabetic rats

Abstract

Purpose: The present study was designed to investigate the effects of endurance training and aqueous extract of fenugreek supplementation (AEFS) on plasma Superoxide dismutase (SOD) and Catalase (CAT) in diabetic male rats. **Methods:** 80 diabetic rats in standard conditions of 12 hours of light and 12 hours of darkness divided to 8 groups: endurance training (ET), ET and 0/87 g/kg dose of fenugreek extract (ET-F1), ET and 1/74 g/kg of fenugreek extract (ET-F2), fenugreek dosage 0/87 g/kg (F1), fenugreek dosage 1/74 g/kg (F2), glibenclamide (G), glibenclamide and ET (ET-G) and diabetic control (CD) groups. All groups have same food and water Endurance exercises include swimming in the standard tank and 5 sessions (1h) per week for 8 weeks. Blood samples were taken from the animal's heart 48h after last training session and used for measuring SOD and CAT. **Results:** One way analysis of variance showed AEFS without exercise (F1) increased superoxide dismutase activity in diabetic rats compared with the control group ($p=0.001$), but the increase in CAT and SOD in diabetic rats when comparing 0/87 g/kg and 1/74 g/kg doses groups were not significant ($p>0.05$), but the combination of ET and AEFS caused a significant increase in CAT and SOD activities ($p<0.05$). **Conclusion:** The overall results of the present study showed that swim training and fenugreek supplementation in male diabetic rats improves antioxidant capacity separately, but if endurance training is concurrent with consumption of aqueous extract of fenugreek both of them will have synergistic effects and antioxidant system capacity improvement will be more evident.

Keywords: Oxidative stress, Superoxide dismutase, Catalase, endurance training

✉ **نویسنده مسئول:** سکینه ادیبی، کارشناس ارشد، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز. تهران، شهرک قدس(غرب سابق) اول خ ایران زمین-روبروی سازمان برق ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش. همراه: ۰۹۱۹۴۴۴۰۶۱۶ E-Mail: sakinehadibi6@gmail.com

مقدمه

دیابت ناهنجاری متابولیکی مزمن بوده که منجر به عوارض جانبی در سیستم قلبی-عروقی و نیز کارکرد نامناسب سیستم آنتی اکسیدانی بدن می‌شود (۱). شواهد قابل ملاحظه ای وجود دارد که قند خون بالا منجر به تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) شده که در نهایت منجر به افزایش استرس اکسیداتیو در بسیاری از بافت‌ها می‌گردد (۱). در صورت عدم و یا ناکافی بودن پاسخ مناسب شبکه آنتی اکسیدانی داخل عروقی تعادل ردوکس به هم خورده و مسیرهای سیگنال دهی حساس به استرس در داخل عروق فعال می‌گردد (۲). مطالعات نشان داده‌اند که تقویت سیستم آنتی اکسیدانی عوارض دیابت را کاهش می‌دهد (۳). راه کارهای مختلفی از جمله فعالیت بدنی و ورزش منظم، اصلاح رژیم غذایی و دارو درمانی برای کاهش عوارض و بهبود دیابت پیشنهاد شده است، چرا که کمبود فعالیت جسمانی در زندگی روزانه سبب چاقی و افزایش خطر بیماری‌های کم تحرکی از جمله دیابت ملیتوس، فشار خون، بیماری قلبی و غیره می‌شود (۴). به هر حال ورزش در کنار نقش مثبتی که در ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی دارد، می‌تواند با آسیب سلولی نیز همراه باشد (۵)، در ورزش‌هایی که تمرینات آنها به صورت مستمر مداوم و با شدت‌های بالا و طاقت فرسا حتی تا مرز خستگی و واماندگی انجام می‌شود علاوه بر ایجاد فواید و تغییرات مطلوب فیزیولوژیکی و آناتومیکی در دستگاه‌های بدن عوامل آسیب زا و تخریب کننده ای نیز تولید می‌شود که بر روی سیستم‌های گوناگون بدن از جمله سیستم‌های ضد التهابی، ایمنی و آنزیمی بدن می‌توانند اثر سرکوبگرایانه و مخرب داشته باشند (۶).

علاوه بر فعالیت بدنی منظم راه‌های مختلف برای درمان بیماری دیابت پیشنهاد و توصیه شده است. استفاده از داروهای خوراکی پایین آورنده گلوکز خون (مثل گلی بنکلامید) و یا استفاده از انسولین (۷)، از روش‌های معمول درمان بیماری دیابت می‌باشد، ولی این ترکیبات عوارض نا مطلوبی دارند و در دراز مدت تأثیری بر روندهای ایجاد کنندهٔ عوارض ناتوان کننده دیابت ندارند (۸). روش هاس پیوند پانکراس (۹)، پیوند جزایر لانگرهاس(۱۰) و حتی استفاده از سلول‌های بنیادی (۱۱) از جمله روش‌های دیگری هستند که برای درمان دیابت مورد توجه می‌باشد. در کنار این پژوهش‌ها، مطالعاتی نیز در رابطه با بکارگیری گیاهان و تلفیق آن با ورزش در درمان دیابت صورت گرفته است (۱۲). یکی از این گیاهان شنبلیله است که دارویی بودن این گیاه سبب استفاده وسیع آن برای درمان انواع بیماری‌ها شده است. شنبلیله بطور کامل ضد دیابت و کاهش دهنده سطوح کلسترول خون می‌باشد. همچنین دانه‌های شنبلیله در بیماران دیابتی اثرات مفید چندگانه از قبیل کاهش قند خون و عوارض آن را نشان داده اند (۱۳). بسیاری از مطالعات درباره استفاده از دانه‌ها یا عصاره‌ها نشان دادند که دانه‌های شنبلیله سطوح قند ناشتای خون، در حیوانات را کاهش می‌دهند (۱۴-۱۷). آلکالوئید شنبلیله، آنزی‌های لیپوژنیک کبد را تحریک می‌کند. در طی دیابت، لیپوژنز کاهش می‌یابد در حالی که لیپولیز در بافت کبد افزایش می‌یابد. در کلیه، مصرف بیش از حد گلوکز سلولی از طریق افزایش فعالیت گلیکولیتیک و NADP مرتبط با آنزیم‌های لیپوژنیک رخ می‌دهد (۱۸). شنبلیله می‌تواند اثر درمانی خود را از طریق محتوای آلکالوئیدی با تنظیم ترشح انسولین ایجاد می‌کند (۱۷). سنیکر و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که رژیم فیبری حاضر در دانه‌های شنبلیله کمک به مدیریت متابولیک غیر نرمال مرتبط با دیابت از قبیل مقاومت انسولین محیطی و لیپید غیر نرمال می‌کند (۱۹). خواص آنتی اکسیدانی جنس گیاه به دلیل حضور بسیاری از فعالیت‌های فتوشیمیایی شامل ویتامین‌ها، فلاونوئید، ترپنوئیدها، کاروتئوییدها، کومارین‌ها، لیگلنین، ساپونین، گیاه استرول و... می‌باشد (۲۰). به دلیل طعم قوی و معطر، شنبلیله یکی از گیاهانی است که برگ‌ها و دانه هایش بطور وسیعی به عنوان گونه یا ادویه‌ای در آماده کردن غذا و به عنوان جزئی در طب سنتی استفاده می‌شود. شنبلیله منبع غنی از کلسیم، آهن، بتاکاروتن و ویتامین‌های دیگر می‌باشد (۲۱) و اثرات آنتی اکسیدانی آن نیز در مطالعات جنت و همکاران (۲۰۰۲) به عنوان جایگزینی مهم جهت درمان عوارض ناشی از دیابت به اثبات رسیده است (۲۲).

با توجه به اینکه که تاکنون اثرات مکمل سازی عصاره آبی بذر شنبلیله و تمرینات استقامتی به طور همزمان در شرایط دیابت مورد بررسی قرار نگرفته است و همچنین نشان داده شده است که سیستم آنتی اکسیدانی در اثر تمرین استقامتی بهبود می‌یابد، این احتمال وجود دارد که به واسطه ی مکمل‌های طبیعی گیاهی و دارویی از جمله شنبلیله بتوان سیستم آنتی اکسیدانی را با ترکیب این دو

مورد بیشتر بهبود بخشید. از این رو هدف پژوهش حاضر بررسی تغییرات سطوح استراحتی سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز پلاسما در پاسخ به تمرین استقامتی و مکمل سازی عصاره آبی بذر شنبلیله در موش‌های دیابتی شده نر می‌باشد.

روش‌شناسی پژوهش

جامعه آماری

تعداد ۸۰ سر موش نر ویستار از مؤسسهٔ سرم‌سازی رازی خریداری شد. حیوانات در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های مخصوص، در دمای اتاق (۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد) و طبق چرخهٔ ۱۲ ساعت خواب و بیداری (روشنایی و تاریکی) و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل شدند. بعد از ۴ هفته نگهداری و یک هفته آشنا سازی با پروتکل تمرینی، موش‌ها به صورت تصادفی ساده در هشت گروه ده‌تایی: ۱- گروه فعالیت استقامتی (E) ۲- استقامتی- شنبلیله با دوز ۰/۸۷ گرم بر کیلوگرم در روز (ET-F1) ۳- گروه استقامتی- شنبلیله با دوز ۱/۷۴ گرم بر کیلوگرم در روز (ET-F2) ۴- گروه شنبلیله با دوز ۰/۸۷ گرم بر کیلوگرم در روز (F1) ۵- گروه شنبلیله با دوز ۱/۷۴ گرم بر کیلوگرم در روز (F2) ۶- گروه گلی بنکلامید با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم در روز (G) ۷- استقامتی-گلی بنکلامید با دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم در روز (ET-G) ۸- گروه کنترل دیابتی (DC) تقسیم شدند. در انتهای تحقیقات در گروه‌های تحقیق T، F1 و G به ترتیب ۱، ۴ و ۳ مورد تلفات مشاهده شد، در هر کدام از سایر گروه‌ها ۲ سر تلفات، آن هم بیشتر در هفته‌های آخر مشاهده گردید.

برنامه تمرین استقامتی

تمرین استقامتی به صورت شنا کردن به مدت ۸ هفته، هفته‌ای ۵ روز و روزی ۱ ساعت در یک تانک پلاستیکی با ابعاد (150cm×90cm×70cm) با درجه حرارت آب به میزان $35\pm1C^{o}$ انجام شد (۲۳). ابزار و وسایل توسط گروه پژوهش ساخته شد و اجرایی بودن آن در مطالعه مقدماتی و دوره آشنا سازی مورد تایید قرار گرفت. این روش و برنامه بر اساس اطلاعات موجود در مطالعاتی که برای تمرین دادن موش آزمایشگاهی از آن استفاده کرده بودند انتخاب شد (۲۴). در هفته اول که تحت عنوان هفته آشنایی می‌باشد، تمرین شنا اینگونه انجام شد که در روز اول مدت زمان شنا ۱۰ دقیقه بود و در روزهای بعد هر جلسه ۱۰ دقیقه به مدت زمان شنا افزوده شد، به طوریکه بعد از یک هفته مدت زمان شنای موش به ۶۰ دقیقه در روز رسید و تا پایان هفته هشتم این مدت زمان ۶۰ دقیقه ای حفظ شد، زمان ورزش از ساعت ۹ صبح الی ۱۲ ظهر در نظر گرفته شد (۲۵). گروه کنترل نیز جهت تجربهٔ تمام شرایط موجود (صدای شنا کردن، محیط و پژوهشگران در حین تمرین) به جز تمرین، در محل تمرینات نگهداری می‌شدند.

نحوه دیابتی کردن موش‌ها

جهت ایجاد دیابت از روش تزریق داخل صفاقی ۵۰ mg/kg داروی استرپتوزوتوسین[1] به صورت تک دوز استفاده شد (۱۷, ۲۶). طبق این روش ۴۸ ساعت بعد از تزریق، دیابت در موش‌ها ایجاد شده و جهت تشخیص دیابت، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست در دم موش‌ها، یک قطره خون گرفته شده و توسط گلوکومتر (Boehringer Mannheim Indianapolis, IN) اندازه گیری شد، قند خون بالای ۳۰۰ mg/dl، بعنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۷, ۲۷)، البته بر اساس تحقیقات آزمایشگاهی این نوع دیابتی کردن موش‌ها موجب ایجاد حالت دیابت نوع ۱ م یوشد که در آن موش‌ها هیپرگلیسمی وابسته به انسولین شدیدی پیدا می کنند، اما برای زنده ماندن نیاز به انسولین تزریقی ندارند که از این نظر فرصت مناسبی برای مطالعه آثار متابولیک کمبود انسولین فراهم می شود (۲۸)، با این وجود نتایج آن برای دیابت نوع ۲ قابل تعمیم نمی باشد.

جدول ۱. برنامه هفتگی تمرینات استقامتی مورد استفاده در تحقیق

هفته‌ها	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
مدت زمان (دقیقه)	۲۱۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰

آماده سازی و تجویز عصاره آبی بذر شنبلیله و گلی بنکلامید

به میزان ۱ کیلوگرم از دانه پودر شده شنبلیله در ۱۰۰۰۰ میلی لیتر آب تقطیر شده برای ۳۰ دقیقه جوشانده شد. سپس این عصاره جوشانده شده در دمای اتاق برای ۳۰ دقیقه سرد شده و سپس این عصاره سرد شده از طریق یک غربال، دوبار از صافی رد گردید. در نهایت این عصاره فیلتر شده از طریق تبخیر در دمای ۳۵۸ درجه سانتی گراد به یک خمیر غلیظ تبدیل شد (۲۰).

عصاره در گروه‌ها به میزان ۰/۸۷ و ۱/۷۴ گرم بر کیلوگرم در روز به مدت ۸ هفته در ساعات ۳-۵ بعد از ظهر و برای جلوگیری از تداخل با برنامه تمرینی، به صورت خوراکی و با استفاده از گاواژ وارد معده گروه‌ها شد. در گروه‌های گلی بن کلامید در هر وعده با دوز ۰/۰۵ گرم بر کیلوگرم در روز به صورت خوراکی به مدت ۸ هفته به موش‌ها داده شد.

روش اندازه گیری آزمایشگاهی

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسهٔ تمرین، حیوانات با اتر بیهوش و مستقیم از قلب خون گیری انجام شد، خون مورد نظر در هر مورد به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد تا سرم از لخته جدا شود. بعد از جداسازی سرم خون از لخته به وسیله سمپلر نمونه‌ها تا زمان سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد و نگهداری شدند. سوپر اکسیداز دیسموتاز در گلبول‌های قرمز لیز شده توسط کیت‌های تهیه شده از شرکت راندکس[۲] اندازه‌گیری و نتایج بصورت واحد در گرم هموگلوبین بیان گردید. اندازه‌گیری کاتالاز به روش (Abei) و بر اساس میزان تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ nm و در ۲۰ درجه سانتیگراد انجام گردید. فعالیت آنزیم در گلبولهای قرمز لیز شده به صورت واحد در گرم هموگلوبین بیان گردید. همچنین میزان گلوکز خون با روش آنزیماتیک (پارس آزمون، ساخت ایران) مورد سنجش قرار گرفت.

تحلیل آماری

ابتدا از آزمون کلموگروف-اسمیرونف جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد و هنگامی که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، جهت بررسی تغییرات از مدل آماری تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنادار با توجه به یکسان نبودن تعداد موش‌های هر گروه از آزمون تعقیبی بانفرونی برای تعیین محل تفاوت استفاده شد. ضمناً سطح معناداری نیز برای تمام محاسبات ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

نتایج

مشخصات وزن آزمودنی‌ها

ویژگی‌های عمومی آزمودنی‌ها در جدول (۱) ارائه شده است.

میانگین غلظت SOD و CAT در موش‌های نر طبقه‌بندی شده در گروه‌های مختلف در جدول (۲) ارائه شده است.

بین غلظت SOD و CAT گروه‌های تمرین استقامتی شنا+شنبلیله با دوز ۱,۷۴، تمرین استقامتی شنا، تمرین استقامتی شنا+شنبلیله با دوز ۰,۸۷، شنبلیله+بن گلی کلامید، کنترل دیابتی، شنبلیله ۰,۸۷، شنبلیله ۱,۷۴ و بن گلی کلامید در موش‌های دیابتی تفاوت معنی داری وجود دارد. نتایج آزمون تحلیل یک راهه واریانس جهت بررسی تفاوت بین میزان SOD و CAT در گروه‌های هشت گانه در جدول (۳) ارائه شده است.

جدول ۱. توصیف آماری وزن آزمودنی‌ها بر حسب شاخص‌های مرکزی و پراکندگی

گروه / متغیر	زمان	ET-F2	ET	ET-F1	ET-G	CD	F1	F2	G
میانگین ± انحراف معیار	قبل از تمرینات	۱۹۱ ± ۱۳/۶۰	۲۱۰/۷۱ ± ۱۷/۱۰	۱۹۹/۳۳ ± ۱۷/۱۸	۲۲۶/۵۷ ± ۱۶/۸۶	۱۹۷/۱۳ ± ۲۴/۰۳	۱۸۶/۱۳ ± ۲۹/۱۵	۱۹۲/۱۴ ± ۲۱/۶۰	۱۹۸/۷۱ ± ۱۸/۰۶
	بعد از تمرینات	۱۹۶/۱۶ ± ۱۰/۳۰	۲۱۳/۱۲ ± ۱۲/۱۰	۲۰۲/۱۲ ± ۱۴/۱۱	۲۱۹/۱۲ ± ۱۴/۱۲	۲۳۲/۱۳ ± ۱۲/۱۷	۱۸۸/۱۸ ± ۱۵/۳	۲۰۳/۱۳ ± ۱۲/۱۷	۲۰۰/۱۷ ± ۱۳/۱۱

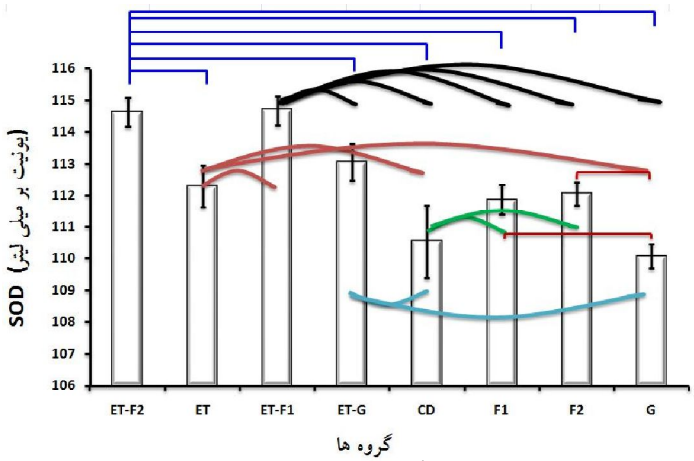
جدول ۲. توصیف آماری میانگین غلظت CAT (نانو مول بر میلی لیتر) و SOD (یونیت بر لیتر) بر حسب شاخص‌های مرکزی و پراکندگی در گروه‌های هشت گانه

گروه ها	متغیر	تعداد	میانگین	انحراف معیار	حداکثر	حداقل
شنبلیله ۱/۷۴ + تمرین شنا (ET+F2)	CAT	۷	۲۸۹/۰۷	۰/۸۴	۲۹۰/۴۵	۲۸۷/۱۲
	SOD	۷	۱۱۴/۶۳	۰/۴۵	۱۱۵/۲۶	۱۱۳/۹۶
تمرین شنا (ET)	CAT	۹	۲۸۵/۶۸	۱/۰۱	۲۸۶/۹۷	۲۸۴/۱۲
	SOD	۹	۱۱۲/۳۰	۰/۶۶	۱۱۳/۱۹	۱۱۱/۰۹
شنبلیله ۰/۸۷ + تمرین شنا (ET+F1)	CAT	۸	۲۸۹/۴۴	۱/۶۹	۲۹۱/۱۵	۲۸۵/۷۳
	SOD	۸	۱۱۴/۶۶	۰/۴۵	۱۱۵/۳۳	۱۱۳/۹۹
شنبلیله + بن گلی کلامید (F1+G)	CAT	۸	۲۸۳/۰۱	۰/۲۷	۲۸۳/۳۳	۲۸۲/۴۶
	SOD	۸	۱۱۳/۰۶	۰/۵۷	۱۱۳/۹۴	۱۱۲/۳۵
کنترل دیابتی (CD)	CAT	۸	۲۸۲/۷۱	۲/۲۸	۲۸۶/۲۵	۲۷۹/۵۳
	SOD	۸	۱۱۰/۵۵	۱/۱۵	۱۱۲/۴۹	۱۰۹/۱۷
شنبلیله ۰/۸۷ (F1)	CAT	۶	۲۸۴/۰۴	۰/۸۰	۲۸۵/۳۱	۲۸۲/۹۶
	SOD	۶	۱۱۱/۸۷	۰/۴۹	۱۱۲/۶۴	۱۱۱/۲۹
شنبلیله ۱/۷۴ (F2)	CAT	۸	۲۸۳/۹۲	۱/۴۴	۲۸۶/۱۷	۲۸۱/۹۳
	SOD	۸	۱۱۲/۰۶	۰/۳۷	۱۱۲/۵۱	۱۱۱/۴۹
بن گلی کلامید (G)	CAT	۷	۲۸۲/۰۹	۱/۲۶	۲۸۴/۶۲	۲۸۰/۹۹
	SOD	۷	۱۱۰/۰۷	۰/۳۸	۱۱۰/۷۴	۱۰۹/۶۴

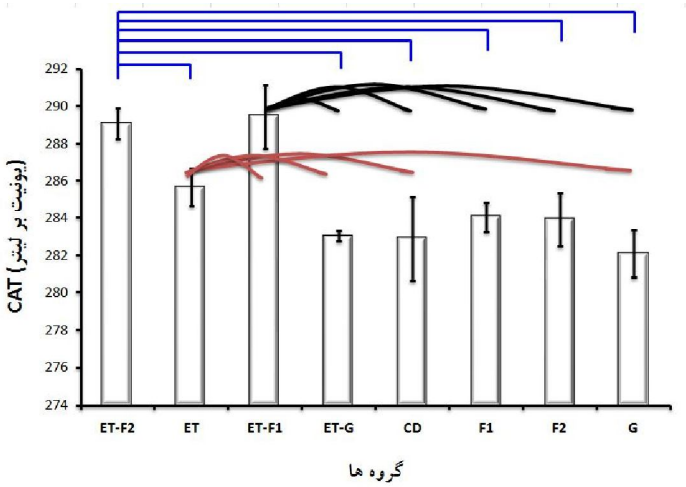
جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل یک راهه واریانس برای مقادیر SOD، CAT در گروه‌های مختلف ارائه شده است.

متغییر	منابع تغییر	مجموع مجذورات SS	درجات آزادی df	میانگین مجذورات	نسبت F	P
SOD	بین گروه ها	۱۴۸/۱۴	۷	۲۱/۱۶	۴۴/۰۲	۰/۰۰۰*
	درون گروه ها	۲۵/۴۸	۵۳	۰/۴۸		
	کل	۱۷۳/۶۲	۶۰			
CAT	بین گروه ها	۴۲۷/۱۴	۷	۶۱/۰۲	۲۹/۴۰	۰/۰۰۰*
	درون گروه ها	۱۰۹/۹۹	۵۳	۲/۰۸		
	کل	۵۳۷/۱۳	۶۰			

*نشانه تفاوت معنی‌دار



نمودار (۱) میانگین± انحراف استاندارد غلظت SOD در گروه‌های مختلف تمرین استقامتی (ET)، استقامتی و دوز ۰/۸۷g/kg از عصاره شنبلیله (ET-F1)، استقامتی و دوز ۱/۷۴g/kg از عصاره شنبلیله (ET-F2)، دوز شنبلیله ۰/۸۷g/kg (F1)، دوز شنبلیله ۱/۷۴g/kg (F2)، گلی بن کلامید (G)، گلی بن کلامید و تمرین استقامتی (ET-G) و کنترل دیابت (CD)، نتایج آزمون تعقیبی بانفرونی برای گروه‌های که اختلاف معناداری با هم دارند با فلش مشخص شده اند (P<0.05).



نمودار (۲) میانگین± انحراف استاندارد غلظت CAT در گروه‌های مختلف تمرین استقامتی (ET)، استقامتی و دوز ۰/۸۷g/kg از عصاره شنبلیله (ET-F1)، استقامتی و دوز ۱/۷۴g/kg از عصاره شنبلیله (ET-F2)، دوز شنبلیله ۰/۸۷g/kg (F1)، دوز شنبلیله ۱/۷۴g/kg (F2)، گلی بن کلامید (G)، گلی بن کلامید و تمرین استقامتی (ET-G) و کنترل دیابت (CD)، نتایج آزمون تعقیبی بانفرونی برای گروه‌های که اختلاف معناداری با هم دارند با فلش مشخص شده اند (P<0.05).

بحث و نتیجه گیری

تحقیق حاضر برای اولین بار اثر ترکیب اثر تمرین استقامتی و مکمل سازی عصاره آبی بذر شنبلیله و گلی‌بن کلامید بر آنتی اکسیدان‌های پلاسما (سوپراکسیداز دیسموتاز و کاتالاز) در موش‌های دیابتی شده را مورد بررسی قرار داد. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در غذاها و گیاهان توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند، زیرا دارای اثرات جانبی کمتر هستند و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه هستند (۲۹). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی اساس کاربرد وسیع آن‌ها در داروسازی، پزشکی و درمان‌های طبیعی را تشکیل می‌دهد (۳۰). این دارو اصولاً در درمان بیماران مبتلا به دیابت نوع دو (غیر وابسته به انسولین) استفاده می‌شود (۱۳).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد یک دوره مصرف شنبلیله بدون فعالیت بدنی نیز موجب افزایش سوپراکسیداز دیسموتاز در مقایسه با موش‌های دیابتی گروه کنترل می‌گردد، اما میزان افزایش کاتالاز در مقایسه با SOD در موش‌های دیابتی که دوزهای ۰/۸۷g/kg و ۱/۷۴g/kg شنبلیله مصرف کرده بودند، معنادار نبود. همچنین میزان افزایش SOD در دوزهای مختلف ۰/۸۷ و ۱/۷۴g/kg شنبلیله نسبت به هم تفاوت چندانی نداشت. در رابطه با اثرات شنبلیله بر قند خون، ابراهیمی فخار و همکاران (۱۳۹۰) تأثیر عصاره آبی برگ گردو، سیر کوهی و خارخاسک با گلی بن کلامید بر میزان گلوکز موشهای دیابتی را مقایسه نمودند و نشان دادند با وجود تأثیر بهتر برگ گردو بر قند خون نسبت به گیاه خارخاسک و سیر کوهی، از آنها تنها میتوان به عنوان مکمل داروهای رایج ضد دیابت استفاده نمود. همچنین مصرف همزمان چند داروی گیاهی نه تنها ممکن است تأثیر بهتری بر کنترل میزان قند خون نداشته باشد، بلکه احتمالاً موجب بروز تداخل داروئی و تأثیرات متناقضی می‌گردد (۳۱). اثرات آنتی اکسیدانی شنبلیله در مطالعه جنت و همکاران (۲۰۰۲) به اثبات رسیده و همچنین شنبیله به عنوان جایگزینی مهم جهت درمان عوارض تخریب سیستم آنتی اکسیدانی ناشی از دیابت (با تزریق استرپتوزوتوسین) توصیه شده است (۲۲). همچنین در بررسی اثر عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله بر سطح آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینو ترانسفراز در حیوانات سالم و دیابتی شده توسط داروی استرپتوزوتوسین نشان داده شد که میزان آنزیم‌های فوق به دلیل آسیب بافت کبدی به صورت معنی‌داری در سرم حیوانات دیابتی افزایش می‌یابد و تیمار عصاره الکلی دانه گیاه شنبلیله در حیوانات دیابتی موجب کاهش معنی‌داری در سطح آنزیم‌های فوق در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی می‌گردد، ولی بر حیوانات سالم تاثیر معنی‌داری ندارد (۳۲). SOD اولین خط دفاع آنزیمی در برابر FRS

است و باعث تبدیل سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن می‌شود (۳۳). اما کاتالاز آنزیمی وابسته به آهن است و فعالیتی مشابه SOD دارد و بالاترین فعالیت آن در کبد و پایین ترین فعالیت در عضله اسکلتی برقرار می‌باشد، در عضله اسکلتی نیز، فعالیت آن بر حسب نوع تار متفاوت است به طوری که بیشتر فعالیت آن در تارهای نوع اول (I) و کمترین فعالیت آن درتارهای نوع دوم (IIa) می‌باشد (۳۴). از این رو افزایش کمتر آن در مقایسه با SOD در گروه‌های تمرینی مصرف کننده شنبلیه در تحقیق حاضر احتمالاً به دلیل کمتر بودن فعالیت کاتالاز در عضلات باشد. در کل گیاه شنبلیله به دلیل مهار آسیب کبدی ناشی از دیابت و افزایش SOD به عنوان داروی ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی پیشنهاد می‌گردد (۱۸). هر چند جزئیات مکانیسم عمل این گیاه ناشناخته است و مطالعات بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بسیاری جهت تایید اثرات آن مورد نیاز است.

در رابطه با مصرف دوزهای مختلف شنبلیله در مقایسه با گروه تمرین و شنبلیله به تنهایی و یا گروه کنترل نشان داده شد که ترکیب تمرین شنا و شنبلیله باعث افزایش معنادار و خیلی بیشتری در فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT می‌شود. اما دوزهای ۰/۸۷g/kg و ۱/۷۴g/kg شنبلیله همراه با تمرین استقامتی شنا در موش‌های دیابتی تفاوتی در میزان افزایش SOD و CAT نشان ندادند، که نشان دهنده اثرات مشابه دوزهای مختلف ۰/۸۷g/kg و ۱/۷۴g/kg شنبلیله می‌باشد، حتی در گروه‌های ۰/۸۷g/kg و ۱/۷۴g/kg شنبلیله بدون فعالیت بدنی که میزان SOD و CAT نسبت به گروه کنترل بالاتر بود و میزان SOD و CAT در دوزهای ۰/۸۷g/kg و ۱/۷۴g/kg شنبلیله با هم تفاوت معناداری را نشان نداد. در تحقیقی بر روی موش های اسپراگ، اثر ۵ روز دویدن با ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی را بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی بررسی کرده و مشاهده نمودند این نوع تمرین، فعالیت SOD و CAT را به ترتیب ۲۴ و ۲۰ درصد افزایش می‌دهد (۳۵).

تمرینات استقامتی متداول و منظم با شدت متوسط باعث افزایش مقاومت بافت‌ها در برابر پراکسیداسیون لیپید می‌شود و ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها را افزایش می‌دهد (۳۶). که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد. هر چقدر مدت و شدت تمرین استقامتی افزایش یابد، تولید رادیکال‌ها افزایش یافته و تارهای عضلانی صدمه بیشتری می‌یابند (۳۷). در کل با توجه به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی SOD با مصرف شنبلیله و نیز افزایش بیشتر آن در گروه‌های تمرینی به نظر می‌رسد در موش‌های دیابتی ترکیب نمودن فعالیت ورزشی استقامتی و مصرف شنبلیله برای افزایش اثرات مفید آن بر سیستم آنتی اکسیدانی بهتر باشد.

همچنین در مقایسه داده‌های گروه‌های که گلی‌بن کلامید به تنهایی و یا همراه با شنبلیله مصرف کرده بودند میزان آنزیم SOD در گروهی که هر دو عصاره گیاهی را مصرف کرده بود در مقایسه با کنترل و تمرین به تنهایی بالاتر بود، اما آنزیم CAT نسبت به گروه تمرین میزان کمتری در گروه گلی‌بن کلامید+شنبلیله نشان داد. گلی بن‌کلامید باعث تحریک و آزاد شدن مقادیر بیشتر انسولین از لوزالمعده (پانکراس) می‌شود. این کار را با بلوک گیرنده‌های پتاسیم در سلولهای بتای جزایر لانگرهانس انجام می‌دهد (۳۸). گلی بن کلامید معمولاً در درمان بیماران دچار دیابت نوع یک (وابسته به انسولین) بکار نمی‌رود، چرا که اساساً در این بیماران پانکراس قادر به ساخت انسولین نمی‌باشد. البته مصرف بلندمدت گلی بن کلامید موجب افزایش حساسیت بافت‌های محیطی مانند کبد، عضلات و بافت چربی به انسولین می‌شود ولی این مکانیسم فرعی است (۳۹). با توجه به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی SOD در مقایسه با CAT هنگام مصرف همزمان شنبلیله و بن کلی کلامید می‌تواند گفت اولاً مصرف همزمان این دو تداخلی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نداشته و دوماً تأثیر آن بر SOD که فعالیت بیشتری نیز نسبت به CAT دارد، بیشتر است.

در کل نتایج تحقیق برای اولین بار نشان داد که مصرف شنبلیله در موش‌های دیابتی بدون فعالیت ورزشی موجب افزایش فعالیت برخی آنتی اکسیدانهای آنزیمی بخصوص SOD در موش‌های دیابتی می‌گردد و هنگام افزودن فعالیت تمرینی شنا این افزایش در فعالیت آنزیمی هم برای SOD و هم CAT خیلی بیشتر می‌گردد و از این رو فعالیت ورزشی و مصرف شنبلیله نه تنها تداخلی ایجاد نمی کند بلکه اثر هم افزایی داشته و اثرات تقویت کننده سیستم آنتی اکسیدانی بیشتری نیز نشان می‌دهند. علاوه بر این شنبلیه نه تنها با تمرین ورزشی بلکه در ترکیب با بن کلی کلامید نیز موجب ارتقاء سطح آنزیمی SOD گشته و نشان دهنده نقش ترکیبی این دو در افزایش فعالیت آنزیم‌های

آنتی اکسیدانی و نیز کاستن قند خون و بهبود شرایط دیابتی موش‌ها (البته تنها دیابت ناشی از عدم ترشح انسولین) می‌باشد. از این رو انجام مطالعات بیشتر برای تجویز شنبلیله و بن کلامید در ترکیب با تمرین استقامتی برای درمان انواع دیابت و هیپرگلیسمی وابسته به انسولین بسیار ضروری به نظر رسیده و زمینه تحقیقاتی بسیار ارزشمندی می‌باشد.

پی‌نوشت‌ها

1. Streptozotocin
2. Randox

منابع

1. Evans, J. L., Goldfine I. D., Maddux B. A., Grodsky G. M. (2002). Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine reviews*, *23*, *5:*PP.599-622.
2. Evans, J. L., Goldfine I. D., Maddux B. A., Grodsky G. M. (2003). Are Oxidative Stress–Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β-Cell Dysfunction? *Diabetes*, *52*, *1:*PP.1-8.
3. Finkel, T., Holbrook N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, *408*, *6809:*PP.239-47.
4. Boulé, N., Kenny G., Haddad E., Wells G., Sigal R. (2003). Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, *46*, *8:*PP.1071-81.
5. Miyazaki, H., Oh-ishi S., Ookawara T., Kizaki T., Toshinai K., Ha S., Haga S., Ji L. L., Ohno H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *European journal of applied physiology*, *84*, *1-2:*PP.1-6.
6. Vollaard, N. B., Shearman J. P., Cooper C. E. (2005). Exercise-induced oxidative stress. *Sports Medicine*, *35*, *12:*PP.1045-62.
7. Craig, C. R., Stitzel R. E. Modern pharmacology with clinical applications. Wolters Kluwer Health. 2004.
8. Mathieu, C. (2004). Can we reduce hypoglycaemia with insulin detemir? *International Journal of Obesity*, *28*, S35-S40.
9. Ito, T., Uchikoshi F., Tori M., Miao G., Tanaka S., Maeda A., Akamaru Y., Matsuda H., Nozawa M. (2003). Immunological characteristics of pancreas transplantation: review and our experimental experience. *Pancreas*, *27*, *1:*PP.31-7.
10. Kaufman, D. B., Lowe Jr W. L. (2003). Clinical islet transplantation. *Current diabetes reports*, *3*, *4:*PP.344-50.
11. Yamaoka, T. (2003). Regeneration therapy for diabetes mellitus. *Expert opinion on biological therapy*, *3*, *3:*PP.425-33.
12. Franz, M. J., Bantle J. P., Beebe C. A., Brunzell J. D., Chiasson J.-L., Garg A., Holzmeister L. A., Hoogwerf B., Mayer-Davis E., Mooradian A. D. (2002). Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. *Diabetes Care*, *25*, *1:*PP.148-98.
13. Sankar, P., Subhashree S., Sudharani S. (2012). Effect of Trigonella foenum-graecum seed powder on the antioxidant levels of high fat diet and low dose streptozotocin induced type II diabetic rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, *16 Suppl 3*, 10-7.
14. Smith, M. (2003). Therapeutic applications of fenugreek. *Alternative Medicine Review*, *8*, *1:*PP.20-7.
15. Moosa, A. S. M., Rashid M. U., Asadi A., Ara N., Uddin M. M., Ferdaus A. (2006). Hypolipidemic effects of fenugreek seed powder. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, *1*, *2:*PP.64-7.
16. El-Soud, N. H. A., Khalil M., Hussein J., Oraby F., Farrag A. H. (2007). Antidiabetic effects of fenugreek alkaliod extract in streptozotocin induced hyperglycemic rats. *J Appl Sci Res*, *3*, 1073-83.
17. Xue, W.-L., Li X.-S., Zhang J., Liu Y.-H., Wang Z.-L., Zhang R.-J. (2007). Effect of Trigonella foenum-graecum (fenugreek) extract on blood glucose, blood lipid and hemorheological properties in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*, *16*, *Suppl 1:*PP.422-6.
18. Premanath, R., Lakshmidevi N., Jayashree K., Suresh R. (2012). Evaluation of anti-diabetic effect of Trigonella foenum graecum Linn. Leaf extract in streptozotocin induced diabetic rats. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, *32*, *3:*PP.138-44.
19. Sankar, P., Subhashree S., Sudharani S. (2012). Effect of Trigonella foenum-graecum seed powder on the antioxidant levels of high fat diet and low dose streptozotocin induced type II diabetic rats. *European review for medical and pharmacological sciences*, *16*, 10-7.
20. Kaviarasan, S., Naik G., Gangabhagirathi R., Anuradha C., Priyadarsini K. (2007). In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (< i> Trigonella foenum graecum</i>) seeds. *Food Chemistry*, *103*, *1:*PP.31-7.
21. Dixit, P., Ghaskadbi S., Mohan H., Devasagayam T. (2005). Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytotherapy Research*, *19*, *11:*PP.977-83.
22. Genet, S., Kale R. K., Baquer N. Z. (2002). Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues:

effect of vanadate and fenugreek (Trigonella foenum graecum). *Molecular and cellular biochemistry*, *236*, *1-2:*PP.7-12.
23. Saadat, N., Emami H., Salehi P., Azizi F. (2002). Comparison of ADA and WHO criteria in detecting glucose disorders in a population-based study: Tehran Lipid and Glucose Study. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *4*, *1:*PP.1-8.
24. Lee, S., Farrar R. (2003). Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. *J Exercise Physiol on line*, *6*, 80-7.
25. Terada, S., Yokozeki T., Kawanaka K., Ogawa K., Higuchi M., Ezaki O., Tabata I. (2001). Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, *90*, *6:*PP.2019-24.
26. Kulkarni, C. P., Bodhankar S. L., Ghule A. E., Mohan V., Thakurdesai P. A. (2012). Antidiabetic activity of Trigonella foenumgraecum L. seeds extract (IND01) in neonatal streptozotocin-induced (n-STZ) rats. *Diabetologia Croatica*, *41*, *1:*PP.

۲۷.پیری،, م, شاهین، م. ا., عریان ش. (۱۳۸۸).
بررسی‌اثرعصاره ترکیبی‌شوید
برروی‌لیپیدهاولیپوپروتئین‌های پلاسما در رت های
سالم و دیابتی. مجله دانشگاه‌علوم پزشکی شهرکرد, ۴,
:PP.25-15.۱۱

28. Bell Jr, R. H., Hye R. J. (1983). Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. *Journal of surgical Research*, *35*, *5:*PP.433-60.
29. Zhu, Y., Huang S., Tan B., Sun J., Whiteman M., Zhu Y.-C. (2004). Antioxidants in Chinese herbal medicines: a biochemical perspective. *Natural product reports*, *21*, *4:*PP.478-89.
30. Kohen, R., Nyska A. (2002). Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, *30*, *6:*PP.620-50.
31. Ebrahimi Fakhar, H., Dr. Hekmatpou D., Haji NadAli S. (2011). Investigation on the effect of Walnut leaves aqueous extract, Allium schoenoprasum extract and Tribulus terrestris Extract on glucuos level in diabetic rats. *2*, *1*, *1:*PP.21-30.

۳۲.عیدی, ا., عیدی م., سوخته م. (۱۳۸۴). بررسی اثر
عصاره الکلی دانه شنبلیله بر فعالیت آنزیم های کبدی
در موش های صحرایی نر. گیاهان دارویی, ۵.41-36 ,

33. McCord, J. M., Fridovich I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*, *244*, *22:*PP.6049-55.
34. Zhang, Y., Heym B., Allen B., Young D., Cole S. (1992). The catalase—peroxidase gene and isoniazid resistance of Mycobacterium tuberculosis.
35. Vincent, H. K., Powers S. K., Stewart D. J., Demirel H. A., Shanely R. A., Naito H. (2000). Short-term exercise training improves diaphragm antioxidant capacity and endurance. *European journal of applied physiology*, *81*, *1-2:*PP.67-74.
36. Venditti, P., Di Meo S. (1997). Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. *International journal of sports medicine*, *18*, *7:*PP.497-502.
37. Petibois, C., Cazorla G., Poortmans J.-R., Déléris G. (2002). Biochemical aspects of overtraining in endurance sports. *Sports medicine*, *32*, *13:*PP.867-78.
38. Draeger, K., Wernicke-Panten K., Lomp H.-J., Schüler E., Rosskamp R. (1996). Long-term treatment of type 2 diabetic patients with the new oral antidiabetic agent glimepiride (Amaryl®): a double-blind comparison with glibenclamide. *Hormone and metabolic research*, *28*, *09:*PP.419-25.

۳۹. خیاطیان, م., اردشیرلاریجانی م., فرزامی ب., پورنورمحمدی ش., بوشهری ه. (۱۳۸ .(5بررسی اثر گلی بن کلامید بر ترشح انسولین و فعالیت گلوکوکیناز در جزایر لانگرهانس پانکراس موش های صحرایی سالم و دیابتی. مجله دیابت و لیپید ایران, ۶ (۱), ۲۶-۱۷.