

# اثر ورزش منظم بر اجزای چرخه ی گلوکاتایون در قلب: بهبود دفاع آنتی اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو

فرهاد قدیری صوفی<sup>۱</sup> - ناصر اصلان آبادی<sup>۲</sup> - ناصر احمدی اصل<sup>۳</sup>

## چکیده

زمینه و هدف: گلوکاتایون و اجزای چرخه آن نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیک دارند. این مطالعه اثر ورزش منظم بر اجزای چرخه ی گلوکاتایون در قلب موش صحرایی را بررسی می کند. روش تحقیق: در این مطالعه تجربی مداخله ای، ۱۰۴ موش صحرایی به دو گروه ورزش و کنترل تقسیم شدند. گروه ورزش به شش زیر گروه تقسیم شد که هر یک برای یکی از دوره های یک، دو، سه، شش، نه و دوازده ماه ورزش در نظر گرفته شدند (n=8 برای هر زیر گروه). جهت ورزش، از تردمیل جوندگان با سرعت ۲۵ متر در دقیقه، یک ساعت در روز و ۶ روز در هفته استفاده گردید. برای هر زیر گروه، یک گروه کنترل به همان تعداد اختصاص داده شد. برای تحلیل داده ها از روش آنالیز واریانس دوطرفه و نرم افزار SPSS استفاده شد.

یافته ها: در گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده میزان گلوکاتایون احیا نسبت به گروه های کنترل متناظر بیشتر بود ( $p < 0.05$  برای همه موارد). ورزش اثر محسوسی بر میزان گلوکاتایون اکسید نداشت. اما نسبت گلوکاتایون احیا به اکسید در گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده از گروه های کنترل بیشتر بود ( $p < 0.05$  برای همه موارد). اثر ورزش بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز دقیقاً شبیه اثر آن بر میزان گلوکاتایون احیا بود. از طرف دیگر، در گروه های ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده در مقایسه با کنترل های متناظر، میزان پراکسیداسیون لیپیدی بیشتر بود ( $p < 0.05$  برای هر دو گروه).

نتیجه گیری: احتمالاً ورزش مداوم از طریق ایجاد استرس مداوم باعث افزایش فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز و میزان گلوکاتایون احیا جهت جلوگیری از افزایش استرس اکسیداتیو شده است.

کلیدواژه ها: آنتی اکسیدان؛ استرس اکسیداتیو؛ قلب؛ گلوکاتایون؛ ورزش

افق دانش: فصلنامه ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره ی ۱۶؛ شماره ی ۴؛ زمستان سال ۱۳۸۹)

پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۱۵

اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۹/۲۷

دریافت: ۱۳۸۸/۱۰/۲۱

۱- نویسنده ی مسؤوّل؛ استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

آدرس: تبریز- خیابان گلگشت- دانشکده ی پزشکی- گروه فیزیولوژی

پست الکترونیکی: Dr.F.G.Soufi@Gmail.com

نمابر: ۰۴۱۱-۳۳۶۴۶۶۴

تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۶۴۶۶۴

۲- دانشیار، دکترای تخصصی قلب و عروق، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۳- دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

## مقدمه

گلوکوتایون یک پروتئین سه آمینواسیدی است که در اکثر سلول های پستانداران وجود دارد و در اعمال متنوعی نظیر سمیت زدایی، دفاع در برابر اکسیدان ها، حفظ وضعیت مناسب گروه های تیول پروتئین ها و نیز تعدیل تکثیر سلولی شرکت می کند (۱). گلوکوتایون به دو صورت احیا<sup>۱</sup> و اکسید<sup>۲</sup> وجود دارد (۲). گزارش شده است که کاهش گلوکوتایون احیا با فرآیندهایی نظیر پیری، اختلالات دژنراتیو عصبی، دیابت و ... مرتبط می باشد (۱).

اگرچه گلوکوتایون در سیتوزول سلول های یوکاریوت تولید می شود، اما حدود ۱۰ درصد آن در میتوکندری ها که محل اصلی تولید رادیکال های آزاد ناشی از فرآیندهای اکسیداتیو نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و یون هیدروکسیل است، تجمع می یابد (۳،۴). در صورت عدم سمیت زدایی این فرآورده های فعال اکسیژن، آن ها می توانند باعث پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین های سلولی و در نهایت آسیب و مرگ سلولی شوند (۵). جهت جلوگیری از چنین فرآیندی، پس از آن که رادیکال های سوپراکسید توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میتوکندریایی به پراکسید هیدروژن تبدیل شدند، آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز<sup>۳</sup> با تبدیل گلوکوتایون احیا به گلوکوتایون اکسید باعث تبدیل پراکسید هیدروژن به آب می گردد. سپس آنزیم گلوکوتایون ردوکتاز<sup>۴</sup> باعث تبدیل گلوکوتایون اکسید به گلوکوتایون احیا خواهد شد (۴). بنابراین تولید بیش از حد رادیکال های آزاد می تواند منجر به کاهش سطح گلوکوتایون احیا و یا تجمع گلوکوتایون اکسید در سلول گردد. با توجه به اینکه میزان گلوکوتایون اکسید به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو و میزان گلوکوتایون احیا به عنوان شاخص ظرفیت آنتی اکسیدانی سلولی در نظر گرفته می شود، از این رو نسبت گلوکوتایون اکسید به گلوکوتایون احیا به عنوان شاخص مفیدی جهت تعیین وضعیت اکسیداتیو سلولی به کار می رود (۱).

سلول های قلب بدلیل فعالیت اکسیداتیو مداوم و قابلیت تکثیر محدود، بیشتر از بافت های دیگر در معرض آسیب

ناشی از تولید رادیکال های آزاد قرار دارد (۶) به طوری که امروزه کاهش عملکرد قلب طی پیری را به آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو و کاهش توده ی سلولی قلب به دلیل مرگ سلولی ناشی از این آسیب نسبت می دهند (۷،۸).

مطالعات بالینی نشان داده اند که ورزش منظم باعث کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری های قلب و عروق در بزرگسالان و افراد مسن (۶)، بهبود عملکرد عضلات در پیری (۹) و تأخیر در آسیب سلولی و اختلالات فیزیولوژیک می گردد (۱۰). مطالعات زیادی نشان داده اند که ورزش کوتاه مدت منجر به افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در قلب می گردد (۱۱،۱۲). اما در مورد اثر ورزش منظم دراز مدت بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در قلب مطالعه ی کمی انجام شده است. در این ارتباط نشان داده شده است که یک سال ورزش منظم شنا باعث بهبود دفاع آنتی اکسیدان در قلب رت های مسن (۲۱ ماهه) می گردد (۱۲). با این حال در مورد اثر ورزش وابسته به زمان (از کوتاه تا دراز مدت) به ویژه بر عملکرد سیستم گلوکوتایون در قلب مطالعه ی مؤثری انجام نشده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر ورزش دراز مدت یک ساله بر میزان فعالیت آنزیم های گلوکوتایون پراکسیداز و گلوکوتایون ردوکتاز و نیز سطوح گلوکوتایون احیا و گلوکوتایون اکسید در قلب موش صحرایی بوده است. به علاوه میزان پراکسیداسیون لیپیدی نیز بررسی گردید.

## روش تحقیق

۱- حجم نمونه و روش ورزش: در این مطالعه که به صورت تجربی مداخله ای انجام گردید، ۱۰۴ موش صحرایی نر سه ماهه از نژاد ویستار با محدوده ی وزنی  $21 \pm 230$  گرم به صورت تصادفی انتخاب شدند. گروه ورزش به شش زیرگروه تقسیم شد که هر زیرگروه برای یکی از دوره های یک، دو، سه، شش، نه و دوازده ماه ورزش در نظر گرفته شدند (بر حسب مطالعات قبلی، تعداد موش های صحرایی در هر زیرگروه ۸ عدد در نظر گرفته شد). جهت انجام ورزش منظم از دستگاه تردمیل جوندگان با سرعت ۲۵ متر در دقیقه، به مدت یک ساعت در روز و برای ۶ روز در هفته استفاده گردید (۱۴). زمان ورزش برای همه گروه ها

- 1- GSH
- 2- GSSG
- 3- GPx
- 4- GR

اسید فسفوریک یک درصد و یک میلی لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶ درصد و ۰/۱۵ میلی لیتر از هیدروکسی تولوئن بوتیره ۲۰ درصد در متانول ۹۵ درصد اضافه و پس از حرارت دادن در آب جوشیده به مدت ۴۵ دقیقه، سرد و ۴ میلی لیتر ۱- بوتانول اضافه گردید. سپس فاز بوتانول با سانتریفیوژ جدا و میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و مقایسه ی میزان جذب با منحنی استاندارد تعیین شد. استانداردهای مالون دالدئید با استفاده از ۱، ۲، ۳ و ۴- ترا متوکسی پروپان در ۶ غلظت مختلف ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۲ نانو مول در میلی لیتر با استفاده از حل کردن در آب دیونیزه تهیه و جهت رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و نتایج به صورت نانومول در میلی گرم پروتئین بیان گردید (۱۶).

۴- اجزای چرخه ی گلوکوتایون: جهت بررسی میزان گلوکوتایون احیا، گلوکوتایون اکسید، فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و فعالیت گلوکوتایون ردوکتاز از کیت های اختصاصی بافت شرکت کی-من<sup>۳</sup> و به روش ELISA و بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد.

۵- غلظت پروتئین: غلظت پروتئین در نمونه ها با کیت توتال پروتئین شرکت رندوکس<sup>۴</sup> و با استفاده از دستورالعمل کیت برای دستگاه آلیسون<sup>۵</sup>، ۳۰۰، توسط این دستگاه و به روش اسپکتروفتومتری انجام شد.

۶- روش آنالیز آماری: داده ها بر اساس میانگین ± خطای معیار نمایش داده شده و با روش آنالیز واریانس دو طرفه توسط نرم افزار SPSS صورت پذیرفت و برای مقایسه دو به دو گروه ها از آزمون توکی در مقایسه چند گانه استفاده شد.

۷- کور سازی: جهت اجرای پروژه به صورت یکسو کور، اندازه گیری بیوشیمیایی متغیرها و تجزیه و تحلیل داده ها توسط همکارانی صورت گرفت که اطلاعی از چگونگی گروه بندی نمونه ها نداشتند. جهت به حداقل رساندن خطای آزمایش، همه اندازه گیری های مربوط به یک متغیر در یک روز و به صورت duplicate انجام شد. به علاوه عدم انجام ورزش برای سه روز در یک هفته به عنوان معیار خروج نمونه در نظر گرفته شد که در هیچ گروهی مشاهده نگردید.

ساعت ۹-۱۲ صبح بود. برای هر زیرگروه ورزش یک گروه کنترل (تعداد ۸ سر) با شرایط سن و وزن تقریباً مشابه اختصاص داده شد. جهت به حداقل رساندن تفاوت در استرس ناشی از دستکاری، همه گروه های کنترل نیز روزانه به مدت ۱۰ دقیقه بر روی تردمیل بدون حرکت قرار داده می شدند. برای بررسی اثر احتمالی افزایش سن بر متغیرهای مورد بررسی، یک گروه پایه ی سه ماهه نیز در نظر گرفته شد (تعداد ۸ سر). موش های صحرایی در دمای ۲۶-۲۲ درجه ی سانتی گراد با دوره ی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و با دسترسی نامحدود به آب و غذا نگهداری می شدند. همه ی مراحل تحقیق بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی تهیه شده توسط کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد.

۲- روش هوموژنیزاسیون و آماده نمودن بافت: بیست و چهار ساعت پس از آخرین جلسه ی ورزش، رت های گروه ورزش کرده به همراه رت های گروه کنترل متناظر پس از القای بیهوشی با اتر، کشته و پس از بازکردن قفسه ی سینه، قلب جدا و در دمای ۴ درجه هوموژنیزه گردید. به طوری که ۵۰ میلی گرم از عضله ی بطن روی یخ در ۱ میلی لیتر از بافر لیز کننده ی سلولی (1.5mM 20mM HEPES, 20% glycerol, 10mM NaCl) (pH 7.4 و 1mM dithiothreitol, 0.1% Triton X-100, MgCl<sub>2</sub> هوموژنیزه شده و سپس برای یک دقیقه در ۴ درجه و در ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سوپرناتانت جدا گشته و به آن کوکتل مهارکننده های پروتئاز (2 mM leupeptin, 0.08mM aprotinin, 104mM AEBSF) (1.4mM E-64 و 1.5mM pepstatin A, 4mM bestatin اضافه و تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجه ذخیره شد (۱۵). کلیه ی مواد شیمیایی از شرکت سیگما-آلدریج<sup>۱</sup> تهیه شد.

۳- اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی: جهت بررسی اثرات استرس اکسیداتیو از شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، مالون دالدئید بر پایه ی واکنش تیوباربیتوریک اسید<sup>۲</sup> با هوموژن نمونه اندازه گیری شد. ۰/۵ میلی لیتر از هوموژن نمونه به سه میلی لیتر

3- Cayman Chem, USA

4- Randox labs. Crumlin, UK

5- Alcyon 300 Falcour, USA

1- Sigma-Aldrich, St Louis, MO

2- TBARs

**یافته ها**

وزن بدن نسبت به گروه های کنترل متناظر شد ( $p < 0.05$ ) برای همه ی موارد) اما فقط در گروه ۱۲ ماه ورزش کرده وزن قلب نسبت به گروه کنترل خود بیشتر بود (هایپر تروفی قلب). بنابراین نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه های تست نسبت به کنترل بیشتر بود ( $p < 0.05$ ) برای همه ی موارد).

جدول شماره ی ۱ نشان می دهد که میانگین وزن بدن و وزن قلب در همه ی گروه های مسن تر نسبت به گروه های جوان تر از خود، بیشتر بود ( $p < 0.05$  برای همه ی موارد). این یافته نشانگر اثر افزایش سن بر متغیر وزن می باشد. به جز در گروه های ۱ و ۲ ماه ورزش کرده، ورزش باعث کاهش

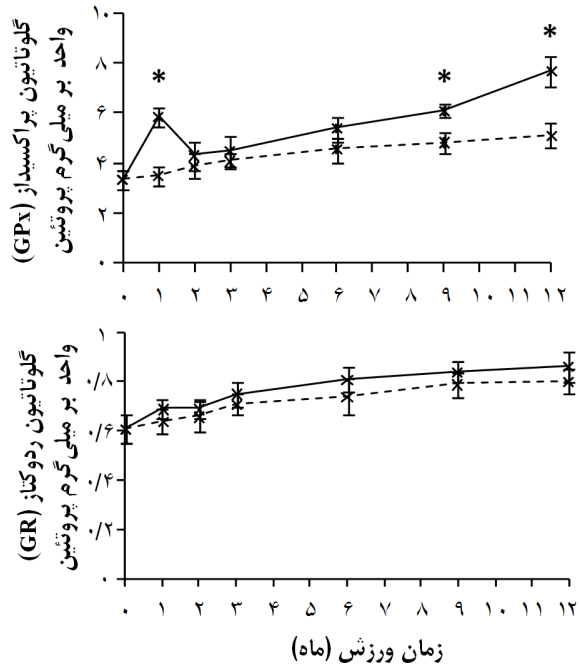
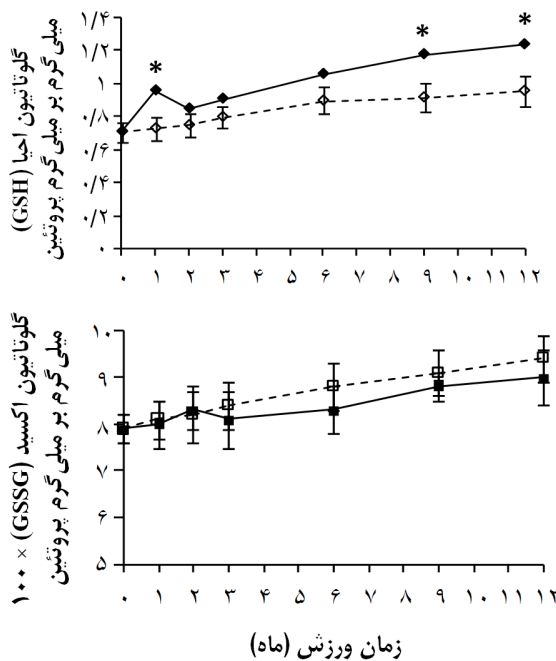
**جدول ۱: اثر ورزش منظم بر وزن بدن و قلب در موش های صحرایی**

| دوره ی ورزش (ماه) | گروه      | وزن بدن (گرم) | وزن قلب (گرم) | (نسبت وزن قلب به وزن بدن) $\times 10^3$ |
|-------------------|-----------|---------------|---------------|---|
| ۰                 | پایه      | ۲۳۴ ± ۱۶      | ۰/۷۳ ± ۰/۰۶   | ۳/۱۱ ± ۰/۹                              |
| ۱                 | ورزش کرده | ۲۳۳ ± ۱۴      | ۰/۸۰ ± ۰/۰۵   | ۳/۴۱ ± ۰/۴                              |
|                   | کنترل     | ۲۴۳ ± ۱۷      | ۰/۷۷ ± ۰/۰۶   | ۳/۱۸ ± ۰/۶                              |
| ۲                 | ورزش کرده | ۲۳۷ ± ۱۵      | ۰/۸۸ ± ۰/۰۹   | ۳/۶۹ ± ۰/۳                              |
|                   | کنترل     | ۲۵۴ ± ۲۱      | ۰/۸۱ ± ۰/۰۷   | ۳/۲۰ ± ۰/۸                              |
| ۳                 | ورزش کرده | ۲۵۱ ± ۱۷      | ۱/۰۹ ± ۰/۰۷*  | ۴/۳۱ ± ۰/۶*#                            |
|                   | کنترل     | ۲۷۰ ± ۱۴      | ۰/۹۳ ± ۰/۰۵   | ۳/۴۵ ± ۰/۷                              |
| ۶                 | ورزش کرده | ۲۷۳ ± ۱۱*#    | ۱/۲۵ ± ۰/۰۹*  | ۴/۵۵ ± ۰/۸*#                            |
|                   | کنترل     | ۳۰۴ ± ۱۴      | ۱/۱۲ ± ۰/۰۷   | ۳/۶۸ ± ۰/۹                              |
| ۹                 | ورزش کرده | ۲۹۰ ± ۱۱*#    | ۱/۳۷ ± ۰/۱۰*  | ۴/۶۹ ± ۰/۸*#                            |
|                   | کنترل     | ۳۵۱ ± ۱۴      | ۱/۲۱ ± ۰/۰۸   | ۳/۴۷ ± ۰/۷                              |
| ۱۲                | ورزش کرده | ۳۱۷ ± ۱۱*#    | ۱/۵۹ ± ۰/۰۹*# | ۴/۹۳ ± ۰/۶*#                            |
|                   | کنترل     | ۳۹۰ ± ۱۴      | ۱/۳۴ ± ۰/۱۱   | ۳/۴۹ ± ۰/۹                              |

مقادیر شامل میانگین ± خطای معیار می باشد. تعداد نمونه در همه ی گروه ها ۸ سر است.  $p < 0.05$ : \* در مقایسه با گروه پایه و  $p < 0.05$ : # در مقایسه با گروه کنترل

نمودار ۱ اثر ورزش بر اجزای چرخه ی گلوکاتایون را نشان می دهد. میزان گلوکاتایون احیا در هر دو گروه تست و کنترل در مقایسه با گروه پایه، شیب صعودی دارد. اما این افزایش فقط در گروه های ۱، ۶، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده نسبت به گروه پایه محسوس است (میانگین ها به ترتیب  $0.03 \pm 0.04$ ،  $0.03 \pm 0.04$ ،  $0.03 \pm 0.04$  و  $0.03 \pm 0.04$  در مقایسه با  $0.04 \pm 0.07$  و  $p < 0.05$  در همه ی موارد). به علاوه در گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده میزان گلوکاتایون احیا نسبت به گروه های کنترل متناظر بیشتر است (میانگین به ترتیب  $0.04 \pm 0.09$ ،  $0.05 \pm 0.07$  و  $0.05 \pm 0.07$  برای گروه های کنترل و  $p < 0.05$  در همه ی موارد). اثر ورزش بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز دقیقاً شبیه اثر آن بر میزان گلوکاتایون احیا بود (میانگین به ترتیب  $0.64 \pm 0.71$ ،  $0.64 \pm 0.71$ ،  $0.64 \pm 0.71$  و  $0.64 \pm 0.71$  برای گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماهه تست و  $0.61 \pm 0.62$ ،  $0.55 \pm 0.70$  و  $0.61 \pm 0.61$  برای گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماهه کنترل و  $p < 0.05$  در همه ی موارد). اما ورزش اثر محسوسی بر میزان گلوکاتایون اکسید و نیز فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز نداشت. با توجه به افزایش گلوکاتایون احیا و عدم تغییر گلوکاتایون اکسید طی ورزش منظم، نسبت گلوکاتایون احیا به گلوکاتایون اکسید که شاخص مناسبی از وضعیت اکسیداتیو است (شکل ۲)، در گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده به طور قابل توجهی از گروه های کنترل متناظر بیشتر بود (میانگین به ترتیب  $0.47 \pm 0.12$ ،  $0.52 \pm 0.13$  و  $0.68 \pm 0.13$  برای گروه های آزمایش و  $0.31 \pm 0.08$ ،  $0.44 \pm 0.03$  و  $0.59 \pm 0.09$  برای گروه های کنترل و  $p < 0.05$  در همه ی موارد).

بود (میانگین به ترتیب  $0.64 \pm 0.71$ ،  $0.64 \pm 0.71$ ،  $0.64 \pm 0.71$  و  $0.64 \pm 0.71$  برای گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماهه تست و  $0.61 \pm 0.62$ ،  $0.55 \pm 0.70$  و  $0.61 \pm 0.61$  برای گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماهه کنترل و  $p < 0.05$  در همه ی موارد). اما ورزش اثر محسوسی بر میزان گلوکاتایون اکسید و نیز فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز نداشت. با توجه به افزایش گلوکاتایون احیا و عدم تغییر گلوکاتایون اکسید طی ورزش منظم، نسبت گلوکاتایون احیا به گلوکاتایون اکسید که شاخص مناسبی از وضعیت اکسیداتیو است (شکل ۲)، در گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده به طور قابل توجهی از گروه های کنترل متناظر بیشتر بود (میانگین به ترتیب  $0.47 \pm 0.12$ ،  $0.52 \pm 0.13$  و  $0.68 \pm 0.13$  برای گروه های آزمایش و  $0.31 \pm 0.08$ ،  $0.44 \pm 0.03$  و  $0.59 \pm 0.09$  برای گروه های کنترل و  $p < 0.05$  در همه ی موارد). اثر ورزش بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز دقیقاً شبیه اثر آن بر میزان گلوکاتایون احیا بود (میانگین به ترتیب  $0.64 \pm 0.71$ ،  $0.64 \pm 0.71$ ،  $0.64 \pm 0.71$  و  $0.64 \pm 0.71$  برای گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماهه تست و  $0.61 \pm 0.62$ ،  $0.55 \pm 0.70$  و  $0.61 \pm 0.61$  برای گروه های ۱، ۹ و ۱۲ ماهه کنترل و  $p < 0.05$  در همه ی موارد).

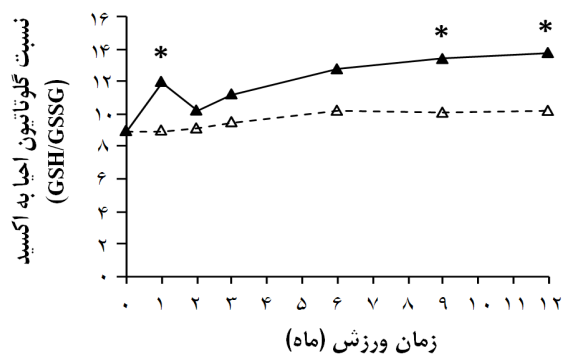
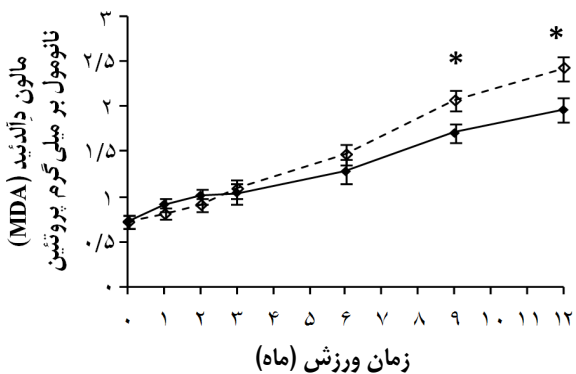


نمودار ۱: اثرات ورزش منظم بر میزان گلوکوتایون احیا، گلوکوتایون اکسید و میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و گلوکوتایون ردونکاز

ورزش منظم باعث افزایش سطح گلوکوتایون و فعالیت GPx و GSH در گروه‌های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده در مقایسه با گروه کنترل شده است. ورزش کرده، —●—: ورزش کرده، -◇-: کنترل. مقادیر شامل میانگین ± خطای معیار می‌باشد. تعداد نمونه در همه گروه‌ها ۸ عدد است. \* $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل.

همچنین در نمودار ۲ مشاهده می‌شود که پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده و گروه‌های کنترل متناظر آن‌ها نسبت به مقادیر پایه (گروه صفر) افزایش داشت. اثر سن، (میانگین به ترتیب  $0.19 \pm 0.14$ ،  $0.17 \pm 0.16$  و  $0.21 \pm 0.18$  برای گروه‌های آزمایش و  $0.20 \pm 0.19$  و  $0.23 \pm 0.14$  برای گروه‌های کنترل و  $0.20 \pm 0.19$  در گروه پایه) در همه ی موارد)  $p < 0.05$  در مقایسه با

همچنین در نمودار ۲ مشاهده می‌شود که پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده و گروه‌های کنترل متناظر آن‌ها نسبت به مقادیر پایه (گروه صفر) افزایش داشت. اثر سن، (میانگین به ترتیب  $0.19 \pm 0.14$ ،  $0.17 \pm 0.16$  و  $0.21 \pm 0.18$  برای گروه‌های آزمایش و  $0.20 \pm 0.19$  و  $0.23 \pm 0.14$  برای گروه‌های کنترل و  $0.20 \pm 0.19$  در گروه پایه) در همه ی موارد)  $p < 0.05$  در مقایسه با



نمودار ۲: اثرات ورزش منظم بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی و نسبت گلوکوتایون احیا به گلوکوتایون اکسید

نسبت GSH به GSSG در گروه‌های ۱، ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده نسبت به کنترل بیشتر و میزان MDA در گروه‌های ۹ و ۱۲ ماه ورزش کرده نسبت به کنترل‌های متناظر کمتر است. ورزش کرده، —●—: ورزش کرده، -◇-: کنترل. مقادیر شامل میانگین ± خطای معیار می‌باشد. تعداد نمونه در همه ی گروه‌ها ۸ عدد است. \* $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل.

## بحث

نامحسوس میزان پراکسیداسیون لیپیدی طی ورزش کوتاه مدت در حضور مقادیر افزایش یافته میزان گلوتاتیون احیا و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معلوم نیست. به نظر می‌رسد ورزش از طریق افزایش مصرف اکسیژن میتوکندریایی و به تبع آن افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، سعی در افزایش استرس اکسیداتیو داشته است. اما افزایش میزان گلوتاتیون احیا و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مانع از چنین اثری شده است. علت افزایش گلوتاتیون احیا هنوز برای ما معلوم نیست. اما با توجه به این که کبد در حفظ هوموستاز گلوتاتیون بین بافتی نقش محوری دارد (۱)، ممکن است این گلوتاتیون احیا از پلاسمای قلب اضافه شده باشد (۱۴).

این مطالعه اولین تحقیقی است که اثر ورزش وابسته به زمان را دراز مدت بر اجزای چرخه ی گلوتاتیون بررسی می‌کند. نتایج ما نشان می‌دهند ورزش در گروه‌های ۹ و ۱۲ ماه باعث کاهش استرس اکسیداتیو (کاهش مالون دالدئید و افزایش نسبت گلوتاتیون احیا به گلوتاتیون اکسید) و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (افزایش گلوتاتیون احیا و افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز) گردیده است. در گذشته نیز موران و همکاران اثر ۳ و ۶ ماه ورزش منظم بر اجزای چرخه ی گلوتاتیون را انجام داده (۱۴) که نتایج آنان دقیقاً نتایج به دست آمده از گروه‌های ۳ و ۶ ماه ورزش کرده ی این مطالعه را تأیید می‌نماید.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اگر چه ورزش کوتاه مدت باعث یک افزایش موقتی در میزان گلوتاتیون احیا و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می‌گردد، اما ورزش دراز مدت باعث افزایش پایدار گلوتاتیون احیا و گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش فاحش استرس اکسیداتیو در قلب می‌گردد. اگرچه ورزش به صورت منظم در حال انجام بوده، علت موقتی بودن افزایش گلوتاتیون احیا و گلوتاتیون پراکسیداز در ماه‌های اول ورزش مشخص نیست. اخیراً گزارش شده که استرس اکسیداتیو منجر به تحریک آنزیم‌های تولید کننده ی گلوتاتیون می‌گردند (۱). لذا جهت مشخص شدن مکانیسم اثر ورزش کوتاه و دراز مدت بر میزان گلوتاتیون احیا و گلوتاتیون پراکسیداز، مطالعات تکمیلی به خصوص در زمینه ی چگونگی تغییرات آنزیم‌ها و فاکتورهای

کاهش وزن بدن در گروه‌های ورزش کرده در مقایسه با گروه‌های کنترل متناظر و نیز افزایش نسبت وزن قلب به وزن بدن، شاخصی از کارا بودن ورزش در این طرح بوده است که همسو با مطالعات قبل انجام شده در این زمینه می‌باشد (۱۸، ۱۷، ۱۴). در گذشته مطالعات زیادی اثر ورزش کوتاه مدت (۳ روز تا ۱۰ هفته ورزش) بر استرس اکسیداتیو و دفاع آنتی‌اکسیدانی قلب را بررسی نموده‌اند. اما نتایج به دست آمده کاملاً متناقض است به طوری که نتایج بسیاری از آن‌ها حاکی از افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی قلب (افزایش سطح GSH و افزایش فعالیت GPx) و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از ورزش بوده است. در حالی که مطالعات متعددی نیز وجود دارند که چنین افزایشی را مشاهده نکرده‌اند و یا حتی افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش میزان فعالیت GPx و GSH را گزارش نموده‌اند. (جهت مطالعه ی دقیق رفرنس‌های مروری ۱۱ و ۱۲ را ببینید). ممکن است علت این تناقضات اختلاف در مدت، شدت و نیز نوع ورزش مورد استفاده، سن، جنس و نژاد موش‌های مورد استفاده و حتی تکنیک‌های متفاوت در ارزیابی متغیرها باشد (۱۱).

در مطالعه ی ما اگرچه میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های با ورزش کوتاه مدت (۱ و ۲ ماه) در مقایسه با گروه‌های کنترل و نیز مقادیر پایه اندکی افزایش یافت، اما از نظر آماری معنی‌دار نبود. در گذشته نیز نتایج همسو با نتایج به دست آمده در این مطالعه گزارش شده است (۲۰-۱۷). هر چند که گزارش‌هایی مبنی بر کاهش سطح مالون دالدئید نیز بر اثر ورزش کوتاه مدت وجود دارد (۲۲، ۲۱). از طرف دیگر نتایج ما نشان می‌دهد که ورزش کوتاه مدت یک ماهه باعث افزایش میزان گلوتاتیون احیا، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و نسبت گلوتاتیون احیا به گلوتاتیون اکسید گردیده است. مطالعات انجام شده قبلی نیز نتایج ما را تأیید می‌کنند (۲۴). هر چند مطالعاتی نیز وجود دارند که چنین تغییراتی را گزارش نکرده‌اند (۲۵، ۱۹). علت افزایش

بودن گلوکوتاتیون در بسیاری از فرآیندهای پاتولوژیک، بدین وسیله اثر مفید ورزش منظم بیش از پیش آشکار می‌گردد.

نسخه‌برداری درگیر در سنتز گلوکوتاتیون ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر صفر فرج نیا و دکتر فرزام شیخ زاده جهت راهنمایی و مشاوره ی ایشان و نیز از ریاست محترم مرکز تحقیقات کاربردی دارویی تبریز که هزینه ی این طرح را فراهم نمودند سپاسگزاریم.

### نتیجه‌گیری

به طور کلی این مطالعه نشان داد که اگرچه ورزش کوتاه مدت باعث افزایش موقتی گلوکوتاتیون احیا و گلوکوتاتیون پراکسیداز می‌گردد، اما ورزش دراز مدت باعث کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش دفاع آنتی اکسیدانی در قلب می‌شود. با توجه به درگیر

### References:

- 1- Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspec Med* 2009; 30: 42-59.
- 2- Kaplowitz N, Aw TY, Ookhtens M. The regulation of hepatic GSH. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25: 714-44.
- 3- Hwang C, Sinsky AJ, Lodish HF. Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science* 1992; 257: 1496-1502.
- 4-Garcia-Ruiz C, Fernández-Checa JC. Mitochondrial glutathione: hepatocellular survival-death switch. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: S3-S6.
- 5- Fernández-Checa J, Kaplowitz N, Garcia-Ruiz C, Colell A, Miranda M, Mai M, Ardite E, Morales A. GSH transport in mitochondria: defense against TNF-induced oxidative stress and alcohol-induced defect. *Am J Physiol* 1997; 273: G7-G17.
- 6- Rinaldi B, Corbi G, Boccuti S, Filippelli W, Rengo G, Leosco D, Rossi F, Filippelli A, Ferrara N. Exercise training affects age-induced changes in SOD and heat shock protein expression in rat heart. *Exp Gerontol* 2006; 41: 764-770.
- 7- Pollack M, Phaneuf S, Dirks A, Leeuwenburgh C. The role of apoptosis in the normal aging brain, skeletal muscle, and heart. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 93-107.
- 8- Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Always SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *FASEB J* 2004; 18:1150-52.

- 9- Bar-Shai M, Carmeli E, Ljubuncic P, Reznick A Z. Exercise and immobilization in aging animals: The involvement of oxidative stress and NF- $\kappa$ B activation. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 202-14.
- 10- Radak Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, Cardozo-Pelaez, F, Goto S. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflugers Arch* 2002; 445: 273-78.
- 11- Ascensão A, Ferreira R, Magalhães J. Exercise-induced cardioprotection-biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. *Int J Cardiol* 2007; 117: 16-30.
- 12- Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 193-201.
- 13- Gündüz F, Sentürk UK, Kuru O, Aktekin B, Aktekin MR. The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. *Physiol Res* 2004; 53:171-6.
- 14- Moran M, Delgado J, Gonzalez B, Manso R, Megias A. Responses of rat myocardial antioxidant defences and heat shock protein HSP72 induced by 12 and 24-week treadmill training. *Acta Physiol Scand* 2004; 180:157-66.
- 15- Rothermel B, Vega RB, Yang J, Wu H, Bassel-Duby R, Williams RS. A protein encoded within the Down syndrome critical region is enriched in striated muscles and inhibits calcineurin signaling. *J Biol Chem* 2000; 275: 8719-25.

- 16- Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-431.
- 17- Somani SM, Frank S, Rybak LP. Responses of antioxidant system to acute and trained exercise in rat heart subcellular fractions. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 51: 627-34.
- 18- Hong H, Johnson P. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; 27: 923-31.
- 19- Husain K, Somani SM. Response of cardiac antioxidant system to alcohol and exercise training in the rat. *Alcohol* 1997; 14: 301-7.
- 20- Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, Polat MF, Akar S, Akcay F, Dane S. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2006; 143: 239-45.
- 21- Demirel HA, Powers SK, Caillaud C, Coombes JS, Naito H, Fletcher LA, Vrabas I, Jessup JV, Ji LL. Exercise training reduces myocardial lipid peroxidation following short-term ischemia-reperfusion. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:1211-6.
- 22- Husain K. Interaction of physical training and chronic nitroglycerin treatment on blood pressure, nitric oxide, and oxidants/antioxidants in the rat heart. *Pharmacol Res* 2003; 48: 253-61.
- 23- Ramires PR, Ji LL. Glutathione supplementation and training increases myocardial resistance to ischemia-reperfusion in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 2: H679-H688.
- 24- Ascensao A, Magalhaes J, Soares J. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. *Int J Cardiol* 2005; 3: 451-60.
- 25- Kihlstrom MT. Lipid peroxidation capacities in the myocardium of endurance-trained rats and mice in vitro. *Acta Physiol Scand* 1992; 2: 177-83.



## **The Influence of Regular Exercise on the Glutathione Cycle Components: Antioxidant Defense Improvement Against Oxidative Stress**

**Farhad Ghadiri Soufi<sup>1</sup>, Nasser Aslanabadi<sup>2</sup> and Nasser Ahmadiasl<sup>3</sup>**

### **Abstract**

**Background and Aim:** Glutathione and components involved in its cycle play an important role in many physiological processes. This study evaluates the influence of regular exercise on the glutathione cycle components in rat heart.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 104 rats were divided into two groups of exercise and control. The exercise group was divided into six subgroups each of which was considered for one, two, three, six, nine and twelve-month exercise periods (n=8, in each subgroup). Rodents Treadmill was used for training (25 meters per minute, an hour per day, and 6 days per week). For each exercise subgroup, a control subgroup (n=8, in each subgroup) was assigned. The data were analyzed through a two-way analysis of variance using SPSS software V.16.0.

**Results:** GSH levels in 1, 9 and 12 months of training were higher than those in the corresponding control groups (p<0.05, for all cases). Although exercise had no significant effect on GSSG levels, GSH/GSSG ratio in 1, 9 and 12 month training groups were higher than those in corresponding control groups (p<0.05, for all cases). The effect of exercise on GPX enzyme activity was exactly similar to its effect on GSH levels. On the other hand, in 9 and 12 month trained groups compared with corresponding control groups, the levels of lipid peroxidation were higher (p<0.05, for both).

**Conclusion:** Regular exercise increased GPX activity and GSH levels to prevent oxidative stress probably through continuously stress.

**Keywords:** Antioxidants, exercise, glutathione, heart, oxidative stress

*Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2011; Vol. 17, No. 1*

---

1- **Corresponding Author:** PhD in Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

**Tel:** +98 411 3364664

**Fax:** +98 411 3364664

**E-mail:** Dr.F.G.Soufi@Gmail.com

2- Cardiologist, Department of Cardiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

3- PhD in Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran