



اثر عصاره هیدروالکلی بذر کدو و تمرين استقامتی بر نشانگرهای بیوژن میتوکندری و تخریب DNA بافت تخمنان در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن

شهرزاد اصغری: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

محمد علی آذربایجانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران (نویسنده مسئول) m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

مصطفود پیری: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

حسن متین همانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرين هوائي،
عصاره بذر کدو،
بیوژن میتوکندری،
تخمنان

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۰۱
تاریخ چاپ: ۹۹/۱۰/۰۹

زمینه و هدف: نقش بالقوه بذر کدو و تمرينات منظم بدنی برای مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو گزارش شده است. هدف از این تحقیق، بررسی اثر عصاره هیدروالکلی بذر کدو و تمرين هوائي بر نشانگرهای (Biomarker) بیوژن میتوکندری و تخریب DNA بافت تخمنان در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن بود.

روش کار: در یک کارآزمایی تحریکی، ۴۲ سر رت ماده ویستار به طور تصادفی در ۷ گروه قرار گرفتند. تمامی گروه‌ها ۱۰۰ میلی- گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را به مدت ۱۴ روز و به صورت دون رفاقت دریافت کردند. رتها در گروه‌های مکمل، عصاره هیدروالکلی بذر کدو با دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به روش گاو‌آزار دریافت کردند. تمرين هوائي روی تردیمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، ۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت هشت هفته اجرا گردید. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرينی، موش‌ها قربانی شده و بافت تخمنان آن‌ها جمع‌آوری شد. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: تمرين هوائي، عصاره بذر کدو و مداخله ترکیبی عصاره بذر کدو با تمرين هوائي منجر به افزایش معنی‌دار سطوح متیل گوانین و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدات (PAB)، همچین کاهش معنی‌دار مقادیر آذونزین تری‌فسفات (ATP) و مالون دی-آلدیید (MDA) بافت تخمنان شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: مداخله ترکیبی مکمل بذر کدو و تمرين هوائي می‌تواند از طریق افزایش تعادل اکسیدانت-پرواکسیدات به بهبود بیوژن میتوکندری و کاهش تخریب DNA بافت تخمنان کمک کند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Asghari Sh, Azarbayjani MA, Peeri M, Matin Homae H. The effect of pumpkin seeds hydroalcoholic extract and endurance training on mitochondrial biogenesis markers and DNA damage in ovarian tissue in female rats toxicated by hydrogen peroxide. Razi J Med Sci. 2020;27(10):93-104.

* منتشر این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

The effect of pumpkin seeds hydroalcoholic extract and endurance training on mitochondrial biogenesis markers and DNA damage in ovarian tissue in female rats toxicated by hydrogen peroxide

Shahrzad Asghari: PhD Student of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
✉ Mohammad Ali Azarbajani: PhD Student of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran (* Corresponding author) m_azarbajani@iauctb.ac.ir
Maghsoud Peeri: PhD Student of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
Hasan Matin Homaei: PhD Student of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Free radicals or reactive oxygen species (ROS) are highly active chemical compounds that can cause oxidative damage to tissues by attacking macromolecules such as lipids, carbohydrates and nucleic acids. There are several defense mechanisms in the body against free radicals. Under physiological conditions, there is a balance between the production of free radicals and antioxidant defense systems. Increasing the production of free radicals due to exposure to environmental oxidants and increasing their production in the body and reducing the antioxidant capacity causes oxidative stress. This imbalance in Pro-oxidants-antioxidant balance (PAB) causes damage to cell DNA and intracellular organs, especially mitochondria. Studies have shown the positive effects of regular exercise on improving the ratio of prooxidants to antioxidants and factors involved in mitochondrial biogenesis and DNA degradation. Some studies have suggested increasing the use of antioxidants or antioxidant supplements during or after exercise to reduce the peroxidation of lipids and proteins, thereby reducing the destructive effects of oxidative active species on cells and tissues. Pumpkin seeds are rich sources of proteins, phytosterols, polyunsaturated fatty acids including linoleic, linolenic, vitamins (A, B, E and folic acid) and antioxidants such as carotenoids, lutein, tocopherol. Are chlorophyll and elements such as zinc and selenium, which are necessary for the normal functioning of the reproductive organs. Due to the fact that pumpkin contains these compounds, it is likely to affect the function of the pituitary gland axis and the concentration of sex hormones. Phenolic compounds in pumpkin seed extract inhibit lipid peroxidation, these compounds also inhibit free radicals.

The protective role of pumpkin seed extract on ovarian DNA damage parameters has not been elucidated yet. It is necessary to evaluate the ratio of prooxidants to antioxidants and the balance between them. Therefore, the present study aims to investigate the effect of pumpkin seeds hydroalcoholic extract and endurance training on mitochondrial biogenesis markers and DNA damage in the Ovarian tissue in rats toxicated by hydrogen peroxide.

Methods: In this semi-experimental study, 42 female Wistar rats randomly were divided into 7 groups. All groups received 100 mg/kg body weight of hydrogen peroxide (H_2O_2) for 14 days intraperitoneal. Rats in supplemented groups received hydrophilic the rats received supplemental hydroalcoholic extract of pumpkin seeds at doses of 1 and 2 mg/kg body weight per day by gavage method. Aerobic training was performed on a treadmill at a speed of 23 m/min, 30 min/day, 5 days/week for eight weeks. Twenty-four hours after the last training session, rat Ovarian tissue was collected. Data were analyzed using by two-way ANOVA and Bonferroni post hoc test

Keywords

Aerobic Training,
Pumpkin Seed,
Mitochondrial
Biogenesis,
Ovarian

Received: 22/09/2020

Published: 29/12/2020

at $p<0.05$.

Results: The results showed that Aerobic training, pumpkin seed and combined intervention of pumpkin seeds with aerobic training resulted in a significant increase of methyl guanine levels and oxidant-prooxidant (PAB) equilibrium, as well as a significant decrease in adenosine triphosphate (ATP) and malondialdehyde (MDA) in the Ovarian tissue ($p<0.05$).

Conclusion: The results of the present study showed that aerobic training, pumpkin seeds and intervention of pumpkin seeds and aerobic training improves the levels of PAB, MDA, ATP and 6-methylguanine in the ovarian tissue of rats poisoned with hydrogen peroxide. The mechanism that reduces lipid peroxidation in the exercise group is glycemic control and reduction of fat profile parameters after exercise, which provides important effects on reducing oxidative stress parameters and provides more support for evidence of the possible protective effect of exercise against oxidative stress. the results of studies show the positive effects of exercise on oxidative stress, which can also be useful for reducing the concentration of lipid peroxidation in conditions of increased oxidative stress and imbalance between ROS production.

Another important possible mechanism of exercise-induced cellular protection may be the ability to block the formation of free radicals. Oxygen-reactive species are produced in the mitochondrial electron transfer chain as a natural product, but can lead to cell death when their levels exceed cell antioxidant capacity. The first mechanism that affects the indicators of oxidative stress following exercise is exercise status (type, intensity and duration of exercise). Long-term exercise training counteracts this effect by increasing antioxidant enzymes and thus reducing the production of free radicals. Therefore, it seems that aerobic training in the present study can be a good solution to treat metabolic disorders and reduce DNA damage in ovarian tissue following hydrogen peroxide toxicity. The mechanism of the effect of pumpkin seed extract on the oxidative parameters of reproductive organs has not been precisely determined. Pumpkin seeds, if used as a medicinal and herbal supplement, are a good source of zinc and unsaturated fatty acids and phytosterols, which are effective in preventing chronic diseases of the reproductive organs, especially the ovaries. Pumpkin seeds contain phytoestrogens. One of the side properties of phytoestrogens is antioxidant activity. Therefore, in the present study, the phytoestrogens in pumpkin seed extract may have reduced lipid peroxidation and reduced DNA damage in ovarian tissue. In addition, pumpkin seeds contain amounts of the element zinc. The zinc in pumpkin seeds acts as an antioxidant against free radical attack and prevents oxidation and free radical formation. In the present study, 1 g and 2 g of pumpkin seed extract could help improve the oxidative conditions of ovarian tissue. Pumpkin seed extract seems to be able to reduce the DNA damage to ovarian tissue due to its antioxidant effects. In the present study, there were limitations in the present study, including the study of animal specimens. Other limitations of this study include lack of measurement of other oxidant-prooxidant factors. According to the results, it seems that intervention of pumpkin seeds and aerobic training can help increase the balance of oxidant-prooxidant to improve mitochondrial biogenesis and reduce ovarian tissue DNA damage.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Asghari Sh, Azarbayjani MA, Peeri M, Matin Homae H. The effect of pumpkin seeds hydroalcoholic extract and endurance training on mitochondrial biogenesis markers and DNA damage in ovarian tissue in female rats toxicated by hydrogen peroxide. Razi J Med Sci. 2020;27(10):93-104.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

اکسایشی ناشی از اتانول در کبد موش‌های مسن و جوان به دنبال مصرف اتانول را بهبود می‌بخشد (۸). برخی مطالعات نیز مصرف بیشتر آنتی اکسیدان‌ها با مکمل‌های آنتی اکسیدانی را در طول فعالیت ورزشی یا پس از آن به منظور کاهش پراکسیداسیون لیپید و پروتئین‌ها و در نتیجه کاهش آثار مخرب گونه‌های فعال اکسایشی بر سلول‌ها و بافت‌ها توصیه می‌کنند (۹). کدوتنبل گیاهی است یک ساله و خزنده که برگ‌های آن به شکل قلب و پهن و پوشیده از کرک ریز می‌باشد. تخم کدو منابع غنی از پروتئین‌ها، فیتواسترول‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه شامل لینولئیک، لینولنیک، ویتامین‌ها (A, B, E و اسید فولیک) و آنتی اکسیدان‌ها مانند کاروتونوئیدها، لوئین، توکوفرول، گاما، کلروفیل و عناصری مثل روی و سلنیوم هستند که این ترکیبات برای کارکرد طبیعی اندام‌های تولید‌مثلثی لازم هستند. عصاره و روغن تخم کدو در بهبود توانایی تولید مثلثی موش‌های صحرایی نر اهمیت زیادی دارند. همچنین، مصرف این گیاه در رژیم غذایی روزانه با هدف کاهش عوارض جانبی آلوگی با سرب و وضعیت جنسی مطلوب پیشنهاد شده است (۱۰). با توجه به این که کدو تنبیل دارای این ترکیبات می‌باشد احتمال دارد که بر روی عملکرد محور هیپوفیز گناد و غلظت هورمون‌های جنسی موثر باشد (۱۱). میزان بالای اسید لینولئیک از جمله ویژگی‌های مهم تغذیه‌ای دانه کدو است. اسید لینولئیک، اسید چرب ضروری برای انسان است و ترکیبی ضروری در غشاها سلولی، ویتامین D و هورمون‌های مختلف است. توکوفرول‌ها نیز عمدت‌ترین آنتی اکسیدان‌های لیپوفیل در دانه کدوی تخم کاغذی و روغن حاصل می‌باشند. دانه‌های این گیاه حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای مشتقات ویتامین E شامل توکوفرول‌ها و توکوتری‌انول‌ها هستند (۱۲). ترکیبات فنولی در عصاره دانه کدو، باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند. این ترکیبات، رادیکال‌های آزاد را نیز مهار می‌کنند (۱۳).

درمان‌های جایگزین مانند گیاهان دارویی در مقایسه با دیگر روش‌ها کمتر تهاجمی بوده و از لحاظ اقتصادی نیز مقرنون به صرفه هستند. ارزش غذایی بالای تخم کدو و نیز توانایی آن در جلوگیری و درمان بیماری‌های پروسات و ناتوانی جنسی مردان در گزارش شده است

مقدمه

رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive oxygen species) ترکیبات شیمیایی بسیار فعالی هستند که می‌توانند از طریق حمله به ماکرومولکول‌هایی از قبیل لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث آسیب اکسیداتیو به بافت‌های زنده شوند (۱). در بدن سازوکارهای دفاعی متعددی علیه رادیکال‌های آزاد وجود دارد. تحت شرایط فیزیولوژیکی بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی تعادل وجود دارد. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از قرار گرفتن در معرض اکسیدان‌های محیطی و افزایش تولید آن‌ها در بدن و کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. این عدم تعادل در تعادل پرواکسیدانت-آنتی اکسیدانت (Pro-oxidants-antioxidant balance) موجب آسیب به DNA سلول و اندامک‌های داخل سلول به ویژه میتوکندری می‌شود (۲) و به عنوان یکی از سازوکارهای تخریب مولکولی و سلولی بافت‌های بدن در طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی شناخته شده است (۳,۴).

مطالعات انجام شده اثرات مثبت فعالیت ورزشی منظم بر بهبود نسبت پرواکسیدان‌ها-آنتی اکسیدان‌ها و عوامل درگیر در بیوژنز میتوکندریایی و تخریب DNA را نشان داده‌اند (۵-۸). در همین راستا، کارارو و همکاران در تحقیقی وضعیت اکسیداتیو در رابطه با تمرینات ورزشی و محیط و فاکتورهای سبک زندگی، ظرفیت‌های مختلف بیومارکرهای پرو اکسیدانت، ظرفیت آنتی اکسیدانت، فعالیت بیگانه خواری رادیکال‌ها و آسیب DNA را در گروهی از افراد میانسال سالم مورد بررسی قرار دادند. ارزیابی بیومارکرهای مورد بررسی حاکی از اثر مفید تمرینات ورزشی بر روی وضعیت اکسیداتیو اندازه گیری شده در آزمودنی‌هایی بود که فعالیت بدنی منظم داشتند (۶). سیو و همکاران نیز نشان دادند که آسیب DNA ناشی از اکسیدانت پس از تمرین اختیاری در عضلات قلبی و اسکلتی موش‌های صحرایی کاهش یافت. همچنین افزایش بیان O-6-methylguanine-DNA متیل ترانسفراز در گروه تمرین ۲۰ هفته نسبت به گروه کنترل مشاهد شد (۷). همچنین گزارش شده است که تمرینات هوازی آسیب

به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. کلیه اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی (برابر پروتکل هلیسنسکی ۲۰۰۶) و مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

القای فشار اکسیداتیو

تمامی گروه‌ها ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ساخت شرکت سیگما آلدريچ را به مدت ۱۴ روز و به صورت درون صفاقی بر اساس مطالعه کومار و همکاران (۲۰۱۱) دریافت کردند (۱۵).

آماده سازی عصاره

بذر کدو خشک (۱۰۰ گرم) 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 و پس از آن از فیلتر کاغذی ۰/۲ میلی‌متری عبور داده شد. ماده باقی مانده در دستگاه پرکولاسانیون قرار داده شد تا اتانول آن تبخیر گردد. هر ۵۰ میلی‌گرم پودر عصاره خشک باقیمانده در ۱/۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و با روش گاواظ به رت‌ها خورانده شد (۱۶).

برنامه تمرینی

گروه‌های تمرین پس از آشناسازی ۵ روزه، تمرینات هوازی روی تردمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، ۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام دادند. پروتکل تمرین ورزشی حاضر بین ساعت ۰۶:۰۰ و ۰۸:۰۰ صبح اجرا شد (۸).

فدا نمودن حیوانات و بافت برداری (آماده سازی بافت و سنجش‌های بافتی)

بیست و چهار ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، مous‌ها بوسیله تزریق درون صفاقی کتمانی [۹۰] mg/kg و زایلازین [۱۰] mg/kg بی‌هوش شده، سپس نمونه بافت تحمدان مous‌ها جمع آوری شد. بافت تحمدان رت‌ها جدا شده و بعد از شستن با محلول PBS بدون فاصله در نیتروژن مایع (۱۹۶- درجه

(۱۴). با این حال تاکنون نقش حفاظتی عصاره بذر کدو بر روی پارامترهای آسیب DNA تحمدان روش نشده است. بنابراین لازم است وضعیت نسبت پرواکسیدان‌ها آنتی اکسیدان‌ها و تعادل میان آن‌ها بررسی شود. بدیهی است که بهبود شرایط سلولی و مولکولی اندام تولید مثلی می‌تواند به سلامت و کارکرد آن کمک شایان توجهی نماید. از طرف دیگر، اثرات مفید تمرینات هوازی با شدت متوسط بر جلوگیری از پیشرفت اختلال میتوکندری نشان داده است اما سازوکارهای درگیر به خوبی شناخته نشده‌اند. با توجه به نقش بالقوه عصاره بذر کدو و تمرینات منظم بدنی برای مقابله با آسیب اکسیداتیو هدف پژوهش حاضر بررسی اثر عصاره هیدروالکلی بذر کدو و تمرین استقامتی بر نشانگرهای (biomarker) بیوژن میتوکندریایی و تخریب DNA بافت تحمدان در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن می‌باشد.

روش کار

دریک کارآزمایی تجربی، ۴۲ رت ماده نزاد ویستار (از موسسه انسستیتو پاستور تهران) تهیه شدند. پس از انتقال رت‌ها به حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مروودشت، رت‌ها به مدت یک هفته جهت تعابیق با محیط جدید، بدون دریافت هیچ نوع مداخله‌ای در قفسه‌های ویژه نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید، رت‌ها به صورت تصادفی به ۷ گروه شامل ۱) کنترل (القاء شده با پراکسید هیدروژن)، ۲) تمرین هوازی سالین، ۳) تمرین هوازی-عصاره بذر کدو ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، ۴) تمرین هوازی - عصاره بذر کدو ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، ۵) عصاره بذر کدو ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، ۶) عصاره بذر کدو ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز و ۷) کنترل سالم تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس PVC با درپوش توری فلزی که کف آنها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، قرار گرفتند. دمای اتاق ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد، رطوبت معادل ۴۰-۵۰ درصد، سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ بود و همگی به شکل آزادانه

افزارهای SPSS با نسخه ۲۳ اجرا شد.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه مشخص شد، تمرين اثر معنی‌داری بر غلظت متیل گوانین بافت تخمدان نداشت ($F=0.1, P=0.754, \mu=0.003$) در حالیکه بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت متیل گوانین بافت تخمدان داشت ($F=26.302, P=0.0001, \mu=0.637$). همچنین تعامل تمرين و بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت متیل گوانین بافت تخمدان داشت ($F=219.057, P=0.001, \mu=0.936$).

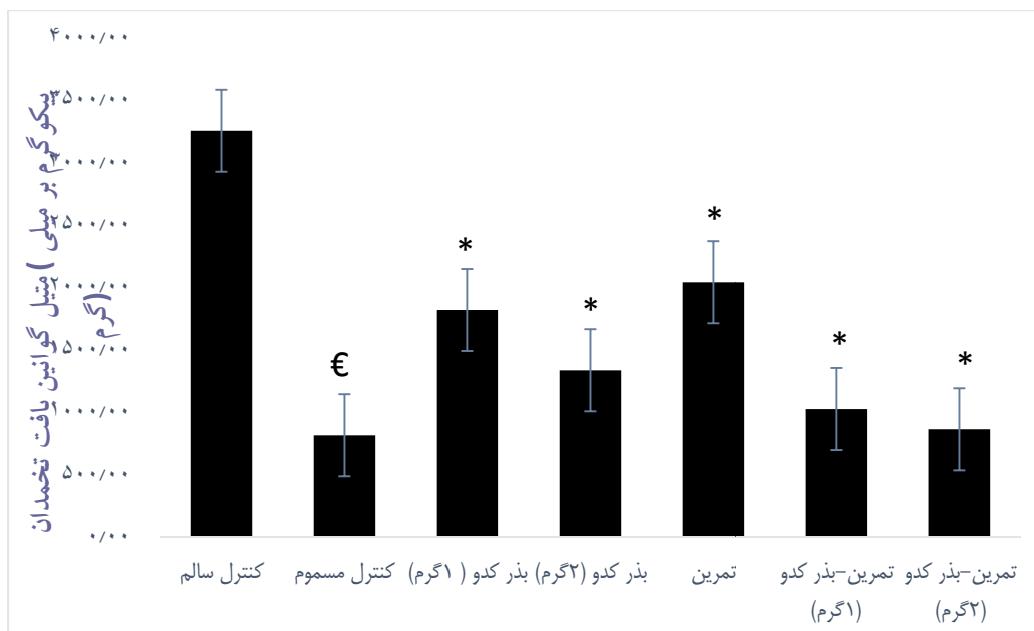
همچنین با توجه به معنی‌داری، آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد بین گروه ۱ گرم بذر کدو و گروه ۲ گرم بذر کدو ($P=0.062$) و ۱ گرم بذر کدو با گروه کنترل ($P=0.117$) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد اما بین گروه ۲ گرم بذر کدو و کنترل ($P=0.001$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد (شکل ۱).

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه مشخص شد، تمرين اثر معنی‌داری بر غلظت ATP بافت تخمدان دارد

سانتی گراد) منجمد شده و سپس در دمای ۸۰-درجه سانتیگراد ذخیره شد. میزان غلظت 6-methylguanine با استفاده از کیت الایزا شرکت DLdevelop کشور کانادا با دامنه تشخیص ۱۲۵-۵۰۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر، حساسیت ۲۷ پیکوگرم بر میلی لیتر و ضریب تغییرات ۱۰-۱۲٪، MDA با استفاده از کیت الایزا شرکت CUSABIO کشور امریکا با دامنه تشخیص ۷/۸۱ ۲۰۰۰ پیکومول بر میلی لیتر، حساسیت ATP ۱۰-۲۶٪ پیکومول بر میلی لیتر و ضریب تغییرات abnova کشور تایوان با حساسیت ۰/۰۲ میکرومولار و PAB بافت تخمدان با استفاده از روش ایمونوسنجی اندازه‌گیری شد.

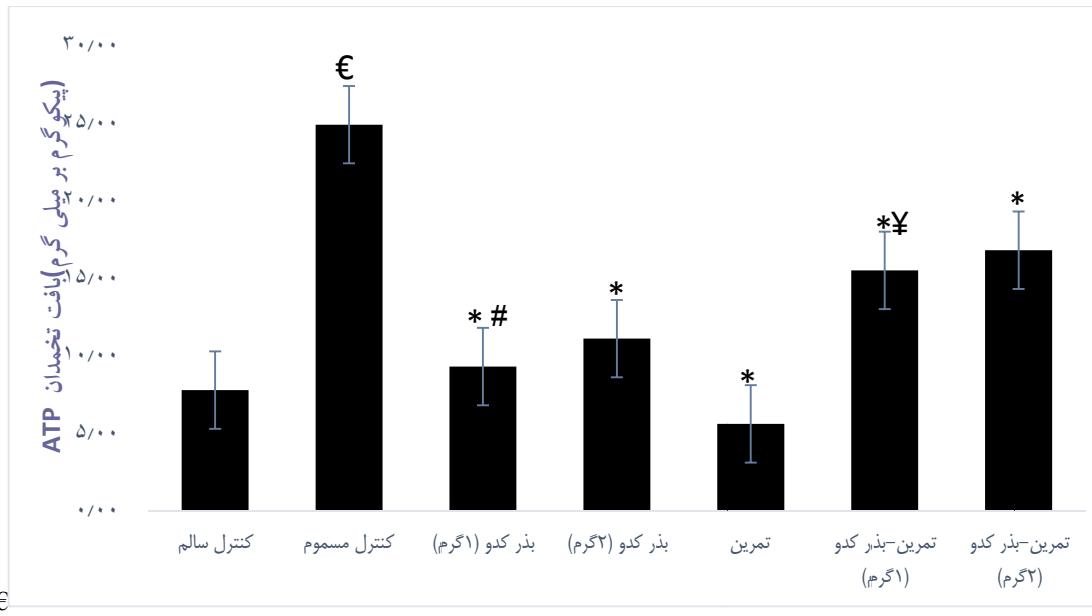
روش آماری

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات عوامل مورد بررسی در گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری در همه موارد $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم



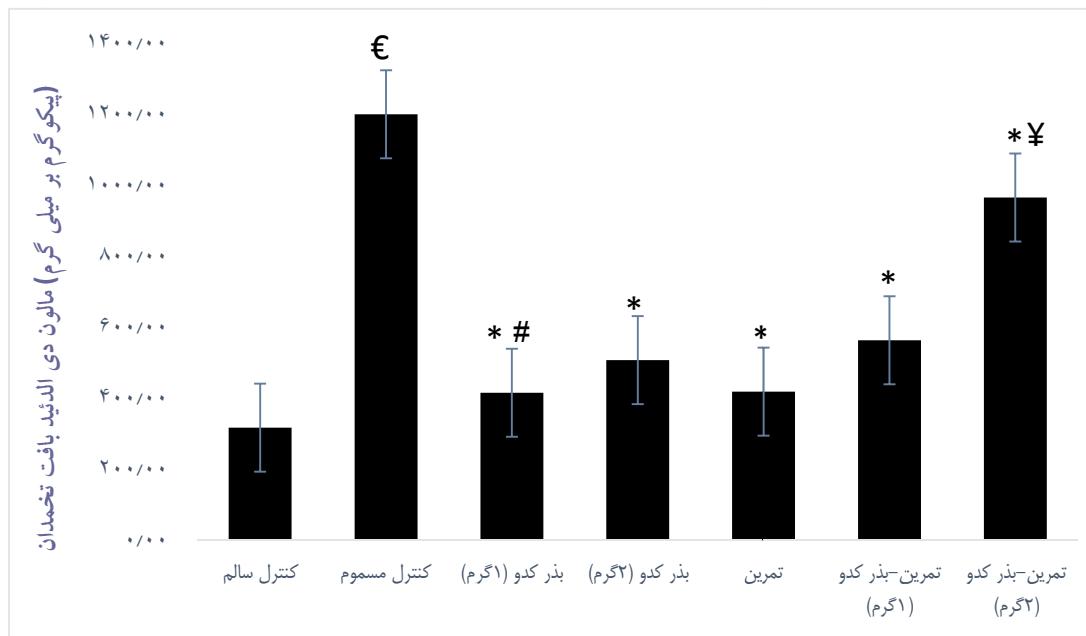
* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم، ** تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سموم ($P \leq 0.05$). € تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم، * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سموم ($P \leq 0.05$).

شکل ۱ - متیل گوانین بافت تخمدان در گروه‌های مورد مطالعه



معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم، *تفاوت معنی دار نسبت به گروه بذر کدو (۱ گرم)، #تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین - بذر کدو (۲ گرم) (P≤۰/۰۵).

شکل ۲- ATP بافت تخمدان در گروه های مورد مطالعه



تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم، *تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل مسموم، #تفاوت معنی دار نسبت به گروه بذر کدو (۱ گرم)، ¥تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین - بذر کدو (۲ گرم) (P≤۰/۰۵).

شکل ۳- MDA بافت تخمدان در گروه های مورد مطالعه

.(P=0.001, μ =0.989 افرون بر این نتایج آزمون بونفرونی نشان داد غلظت ATP بافت تخمدان در پایان دوره بین گروه دریافت بذر کدو با دوز یک و بذر کدو با دوز دو تفاوت معنی داری داشت (P=۰/۰۰۱). همچنین غلظت

(F=116.998,P=0.001, μ =0.796) اثر معنی داری بر غلظت ATP بافت تخمدان داشت (F=53.387,P=0.0001, μ =0.781). همچنین تعامل تمرین و بذر کدو اثر معنی داری بر غلظت متیل گوانین بافت تخمدان داشت (F=1349.374,

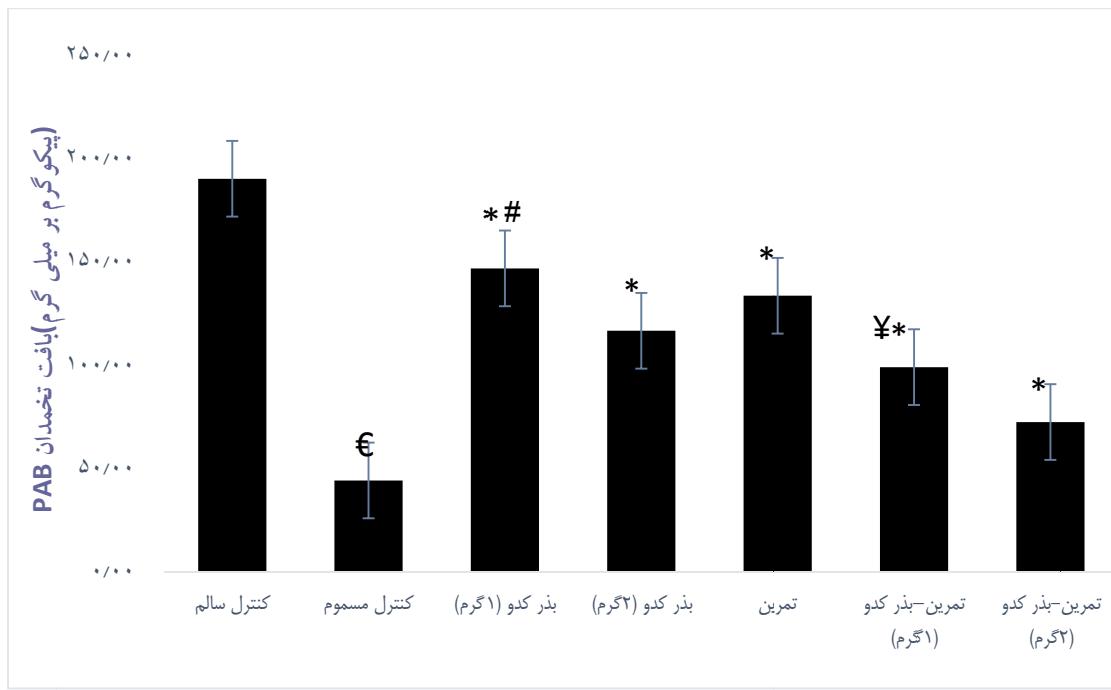
واریانس دوطرفه مشخص شد که تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت PAB بافت تخمدان نداشت ($F=0.069, P=0.794, \mu=0.002$). دریافت بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت PAB بافت تخمدان داشت ($F=41.997, P=0.0001, \mu=0.737$). همچنین تعامل تمرین و بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت PAB بافت تخمدان داشت ($F=193.270, P=0.001, \mu=0.928$). نتایج آزمون بن فرونی نشان داد غلظت PAB بافت تخمدان در پایان دوره بین گروه دریافت بذر کدو با دوز یک و بذر کدو با دوز دو تفاوت معنی‌داری داشت ($P=0.001$). همچنین میزان PAB بافت تخمدان در پایان دوره بین گروه دریافت بذر کدو با دوز یک و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشت ($P=0.001$). افزون بر این، بین گروه دریافت کننده با دوز دو گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P=0.001$) (شکل ۴).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوایی منجر به بهبود سطوح MDA، PAB و ATP 6-

بافت تخمدان در گروه دریافت بذر کدو با دوز یک و دریافت کننده بذر کدو با دوز دو به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($P=0.001$) (شکل ۲). بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس دوراهه مشخص شد، تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت MDA بافت تخمدان داشت ($F=7.522, P=0.010, \mu=0.200$). دریافت بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت MDA بافت تخمدان داشت ($F=60.300, P=0.0001, \mu=0.858$). همچنین تعامل تمرین و بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت MDA بافت تخمدان داشت ($F=335.443, P=0.001, \mu=0.957$). افزون بر این، نتایج آزمون بنفرونی نشان داد غلظت MDA بافت تخمدان در پایان دوره بین گروه دریافت بذر کدو با دوز یک و بذر کدو با دوز دو تفاوت معنی‌داری داشت ($P=0.001$). همچنین غلظت MDA بافت تخمدان در پایان دوره بین گروه دریافت بذر کدو با دوز یک ($P=0.001$) همچنین گروه دریافت کننده بذر دو به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($P=0.029$) (شکل ۳).

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل



*تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم، #تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه بذر کدو (۲ گرم)، ¥تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین-بذر کدو (۲ گرم) ($P \leq 0.05$).

شکل ۴- بافت تخمدان در گروه‌های مورد مطالعه

ورزش طولانی مدت با این اثر توسط افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و در نتیجه کاهش تولید رادیکال‌های آزاد مقابله می‌کند (۲۱). بنابراین به نظر می‌رسد تمرین هوازی در پژوهش حاضر، می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان اختلال متابولیک و کاهش آسیب DNA در بافت تخدمان به دنبال سمتی با پراکسید هیدروژن باشد. با این حال، تحقیقات گزارش کرده‌اند که تمرینات کوتاه مدت هوازی به ویژه زمانی که با شدت بالا اجرا شوند، به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد منجر شده و با سرکوب سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، موجب ایجاد استرس اکسایشی می‌شوند (۲۲، ۲۳). تفاوت نتایج فوق با یافته این پژوهش را می‌توان ناشی از تفاوت بین نوع پروتکل تمرینی، محل اندازه‌گیری و نوع نمونه‌ها دانست. در پژوهش فوق نمونه‌های سالم مورد بررسی قرار گرفتند در حالی که در پژوهش حاضر نشانگرهای بیوژن میتوکندریایی و تخریب DNA بافت تخدمان در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن مورد بررسی قرار گرفت.

همچنین در پژوهش حاضر، مقادیر آدنوزین تری فسفات و مالون دی‌الثید در گروه مصرف کننده عصاره بذر کدو نسبت به گروه کنترل کاهش یافت؛ افزون بر این، مصرف عصاره بذر کدو با افزایش سطوح متیل گوانین و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت همراه بود. سازوکار اثر عصاره بذر کدو بر روی شاخص‌های اکسایشی اندام‌های تولید مثلی به صورت دقیق مشخص نشده است. گزارش شده است که اکسیدان‌های موجود در فولیکول‌های تخدمانی، پیش از تخمک‌گذاری برای پاسخ تخمک‌گذاری ضروری هستند و گونه‌های آزاد اکسیژن تخدمان، از تخمک‌گذاری و مجموعه کاملی از پاسخ‌های ضروری پیش از تخمک‌گذاری جلوگیری می‌کنند (۲۴). هورمون‌های استروئیدی نیز نقش مهمی در تنظیم مرگ سلولی در تخدمان ایفا می‌کنند، استروژن‌ها از آپوپتوز سلول‌های گرانولوزای فولیکولی جلوگیری می‌کنند در حالی که آندروجن‌ها به تکه تکه شدن DNA سلول‌های تخدمانی کمک می‌کنند. این هورمون‌ها اثرات فوق را به ترتیب با جلوگیری و افزایش فعالیت اندونوکلتاز در سلول‌های گرانولوزای تخدمان ایجاد می‌کنند (۲۵). تخم کدو در صورتی که به عنوان یک مکمل دارویی و گیاهی مصرف شود یک منبع

methylguanine بافت تخدمان رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن می‌شود. استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش مهمی در آسیب بافتی دارد و نشان دهنده ی آسیب غشای سلول و اختلال در سازوکار دفاعی آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد (۱۷). از آنجایی که در مطالعه حاضر تمرین هوازی موجب کاهش میزان MDA شد، مشخص می‌گردد میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت تخدمان در رت‌های ماده مسموم شده با پراکسید هیدروژن کاهش یافته است. سازوکاری که موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید در گروه ورزش می‌شود عبارت است از کنترل گلیسمی و کاهش پارامترهای نیمرخ (profile) چربی متعاقب اجرای تمرینات که اثرات مهمی روی کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو و ارائه حمایت بیشتر برای شواهد اثر حفاظتی احتمالی ورزش در برابر استرس اکسیداتیو فراهم می‌کند. به طور قابل توجهی نتایج حاصل از مطالعات اثرات مثبت ورزش بر استرس اکسیداتیو را نشان می‌دهد که همچنین می‌تواند برای کاهش غلظت پراکسیداسیون لیپیدی در شرایط افزایش استرس اکسایشی و عدم تعادل بین تولید ROS مفید باشد (۱۸). یکی دیگر از سازوکارهای مهم احتمالی قابلیت محافظت سلولی ناشی از تمرین ورزشی می‌تواند در زمینه ظرفیت مسدود کردن تشکیل رادیکال‌های آزاد باشد. گونه‌های واکنشگر اکسیژنی در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری به عنوان یک محصول طبیعی تولید می‌شوند، اما زمانی که سطوح آن‌ها بیش از ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول باشد می‌توانند منجر به مرگ سلول شوند. استرس اکسایشی ناشی از گونه‌های واکنشگر اکسیژنی به شدت با تولید ROS در ارتباط است و می‌تواند مرگ سلولی را از طریق مسیرهای مختلف راهاندازی کند (۱۹). مطالعات بیشتری برای کشف این سازوکار مورد نیاز است. اولین سازوکاری که روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو به دنبال تمرین اثر می‌گذارد، وضعیت تمرین (نوع، شدت و مدت تمرین) است. نتایج مطالعات قبلی بیانگر نقش تمرینات استقامتی و سازگاری با تمرینات هوازی در کاهش قابل توجه فشار اکسایشی است که با افزایش میزان آنزیم‌هایی آنتی اکسیدانی همراه بود (۲۰).

دی‌آلدئید بافت تخدمان شد. بنابراین مداخله ترکیبی مکمل یاری با عصاره بذر کدو و تمرين هوازی در تحقیق حاضر می‌تواند از طریق افزایش تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت به بهبود بیوژن میتوکندری و کاهش تخریب DNA بافت تخدمان کمک کند.

در مجموع، با توجه مطالعات اندک انجام شده در این رابطه، تحقیق روی ارتباط بین فعالیت ورزشی، عصاره بذر کدو و بهبود بیوژن میتوکندری و کاهش تخریب DNA بافت تخدمان نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. تمرين هوازی با شدت متوسط از نقاط قوت تحقیق حاضر بود؛ چراکه این نوع تمرين، پاسخ‌ها و سازگاری‌های متفاوتی نسبت به برنامه‌های تمرينی دیگر می‌تواند به همراه داشته باشد. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می‌توان به مطالعه بر روی نمونه‌های حیوانی اشاره کرد. از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر فاکتورهای اکسیدانت و همچنین آنتی اکسیدانت در بافت تخدمان اشاره کرد. بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره بذر کدو به دنبال تمرين نیز می‌تواند در تبیین و تفسیر بهتر نتایج به ویژه در بافت تخدمان کمک نماید. این نقطه ضعف پژوهشی پیشنهادی به مطالعات آینده به منظور اندازه‌گیری این عوامل در بافت تخدمان همراه با مصرف عصاره بذر کدو است.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرين هوازی، عصاره بذر کدو و مداخله ترکیبی عصاره بذر کدو با تمرين هوازی به بهبود بیوژن میتوکندری و کاهش تخریب DNA بافت تخدمان کمک می‌کند. بنابراین توصیه می‌شود از مداخله ترکیبی عصاره بذر کدو با تمرين هوازی به عنوان یک روش مناسب جهت کاهش آسیب تخدمان استفاده شود. پیشنهاد می‌شود در آینده مطالعه‌ای در زمینه پروتکل تمرين هوازی و عصاره بذر کدو بر ساختار و عملکرد بافت تخدمان انجام گیرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری گرایش فیزیولوژی ورزشی است که با تایید کمیته اخلاق با

خوب از روی و اسیدهای چرب غیراشبع و فیتواستریول‌ها است که در جلوگیری از بیماری‌های مزمم اندام‌های تولید مثلی به ویژه تخدمان موثرند (۲۶، ۲۷). تخم کدو حاوی فیتواستروژن‌ها می‌باشد (۲۸). یکی از خواص جانبی فیتواستروژن‌ها فعالیت آنتی اکسیدانی است (۳۹). بنابراین در پژوهش حاضر احتمالاً فیتواستروژن‌های موجود در عصاره بذر کدو موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش تخریب DNA بافت تخدمان شده است. مطالعات مختلفی نیز روی موش‌های نر انجام شده است. بیان شده است که تخم کدو موجب بهبود تعداد اسپرم و ساختار بافت بیضه می‌گردد که می‌تواند به علت ویژگی‌های آنتی اکسیدانی تخم کدو و ترکیباتی مانند تانیس‌ها و ویتامین A موجود در آن باشد. همچنین، حضور اسیداولئیک موجود در تخم کدو حساسیت بیضه‌ها را به پراکسیداسیون لیپید کاهش می‌دهد (۳۰). افزون بر این، تخم کدو محتوى مقادیری از عنصر روی است. روی موجود در دانه تخم کدو به عنوان یک آنتی اکسیدان در برابر حمله رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (۳۱). گزارش شده است که مکمل روی می‌تواند اکسیداسیون DNA القاء شده توسط کادمیوم در گنادها را تضعیف نماید و سطح MDA را به سطح طبیعی برگرداند. همچنین، تجویز روی آسیب‌های اکسیداتیو را به حداقل می‌رساند و اسپرما توژن را طبیعی می‌کند. کمبود روی در موش‌های صحرایی نر منجر به افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئین و نیز کاهش فعالیت انزیم‌های آنتی اکسیدانی و در نهایت کاهش رشد بیضه‌ها در موش‌های صحرایی مواجه شده باکادمیوم می‌شود (۳۲). در تحقیق حاضر نیز دوز ۱ گرم و دوز ۲ گرم عصاره بذر کدو توانست به بهبود شرایط اکسایشی بافت تخدمان کمک کند. به نظر می‌رسد عصاره بذر کدو به واسطه تاثیرات آنتی اکسیدانی، توانسته است میزان ضایعه ناشی از تخریب DNA بافت تخدمان را کاهش دهد. در نهایت نتایج پژوهش حاضر نشان داد مداخله ترکیبی عصاره بذر کدو با تمرين هوازی منجر به افزایش معنی‌دار سطوح متیل گوانین و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت، همچنین کاهش معنی‌دار مقادیر آدنوزین تری فسفات و مالون

- technologies of pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition* 2006; 61(2): 73-80.
12. Murkovic M, Hillebrand A, Draxl S, Winkler J, Pfannhauser W. Distribution of fatty acids and vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.) in breeding lines. *Acta Hortic.* 1999;492:47-55.
13. Caili F, Haijun T, Tongyi C, Yi L, Quanhong L. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin. *FC.* 2007;100:944-947.
14. Oyeyemi M, Olukole S, Esan O. Sperm morphological studies of West African Dwarf Bucks treated with pumpkin plant (*Cucurbita pepo*). *Int J Morphol.* 2008;26:121-6.
15. Kumar S, Srivastava N, Gomes J. The effect of lovastatin on oxidative stress and antioxidant enzymes in hydrogen peroxide intoxicated rat. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(4):898-902.
16. Asgary S, Moshtaghan SJ, Setorki M, Kazemi S, Rafieian-Kopaei M, Adelnia, A, et al. Hypoglycaemic and hypolipidemic effects of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) on alloxan-induced diabetic rats. *J Pharm Pharmacol.* 2011;5(23):2620-2626.
17. Bub A, Watzl B, Blockhaus M, Briviba K, Liegibel U, Müller H, et al. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J Nutr Biochem.* 2003;14(2):90-8.
18. Ngala RA, Osei Sadique, Gmagna PK. Effect of Exercise on Lipid Profile and Oxidative Stress in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *American J Drug Discov Develop.* 2013;23-31.
19. Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee I-S, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin chim acta.* 2004;340(1):107-15.
20. Lamarão-Vieira K, Pamplona-Santos D, Nascimento PC, Corrêa MG, Bittencourt LO, Dos Santos SM, et al. Physical Exercise Attenuates Oxidative Stress and Morphofunctional Cerebellar Damages Induced by the Ethanol Binge Drinking Paradigm from Adolescence to Adulthood in Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;6802424.
21. Simioni C, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, Sacchetti G, Gonelli A, Neri LM. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget.* 2018;9(24):17181-17198.
22. Belviran M, Goldbel H. Acute exercise induced oxidative stress and antioxidant changes. *Eur J Med Gen.* 2006;3:126-131.
23. Hamedinia MR, Nikbakht H, Rasayi MJ, Gaini A, Fatima S. Effect of exhaustive exercise on markers of oxidative stress and creatine kinase in the student-athlete. *Olympic J.* 2003;4:47-39

شماره IR.SSRC.REC.1398.074 در پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تأیید و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز اجرا گردید. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 2012;24(5):981-90.
2. Cadet J, Davies KJA. Oxidative DNA damage & repair: An introduction. *Free Radic Biol Med.* 2017;107:2-12.
3. Russell AP, Foletta VC, Snow RJ, Wadley GD. mitochondria: a major player in exercise, health and disease. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(4):1276-84.
4. Morales-González JA. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases—A Role for Antioxidants; InTech: Rijeka, Croatia, 2013.
5. Boccatonda A, Tripaldi R, Davi G, Santilli F. Oxidative Stress Modulation through Habitual Physical Activity. *Curr. Pharm. Des.* 2016;22:3648-3680.
6. Carraro E, Schilirò T, Biorci F, Romanazzi V, Degan R, Buonocore D, et al. Physical Activity, Lifestyle Factors and Oxidative Stress in Middle Age Healthy Subjects. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;1:15(6).
7. Siu PM, Pei XM, Teng BT, Benzie IF, Ying M, Wong SH. Habitual exercise increases resistance of lymphocytes to oxidant-induced DNA damage by upregulating expression of antioxidant and DNA repairing enzymes. *Exp Physiol.* 2011;96(9):889-906.
8. Mallikarjuna K, Shanmugam KR, Nishanth K, Wu MC, Hou CW, Kuo CH, et al. Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats. *Alcohol.* 2010;44(6):523-9.
9. Mankowski RT, Anton SD, Buford TW, Leeuwenburgh C. Dietary antioxidants as modifiers of physiologic adaptations to exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2015;47(9):1857-68.
10. Abd El-Ghany M, Dalia AH, Soha M. Biological study on the effect of pumpkin seeds and zinc on reproductive potential of male rats. Faculty of Specific Education Mansoura University. The 5th Arab and 2nd International Annual Scientific Conference. 2010;2384-403.
11. Caili F, Huan S, Quanhong L. A review on pharmacological activities and utilization

24. Kim Y, Lee YS, Choe J, Lee H, Kim YM, Jeoung D. CD44-epidermal growth factor receptor interaction mediates hyaluronic acid-promoted cell motility by activating protein kinase C signaling involving Akt, Rac1, Phox, reactive oxygen species, focal adhesion kinase, and MMP-2. *J Biol Chem.* Aug 2008;283(33):22513-28.
25. Chun SY, Eisenhauer KM, Minami S, Billig H, Perlas E, Hsueh AJ. Hormonal regulation of apoptosis in early antral follicles. FSH as a major survival factor. *Endocrinology.* 1996;137(4):1447-56.
26. Phillips KM, Ruggio DM, Ashraf-Khorassani M. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *J Agric Food Chem* 2005; 53(24): 9436-45.
27. Sabudak T. Fatty acid composition of seed and leaf oils of pumpkin, walnut, almond, maize, sunflower and melon. *J Chem Nat Compounds.* 2007;43(4):465-7.
28. Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr.* 2000;130(9):2127-30.
29. Torabizade A, Fallahi A. An overlook of phytoestrogens. *Iran J Obstet Gynecol Infertil.* 2003;6:80-5.
30. Akang E, Oremosu A, Dosumu O, Noronha C, Okanlawon A. The effect of fluted pumpkin (*Telferia occidentalis*) seed oil (FPSO) on testis and semen parameters. *Agric Biol J.* 2010;1(4):697-703.
31. Ebuehi OA, Akande GA. Effect of Zinc Deficiency on Memory, Oxidative Stress and Blood Chemistry in Rats. *Adv Med Dent Sci.* 2008;2(3):74-82.
32. Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, Guiraud P, Douki T, Ravanat JL, et al. Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. *J Reprod Dev.* 2008;54(2):129-34.