

مقایسه تاثیر تمرین هوایی همراه با مصرف استرادیول و ویتامین C بر شاخص آسیب‌های کبد در رت‌های اورکتومی و نرمال

مریم عباسی^{۱*}، عفت بمیئی چی^۲

(۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایلام، ایلام، ایران

(۲) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۵

چکیده

مقدمه: کمبود استروژن در دوران یائسگی و به هم خوردن تعادل بین سیستم دفاع آنتی اکسیدان و تولید رادیکال‌های آزاد یکی از دلایل ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد که نقش مهمی در اختلالات متابولیکی و تاثیر آن‌ها بر کبد دارد. بنا بر این مهم است تا به طور صحیح مزانی درمان با آنتی اکسیدان‌ها و تمرینات ورزشی بر شرایط استرس اکسیداتیو در کبد مورد ارزیابی قرار گیرد. هدف اصلی از این مطالعه بررسی تاثیر تمرین هوایی همراه با مصرف ویتامین C و استرادیول بر شرایط استرس اکسیداتیو کبد در رت‌های اورکتومی و مقایسه آن با رت‌های سالم بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های جوانی مشکل از ۶۴ سررت ماده بالغ شامل ۲ گروه اورکتومی (۳۲ سررت) و نرمال (۳۲ سررت) بودند که هر یک به صورت تصادفی به ۴ زیر گروه ۸ تایی شامل تمرین، تمرین+ویتامین C، تمرین+استرادیول و شم تقسیم شدند. پروتکل تمرینی شامل دویند بروی تردیمیل بود که برای ۶ هفته، هر هفته ۵ جلسه و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه با شدت متوسط $V_{O2\max}$ ۵۵ میلی‌گرم و استرادیول به میزان ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن هر رت به گروه‌های مربوطه تزریق شد. آسیب اکسیداتیو کبد به وسیله ارزیابی سطح سرمی آلبینو ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آلبینو ترانسفراز (AST) تعیین شد.

یافته‌های پژوهش: نتایج نشان داد که اورکتومی منجر به آتروفی رحم شد. هم چنین اورکتومی موجب افزایش معنادار سطوح آنزیم‌های ALT و AST شد و مصرف استرادیول منجر به کاهش سطوح این آنزیم‌ها گردید ($P<0.05$). تمرین هوایی و ویتامین C نتوانستند از افزایش سطوح این آنزیم‌ها در رت‌های اورکتومی شده جلوگیری کنند.

بحث و نتیجه گیری: به طور کلی و با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت تمرین هوایی با شدت متوسط از افزایش استرس اکسیداتیو کبد در رت‌های اورکتومی شده جلوگیری نمی‌کند؛ اما در ترکیب با مصرف استرادیول و ویتامین C بهبود شرایط استرس اکسیداتیو را در رت‌های اورکتومی شده به دنبال دارد.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، یائسگی، تمرینات هوایی، ویتامین C، استرادیول، اورکتومی

* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایلام، ایلام، ایران

Email: Abbasimaryam60@yahoo.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

تولید قابل توجه گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن (RONS) که به سرعت ماکرومولکول های مختلفی مثل لیپید، پروتئین، کربوهیدرات و اسیدهای نوکلئیک را اکسید می کند مشخصه پیری، ورزش، بیماری ها و شرایط بالینی دیگر می باشند. در بدن انسان، تعادل بین تولید و خنثی کردن RONS توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدان حفظ می شود. اگر تولید RONS فراتر از توانایی سیستم دفاع آنتی اکسیدان برای حذف آن ها باشد استرس اکسیداتیو ایجاد می شود و منجر به آسیب بافت ها و سلول های سالم می شود^(۱). مدارکی وجود دارد که استرس اکسیداتیو و سیستم دفاع آنتی اکسیدان با جنسیت در ارتباط است. در واقع هورمون های جنسی زنانه به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند^(۲).

یائسگی یک مرحله طبیعی از زندگی زنان می باشد که در طی این دوران هیچ فولیکولی از تخدمان ها رها نمی شود و قاعده‌گی به علت کاهش میزان استروژن متوقف می شود. استروژن دارای خصوصیت آنتی اکسیدانی می باشد که این خصوصیت آن مربوط به گروه هیدروکسیل حلقه فنولیک آن می باشد که به عنوان یک دهنده الکترون عمل می کند، رادیکال های آزاد را از بین می برد و عمل پراکسیداسیون لیپید را خنثی می کند. استروژن، هم چنین منجر به بیش تنظیمی بیان ژن آنزیم های آنتی اکسیدانی مثل سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) می شود^(۲). کمبود این هورمون در درون یائسگی منجر به افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) و سپس استرس اکسیداتیو در بافت های مختلف می شود. این مسئله در نهایت منجر به توسعه علائم و پاتولوژی های مختلف مرتبه با یائسگی مثل استئوپروز، بیماری قلبی-عروقی، پر فشار خونی، دیابت و آزالایم می شود^(۳).

به منظور بر طرف کردن این حالت نامطلوب ردوكس ناشی از کمبود استروژن، تدابیر خاصی مورد بررسی قرار گرفته است که موثرترین آن ها هورمون درمانی می باشد؛ اما در عین حال ریسک بیماری های کرونر قلبی، آمبولیسم ریوی و سرطان

سینه، رحم و تخدمان را در افراد مصرف کننده افزایش می دهد^(۲). به همین دلیل محققین به دنبال روش هایی هستند تا با کمترین عوارض به تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در دوران یائسگی بپردازند که از آن جمله می توان به تغییر در رژیم غذایی و سبک زندگی در این دوران اشاره نمود^(۳). مصرف ویتامین ها از جمله مواردی است که در رژیم غذایی زنان یائسه مورد بررسی و تاکید قرار گرفته است. در این میان ویتامین C یک آنتی اکسیدان محلول در آب با ساختاری غیر آنزیمی است که به حفظ سطوح ویتامین E کمک می کند و به صورت غیر مستقیم از غشا لیپیدی باند شده با ویتامین E حفاظت می کند. در حقیقت ویتامین C اثر نگهداری بر ویتامین E دارد و در محیط بیولوژیک پتانسیل ویتامین E را افزایش می دهد به نحوی که پس از خنثی نمودن رادیکال ها توسط ویتامین E دوباره به وسیله ویتامین C احیا می شود. بنا بر این به نوعی ویتامین C اولین سیستم دفاعی علیه استرس اکسیداتیو می باشد^(۴).

تغییر در سبک زندگی و داشتن فعالیت ورزشی نیز می تواند در پیشگیری از سندروم یائسگی موثر باشد^(۲). در رابطه با نقش ورزش در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی باید گفت که با توجه به این که فعالیت ورزشی منجر به افزایش حجم اکسیژن مصرفی، تغییرات در هموستانز کلسیم داخل سلولی، تغییرات واژوموتور و ایسکمی- ریپرفوژن می شود، منجر به افزایش گذرا ROS می شود. این افزایش گذرا در تولید ROS، در طولانی مدت، منجر به ایجاد سازگاری و بهبود ظرفیت سیستم آنتی اکسیدانی افراد سالم می شود. هم چنین تولید ROS طی تمرینات ورزشی منجر به فعال شدن مسیرهای سیگنال دهی داخل سلولی که به استرس اکسیداتیو حساس هستند، مثل مسیرهای پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK) و فاکتور هسته‌ای کاپای بتا (NF-кB)، می شود. این مسیرها قادرند بیان ژن آنزیم های آنتی اکسیدان مثل GPX و SOD را افزایش دهند و بنا بر این نقش مهمی در تعادل ردوكس درون سلولی ایفا می کنند^(۵). لازم به ذکر است که در رابطه با تاثیر فعالیت ورزشی بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در دوران یائسگی تحقیقات محدود

تاثیر اختلالات متابولیکی ناشی از اورکتومی بر کبد از لحاظ بالینی مورد علاقه است چرا که این اختلالات از طریق تولید ROS ممکن است منجر به تشیدی بیماری های کبدی مثل بیماری کبد چرب غیر الکلی و سمیت کبدی غیر الکلی شود. نشت ALT و AST از غشاء هپاتوسیت ها یک رویداد ثانویه بعد از پراکسیداسیون لبیید ناشی از اورکتومی است و هر دو از شاخص های عملکرد کبدی ناشی از اورکتومی و آسیب کبدی می باشند(۸).

مطالعات نشان داده اند که تمرينات ورزشی منظم منجر به کاهش تولید ROS در کبد و بهبود سلامت کبد می شود. هم چنین مشخص شده است که تمرينات ورزشی منظم منجر به بیش تنظیمی سیستم دفاع آنتی اکسیدان و کاهش تنظیمی تولید ROS در کبد می شود(۱۰). بنا بر این هدف از مطالعه حاضر مقایسه تاثیر تمرين هوایی همراه با مصرف استرادیول و ویتامین C بر بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در کبد رت های اورکتومی و نرمال بود.

مواد و روش ها

تعداد ۶۴ سر رت صحرایی ماده سفید از نژاد ویستان (۲۱۹/۸۷±۳/۷۹) از لانه حیوانات گروه فیزیولوژی (دانشکده پزشکی اصفهان) تهیه شد. در طول مطالعه، رت ها تحت شرایط استاندارد و کنترل شده ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۱ ۲۳±۱ درجه سانتی گراد و رطوبت ۵۱±۳ درصد در قفس های مخصوص از جنس فایبر گلاس نگهداری شدند. لازم به ذکر است که هر ۴ رت در یک قفس نگهداری شد. در طول کل دوره مطالعه روزانه آب و غذای آن ها بررسی شد و آب و غذای استاندارد ویژه رت در اختیار آن ها قرار گرفت.

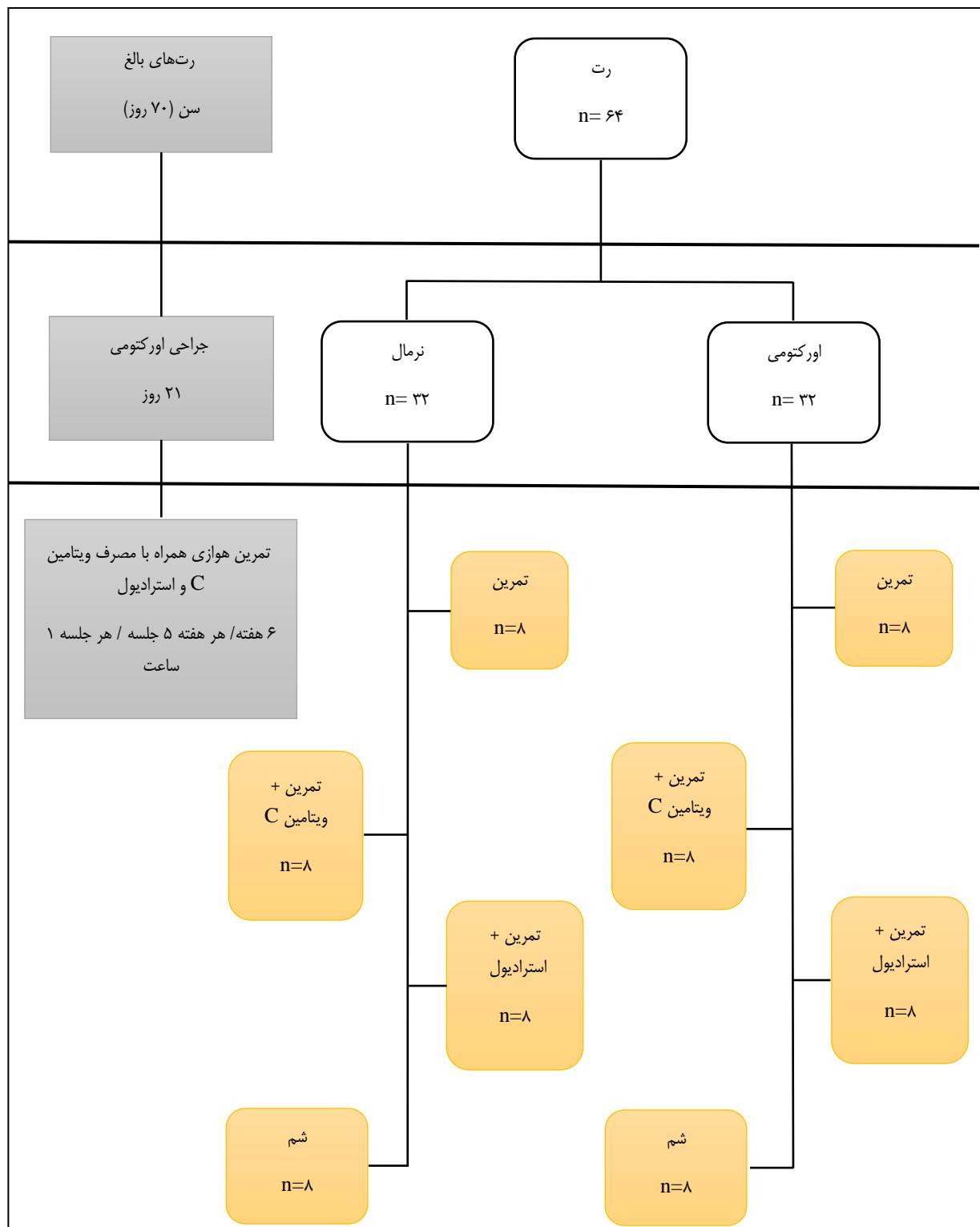
نمونه های حیوانی به صورت تصادفی به دو گروه اورکتومی (۳۲ سر رت) و نرمال (۳۲ سر رت) تقسیم شدند که به صورت تصادفی هر یک به ۴ زیر گروه ۸ تایی شامل تمرين، تمرين+ویتامین C، تمرين+ استرادیول و شم گروه بندی شدند. در طول مطالعه ۲ سر رت از گروه های تمرين و تمرين+ویتامین C مربوط به گروه های نرمال از بین رفتند(شکل شماره ۱). به همین دلیل در پایان مطالعه اطلاعات مربوط به

و ضد و نقیضی وجود دارد(۶,۷). در یک مطالعه مشخص شده است که تمرينات شنا در طولانی مدت باعث بهبود سازگاری های آنتی اکسیدانی در رت های سالم می گردد؛ اما بر سازگاری های آنتی اکسیدانی رت های اورکتومی شده تاثیری ندارد(۶). در مطالعه دیگر نیز رودریگس و همکاران(۲۰۱۳)، نشان دادند که تمرينات مقاومتی میزان استرس اکسیداتیو کبد را در رت های اورکتومی شده افزایش می دهد. این محققین شدت بیش از حد تمرين و پدیده بیش تمرينی را به عنوان علت احتمالی افزایش استرس اکسیداتیو ذکر کرده اند. بنا بر این فعالیت ورزشی و فشارهای تمرينی ناشی از آن از طرفی می تواند موجب سازگاری و بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی گردد و از طرفی هم ممکن است منجر به بروز پدیده بیش تمرينی و کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی گردد(۷). اما به طور کلی، ثابت شده است که تمرين یک گزینه با ارزش و مقرر به صرفه در کاهش علائم یائسگی است و منجر به بهبود تعادل ردوکس در زنان یائسه سالم می شود(۳).

نگرانی هایی در مورد آسیب کبدی در دوران یائسگی و فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی که طی این دوران می تواند بر عملکرد کبد تاثیر بگذارد و بیماری های کبدی را سبب شود، وجود دارد. در حقیقت، انباست دفاع آنتی اکسیدانی در سلول های کبدی است که قادرند اثرات سمی رادیکال های آزاد و آسیب ناشی از متابولیت های با واکنش پذیری بالا را بهبود بخشنند. تغییرات ایجاد شده در کبد ممکن است نشان دهنده شرایط اکسیدانت آنتی اکسیدان کل بدن باشد(۸). در شرایط طبیعی، سوخت و ساز هوایی کبد با تولید ثابت اکسیدان هایی مانند ROS و مصرف آن ها با سرعت مشابه توسط آنتی اکسیدان ها تعادل برقرار می کند. عدم تعادل در معادله اکسیدان/آنتی اکسیدان برای جانشینی اکسیدان ها فرضیه استرس اکسیداتیو را در کبد مطرح می نماید که به دنبال آن گونه های فعل اکسیژن با اثرات سمی خود منجر به پراکسیداسیون لبیید غشاء سلول، آسیب به پروتئین و DNA و فعل سازی سلول های ماهواره ای می شود. این فرآیند منجر به فیبروز، التهابات مزمун و آپوپتوز در کبد می شود(۹).

رت های گروه اورکتومی پس از عمل جراحی اورکتومی ۲۱ روز تحت مراقبت های پس از جراحی قرار گرفتند.

۶۲ سر رت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که پس از تجزیه و تحلیل، داده های مربوط به ۵ سر از رت ها به علت پرت بودن حذف شد. لازم به ذکر است که



شکل شماره ۱. طرح شماتیک تحقیق

اساس وزن هر رت به گروه تمرین+استراديول تزریق شد. این تزریق فقط در دو هفته اول پروتکل(هفته ای یک بار) و پس از اتمام تمرین دویدن بر روی تردیمیل انجام شد. لازم به ذکر است که برای کنترل اثر استرس ناشی از این تزریق به گروه های دیگر فقط روغن کنجد تزریق شد. پروتکل تمرین هوایی شامل دویدن بر روی تردیمیل ویژه جوندگان بود که به مدت ۶ هفته، هر هفته ۵ جلسه و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه اجرا شد (جدول شماره ۱). لازم به ذکر است که پروتکل طراحی شده با شدت کم-متوسط(۵۰ درصد تا ۷۰ درصد سرعت دویدن) اجرا شد. هم چنین این شدت تمرین، معادل $55\text{VO}_{2\text{max}}$ درصد بود(۱۲).

مکمل ویتامین C، طی یک دوره ۶ هفته ای به صورت یک روز در میان، با دوز مصرفی ۲۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن هر رت، از طریق ناحیه صفاقی به رت های گروه تمرین+ویتامین C تزریق شد. لازم به ذکر است که به منظور کنترل اثر استرس ناشی از تزریق، به سایر گروه ها نیز ماده بی اثر سالین به صورت صفاقی تزریق شد(۱۱).

مکمل استراديول، فقط در ۲ هفته اول، هفته ای یک بار با دوز مصرفی ۰/۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن هر رت به صورت تزریق عضلانی به ناحیه عضلات چهار سر ران در قسمت بیرون انجام شد. ابتدا استراديول در روغن کنجد حل و سپس بر

جدول شماره ۱. پروتکل تمرین هوایی دویدن بر روی تردیمیل

متغیرهای تمرین	مدت تمرین	سرعت تمرین	مسافت پیموده شده
هفته های اول و دوم	۶۰ دقیقه	۱۰ دقیقه	۰/۶ کیلومتر
هفته های سوم و چهارم	۶۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۰/۹ کیلومتر
۶۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۰/۹ کیلومتر
۰/۶ کیلومتر	۰/۹ کیلومتر	۰/۹ کیلومتر	۰/۹ کیلومتر

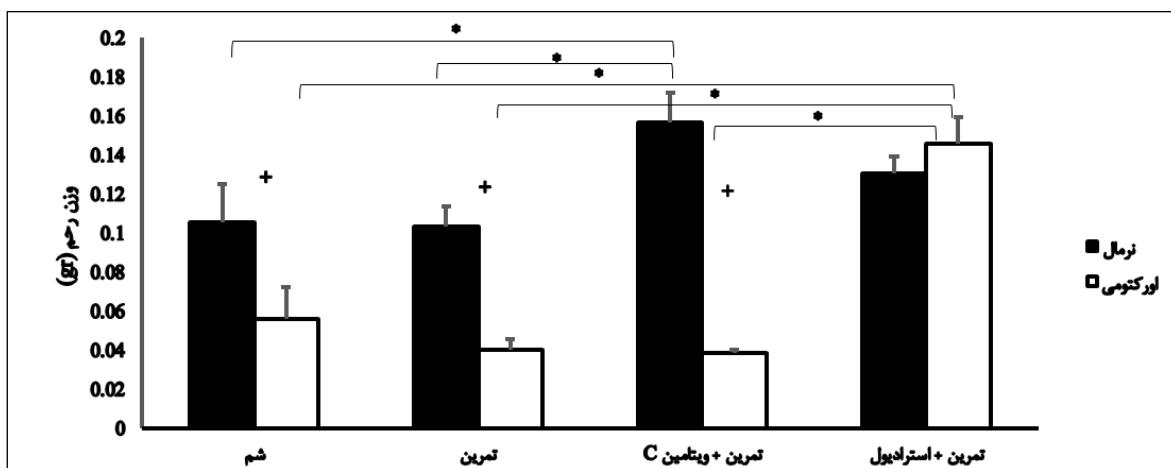
برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد. برای بیان داده ها به صورت میانگین و انحراف معیار از آمار توصیفی و برای مقایسه سطوح متغیرها در گروه های مختلف از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه(ANOVA) استفاده شد. لازم به ذکر است که در صورت وجود تفاوت بین گروهی از آزمون تعییی کمترین تفاوت معنی دار(LSD) استفاده شد. سطح معناداری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

در رابطه با وزن رحم نتایج تحقیق نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق اختلاف معناداری در وزن رحم وجود دارد(شکل شماره ۲)($P=0.000$, $F=15.16$). نتایج آزمون تعییی نشان داد که وزن رحم در گروه شم اورکتومی نسبت به گروه شم نرمال($P=0.007$), گروه تمرین اورکتومی نسبت به گروه تمرین نرمال($P=0.001$) و گروه تمرین+ویتامین C اورکتومی نسبت به گروه تمرین+ویتامین C نرمال($P=0.000$) به طور معناداری کمتر بوده است. اما بین دو گروه تمرین+استراديول اورکتومی و گروه تمرین+استراديول نرمال تفاوت معناداری مشاهده نشد($P=0.366$).

مرحله نمونه برداری بافتی و خون، پس از اتمام مداخله های تمرین هوایی دویدن بر روی تردیمیل همراه با مصرف ویتامین C و استراديول انجام شد. ابتدا هر یک از رت ها وزن کشی شدند و به منظور کاهش استرس و آشنازی با محیط مورد نظر یک ساعت قبل از آغاز کار به محیط آزمایشگاه منتقل شدند. سپس با استفاده از تزریق کلرال هیدرات(۴۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن هر رت) بی هوش شدند. پس از تایید بی هوشی با استفاده از سرنگ از قلب هر یک از رت ها نمونه گیری خون به عمل آمد.

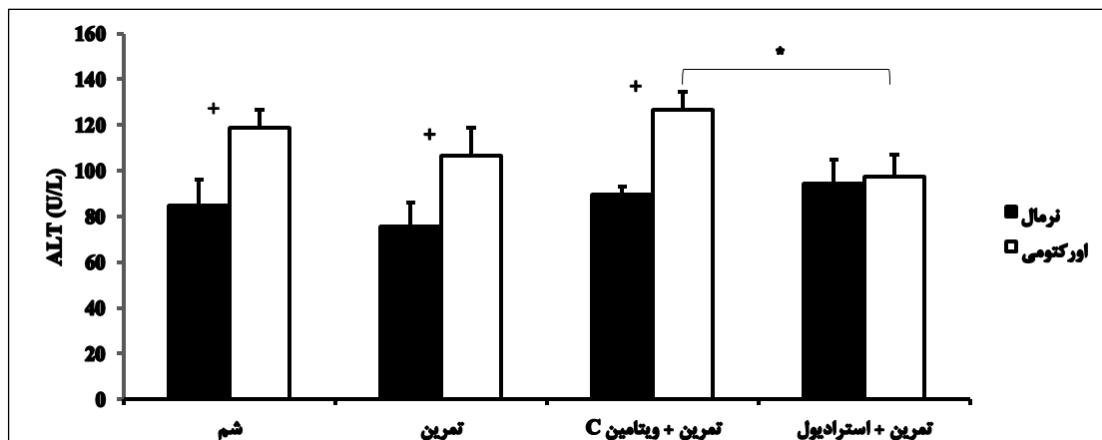
پس از اتمام مرحله خون گیری، بافت رحم برداشته و وزن شد. سپس لوله های محتوی نمونه های خون به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند؛ پس از جدا شدن سرم به داخل میکروتیوب های ۰/۵cc که از قبل برای هر رت تهیه و شماره گذاری شده بودند منتقل شد. در نهایت جهت فراهم کردن مقدمات ارزیابی ALT و AST در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای تعیین سطح سرمی AST و ALT در این پژوهش از کیت تشخیص AST و ALT در سرم(پارس آزمون، تهران، ایران) با روش فوتومتریک استفاده شد.



شکل شماره ۲. وزن رحم در گروه های اورکتومی و نرمال. علامت ستاره (*) نشان گر تفاوت معنی دار بین دو گروه و علامت مثبت (+) نشان گر تفاوت معنی دار با گروه نرمال است ($P<0.05$).

نرمال ($P=0.028$) و گروه تمرين+ویتامين C اورکتومی ($P=0.010$) به نسبت به گروه تمرين+ویتامين C نرمال ($P=0.010$) به طور معناداری بیشتر بود. اما بین دو گروه تمرين+استرادیول اورکتومی و نرمال تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P=0.809$). (شکل شماره ۳).^(۳)

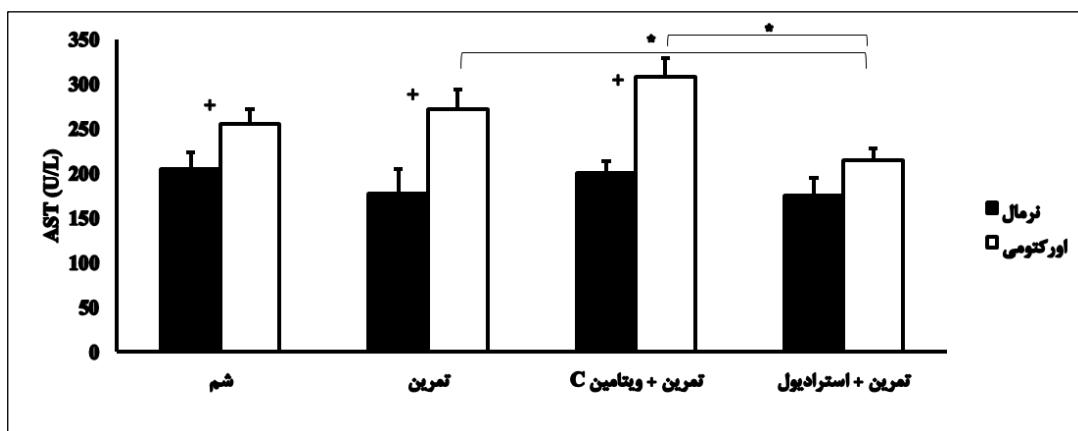
در رابطه با سطح ALT کبد نتایج تحقیق حاضر نشان داد بین گروه های مختلف تحقیق اختلاف معنی داری وجود دارد ($F=3.34$, $P=0.005$). نتایج آزمون تعقیبی حاکی از آن بود که سطح ALT در گروه شم اورکتومی نسبت به گروه شم نرمال ($P=0.017$) گروه تمرين اورکتومی نسبت به گروه تمرين



شکل شماره ۳. سطح ALT کبد در گروه های اورکتومی و نرمال. علامت ستاره (*) نشان گر تفاوت معنی دار بین دو گروه و علامت مثبت (+) نشان گر تفاوت معنی دار با گروه نرمال است ($P<0.05$).

نسبت به گروه تمرين نرمال ($P=0.001$) و گروه تمرين+ویتامين C اورکتومی نسبت به گروه تمرين+ویتامين C نرمال ($P=0.000$) به طور معناداری بالاتر بود. اما بین دو گروه تمرين+استرادیول اورکتومی و نرمال تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P=0.154$). (شکل شماره ۴).^(۴)

هم چنین نتایج نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق اختلاف معناداری در سطح AST بافت کبد وجود دارد ($F=6.28$, $P=0.000$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که سطح AST در گروه های اورکتومی بیشتر از گروه های نرمال بوده است. در این رابطه سطح AST در گروه شم اورکتومی نسبت به گروه شم نرمال ($P=0.048$), گروه تمرين اورکتومی



شکل شماره ۴. مقایسه سطح AST کبد در گروه های اورکتومی و نرمال. علامت ستاره(*) نشان گر تفاوت معنی دار بین دو گروه و علامت مثبت(+) نشان گر تفاوت معنی دار با گروه نرمال است($P<0.05$).

بینایی‌نی در رحم ایجاد می شود که ناشی از افزایش جذب مایعات در رحم می باشد. این مسئله شاید با افزایش نفوذپذیری موبرگ ها بعد از استروژن درمانی ارتباط داشته باشد؛ که حداقل بخشی از آن توسط عوامل رشد مثل فاکتور رشد اندوتیال عروقی، فاکتور رشد شبیه انسولین و فاکتور رشد اپی درمال واسطه گری می شود(۱۶). به هر حال نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که اورکتومی منجر به کاهش و آتروفی وزن رحم می شود و مصرف استرالدیول از آن پیشگیری می کنند. در رابطه با نقش ویتامین C در پیشگیری از کاهش وزن رحم نتایج تحقیق حاضر نشان داد که برخلاف گروه های اورکتومی، رت های سالمی که علاوه بر تمرین ویتامین C نیز دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شم و گروه تمرین به طور معناداری از وزن رحم بالاتری برخوردار بودند که با توجه به عدم تفاوت بین دو گروه تمرین و شم نرمال می توان گفت که افزایش وزن رحم در گروه تمرین+ویتامین C ناشی از مصرف ویتامین C بوده است. نتایج یک مطالعه نشان داد که مصرف دو ماه مکمل ویتامین C منجر به افزایش معناداری در ضخامت اندومتریال رحم در زنان گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل شد. سه دلیل برای افزایش ضخامت رحم به دنبال مصرف ویتامین C ذکر شده است. اول این که ویتامین C ممکن است اثر غیر مستقیمی بر ضخامت اندومتریال رحم از طریق افزایش هورمون های تخمدازی پروژسترون و استروژن داشته باشد. به عبارتی افزایش هورمون های استروژن و پروژسترون به دنبال مصرف ویتامین C به افزایش

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در گروه های اورکتومی نسبت به گروه های نرمال وزن رحم به طور معناداری کاهش یافته است. اما بین دو گروه نرمال و اورکتومی که علاوه بر تمرین، استرالدیول نیز دریافت کرده بودند، تفاوت معناداری مشاهده نشد. در واقع نتایج تحقیق حاضر بیان گر آن است که مصرف استرالدیول از کاهش وزن رحم جلوگیری می کند که با نتایج مطالعه گاس و کیوای(۲۰۰۷) و ابوطاها و همکاران(۲۰۰۹) هم خوانی دارد(۱۳،۱۴). مطالعات کاهش وزن رحم در رت های اورکتومی شده را به عنوان مدرک و دلیلی بر موقوفیت کامل اورکتومی ذکر کرده اند(۱۳-۱۵). نتایج مطالعه گاس و کیوای(۲۰۰۷)، عدم تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و سطح دفاع آتی اکسیدانی و آتروفی رحم را در رت های اورکتومی شده نشان داده اند(۱۳). هم چنین چیپا و همکاران(۲۰۰۳)، پایین بودن وزن رحم در موش های اورکتومی شده را نسبت به گروه شم گزارش کرده اند و این مسئله را مدرکی دال بر کمبود استروژن در آن ها دانسته اند(۱۵). محققین دیگر، نیز با اشاره به این که موقوفیت اورکتومی توسط کاهش توده رحم تعیین می شود در مطالعه خود نشان دادند که اورکتومی منجر به کاهش قابل توجه(۷۵ درصد) وزن رحم در رت های اورکتومی شده نسبت به گروه شم شد. هم چنین درمان طولانی مدت رت های اورکتومی شده با استرالدیول منجر به کاهش بسیار کمتر وزن رحم(۲۵-۳۰ درصد) شد(۱۴). در حقیقت به دنبال استروژن درمانی نوعی ادم

اورکتومی هم چنین باعث رسوب کلازن بیناییست معناداری در گروه اورکتومی شد که در گروه شم مشاهده نشد. در این مطالعه هم چنین مشخص شد که در گروه اورکتومی سطح ALT پلاسمای ۱/۶۵ برابر و سطح AST پلاسمای ۲ برابر گروه شم بود. بر این اساس، توسعه بیماری کبدی در رت‌های اورکتومی تایید شد. تحقیقات دیگر نیز نشان داده اند که نشت ALT و AST از غشا هپاتوستیت‌ها یک رویداد ثانویه بعد از پراکسیداسیون لیپید ناشی از اورکتومی است و هر دو آنزیم از شاخص‌های عملکرد کبدی ناشی از اورکتومی می‌باشد(۱۸).

در رابطه با نقش حیاتی استرس اکسیداتیو در زنجیره بیماری‌های کبدی درمان با آنتی اکسیدان‌های متنوع برای پیشگیری و معالجه بیماری‌های کبدی پیشنهاد شده است(۲۰). در این رابطه، اثرات بالینی آنتی اکسیدان‌ها به عنوان کمک کننده شامل ویتامین C، E و تعدادی دیگر از آنتی اکسیدان‌ها مورد بررسی قرار گرفته است(۲۱،۲۲). با این حال، علی‌رغم برخی نتایج مثبت نمی‌توان به این نتیجه رسید که آنتی اکسیدان‌ها عوامل درمانی مفیدی برای بیماری‌های کبدی هستند و تا حدودی به حجم نمونه و طول مدت درمان بستگی دارد. از طرفی، تعدادی از مطالعات نیز نشان داده اند که مصرف تعدادی آنتی اکسیدان‌ها برای بهبود بیماران شکست خورده است(۲۳). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که مصرف ویتامین C از افزایش سطح آنزیم‌های ALT و AST در رت‌های اورکتومی شده جلوگیری نمی‌کند. کاتлер و همکاران(۲۰۰۳)، مدل جبران استرس اکسیداتیو را شرح دادند که توضیح می‌دهد علت این که چرا مصرف آنتی اکسیدان‌ها حداقل اثر بر طول عمر را دارد. آن‌ها توضیح دادند که بیشتر انسان‌ها قادر هستند که نقطه استرس اکسیداتیو مجموعه خودشان را حفظ کنند و بنا بر این مهم نیست که آن‌ها چه مقدار مکمل‌های آنتی اکسیدان در رژیم غذایی خودشان مصرف می‌کنند و منجر به کاهش بیشتری در استرس اکسیداتیو نمی‌شود. بنا بر این به نظر نمی‌رسد مکمل‌های آنتی اکسیدان استرس اکسیداتیو را به طور عمده ای کاهش دهنند و یا امید به زندگی را در

ضخامت اندومتریال رحم کمک می‌کند. دوم این که بر اساس مطالعات صورت گرفته نقش آنتی اکسیدانی ویتامین C به حفظ بافت اندومتریال از استرس اکسیداتیو کمک می‌کند. هم چنین در این رابطه اثر مکمل ویتامین C بر ضخامت اندومتریال رحم ممکن است به خصوصیت آنتی اکسیدانی استروژن مربوط باشد که در ارگان‌های تولید مثل زنان تولید می‌شود. سوم این که افزایش ضخامت اندومتریال ممکن است به نقش ویتامین C به عنوان یک کوفاکتور در سنتز کلازن در ماتریکس خارج سلولی در مرحله لوئال مربوط باشد(۱۷). بنا بر این بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مبنی بر کاهش وزن رحم در رت‌های اورکتومی شده و افزایش وزن رحم در رت‌های نرمالی که ویتامین C دریافت کرده بودند، می‌توان گفت که مصرف ویتامین C در دوران یائسگی کمکی به افزایش وزن رحم نمی‌کند؛ اما پیش از این دوران اثرات مثبتی را می‌تواند بر جای بگذارد. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعد تأثیر مصرف مکمل ویتامین C بر وزن رحم و هورمون استروژن در نمونه‌های انسانی که پیش از دوران یائسگی از مکمل ویتامین C مصرف کرده اند بازنگی که پیش از ورود به دوران یائسگی مکمل ویتامین C دریافت نکرده اند را پس از دوران یائسگی مورد مقایسه و مطالعه قرار گیرد. نتایج تحقیق حاضر بیان‌گر آن بود که سطح آنزیم‌های ALT و AST در رت‌های اورکتومی شده نسبت به رت‌های نرمال به طور معناداری بیشتر بود که با نتایج دیگر مطالعات هم خوانی دارد(۱۸،۱۹). سلیم(۲۰۱۳)، نشان داد که سطوح سرمی آنزیم‌های ALT و AST کبد به طور معناداری در رت‌های اورکتومی در مقایسه با گروه شام افزایش یافته است(۱۹). لیائو و همکاران(۲۰۱۵)، نیز با بررسی میزان سطح ALT و AST پلاسمای ظاهر بافت کبد رت‌های اورکتومی شده در مقایسه با گروه شم نشان دادند که تغییرات قابل توجهی در سطح آنزیم‌ها و ظاهر بافت کبد را نشان داد که با هپاتیت ناشی از اورکتومی سازگار بود. در این مطالعه مشخص شد که رت‌های اورکتومی تغییرات گسترده در رسوب چربی در بخش‌های کبد در مقایسه با گروه شم داشتند.

فعالیت‌های ورزشی گوناگون و یک ارگان مهم در حمله ROS می‌باشد(۲۶). در دهه‌های اخیر، برخی مطالعات بر نقش استرس اکسیداتیو بر آسیب بافتی ناشی از ورزش و نقش عوامل آنتی اکسیدانی در آغاز فرآیندهای سازگاری متتمرکز شده‌اند. شواهد موجود حاکی از آن است تمرین منظم ظرفیت برخی از بافت‌ها برای رهایش ROS را کاهش داده و منجر به سازگاری در مکانیسم‌های آنتی اکسیدان شده و در نهایت آسیب اکسیداتیو ناشی از ورزش را کاهش می‌دهد(۲۷،۲۸). فعالیت‌های بلند مدت و استقامتی که تولید انرژی آن‌ها بیشتر هوایی است، بر میزان فعالیت آنزیم‌های ALT و AST تاثیرگذار است. زیرا برای ادامه این نوع فعالیت‌ها، نیاز بیشتری به تولید انرژی از طریق دستگاه هوایی وجود دارد. آنزیم‌های AST و ALT از آنزیم‌های درگیر در سوخت و ساز کبدی هستند. با توجه به این که کبد در فعالیت‌های استقامتی بیشتر از دیگر فعالیت‌ها نقش دارد؛ در نتیجه احتمال آسیب غشای سلول‌های کبدی در فعالیت‌های ورزشی دراز مدت و استقامتی زیاد است(۲۹). از طرفی برخی از مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت آنزیم‌های پلاسمایی ALT و AST بعد از انجام فعالیت‌های بدنی افزایش یافته است که چندین فرضیه از جمله هیپوکسی، استرس گرمایی و همولیز، ضایعات سلولی ایجاد شده طی فعالیت بدنی ناشی از فرآیندهای مکانیکی و یا تغییر در نفوذپذیری غشاء بعد از انجام فعالیت را برای توجیه افزایش فعالیت این آنزیم‌ها عنوان کرده‌اند(۳۰). بنا بر این با توجه به نتایج مطالعات انجام شده و نتایج تحقیق حاضر مبنی بر افزایش سطح آنزیم‌های کبدی در رت‌های اورکتومی شده نسبت به رت‌های نرمال که تمرینات هوایی را طی شش هفته دنبال کرده بودند می‌توان گفت که انجام تمرینات هوایی از استرس اکسیداتیو ناشی از دوران یائسگی جلوگیری نمی‌کند؛ البته این مسئله از اهمیت و ضرورت انجام فعالیت‌های ورزشی منظم و اثرات مثبت ورزش که بر بسیاری از بافت‌های بدن دارد در دوران یائسگی و به دنبال آن در دوره‌های سالمندی نمی‌کاهد. ممکن است طول مدت برنامه انجام شده در تحقیق حاضر به اندازه‌ای نبوده که

انسان‌ها افزایش دهنده(۲۴)؛ بنا بر این به نظر می‌رسد که مصرف ویتامین C تاثیری بر کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دوران یائسگی ندارد. بر این اساس پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بیشتری در این زمینه صورت گیرد و نقش دیگر آنتی اکسیدان‌ها از قبیل ویتامین E نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

در مطالعه حاضر مشخص شد که سطح ALT و AST کبد در رت‌های اورکتومی شده که در کنار تمرین استردادیول نیز دریافت کرده بودند، نسبت به دیگر گروه‌های اورکتومی به طور معناداری پایین‌تر بود و از این نظر برخلاف دیگر گروه‌ها با رت‌های نرمال تفاوت نداشتند. ایکس یو و همکاران(۲۰۰۴)، در مطالعه خود نشان داد که سطح ALT و AST کبد در رت‌های اورکتومی شده به دنبال مصرف استردادیول کاهش یافته است. بر اساس مطالعات صورت گرفته کبد هم در رت‌های نر و هم ماده دارای ظرفیت پایین‌گیرنده‌های استروژنی است؛ اما همین گیرنده‌های محدود میل ترکیبی بالایی نسبت به استروژن دارند و استروژن از طریق این گیرنده‌ها منجر به تنظیم عملکرد کبد می‌شود. مطالعات گذشته نشان داده اند که درمان با ۱۷-بتا استردادیول می‌تواند سطوح گیرنده‌های استروژن را در کبد رت‌های نرمال تنظیم کند. در واقع درمان طولانی‌مدت با ۱۷-بta استردادیول سطح گیرنده‌های استروژن در سلول‌های اندوتیال سینوسی کبدی و سلول‌های کوپفر در رت‌های اورکتومی شده را افزایش می‌دهد. این مشاهدات تاکید دارد که mRNA گیرنده استروژن بعد از استروژن درمانی در رت‌های ماده اورکتومی شده افزایش می‌یابد که احتمال دارد اثر استروژن درمانی بر سطوح گیرنده‌های استروژن در رت‌های اورکتومی به صورت غیر مستقیم از طریق غده هیپوفیز یا توسط افزایش گیرنده‌های هورمون رشد کبدی تاثیر بگذارد(۲۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح آنزیم‌های ALT و AST کبد در رت‌های اورکتومی شده که مداخله تمرین هوایی را دریافت کرده اند نسبت به گروه‌های نرمال متناظر خود افزایش معناداری یافته است. کبد یکی از اندام‌های حیاتی درگیر در

را به دنبال دارند. اما تمرين هوازی همراه با مصرف ویتامین C از افزایش سطوح این دو آنزیم در رت های اورکتومی شده جلوگیری نمی کنند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر برگرفته از رساله دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی است که با حمایت دانشگاه اصفهان و مرکز آب و الکترولیت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شده است. در تحقیق حاضر تمامی اقدامات انجام شده مطابق با آیین نامه کمیته اخلاق پژوهش بر حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است.

سازگاری های کنترل استرس اکسیداتیو را ایجاد کند. بنا بر این پیشنهاد می شود که در مطالعات بعدی به مقایسه تاثیر تمرينات هوازی و غیر هوازی و یا تمرينات تداومی و تناوبی بر سطوح آنزیم های کبدی در رت های اورکتومی و نرمال پرداخته شود.

به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به دنبال اورکتومی کاهش وزن و آتروفی رحم ایجاد می شود و مصرف استرادیول از کاهش آن جلوگیری می کند. هم چنین اورکتومی موجب افزایش سطوح آنزیم های ALT و AST می شود و تمرين هوازی همراه با مصرف استرادیول کاهش سطوح این آنزیم ها

References

- Michailidis Y, Karagounis LG, Terzis G, Jamurtas AZ, Spengos K, Tsoukas D, et al. Thiol-based antioxidant supplementation alters human skeletal muscle signaling and attenuates its inflammatory response and recovery after intense eccentric exercise. *Am J Clin Nutr* 2013;98:233-45.doi: 10.3945/ajcn.112.049163.
- Maroti T, Sobocanec S, Safranko Z, Saric A, Kusic B, Balog T. Sensitivity to oxidative stress sex matters. *Med Sci* 2010;35:59-68.
- Doshi SB, Agarwal A. The role of oxidative stress in menopause. *J Mid Health* 2013;4:140. doi: 10.4103/0976-7800.118990.
- Fukui A, Kawabe N, Hashimoto S, Murao M, Nakano T, Shimazaki H, et al. Vitamin E reduces liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 2015;7:2749. doi: 10.4254/wjh.v7.i27.2749.
- Ji L, Cabrera M, Steinhafel N, Vina J. Acute exercise activates nuclear factor NF-κB signaling pathway in rat skeletal muscle. *FASEB J* 2004;18:1499-506. doi:10.1096/fj.04-1846com.
- Macedo UBdO, Martins RR, Neto FP, Oliveira YMdC, Medeiros AdC, Brandao J, et al. Oophorectomy hinders antioxidant adaptation promoted by swimming in wistar Rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013;38:148-53. doi: 10.1139/apnm-2012-0121.
- Rodrigues MFC, Stotzer US, Domingos MM, Deminice R, Shiguemoto GE, Tomaz LM, et al. Effects of ovariectomy and resistance training on oxidative stress markers in the rat liver. *Clinics*. 2013; 68(9):1247-54. doi: 10.6061/clinics/2013(09)12.
- Kankofer M, Radzki R, Bienko M, Albera E. Anti oxidative status of Rat liver after ovariectomy. *Trans Emerg Dis* 2007;54:225-9. doi:1439-0442.2007.00916.x.
- Videlal LA, Rodrigo R, Orellana M, Fernandez V, Tapia G, Quinones L, et al. Oxidative stress related parameters in the liver of non alcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci* 2004; 106:261-8. doi:10.1042/CS20030285.
- Shephard RJ, Johnson N. Effects of physical activity upon the liver. *European J Appl Physiol* 2015;115:1-46. doi:10.1007/s00421-014-3031-6.
- Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Eshraghijazi F, Ashrafi F, Nasri H, Talebi A, et al. Vitamin E and vitamin C or losartan is not nephroprotectant against cisplatin induced nephrotoxicity in presence of estrogen in ovariectomized rat model. *Int J Nephrol* 2012;2:121-8.doi: 10.1155/2012/284896.
- Almeida SA, Claudio ER, Mengal V, Oliveira SG, Merlo E, Podratz PL, et al. Exercise training reduces cardiac dysfunction and remodeling in ovariectomized rats submitted to myocardial infarction. *PLOS One* 2014; 9: 115970. doi: 10.1371/journal.pone.0115970.
- Goss PE, Qi S, Hu H, Cheung AM. The effects of atamestane and toremifene alone and in combination compared with letrozole

- on bone, serum lipids and the uterus in an ovariectomized Rat model. *Breast Cancer Res Treat* 2007;103:293-302. doi:10.1007/s10549-006-9381-y.
14. Abutaha M, Rius C, Hermenegildo C, Noguera I, Nicolas JM, Issekutz AC, et al. Menopause and ovariectomy cause a low grade of systemic inflammation that may be prevented by chronic treatment with low doses of estrogen or losartan. *J Immunol* 2009;183:1393-402. doi: 10.4049/jimmunol.0803157.
15. Chiba H, Uehara M, Wu J, Wang X, Masuyama R, Suzuki K, et al. Hesperidin, a citrus flavonoid, inhibits bone loss and decreases serum and hepatic lipids in ovariectomized mice. *J Nutr* 2003;133:1892-7. doi:10.1093/jn/133.6.1892.
16. Lindberg MK, Weihua Z, Andersson N, Moverare S, Gao H, Vidal O, et al. Estrogen receptor specificity for the effects of estrogen in ovariectomized Mice. *J Endocrinol* 2002;174:167-78. doi: 0022-0795/02/0174-167.
17. Sami R, Alkatib, Meissam MH, Alkaabi, Karim A, Aljashamy. Effects of vitamin C on the endometrial thickness and ovarian hormones of progesterone and estrogen in married and unmarried women. *Am J Res Commun* 2013; 1: 24-31.
18. Liao CC, Chiu YS, Chiu WC, Tung YT, Chuang HL, Wu JH, et al. Proteomics analysis to identify and characterize the molecular signatures of hepatic steatosis in ovariectomized Rats as a model of postmenopausal status. *Nutrients* 2015;7:8752-66. doi: 10.3390/n u7105434.
19. Salim S, Al-Rejaie. Thymoquinone Treatment Alleviate Ovariectomy-Induced Hepatic Oxidative Damage in Rats. *J App Pharm Sci* 2013; 3: 126-31. doi: 10.7324/JAPS.2013.3621.
20. Li AN, Li S, Zhang YJ, Xu XR, Chen YM, Li HB. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients* 2014;6:6020-47. doi: 10.3390/nu6126020.
21. Esrefoglu M. Oxidative stress and benefits of antioxidant agents in acute and chronic hepatitis. *Hepat Month* 2012;12:160-7. doi: 10.5812/hepatmon.837.
22. Emerit I, Huang CY, Serejo F, Filipe P, Fernandes A, Costa A, et al. Oxidative stress in chronic hepatitis C a preliminary study on the protective effects of antioxidant flavonoids. *Hepat Gastroenterol* 2005; 52:530-6. doi: 0000-0001-6917-527X.
23. Zhao J, Fan YC, Zhang F, Yang Y, Zhao ZH, Sun FK, et al. Oxidative stress in chronic hepatitis C patients. *Chinese J Exp clin Virol* 2013; 27:47-9.
24. Cutler RG. Genetic stability and dysdifferentiationand longevity determinant genes. 3th ed. Saunders Publication. 2003;P. 1146-235.
25. Xu JW, Gong J, Chang XM, Luo JY, Dong L, Jia A, et al. Effects of estradiol on liver estrogen receptor alpha and its mRNA expression in hepatic fibrosis in Rats. *World J Gastroenterol* 2004;10:250-4. doi: 10.3748/wjg.v10.i2.250.
26. Sanchezvalle V, Chaveztapia NC, Uribe M, Mendezsanchez N. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review. *Curr Med Chem* 2012; 19:4850-60. doi: 10.2174/092986712803341520.
27. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension* 2004;44:381-6. doi:10.1161/01.HYP.0000142232.29764.a7
28. Leeuwenburgh C, Heinecke JW. Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Curr Med Chem* 2001;8:829-38. doi: 10.2174/0929867013372896.
29. Bashiri J, Gaeini A, Nikbakht H, Hadi H, Bashiri M. [Effect of concurrent creatine monohydrate ingestion and resistance training on hepatic enzymes activity levels in non athlete Males]. *IJEM* 2010;12:42-7. (Persian)
30. Podhorskaokolow M, Dziegiej P, Cialowicz E, Saczko J, Kulbacka J, Gomulkiewicz A, et al. Effects of adaptive exercise on apoptosis in cells of Rat renal tubuli. *European J Appl Physiol* 2007; 99:217-26. doi: 10.1007/s00421-006-0335-1.



Comparison of the Effects of Aerobic Training with Vitamin C and Estradiol on Markers of the Liver among Ovariectomized and Normal Rats

Abbasi M^{1*}, Bambaeichi E²

(Received: April 4, 2018)

Accepted: October 15, 2018)

Abstract

Introduction: Postmenopausal estrogen deficiency, disturbance of the antioxidant defense system, and free radical production lead to oxidative stress. This results in metabolic disturbances affecting the liver. Therefore, it is important to properly evaluate the benefits of antioxidant administration and exercise on oxidative stress in the liver. The main purpose of this study was to compare the effects of aerobic training with vitamin C and estradiol on oxidative stress in the liver among ovariectomized and normal rats.

Materials & Methods: In total, sixty-four female rats were divided into two groups of normal (n=32) and ovariectomized (n=32). Each group was subdivided randomly into four subgroups consisting of sham, training, training+vitamin C, and training+estradiol. The experimental protocol was five 60-min running sessions for six weeks on a treadmill with average intensity and 55% Vo_{2max}. Moreover, the rats were subjected to the injection of 250 mg and 0.25 mg/kg vitamin C and estradiol, respectively. Liver oxidative damage was determined by the

serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST).

Findings: According to the results, ovariectomy resulted in vaginal atrophy. Moreover, it led to a significant increase in AST and ALT levels. In addition, the administration of estradiol decreased the serum level of these enzymes ($P<0.05$). However, aerobic training and vitamin C had no effect on the prevention of the increased levels of these enzymes in ovariectomized rats ($P<0.05$).

Discussion & Conclusions: In conclusion, the obtained results revealed that average intensity training had no effect on the prevention of increased levels of oxidative stress in ovariectomized rats. However, exercise training in combination with estradiol and vitamin C improved oxidative stress conditions in ovariectomized rats.

Keywords: Aerobic training, Estradiol, Menopause, Ovariectomy, Oxidative stress, Vitamin C

1. Dept of Exercise Physiology, Islamic Azad University, Ilam Branch, Ilam, Iran

2. Dept of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

* Corresponding author Email: Abbasimaryam60@yahoo.com