Research Paper

The Effect of Eight Weeks of High Intensity Interval Training with Citrus Aurantium Extract Consumption on Oxidative Stress and Antioxidant Levels of Soleus Muscle in Elderly Rats

Maryam Kheyrdeh [1]*, Mehdi Nora [2], Rasoul Jamali Fashi [3], Abdolali Rakhshanizadeh
[1]. Department of Physical Education, Sama Technical and Vocational College, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
[2]. Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Shiraz Branch, Shiraz, Iran
[3]. Department of Physical Education and Sport Sciences, Sama Technical and Vocational College, Varamin Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
[4]. Department of Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Iran

Received: 5 September 2020
Revised: 6 October 2020
Accepted: 12 December 2020

Use your device to scan and read the article online

Keywords:
Aging, Citrus Aurantium, Antioxidant, High Intensity Interval Training (HIIT), Muscle, Oxidative Stress

Abstract

Introduction: Aging is a biological process that causes muscle dysfunction and muscle atrophy by increasing oxidative stress. Although the role of exercise and some herbs in improving muscle metabolism has been identified, the effect of high intensity interval training (HIIT) and Citrus aurantium (CA) consumption on oxidative stress in muscle tissue following aging is unknown. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of eight weeks of HIIT with CA consumption on glutathione peroxidase (GPx), malondialdehyde (MDA) and carbonyl protein (PC) levels in the soleus muscle tissue of elderly rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 35 elderly rats with the age range of 14 to 18 months, and approximate weight of 270 to 320 g were randomly divided into (1) control (C), (2) sham (Sh), (3) HIIT, (4) CA and (5) HIIT+CA groups. Groups 3 and 5 performed HIIT for eight weeks, five sessions per week (at 85-110% VO_{2max} and speed of 15-25 m/min). Also, groups 4 and 5 received 300 mg/kg/day Citrus aurantium extract peritoneally for eight weeks. To analyze the data, one-way analysis of variance with Tukey's *post- hoc* test was performed in Graph Pad Prism 8.3.0 software ($P \leq 0.05$).

Findings: HIIT increased GPx and decreased PC ($P \leq 0.05$). CA consumption and HIIT and CA interaction increased GPx and decreased MDA and PC in the soleus muscle tissue of elderly rats ($P \leq 0.05$).

Conclusion: It seems that HIIT and CA consumption separately and synergistically have a beneficial effect on reducing oxidative stress and increasing antioxidant activity, however, further studies in this regard seem necessary.

Citation: Kheyrdeh M, Nora M, Jamali Fashi R, Rakhshanizadeh A. The effect of eight weeks of high intensity interval training with Citrus aurantium extract consumption on oxidative stress and antioxidant levels of soleus muscle in elderly rats. Res Sport Sci Med Plants. 2020; 1 (1): 29- 38.

***Corresponding author:** Maryam Kheyrdeh
Address: Department of Physical Education, Sama Technical and Vocational College, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
Tell: 00989171019860
Email: kheyrdeh.m@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

Aging as a biological phenomenon causes muscle atrophy by decreasing mitochondrial function, increasing reactive oxygen/nitrogen species (RONS), decreasing superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), increasing malondialdehyde (MDA) and carbonyl protein (PC) (1). But regular exercise increases the expression of antioxidants in skeletal muscles by increasing mitochondrial biogenesis and protein kinases. High and moderate intensity training also increase SOD, GPx and PC. Aerobic, anaerobic and combined training increase MDA, GPx, SOD, and glutathione reductase (GR) (3, 7, 8) as well. Also, consumption of medicinal plants such as Citrus aurantium (CA) increases mitochondrial biogenesisand sirtuin 1. It reduces inflammatory factors, and has favorable effects on the elderly rats (9, 11). Due to the unknown effect of HIIT and CA consumption on antioxidant enzymes and oxidative stress in muscle tissue, the present study aimed to investigate the effect of eight weeks of HIIT and CA consumption on oxidative stress and antioxidant levels in the soleus muscle of elderly rats.

Materials and Methods

In this experimental study, 35 elderly rats with the age range of 14 to 18 months, and approximate weight of 270 to 320 g were randomly assigned to (1) control (C), (2) sham (Sh), (3) HIIT, (4) CA and (5) HIIT + CA groups. Groups 3 and 5 performed HIIT for eight weeks, five sessions per week (at 85-110% VO_{2max} and speed of 25-25 m/min) (12). Also, groups 4 and 5 received 300 mg/kg/day Citrus aurantium extract peritoneally for eight weeks (13). 48 hours after the last training session and by using a combination of ketamine and xylazine, the rats were anesthetized and their soleus muscles were extracted by the laboratory experts. To measure MDA levels, MDA measuring kit made by ZellBio GmbH, Ulm, with a sensitivity of 0.1 micromolar was used, and PC surfaces were measured by spectrophotometry using PC measuring kit made by Kiazist Iran company with a sensitivity of nanomoles per milligram. Also, GPx levels were measured using Nagpix ™ Glutathione Peroxidase kit using BMG Labtech Ltd., Aylesbury, UK. One-way analysis of variance with Tukey's *post hoc* test was used to analyze the results. Data analysis and plotting of research charts were performed using Graph Pad Prism 8.3.0 software ($P \leq 0.05$).

Findings

The mean and standard deviation of GPx, MDA and PC levels in the research groups are presented in Figures 1 to 3. The results of one-way analysis of variance showed a significant difference in GPx (P=0.001), MDA (P=0.001) and PC (P=0.001) levels in the muscle tissue of elderly rats in the research groups. The results of Tukey's *post- hoc* test showed that GPx levels in the C and Sh groups were not significantly different (P=0.57), but in the HIIT (P=0.001), CA (P=0.001) and HIIT + CA (P=0.001) groups were significantly higher than the C group. In the HIIT (P=0.001), CA (P=0.001) and HIIT + CA (P=0.001) groups, the levels were significantly higher than the Sh group. No significant difference was observed in the CA and HIIT groups (P=0.99), but in the HIIT+CA group, the levels were significantly higher than the HIIT (P=0.001) and CA (P=0.001) groups (Figure 1). MDA levels in the C and Sh groups were not significantly different (P=0.99), but in the CA (P=0.02) and HIIT+CA (P=0.001) groups, they were significantly lower than the C group; also in the CA (P=0.007) and HIIT+CA (P=0.001) groups, they were significantly lower than the Sh group. MDA levels in the HIIT+CA group were significantly lower than the HIIT (P=0.001) and CA (P=0.003) groups (Figure 2).

PC levels in the C and Sh groups were not significantly different (P=0.23), however, in the HIIT (P=0.001), CA (P=0.001) and HIIT+CA (P=0.001) groups, they were significantly lower than the C and Sh groups. There was no significant difference between the CA (P=0.99) and HIIT+CA (P=0.91) groups compared to the HIIT group; Also, PC levels in the HIIT+CA group were not significantly different from the CA group (P=0.93) (Figure 3).

Discussion

The results showed that HIIT increased GPx and decreased PC levels in the soleus muscle of elderly rats. HIIT with the mechanism of instant response to oxidative stress (OS) induced by exercise modulates cell redox increases protein kinases, the expression of respiratory transcription proteins (NRF1/2) and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1), and modulates nuclear factor-κB (NF-κB). It also increases SOD and GPx expression and decreases PC and MDA (8, 14); Moreover, consumption of CA and HIIT + CA with the mechanism of increasing the expression of forkhead box O (FOXO) protein, activation of PI3K pathway, AKT1/2, IGF-1, increasing of PGC-1α, modulation of NRF1/2, NF-κB, increasing of protein synthesis and antioxidants enzymes in mitochondria and cytosol increases GPx and decreases MDA and PC in the soleus muscle tissue of elderly rats (9, 16).

Conclusion

It seems that HIIT and CA consumption separately and synergistically have a beneficial effect on reducing oxidative stress and increasing antioxidant activity, however, further studies in this regard seem necessary.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The present study was conducted based on the animal ethical guidelines.

Funding

No funding.

Authors' contributions

Design and conceptualization: Maryam Kheyrdeh, Mehdi Nora; Methodology and data analysis: Rasoul Jamali Fashi, Abdolali Rakhshanizadeh; Supervision and final writing: Maryam Kheyrdeh

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

مقاله پژوهشی

اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مصرف بهار نارنج بر سطوح استرس اکسیداتیو و آنتی اکسیدان بافت عضله نعلی موش های صحرایی سالمند

مریم خیرده [۱*]، مهدی نورا [۲]، رسول جمالی فشی [۳]، عبدالعلی رخشانی زاده [۴]

۱. گروه تربیت بدنی دانشکده فنی و حرفه ای سما، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران
۳. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده فنی و حرفه ای سما، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
۴. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، ایران

تاریخ دریافت: ۱۵ شهریور ۱۳۹۹
تاریخ داوری: ۱۵ مهرماه ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۲۲ آذرماه ۱۳۹۹

از دستگاه خود برای اسکن و خواندن مقاله به صورت آنلاین استفاده کنید

واژه‌های کلیدی:
استرس اکسیداتیو، آنتی اکسیدان، بهار نارنج، تمرین تناوبی شدید، سالمندی

چکیده

مقدمه و هدف: سالمندی فرآیندی بیولوژیکی است که با افزایش استرس اکسیداتیو موجب اختلال در عملکرد عضلانی و آتروفی عضلانی می‌گردد، اگرچه نقش تمرینات ورزشی و برخی گیاهان دارویی بر بهبود سوخت و ساز عضلانی مشخص شده است، اما اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و مصرف بهار نارنج (CA) بر استرس اکسیداتیو بافت عضلانی متعاقب سالمندی ناشناخته است. از این‌رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته HIIT همراه با CA بر سطوح گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و پروتئین کربونیل (PC) در بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش صحرایی سالمند در محدوده سنی ۱۴ تا ۱۸ ماه، وزن تقریبی ۲۷۰ الی ۳۲۰ گرم به طور تصادفی به گروه‌های ۱) کنترل (C)، ۲) شم (Sh)، ۳) HIIT، ۴) CA و ۵) HIIT+CA تقسیم شدند. گروه‌های ۳ و ۵ به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته به انجام فعالیت‌های HIIT (با شدت ۸۵ درصد تا ۱۱۰ درصد VO_{2max} و سرعت ۱۵ تا ۲۵ متر بر دقیقه) پرداختند. گروه‌های ۴ و ۵ روزانه ۳۰۰ mg/kg/day CA طی هشت هفته به صورت صفاقی مصرف نمودند. جهت تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه همراه با آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار Graph Pad Prism 8.3.0 استفاده شد ($P\leq ۰/۰۵$).

یافته‌ها: HIIT موجب افزایش معنی‌دار GPx و کاهش معنی‌دار PC گردید ($P\leq ۰/۰۵$). مصرف CA و مصرف CA همرمان با HIIT موجب افزایش معنی‌دار GPx، کاهش معنی‌دار MDA و PC در بافت عضله نعلی موش های صحرایی سالمند گردید ($P\leq ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد HIIT و CA هم به تنهایی و هم به طور سینرژیستی اثر مطلوبی بر کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها دارند، با این حال انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

مقدمه

سالمندی پدیده‌ای بیولوژیکی است و جمعیت با سرعت به سمت سالمندی پیش می‌رود؛ افزایش سن همواره با کاهش توده عضلانی (که به عنوان عاملی خطرزا موجب بروز اختلالات جسمی حرکتی می گردد)، کاهش کیفیت زندگی و امید به زندگی همراه است (۱).

* **نویسنده مسئول:** مریم خیرده
نشانی: گروه تربیت بدنی دانشکده فنی و حرفه ای سما، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
تلفن: ۰۹۱۷۱۰۱۹۸۶۰
پست الکترونیکی: kheyrdeh.m@gmail.com

از آنجا که عضله اسکلتی بافتی پویا، فعال و تاثیر گذار در بدن انسان است، کاهش حجم و توده عضلانی وابسته به سن (سارکوپنیا) و ضعف عضلانی با کاهش عملکرد، قدرت عضلانی و اختلالات سوخت و سازی همراه است. کاهش کارایی میتوکندری، کاهش سیستم‌های آنتی اکسیدانی، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن/نیتروژن[1] (RONS) و آسیب به DNA در پاتولوژی سارکوپنیا نقش دارند (۲). مطالعات نشان می‌دهند که تحلیل عضلانی متعاقب سالمندی چند عاملی است، با این حال کاهش بیان آنتی اکسیدان‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) نیز همراه با افزایش استرس اکسیداتیو، افزایش لیپوکسیژنازها[2]، پراکسیدازها، NADPH اکسیدازها و گزانتین اکسیدازها و همچنین پراکسیداسیون چربی‌ها که با شاخص مالون دی آلدئید (MDA) نشان داده می‌شود، تعادل آنتی اکسیدان- استرس اکسیداتیو را بر هم می‌زند و این امر فعال سازی مسیرهای آسیب سلولی را فعال می‌کنند (۳). از سویی نقش فعالیت‌های بدنی در سلامت جسمی و روانی افراد سالمند به اثبات رسیده است، به گونه‌ای که مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت منظم ورزشی با مکانیسم افزایش بیان آنتی اکسیدان‌ها، افزایش سوخت و ساز چربی‌ها، افزایش بیوژنز میتوکندریایی موجب بهبود عملکرد سنتز پروتئین، کاهش خطرات قلبی- عروقی، افزایش قدرت عضلانی و افزایش حجم عضلانی می‌شوند (۴). علاوه بر این مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی، وابسته به طول دوره، تعداد جلسات، نوع فعالیت ورزشی اثرات متفاوتی بر سیستم استرس اکسیداتیو- آنتی اکسیدان‌ها دارد. به نظر می‌رسد یک جلسه فعالیت ورزشی موجب افزایش سطوح استرس اکسیداتیو در بافت عضلانی می‌گردد، در این زمان مسیرهای فعال شده توسط آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) منجر به فعال سازی مسیر پروتئین کینازها شده و در افزایش بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اثر گذار است؛ در ادامه با تکرار فعالیت‌های ورزشی این سازگاری ارتقاء یافته و موجب تعدیل استرس اکسیداتیو در بافت عضلانی می‌شود (۵). علاوه بر این تمرینات تناوبی با شدت بالا[3] (HIIT) نوعی تمرین استقامتی هستند که اخیرا مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند و هنوز اثر این نوع تمرین بر استرس اکسیداتیو- آنتی اکسیدان‌ها به طور کامل شناخته نشده است (۶). در این رابطه گزارش شده است که هشت هفته تمرین شدید و متوسط موجب افزایش SOD و GPx در اندوتلیوم عروق موش‌های صحرایی در معرض استرس اکسیداتیو میوکارد گردید، هر چند سطوح پروتئین کربونیل (PC) در گروه تمرین شدید افزایش یافت (۷)؛ مطالعه‌ای دیگر نشان داد تمرین هوازی، بی‌هوازی و ترکیبی موجب افزایش سطوح MDA، GPx، SOD، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و کاهش سطوح آلفا توکوفرول گردید؛ ظرفیت آنتی اکسیدانی تام تنها متعاقب فعالیت هوازی در ۱۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی گردید؛ پنج تا ۲۵ دقیقه پس از فعالیت ورزشی هنوز سطوح MDA بالا بود، اما بالاترین سطوح در این زمان‌ها مربوط به گروه تمرین بی‌هوازی بود؛ علاوه بر این سطوح GPx و SOD همچنان در فعالیت بدنی هوازی، بی‌هوازی و ترکیبی در این زمان‌ها در مردان جوان غیر فعال بالا بود (۸). با توجه به نتایج ضد و نقیض در ارتباط با اثر HIIT محققین بر این عقیده‌اند مصرف آنتی اکسیدان‌های طبیعی و گیاهان دارویی می‌توانند اثرات مطلوبی بر سلامت افراد سالمند داشته باشند. از بین گیاهان دارویی، بهار نارنج[4] (CA) دارای اثرات بیولوژیکی فراوان می‌باشد و از دیرباز در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. اثرات آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد حساسیت و چربی سوزی CA در مطالعات پیشین نشان داده شده است. CA حاوی مقدار زیادی سینفرین و آلکالوئیدها است (۹). در این راستا محققین نشان داده‌اند مصرف CA با اثرات آنتی اکسیدانی خود موجب بهبود عملکرد شناختی در موش‌های صحرایی مبتلا به پارکینسون گردید (۱۰)؛ همچنین در مطالعه‌ای گزارش شد که مصرف CA موجب افزایش پروتئین‌های ویژه بیوژنز میتوکندریایی گردید (۱۰)؛ اما در مطالعه‌ای دیگر مصرف CA موجب افزایش بیان سیرتوئین ۱، کاهش عوامل التهابی در بافت قلب و بهبود سوخت و ساز چربی‌ها در موش‌های آزمایشگاهی ۱۲ ماهه گردید (۱۱). علاوه بر این با توجه به اثرات متفاوت HIIT به نظر می‌رسد استفاده از این گیاه دارویی همزمان با تمرینات ورزشی بتواند سازگاری‌های مطلوب-تری را در شرایط استرس اکسیداتیو متعاقب سالمندی ایجاد کند، به گونه‌ای که در مطالعه‌ی شیخ الاسلامی و همکاران نشان داده شد که تمرین هوازی همراه با مصرف CA موجب افزایش بیان گیرنده پروکسی زوم گاما فعال شده با کواکتیویتور آلفا[5] (PGC-1α) در بافت کبد موش‌های صحرایی سالمند می‌گردد، در حالی که با کاهش سیرتوئین ۱ کبدی همراه بود (۹)؛ با توجه به اهمیت فعالیت‌های بدنی منظم برای سلامت عضلانی افراد سالمند، و ناشناخته بودن اثر HIIT و مصرف CA بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو در بافت عضلانی به نظر می‌رسد انجام تحقیقات بنیادی در راستای یافتن مطلوب‌ترین آنتی اکسیدان مطلوب در افراد سالمند ضروری به نظر می‌رسد، از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف CA بر سطوح استرس اکسیداتیو و آنتی اکسیدان بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش صحرایی سالمند در محدوده سنی ۱۴ تا ۱۸ ماه و وزن تقریبی ۲۷۰ الی ۳۲۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت انتخاب و جهت سازگاری به مدت یک هفته در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این واحد دانشگاهی نگهداری شدند. لازم به ذکر است که در تمام پروتکل تحقیق موش‌های صحرایی در شرایط استاندارد از نظر

[1] Reactive oxygen and nitrogen species
[2] Lipoxygenases
[3] High- Intensity Interval Training
[4] Citrus aurantium
[5] Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha

دما (۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد)، رطوبت (۵۵ تا ۶۵ درصد)، چرخه تاریکی- روشنایی ۱۲ ساعته، دسترسی آزاد به آب و غذا، در قفس-های پلی کربنات با قابلیت اتوکلاو نگهداری می‌شدند. در ادامه موش‌های صحرایی سالمند به طور تصادفی به گروه‌های ۱) کنترل (C)، ۲) شم/حلال CA یا نرمال سالین (Sh)، ۳) HIIT، ۴) CA و ۵) HIIT+CA تقسیم شدند. گروه‌های ۳ و ۵ به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته فعالیت‌های HIIT (با شدت ۸۵ درصد تا ۱۱۰ درصد VO_{2max} و سرعت ۱۵ تا ۲۵ متر بر دقیقه) را انجام دادند (۱۲). همچنین گروه‌های مصرف CA روزانه ۳۰۰ mg/kg عصاره CA را به صورت صفاقی دریافت نمودند (۱۳). در ادامه ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش‌های صحرایی با استفاده از ترکیب کتامین و زایلازین بیهوش شده و بافت عضله نعلی آنها توسط متخصصین آزمایشگاه استخراج و جهت ارزیابی‌های بعدی در تانک ازت غوطه ور و پس از ۱۰ دقیقه به دمای فریزر ۸۰- انتقال داده شدند.

پروتکل تمرینات استقامتی

ابتدا جهت ارزیابی توان هوازی ابتدا موش‌های صحرایی گرم کردن به مدت پنج دقیقه روی نوارگردان با سرعت شش متر بر دقیقه و شیب صفر درجه را انجام دادند، در ادامه هر سه دقیقه، سرعت سه متر بر دقیقه افزایش پیدا می‌کرد تا زمانی که حیوانات به واماندگی می‌رسیدند و دیگر قادر به ادامه نبودند. ملاک رسیدن به VO_{2max}، عدم توانایی موش‌های صحرایی در ادامه دادن پروتکل تمرینی و سه بار برخورد متوالی در فاصله زمانی یک دقیقه به قسمت انتهایی نوارگردان بود، از این رو با استفاده از سرعت دویدن، میزان VO_{2max}، موش‌های صحرایی به دست آمد. این نکته قابل ذکر است که حداکثر سرعت دویدن ارتباط معنی‌دار و مثبتی دارند. در ادامه تمرین بدین صورت بود که در ابتدای هر جلسه مرحله گرم کردن شامل دویدن به مدت سه دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه بود و به دنبال آن گروه‌های HIIT با شدت ۸۵ درصد تا ۹۰ درصد VO_{2max} که معادل هفت تلاش یک دقیقه‌ای و سرعت ۳۱ متر بر دقیقه و استراحت فعال بین اینتروال‌ها با شش تلاش و سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته‌ی اول انجام شد که تدریجا با افزایش متوسط دو متر بر دقیقه در هفته به ۱۰ تلاش یک دقیقه‌ای با سرعت ۵۵ متر بر دقیقه و استراحت فعال با نه تلاش یک دقیقه‌ای (بین اینتروال‌ها) با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه در هفته‌ی هشتم رسید (۱۲).

روش اندازه‌گیری GPX، MDA و PC

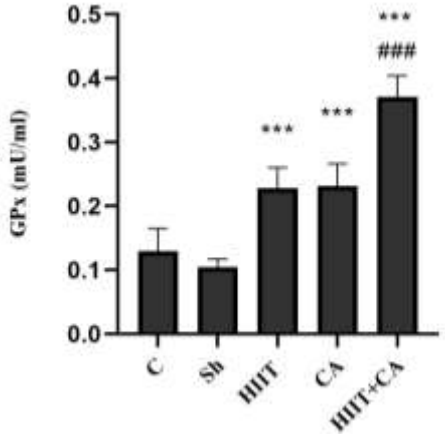
اندازه‌گیری سطوح MDA بر اساس دستور العمل شرکت سازنده کیت اندازه گیری MDA ساخت شرکت ZellBio GmbH, Ulm در طول موج ۵۳۵ نانومتر و با حساسیت ۰/۱ میکرومولار انجام شد. سطوح PC با استفاده از روش اسپکتوفتومتری با استفاده از کیت اندازه‌گیری PC ساخت شرکت کیازیست ایران در طول موج ۳۷۵ نانومتر و به صورت نانومول در میلی گرم اندازه‌گیری شد. اندازه گیری سطوح GPx با استفاده از کیت Nagpix™ Glutathione Peroxidase در طول موج نانومتر ۳۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه BMG Labtech Ltd., Aylesbury, UK اندازه‌گیری شد.

روش تجزیه و تحلیل یافته‌ها

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیرو- ویلک استفاده شد و برای تجزیه و تحلیل استنباطی از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه همراه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها و ترسیم نمودارهای تحقیق با استفاده از نرم افزار Graph Pad Prism 8.3.0 انجام شد. همچنین سطح معنی‌داری برای تمام آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ابتدا سطوح میانگین و انحراف استاندارد GPx، MDA و PC در گروه‌های تحقیق در شکل‌های ۱ تا ۳ ارائه شده است. در ادامه نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطوح GPx (P=۰/۰۰۱)، MDA (P=۰/۰۰۱) و PC (P=۰/۰۰۱) در بافت عضلانی موش‌های صحرایی سالمند در گروه‌های تحقیق وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطوح GPx در گروه C و Sh تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P=۰/۵۷)، اما در گروه‌های HIIT (P=۰/۰۰۱)، CA (P=۰/۰۰۱) و HIIT+CA (P=۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری بالاتر از گروه C بود. همچنین در گروه‌های HIIT (P=۰/۰۰۱)، CA (P=۰/۰۰۱) و HIIT+CA (P=۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری بالاتر از گروه Sh بود. تفاوت معنی‌داری در گروه-های CA و HIIT مشاهده نشد (P=۰/۹۹)؛ اما در گروه HIIT+CA به طور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های HIIT (P=۰/۰۰۱) و CA (P=۰/۰۰۱) بود (شکل ۱). سطوح MDA در گروه C و Sh تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۹۹)، ولی در گروه‌های CA (P=۰/۰۲) و HIIT+CA (P=۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری کمتر از گروه C بود؛ همچنین در گروه‌های CA (P=۰/۰۰۷) و HIIT+CA (P=۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری کمتر از گروه Sh بود. سطوح MDA در گروه HIIT+CA به طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های HIIT (P=۰/۰۰۱) و CA (P=۰/۰۰۳) بود (شکل ۲). سطوح PC در گروه C و Sh تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P=۰/۲۳)، با این حال در گروه‌های HIIT (P=۰/۰۰۱)، CA (P=۰/۰۰۱) و HIIT+CA (P=۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری کمتر از گروه C و Sh بود. تفاوت معنی‌داری در گروه‌های CA (P=۰/۹۹) و HIIT+CA (P=۰/۹۱) در مقایسه با گروه HIIT مشاهده نشد؛ همچنین PC در گروه HIIT+CA تفاوت معنی‌داری با گروه CA نداشت (P=۰/۹۳) (شکل ۳).

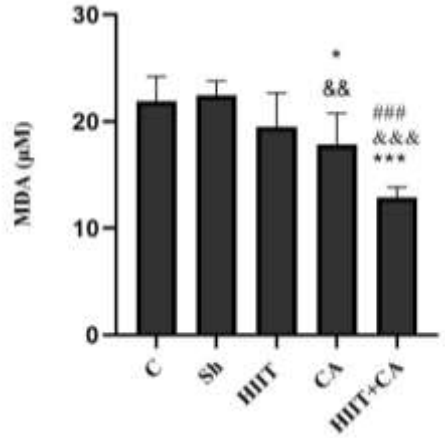


*** (P≤۰/۰۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های C و Sh

(P≤۰/۰۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های HIIT و CA

(C: کنترل، Sh: شم؛ HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا و CA: بهارنارنج)

شکل ۱. سطوح GPx عضلانی در موش‌های صحرایی سالمند در گروه‌های تحقیق

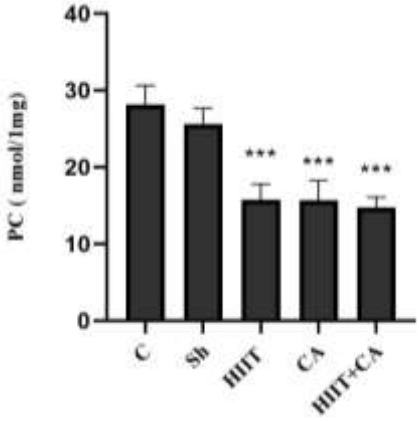


*** (P≤۰/۰۰۱) و * (P≤۰/۰۵) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه C

&&& (P≤۰/۰۰۱) و && (P≤۰/۰۱) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه Sh

(P≤۰/۰۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گرو های HIIT و CA

(C: کنترل، Sh: شم؛ HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا و CA: بهارنارنج)



*** (P≤۰/۰۰۱) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه‌های C و Sh

(C: کنترل، Sh: شم؛ HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا و CA: بهارنارنج)

شکل ۳. سطوح PC عضلانی در موش‌های صحرایی سالمند در گروه‌های تحقیق

بحث و بررسی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد HIIT موجب افزایش GPx و کاهش PC در بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند گردید. به نظر می‌رسد سیستم استرس اکسیداتیو- آنتی اکسیدان پیچیدگی فراوانی دارد، همچنین به نظر می‌رسد سطوح استرس اکسیداتیو بافت عضلانی به نوع تار عضلانی، تعداد میتوکندری‌های موجود در تار عضلانی، توده عضلانی، سن، جنسیت و نوع فعالیت بدنی وابسته است، از این رو مکانیسم اثر فعالیت بدنی بر این سیستم هنوز به طور کامل شناخته نشده است (۸). با این حال به نظر می‌رسد با مکانیسم پاسخ آنی به فعالیت ورزشی که تا حدی موجب افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد، از مسیر تعدیل ردوکس سلولی، افزایش مسیر پروتئین کینازها، افزایش عملکرد آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی و افزایش بیان پروتئین‌های رونویسی تنفسی (NRF1/2)، گیرنده پروکسی زوم گاما فعال شده با کواکتیویتور ۱ آلفا[1] (PGC-1α)، سیرتوئین ۱ و ۳، تعدیل عامل هسته‌ای رونویسی کاپا B[2] (NF-κB) موجب افزایش بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند NADPH اکسیداز، SOD و GPx و در نتیجه کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و پروتئینی شده که شاخص‌های PC و MDA را کاهش می‌دهد (۱۴). در این زمینه مطالعاتی انجام شده است، به عنوان مثال در مطالعه Ammar و همکاران در سال ۲۰۲۰ نتایج نشان داد فعالیت ورزشی هوازی، بی‌هوازی و ترکیبی موجب افزایش MDA، GPx، SOD و GR پلاسمایی در مردان جوان غیر فعال گردید، اما سطوح آلفا توکوفرول به طور معنی‌داری کاهش یافت، همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی تام فقط متعاقب فعالیت‌های ورزشی نسبت به بقیه روش‌های تمرینی بالاتر بود، در حالی که بالاترین سطوح SOD و GPx متعاقب تمرین بی‌هوازی بدست آمد (۸). از این رو به نظر می‌رسد در پاسخ به یک جلسه فعالیت ورزشی استرس اکسیداتیو می‌تواند محرک افزایش بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و افزایش کارایی سیستم آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی باشد. همچنین شش هفته HIIT موجب افزایش سطوح پلاسمایی MDA، SOD، GPx و کاتالاز در دختران دارای اضافه وزن گردید (۱۵)؛ علاوه بر این محققین نشان دادند که چهار هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط و HIIT منجر به افزایش آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز، کاتالاز، SOD، GPx و کاهش MDA در عروق اندوتلیال موش‌های صحرایی دارای اختلالات قلبی- عروقی گردید (۷). با توجه به نتایج مطالعات گذشته به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی (به دنبال سازگاری بلند مدت متعاقب فعالیت ورزشی شدید) منجر به افزایش آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مصرف CA موجب افزایش GPx و همچنین کاهش MDA و PC در بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند گردید. محققین نشان داده‌اند که نارنج و قسمت‌های مختلف آن مانند گل، برگ و پوست حاوی هیدروفلاونوئیدها هستند و اثرات بیولوژیکی فراوانی دارند، به گونه‌ای که در درمان افزایش چربی خون، ضد سرطان، ضد التهاب و آنتی اکسیدان شناخته می‌شوند. CA به عنوان همولوگ ژن *daf-16* است و اثرات آنتی اکسیدانی این گیاه دارویی بیشتر به این مکانیسم وابسته است، به گونه‌ای که افزایش بیان این پروتئین متعاقب حضور CA به افزایش بیان پروتئین خانه سرچنگالی زیر رده O[3] (FOXO) منجر شده و از این مسیر موجب افزایش بیان ژن‌های SOD میتوکندریایی، سیتوزولی، می‌گردد، همچنین فعال سازی مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز[4] (PI3K)، AKT1/2، IGF-1 شده و به افزایش سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی منجر می‌شود (۱۶). در این راستا مطالعه‌ی Zhu نتایج نشان داد مصرف CA موجب افزایش بیان آنتی اکسیدان‌ها از مسیر IGF-1/PI3K/AKT می‌گردد (۱۶)؛ همچنین مصرف هشت هفته CA موجب افزایش PGC-1α در بافت کبد موش‌های صحرایی سالمند گردید (۹)، از این رو از نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد CA از مسیر پروتئین کینازها نیز در افزایش بیوژنز میتوکندریایی موثر است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد HIIT و مصرف همزمان CA موجب افزایش GPx و همچنین کاهش MDA و PC در بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند می‌گردد. با توجه به بررسی مطالعات اخیرا محققین بیان نموده‌اند که در شرایط بیماری و استرس اکسیداتیو پایه استفاده از رژیم غذایی غنی از آنتی اکسیدان‌ها در کنار فعالیت بدنی از عواملی اثر گذار در بهبود سوخت و ساز سوبستراها است (۱۷). همچنین به نظر می‌رسد تمرین با مکانیسم تعدیل ردوکس سلولی، افزایش پروتئین کینازها، افزایش عملکرد آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی، افزایش بیان NRF1/2، PGC-1α، سیرتوئین ۱ و ۳، تعدیل NF-κB موجب افزایش NADPH اکسیداز، SOD و GPx و همچنین کاهش PC و MDA می‌گردد (۱۴)؛ در حالی که CA با مکانیسم افزایش بیان FOXO، فعال سازی مسیر IGF-1/PI3K/AKT، افزایش cAMP، پروتئین کینازها و PGC-1α به افزایش سنتز آنزیم‌های آنتی اکسیدانی منجر می‌شود (۱۶). مطالعاتی در زمینه تمرین و مصرف همزمان CA انجام شده است، به عنوان مثال محققین نشان دادند مصرف CA و انجام فعالیت ورزشی اثر مطلوبی بر عملکرد سیستم عصبی سمپاتیک داشت، هر چند این اثر بر کاهش ضربان قلب ورزشکاران متعاقب یک جلسه فعالیت ورزشی معنی دار نبود (۱۸)؛ اما در مطالعه‌ای محققین نشان دادند ۲۸ روز تمرین استقامتی و مصرف ۱۰ و ۵۰ mg/kg CA موجب افزایش فشار خون سیستولیک و دیاستولیک موش‌های صحرایی گردید (۱۹)؛ همچنین هشت هفته تمرین هوازی همراه با مصرف CA دارای اثرات سینرژیستی بر افزایش PGC-1α در بافت کبد موش‌های صحرایی سالمند داشت (۹)؛ از این رو به نظر می‌رسد انجام فعالیت‌های بدنی و مصرف CA اثرات مطلوبی بر استرس اکسیداتیو

[1] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
[2] Nuclear factor-κB
[3] Forkhead box protein O
[4] Phosphoinositide 3-kinases

دارد، با این حال با توجه به نتایج ضد و نقیض انجام مطالعات بیشتر بر قلب و عروق، عضلات اسکلتی و ... مورد نیاز است. با توجه به پیچیدگی سیستم آنتی اکسیدان- استرس اکسیداتیو به نظر می‌رسد عدم اندازه‌گیری شاخص‌های بیشتر در عضله اسکلتی جهت تعیین تعادل این سیستم از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشد، از این رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی متغیرهای بیشتر همراه با بررسی پاتولوژی ارزیابی شوند. همچنین با توجه به تاثیر HIIT و CA بر مسیرهای مختلف مانند پروتئین کینازها، بیوژنز میتوکندریایی و مسیر IGF-1/PI3K/AKT، عدم اندازه‌گیری این متغیرها که در تعادل این سیستم اثر گذار هستند از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر است، از این رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی این متغیرها نیز اندازه‌گیری شوند.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته های تحقیق حاضر به نظر می‌رسد HIIT و CA هم به تنهایی و هم به طور سینرژیستی اثر مطلوبی بر کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها دارند، با این حال انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

مطالعه حاضر بر اساس اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی اجرا شد.

حامی مالی

هزینه های مطالعه حاضر توسط نویسندگان مقاله تامین شد.

مشارکت نویسندگان

طراحی و ایده پردازی: مریم خیرده و مهدی نورا؛ روش شناسی و تحلیل داده ها: رسول جمالی فشی و عبدالعلی رخشانی زاده؛ نظارت و نگارش نهایی: مریم خیرده.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان مقاله حاضر فاقد هرگونه تعارض منافع بوده است.

References

1. Kadoguchi T, Shimada K, Miyazaki T, Kitamura K, Kunimoto M, Aikawa T, et al. Promotion of oxidative stress is associated with mitochondrial dysfunction and muscle atrophy in aging mice. Geriatr Gerontol Int. 2020; 20 (1): 78– 84. [DOI:10.1111/ggi.13818] [PMID:31758637]
2. Sakellariou GK, Pearson T, Lightfoot AP, Nye GA, Wells N, Giakoumaki II, et al. Mitochondrial ROS regulate oxidative damage and mitophagy but not age-related muscle fiber atrophy. Sci Rep. 2016; 6: 33944. [DOI:10.1038/srep33944] [PMID:27681159] [PMCID:PMC5041117]
3. Gorni D, Finco A. Oxidative stress in elderly population: A prevention screening study. Aging Med. 2020; 3 (3): 205– 213. [DOI:10.1002/agm2.12121] [PMID:33103041] [PMCID:PMC7574639]
4. Bernardi M, Peluso I. Interactions between oxidative stress and cardiorespiratory fitness: old and new biomarkers. Curr Opin Toxicol. 2020; (20-21): 15- 22. [DOIorg/10.1016/j.cotox.2020.03.005]
5. Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. Asian J Sports Med. 2015; 6 (1): e24898. [DOI:10.5812/asjsm.24898][PMID:25883776] [PMCID:PMC4393546]
6. Hsieh S-S, Chueh T-Y, Huang C-J, Kao S-C, Hillman CH, Chang Y-K, et al. Systematic review of the acute and chronic effects of high-intensity interval training on executive function across the lifespan. J Sports Sci. 2020; 1– 13. [DOI:10.1080/02640414.2020.1803630] [PMID:32780634]
7. Paes L, Lima D, Matsuura C, De Souza MDG, Cyrino F, Barbosa C, et al. Effects of moderate and high intensity isocaloric aerobic training upon microvascular reactivity and myocardial oxidative stress in rats. PLoS One. 2020; 15 (2): e0218228. [DOI:10.1371/journal.pone.0218228][PMID:32032358] [PMCID:PMC7006926]
8. Ammar A, Trabelsi K, Boukhris O, Glenn JM, Bott N, Masmoudi L, et al. Effects of aerobic-, anaerobic-and combined-based exercises on plasma oxidative

stress biomarkers in healthy untrained young adults. Int J Environ Res Public Health. 2020; 17 (7): 2601. [DOI:10.3390/ijerph17072601] [PMID:32290148] [PMCID:PMC7178085]
9. Shykholeslami Z, Abdi A, Barari A, Hosseini SA. The effect of aerobic training with Citrus aurantium L. on SIRT1 and PGC-1α gene expression levels in the liver tissue of elderly rats. Jorjani Biomed J. 2019; 7 (4): 57– 65. http://goums.ac.ir/jorjanijournal/article-1-720-en.html
10. Elyasi L, Ghazvini H. The protective effects of Citrus aurantium extract on a 6-hydroxydopamine- induced model of parkinson's disease in male rats. Anat Sci J. 2020; 17 (1): 1– 6. http://anatomyjournal.ir/article-1-230-en.html
11. Testai L, Piragine E, Piano I, Flori L, Da Pozzo E, Miragliotta V, et al. The Citrus flavonoid naringenin protects the myocardium from ageing- dependent dysfunction: potential role of SIRT1. Oxid Med Cell Longev. 2020; 1- 15. [DOI:10.1155/2020/4650207]
12. Yazdanparast Chaharmahali B, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi Arkhazloo P. The effect of moderate and high intensity interval trainings on Cardiac apoptosis in the old female rats. Rep Heal Care. 2018; 4 (1): 26– 35. http://jrhc.miau.ac.ir/article_2873.html
13. He W, Li Y, Liu M, Yu H, Chen Q, Chen Y, et al. Citrus aurantium L. and its flavonoids regulate TNBS-induced inflammatory bowel disease through anti-inflammation and suppressing isolated jejunum contraction. Int J Mol Sci. 2018; 19 (10): 3057. [DOI:10.3390/ijms19103057] [PMID:30301267] [PMCID:PMC6213068]
14. Davari F, Alimanesh Z, Alimanesh Z, Salehi O, Hosseini SA. Effect of training and crocin supplementation on mitochondrial biogenesis and redox-sensitive transcription factors in liver tissue of type 2 diabetic rats. Arch Physiol Biochem. 2020; 1– 6. [DOI:10.1080/13813455.2020.1762663] [PMID:32401063]
15. Fakhri S, Shakeryan S, Alizadeh A, Shahryari A. Effect of 6 weeks of high intensity interval training with nano curcumin supplement on antioxidant defense and lipid peroxidation in overweight girls- clinical trial. Iran J diabetes Obes. 2020; 1- 10. [DOI:10.18502/ijdo.v11i3.2606]
16. Zhu Q, Qu Y, Zhou X-G, Chen J-N, Luo H-R, Wu G-S. A dihydroflavonoid naringin extends the lifespan of C. elegans and delays the progression of aging- related diseases in PD/AD models via DAF-16. Oxid Med Cell Longev. 2020; 6069354. [DOI:10.1155/2020/6069354] [PMID:32832002] [PMCID:PMC7422489]
17. Hosseini SA, Hamzavi K, Safarzadeh H, Salehi O. Interactive effect of swimming training and fenugreek (Trigonella foenum graecum L.) extract on glycemic indices and lipid profile in diabetic rats. Arch Physiol Biochem. 2020; 1– 5. [DOI:10.1080/13813455.2020.1826529] [PMID:33017260]
18. Ana L, Lima MJ, Simoni R. Heart rate variability in the frequency domain after strength training with citrus auratium supplementation. Int Phys Med Rehab J. 2020;5(3):110–113. [DOI:10.15406/ipmrj.2020.05.00240]
19. Hansen DK, George NI, White GE, Abdel-Rahman A, Pellicore LS, Fabricant D. Cardiovascular toxicity of Citrus aurantium in exercised rats. Cardiovasc Toxicol. 2013;13(3):208–219. [DOI:10.1007/s12012-013-9199-x] [PMID:23397375]