

## Combined Effect of Swimming Training and Arbutin Supplementation on Kidney Total Oxidant and Antioxidant Status in Alloxan-induced Diabetic Rats

Maryam Zolfalipor<sup>1</sup>, Parvin Farzanegi<sup>2\*</sup>, Masoumeh Habibian<sup>3</sup>

- 1- M.Sc., Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Ghaemshahr Branch, Islamic Azad University, Ghaemshahr, Iran

\*Corresponding Address: P.O.Code: 4816119318, Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran  
Email: Parvin.farzanegi@gmail.com

Received: 05/Jan/2015, Accepted: 06/Jul/2015

### Abstract

**Objective:** Diabetes is a common metabolic disorder that a one of the important factors in the etiology is considered to oxidative damage. The present study intends to study the effect of swimming training with Arbutin on total oxidant status (TOS) and total antioxidant status (TAS) in kidney tissue of Alloxan-induced diabetic rats.

**Methods:** We randomly divided 42 male Wistar rats that had an average weight of 195 g to 220 g into 6 groups (7 rats per group) - control, diabetic, arbutin, diabetic-arbutin, diabetic-swimming training, and diabetic-combinatorial. Swimming training protocol consisted of 5 days/week for 6 weeks at 5-36 min/day. Diabetes was induced with alloxan [90 mg/kg, intraperitoneal (ip)] in the rats. Arbutin (50 mg/kg, subcutaneous) was administered for 5 days/week. The rats were killed 48 hours after the last treatments and kidney TOS and TAS levels were evaluated. One-way analysis of variance was used for data analysis.

**Results:** After six weeks of supplementation with arbutin, swimming training and the combination of swimming training and arbutin, we observed a significant decrease in TOS ( $P < 0.05$ ) and elevated TAS ( $P < 0.05$ ) levels in the alloxan-induced diabetic rats.

**Conclusion:** The combined effect of swimming training and arbutin supplementation can play a major role against renal oxidative stress by modulating total oxidant and antioxidant status in alloxan-induced diabetic rats.

**Keywords:** Swimming training, Arbutin, TOS, TAS, Diabetes

Modares Journal of Medical Sciences: *Pathobiology*, Vol. 18 (2015-2016), No. 2, Pages: 85-95

# اثر تعاملی تمرین شنا و آربوتین بر وضعیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی تام بافت کلیه موش‌های دیابتی شده با القای آلوکسان

مریم زلفعلی پور<sup>۱</sup>، پروین فرزانی<sup>۲\*</sup>، معصومه حبیبیان<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران

۳- استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، قائمشهر، ایران

\*آدرس نویسنده مسئول: ایران، ساری، کیلومتر ۷ جاده دریا، کدپستی: ۴۸۱۶۱۱۹۳۱۸، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، دانشکده علوم انسانی، گروه فیزیولوژی ورزشی  
Email: Parvin.farzanegi@gmail.com

پذیرش مقاله: ۹۴/۰۴/۱۵

دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۱۵

## چکیده

**هدف:** دیابت یک بیماری متابولیک شایع است که یکی از عوامل بسیار مهم در اتیولوژی آن را صدمات اکسیدانی می‌دانند. هدف تحقیق حاضر، تعیین اثر تمرین شنا با مکمل آربوتین بر وضعیت اکسیدانی (TOS) و آنتی‌اکسیدانی تام (TAS) بافت کلیه موش‌های دیابتی شده با القای آلوکسان بود.

**مواد و روش‌ها:** ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۱۹۵ - ۲۲۰ گرم) به صورت تصادفی به ۶ گروه (۷ تایی) کنترل، دیابت، آربوتین، دیابت-آربوتین، دیابت-تمرین و دیابت-ترکیبی تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل ۶ هفته تمرین شنا، ۵ جلسه در هفته و هر جلسه ۶ تا ۳۰ دقیقه بود. دیابت با تزریق درون صفاقی آلوکسان (یک دوز، ۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) القا شد و مکمل آربوتین (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، ۵ روز در هفته تزریق شد. موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله‌ها برای تجزیه و تحلیل سطوح TAS، TOS بافت کلیه کشته شدند. از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد ( $P < 0/05$ ).

**نتایج:** شش هفته مکمل‌سازی با آربوتین، تمرین شنا و ترکیب این دو مداخله منجر به کاهش معنی‌دار میزان TOS و افزایش معنی‌دار TAS بافت کلیه موش‌های دیابت القایی با آلوکسان شد ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تعامل تمرین شنا و مکمل آربوتین می‌تواند نقش مهمی در برابر استرس اکسایشی کلیه با تعدیل وضعیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی تام بافت کلیه موش‌های دیابت القایی با آلوکسان داشته باشد.

**کلیدواژگان:** تمرین شنا، آربوتین، وضعیت اکسیدانی تام، وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام، دیابت

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی، دوره ۱۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، صفحات: ۸۵-۹۵

## مقدمه

دیابت یکی از اختلالات متابولیکی مهم است که جمعیت وسیعی از مردم جهان گریبان‌گیر آن می‌شوند؛ به طوری که تعداد افراد مبتلا به دیابت تا سال ۲۰۵۰ حدود ۳۰۰ میلیون نفر برآورد شده است [۱]. دیابت از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل بروز برخی از اختلالات مثل نوروپاتی (Nephropathy)، رتینوپاتی (Retinopathy)، نوروپاتی (Neuropathy) و بیماری‌های قلبی و عروقی است [۲]. در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس (Mellitus diabetes) خطر پیشرفت ضایعات عروقی وجود دارد و یکی از عوامل بسیار مهم و مؤثر در سبب‌شناسی آن صدمات اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) فرض شده است؛ بنابراین تقویت

دیابت یکی از اختلالات متابولیکی مهم است که جمعیت وسیعی از مردم جهان گریبان‌گیر آن می‌شوند؛ به طوری که تعداد افراد مبتلا به دیابت تا سال ۲۰۵۰ حدود ۳۰۰ میلیون نفر برآورد شده است [۱]. دیابت از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل بروز برخی از اختلالات مثل نوروپاتی (Nephropathy)، رتینوپاتی (Retinopathy)، نوروپاتی (Neuropathy) و بیماری‌های قلبی و عروقی است [۲]. در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس (Mellitus diabetes) خطر پیشرفت ضایعات عروقی وجود دارد و یکی از عوامل بسیار مهم و مؤثر در سبب‌شناسی آن صدمات اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) فرض شده است؛ بنابراین تقویت

## اثر شنا و آربوتین بر وضعیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی موش‌های دیابتی

ترکیبات است [۱۵، ۱۶]. همچنین ارزیابی محصولات آسیب اکسیداتیو می‌تواند ارزیابی دقیقی از استرس اکسیداتیو باشد. با این حال از آنجایی که ارزیابی مولکول‌های اکسیداتیو مختلف عملی نیست و آثار اکسیدانی آن‌ها افزایشی است، ارزیابی وضعیت اکسیدانی تام (Total oxidant status: TOS) می‌تواند رویکرد جدید و عملی را ارائه کند [۱۷-۱۹]. والابج (Vlabge) و همکاران (۲۰۰۱) گزارش دادند که TAS در بیماران دیابتی نوع ۲ در مقایسه با آزمودنی‌های غیر دیابتی و سالم سطح پایین‌تری قرار دارد و همچنین بین TAS و هموگلوبین گلیکوزیله با مدت دیابت ارتباط وجود دارد [۲۰]. نتایج پژوهش‌ها بیانگر آثار مفید فعالیت ورزشی منظم در کاهش و پیشگیری بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو همانند سرطان، بیماری‌های قلبی - عروقی، دیابت و... است [۲۱]. فعالیت‌های ورزشی از طرفی با افزایش فشار اکسایشی، احتمال تشکیل رادیکال‌های آزاد مضر را افزایش می‌دهد. اما از سوی دیگر؛ با القای آنزیم‌های ضد اکسایشی، سبب کاهش رادیکال‌های آزاد نیز می‌شود. نتایج مطالعات قبلی بیانگر نقش تمرینات استقامتی و سازگاری با تمرینات هوازی در کاهش قابل توجه فشار اکسایشی کلیوی است که با افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همراه بود [۲۲]. از طرف دیگر؛ مصرف سبزیجات و میوه‌های غنی از ویتامین‌ها و دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها نیز باعث بالا نگه داشتن پایدار سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در افراد دیابتی می‌شود [۲۳، ۲۴]. به علت هزینه بالا تهیه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی (غیر طبیعی) رایج شده است. اما به علت عوارض جانبی در مصرف این آنتی‌اکسیدان‌ها، توجه محققین به سوی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مشتق از گیاهان متمرکز شده است [۲۵]. در بین گیاهان، گیاه گلابی وحشی (تلکا) دارای ترکیبی به نام آربوتین (Arbutin) است که یک هیدروکینون گلوکوزید است. مطالعات نشان داده‌است هیدروکینون و مشتقات آن با پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و نیز بیان شده است آربوتین نسبت به آلفا

سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بیماران می‌تواند تا حدودی مانع از ایجاد و پیشرفت این عوارض شود [۳]. بر همین اساس، آسیب‌های متعدد و شدیدی در اندام‌های مختلف بدن افراد دیابتی به وقوع می‌پیوندد. به طوری که نارسایی کلیوی دیابت از عوامل عمده مرگ و میر در بیماران دیابتی شناخته شده است [۴]. نوروپاتی دیابتی، بیماری کلیوی مزمن و پیشرونده‌ای است که در ۳۵ تا ۴۰ درصد از بیماران دیابتی ایجاد می‌شود [۵]. تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش مهمی در آسیب بافت کلیه در افراد دیابتی دارد [۶]. در حال حاضر شاخص‌های ویژه‌ای که بیانگر توسعه بیماری مرحله انتهایی کلیه (End-stage kidney failure) باشد، به طور کامل مشخص نیست و کنترل بالینی قند خون و تنظیم فشارخون دو شاخص اصلی مهار نوروپاتی دیابتی است [۷، ۸]. نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که اکثر مکانیسم‌های نوروپاتی ناشی از دیابت، نتیجه‌ای از افزایش کنترل نشده سطوح گلوکز خون است. افزایش قند خون منجر به تغییرات گلیکوزیله شدن غیر آنزیمی پروتئین‌ها، فعال شدن پروتئین کیناز C و افزایش فعالیت ردوکتاز آلدوز (Aldose reductase) می‌شود. این وقایع افزایش تولید ترومبوکسان (Thromboxane)، عوامل رشد، فیبرونکتین (Fibronectin) و کلاژن و افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود که می‌تواند منجر به القای استرس اکسیداتیو و در نتیجه توسعه و پیشرفت عوارض ناشی از دیابت شود [۹]. به علاوه؛ استرس اکسیداتیو یک نقش کلیدی در بیماری‌زایی ناشی از دیابت و نوروپاتی ایفا می‌کند [۱۰]. افزایش گونه‌های فعال اکسیژن نیز در بیماران دیابتی مشاهده شد [۱۱، ۱۲]. بنابراین بیماری دیابت به واسطه تولید رادیکال‌های آزاد و افزایش استرس‌های اکسیداتیو منجر به آسیب سلول‌ها و بافت‌های مختلف بدن می‌شود [۱۳، ۱۴]. حذف و خنثی‌سازی گونه‌های اکسیژنی واکنش‌گر توسط مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی انجام می‌شود. در واقع وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام (Total antioxidant status: TAS) نشان دهنده همه این

دوز ۹۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن رت به صورت زیر جلدی استفاده شد. بعد از ۷۲ ساعت از تزریق آلوکسان، به منظور تشخیص دیابت در حیوانات، یک قطره خون در شرایط ۱۲ ساعت ناشتایی گرفته و قند خون آزمودنی‌ها اندازه‌گیری شد و غلظت گلوکز خون فراتر از ۲۵۰ میلی گرم در دسی لیتر به عنوان دیابت در نظر گرفته شد [۲۷].

### نحوه تهیه و تزریق آربوتین

پودر آربوتین با درجه خلوص بالای ۹۶ درصد (خریداری شده از شرکت Sigma، آلمان) با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، محلول شده با ۲ سی سی سالیین به صورت زیر جلدی پنج روز پیاپی در هر هفته و تا هفته ششم ۲ ساعت قبل از تمرین به حیوانات تزریق شد [۲۸].

### برنامه تمرینی

آزمودنی‌های گروه‌های دیابت - تمرین و ترکیبی، قبل از شروع برنامه اصلی، به مدت یک هفته (پنج روز) هر بار به مدت پنج دقیقه به منظور آشنایی با آب، تمرین داده شدند. حیوانات گروه تمرینی پس از طی دوره آشنایی، در مخزن آبی به ابعاد ۷۰×۹۰×۱۵۰ سانتی متر و با دمای  $2 \pm 32$  درجه سانتی‌گراد به مدت شش هفته (هفته‌ای ۵ روز) تمرین شنا را اجرا کردند. مدت تمرین شنا در هفته اول ۱۰ دقیقه بود و به منظور اضافه بار هفته‌ای ۵ دقیقه به آن افزوده می‌شد تا در هفته ششم به ۳۵ دقیقه رسید [۲۹]. پس از انجام تمرینات شنا در هر جلسه، حیوانات در مخزن گرم کن مخصوص جوندگان قرار گرفتند و به مدت ۱۰ دقیقه در معرض جریان هوای گرم با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و خشک شدند.

### بافت برداری و آنالیز بیوشیمیایی متغیرها

حیوانات ۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی با استفاده از تزریق درون صفاقی کتامین (Ketamine) (۹۰ میلی گرم/

توکوفرول (Alpha tocopherol) رادیکال‌های بیشتری را به دام می‌اندازد. از این رو آربوتین فعالیت آنتی‌اکسیدانی پیشرفته‌ای را در فسفولیپیدهای غشا اعمال می‌کند [۲۶]. با توجه به این که تأثیر فعالیت‌های ورزشی و مصرف آربوتین بر استرس اکسایشی بیماران دیابتی مطالعه شده است اما پژوهشی در زمینه تأثیر همزمان مصرف مکمل و ورزش بر سطوح این متغیرها صورت نگرفته است؛ بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین استقامتی شنا به همراه مکمل آربوتین بر برخی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه موش‌های دیابت القاایی با آلوکسان (Alloxan) بود.

### مواد و روش‌ها

#### آزمودنی‌ها

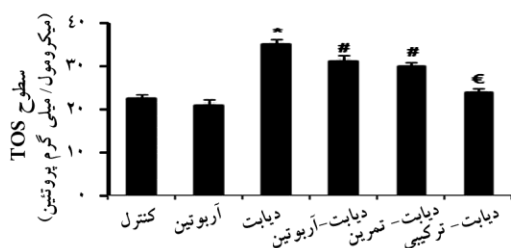
در این طرح تجربی از موش‌های صحرایی نر بالغ (۸ هفته‌ای) نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۹۵ - ۲۲۰ گرم استفاده شد. پس از آشنایی با برنامه تمرین حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه (۷ تایی) کنترل، آربوتین، دیابت، دیابت - تمرین، دیابت - آربوتین و دیابت - تمرین + آربوتین (ترکیبی) تقسیم شدند. این بخش از تحقیق طبق موازین نگهداری حیوانات کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری انجام شده و پژوهش با کد اخلاق ۲۶-۱۳۹۴ مورد تأیید قرار گرفته است. حیوانات در محیطی با دمای  $2 \pm 22$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $5 \pm 55$  درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲ : ۱۲ نگهداری شدند. حیوانات با استفاده از غذای پلت (تولید شده توسط شرکت بهرور کرج) به مقدار ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن و آب که به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت، تیمار شدند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن کشی هفتگی در اختیارشان قرار گرفت.

### روش القای دیابت

به منظور دیابتی کردن حیوانات از آلوکسان مونوهیدرات با

## نتایج

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه بیانگر تفاوت معنی‌دار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف متعاقب ۶ هفته مداخله‌های پژوهش بود. بر اساس یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی توکی، القای دیابت منجر به افزایش معنی‌دار TOS (۵۴/۲۳ درصد،  $P < ۰/۰۰۱$ ) و کاهش معنی‌دار TAS (۵۴/۲۳ درصد،  $P < ۰/۰۰۱$ ) بافت کلیه در موش‌های گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل شد. به‌علاوه؛ هر کدام از مداخله‌های مکمل‌سازی با آربوتین (۱۱/۰۲ درصد،  $P < ۰/۰۰۱$ )، ورزش شنای مزمن (۱۴/۶۸ درصد،  $P < ۰/۰۰۱$ ) یا ترکیبی از این دو مداخله (۳۱/۴۲ درصد،  $P < ۰/۰۰۱$ ) با کاهش سطوح TOS بافت کلیه در موش‌های دیابتی همراه بود. هر چند با وجود این کاهش، سطوح TOS بافت کلیه گروه دیابت - تمرین و دیابت - آربوتین، طبیعی نشد و همچنان به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل باقی ماند (به‌ترتیب ۳۷/۹۷ درصد و ۳۲/۳۰ درصد،  $P < ۰/۰۰۱$ ) اما اثر تعاملی این دو مداخله سطوح TOS بافت کلیه را تا مقادیر نزدیک به پایه کاهش داد و تفاوت معنی‌داری بین سطوح TOS بافت کلیه گروه‌های ترکیبی و کنترل مشاهده نشد ( $p = ۰/۱۹۹$ ، شکل ۱).



شکل ۱ مقایسه میانگین سطوح TOS بافت کلیه در گروه‌های مختلف؛ \* تفاوت معنی‌دار نسبت به تمام گروه‌ها؛ # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل، آربوتین و ترکیبی؛ € معنی‌داری تفاوت نسبت به گروه آربوتین

همچنین سطوح TAS بافت کلیه، پس از ۶ هفته مکمل‌سازی با آربوتین (۴۴/۴۴ درصد،  $P < ۰/۰۰۱$ )، ورزش

کیلوگرم) و زایلازین (Xylazine) (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش و سپس کشته شدند [۳۰]. پس از شکافتن حفره شکمی، بافت کلیه به دقت جدا و پس از شستشو با آب مقطر و تعیین وزن، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد فریز شد. سپس بافت کلیه در بافر فسفات (۱۷ میلی‌مولار و اسیدیته ۷/۴) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با دستگاه همگن‌ساز (Hemogenizer) مکانیکی Polytron ساخت کشور آلمان همگن (یکنواخت) شد. سپس مایع رویی حاصل برای اندازه‌گیری TOS و TAS استفاده شد. TOS و TAS با استفاده از کیت تجاری TOS و TAS ساخت شرکت (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep) ترکیه) و با روش اسپکتروفتومتری (Spectrophotometrically) و رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. ارزیابی TOS بر پایه اکسیداسیون یون فروس (Ferrous) به یون فریک در حضور انواع مختلف اکسیدان‌ها در محیط اسیدی و اندازه‌گیری یون فریک با رنگ نارنجی زایلنول (Xylenol) انجام گرفت. همچنین TAS بر اساس سفید شدن نمونه رنگی رادیکال کاتیونی ۳ اتیل بنزوتیازولین ۶ اسید سولفوریک توسط اکسیدان‌ها اندازه‌گیری شد [۳۱].

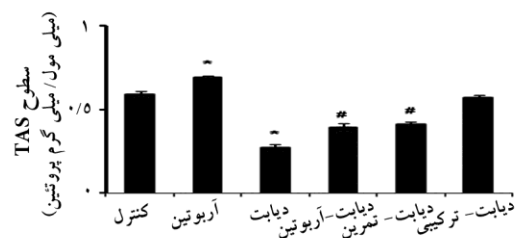
## روش‌های آماری

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از آمار توصیفی و استنباطی تجزیه و تحلیل شد. برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk) و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون (Levene) استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way Analysis of Variance: ANOVA) به منظور بررسی تفاوت بین گروه‌های مختلف و از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) برای تعیین محل تفاوت استفاده شد. سطح معنی‌داری نیز  $P \leq ۰/۰۵$  در نظر گرفته شد و کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

با افزایش معنی‌دار سطوح TOS و کاهش TAS بافت کلیه همراه بود که بیانگر آسیب کلیوی به واسطه افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش دفاع آنتی‌اکسیداتیو کلیوی با القای دیابت است. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، سلیک (Çelik) و همکاران افزایش سطوح TOS و کاهش TAS در بافت کلیه را پس از دو هفته القای دیابت در موش‌های آلبینو (Albino mice) دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) مشاهده نمودند که تغییرات فوق معنی‌دار نبود و علت احتمالی آن ممکن است کمتر بودن زمان دیابتی بودن موش‌های آلبینو در مقایسه با موش‌های تحقیق حاضر (۶ هفته) باشد [۳۴]. همچنین ورما (Verma) و همکاران کاهش غیر معنی‌دار سطوح TAS و افزایش معنی‌دار TOS را در بیماران دیابتی نوع ۲ نسبت به آزمودنی‌های سالم مشاهده نمودند به طوری که سطوح تغییرات این متغیرها با اضافه شدن نفروپاتی یا بیماری مرحله پایانی کلیه به بیماران دیابتی به طور معنی‌داری بیشتر شد [۳۵]. علاوه بر این؛ کاهش قابل توجه TAS پلاسمایی بیماران دیابتی در مقایسه با گروه کنترل توسط اودم (Odum) و همکاران نیز مشاهده شد [۳۶]. از این جهت به نظر می‌رسد به هم خوردن تعادل اکسایشی به نفع استرس اکسیداتیو نقش مهمی در بیماری‌زایی دیابت ایفا نماید. در سلول‌های اندوتلیال تولید ROS میتوکندریایی، در پاسخ به افزایش قند خون افزایش می‌یابد. افزایش تولید ROS، منجر به انتقال آن از سلول‌های اپیتلیال توبولی کلیوی به سلول‌های مزانزیال و در نتیجه فیروز شدن ماده بینابینی و آسیب بافتی می‌شود [۳۷].

از جمله یافته‌های مهم تحقیق حاضر افزایش TAS و کاهش TOS بافت کلیه پس از ۶ هفته تمرین منظم شنا یا مصرف مکمل آربوتین در موش‌های دیابتی بود. این موضوع نشان دهنده نقش حمایت کلیوی هر دو شیوه درمانی غیر دارویی تمرین ورزش شنا و استفاده از مکمل آربوتین در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت است که می‌توانند از طریق کاهش استرس اکسایشی و هم به واسطه افزایش سطوح آنتی‌اکسیداتیو بافت کلیه را در شرایط پاتولوژیکی دیابتی

مزمین شنا (۵۱/۵۸ درصد،  $P < 0/001$ ) یا ترکیبی از دو مداخله (۱۱۱ درصد،  $P < 0/001$ ) در موش‌های دیابتی افزایش معنی‌داری یافت. اما با وجود این افزایش، سطوح TAS بافت کلیه گروه‌های دیابت-تمرین و دیابت-آربوتین به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود ( $P < 0/001$ ) و مداخله ترکیبی سطوح TAS بافت کلیه را تا مقادیر گروه کنترل افزایش داد (شکل ۲).



شکل ۲ مقایسه میانگین سطوح TAS بافت کلیه در گروه‌های مختلف؛ # تفاوت معنی‌دار نسبت به تمام گروه‌ها؛ # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل و ترکیبی

علاوه بر این؛ تأثیر هر یک از مداخله‌های ورزش و مکمل تنها، بر سطوح TAS و TOS بافت کلیه مشابه بود (به ترتیب  $P = 0/285$ ،  $P = 0/300$ ). اما مداخله ترکیبی منجر به تغییرات بیشتری در سطوح متغیرهای فوق در مقایسه با هر یک از مداخله‌های تمرین ورزشی و مکمل آربوتین به تنهایی شد ( $P < 0/05$ ). به علاوه؛ مکمل‌گیری آربوتین با افزایش معنی‌دار TAS ( $P < 0/001$ ) و عدم تغییر TOS ( $P > 0/05$ ) بافت کلیه در موش‌های سالم همراه بود.

## بحث

بالا رفتن مزمین قند خون منجر به افزایش استرس اکسیداتیو به‌ویژه در بافت‌هایی می‌شود که عوارض دیابت را توسعه می‌بخشد [۳۲]. استرس اکسیداتیو دلیل اصلی نفروپاتی دیابتی است و هدف اصلی در درمان‌های جدید محسوب می‌شود [۳۳]. بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، القای دیابت

محصولات انتهایی پیشرفته (Advanced glycation end products) در پلاسما و بافت کلیه موش‌های چاق زوکر (Zucker) شد [۴۲]. بنابراین فعالیت ورزشی می‌تواند به واسطه کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب ملازم آن و همچنین دفاع آنتی‌اکسیدانی از بافت کلیه در مقابل آسیب ناشی از دیابت محافظت نماید [۲۲، ۴۰-۴۲].

علاوه بر فعالیت ورزشی هوازی منظم، آزاد استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی یا مصنوعی از دیگر روش‌های مورد استفاده برای حذف و کنترل اکسیدان‌ها و رادیکال‌های است. نتایج یافته‌های قبلی نشان می‌دهد که مصرف سبزیجات و میوه‌های غنی از ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها باعث بالا نگه داشتن سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماران دیابتی می‌شود [۲۴، ۲۵]. پال (Pal) و همکاران نشان دادند ۳۰ روز تیمار موش‌های دیابتی با مالولیک اسید (ماده پلی فنلی با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی موجود در پوست درخت انبه) منجر به کاهش استرس اکسایشی، غیرفعال نمودن مسیرهای پیام رسان التهاب و آپوپتوز (Apoptosis: مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده) در بافت کلیه موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین شد [۴۳]. به علاوه افزایش سطوح کاهش یافته آنتی‌اکسیدان تام پلاسما، کبد و کلیوی موش‌های دیابتی شده با آلوکسان پس از ۲ هفته مکمل‌سازی با سیر تازه توسط محققین دیگر تأیید شده است [۴۴]. همچنین تأثیر حمایتی مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کورکومین (Curcumin) در مقابل نفروپاتی دیابتی [۴۵] و آتلانتیکا پیستاسیا (*Atlantica pistacia*) در موش‌های صحرایی از مسیرهای کاهش استرس اکسایشی و دفاع آنتی‌اکسیدان [۴۶] نیز مشاهده شد. با جمع‌بندی مطالعات مورد بحث و تأثیر آربوتین بر بافت کلیه در تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد که آربوتین نیز مشابه با فعالیت ورزشی ممکن است با تنظیم منفی سایتوکاین‌های پروفیبروتیک (Profibrotic cytokines)، کاهش فعالیت عامل هسته‌ای کاپا B، (*Nuclear factor kappa B*) کاهش فیلتراسیون ماکروفاژها، مهار پروتئین کیناز C و التهاب حاصل از کاهش استرس اکسیداتیو، از آسیب بافت کلیه دیابتی

حمایت نمایند. اگرچه کمبود مرور و بررسی مطالعات قبلی در مورد نقش فعالیت ورزشی بر TAS و TOS بافت کلیه در مدل‌های تجربی و انسانی، یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر نیز هست ولی برتری ویژه و مهم اندازه‌گیری TOS، تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از تمامی آنتی‌اکسیدان‌ها در یک نمونه زیستی است نه فقط ظرفیت آنتی‌اکسیدانی یک ترکیب خاص [۳۸]. در مطالعات قبلی محققان حاضر نیز گزارش شد که ۶ هفته تمرین شنا، استفاده از مکمل آربوتین با کاهش سطوح پراکسیدلسیون لپیدی و افزایش سطوح آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز (*Superoxide dismutase*) در بافت کلیه موش‌های دیابتی شده با آلوکسان همراه بود [۲۲]. به علاوه؛ گوش (Ghosh) و همکاران نیز نشان دادند ۷ هفته تمرین با شدت متوسط منجر به افزایش بیان سوپراکسید دیسموتاز و کاهش پراکسیداسیون لپید (هیدروپراکسیدازها) و پروتئین (کرپیل‌ها و نیتروتیروزین) در موش‌های کوچک دیابتی می‌شود [۳۹]. همچنین کاهش شاخص التهاب عامل جذب منوسیت کلیوی و استرس اکسایشی ۸- هیدروکسی دی اکسی گوانوزین متعاقب ۸ هفته فعالیت با شدت کم (ورزش با سرعت ۵ متر/دقیقه، ۶۰ دقیقه و ۳ جلسه در هفته) یا متوسط (ورزش با سرعت ۱۰ متر/دقیقه، ۳۰ دقیقه و ۳ جلسه در هفته) در یک مدل تجربی نفروپاتی دیابتی ذاتی در موش‌های کوچک KK-Ay توسط ایزهیکاوا (Ishikawa) و همکاران تأیید شد [۴۰]. فرزانی و همکاران نیز نشان دادند که ۸ هفته تمرینات منظم هوازی منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش استرس اکسیداتیو بافت کلیه و طحال در موش‌های در معرض آلودگی سرب می‌شود [۴۱]. اگرچه مکانیسم‌های متعددی در مورد آثار حمایت کلیوی فعالیت ورزشی در دیابت مطرح است ولی در کل مشاهده شد که فعالیت ورزشی می‌تواند با بهبود عوامل متابولیکی مانند سطوح لپیدی پلاسما، گلوکز خون و فشارخون منجر به بهبود عملکرد کلیه شود [۴۰]. بور (Boor) و همکاران نشان دادند که فعالیت ورزشی منجر به کاهش

غیر دارویی تمرین شنا و یا مکمل آنتی‌اکسیدانی آربوتین با آثار حمایتی در برابر آسیب استرس اکسیداتیو کلیوی همراه است که بخشی از این آثار حداقل می‌تواند به علت افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام باشد. به علاوه آثار ترکیبی این دو مداخله در مقابل آسیب استرس اکسیداتیو کلیوی ناشی از دیابت در مقایسه با هر یک از این دو شیوه درمانی به تنهایی مؤثرتر بود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه عزیزانی که در تمام مراحل اجرای تحقیق همکاری داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

حمایت نماید [۴۵، ۴۶]. همان‌طور که در یافته‌های تحقیق حاضر نیز مشاهده شد تأثیر ترکیبی دو مداخله فعالیت ورزشی و مصرف آربوتین با تنظیم مثبت سطوح TAS بافت کلیه موش‌های دیابتی تا سطوح نزدیک گروه کنترل و تعدیل سطوح TOS کلیوی همراه بود که بیان‌گر تأثیرات هم‌افزایی فعالیت ورزشی شنا و آنتی‌اکسیدان آربوتین است؛ این در حالی بود که هر یک از مداخله‌ها به تنهایی منجر به تعدیل سطوح TAS و TOS بافت کلیه در موش‌های دیابتی نشدند.

بر اساس نتایج یافته‌های پژوهش، دیابت می‌تواند از طریق افزایش معنی‌دار در وضعیت اکسیدانی تام بافت کلیه منجر به القای استرس اکسیداتیو کلیوی شود و به‌کارگیری شیوه‌های

### منابع

- [1] Zhang X, Chen C. A new insight of mechanisms, diagnosis and treatment of diabetic cardiomyopathy. *Endocrine* 2012; 41(3): 398-409.
- [2] Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006; 12(7): R130-47.
- [3] Esteghamati AR, Zarban A, Doosti M. Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in type II Diabetes mellitus. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2001; 3 (4) :239-45.
- [4] Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405-12.
- [5] Ohkubo Y, Kishikawa H, Araki E, Miyata T, Isami S, Motoyoshi S, Kojima Y, Furuyoshi N, Shichiri M. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 28(2): 103-17.
- [6] Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405-12.
- [7] Radak Z. Free radicals in exercise and aging. 1<sup>st</sup> edition, Budapest, Hungary: Human Kinetics, 2000.
- [8] Zamburi V, Kalantari S, Sharifi F. The effects of triple-therapy in metabolic control of patients suffering from type 2 diabetic mellitus (DM). *ZUMS Journal* 2007; 15(60): 17-26.
- [9] Ozbek E. Induction of oxidative stress in kidney. *Int J Nephrol* 2012; 2012: 465897
- [10] Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes* 2008; 57(6): 1446-54.
- [11] Signorini AM, Fondelli C, Renzoni E, Puccetti



- C, Gagnoli G, Giorgi G. Antioxidant effect of gliclazide, glibenclamide and metformin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Current Therapeutic Research* 2002; 63(7): 411-20.
- [12] Sen CK, Rankinen T, Väisänen S, Rauramaa R. Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *J Appl Physiol* (1985) 1994; 76(6): 2570-7.
- [13] Jakus V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy* 2000; 101(10): 541-51.
- [14] van Dam PS, Bravenboer B, van Asbeck BS, van Oirschot JF, Marx JJ, Gispen WH. Effects of insulin treatment on endoneurial and systemic oxidative stress in relation to nerve conduction in streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Clin Invest* 1996; 26(12): 1143-9.
- [15] Aksoy L, Kolay E, Ağılönü Y, Aslan Z, Kargıoğlu M. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. *Saudi J Biol Sci* 2013; 20(3): 235-9.
- [16] Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J* 2010; 55(1): 70-8.
- [17] Lovasova E, Sestakova E. Total antioxidant status – a possible marker of environmental influences on animal organisms. *Slovak J Anim Sci* 2009; 42(Suppl 1): 42-5.
- [18] Gul A, Rahman MA. Antioxidant status in diabetic and non-diabetic senile patients, with cataract or cardiovascular complications. *Saudi Med J* 2008; 29(2): 179-84.
- [19] Dosoo DK, Rana SV, Offe-Amoyaw K, Tete-Donkor D, Maddy SQ. Total antioxidant status in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients in Ghana. *West Afr J Med* 2001; 20(3): 184-6.
- [20] Valabhji J, McColl AJ, Richmond W, Schachter M, Rubens MB, Elkeles RS. Total antioxidant status and coronary artery calcification in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24(9): 1608-13.
- [21] Packer L, Rosen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A. Oxidative stress and antioxidants: The antioxidant network,  $\alpha$ -lipoic acid and diabetes. In: Packer L. *Antioxidants in diabetes management*. 1st ed. Basel, Switzerland: Marcel Dekker Inc 2000; p: 1-15.
- [22] Habibian M, Farzanegi P, Azimi G. Therapeutic effect of swimming training and arbutin supplement on diabetes-induced renal oxidative stress. *Daneshvar (Medicine) Shahed University* 2014; 22(114): 13-21. (Persian)
- [23] Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(5): 1081-7.
- [24] Cao G, Russell RM, Lischner N, Prior RL. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *J Nutr* 1998; 128(12): 2383-90.
- [25] Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milosa M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil.

- Food Chemistry 2004; 85: 633-40.
- [26] Ioku K, Terao J, Nakatani N. Antioxidative Activity of Arbutin in a Solution and Liposomal Suspension. *Biosci Biotech Biochem* 1992; 56(10): 1658-9.
- [27] Ramprasath T, Kumar PH, Puhari SS, Murugan PS, Vasudevan V, Selvam GS. L-Arginine ameliorates cardiac left ventricular oxidative stress by upregulating eNOS and Nrf2 target genes in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 428(3): 389-94
- [28] Matsuda H, Nakata H, Tanaka T, Kubo M. Pharmacological study on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. II. Combined effects of arbutin and prednisolone or dexamethazone on immuno-inflammation. *Yakugaku Zasshi* 1990; 110(1): 68-76.
- [29] Lunz W, Peluzio MC, Dias CM, Moreira AP, Natali AJ. Long-term aerobic swimming training by rats reduces the number of aberrant crypt foci in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Braz J Med Biol Res* 2008; 41(11): 1000-4.
- [30] Monazzami A, Rajabi H, Omidfar K, Mostafaie A. Endurance training increases skeletal muscle NA/H<sup>+</sup> exchanger1 (NHE1) and NA/HCO<sub>3</sub> co-transporter1 (NBC1) gene expressions in type2 diabetic rat. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2014; 13(5): 400-12. (Persian)
- [31] Cesur G, Atay E, Ogut S, Polat M, Ongel K. Effect of indoor climbing exercise on plasma oxidative stress, hematologic parameters and heart rate responses in sedentary individuals. *Biomed Res-India* 2012; 23(4): 566-70.
- [32] Memisoğullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(3): 291-6.
- [33] Keshari KR, Wilson DM, Sai V, Bok R, Jen KY, Larson P, Van Criekeing M, Kurhanewicz J, Wang ZJ. Noninvasive in vivo imaging of diabetes-induced renal oxidative stress and response to therapy using hyperpolarized <sup>13</sup>C dehydroascorbate magnetic resonance. *Diabetes* 2015; 64(2): 344-52.
- [34] Çelık VK, Şahın ZD, Sari İ, Bakir S. Comparison of oxidant/antioxidant, detoxification systems in various tissue homogenates and mitochondria of rats with diabetes induced by streptozocin. *Exp Diabetes Res* 2012; 2012: 386831.
- [35] Verma AK, Chandra S, Singh RG, Singh TB, Srivastava S, Srivastava R. Serum prolidase activity and oxidative stress in diabetic nephropathy and end stage renal disease: a correlative study with glucose and creatinine. *Biochem Res Int* 2014; 2014: 291458.
- [36] Odum EP, Ejilemele AA, Wakwe VC. Antioxidant status of type 2 diabetic patients in Port Harcourt, Nigeria. *Niger J Clin Pract* 2012; 15(1): 55-8.
- [37] Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev* 2004; 25(4): 612-28.
- [38] Kusano C, Ferrari B. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *J Cell Mol Biol* 2008; 7: 1-5.
- [39] Ghosh S, Khazaei M, Moien-Afshari F, Ang LS, Granville DJ, Verchere CB, Dunn SR, McCue P, Mizisin A, Sharma K, Laher I. Moderate

- exercise attenuates caspase-3 activity, oxidative stress, and inhibits progression of diabetic renal disease in db/db mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296(4): F700-8.
- [40] Ishikawa Y, Gohda T, Tanimoto M, Omote K, Furukawa M, Yamaguchi S, Murakoshi M, Hagiwara S, Horikoshi S, Funabiki K, Tomino Y. Effect of exercise on kidney function, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetic KK-A(y) Mice. *Exp Diabetes Res* 2012; 2012: 702948.
- [41] Farzanegi P, Saberi S, Fakharian A, Rasaei MJ, Dabidi Roshan V. Combined Effects of Curcuma longa and Exercise Training on Kidney and Spleen Tissue Levels of Glutathione Peroxidase and Protein Carbonyl in Rats Exposed to Lead. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology* 2012; 15(3): 49-62.
- [42] Boor P, Celec P, Behuliak M, Grancic P, Kebis A, Kukan M, Pronayová N, Liptaj T, Ostendorf T, Sebeková K. Regular moderate exercise reduces advanced glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese Zucker rats. *Metabolism* 2009; 58(11): 1669-77.
- [43] Pal PB, Sinha K1, Sil PC1. Mangiferin attenuates diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress mediated signaling cascade, TNF $\alpha$  related and mitochondrial dependent apoptotic pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *PLoS One* 2014; 9(9): e107220.
- [44] Mohandas R, Paramesha S, Suchetha Kumari N, Damodara Gowda KM, VidhyaGG. Effect of garlic on total antioxidants in alloxan induced diabetes rats. *IJBAR* 2011; 2(9): 317-28.
- [45] Trujillo J, Chirino YI, Molina-Jijón E, Andérica-Romero AC, Tapia E, Pedraza-Chaverri J. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings. *Redox Biol* 2013; 1: 448-56.
- [46] Farzanegi P, Mousavi M, Ghanbari-Niaki A. Effect of Pistacia atlantica extract on glutathione peroxidase tissue levels and total oxidative capacity of liver and plasma lipid profile of rats. *ZJRMS* 2013; 15(11): 59-63.