



نقش مکمل یاری بذر کدو و تمرین استقامتی بر نشانگان فشار اکسیداتیو عضلات تند انقباض در

رت‌های نر مسموم شده با پراکسید هیدروژن

ناهید شکوهی راد^۱، طاهره باقرپور^{۱*}، نعمت‌اله نعمتی^۱، ویدا حجتی^۲

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

*مستول مکاتبات: bagherpoor_ta@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۰۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۰۱

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی نقش بذر کدو و تمرین استقامتی بر نشانگان فشار اکسیداتیو بافت عضلات تند انقباض در رت‌های نر مسموم شده با پراکسید هیدروژن انجام شد. بدین منظور تعداد ۴۸ سر رت نر بالغ با وزن 220 ± 20 گرم و ۸ هفته، مطابق با مداخلات استرس (پراکسید هیدروژن)، مکمل بذر کدو و تمرین استقامتی اجرا شد. جهت القا استرس اکسیداتیو تزریق درون صفاقی H_2O_2 با دوز ۲ میلی‌مول بر کیلوگرم به صورت سه بار در هفته یک روز درمیان انجام شد. القا مکمل بذر کدو به صورت ۰/۵ میکروگرم روزانه با تزریق درون صفاقی با غلظت 300000 UI/ml انجام شد. گروه‌های تمرینی روزانه تمرین هوازی بر روی تردمیل را به مدت ۸ هفته انجام دادند، پروتکل تمرین با سرعت ۸ متر در دقیقه و شیب ۱۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل در هفته‌ی اول شروع و به تدریج به سرعت ۲۰ متر در دقیقه با زاویه ده درجه به مدت ۶۰ دقیقه در هفته هشتم رسید. جهت تجزیه تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح $\alpha = 0/05$ استفاده گردید. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین و دریافت بذر کدو به صورت جداگانه اثر معنی‌داری بر غلظت ATP، ADP، نسبت ATP/ADP، MDA و PAB عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) دارد ($p = 0/001$). اما تعامل تمرین و بذر کدو بر MDA ($p = 0/056$) و نسبت ATP/ADP ($p = 0/88$) عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) اثر معنی‌داری نداشت ولی بر سایر متغیرها تاثیر معناداری داشت ($p = 0/001$). مصرف مکمل بذر کدو و تمرین استقامتی می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو در بدن گردد و مکمل یاری بذر کدو و تمرین استقامتی و اثرات آن بر استرس اکسیداتیو نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده دارد.

کلمات کلیدی: تمرین ورزشی، مالون دی آلدهید، کدو، آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

استرس اکسیداتیو در سیستم موجودات زنده به عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژنی و دفاع آنتی-اکسیدانی برمی‌گردد (۲۵). این عدم تعادل زمانی اتفاق می‌افتد که یک افزایش در تولید واسطه‌های فعال اکسیژنی و یا کاهش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود داشته باشد. رادیکال‌های آزاد اتم‌ها یا مولکول‌هایی



هستند که به خاطر داشتن یک یا تعداد بیشتری الکترون جفت نشده قادرند به کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و دزوکسی ریبونوکلوئیک اسید سلولی آسیب رسانده و آنها را اکسید نمایند (۱۴). گونه‌های فعال اکسیژن شامل آنیون سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، رادیکال آلوکسیل، رادیکال پراکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسیژن تک می‌باشند. گونه‌های فعال نیتروژن شامل نیتریک اکساید، نیتریک دی اکساید و پراکسی نیتريت هستند. علاوه بر منابع بیولوژیک، رادیکال‌های آزاد دارای منابع خارجی نیز می‌باشند. منابع خارجی آنها عبارتند از: دود سیگار، تشعشع، نور ماوراء بنفش، آلودگی محیطی، حلال‌های صنعتی، داروها، آفت‌کش‌ها و فعالیت‌های ورزشی. از بین گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر، گروه رادیکال هیدروکسیل موجب پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شود که از محصولات آن می‌توان مالون دی آلدئید (MDA) را نام برد و به عنوان شاخص فشار اکسایشی در نظر گرفت (۱۹).

همچنین عدم توانایی برای حفظ ATP، ADP و همچنین نسبت بین این دو متناسب با انرژی مصرف شده و افزایش مصرف اکسیژن که باعث تخریب بافت عضلانی و استرس اکسیداتیو در عضلات می‌شود که تغییرات موارد یاد شده با فعالیت ورزشی همبستگی بالایی دارند (۶).

فعالیت‌های ورزشی می‌تواند باعث افزایش تولید گونه‌های فعال و رادیکال‌های آزاد شده و منجر به بروز استرس اکسیداتیو شود (۷). ضمناً استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث تسریع پدیده پیری و بروز بسیاری از بیماری‌های مختلف از قبیل سرطان و سندرم متابولیک شود (۱۷). بین تولید رادیکال‌های آزاد و فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی تعادل وجود دارد. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی و اختلال در تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان وضعیت را به

سمت استرس اکسیداتیو و تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد پیش می‌برد. این ترکیبات می‌توانند در اثر واکنش با DNA و ماکرومولکول‌ها موجب اختلال در عملکرد سلول شوند (۲۵).

از سوی دیگر افزایش غیرطبیعی پراکسیداسیون لیپیدی منجر به آسیب غشا و اندامک‌های سلولی می‌شود. بدن انسان دارای انواع مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها جهت مقابله با اکسیدان‌ها و حفظ تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها و جلوگیری از بروز استرس اکسیداتیو می‌باشد. به نظر می‌رسد ورزش می‌تواند در تنظیم تعادل آنتی‌اکسیدان/اکسیدان نقش داشته باشد (۱۸). بدن دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی طبیعی است که به کاهش سیستم عامل کمک می‌کند و این سیستم‌ها با تمرینات ورزشی افزایش می‌یابد و نقش مهمی در مهار و کاهش ROS و اثرات منفی آنها ایفا می‌نماید (۲۱).

فعالیت هوازی در صورتی که با شدت‌های متوسط و پایین انجام شود منجر به تحریک سیستم آنتی-اکسیدانی برای مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌شود. با این حال بسیاری از محققین بر این باورند که فعالیت‌های با شدت بالا نیز در صورتی که به طور منظم انجام شوند منجر به سازگاری می‌گردند (۲۶).

در پژوهشی که توسط شیری و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد نشان داده شده است که روغن دانه کدو به واسطه تاثیرات آنتی‌اکسیدانی توانسته است میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی و ادم مغزی را کاهش می‌دهد که این به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و اسیدها چرب غیراشباع موجود در دانه کدو است (۲۴).

قنبری و همکاران (۱۳۹۱) اثر تمرین استقامتی را بر روی تغییرات ATP کبد بررسی کردند. یافته‌ها حاکی از آن بود که تمرین استقامتی کوتاه مدت و بلند مدت موجب افزایش معنی‌دار در غلظت ATP کبد گردید،

در حالی که تمرین‌های ۹ هفته‌ای تغییری در غلظت ATP کبد ایجاد نکرد (۱۱).

سیف و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که ترکیبات موجود در کدو می‌تواند کبد را در برابر سمیت کبدی ناشی از الکل و استرس اکسیداتیو حفظ کند (۲۳).

در حال حاضر مصرف بعضی از گیاهان دارویی برای درمان و پیشگیری بسیاری از بیماری‌ها افزایش یافته است. بنابراین با توجه به اینکه مصرف مکمل‌های گیاهی در مقایسه با داروهای صنعتی اثرات جانبی کمتری دارد. استفاده از این مکمل‌های گیاهی در برخی موارد می‌تواند جایگزین مناسبی برای دارودرمانی باشد. یکی از این گیاهان طبیعی ضد اکسایشی بذر کدو است. بذر کدو که از منابع غنی اسیدهای چرب غیراشباع، آنتی‌اکسیدان‌ها و فیبر است، که به عنوان ضد گرفتگی عروق و محافظت کننده‌ی کبد شناخته می‌شود. دانه‌های کدو سرشار از آنتی‌اکسیدان هستند که وجود آنها در غلظت کم اکسیداسیون را به تاخیر می‌اندازند یا کاهش می‌دهند (۴، ۲۷).

نامطلوب بودن وضعیت تغذیه‌ای در سالمندان و ورزشکاران به دلیل کاهش کیفیت زندگی یا عدم توجه به آن، زمینه بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله قلبی-عروقی، دیابت و سرطان را فراهم می‌کند (۴) و از آنجا که مصرف مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان از بروز این بیماری‌ها جلوگیری می‌کند، توجه به مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در حال رشد است. ورزشکاران نیز برای کاهش سطوح و یا حذف رادیکال‌های آزاد مکمل‌های ویتامینی را مصرف می‌کنند (۵، ۸).

علاوه بر مصرف مواد ویتامینی مانند ویتامین‌های A، E و C که دارای خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی هستند. توجه به سایر آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی مانند میوه و سبزیجات ضروری است. به نظر می‌رسد

تمرین ورزشی استقامتی به طور منظم سازگاری‌های آنتی‌اکسیدانی مناسبی را ایجاد می‌کند و مانع از افزایش عوامل فشار اکسایشی می‌شود.

مسمومیت با آب اکسیژنه منجر به آسیب اکسیداتیو شده و ممکن است فعالیت بدنی منظم با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش فشار اکسیداتیو شود.

همچنین در این زمینه استفاده از مکمل‌های آنتی-اکسیدانی احتمال دارد بتواند این اثر فعالیت بدنی منظم را تقویت کند؛ با عنایت به کمبود و شاید حتی نبود مطالعه‌ای که اثر همزمان فعالیت بدنی منظم و عصاره بذر کدو را بر آسیب اکسیداتیو بررسی کرده باشد، پژوهشگران پژوهش حاضر به دنبال بررسی این مساله هستند که آیا تلفیق تمرین استقامتی و مصرف بذر کدو بر بهبود نشانگان فشار اکسیداتیو و تخریب DNA بافت عضلات تند انقباض در رت‌های نر مسموم شده با پراکسید هیدروژن اثر دارد یا خیر.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود با کد IR.IAU. ۱۳۹۸.۰۳۱. SHAHROOD.REC. تصویب و بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در این پژوهش ۴۸ سر رت نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهران با میانگین وزنی حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم خریداری گردیده و به طور جداگانه در قفس‌های ویژه نگهداری رت قرار داده شد.

پس از انتقال رت‌ها به حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، رت‌ها به مدت یک هفته جهت تطابق با محیط جدید، بدون دریافت هیچ نوع مداخله‌ای در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به طول ۳۰، عرض و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، نگهداری شدند. در این زمان رت‌ها به



۸ هفته با سرعت ۲۳ متر بر دقیقه، روزانه ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. تمام رت‌ها دوره ۸ هفته‌ای را تکمیل کردند پروتکل تمرین برنامه بین ساعت ۶:۰۰ و ۸:۰۰ صبح اجرا گردید.

گروه پنجم: گروه تمرین- بذر کدو یک گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن: در این گروه، هشت رت تمرینات استقامتی را به مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل همانگونه که در گروه دوم شرح داده شد، انجام دادند. و همچنین یک گرم مکمل بذر کدو به ازای هر کیلوگرم از وزنشان همانگونه که در گروه ۲ شرح داده شد، برای مدت ۸ هفته دریافت کردند.

گروه ششم: گروه تمرین- بذر کدو دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن: در این گروه، هشت رت تمرینات استقامتی را به مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل همانگونه که در گروه دوم شرح داده شد، انجام دادند. همچنین یک گرم مکمل بذر کدو به ازای هر کیلوگرم از وزنشان همانگونه که در گروه ۳ شرح داده شد، برای مدت ۸ هفته دریافت کردند.

القای فشار اکسیداتیو از طریق تزریق پراکسید هیدروژن: تمامی گروه‌ها ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ساخت شرکت سیگما آلدریچ را به مدت ۱۴ روز و به صورت درون صفاقی دریافت نمود.

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

غذای مخصوص جوندگان به صورت پلت دسترسی داشته و از آب شهری برخوردار بودند. رت‌ها در دمای 22 ± 5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50 ± 5 درصد در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت تاریکی: ۱۲ ساعت روشنایی) قرار گرفتند. در این تحقیق کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت. این اعمال قبل و بعد از آزمون‌ها انجام گردید. پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید، رت‌ها به صورت تصادفی به شش گروه هشت تایی تقسیم شدند:

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

گروه دو: گروه مکمل بذر کدو یک گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن: این گروه از رت‌ها یک گرم مکمل بذر کدو به ازای هر کیلوگرم از وزنشان در روز از طریق یک لوله اورو گاستریک برای مدت ۸ هفته دریافت کردند. این گروه از رت‌ها هیچگونه تمرینی را انجام ندادند.

گروه سه: گروه مکمل بذر کدو دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن: این گروه از رت‌ها دو گرم مکمل بذر کدو به ازای هر کیلوگرم از وزنشان در روز از طریق یک لوله اورو گاستریک برای مدت ۸ هفته دریافت کردند. این گروه از رت‌ها هیچگونه تمرینی را انجام ندادند.

گروه چهار: گروه تمرین: هشت رت با تمرینات استقامتی بر روی یک تردمیل شش کاناله برای انجام تمرینات استقامتی به صورت ۵ روز در هفته به مدت

BCA Protein Assay kit (Thermo Scientific™-US) انجام شد. غلظت نمونه‌ها از طریق نمودار خطی غلظت استاندارد کیت BCA محاسبه و جهت انجام وسترن بلات آماده شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: در بخش توصیف از شاخص‌های میانگین و انحراف استاندارد استفاده شده است. در بخش آمار استنباطی و آزمون فرضیه‌ها، پس از غربالگری داده‌ها از نظر توزیع طبیعی (آزمون کولموگروف - اسمیرنوف)، تجانس واریانس (آزمون لوین) و دیتای پرت (نمودار جعبه‌ای) با استفاده از تحلیل دوره‌وار واریانس برای گروه‌های مستقل نتایج به دست آمده مورد تحلیل قرار گرفت. بر اساس این مدل ابتدا اثرهای اصلی تمرین و بذر کدو به تنهایی بر پیامدهای مورد مطالعه مورد آزمون قرار گرفت. سپس اثر تعاملی تمرین و بذر کدو مورد آزمون قرار گرفت. سطح معناداری نیز برای تمام محاسبات ($p < 0/05$) در نظر گرفته شده است.

نتایج

جدول ۱ نتایج آزمون تحلیل دوره‌وار واریانس مستقل بر غلظت فاکتورهای مورد بررسی در عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس دوره‌وار مشخص شد، تمرین و دریافت بذر کدو به صورت جداگانه اثر معنی‌داری بر غلظت ATP، ADP، نسبت ATP/ADP، MDA و PAB عضله طویل بازکننده انگشتان دارد ($p = 0/001$). تعامل تمرین و بذر کدو نیز اثر معنی‌داری بر غلظت ATP، ADP و PAB عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) داشت ($p = 0/001$). اما تعامل تمرین و بذر کدو اثر معنی‌داری بر MDA ($p = 0/56$) و نسبت ATP/ADP ($p = 0/88$) عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) نداشت. غلظت ATP و ADP در پایان دوره به طور معنی‌داری در گروه‌های بدون

بافت برداری: در روز آزمایش، بافت عضله طویل بازکننده انگشتان یا Extensor Digitorum Longus (تند انقباض) بعد از جداسازی و شستشو با محلول PBS قرار داده شده و در محلول (Ambion, L/N: 1206029 RNA Later) قرار داده شد. این محلول برای تثبیت و محافظت از بافت RNA سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کل RNA از ۳۰ میلی‌گرم بافت (وزن مرطوب) با استفاده از مینی کیت کایژن استخراج شد (kit, QIAGEN, Germany). ۳۰ میلی‌گرم بافت عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) (بافت مرطوب) با استفاده از روتور-استاتور TissueRuptor (230V, 50-60 Hz_ QIAGEN, Germany) هم‌وزن نیزه شد. محلول هوموژنات در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه با افزودن ۵۹۰ میکرولیتر آب بدون RNase و ۱۰ میکرولیتر پروتئیناز K به محلول انکوبه شد. سپس به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد سانتی‌فیوژ شد و به لوله جدید منتقل شد. پس از آن به مقدار نصف حجم (معمولاً ۴۵۰ میکرولیتر) اتانول خالص به محلول حاوی RNA اضافه شد. پس از شستشو با بافر RW1 به طور مستقیم به مخزن مجهز به فیلتر مخصوص در مرحله آخر، RNA با اضافه کردن ۳۰ میکرولیتر آب آزاد RNase جمع‌آوری و در دمای نگهداری ۲۰- شد. **اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی:** بافت عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) بعد از کشتن رت به روش قطع نخاع جدا شده و بعد از شستن با محلول PBS بلافاصله در نیتروژن مایع (۱۹۶- درجه سانتی-گراد) منجمد شده و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قبل از استخراج پروتئین ذخیره می‌شود. پروتئین کل بافت عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) با استفاده از کیت (UK) PRO-PREP, (Intron استخراج شد. اندازه‌گیری پروتئین برای تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از کیت Micro

گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ($p = 0/1$) نداشت. اما گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن اختلاف معنی-داری با گروه دارونما ($p = 0/013$) داشت. نسبت ATP/ADP در گروه دریافت دوز دو و دوز یک اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند ($p = 0/07$) (نمودارهای ۳ و ۴). اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

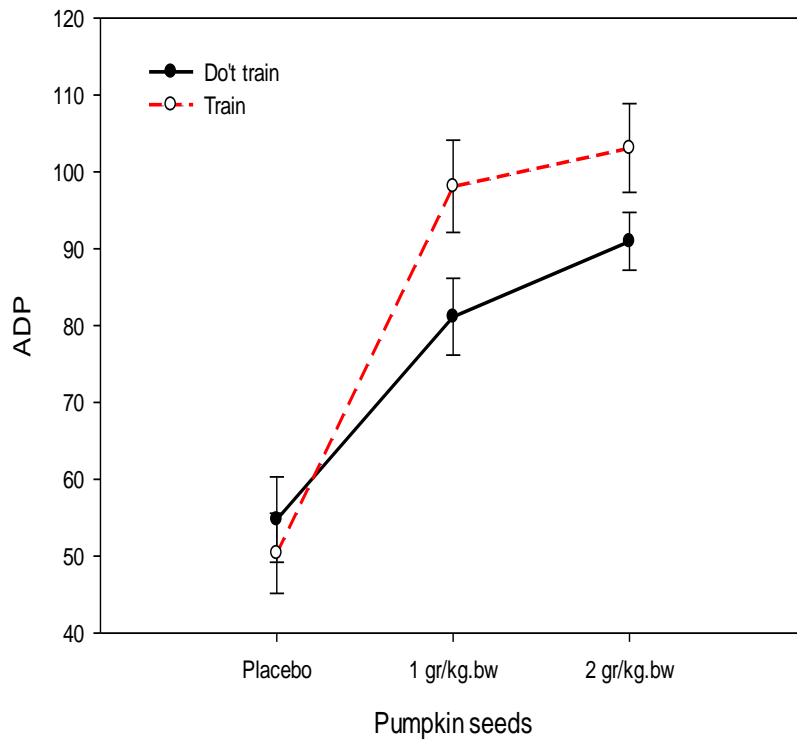
غلظت PAB عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) به عنوان آخرین یافته پژوهش حاضر، همانطور که نشان داده شده است، به طور کلی میانگین گروه‌هایی که تمرین نکرده بودند به صورت معنی داری از گروه‌هایی که تمرین کرده بودند بیشتر بود. با افزایش دوز مصرفی، غلظت PAB به صورت کلی کاهش یافت. الگوی تغییرات در دوزهای مختلف با توجه به تمرین کردن یا تمرین نکردن مشابه بود. همچنین نتایج آزمون بن فرونی نشان داد غلظت PAB در پایان دوره به طور معنی داری در گروه‌های بدون مکمل بیشتر از گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز یک گرم و دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ($p = 0/001$) و گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ($p = 0/001$) بود. همچنین میزان PAB در گروه دریافت دوز دو کمتر از دوز یک ($p = 0/001$) بود (نمودار ۵).

مکمل کمتر از گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز یک گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ($p = 0/001$) و گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ($p = 0/001$) بود. همچنین میزان ATP و ADP در گروه دریافت دوز دو بیشتر از دوز یک به ترتیب ($p = 0/001$) و ($p = 0/005$) بود (نمودارهای ۱ و ۲).

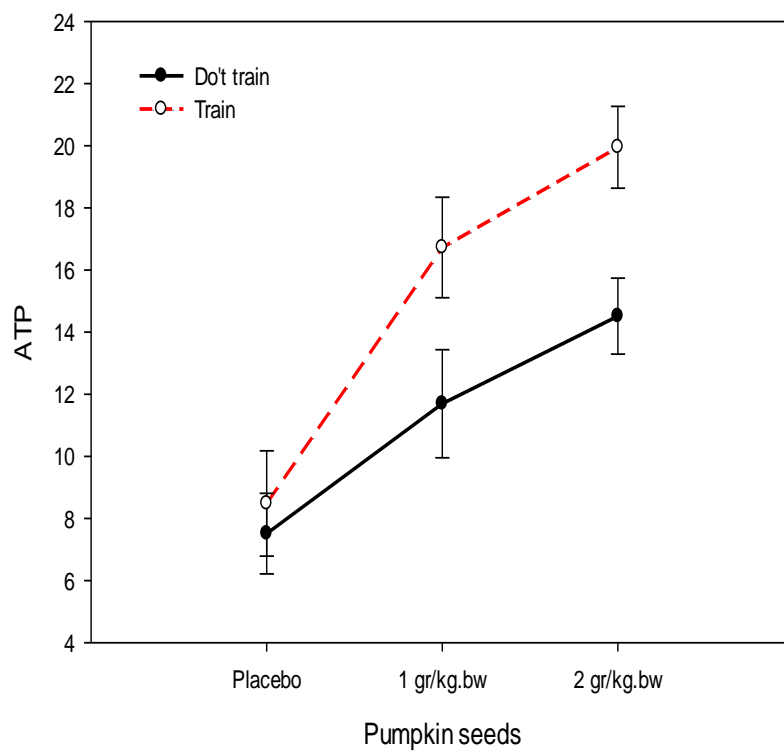
با وجود معنی دار بودن اثر اصلی تمرین و مکمل، تعاملی بین این دو در متغیرهای MDA و نسبت ATP/ADP مشاهده نشد و نتایج نشان داد که تمرین هوازی و مکمل بذر کدو بر غلظت MDA و نسبت ATP/ADP عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) در رت‌های مسموم شده با پراکسید هیدروژن اثر معنی دار ندارد. همچنین نتایج آزمون بون فرونی نشان داد غلظت MDA در پایان دوره به طور معنی-داری در گروه‌های بدون مکمل کمتر از گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز یک گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ($p = 0/001$) و گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ($p = 0/001$) بود. همچنین میزان MDA در گروه دریافت دوز دو کمتر از دوز یک ($p = 0/001$) بود (نمودار ۳). همچنین در رابطه با نسبت ATP/ADP در پایان دوره در گروه‌های بدون مکمل اختلاف معنی داری با گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز یک

جدول ۱- آزمون تحلیل دوراهه واریانس مستقل بر غلظت فاکتورها در عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض)

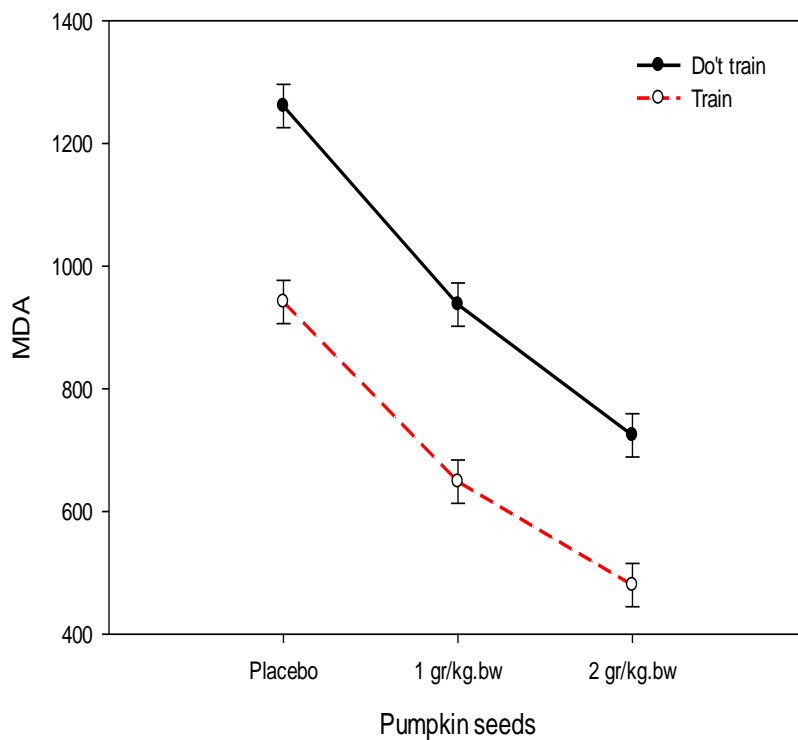
عامل	مجموع مربعات	DF	میانگین مربعات	F	SIG
ATP	۳۶/۶۶۰	۲	۱۸/۳۳۰	۸/۱۸۳	*0/001
ADP	۷۵۱/۹۷۲	۲	۳۷۵/۹۸۶	۱۳/۵۴۶	*0/001
ATP/ADP	$9/297 \times 10^{-5}$	۲	$4/648 \times 10^{-5}$	0/124	0/883
MDA	۸۶۰۲/۱۹۳	۲	۴۳۰۱/۰۹۷	0/۵۷۷	0/568
PAB	۴۹۸۸/۵۷۱	۲	۲۴۹۴/۲۸۵	۹/۹۳۵	*0/001



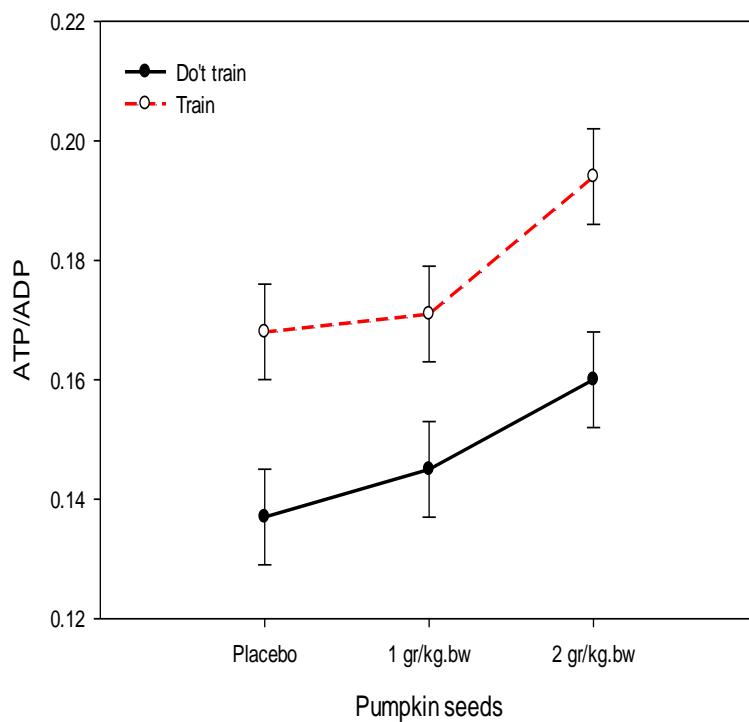
نمودار ۱- غلظت ADP عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) در گروه‌های مورد مطالعه.



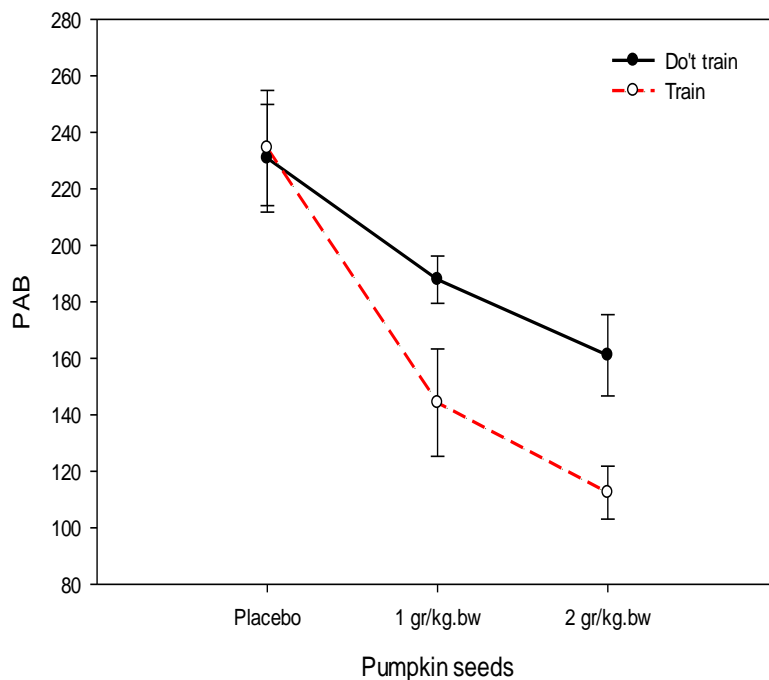
نمودار ۲- غلظت ATP عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۳- نسبت MDA عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۴- نسبت ATP/ADP عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۵- غلظت PAB عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) در گروه‌های مورد مطالعه

بحث

تغییر معنی‌دار در غلظت ATP عضلانی را گزارش نموده‌اند (۱، ۱۰، ۱۵، ۲۱).

قنبری و همکاران (۱۳۹۱) اثر تمرین استقامتی (۶۰ دقیقه با شدت ۲۵ متر بر دقیقه) را در سه گروه تمرینی کوتاه مدت (۳ هفته)، متوسط (۹ هفته) و بلندمدت (۱۲ هفته) روی تغییرات ATP کبد بررسی کردند. یافته‌ها حاکی از آن بود که تمرین استقامتی کوتاه مدت و بلند مدت موجب افزایش معنی‌دار در غلظت ATP گردید، در حالی که تمرین‌های ۹ هفته‌ای تغییری در غلظت ATP کبد ایجاد نکرد (۱۱).

هاگتون و همکاران کاهش ATP کبدی را به دنبال فعالیت تمرینی در موش صحرائی گزارش کردند (۱۶). از دلایل این تفاوت می‌توان به تغییر متابولیت‌های موجود در اثر تمرین یاد شده است و مهم‌ترین علت کاهش ATP را، تلاش اندام‌ها برای کاهش لاکتات تولیدی در طی تمرین دانست. بر اساس پژوهش‌های

پژوهش حاضر بررسی نقش مکمل یاری بذر کدو و فعالیت ورزشی بر عوامل استرس اکسیداتیوی بافت عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) رت‌های نر مسموم شده با پراکسید هیدروژن را مورد مطالعه قرار داده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد پس از اجرای پروتکل هشت هفته‌ای، تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت ATP بافت عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) دارد، به طوری که در گروه تمرین کرده میزان مصرف ATP بعد از ۸ هفته افزایش داشت. بر اساس گزارش‌های موجود، عوامل متعددی بر غلظت ATP عضلانی اثرگذار هستند (۱۵).

آنچه که مسلم است فعالیت ورزشی از جمله عوامل بارزی است که موجب تغییرات غلظت ATP عضلانی می‌شود. البته تاکنون پاسخ‌های متفاوتی در این مورد گزارش شده است. برخی پژوهشگران افزایش معنی‌دار، تعدادی نیز کاهش معنی‌دار و در برخی دیگر عدم



یاد شده به نظر می‌رسد عواملی مانند شدت تمرین، مدت تمرین، طول دوره‌ی تمرین و فاصله‌ی آخرین جلسه تمرین تا بیهوشی در غلظت ATP نقش مهمی داشته باشند (۳).

میزان لاکتات تولیدی در عضلات تند انقباض بیشتر از عضلات کند انقباض می‌باشد و با وجه به این که بافت اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر از نوع تند انقباض می‌باشد شاید دلیل کاهش بیشتر ATP استفاده از تارهای عضلانی نوع تند انقباض باشد و چون لاکتات بیشتری را تولید کرده‌اند ATP بیشتری برای کاهش میزان لاکتات تولیدی مصرف شده است.

دریافت بذر کدو نیز اثر معنی داری بر غلظت ADP و ATP بافت طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) داشت. به طوری که با افزایش میزان دوز مصرفی میزان مصرف ATP افزایش نشان داد. تا کنون مطالعه‌ای به بررسی اثر بذر کدو بر میزان ATP نپرداخته است.

با این وجود با توجه به اینکه بذر کدو علاوه بر چربی، پروتئین، کربوهیدرات، فیبر و ... دارای مواد دیگر مانند مواد معدنی و عناصر عالی دیگر است که بر اساس گزارشات بذر کدو خاصیت ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی دارد و در مطالعات دیگر نشان داده شده است که زمان واماندگی شنا را افزایش می‌دهد و به عنوان یک ماده ضدخستگی شناخته می‌شود و می‌تواند عملکرد ورزشی را بالا ببرد (۹).

در ایجاد خستگی عضلانی بسته به ترکیب فیبر عضله (تند یا کند)، شدت، نوع و مدت زمان انقباض و تناسب اندام در هر فرد، چندین عامل نقش دارند. برخی از این عوامل شامل: تخلیه سریع گلیکوژن، تجمع موادی مثل لاکتات، یون هیدروژن و فسفر داخل سلولی، اختلال در ترشح کلسیم از شبکه سارکوپلاسمیک، عدم توانایی برای حفظ ATP کافی متناسب با انرژی مصرف شده و افزایش مصرف

اکسیژن که باعث تخریب بافت عضلانی و استرس اکسیداتیو در عضلات می‌شود، می‌باشند. هر کدام از این عوامل به تنهایی یا به همراه یکدیگر به طور مؤثری باعث از بین رفتن نیروی عضلانی و در نتیجه ایجاد خستگی می‌شوند.

همانطور که در بالا اشاره شد بذر کدو به عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند از استرس اکسیداتیو جلوگیری کند و هر چه مقدار دوز این مکمل بیشتر باشد اثر بهتری به جای می‌گذارد. با توجه به این نکات به نظر می‌رسد افزایش ATP عضلانی در راستای افزایش عملکرد کلی منطقی به نظر برسد. تعامل تمرین و بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت ATP و ADP بافت عضلانی داشت.

به نظر می‌رسد در عضلات تند انقباض به دلیل مصرف ATP بیشتر برای کاهش لاکتات تولیدی دوز مصرفی مکمل بذر کدو بسیار مهم باشد. زیرا نتایج پژوهش حاضر همانطور که گفته شد می‌تاند با دوز مصرفی بالاتر مانع کاهش بیشتر ATP شود و در واقع از ایجاد استرس اکسیداتیو جلوگیری کند.

ATP و ADP نه تنها به عنوان یک منبع رایج انرژی برای سلول‌ها محسوب می‌شود بلکه می‌تواند به عنوان یک مولکول پیام‌رسان بین سلولی ایفای نقش کند و سبب ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیک متنوع در سلول‌های مختلف شود. به صورت خارج سلولی می‌تواند از طریق گیرنده‌های سطح سلولی پورینی موسوم به گیرنده‌های P2، سبب راه‌اندازی مسیرهای پیام‌رسانی داخل سلولی و القای اثرات کوتاه مدتی چون ترشح سیتوکین، تجمع پلاکت‌ها، التهاب و موارد بسیار دیگر شود. از طرفی ATP می‌تواند در سلول‌های مختلف اثرات بلندمدت مختلفی چون آپوپتوز، تمایز و تکثیر اعمال کند که اشاره به اهمیت این نوکلئوتیدها در فرآیندهایی چون رشد و مرگ سلولی دارد (۲۸).

مسموم شده بودند و موش‌هایی که تحت استرس اکسیداتیو قرار گرفته بودند در هر دو گروه بر شاخص‌های مسیر آپوپتوز در بافت کبد تاثیر داشت و باعث کاهش این شاخص‌ها شد و این مطالعه نتیجه می‌گیرد که ظاهراً ترکیباتی در روغن تخم کدو وجود دارد که بدن را در برابر استرس اکسیداتیو و الکل محافظت می‌نماید (۲۳).

انجام تمرینات ورزشی از طریق افزایش عوامل آنتی اکسیدانی می‌تواند میزان استرس اکسیداتیو بعد فعالیت را کاهش دهد که این مکانیسم یکی از سازگاری‌های است که بدن با تمرین می‌تواند کسب کند از طرفی بذر کدو نیز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده که به نظر می‌رسد اثرات تمرین و بذر کدو توانسته است میزان استرس اکسیداتیو را بیشتر کاهش دهد به طوری که با افزایش دوز مصرفی کدو، میزان استرس اکسیداتیو در گروه تمرین کرده بیشتر کاهش نشان داد. میزان طبیعی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پاسخگوی مقابله با رادیکال‌های تولید شده در اثر این نوع تمرین بوده‌اند، که می‌تواند توجیه مناسبی برای عدم تغییر در فعالیت این آنزیم‌ها به حساب آید. بذر کدو خاصیت آنتی‌اکسیدانی و سبب بهبود ریکاوری بهتر بعد فعالیت می‌شود.

آخرین یافته پژوهش حاضر نشان داد که غلظت MDA در پایان دوره به طور معنی‌داری در گروه‌های بدون مکمل بیشتر از گروه دریافت کننده بذر کدو با دوز یک گرم و دو گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بود. همچنین میزان MDA در گروه دریافت دوز دو کمتر از دوز یک بود ($p = 0/001$). به صورت کلی میانگین گروه‌هایی که تمرین نکرده بودند به صورت معنی‌داری از گروه‌هایی که تمرین کرده بودند بیشتر بود. با افزایش دوز مصرفی، غلظت MDA به صورت کلی کاهش یافت. الگوی تغییرات در دوزهای مختلف با توجه به تمرین کردن یا تمرین نکردن مشابه بود.

در واقع با مصرف مکمل بذر کدو می‌توان از کاهش ATP جلوگیری کرد و در نهایت از پیشرفت مرگ سلولی پیشگیری کرد. مطالعات مختلف بیشتر ثابت کرد که ATP سبب مهار همانندسازی DNA و رشد سلولی در رده‌های سلولی سرطان پانکراس، کلون، ملانوما، روده و سینه می‌شود. همچنین مطالعات متعددی که بر روی مدل‌های حیوانی صورت گرفته است حاکی از اثر ضدتوموری این مولکول در موجود زنده نیز می‌باشد. مطالعات بالینی بر روی انسان نیز نشان می‌دهد که ATP اثرات مؤثری در درمان برخی بیماری‌ها دارد در حالی که هیچ اثر جانبی از آن مشاهده نشده است (۲۲).

در این مطالعه PAB به عنوان یک فاکتور که تصویری از فعالیت استرس اکسیداتیو و مقایسه آن با سیستم آنتی اکسیدانی است مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر میزان PAB بعد از ۸ هفته تمرین کاهش نشان داد. صرفه نظر از تمرین استقامتی و بذر کدو خود نیز به تنهایی توانسته اثرات معناداری بر PAB داشته باشد به طوری که با افزایش دوز مصرفی میزان PAB کاهش بیشتری داشته است. از طرف دیگر تعامل بین تمرین و بذر کدو سبب کاهش معنادار در میزان PAB در هر دو گروه شده است ($p=0.001$). سیف و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که ترکیبات موجود در کدو می‌تواند کبد را در برابر سمیت کبدی ناشی از الکل و استرس اکسیداتیو حفظ کند (۲۳).

اسیدهای چرب غیر اشباع، پیش‌ساز اولیه بسیاری از ترکیبات لیپوئیک‌اند که در واکنش التهابی نقش دارند که در کدو به وفور یافت می‌شوند. در مطالعه‌ی ابوسیف در سال ۲۰۱۴ که با عنوان تاثیر روغن بذر کدو بر مواجهه با مسمومیت کبدی ناشی از الکل و استرس اکسیداتیو انجام شده است مشاهده می‌شود که مکمل دهی با روغن بذر کدو به رت‌هایی که با الکل



مصرفی نیز عامل بسیار مهمی می‌باشد ولی برای رسیدن به نتایج قطعی‌تر نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده می‌باشد.

منابع

1. Azamian Jazi A., Shokouhi R. 2016. The Effect of an Eight Week Combined Exercise Training on Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes. *SSU Journals*, 24(8): 667-78. [In Persian]
2. Bellafiore M., Bianco A., Battaglia G., Naccari M.S., Caramazza G., Padulo J., Chamari K., Paoli A., Palma A. 2019. Training session intensity affects plasma redox status in amateur rhythmic gymnasts. *Journal of Sport and Health Science*, 8(6): 561-566.
3. Broxterman R.M., Layec G., Hureau T.J., Morgan D.E., Bledsoe A.D., Jessop J.E., Amann M., Richardson R.S. 2017. Bioenergetics and ATP synthesis during exercise: role of group III/IV muscle afferents. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 49(12): 2404.
4. Chen L., Huang G. 2018. Extraction, characterization and antioxidant activities of pumpkin polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*. 118: 770-774.
5. Dabidi Roshan V., Moslehi Najafabadi E. 2009. The Effect of short-term vitamin E supplementation on some indexes of sport performances and lipid per-oxidation in healthy men. *World Journal of Sport Sciences*, 2(2): 75-81.
6. Fairus A.M., Choudhary B., Hosahalli S., Kavitha N., Shatrah O. 2017. Dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors affect ATP depletion, endogenous ROS and mediate S-phase arrest in breast cancer cells. *Biochimie*, 135: 154-163.
7. Francesca M., Tania F., Riccardo M., Michele M., Tania G., Pietro M., Alessandra M. 2019. Oxidative stress in

لذا با وجود معنی دار بودن اثر اصلی تمرین و مکمل، تعاملی مشاهده نشد و نتایج نشان داد که تمرین هوازی و مکمل بذر کدو بر غلظت MDA عضله طویل بازکننده انگشتان (تند انقباض) در رت‌های مسموم شده با پراکسید هیدروژن اثر معنی‌دار ندارد. این نتایج با تحقیق حبیبان و همکاران (۱۳۹۲) همسو می‌باشد. آنها در مطالعه‌ای اثر حمایتی تمرین هوازی بر استرس اکسیداتیو ناشی از سرب در مخچه موش صحرائی را مورد بررسی قرار دادند، که تیمار مزمن با استات سرب سطوح MDA مخچه‌ای را در موش‌ها افزایش داد، اما اثر متقابل تمرین هوازی و استات سرب سطوح MDA را کاهش داد (۱۳).

همچنین مطالعه، اعظمیان جزی و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که تمرینات منظم هوازی تاثیر مثبت و معناداری بر کاهش سطوح مالون‌دی‌آلدهید دارد که با تحقیق حاضر همسو می‌باشند (۱).

ماروسی و همکاران در سال ۲۰۱۲ تحقیقی با عنوان تاثیر تمرینات بلند مدت هوازی بر کاهش استرس-اکسیداتیو در هیپوکمپ موش‌های سالم را بررسی-کردند (۲۰).

علت عدم تغییر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به دنبال تمرین هوازی در این تحقیق را می‌توان توسط چند عامل توجیه کرد. این احتمال وجود دارد که شدت تمرین به کارگرفته شده، در حدی نبوده است که میزان تولید گونه‌های اکسیژن فعال را افزایش داده باشد. از طرف دیگر، این احتمال وجود دارد که انجام تمرینات منظم با شدت‌های کم، سبب ایجاد سازگاری در سیستم ضد اکسایشی بدن شود (۲).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل بذر کدو می‌تواند منجر به کاهش شرایط استرس اکسیداتیو حاکم بر سلول‌ها شود و از طرفی میزان دوز



- concentrations in rats. *Amino Acids*, 11: 1-4.
16. Houghton C., Hawkins R., Williamson D., Krebs H. 1971. The effects of physical training on the metabolic response to short-term severe exercise in the rat. *Biochemical Journal*, 124(5): 57P.
17. Kattoor A.J., Pothineni N.V., Palagiri D., Mehta J.L. 2017. Oxidative stress in atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*, 19(11): 42.
18. Liang R., Shao X., Shi Y., Jiang L., Han G. 2020. Antioxidant defenses and metabolic responses of blue mussels (*Mytilus edulis*) exposed to various concentrations of erythromycin. *Science of The Total Environment*. 698: 134221.
19. Madany J. 2016. Serum malon dialdehyde level and activity of total antioxidant status of dogs with age-related cataract. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(2): 429-431.
20. Marosi K., Bori Z., Hart N., Sárga L., Koltai E., Radák Z., Nyakas C. 2012. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience*, 226: 21-28.
21. Park S.Y., Kwak Y.S. 2016. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 12(2): 113.
22. Puthuchery Z.A., Astin R., Mcphail M.J., Saeed S., Pasha Y., Bear D.E., Constantin D., Velloso C., Manning S., Calvert L., Singer M. 2018. Metabolic phenotype of skeletal muscle in early critical illness. *Thorax*, 73(10): 926-935.
23. Seif H.S. 2014. Ameliorative effect of pumpkin oil (*Cucurbita pepo* L.) against alcohol-induced hepatotoxicity and oxidative stress in albino rats. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3): 178-185.
- exercise training: the involvement of inflammation and peripheral signals. *Free Radical Research*, 53:1155-1165.
8. Fusco D., Colloca G, Monaco M., Cesari M. 2007. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clinical interventions in aging*, 2(3): 377.
9. Gastin P.B. 2001. Energy system interaction and relative contribution during maximal exercise. *Sports Medicine*, 31(10): 725-741.
10. Ghanbari-Niaki A., Fathi R., Hedayati M. 2011. Effect of 8-weeks endurance training with two different durations on plasma HDL-ghrelin in male rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 13(3): 309-314. [In Persian]
11. Ghanbari-Niaki A., Kraemer R., Abednazari H. 2011. Time-course alterations of plasma and soleus agouti-related peptide and relationship to ATP, glycogen, cortisol, and insulin concentrations following treadmill training programs in male rats. *Hormone and Metabolic Research*, 43(02): 112-116. [In Persian]
12. Gomes E.C., Silva A.N., Oliveira M.R.D. 2012. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 12:12P.
13. Habibian M., Dabidi Roshan V., Moosavi S.J., Mahmoody S.A. 2013. Neuroprotective effect of aerobic training against Lead-induced oxidative stress in rat cerebellum. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 15(3): 39-45. [In Persian]
14. Harrison D., Griendling K.K., Landmesser U., Hornig B., Drexler H. 2003. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 91(3): 7-11.
15. Holeček M., Vodeníčarovová M. 2019. Effects of histidine load on ammonia, amino acid, and adenine nucleotide



27. Zhao S., Liang T., Zhou T., Li D., Wang B., Zhan J., Liu L. 2018. Biotransformation and responses of antioxidant enzymes in hydroponically cultured soybean and pumpkin exposed to perfluorooctane sulfonamide (FOSA). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161: 669-675.
28. Zieliński J., Slominska E.M., Król-Zielińska M., Krasiński Z., Kusy K. 2019. Purine metabolism in sprint-vs endurance-trained athletes aged 20–90 years. *Scientific Reports*, 9(1): 1-10.
24. Shiri E., Rahnema M., Bigdeli M. 2016. The effect of pumpkin seed oil (*Cucurbita Moschata*) on the permeability of the blood-brain barrier and on brain edema in stroke animal model, *Journal of anaorth Khorasan University of Medical Sciences*, 8(2): 301-311 [In Persian]
25. Sies H. 2015. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4: 180-183.
26. Tartibian B., Baghaei B., Baradaran B. 2013. Catalase enzyme gene expression and oxidant markers' levels in trained women: effect of incremental exercise. *SSU Journals*, 20(6): 778-878. [In Persian]