

Effect of Aerobic Training and *Pistacia atlantica* Extract Consumption on Plasma Levels of Lipocalin-2 and Insulin Resistance Index in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Hosseini M.* MSc, Shemshaki A.¹ PhD, Saghebjoor M.² PhD, Gharari Arefi R.² MSc

*Physical Education Department, Physical Education & Sport Sciences Faculty, University of Esfahan, Esfahan, Iran

¹Physical Education Department, Physical Education & Sport Sciences Faculty, Al-Zahra University, Tehran, Iran

²Physical Education Department, Physical Education & Sport Sciences Faculty, University of Birjand, Birjand, Iran

Abstract

Aims: Herbal medicines and their derivatives were considered for treatment of diabetes and its side effects, for a long time. On the other hand, aerobic training considered as an essential treatment of diabetes. The aim of this study was to determine the effect of aerobic training and *Pistacia atlantica* extract consuming on plasma levels of Lipocalin-2 and insulin resistance index in Streptozotocin-induced diabetic male rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats were divided into five groups; normal control, diabetic control, diabetic+training, diabetic+extract, and diabetic+training+extract. Diabetes was induced by Streptozotocin (40mg/kg) intraperitoneal injection. 6 weeks of aerobic training on treadmill was the training program (5 sessions per week, each session 40 minutes at a speed of 20 meters per minute and the slope 5 degrees). At the end of each training session, extract groups received *Pistacia atlantica* extract (25mg/kg), based on the body weight. After six weeks, plasma levels of insulin, glucose and Lipocalin-2 were determined. Statistical analysis was done in SPSS 19 software by one-way ANOVA and LSD as a post hoc test.

Findings: No significant difference was observed, among the 5 groups in the Lipocalin-2 level ($p=0.115$), but the insulin resistance index (HOMA-IR), showed a significant difference among the 5 groups ($p=0.025$). The mean amount of HOMA-IR index in diabetes+training ($p=0.025$) and diabetes+training+extract consuming ($p=0.017$) groups in comparison to diabetic control group was significantly lower. There was no significant difference between HOMA-IR index in other diabetic groups ($p>0.05$).

Conclusion: Aerobic training, alone and combined with *Pistacia atlantica* extract consumption, by reducing insulin resistance, improves the oxidation disturbance effects of diabetes.

Keywords

Exercise [www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68015444];
Lcn2 Protein, Rat [www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/C097278];
Insulin Resistance [www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68007333];
Diabetes Mellitus [www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68003920];
Plants, Medicinal [www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68010946]

* Corresponding Author

Tel: +985632416951

Fax: +985632202032

Address: Unit 3, No 24, Razavieh 11, Sajadshahr Street, South Khorasan, Birjand, Iran. Postal Code: 9716946178
hoseyni_mahshid68@yahoo.com

Received: February 7, 2015

Accepted: August 15, 2015

ePublished: December 15, 2015

اثر تمرین هوازی و مصرف عصاره پیستاسیا آتلانتیکا بر سطوح پلاسمایی لیپوکالین ۲ و شاخص مقاومت به انسولین در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

کلیدواژه‌ها: تمرین هوازی، لیپوکالین ۲، مقاومت به انسولین، دیابت، گیاهان دارویی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۲۴

* نویسنده مسئول: hoseyni_mahshid68@yahoo.com

مقدمه

در حال حاضر دیابت با شیوع جهانی ۵٪، یک بیماری همه‌گیر در جمعیت عمومی شناخته شده است. تعداد بزرگسالان مبتلا به دیابت در جهان از ۱۳۵ میلیون نفر در سال ۱۹۹۵ به ۳۰۰ میلیون نفر در سال ۲۰۲۵ افزایش خواهد یافت. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، شیوع دیابت تا ۵۰ سال آینده ۱۶/۵٪ افزایش خواهد داشت [1]. دیابت، اختلالی متابولیک است که منجر به نقص در ترشح انسولین، عملکرد آن یا هر دو می‌شود و با افزایش سطوح پلاسمایی گلوکز (هیپرگلیسمیا) و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است [2]. هیپرگلیسمی، هیپرانسولینمی و مقاومت به انسولین منجر به افزایش سطح استرس اکسیداتیو و در نتیجه تضعیف دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود. این دو عامل در بیماری‌زایی عوارض دیابت نوع ۲ نقش دارند [3]. همچنین مشخص شده است که میانجی‌های التهابی نظیر لیپوکالین ۲ (Lcn2) و پروتئین واکنشی C (CRP) در بیماران دیابتی افزایش یافته که با توسعه و پیشرفت مشکلات قلبی- عروقی همراه است [4]. پروتئین‌های خانواده لیپوکالین شامل پروتئین متصل به اسید چرب (A-FABP)، لیپوکالین ۲ و پروتئین متصل به رتینول ۴- (RBP4) هستند که پژوهش‌ها به ارتباط بین این پروتئین‌ها با چاقی و دیابت نوع ۲ و سندروم متابولیک اشاره دارند [5]. افزایش بیان Lcn2 تحت شرایط بسیاری مانند استرس اکسیداتیو، تنش حرارتی، ریتم شبانه‌روزی و تغذیه/روزه‌داری گزارش شده است [6]. تاکنون عملکردهای متنوعی برای لیپوکالین ۲ مانند: انتقال آهن و اسیدهای چرب، القای آپوپتوز، مهار رشد باکتریایی و تعدیل پاسخ‌های التهابی گزارش شده است [7]. یکی از نکات قابل توجه، افزایش لیپوکالین ۲ در سلول‌هایی است که در معرض شرایط مضر ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد مانند مواردی همچون التهاب‌ها، مسمومیت‌ها، صدمات کلیوی، بیماری‌های قلبی، آسیب‌های ناشی از سوختگی، عفونت‌های سلولی، التهابات روده و سرطان هستند [8]. از زمان‌های قدیم، گیاهان نقش عمده‌ای در درمان بسیاری از بیماری‌ها به‌ویژه در کشورهای شرقی داشته‌اند. اسناد نشان می‌دهد که ایرانیان پیشگامان استفاده از گیاهان برای اهداف پزشکی بودند [9]. پسته وحشی یا بنه یک گونه پسته از خانواده آناکاردیاسه است. غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی در پوست بنه می‌توانند سرعت فرآیندهای اکسیداسیون را کاهش دهند [10]. از گونه‌های پسته خواص ضدالتهاب، ضدتب، ضدقارچ، ضد میکروبی،

مهشید حسینی * MSc

گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

افسانه شمشکی PhD

گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه الزهراء (س)، تهران، ایران

مرضیه ناقبجو PhD

گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

رضا قراری عارفی MSc

گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

چکیده

اهداف: گیاهان دارویی و مشتقات آنها از دیرباز در درمان دیابت و عوارض آن مطرح بوده‌اند. از طرفی، تمرینات هوازی نیز به‌عنوان جزء ضروری در درمان بیماران دیابتی نوع ۲ در نظر گرفته می‌شود. هدف این پژوهش، تعیین اثر تمرین هوازی و مصرف عصاره بنه بر سطوح پلاسمایی لیپوکالین ۲ و شاخص مقاومت به انسولین در موش‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار در پنج گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابت+تمرین، دیابت+عصاره و دیابت+تمرین+عصاره قرار گرفتند. دیابت با تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) القا شد. برنامه تمرینی شامل ۶ هفته تمرین هوازی روی نوارگردان (۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۴۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و شیب ۵ درجه) بود. گروه‌های عصاره در پایان هر جلسه تمرین، عصاره بنه (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) دریافت کردند. پس از ۶ هفته، سطوح پلاسمایی انسولین، گلوکز و لیپوکالین ۲ اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD در نرم‌افزار SPSS 19 تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین شاخص لیپوکالین ۲ در گروه‌های پنج‌گانه اختلاف معنی‌داری نداشت ($p=0/115$)، اما شاخص مقاومت به انسولین در گروه‌های پنج‌گانه اختلاف معنی‌دار داشت ($p=0/025$). میانگین شاخص مقاومت به انسولین در گروه‌های دیابت+تمرین ($p=0/025$) و دیابت+تمرین+عصاره ($p=0/017$) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود. بین میانگین شاخص مقاومت به انسولین در سایر گروه‌های دیابتی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی به‌تنهایی و به‌همراه مصرف عصاره بنه از طریق کاهش مقاومت به انسولین، اختلال عملکرد ناشی از آثار اکسایشی دیابت را بهبود می‌بخشد.

اثرات متفاوت تمرین بر لیپوکالین ۲ را گزارش کردند، انجام مطالعه روی متغیرهای مذکور در نمونه‌های دیابتی ضروری به نظر می‌رسد و در صورت کسب نتایج مثبت می‌تواند به‌عنوان راهکاری مفید در جهت بهبود بیماران دیابتی مورد توجه قرار گیرد. هدف از اجرای این پژوهش، تعیین اثر تمرین هوازی و مصرف عصاره بنه بر سطوح پلاسمایی لیپوکالین ۲ و شاخص مقاومت به انسولین در موش‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۲ هفته‌ای با وزن بین ۱۸۰ تا ۲۴۰ گرم از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند خریداری شدند. موش‌ها در خانه حیوانات و تحت نظارت نهاد مراقبت و استفاده از حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، با شرایط استاندارد درجه حرارت $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ و با رطوبت نسبی ۴۵ تا ۵۵٪ نگهداری شدند و چرخه تاریکی و روشنایی به‌صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی کنترل شد. تغذیه موش‌ها با پلت و نوشیدن آب اختیاری بود. پس از یک هفته سازگاری موش‌ها با محیط آزمایشگاه، برای ایجاد دیابت از بین ۴۰ سر موش خریداری شده، به ۳۲ سر موش محلول استرپتوزوتوسین (با دوز ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن موش در بافر ۰/۱ مولار سیترات با اسیدیته ۴/۵)، در ناحیه درون‌صفاقی تزریق شد. قند خون موش‌ها پس از ۵ روز با خونگیری از نوک دم موش‌ها و تعیین غلظت گلوکز خون با دستگاه گلوکومتر (Accu-Chek؛ ساخت آلمان) کنترل شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌عنوان معیار دیابتی شدن در نظر گرفته شد [19].

موش‌های دیابتی به‌طور تصادفی به چهار گروه؛ کنترل دیابتی، دیابت+تمرین، دیابت+تمرین+عصاره و دیابت+عصاره تقسیم شدند و به این ترتیب با ۸ سر موشی که به‌طور تصادفی در ابتدا به‌عنوان گروه کنترل سالم در نظر گرفته شدند، پژوهش در نهایت با ۵ گروه موش انجام شد.

در مرحله بعد حدود ۴۰۰ گرم بنه با آب شسته شد و پس از خشک کردن آن در سایه، با خردکن برقی به پودر تبدیل شد. برای تهیه عصاره از دو حلال اتانول و آب (با نسبت اتانول ۷۰ و نسبت آب ۳۰) استفاده شد و ماده حاصل به‌مدت ۲ روز خیسانده و با یک همزن مغناطیسی به هم زده شد. پس از آن ماده حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف شد و اتانول آن، توسط دستگاه روتاری در شرایط خلاء تبخیر شد. مایع تغلیظ‌شده در پلیت‌های شیشه‌ای در داخل هاون در دمای 40°C قرار داده شد تا کریستالیزه شود [20]. سرانجام ۲۴ گرم عصاره خشک به‌دست آمد که نسبت عصاره حاصل به گیاه بنه ۶٪ بود. روزانه بعد از هر جلسه تمرین میزان ۲۵ میلی‌گرم عصاره به‌ازای هر کیلوگرم وزن موش (۵۵ میلی‌گرم عصاره به‌ازای هر ۲۰۰ گرم وزن بدن موش) به‌صورت گاوژا به

ضد‌آنتروژنیک، ضد‌آنتروژنیک، هیپوگلیسمیک، ضدسرطان و محافظ فعالیت کبدی گزارش شده است [11]. تحقیقاتی روی ترکیبات شیمیایی بنه صورت گرفته است و مشخص شده است که عصاره این گیاه سرشار از آنتی‌اکسیدان‌هایی از جمله استرول و فیتواسترول (۱۸۹/۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم روغن)، توکوفرول (۳۷۹/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن) و فنول تام (۵۷/۵۷ میلی‌گرم در کیلوگرم بنه) است. توکوفرول و فنول‌ها می‌توانند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کنند [12]. با این حال، مطالعات کمی درباره ترکیبات فنولی در بنه، که آنتی‌اکسیدان قوی و جاذب رادیکال‌های آزاد است، وجود دارد [13]. بخش‌های خارجی یا صمغ این گیاه نیز در طب سنتی برای درمان اگرما، فلج، اسهال، عفونت‌های گلو، سنگ کلیه، یرقان، آسم و معده‌درد و همچنین به‌عنوان قابض و محرک‌های سینه‌ای استفاده می‌شود [11]. بنه حاوی چندین ترکیب بیواکتیو و ارتقادهنده سلامتی است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌دیابتیک است [9].

اگر چه از دیرباز گیاهان دارویی و مشتقات آنها در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی معتبری یافت نشده است. متخصصان عقیده دارند که رژیم غذایی و داروها به‌تنهایی در درمان و کنترل قند خون و متابولیسم چربی‌های خون بیماران دیابتی کافی نیستند، بلکه انجام فعالیت‌های بدنی و ورزشی نیز باید به برنامه روزانه این دسته از افراد اضافه شود. در این میان تمرینات هوازی به‌عنوان جزء ضروری در درمان بیماران دیابتی نوع ۲ در نظر گرفته می‌شود [14]. به‌طوری که انجمن دیابت آمریکا (AHA) در سال ۲۰۰۲ تمرین هوازی با شدت ۵۰ تا ۸۰٪ حداکثر ظرفیت هوازی را سه تا چهار بار در هفته و به‌مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه توصیه کرده است [15]. انجام فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش تعداد پروتئین‌های GLUT-4 (پروتئین‌های ناقل گلوکز-۴) می‌شود که باعث کاهش گلوکز خون ناشتا و در نهایت کاهش مقاومت به انسولین می‌شود [16]. فعالیت ورزشی هوازی باعث کاهش وزن، چربی خون و چربی احشایی، بهبود کنترل گلیسمیک و کاهش مقاومت به انسولین در افراد دیابتی نوع ۲ می‌شود و می‌تواند باعث تغییراتی بر نشانگرهای التهابی شده و در نهایت منجر به بهبود حساسیت به انسولین شود [15, 17, 18].

به‌نظر می‌رسد تاکنون پژوهشی که به‌طور همزمان تاثیر یک دوره تمرین هوازی به‌همراه مصرف عصاره بنه بر سطوح پلاسمایی Lcn2 و مقاومت به انسولین را در موش‌های دیابتی بررسی کند، مشاهده نشده است. با توجه به کمبود اطلاعات مستقیم درباره اثرات تعاملی گیاه بنه و ورزش بر کنترل دیابت و بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و همچنین با توجه به نقش‌های مختلف لیپوکالین ۲ در مقاومت به انسولین، دیابت، التهاب ناشی از دیابت و انتقال آهن و اینکه نتایج اندک به‌دست‌آمده از مطالعات پیشین،

در نهایت تمام موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، با اتر بی‌هوش شدند. حدود ۵ میلی‌لیتر خون مستقیم از قلب موش‌ها توسط سرنگ گرفته شد و به لوله آزمایش منتقل شد. پس از مخلوط کردن نمونه‌های خونی در لوله آزمایش با محلول اشباع EDTA (میزان مصرف EDTA ۱/۵ میلی‌گرم برای هر میلی‌لیتر خون) نمونه‌های خونی برای جداسازی پلاسما به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما حاصل از آن در دمای ۸۰°C- منجمد و ذخیره شد. برای آنالیز بیوشیمیایی و سنجش مقادیر پلاسمایی Lcn2 از کیت پژوهشی مخصوص موش صحرایی (شرکت CUSABIOBIOTECH, Wuhan؛ ساخت چین) به روش الایزا با ضریب تغییرات ۳/۸٪ و حساسیت روش اندازه‌گیری ۰/۰۷۸ نانوگرم در میلی‌لیتر و برای سنجش سطوح انسولین پلاسما نیز از کیت تخصصی مخصوص موش صحرایی (شرکت Mercodia, Uppsala؛ ساخت سوئد) به روش الایزا با ضریب تغییرات ۴/۹٪ و حساسیت روش اندازه‌گیری ۰/۱۵ میکروگرم در لیتر استفاده شد. همچنین برای ارزیابی مقاومت به انسولین از غلظت‌های پلاسمایی گلوکز و انسولین استفاده شد و با استفاده از فرمول HOMA-IR محاسبه شد [3]:

۲۲/۵ [انسولین ناشتایی پلاسما (میلی‌مول بر لیتر)] × گلوکز ناشتایی پلاسما (میلی‌مول بر لیتر) = HOMA-IR

پس از جمع‌آوری داده‌ها، اطلاعات توسط نرم‌افزار SPSS 19 تجزیه و تحلیل شد و از آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف برای طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه میانگین‌های مورد نظر در گروه‌ها و آزمون تعقیبی LSD برای مقایسه جفتی استفاده شد.

موش‌های گروه‌های عصاره خورنده شد. پس از رقیق‌سازی عصاره مذکور در سرم فیزیولوژی، حجم ماده گاوآژ شده، به‌ازای هر موش ۲۰۰ گرمی حدود ۰/۵ سی‌سی بود. برای ایجاد شرایط یکسان به موش‌های دیگر نیز در حجم‌های مساوی آب گاوآژ می‌شد. وزن موش‌ها هفته‌ای یک‌بار با استفاده از ترازو (Bonso مدل ۳۲۲ با حساسیت یک‌گرم؛ ساخت ژاپن) اندازه‌گیری و ثبت شد.

برنامه تمرینی شامل ۶ هفته تمرین هوازی روی نوار گردان و تعداد جلسات ۵ روز در هفته با زمان مشخص در ساعت‌های ۹-۱۱ هر صبح بود. برنامه تمرین در سه مرحله طراحی شد. مرحله اول آشنایی با شرایط آزمایشگاه بود که در این مرحله موش‌ها با محیط آزمایشگاه و دست‌کاری توسط انسان و کار روی نوار گردان آشنا شدند. در این مرحله، موش‌ها ۲-۳ جلسه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰-۵ متر در دقیقه و شیب صفر، روی نوار گردان راه رفتند. مرحله دوم یا مرحله اضافه‌بار، شامل افزایش سرعت و مدت تمرین بود تا به تدریج ۴ هفته پس از شروع پروتکل تمرین، شدت و مدت فعالیت به میزان نهایی ۴۰ دقیقه تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و شیب ۵ درجه رسید. در دو هفته آخر پروتکل یا مرحله حفظ یا تثبیت نیز موش‌ها با شدت و مدت نهایی معین شده (۴۰ دقیقه تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و شیب ۵ درجه)، روی نوار گردان فعالیت نمودند. لازم به ذکر است که این شدت تمرین برای موش‌های دیابتی نسبتاً بالا است و در منابع به‌عنوان شدت در آستانه لاکنات و معادل تقریباً ۷۵٪ حداکثر اکسیژن مصرفی در نظر گرفته شده است [21]. برای آشنایی موش‌های گروه کنترل با نوار گردان نیز، یک جلسه راه‌رفتن در هر هفته به مدت ۵ دقیقه و سرعت ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر انجام شد. همچنین در هر جلسه گرم‌کردن و سردکردن (۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر) انجام شد. به‌منظور تحریک موش‌ها برای دوییدن، از ضربه به دیواره نوار گردان همراه با شوک الکتریکی با ولتاژ کم استفاده می‌شد.

جدول ۱) میانگین آماری وزن موش‌ها و سطوح گلوکز، انسولین پلاسما، شاخص HOMA-IR و لیپوکالین ۲ در گروه‌های پنج‌گانه بعد از ۶ هفته مداخله

متغیرها	کنترل سالم (۸سر)	کنترل دیابتی (۸سر)	تمرین دیابتی (۶سر)	دیابت+عصاره+تمرین (۷سر)	دیابت+عصاره (۷سر)
وزن (گرم)	۲۲۳/۱۲±۱۱/۵۹	۱۸۳/۰۰±۸/۳۳	۲۰۶/۵۰±۱۸/۰۶	۲۱۱/۰۰±۱۶/۰۰	۲۰۷/۰۰±۲۳/۰۰
پیش‌آزمون	۲۳۹/۲۵±۱۹/۵۸	۱۵۲/۶۳±۱۳/۱۲	۱۹۹/۸۳±۵۶/۲۶	۱۹۲/۰۰±۲۰/۰۰	۱۷۹/۰۰±۴۱/۰۰
گلوکز پلاسما (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۸۶/۵۰±۱۳/۵۴	۳۶۴/۰۰±۲۷/۰۰	۳۷۵/۳۳±۷۳/۹۰	۴۴۲/۵۷±۱۱۹/۲۸	*۴۰۳/۸۶±۷۱/۳۲
پیش‌آزمون	۷۸/۲۵±۹/۳۹	۳۷۶/۰۰±۱۵/۰۱	۲۰۱/۶۶±۱۱۲/۸۹	۲۴۴/۰۰±۶۶/۳۱	*۲۵۴/۰۰±۱۸۱/۶۳
انسولین پلاسما (میکروگرم بر لیتر)	۰/۵۱±۰/۲۰	۰/۱۹±۰/۰۲	۰/۲۸±۰/۱۵	۰/۲۰±۰/۰۵	۰/۲۶±۰/۱۳
مقاومت به انسولین (شاخص HOMA-IR)	۲/۵۵±۱/۲۴	۴/۳۵±۰/۶۵	۲/۹۰±۱/۰۹	۲/۷۹±۰/۷۵	*۳/۲۵±۱/۵۵
لیپوکالین-۲ پلاسما (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۳/۹۳±۱/۱۵	۴/۵۰±۱/۶۸	۶/۸۲±۱/۳۰	۵/۶۲±۱/۷۶	۵/۷۲±۳/۰۲

p<۰/۰۵*

یافته‌ها

فقط در شاخص HOMA-IR در گروه‌های پنج‌گانه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p=0/025$) و در شاخص لیپوکالین ۲ در گروه‌های پنج‌گانه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/115$); جدول ۱).

میانگین شاخص HOMA-IR در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p=0/003$). همچنین میانگین شاخص HOMA-IR در گروه‌های دیابت+تمرین ($p=0/025$) و دیابت+تمرین+عصاره ($p=0/017$) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود. بین میانگین شاخص HOMA-IR در گروه کنترل دیابتی با دیابت+عصاره ($p=0/083$)، دیابت+تمرین با دیابت+تمرین+عصاره ($p=0/087$)، دیابت+عصاره با دیابت+تمرین+عصاره ($p=0/50$) و دیابت+عصاره با دیابت+تمرین ($p=0/60$) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

بحث

یافته‌های این پژوهش کاهش سطح گلوکز پلاسمایی، بهبود مقاومت به انسولین و عدم تغییر معنی‌دار سطوح پلاسمایی لیپوکالین ۲ را پس از ۶ هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره بنه نشان داد. قنبری نیکی و همکاران تاثیر تمرین هوازی و عصاره بنه را روی موش‌های سالم بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره بنه تاثیر معنی‌داری بر گلوکز پلاسمای ندارد که علت عدم تغییر گلوکز را می‌توان سطح اولیه آن ذکر کرد، زیرا آزمودنی آنها موش‌های سالم بود [22]. در پژوهشی کاساباری و همکاران نشان دادند تحمل گلوکز در موش‌های تغذیه‌شده با بنه به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. گزارش شده است فعالیت کاهنده قند خون بنه، احتمالاً در ارتباط با توانایی آن در مهار آنزیم آلفا آمیلاز است [23, 24]. بنه می‌تواند از طریق بهبود ترشح انسولین و محدود کردن فعالیت جذب گلوکز منجر به بهبود هوموستاز گلوکز شود و به‌طور قابل ملاحظه‌ای اثر ترشح انسولین سلول‌های بتا را تقویت می‌کند [24]. فعالیت‌های ورزشی از راه سازوکارهای مختلفی می‌توانند موجب بهبود دریافت و مصرف گلوکز خون به‌هنگام و پس از فعالیت ورزشی شوند. برخی از این سازوکارها، افزایش جریان خون عضلانی، افزایش اتصال انسولین به گیرنده آن، افزایش تغییر و تبدیل گیرنده انسولین و افزایش انتقال گلوکز به‌وسیله تحریک در جابه‌جایی GLUT4 به سطح سلول عضلانی هستند [25, 26]. فعالیت ورزشی از راه کاهش توده چربی احشایی و به‌دنبال آن کاهش رهایی سایتوکین‌های پیش‌التهابی و ایجاد محیطی ضدالتهابی در کنترل بیماری‌های مرتبط با التهاب، نظیر دیابت تاثیر بسزایی دارد [27].

نتایج تحقیق نشان داد مقاومت به انسولین در گروه تمرین دیابتی و گروه دیابت+تمرین+عصاره نسبت به گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش داشت که این مهم می‌تواند نشان از سازگاری‌های سطح سلولی ناشی از تمرین و عصاره باشد. یافته‌های به‌دست‌آمده از انسولین و مقاومت به انسولین در پژوهش حاضر با یافته‌های بلوم و همکاران همراستا بود. آنها اظهار داشتند که فعالیت ورزشی کوتاه‌مدت با شدت متوسط نه‌تنها موجب کاهش مقاومت به انسولین در افراد دارای تحمل گلوکز آسیب‌دیده می‌شود، بلکه موجب بهبود عملکرد سلول‌های بتای پانکراس نیز می‌شود [28]. به‌نظر می‌رسد در پژوهش حاضر تغییرات انسولین در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی احتمالاً با بهبود عملکرد سلول‌های بتای پانکراس قابل توجیه باشد. همچنین این پژوهش نشان داد که ۶ هفته تمرین هوازی همراه و بدون مصرف عصاره بنه سطوح Lcn2 را تغییر معنی‌داری نمی‌دهد. در این راستا اسپیریوپولوس و همکاران با بررسی ۱۰ دونه شرکت‌کننده در مسابقه فوق‌ماراتن نشان دادند که سطوح در گردش Lcn2 بلافاصله پس از فعالیت ورزشی افزایش داشت و ۴۸ ساعت پس از آن به سطح پایه نزدیک شد [29]. همچنین دمیرچی و همکاران تاثیر یک جلسه فعالیت ورزشی فزاینده روی نوار گردان را در افراد چاق بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که سطوح Lcn2 به‌عنوان یک شاخص التهابی پس از انجام یک نوبت فعالیت ورزشی فزاینده و ماندگار در افراد چاق افزایش یافت [30]. افزایش Lcn2 در پژوهش اسپیریوپولوس و دمیرچی احتمالاً بیانگر افزایش التهاب ناشی از ورزش بوده است. مشخص شده است که Lcn2 به‌عنوان یک عامل پاسخ‌دهنده به سیگنال‌های التهابی عمل می‌کند و بیان این مولکول نیز در مواجهه با فشار اکسایشی و عوامل التهابی افزایش می‌یابد [31, 32]. چوی و همکاران با بررسی اثرات ۳ ماه تمرین هوازی و قدرتی روی پروتئین‌های خانواده لیپوکالین و نشانه‌های التهابی در زنان چاق و غیرچاق، نشان دادند غلظت Lcn2 قبل و پس از ۳ ماه تمرین تفاوت معنی‌داری نداشت [5]. مقدسی و همکاران تاثیر دو نوع تمرین مقاومتی و استقامتی را به‌مدت ۸ هفته بر سطح Lcn2 پلاسمای مردان جوان سالم مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنها نشان داد ۸ هفته تمرین استقامتی و مقاومتی باعث کاهش معنی‌دار در سطح Lcn2 نسبت به گروه کنترل و کاهش معنی‌دار گلوکز و مقاومت انسولینی نسبت به پیش‌آزمون در مردان جوان سالم می‌شود [33]. محمدی و خواجه‌نندی تاثیر ۸ هفته تمرین هوازی را بر مردان دارای اضافه‌وزن بررسی کردند که نتایج آنها نشان داد ۸ هفته تمرین هوازی باعث کاهش Lcn2 می‌شود [34]. این در حالی است که در پژوهش کنونی عدم تغییر معنی‌دار Lcn2 احتمالاً می‌تواند به‌علت نوع آزمودنی‌ها و مدت تمرین باشد.

- 2- Azizi Z, Mansoorpoor S, Sabzehvarifard A, Asaie S, Ranjbar Omrani Gh. Effect of Estradiol valerate on pancreatic beta cells resistance in diabetic female rats by streptozotocin. Iran South Med J. 2014;17(2):107-19. [Persian]
- 3- Haghghat N, Vafa M, Eghtesadi S, Heidari I, Hoseini AF. The effects of Tocotrienol-enriched canola oil on glycemic control and oxidative stress in patients with type 2 diabetes: A double blind randomized clinical trial. Razi J Med Sci. 2013;20(109):52-61. [Persian]
- 4- Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, et al. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. Clin Chem. 2007;53(1):34-41.
- 5- Choi K, Kim T, Yoo H, Lee K, Cho G, Hwang T, et al. Effect of exercise training on A-FABP, lipocalin-2 and RBP4 levels in obese women. Clin Endocrinol. 2009;70(4):569-74.
- 6- Scheer F, Chan J, Fargnoli J, Chamberland J, Arampatzi K, Shea S, et al. Day/night variations of high-molecular-weight adiponectin and lipocalin-2 in healthy men studied under fed and fasted conditions. Diabetologia. 2010;53(11):2401-5.
- 7- Cowland JB, Sørensen OE, Sehested M, Borregaard N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1 β , but not by TNF- α . J Immunol. 2003;171(12):6630-9.
- 8- Bahmani P, Halabian R, Masroui N, Rouhakhsh M, Ebrahimi M, Nourani M, et al. Induction of heme oxygenase-1 by lipocalin 2 mediated by NF- κ B transcription factor. J Iran Anat Sci. 2009;1(27):33-44. [Persian]
- 9- Mohammadi Karizno F, Saghebjo M, Foadoddini M, Sarir H. The role of aerobic training and Pistacia atlantica extract on the levels of protein carbonyl, heat shock protein 70, and glycogen in the liver tissue of diabetic rats. J Birjand Univ Med Sci. 2014;21(1):35-47. [Persian]
- 10- Farzanegi P, Mousavi M, Ghanbari-Niaki A. Effect of Pistacia atlantica extract on glutathione peroxidase tissue levels and total oxidative capacity of liver and plasma lipid profile of rats. Zahedan J Res Med Sci. 2013;15(11):59-63. [Persian]
- 11- Peksel A, Arisan-Atac I, Yanardag R. Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of Pistacia atlantica Desf. Leaves. J Food Biochem. 2010;34(3):451-76.
- 12- Saber-Tehrani M, Givianrad MH, Aberoomand-Azar P, Waqif-Husain S, Jafari Mohammadi SA. Chemical composition of Iran's Pistacia atlantica cold-pressed oil. J Chem. 2013;(2013).
- 13- Hatamnia AA, Abbaspour N, Darvishzadeh R. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (Pistacia atlantica subsp. kurdica) fruits. Food Chem. 2014;145:306-11.
- 14- Rashidlamir A, Alizadeh A, Ebrahimiatri A, Dastani M. The effect of four-week period of aerobic exercise with cinnamon consumption on lipoprotein indicates and blood sugar in diabetic female patients (type 2). J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2013;20(5):605-14. [Persian]
- 15- Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes. Diabetes Care. 2010;33(12):e147-67.
- 16- Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. Physiol Rev. 2013;93(3):993-1017.
- 17- Bello AI, Owusu-Boakye E, Adegoké BO, Adjei DN.

در سال‌های اخیر گیاهان دارویی با خواص آنتی‌اکسیدانی توجه زیادی را به خود جلب کرده است و اعتقاد بر این است که این گیاهان، بافت‌ها را در مقابل اثرات زیان‌آور رادیکال‌های آزاد حفاظت می‌کنند^[35, 36]. تحقیقات حاکی از این است که یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌های گیاهی (مثل بنه) است. احتمالاً این ترکیبات به‌تنهایی یا در ترکیب با سایر استراتژی‌های درمانی از جمله فعالیت ورزشی، داروهای موثرتری در مقابل شایع‌ترین بیماری دژنراتیو مثل دیابت هستند. مطالعات انجام‌شده روی موش‌های دیابتی و همچنین مطالعه حاضر، از این فرضیه حمایت می‌کنند که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند این پاتوژنز را بهبود بخشند، که این ممکن است ناشی از اثرات مستقیم این ترکیبات روی ترشح انسولین، پیشگیری از تخریب سلول‌های بتا یا حتی از طریق تنظیم ازدیاد سلول‌های بتا باشد^[36].

از جمله محدودیت‌های این مطالعه، مرگ‌ومیر تعدادی از موش‌ها در بعضی از گروه‌ها و کاهش در حجم نمونه بود. همچنین در این مطالعه امکان تعیین تاثیر دوزهای مختلف عصاره بنه و طولانی‌تر کردن دوره تمرین وجود نداشت. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده از حجم نمونه بزرگ‌تر و گروه‌های با دوزهای مختلف عصاره و شدت‌های مختلف تمرین هوازی در دوره‌های تمرینی طولانی‌تر استفاده شود.

نتیجه‌گیری

تمرین هوازی به‌تنهایی و به‌همراه مصرف عصاره آنتی‌اکسیدانی بنه (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از طریق کاهش مقاومت به انسولین، اختلال عملکرد ناشی از آثار اکسایشی دیابت را بهبود می‌بخشد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه همکاران واحد آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند و همچنین جناب آقای دکتر مهدی هدایتی، ریاست محترم مرکز تحقیقات سلولی-مولکولی پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی اعلام می‌دارند.

تأییدیه اخلاقی: نویسندگان کلیه اصول اخلاقی مربوط به تحقیقات روی نمونه‌های حیوانی را رعایت نموده و مجوزهای لازم را از مراجع ذی‌صلاح اخذ نمودند.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی گزارش نشده است.

منابع مالی: مطالعه حاضر بدون حمایت مالی انجام شده است.

منابع

- 1- Zimmet PZ, Magliano DJ, Herman WH, Shaw JE. Diabetes: A 21st century challenge. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2(1):56-64.

- 27- Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(9):607-15.
- 28- Bloem CJ, Chang AM. Short-term exercise improves β -cell function and insulin resistance in older people with impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(2):387-92.
- 29- Spiropoulos A, Goussetis E, Margeli A, Premetis E, Skenderi K, Graphakos S, et al. Effect of inflammation induced by prolonged exercise on circulating erythroid progenitors and markers of erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(2):199-203.
- 30- Damirchi A, Rahmani-Nia F, Mehrabani J. Lipocalin-2: Response to a progressive treadmill protocol in obese and normal-weight men. *Asian J Sports Med*. 2011;2(1):44.
- 31- Hemdahl AL, Gabrielsen A, Zhu C, Eriksson P, Hedin U, Kastrup J, et al. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in atherosclerosis and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(1):136-42.
- 32- Owen HC, Roberts SJ, Ahmed SF, Farquharson C. Dexamethasone-induced expression of the glucocorticoid response gene lipocalin 2 in chondrocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;294(6):1023-34.
- 33- Moghadasi M, Mohammadi Domieh M. Effects of resistance versus endurance training on plasma lipocalin-2 in young men. *Asian J Sports Med*. 2014;5(2):108-14.
- 34- Mohammadi A, Khajehlandi A. Hs-CRP and adipokine (Lcn2): Response to exercise training in obese men. *Biomed Pharmacol J*. 2014;7(1):17-22.
- 35- Bahadoran Z, Mirmiran P, Hosseini-panah F, Hedayati M, Hosseini-panah S, Azizi F. Broccoli sprouts reduce oxidative stress in type 2 diabetes: A randomized double-blind clinical trial. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(8):972-7.
- 36- Mahmudzadeh T, Saghebjoor M, Seghatol Eslami A, Hedayati M. Effect of aerobic training and Pistacia atlantica extract consumption on pancreatic β -cells function in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Diabetes Metab*. 2014;13(3):252-62. [Persian]
- Effects of aerobic exercise on selected physiological parameters and quality of life in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Gen Med*. 2011;4:723-7.
- 18- Yousefipoor P, Tadibi V, Behpoor N, Parnow A, Delbari M, Rashidi S. The effect of 8-week aerobic and concurrent (aerobic-resistance) exercise training on serum il-6 levels and insulin resistance in type 2 diabetic patients. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2013;21(5):619-31.
- 19- Chis IC, Baltaru D, Maier M, Muresan A, Clichici S. Effects of quercetin and chronic (training) exercise on oxidative stress status in animals with Streptozotocin-induced diabetes. *Bull UASVM Vet Med*. 2013;70(1):31-9.
- 20- Laghari AQ, Memon S, Nelofar A, Laghari AH. Extraction, identification and antioxidative properties of the flavonoid-rich fractions from leaves and flowers of *Cassia angustifolia*. *Am J Anal Chem*. 2011;2(8):871.
- 21- Kim HJ, Park JY, Oh SL, Kim YA, So B, Seong JK, et al. Effect of treadmill exercise on interleukin-15 expression and glucose tolerance in Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes Metab J*. 2013;37(5):358-64.
- 22- Ghanbari Niaki A, Fathi R, Shahandeh F, Yazdani M, Hajizadeh A. The effect of endurance training and Pistacia atlantica (bene) extraction on resting plasma visfatin and lipids levels in female rats. *Daneshvar Med*. 2011;18(94):53-62. [Persian]
- 23- Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK. Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2008;2(2):022-8.
- 24- Kasabri V, AbuDahab R, Afifi FU, Naffa R, Majdalawi L. Modulation of pancreatic MIN6 insulin secretion and proliferation, and extrapancreatic glucose absorption with Achillea santolina, Eryngium creticum and Pistacia atlantica extracts: in vitro evaluation. *J Exp Integr Med*. 2012;2(3):245-54.
- 25- Zinman B, Ruderman N, Campaigne B, Devlin J, Schneider S. Physical activity/exercise and diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26(Suppl1):S73-7.
- 26- Manetta J, Brun JF, Maimoun L, Callis A, Préfaut C, Mercier J. Effect of training on the GH/IGF-I axis during exercise in middle-aged men: relationship to glucose homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283(5):E929-36.