Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

تأثیر چهار هفته تمرین هوازی و اکتاپامین بر میزان مالون دی آلدئید و کاسپاز-۳ در بافت چربی قهوه‌ای موش‌های نر تغذیه‌شده با روغن‌های حرارت‌دیده عمیق

دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۹

صادق عبدالهی[۱]، خالید محمد زاده سلامت [۲*]، کمال عزیز بیگی[۳]، ظاهر اعتماد[۲]

۱. دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران ۲. استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران ۳. دانشیار، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: روغن‌های حرارت دیده عمیق، سمومی تولید می‌کنند که سلامتی افراد را به خطر می‌اندازند. اکتاپامین به‌عنوان یک مکمل آنتی‌اکسیدانی و تمرین هوازی به‌عنوان یک روش کاربردی می‌توانند موجب بهبود سلامتی شوند. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی و اکتاپامین بر میزان مالون دی آلدئید و کاسپاز-۳ در بافت چربی قهوه‌ای رت‌های نر تغذیه‌شده با روغن های حرارت‌دیده عمیق بود.

روش کار: در یک کارآزمایی تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بعد از چهار هفته تغذیه با روغن حرارت دیده در پنج گروه ۸ تایی انتخاب و به طور تصادفی به گروه‌های: کنترل- مسمومیت، تمرین- مسمومیت، مکمل- مسمومیت، مکمل- تمرین- مسمومیت و کنترل- سالم تقسیم شدند. برنامه تمرینی به مدت چهار هفته و با شدت ۵۰ تا ۶۵ درصد vo2max بر روی تردمیل، به صورت سه جلسه در هفته به مدت زمان ۲۰ دقیقه بود. اکتاپامین به عنوان مکمل به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته با استفاده از دوز 81 µmol/kg به صورت تزریق درون صفاقی استفاده شد. بافت چربی قهوه‌ای از اینترا اسکاپولار بین کتفی گرفته و به منظور بررسی مالون دی آلدئید از روش ELISA Assay و کاسپاز-۳ از روش ایمنوهیستوشیمی IHC استفاده شد.

یافته‌ها: در اثر مسمومیت با روغن حرارت‌دیده عمیق، غلظت مالون دی آلدئید به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۰۱$). تمرین موجب کاهش معنی‌دار غلظت مالون دی آلدئید شد ($p<۰/۰۰۱$). دریافت مکمل اکتاپامین نیز کاهش غلظت مالون دی آلدئید را به همراه داشت ($p<۰/۰۰۱$). تعامل تمرین و مکمل اکتاپامین نیز معنی‌دار بوده و کاهش غلظت مالون دی آلدئید را موجب شد ($p<۰/۰۵$). تمرین هوازی اثر معنی‌داری بر غلظت کاسپاز-۳ داشت ($p<۰/۰۰۱$). دریافت مکمل اکتاپامین نیز اثر معنی‌داری بر غلظت کاسپاز-۳ داشت ($p<۰/۰۰۱$). همچنین تعامل تمرین هوازی و اکتاپامین نیز موجب کاهش معنی‌دار کاسپاز-۳ شد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی و اکتاپامین اثرات مخرب روغن‌های حرارت دیده عمیق را کاهش می‌دهد. اکتاپامین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان به همراه تمرین هوازی موجب حفظ ساختار و عملکرد بافت چربی قهوه‌ای می‌شود.

کلیدواژه‌ها: آپوپتوز، استرس اکسیداتیو، اکتاپامین، تمرین هوازی، روغن حرارت‌دیده

***نویسنده مسئول:** استادیار، گروه تربیت بدنی ، واحد سنندج ، دانشگاه آزاد اسلامی ، سنندج ، ایران

ایمیل: kh.mohamadzadeh@gmail.com **تلفن:** ۰۹۱۲۸۳۳۰۴۲۲ **نمابر:** ۰۸۷۳۳۸۸۶۶۱

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

مقدمه

فرآیندهای مختلف مورد استفاده در آماده سازی و نگهداری ماده غذایی موجب افزایش ایمنی، بهبودکیفیت حسی و از بین بردن میکروارگانیسم‌ها و افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی می‌شوند، ولی از طرف دیگر ممکن است، ترکیباتی در محصول ایجاد کنند که اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان دارد (۱). امروزه، سرخ کردن عمیق یک روش عمومی پخت است که در آن چربی به عنوان محیط انتقال گرما استفاده و طی آن غذاهایی با خصوصیات منحصر به فرد از نظر طعم، بافت و ظاهر تولید می‌شود (۲).

یکی از ترکیباتی که در حین حرارت‌دهی بالای غذاها به ویژه غذاهای با چربی بالا تشکیل می‌شود، آکرولئین است. آکرولئین اثرات سمی خود را از طریق اختلال در عملکرد DNA به وسیله ترکیب‌شدن مستقیم با این مولکول‌ها، کاهش سطح گلوتاتیون داخل سلولی و مداخله در مسیرهای سیگنال‌دهی سلولی اعمال می‌کند و موجب ایجاد بیماری‌های متعددی در بدن انسان می‌شود (۳). در حال حاضر بافت چربی به عنوان اندام اندوکرینی فعال در کنترل سوخت و ساز بدن شناخته شده است. این ارگان درون‌ریز، پروتئین‌های متعددی را تولید و ترشح می‌کند که در هموستاز متابولیسم کربوهیدرات و چربی نقش مهمی ایفا می‌کنند. علت نام‌گذاری چربی قهوه‌ای، وجود تعداد زیادی میتوکندری در داخل سلول‌های این بافت می‌باشد (۴). چربی قهوه‌ای، توزیع محدودتری نسبت به چربی سفید دارد به طوری که در موش، در اطراف کمربند شانه‌ای دیده می‌شود. در نوزاد انسان، بافت چربی قهوه‌ای ۲ تا ۵ درصد از وزن را به خود اختصاص می‌دهد و به‌طور عمده در پشت گردن و شانه قرار دارد که با رشد بیشتر و از اولین دهه زندگی به تدریج کاهش یافته و تنها در اطراف کلیه، غدد آدرنال، آئورت، گردن و مدیاستن باقی می‌ماند.

تعداد زیاد قطرات چربی، میتوکندری‌های فراوان و عروق بسیار، همگی به نقش تولید حرارت در این بافت کمک می‌کند. سلول‌های بافت چربی قهوه‌ای، چند وجهی و معمولا کوچکتر از سلول‌های بافت چربی سفید هستند؛ اما سیتوپلاسم تعداد زیادی قطره چربی در اندازه‌های مختلف دارد و غالبا هسته در مرکز قرار دارد (۵). به‌طور کلی بافت چربی تعداد زیادی هورمون را ترشح می‌کند که بسیاری از آنها با ایمنی و پاسخهای التهابی به‌ویژه استرس اکسیداتیو در ارتباط می‌باشند (۷). در این میان استرس اکسیداتیو می‌تواند از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و نیز فعال کردن مسیرهایی که به آپوپتوزیس[1] ختم می‌گردند، باعث آسیب بافتی شود (۷). یکی از مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد که به تخریب غشاهای سلولی منجر می‌گردد. در این فرایند رادیکال‌های آزاد، الکترون‌ها را از زنجیره هیدروکربنی غیراشباع لیپیدها بیرون کشیده، باعث تخریب لیپید و تولید ترکیبات فعال می‌شوند. این ترکیبات فعال پس از تخریب باندهای کربنی، سبب تولید طیف وسیعی از مواد مانند کتون‌ها و آلدئیدها می‌شوند. عمده آلدئید تولید شده در جریان این واکنش‌ها، مالون دی آلدئید[2] است. مالون دی آلدئید ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند با سایر اجزای سلولی مانند پروتئین‌های ساختار ژنومی وارد واکنش شده و ضایعات متنوعی ایجاد کند و در نهایت ممکن است باعث آپوپتوز همراه با علائم گسترده بیماری شود (۸). مبانی و همکاران، آثار مثبت مصرف مکمل ویتامین C را به همراه تمرین هوازی برکاهش معنی‌دار مالون دی آلدئید و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما نشان دادند (۷). جزء اصلی آپوپتوز، یک سیستم لیز کننده پروتئینی بنام کاسپاز می‌باشد. کاسپازها جزء خانواده سیستئین پروتئاز هستند که نقش محوری در شروع و فاز اجرایی آپوپتوز ایفا نموده که به دنبال فعال‌شدن این آنزیم‌ها، روی سوبستراهای خاصی عمل کرده و تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوزی را ایجاد می‌کنند (۹).

کاسپازها، پروتئازهای اختصاصی هستند و سوبسترای خود را از محل آسپارتات خاصی، که با توانایی کاسپاز سازگار است، تجزیه می‌کنند و موجب تخریب پروتئین‌ها یا فعالسازی کاسپازهای دیگر می‌شوند. تمام کاسپازها به وسیلهٔ رویداد تجزیه‌ای پروتئازی فعال می‌شوند. کاسپازها از نظر تقدم و تأخر شرکت در فرایند مرگ سلولی به دو دستهٔ آغازگر و اجرایی دسته‌بندی می‌شوند. کاسپازهای آغازگر مانند کاسپاز-۸، در ابتدای فرایند فعال می‌شوند و کاسپازهای اجرایی مانند کاسپاز-۳ در مراحل بعدی و توسط کاسپازهای آغازگر فعال می‌شوند و آبشار کاسپازی را به راه می‌اندازند (۱۰). در این زمینه، تعدادی از محققان عنوان کرده‌اند که انجام تمرینات ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود (۱۱). Kim و همکاران گزارش کردند که تمرین هوازی میزان پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl2 را افزایش و فعالیت کاسپاز-۳ را در عضلات موش‌های صحرایی کاهش

[1] Apoptosis

[2] Malondialdehyde-MDA

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

می‌دهد (۱۲). اخیرا برای کاهش اثرات آپوپتوز و استرس اکسیداتیو نقش تمرینات ورزشی در تعامل با مکمل‌دهی مورد بررسی قرار گرفته‌است. امروزه، مکمل‌های گیاهی به‌عنوان یکی از موثرترین مکمل‌های موجود به شمار می‌روند. از این بین می‌توان به مکمل اکتاپامین با اثرات آنتی اکسیدانی اشاره کرد. عصاره‌های میوه مرکبات (نارنج) سنتی که به عنوان محصولات کاهش وزن و سرکوب‌کننده اشتها استفاده می‌شوند، گاهی به عنوان یک ماده غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ اما بیشتر تحت عنوان یک مکمل دارویی یا رژیم غذایی مصرف می‌شود (۱۳). یکی از اجزای این عصاره‌ها اکتاپامین است که با تقلید عملکرد سمپاتیک یک ماده آدرنرژیک محسوب می‌گردد. از اثرات اکتاپامین می‌توان به اثرات آنتی اکسیدانی، اثرات ضد التهابی،کاهش وزن، چربی‌سوزی و ضد سرطان اشاره کرد (۱۴). یکی از عواملی که باعث اختلاف در اثرات فارماکولوژیکی در مقایسه اکتاپامین و دیگر آمین‌های بیوژنیک به‌عنوان نور اپی نفرین و افدرین می‌شود، تفاوت در گیرنده آدنرژیک است (۱۵). با توجه به اینکه امروزه مصرف غذاهای سرخ شده با میزان چربی بالا در بین مصرف‌کنندگان رو به افزایش است، بنابراین بررسی و شناسایی مکانیسم‌های تشکیل آن در مواد غذایی می تواند به شناسایی راه‌های کاهش تشکیل آکرولئین در مواد غذایی کمک نماید. از این رو هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی و اکتاپامین بر میزان مالون دی آلدئید و کاسپاز-۳ بافت چربی قهوه‌ای در موش های صحرایی نر تغذیه شده با روغن‌های حرارت دیده عمیق است.

روش‌کار

حیوانات

تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۲۰ هفته و میانگین وزنی gr ۳۵۰-۳۰۰ بعد از تهیه از انستیتو پاستور ایران در قالب پنج گروه ۸ تایی به‌عنوان نمونه آماری انتخاب و به طور تصادفی به گروه‌های کنترل-مسمومیت، تمرین-مسمومیت، مکمل-مسمومیت، مکمل-تمرین-مسمومیت و کنترل سالم تقسیم شدند. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی با درجه دمای تقریبی ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵ درصد در چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته تا زمان کامل آزمایشات و دوره تمرینات ورزشی نگهداری شدند. تمامی حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی داشتند.

تهیه روغن با حرارت عمیق

۸ لیتر روغن آفتابگردان به مدت ۴ روز متوالی روزی ۸ ساعت با حرارت ۱۹۰ تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد داغ شد و سپس هر ۳۰ دقیقه مواد غذایی شامل ناگت مرغ، سیب‌زمینی، مرغ و فرآورده‌های پروتئینی (سوسیس و کالباس) داخل روغن غوطه‌ور شده و در انتها روغن روز چهارم به منظور استفاده به عنوان مداخله مسمومیتی تا زمان اجرا نگهداری و به صورت خوراکی (گاواژ) به مدت ۴ هفته به رت‌ها خورانده‌شد (۱۶).

برنامه تمرین هوازی

برنامه تمرینی به مدت چهار هفته و با شدت متوسط به صورت یک روز در میان انجام شد. شدت تمرین در هفته اول ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و در هفته آخر به ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی رسید. به منظور سازگاری رت‌ها قبل از شروع برنامه اصلی تمرینی یک هفته تمرین سازگاری با سرعت ۹m/min و زمان ۲۰ دقیقه انجام گردید. مدت زمان تمرین ۲۰ دقیقه ثابت بوده و شدت تمرین از روز اول ۱۶m/min و در روز آخر به ۲۶ m/min رسید. برای شروع تمرین ۵ دقیقه با سرعت ۷ m/min گرم و پس از تمرین اصلی ۵ دقیقه با سرعت ۵ m/min سرد کردند.

مکمل اکتاپامین

اکتاپامین (سیگما آلدریچ) به عنوان مکمل به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته با استفاده از دوز ۸۱ µmol/kg به صورت تزریق داخل صفاقی (IP محلول با نرمال سالین ۰/۹ درصد) بود (۱۷).

نمونه گیری خون و بافت برداری از حیوانات

۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله حیوانات به مدت ۱۰-۸ ساعت در حالت ناشتا قرار گرفتند و قبل از شروع بافت‌برداری، وزن‌کشی انجام شد. بعد از وزن‌کشی بی‌هوشی به شکل استنشاقی و با کتامین و زایلازین انجام و پس از بی‌هوشی کامل و تست درد و اطمینان از عدم هوشیاری، خون‌گیری از بطن چپ قلب انجام گردید. سپس به سرعت بافت روده باریک از بدن خارج شده و با شستشو بافر فسفات سالین مخاط، خون و

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

مواد اضافی تمیز شد و بافت داخل میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری کد گذاری‌شده قرار گرفت. میکروتیوب به داخل تانک ازت انتقال داده‌شد و سپس تا زمان آنالیز سلولی داخل فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

بافت شناسی

پس از خون‌گیری، سرم حاوی نرمال سالین وارد بطن چپ شده و گوشک دهلیز راست با یک قیچی نازک قطع شد که خون به قلب باز نگردد. پس از صرف زمانی حدود ۲۰ دقیقه (با توجه به وزن رت) و سفید شدن کامل چشم و خون بازگشته از اندام‌ها، سرم فیکساتیو (پارافرم آلدئید ۴٪) جایگزین نرمال سالین شد و بعد از مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه با فیکس‌شدن کامل اندام‌ها، سرم از قلب جدا و بافت چربی قهوه‌ای از اینترا اسکاپولار بین کتفی گرفته و از بدن خارج شد. پس از آن بافت به ظرف فیکساتیو ثانویه (فرمالین ۱۰٪) و بعد از گذشت ۳ تا ۵ روز بافت جهت آبگیری و قالب‌گیری پارافینه به دستگاه (Tissue process) انتقال پیدا کرد.

اندازه‌گیری مالون دی آلدئید به روش ELISA Assay

جهت این کار، ۵۰ میلی‌گرم بافت چربی قهوه‌ای را هموژن کرده و ۵۰۰µL بافر ریپا به بافت اضافه و بافت با آن لیز گردید. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت درون یخچال قرار داده‌شد. بعد از یک ساعت، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور RPM ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی به میکروتیوب جدید منتقل و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول‌های مورد نیاز و محلول‌های استاندارد آماده و تمامی نمونه‌ها و محلول‌ها، هم‌دمای محیط شدند. µL ۵۰ نمونه یا محلول استاندارد به هر میکروتیوب اضافه شد. µL ۵۰ محلول شماره ۴ به هر میکروتیوب اضافه و میکس شد. در ادامه ml ۱ از محلول کروموژنیک به هر میکروتیوب اضافه و میکروتیوب‌ها به مدت یک ساعت درون آبجوش قرار گرفتند. سپس میکروتیوب‌ها درون ظرف یخ خنک و به مدت ۱۰ دقیقه با دور RPM۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. µL ۲۰۰ سپس از محلول رویی صورتی رنگ به درون چاهک میکروپلیت منتقل شد. جذب نمونه‌ها در طول موج nm ۵۳۵ اندازه‌گیری و بر اساس منحنی استاندارد حاصله، غلظت نمونه مورد نظر محاسبه شد.

اندازه‌گیری کاسپاز ۳ به روش ایمونوهیستوشیمی IHC

مقدار ۲۰ گرم پارا فرمالدهید (Merck, Germany) به ۵۰۰ سی سی آب مقطر اضافه شد و روی Hot Plate قرار گرفت تا دمای آن به ۶۰ برسد. بعد از آن به محلول مورد نظر، سود (NaoH) اضافه گردید تا PH محلول به ۷/۲ تا ۷/۴ برسد. در مرحله آخر یک قرص PBS درون محلول قرار داده‌شد. مقدار ۲ سی سی اسید کلریدریک ۳۷/۵ درصد به ۱۱ سی سی آب مقطر اضافه گردید. مقدار ۱۰۰ لاندا سرم بز به ۹۰۰ لاندا PBS اضافه و سرم بز ۱۰ درصد به‌دست آمد. همچنین مقدار ۳ لاندا تریتون x۱۰۰ به ۹۹۷ لاندا PBS اضافه و تریتون ۰/۳ درصد به‌دست آمد. نمونه با PBS در ۴ مرحله و به فاصله ۵ دقیقه شسته شدند. به منظور بازیابی آنتی ژنی بر روی نمونه‌ها اسیدکلریدریک ۲ نرمال به مدت ۳۰ دقیقه ریخته شد. بافر بورات به منظور خنثی سازی اسید به مدت ۵ دقیقه اضافه گردید و سلول‌ها با PBS شسته شدند. تریتون ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه به منظور نفوذپذیر کردن غشاء سلول‌ها استفاده گردید و با PBS شستشو داده شدند. سرم بز ۱۰ درصد برای مدت ۳۰ دقیقه به منظور بلوک کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه به صورت رنگ اضافی زمینه اضافه شد. آنتی‌بادی اولیه رقیق شده (۱ به ۱۰۰) با PBS به نمونه اضافه گردید و بعد از ایجاد یک محیط مرطوب برای جلوگیری از خشک شدن بافت به مدت یک شب درون یخچال با دمای ۲ تا ۸ درجه قرار داده‌شد. روز بعد، ظرف حاوی بافت از یخچال خارج و سپس ۴ بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شستشو داده شد. به نمونه آنتی بادی ثانویه با رقت ۱ به ۱۵۰ اضافه گردید و سپس در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. بعد از آن، نمونه از انکوباتور به اتاق تاریک منتقل گردید و بعد از ۴ بار شستشو، به آن DAPI اضافه گردید، بلافاصله برداشته و روی نمونه PBS ریخته شد. در مرحله آخر نمونه توسط میکروسکوپ فلوروسنت مدل Olympus و با لنز ۴۰۰ برای تأیید مارکرها مشاهده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

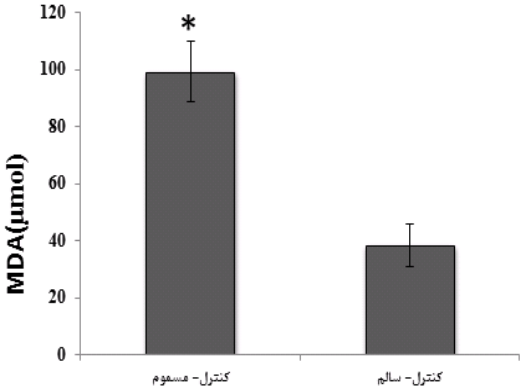
تمامی داده‌ها بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شدند. برای تعیین اثر مسمومیت با روغن حرارت‌دیده، با استفاده از آزمون t برای گروه‌های مستقل، گروه کنترل سالم و کنترل مسموم مورد مقایسه قرار گرفتند. جهت تعیین اثر اصلی تمرین،

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

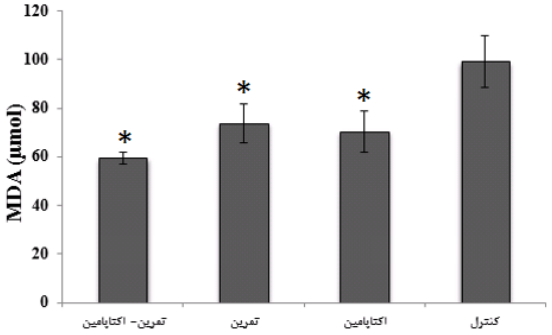
اثر اکتاپامین و اثر همزمان تمرین* اکتاپامین، از تحلیل دو راهه واریانس استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار ازآزمون پیگیری بن فرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ در نظر گرفته‌شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ اجرا شد.

نتایج

تفاوت معنی‌داری در غلظت مالون دی آلدئید بین گروه کنترل سالم و مسموم شده با روغن حرارت‌دیده عمیق وجود دارد (p<۰/۰۰۱). در اثر مسمومیت با روغن حرارت‌دیده عمیق غلظت مالون دی آلدئید به طور معنی‌داری افزایش یافت. تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت مالون دی آلدئید داشت (μ=۰/۶۱۲، p<۰/۰۰۱، F=۳۱/۵۱). دریافت مکمل اکتاپامین اثر معنی‌داری بر غلظت مالون دی آلدئید داشت (μ=۰/۶۸۸، p<۰/۰۰۱، F=۴۴/۱۸). تعامل تمرین و مکمل اکتاپامین نیز اثر معنی‌داری برغلظت مالون دی آلدئید داشت (μ=۰/۱۹۷، p<۰/۰۳۹، F=۴/۸۹). نتایج آزمون بن‌فرونی نشان داد غلظت مالون دی آلدئید در پایان دوره در گروه تمرین از گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود (p<۰/۰۰۱). نتایج آزمون بن‌فرونی نشان داد غلظت مالون دی آلدئید در پایان دوره به طور معنی‌داری در گروه دریافت کننده مکمل اکتاپامین از گروه کنترل (p<۰/۰۰۱) کمتر بود. با توجه به غلظت مالون دی آلدئید در گروه تمرین و گروه مکمل مشخص شد همزمانی تمرین و اکتاپامین اثر کاهنده بر غلظت مالون دی آلدئید داشت.



نمودار ۱. مقایسه غلظت مالون دی آلدئید (**MDA**) در گروه کنترل سالم و کنترل مسموم شده با روغن حرارت‌دیده عمیق (***p<۰/۰۵). *نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم (**N**=۱۶).

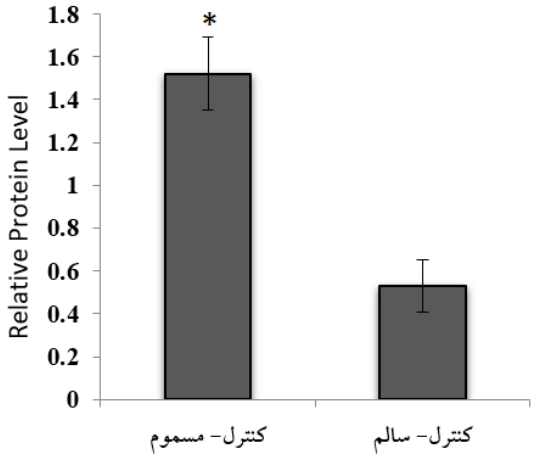


نمودار ۲. غلظت مالون دی آلدئید (MDA) در گروه‌های تمرین (***p<۰/۰۵)، اکتاپامین (***p<۰/۰۵)، تمرین-اکتاپامین (*p<۰/۰۵) و کنترل. *نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل است. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است (N=۳۲).

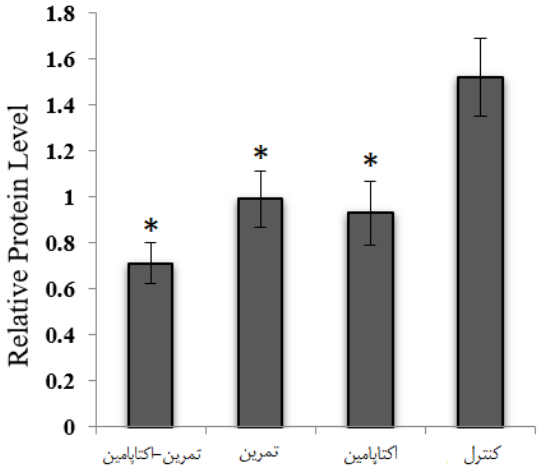
تفاوت معنی‌داری در غلظت کاسپاز-۳ بین گروه کنترل سالم و مسموم‌شده با روغن حرارت‌دیده عمیق وجود داشت (p<۰/۰۰۱). در اثر مسمومیت با روغن حرارت‌دیده عمیق غلظت کاسپاز-۳ به طور معنی‌داری افزایش یافت. تمرین اثر معنی‌داری بر فعالیت کاسپاز-۳ داشت (μ=۰/۶۸۹، p<۰/۰۰۱، F=۴۴/۳۱). دریافت مکمل اکتاپامین نیز اثر معنی‌داری بر غلظت کاسپاز-۳ داشت (μ=۰/۷۴۵، p<۰/۰۰۱، F=۵۸/۳۳).

تعامل تمرین و مکمل اکتاپامین نیز اثر معنی داری برغلظت کاسپاز-۳ داشت (μ=۰/۲۵۶، p<۰/۰۱۶، F=۶/۸۸). طبق نتایج آزمون بن‌فرونی با توجه به میزان غلظت کاسپاز-۳ در گروه تمرین و گروه مکمل انتظار می‌رفت در گروه تمرین و مکمل غلظت کاسپاز-۳ از هریک از مداخلات کمتر باشد، نتایج نیز این نکته را تأیید نمود و غلظت کاسپاز-۳ از تک تک مداخلات کوچک‌تر بود. پس استنباط می‌گردد هم‌زمانی این دو مداخله نسبت به جمع اثر تک تک هر یک، اثر کاهنده بر غلظت کاسپاز-۳ داشته است (نمودار ۴).

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021



نمودار ۳. مقایسه غلظت کاسپاز-۳ درگروه کنترل سالم و کنترل مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق (***p<۰/۰۵). *نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (N= ۱۶).



نمودار ۴. غلظت کاسپاز-۳ در گروه‌های در گروه‌های تمرین (***p<۰/۰۵)، اکتاپامین (***p<۰/۰۵)، تمرین-اکتاپامین (*p<۰/۰۵) و کنترل. *نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل است. اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده‌است (N=۳۲).

بحث

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی و اکتاپامین بر غلظت مالون دی آلدئید (MDA) و کاسپاز ۳ بافت چربی قهوه‌ای در موش‌های صحرایی نر تغذیه‌شده با روغن‌های حرارت‌دیده عمیق بود. نتایج نشان داد در اثر مسمومیت با روغن حرارت‌دیده عمیق، مالون دی آلدئید به طور معنی‌داری افزایش یافت. تفاوت معنی‌داری در مالون دی آلدئید بین گروه کنترل سالم و مسموم شده با روغن حرارت‌دیده عمیق وجود داشت. تمرین هوازی موجب کاهش معنی‌دار مالون دی آلدئید شد. دریافت اکتاپامین نیز اثر معنی‌داری بر مالون دی آلدئید داشت. تعامل تمرین و اکتاپامین نیز اثر معنی‌داری برغلظت مالون دی آلدئید داشت. با توجه به میزان غلظت مالون دی آلدئید در گروه تمرین هوازی و گروه مکمل مشخص شد همزمانی تمرین و اکتاپامین اثر کاهنده بر غلظت مالون دی آلدئید داشت. تحقیقات نشان می‌دهد آکرولئین تولید شده از روغن‌های حرارت‌دیده عمیق، اثرات سمی خود را از طریق اختلال در عملکرد پروتئین‌ها و DNA به صورت ترکیب مستقیم با آنها، کاهش سطح گلوتاتیون داخل سلولی و مداخله در مسیرهای سیگنال دهی سلولی اعمال می‌کند و موجب ایجاد استرس اکسیداتیو و بیماری‌های متعددی در بدن انسان می‌شود (۳). افزایش شاخص‌های پراکسیداسیون، ممکن است به دلیل کاهش عملکرد میتوکندریایی باشد که منجر به افزایش تولید رادیکال آزاد می‌گردد (۱۸). از طرفی، اجرای تمرینات ورزشی منظم از طریق کاهش سطح رادیکال‌های آزاد در بدن و تقویت سیستم آنتی اکسیدانی، موجب افزایش مقاومت در مقابل استرس اکسیداتیو می‌شود و میزان صدمات سلولی را کنترل می‌کند (۱۹).

همسو با نتایج مطالعه حاضر، تحقیقات نشان می‌دهد به دنبال اجرای تمرینات مقاومتی کاهش معنی‌دار در شاخص مالون دی آلدئید مشاهده می‌شود. Bouzid و همکاران اثر تمرین هوازی با شدت کم بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو در افراد مسن را بررسی نمودند. آنها بیان کردند تمرین هوازی با شدت پایین می‌تواند موجب کاهش مالون دی آلدئید شود (۱۸). در هر حال به نظر می‌رسد فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ سلولی توسط تمرین منظم ورزشی منجر به افزایش بیان آنتی اکسیدان‌های آنزیمی شده و نهایتاً موجب کاهش پراکسیداسیون چربی و مالون دی آلدئید می‌گردد (۲۰). یکی از دلایل افزایش

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

غلظت مالون دی آلدئید در پژوهش حاضر در گروه کنترل مسموم پس از مصرف روغن حرارت‌دیده عمیق ممکن است کاهش تشکیل آنتی اکسیدان‌ها و افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد باشد که باعث افزایش تولید مالون دی آلدئید شده‌است. همچنین تمرین هوازی و مصرف اکتاپامین هم به‌صورت مجزا و هم به‌صورت تعاملی موجب کاهش معنی‌دار مالون دی آلدئید در گروه‌های تجربی شد که می‌توان این موضوع را به نقش آنتی اکسیدانی و تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی توسط تمرین هوازی و اکتاپامین در رت‌ها نسبت داد.

محققان گزارش کرده‌اند که تمرین استقامتی مداوم، می‌تواند دفاع آنتی اکسیدانی را بهبود بخشیده و پراکسیداسیون لیپیدی را در موش‌های سالم، کاهش دهد (۲۱). همسو با این نتایج، یافته‌های تحقیق حاضر نیز شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. بر پایه شواهد علمی، رادیکال‌های آزاد تولید شده، طی فعالیت جسمانی به عنوان یک هورمسیس عمل کرده و برخی از ترکیبات مهم سیستم دفاع آنتی اکسیدانی درون‌زا را فعال می‌سازند، به عبارت دیگر ورزش متوسط، رادیکال‌های آزاد را برای غلبه بر GPx و SOD غیر وامانده‌ساز، به‌عنوان بهترین آنتی اکسیدان در برابر فشار اکسایشی عمل کرده و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد (۲۲). از این رو تأثیرات مشابه در این مطالعه را می‌توان به خوبی در اثرات تمرین هوازی و اکتاپامین مشاهده کرد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد در اثر مسمومیت با روغن حرارت‌دیده عمیق غلظت کاسپاز-۳ به طور معنی‌داری افزایش یافت. تمرین هوازی موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاسپاز-۳ شد. همچنین دریافت مکمل اکتاپامین نیز کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاسپاز-۳ را به همراه داشت و تعامل تمرین هوازی و مکمل اکتاپامین نیز بر فعالیت آن اثر کاهشی داشت. Kanter و همکاران گزارش کردند که تمرینات استقامتی با شدت پایین از طریق کاهش فشار اکسایشی و کاهش میزان آپوپتوز میوکارد موجب بهبود عملکرد قلبی در موش‌ها می‌شود (۲۳). کنترل کاسپاز-۳ فرآیند پیچیده‌ای است و چندین مسیر پیام‌رسانی آپوپتوز را درگیر می‌کند. کاسپاز-۳ به وسیله فعال‌شدن کاسپاز-۱۲ از طریق مسیر آزادسازی کلسیم یا به وسیله فعال‌شدن کاسپاز-۹ در مسیر داخلی و یا افزایش TNF-α سرم در مسیر خارجی فعال می‌شود (۲۴). در مطالعه حاضر اثر تعاملی تمرین هوازی و اکتاپامین توانست به‌صورت معنی‌داری اثرات آپوپتوزی و التهابی را با کاهش معنی‌دار کاسپاز-۳ نشان دهد. در این راستا محمودی و همکاران در تحقیق خود تأثیر تمرین هوازی و اکتاپامین بر مونوسیت‌ها و ماکروفاژهای بافت چربی سفید رت‌های مسموم‌شده با روغن حرارت‌دیده را بررسی نمودند. آنها به این نتیجه رسیدند که مصرف اکتاپامین و تمرین هوازی موجب می‌شود نفوذپذیری ماکروفاژها در بافت چربی پس از مسمومیت با روغن‌های حرارت‌دیده، کاهش معنی‌داری داشته باشد (۲۵). نوع و شدت تمرینات ورزشی نیز، می‌تواند مسیر مرگ میتوکندری را تغییر دهد و اگر شدت و مدت این فعالیت از حد آستانه فراتر رود، تشدید خواهد شد. kim و همکاران گزارش کردند که بین گروه‌های تمرین هوازی و کنترل در بیان پروتئین کاسپاز-۳ پس از ۸ هفته تمرین روی نوار گردان تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۱۲). این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر متناقض است. احتمالا عمده‌ترین دلیل، به شدت پروتکل تمرین هوازی بستگی دارد. یکی دیگر از دلایل تفاوت نتایج kim و همکاران با یافته‌های تحقیق حاضر احتمالا استفاده از اکتاپامین حین تمرینات باشد، زیرا استفاده از اکتاپامین همراه با تمرین در میزان کاهش کاسپاز-۳ در تحقیق حاضر مؤثر بود. از دیگر مطالعات غیر همسو با مطالعه حاضر می‌توان به مطالعه Colombo و همکاران اشاره کرد. آنها نشان دادند که ۵ هفته تمرینات هوازی با شدت ۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه موجب افزایش غیرمعنی‌دار کاسپاز-۳، pAkt و کاهش غیر معنی‌دار Bax/Bcl-2 می‌شود. به نظر می‌رسد دلیل این تفاوت ناشی از ساز و کارهای احتمالی در خصوص افزایش سطوح XIAP (مهار کننده قوی کاسپاز-۳) در مطالعه آنها باشد (۲۶). بطورکلی نتایج تحقیق حاضر پیشنهاد می‌کند که مصرف اکتاپامین به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی تا حدکافی می تواند به سلامتی بافت چربی قهوه‌ای کمک کند و در نتیجه باعث

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

کاهش عوامل التهابی گردد. همچنین به نظر می‌رسد تمرین هوازی با شدت متوسط نیز تا حدودی از طریق کاهش و پیشگیری از رها سازی سیتوکروم C درون میتوکندریایی در کنترل فاکتورهای مرتبط با آپوپتوز سلول‌های بافت چربی قهوه‌ای مفید باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد تمرین هوازی و اکتاپامین می‌تواند اثرات مخرب روغن‌های حرارت‌دیده عمیق را کاهش دهند. اکتاپامین به عنوان یک آنتی اکسیدان و تمرین هوازی بعنوان یک عامل تقویت کننده مهم در جهت کنترل فاکتورهای مرتبط با استرس اکسیداتیو و آپوپتوز سلول‌های بافت چربی قهوه‌ای موجب حفظ ساختار و بهبود عملکرد سلول‌های این بافت می‌شود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر، از رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی است. بدینوسیله از کلیه کسانی که ما را در این تحقیق همراهی نمودند به‌ویژه پروفسور محمد علی آذربایجانی تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید. لازم به ذکر است کلیه اصول اخلاقی تحقیق حاضر مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کردستان رعایت گردید و کلیه مراحل آن توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان با کد اخلاق اختصاصی IR.MUK.REC.1398/5006 تأیید گردید.

تعارض منافع

نویسندگان این مطالعه هیچ‌گونه تعارض منافعی نداشتند.

References

1. Shibamoto T, Bjeldanes LF. Introduction to food toxicology. 3nd ed. Komoto, Academic Press. 2009: 136-37.
2. Kita A., Lisińska G, Gołubowska G, The effects of oils and frying temperatures on the texture and fat content of potato crisps. Food Chemistry. 2007; 102(1): 1-5.
3. Witz G., Biological interactions of α, β-unsaturated aldehydes. Free Radical Biology and Medicine. 1989;7(3): 333-49.
4. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, Gulseth HL, Birkeland KI, Jensen J, Drevon CA. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1α, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. The FEBS Journal. 2014; 281(3):739-49.
5. Mescher A.L, Junqueira S. Basic histology text and atlas. 4nd ed. Indiana Medical McGraw Hill. 2013:72.
6. Wang B, Wood IS, Trayhurn P, Dysregulation of the expression and secretion of inflammation-related adipokines by hypoxia in human adipocytes. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2007. 455(3): 479-92.
7. Mabani M, Gholami M, Hedayati M, Mabani M, Effects of four weeks supplementation of vitamin C on total antioxidant capacity and malondialdehyde among inactive men after an eccentric exercise. Annals of Military & Health Sciences Research. 2014; 12(4):59-68. (in Persian)
8. Ansley DM, Wang B, Oxidative stress and myocardial injury in the diabetic heart. The Journal of Pathology. 2013;229(2): 232-41.
9. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. Federation of American Societies for Experimental Biology Journal. 2004; 18(10): 1150-52.
10. Zhang S. , Li N. Effects of carbon monoxide on quality, nutrients and antioxidant activity of post harvest jujube. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2014; 94(5): 1013-19.
11. Ghavami S, Hashemi M, Kadkhoda K, Alavian SM, Bay GH, Los MJ. Apoptosis in liver diseases-detection and therapeutic applications. Medical Science Monitor. 2005;11(11): 337-45. (in Persian)
12. Kim KB, Kim YA, Park JJ., Effects of 8-week Exercise on Bcl-2, Bax, Caspase-8, Caspase-3 and HSP70 in Mouse Gastrocnemius Muscle. Journal of Life Science. 2010; 20(9): 1409-14.
13. Thevis M, Koch A, Sigmund G, Thomas A, Schänzer W. Analysis of octopamine in human doping control samples. Biomedical Chromatography. 2012; 26(5):610-5.
14. De Oliveira AL, De Paula MN, Comar JF, Vilela VR, Peralta RM, Bracht A. Adrenergic metabolic and hemodynamic effects of octopamine

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

in the liver. International Journal of Molecular Sciences. 2013; 14(11):21858-72.

15. Carpéné C, Galitzky J, Fontana E, Atgié C, Lafontan M, Berlan M. Selective activation of β3-adrenoceptors by octopamine: comparative studies in mammalian fat cells. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 1999; 1;359(4):310-21.

16. Wang L, Sun Y, Asahi M, Otsu K. Acrolein, an environmental toxin, induces cardiomyocyte apoptosis via elevated intracellular calcium and free radicals. Cell Biochemistry and Biophysics. 2011; 61(1):131-6.

17. Bour S, Visentin V, Prévot D, Carpéné C. Moderate weight-lowering effect of octopamine treatment in obese Zucker rats. Journal of Physiology and Biochemistry.2003;59(3):175-82.

18. Bouzid MA , Low intensity aerobic exercise and oxidative stress markers in older adults. Journal of Aging and Physical Activity. 2014; 22(4): 536-42.

19. Radak Z, Taylor AW, Ohno H, Goto S. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. Exercise Immunology Review. 2001; 1(7): 90-107.

20. Samjoo I.A., Safdar A., Hamadeh M.J., Raha S, Tarnopolsky M.A, The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. Nutrition and Diabetes.2013; 3(9): 88.

21. Varashree B, Bhat GP, Correlation of lipid peroxidation with glycated haemoglobin levels in diabetes mellitus. Online Journal of Health and Allied Sciences. 2011; 10(2): 12-9.

22. Gul M, Laaksonen DE, Atalay M, Vider L, Hänninen O. Effects of endurance training on tissue glutathione homeostasis and lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports. 2002; 12(3):163-70.

23. Kanter M, Aksu F, Takir M, Kostek O, Kanter B, Oymagil A. Effects of low intensity exercise against apoptosis and oxidative stress in Streptozotocin-induced diabetic rat heart. Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes. 2017;125(09):583-91.

24. Kalyani RR, Corriere M, Ferrucci L, Age-related and disease-related muscle loss: the effect of diabetes, obesity, and other diseases. The lancet Diabetes and Endocrinology. 2014;2(10): 819-29.

25. Mahmudi R, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Effects of Training and Octopamine Supplementation on Expression of M1 and M2 Monocyte/Macrophage Surface Markers in White Adipose Tissue of Rats Poisoned with Deep-Fried Oil. Gene Cell and Tissue. 2020:1-7.

26. Colombo R, Siqueira R, Conzatti A, Fernandes TR, Tavares AM, da Rosa Araújo AS, et al. Aerobic exercise promotes a decrease in right ventricle apoptotic proteins in experimental Cor pulmonale. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 2015;1;66(3):246-53.

Downloaded from journal.jmu.ac.ir at 12:26 +0330 on Sunday November 28th 2021

The effect of 4 weeks of aerobic training and octapamine on the levels of malondialdehyde and caspase 3 in brown adipose tissue in rats received deeply heated oils treatment

Received: 8 Apr 2020 Accepted: 8 Jun 2020

Sadegh Abdollahi [1], Khalid Mohamadzadeh Salamat [2*], Kamal Azizbeigi [3], Zaher Etemad [2]

1. PhD Student, Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran 2. Assistant Professor, Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran 3. Associate Professo, Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Abstract

Introduction: Deep heated oils produce toxins which endanger people's health. Octopamine as an antioxidant supplement and aerobic exercise as a practical method can also improve health. The aim of this study was to investigate the effect of 4 weeks of aerobic and octapamine training on the amount of malondialdehyde and caspase 3 in the brown adipose tissue of male rats fed with deep heated oils.

Materials and Methods: In one experimental trial of 40 male Wistar rats after four weeks being feed with heated oil in five groups of 8, were selected as a statistical sample and randomly divided into groups: control-poisoning, exercise-poisoning, supplement-poisoning, Supplement-Exercise-Poisoning and Control-Health were divided. The 4 week training program, with 50 to 65 percent vo2max intensity on the treadmill, was three sessions a week for 20 minutes. Octopamine was used as a supplement for 4 weeks and 5 days a week using a dose of 81 µmol / kg as an intraperitoneal injection. ELISA Assay and Caspase 3 IHC immunohistochemistry were used to evaluate malondialdehyde

Results: Due to deep-poisoned oil poisoning, the concentration of malondialdehyde increased significantly ($p<0.001$). Exercise significantly reduced the concentration of malondialdehyde ($p<0.001$). Ectapamine supplementation also reduced the concentration of malondialdehyde ($p<0.001$). The interaction of octapamine training and supplementation was also significant and decreased malondialdehyde concentration ($p<0.05$). Aerobic exercise had a significant effect on Caspase 3 concentration ($p<0.001$). Intake of octopamine supplementation also had a significant effect on Caspase 3 concentration ($p<0.001$). The interaction of aerobic exercise and octopamine also significantly reduced caspase 3 ($p<0.05$).

Conclusion: Aerobic exercise and octopamine reduce the destructive effects of deeply heated oils. Octopamine as an antioxidant and aerobic exercise as an important factor maintains the structure and function of brown adipose tissue.

Keywords: Apoptosis, Oxidative Stress, Actapamine, Aerobic Exercise, Heated Oil

***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Email: kh.mohamadzadeh@gmail.com **Tel:** +989128330422 **Fax:** +988733886661