مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی بیست و چهارم، شماره‌ی ۳، صفحه‌های ۱۹۵ ـ ۱۸۸ (مرداد ـ شهریور ۱۴۰۱)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر هفت هفته تمرین هوازی و مکمل یاری با پیپرین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت مغز موش‌های صحرایی نر مواجه شده با پارکوات

سید میلاد اسدی فریزی[۱]، دکتر کیوان حجازی[۱]، دکتر وحیدرضا عسکری[۲]، دکتر امیرحسین حقیقی[۱]

۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران، ۲) مرکز بین‌المللی یونسکو علوم پایه پزشکی و تغذیه انسانی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران، **نشانی مکاتبه با نویسنده‌ی مسئول**: خراسان رضوی، سبزوار، توحید شهر، پردیس دانشگاه حکیم سبزواری، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزولوژی ورزشی، کدپستی:۹۶۱۷۹۷۶۴۸۷ ، دکتر کیوان حجازی: e-mail: k.hejazi@hsu.ac.ir

چکیده

مقدمه: سم پاراکوات باعث استرس اکسیداتیو و آپوپتوز می‌شود. هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر هفت هفته تمرین هوازی و مکمل‌یاری با پیپرین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو مغزی؛ در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار؛ مواجهه یافته با پاراکوات بود. مواد و روش‌ها: تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر به شش گروه مساوی شامل: ۱) شم، ۲) پاراکوات (شاهد منفی)، ۳) پاراکوات+تمرین، ۴) پاراکوات+تمرین+پیپرین، ۵) پاراکوات+ پیپرین و ۶) پاراکوات+ویتامین E، تقسیم شدند. تمرین هوازی شامل دویدن روی نوارگردان به مدت هفت هفته بود که پنج جلسه در هفته و هر جلسه به مدت ۳۰ الی ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۰ تا ۱۸ متر در دقیقه اجرا شد. پاراکوات به میزان ۵ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن، سه بار در هفته به صورت درون صفاقی تزریق شد. مکمل پیپرین به مقدار۱۰ میلی‌گرم و ویتامین E به مقدار۲۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن، بصورت روزانه؛ به حیوانات خورانده شد. شاخص‌های استرس اکسیداتیو، شامل سطوح مالون‌دی‌آلدئید، گلوتاتیون در نمونه‌های جدا شده ازبافت هیپوکامپ مغز اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گروه شاهد منفی (۲/۲۰±۰/۲۴) در مقایسه با گروه‌های شم (۰/۵۴±۰/۱۶)، پاراکوات+تمرین (۱/۶۴±۰/۲۵)، پاراکوات+پیپرین (۱/۵۷±۰/۲۴) و پاراکوات+تمرین+پیپرین (۱/۱۶±۰/۱۸) و پاراکوات+ویتامینE (۱/۴۳±۰/۱۵)، بصورت معنی‌دار بیشتر بود (P<۰/۰۰۱). غلظت گلوتاتیون در گروه شاهد منفی (۱/۳۶±۰/۲۰) بصورت معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) کمتر از سایر گروه‌ها بود (شم (۳/۵۹±۰/۶۵)، پاراکوات+تمرین (۱/۹۴±۰/۲۵)، پاراکوات+پیپرین (۲/۲۸±۰/۳۴) و پاراکوات+تمرین+پیپرین (۳/۲۰±۰/۳۹) و پاراکوات+ویتامینE (۲/۰۸±۰/۳۱)). نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌ها، استفاده از تمرین به تنهایی و همراه با مکمل پیپرین می‌تواند راهبرد جدیدی برای پیشگیری از اثرات سمی پاراکوات بر بافت عصبی باشد

واژگان کلیدی: پاراکوات، پیپرین، تمرین هوازی، مالون‌دی‌آلدئید، گلوتاتیون

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۹/۲۰ـ دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۱/۱۲/۱ ـ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۲

مقدمه

پارکوات[i] (PQ) به عنوان یک ترکیب پیریدین به طور وسیع جهت کنترل رشد علف‌های هرز یک ساله مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده برای انسان و حیوانات بسیار سمی است و گزارش‌های زیادی در خصوص بیماری یا مرگ پس از تماس با این ماده وجود دارد.[۱،۲] پاراکوات در انسان پس از جذب از راه خوراکی، به دلیل انتشارپذیری بالا، به تمام ارگان‌های مهم بدن و به ویژه دستگاه عصبی مرکزی و محیطی به‌عنوان اندام هدف انتقال می‌یابد.[۳] از سمیت PQ در موش صحرایی برای القای مدل حیوانی پارکینسون و

i- Paraquat

بررسی عوارض تخریب بافت عصبی استفاده می شود.[۴] هرچند سازوکار مسئول سمیت ناشی از پاراکوات به وضوح مشخص نیست، بیشتر شواهد حاکی از این است که این آسیب ممکن است با پراکسیداسیون چربی و تولید رادیکال-های آزاد مرتبط باشد.[۵] سم PQ منجربه تغییراتی در شاخص‌های استرس اکسیداتیو می‌شود.[۶،۷] استرس اکسیداتیو ناشی از PQ می‌تواند باعث تغییرات مخرب در بافت دستگاه عصبی گردد. احتمال می‌دهند که پاراکوات یک محرک قوی در تشکیل آنیون‌های سوپراکسید باشد.[۸]

یکی از راه‌کارها و شیوه‌های اساسی در بهبود واکنش‌های اکسایشی در بدن، اجرای تمرین ورزشی و استفاده از رژیم غذایی است. اثرات مطلوب ورزش منظم تا حدودی ناشی از افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح استرس اکسیداتیو است که متعاقباً منجر به حفظ تعادل ردوکس و هموستاز سلولی می‌شود.[۹] در واقع مشخص شده است که ورزش منظم باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیدان‌ها می‌شود.[۱۰] تمرین‌های منظم ورزشی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز[i]، کاتالاز[ii] و گلوتاتیون[iii] می‌شوند.[۱۳] با توجه به عوارض ناخواسته رادیکال‌های آزاد، حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ضروری به نظر می‌رسد. از جمله مواد طبیعی حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی، می‌توان به ویتامین E، C، بتاکاروتن[iv]،[۱۵] گلوتاتیون[۱۶] و پیپرین[v] [۱۷] اشاره کرد. از این‌رو، کمبود ویتامین E در حیوانات باعث ایجاد مسمومیت حاد با پاراکوات می‌شود و هم‌چنین بروز آسیب حاد به بافت ریه می‌شود. علاوه بر این، نشان داده شده است که تقویت سمیت حاد پاراکوات توسط کمبود ویتامین E؛ با تجویز ویتامین E معکوس می‌گردد. اگرچه سازوکار محافظت ویتامین E در برابر سمیت پاراکوات شناخته نشده است، اما ممکن است به خواص آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داده شود.[۵] پیپرین یک ترکیب آلکالوئید است که از میوه گیاه فلفل سیاه استخراج می‌شود و دارای اثرات تعدیل‌کننده ایمنی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطان می‌باشد.[۱۸،۱۹] در زمان مسمویت با سم پاراکوات، سطوح استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد، و یکی از راه های مهار فرایند التهابی و استرس اکسیداتیو استفاده از پیپرین می باشد که می‌تواند نقش مناسبی برای پیشگیری از اثرات التهابی سم پاراکوات داشته باشد. بنابراین با توجه به اثرات زیانبار پاراکوات بر بافت‌های بدن و نیز استفاده وسیع از این علف کش در سال‌های اخیر در کشور، نیاز به مطالعه در مورد سازوکارهای مولکولی ایجاد سمیت و تغییرات بیماری شناختی بافتی پاراکوات در بافت‌های مختلف، از جمله دستگاه عصبی را بیشتر کرده است. هم‌چنین، در تحقیقات محدودی به بررسی هم‌زمان چندین گروه؛ از جمله ترکیب پاراکوات همراه با ویتامین E به عنوان گروه شاهد مثبت و مقایسه آن با گروه‌های تمرین و مکمل پیپرین صورت گرفته است. با وجود این بررسی‌ها، پژوهشی در مورد تاثیر فعالیت منظم بدنی به همراه مصرف مکمل پیپرین و اثر تعاملی این دو بر سطح شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در هیپوکامپ موش‌های صحرایی مواجهه یافته با سم پاراکوات مشاهده نشده است. از این رو هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر هفت هفته تمرین هوازی و مکمل یاری با پیپرین بر شاخص‌های مالون دی آلدئید و گلوتاتیون دستگاه عصبی ناشی از القای پاراکوات در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها

تیمار حیوانات

تحقیق حاضر از نوع بنیادی-کاربردی و روش تجربی با طرح پس آزمون است. جامعه آماری مطالعه حاضر را موش‌های نر نژاد ویستار تشکیل می‌دادند که از میان آن‌ها، تعداد ٤٨ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سالم (هشت هفته و با میانگین وزن ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم) استفاده شد. این حیوانات از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد در سال ۱٤۰۰ خریداری و در همان محل تیمار و نگه‌داری شدند. هر ٤ سر موش صحرایی در یک قفس از جنس پلکسی گلاس با درب توری به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ٤۳ سانتی‌متر قرار گرفته و در شرایط کنترل شده؛ در محیطی با میانگین دما ۲۲ تا ۲٤ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٤۷ تا ۵۳ درصد، نور با چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص جوندگان آزمایشگاهی نگه‌داری شدند. هم‌چنین قفس موش‌ها هفته‌ای سه بار تمیز و تمام خاک اره‌های آن تعویض شد. حیوانات پس از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه به طور تصادفی ساده به شش گروه ۸ تایی تقسیم شدند: ۱) گروه شم، ۲) گروه پاراکوات

i - Superoxide Dismutase
ii -Catalase
iii - Glutathione
iv - Beta-carotene
v -Piperine

(شاهد منفی)، ۳) گروه پاراکوات + تمرین، ٤) گروه پاراکوات + تمرین+ پیپرین، ٥) گروه پاراکوات + مکمل پیپرین و ٦) پاراکوات + ویتامین E. گروه شم در طول مطالعه فعالیت خاصی نداشتند و تنها به منظور یکسان نمودن استرس حاصل از گاواژ، معادل حجم عصاره پیپرین، روغن ذرت را بصورت گاواژ دریافت کردند. در این شیوه ابتدا به هر موش صحرایی یک شماره اختصاص داده شد، شماره‌ها بر روی یک کاغذ نوشته و در داخل جعبه قرار داده شد. سپس کاغذها به طور تک‌تک خارج شدند تا زمانی که حجم نمونه مورد نظر کامل شد. لازم به ذکر است در کلیه مراحل تحقیق، اصول بیانیه هلسینکی و نظرات کمیته اخلاق در پژوهش رعایت شد. هم‌چنین مراحل مربوط به آزمایشها در کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی در دانشکده علوم پزشکی سبزوار با کد IR.HSU.REC.1400.016 تصویب گردید.

تجویز پاراکوات

در این پژوهش مقدار پاراکوات تجویز شده به میزان ٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم (وزن حیوان) با خلوص ۲۰٪ تهیه شد و به صورت داخل صفاقی، یک روز در میان (سه روز در هفته) به موش‌های صحرایی تزریق شد.[۲۰ ۲۱]

نحوه مصرف مکمل پیپرین و ویتامین E

در این پژوهش مکمل پیپرین به مقدار ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (وزن حیوان) و ویتامین E به مقدار ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (وزن حیوان)، هر روز یک ساعت قبل از آغاز تمرین گاواژ شد. پیپرین و ویتامین E بصورت محلول در روغن ذرت مصرف شد و حیوانات در گروه شم همان حجم از روغن ذرت را دریافت کردند.[۲۲]

مرحله آشنایی و تمرین هوازی

مرحله آشنایی با نوارگردان (هفته اول): در این مرحله موش‌ها به مدت ٥ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه با شیب صفر درجه روی نوارگردان ٤ کاناله ویژه جوندگان (ساخت کشور ایران، گروه تولیدی تجهیز گستر ایرانیان، دارای قابلیت تنظیم شیب دستگاه؛ قابلیت تنظیم چندین برنامه متوالی با سرعت و شیب مختلف؛ مجهز به شوک و شتاب برای هر برنامه مجزا) به صورت پنج روز متوالی راه رفتند. زمان شروع تمرین بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح در هر روز بود. آزمون (هفته دوم و تا پایان هفته هفتم): در این مرحله سرعت تردمیل و مدت تمرین به تدریج افزایش یافت؛ به طوری که زمان دویدن گروه تمرین روی تریدمیل به ۳۰ الی ٤۰ دقیقه در روز با سرعت ۱۰ تا ۱۸ متر در دقیقه رسید. پس از اتمام برنامه تمرینی، به منظور اجرای سرد کردن، سرعت دستگاه به طور معکوس کاهش داده شد تا سرعت دستگاه به صفر برسد.[۲۳]

نمونه‌برداری متغیرها

بعد از ٤۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین و ۱۲ ساعت ناشتا، موش‌های تمام گروه‌ها جهت تشریح و نمونه‌برداری به آزمایشگاه دانشکده علوم پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند. در وهله نخست، حیوانات در فضای ویژه نمونه‌برداری با ترکیبی از کلرال هیدرات (١٤ گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) محلول در ۱۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک؛ با تزریق درون صفاقی به موش‌های صحرایی بیهوش شدند. پس از تایید بیهوشی توسط عدم عقب کشیدن پا در پاسخ به فشار، سر حیوان جهت بافت‌برداری از بافت هیپوکامپ مغز جدا گردید. بافت هیپوکامپ مغز به میکروتیوپ ۱/٥ میلی‌لیتری منتقل و بلافاصله به فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. برای اندازه‌گیری مقدار گلوتاتیون از روش برادفورد و برای سنجش مقدار مالون‌دی‌آلدئید از روش تیوباربیتوریک اسید[i] استفاده شد. برای این منظور از کیت‌های الایزا[ii] شرکت مای بیوسورس (ساخت ایالات متحده امریکا)، به ترتیب برای مالون دی آلدئید با حساسیت ۸/۸٤> نانوگرم برمیلی‌لیتر و گلوتاتیون ۰/۱ میلی‌مول بر لیتر بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در پایان، داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ تجزیه و تحلیل شدند. پس از تائید نرمال بودن توزیع نظری داده‌ها با استفاده از آزمون آماری شاپیروویلک[iii] و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لون، برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها از آمار استنباطی آنالیز واریانس یکطرفه برای متغیرهای مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون، استفاده شد. برای مقایسه تغییرات واریانس بین گروهی از آزمون دانت T3 استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰٥ در نظر گرفته شد.

i- Thiobarbituric Acid Reactive Substances
ii - ELISA
iii -Shapiro–Wilk

یافته‌ها

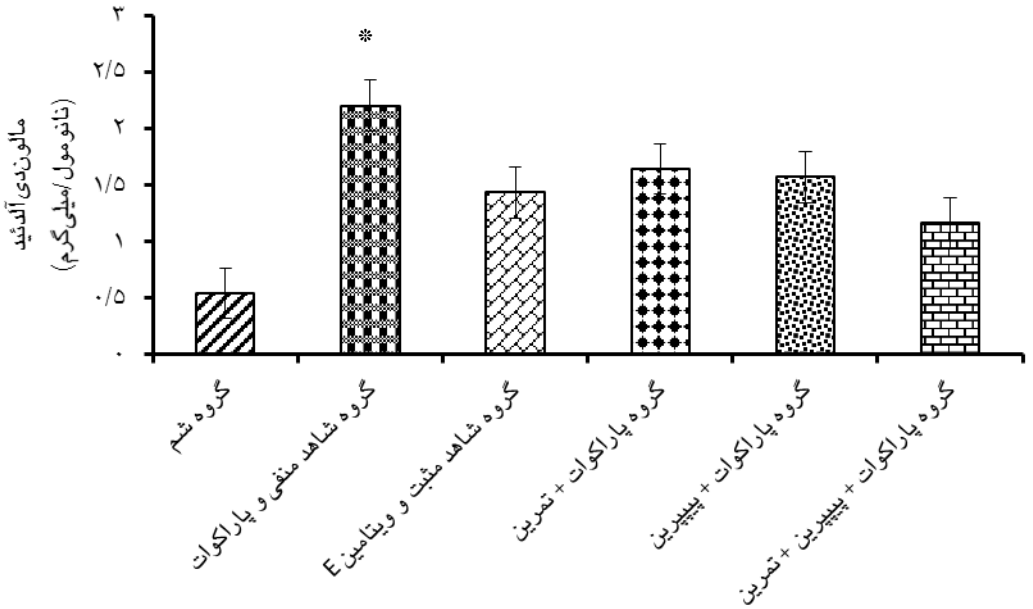
اثر تمرین هوازی و پیپرین بر وزن بدن موش‌های صحرایی مواجه شده با پاراکوات

براساس نتایج جدول ۱ در این پژوهش، تفاوت معنی‌داری بر تغییرات وزن حیوانات بین گروه‌های مختلف وجود دارد (P< ۰/۰۰۱).

جدول ۱- مقایسه تغییرات وزن بین گروه‌ها

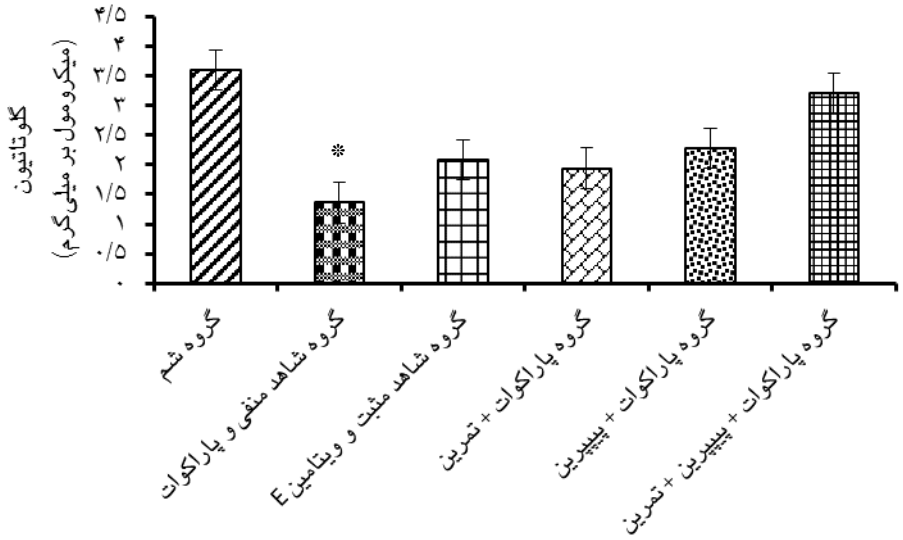
گروه‌ها	وزن (گرم)	مقایسه بین گروه‌ها	
	انحراف معیار ± میانگین	مقدار F	سطح معناداری*
شم	۳۲۶/۷۵±۲۷/۴۷		
شاهد منفی–پاراکوات	۲۸۷/۸۳±۱۴/۴۹		
پاراکوات + مکمل پیپرین	۲۸۶/۳۷±۳۰/۵۵	۳/۴۴	۰/۰۱†
پاراکوات + تمرین+ پیپرین	۳۱۲/۱۴±۲۰/۳۱		
پاراکوات + تمرین	۲۷۷/۱۶±۳۴/۱۱		
کنترل مثبت پاراکوات + ویتامین E	**۳۰۹/۸۵±۳۰/۹۳**		

* سطح معناداری پذیرفته شده P<۰/۰۵



نمودار ۱- تغییرات غلظت مالون دی آلدئید بافت هیپوکامپ مغز در گروه‌های مختلف

* تغییرات بین گروهی گروه شاهد منفی نسبت به گروه‌های دیگر؛ اختلاف معناداری در سطح P<۰/۰۵



نمودار ۲- تغییرات غلظت گلوتاتیون بافت هیپوکامپ مغز در گروه‌های مختلف

* تغییرات بین گروهی گروه شاهد منفی نسبت به گروه های دیگر؛ اختلاف معناداری در سطح P<۰/۰۵

اثر تمرین هوازی و پیپرین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو موش‌های صحرایی القاء شده با پاراکوات

نتایج حاصل از مقایسه‌ی میانگین‌ها بین گروه‌های مختلف (شاهد مثبت پاراکوات + ویتامین E، پاراکوات + مکمل پیپرین، پاراکوات + تمرین+ پیپرین، پاراکوات + تمرین، شاهد منفی–پاراکوات و شم)، نشان داد که تغییرات بین گروهی مالون‌دی‌آلدئید (۴۰/۲۷ -F و p=۰/۰۰۱) و گلوتاتیون (۲۷/۴۵ -F و p=۰/۰۰۱) بافت هیپوکامپ مغز به لحاظ آماری معنادار است. براساس نتایج آزمون تعقیبی دانت T3 تفاوت بین گروهی میانگین‌های غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت هیپوکامپ مغز در بین دو گروه شاهد منفی–پاراکوات با شاهد مثبت پاراکوات + ویتامین E (p=۰/۰۰۱)، پاراکوات + مکمل پیپرین (p=۰/۰۰۱)، پاراکوات + تمرین+ پیپرین (p=۰/۰۰۱)، پاراکوات + تمرین (p=۰/۰۰۱) و شم (p=۰/۰۰۱) معنادار بود. هم‌چنین، تفاوت بین گروهی میانگین‌های غلظت گلوتاتیون بافت هیپوکامپ مغز در بین دو گروه شاهد منفی–پاراکوات با شاهد مثبت پاراکوات + ویتامین E (p=۰/۰۰۱)، پاراکوات + مکمل پیپرین (p=۰/۰۰۱)، پاراکوات + تمرین+ پیپرین (p=۰/۰۰۱)، پاراکوات + تمرین (p=۰/۰۰۱) و شم (p=۰/۰۰۱) معنادار بود.

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد، سطوح مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون بافت هیپوکامپ مغزی در گروه شاهد منفی–پاراکوات نسبت به گروه‌های شاهد مثبت پاراکوات + ویتامین E، پاراکوات + مکمل پیپرین، پاراکوات + تمرین+ پیپرین، پاراکوات + تمرین و شم به ترتیب افزایش و کاهش معنی‌داری داشت. نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر با یافته‌های خدایار و همکاران (۲۰۱۴) و استیوتینگ[i] و همکاران (۲۰۰۶) هم‌خوانی دارد؛[۲۵،۲۶] در صورتی‌که با یافته‌های ابراهیم و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی ندارد.[۲۷] خدایار و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی تاثیر پاراکوات با مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوانات؛ در ۳۰ سر موش صحرایی ماده هشت هفته‌ای به وزن ۲۵±۲۰۰ گرم، به این نتیجه رسیدند که افزایش قابل توجهی در سطوح مالون دی آلدئید در سرم موش‌های صحرایی در معرض پاراکوات در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت.[۲۵] استیوتینگ و همکاران (۲۰۰۶) به بررسی اثر N- استیل--l سیستئین در مسمومیت با پاراکوات بر سطوح شاخص‌های استرس اکسیداتیو التهابی در ۲۰ موش صحرایی ویستار پرداختند و

i – Steve Ting

به این نتیجه رسیدند که درمان استیل سیستئین N [i] به طور قابل توجهی احتمال بقا در موش‌های مسموم شده با پاراکوات را افزایش می‌دهد. هم‌چنین، می‌تواند سطح مالون‌دی‌آلدئید سرم و تولید آنیون‌های سوپراکسید را سرکوب کند و برعکس، غلظت گلوتاتیون را در تمام بافت‌های مورد مطالعه به طور قابل توجهی افزایش دهد.[۲۶] در مقابل، ابراهیم و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی اثرات محافظت نورونی عصاره استات اتیل Z[ii] در برابر افزایش نشانگرهای استرس اکسیداتیو ناشی از پاراکوات در ۴۰ سر موش صحرایی نر اسپارگ دالی پرداختند. نتیجه به دست آمده این بود که تجویز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره استات اتیل Z به گروه‌های تحت درمان با پاراکوات منجربه کاهش سطح مالون دی آلدئید, و افزایش گلوتاتیون و فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شد.[۲۷] سازوکار بیوشیمیایی سمیت پاراکوات نشان داد که تخلیه بدن از نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات[iii] باعث افزایش تولید آنیون سوپر اکساید و ترکیبات مشابه مانند پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل شده می‌گردد و این مواد؛ به ویژه رادیکال‌های هیدروکسیل، موجب آسیب بافتی خواهند شد.[۲۸] در سازوکارهای مبتنی بر سمیت پاراکوات تولید رادیکال آزاد صورت می‌پذیرد که منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود. به طوری‌که بین ساختار رادیکال آزاد اکسیژن و سیستم آنتی‌اکسیدانی تعادل برقرار نمی‌شود. واکنش رادیکال آزاد اکسیژن با اسیدهای چرب اشباع نشده، منجربه تولید متابولیت‌های سمی آلدئیدی؛ مثل مالون دی آلدئید که محصول نهایی پرکسیداسیون لیپید است، می‌شود. پرکسیداسیون لیپید در سلول‌ها مهم‌ترین مرحله از سمیت پاراکوات در پستانداران محسوب می‌شود و باعث افزایش مالون‌دی‌آلدئید می‌گردد.[۲۹] در مطالعه حاضر، تجویز مکرر پاراکوات، هموستاز پرواکسیداتیو/آنتی‌اکسیداتیو را مختل کرد و از طریق تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد و کاهش در محتوای گلوتاتیون و سطح آنزیم آنتی‌اکسیدان در مغز میانی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شد.[۳۰،۳۱] براساس مطالعات صورت گرفته، تزریق مکرر پاراکوات (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، دو بار در هفته به مدت ٦ هفته (۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، افزایش چشمگیر تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش قابل توجه سطح گلوتاتیون در مغز میانی موش‌ها را در پی دارد. هم‌چنین پاراکوات به طور قابل توجهی محتوای کل گلوتاتیون را در جسم مخطط، هیپوکامپ و قشر مغز در موش‌ها را کاهش می‌دهد.[۳۲] مطالعات قبلی نشان داده است که پاراکوات نه تنها می‌تواند از طریق انتقال‌دهنده‌های اسید آمینه خنثی به سد خونی-مغزی نفوذ کند، بلکه می‌تواند به سیستم دوپامینرژیک نیگروستریاتال[iv] نیز آسیب برساند. اگرچه سازوکار سمیت عصبی پاراکوات به خوبی شناخته نشده است، اما پاراکوات از طریق استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی به ماده سیاه مغز آسیب می‌رساند و سپس می‌تواند باعث مرگ سلول‌های عصبی شود.[۳۳،۳٤] نتایج این مطالعه نشان داد در گروه تمرین به تنهایی و تمرین همراه با مکمل پیپرین نسبت به گروه شاهد منفی، سطوح مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری یافت. تحقیقات نشان داده است که تمرین هوازی و مکمل پیپرین نقش محافظتی در برابر افزایش سطح سوپراکسید و حفظ سطوح گلوتاتیون در حالت کاهش یافته بازی می‌کند.[۳۵،۳٦] در این پژوهش افزودن مکمل آنتی‌اکسیدانی توانست توانایی سیستم دفاعی بدن را برای مقابله با استرس اکسیداتیو افزایش دهد و ضمن پائین ماندن شاخص‌های استرس اکسیداتیو، شاهد بالا باقی ماندن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان نیز بودیم. ملکول‌های آنتی‌اکسیدان قادر به پاکسازی رادیکال‌های آزاد هستند. بنابراین مصرف رژیم غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدانی را افزایش و حفظ نماید. تاکنون فواید مواد آنتی‌اکسیدانی در پیشگیری از کاهش آسیب مغزی به اثبات رسیده است. علاوه بر این آنتی‌اکسیدان‌ها جلوی عمل رادیکال‌های آزاد را گرفته و آن‌ها را خنثی می‌کنند. لذا تامین ذخایر آنتی‌اکسیدان، به منظور کاهش آثار تنش اکسایشی، امری مهم تلقی می‌شود.[۱٤] پیپرین می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو شود و سیستم آنتی‌اکسیدانی، که وظیفه مقابله با اثرات مخرب اکسیدان‌ها را بر عهده دارد، کاهش دهد.[۳۷]

از جمله محدودیت‌های این مطالعه، مرگ و میر تعدادی از موش‌ها در بعضی از گروه‌ها و کاهش در حجم نمونه بود. هم‌چنین عدم امکان اندازه‌گیری میزان شاخص‌های استرس

i -N-acetyl Cysteine

ii- Ethyl Acetate Z

iii- Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

iv -Nigrostriatal Dopaminergic System

اکسیداتیو قبل از شروع برنامه تمرینی نیز با توجه به امکانات پژوهش میسر نبود. در این مطالعه امکان بررسی کامل مسیر پیام رسان اثرگذار بر اثر تمرین همراه با پاراکوات و مکمل پیپرین میسر نبود. در صورت بررسی این موارد با قطعیت بیشتری می‌توان اثر ورزش را بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو ارزیابی کرد. بطور کلی این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از تمرین و مکمل پیپرین، به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، می تواند سبب بهبود آسیب‌های ناشی از سم پاراکوات شود. بنابراین نتایج این مطالعه گامی در جهت یافتن راهکار مناسب برای کاهش اثرات سمیت پاراکوات در انسان‌ها می‌باشد.

نتیجه‌گیری

داده‌های این مطالعه نشان می‌دهد، در گروه شاهد منفی نسبت به گروه های پاراکوات-تمرین، پاراکوات-تمرین همراه با پیپرین و پاراکوات-پیپرین به تنهایی افزایش و کاهش معنی دار سطوح مالون دی آلدئید و گلوتاتیون،به ترتیب، وجود دارد. در واقع مکمل پیپرین و تمرین هوازی به دلیل داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی احتملاً به طور موثری در بهبود شاخص‌های مورد بررسی، که منعکس‌کننده آسیب بافت هیپوکامپ مغز ناشی از مسمومیت با پاراکوات است، عمل می‌کند. هرچند تحقیقات بیشتری برای بررسی دقیق‌تر در جهت استفاده از آن دو باید انجام شود.

سپاسگزاری: نتایج ارائه شده در این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است. این مطالعه با حمایت مالی شورای تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، موسسه ملی تحقیقات و توسعه پزشکی، ایران انجام شد. بدین‌وسیله از آن معاونت که حمایت مالی این طرح را به عهده داشته است، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد. این پژوهش تضاد منافع نداشت.

References

1. Krieger R. Handbook of pesticide toxicology: Principles and agents: Academic press 2001.
2. Zhu Y, Meng X, Yang W, Wang J, Zhang J, Tian R, et al. HIF-1α promotes paraquat induced acute lung injury and implicates a role NF-κB and Rac2 activity. Toxicology 2023; 483: 153388.
3. Mehdi SH, Qamar A. Paraquat-induced ultrastructural changes and DNA damage in the nervous system is mediated via oxidative-stress-induced cytotoxicity in Drosophila melanogaster. Toxicol Sci 2013; 134: 355-65.
4. Ossowska K, Śmiałowska M, Kuter K, Wierońska J, Zieba B, Wardas J, et al. Degeneration of dopaminergic mesocortical neurons and activation of compensatory processes induced by a long-term paraquat administration in rats: implications for Parkinson's disease. Neuroscience 2006; 141: 2155-65.
5. Ranjbar A. Evidence of oxidative damage in paraquat toxicity. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences 2014; 16: 1-8. [Farsi]
6. Bus JS, Gibson JE. Paraquat: model for oxidant-initiated toxicity. Environ Health Perspect 1984; 55: 37-46.
7. Mahmoudi Z, Kalantar H, Mansouri E, Mohammadi E, Khodayar J. Dimethyl fumarate attenuates paraquat-induced pulmonary oxidative stress, inflammation and fibrosis in mice. Pestic Biochem Physiol 2023: 105336.
8. Trush MA, Mimnaugh EG, Ginsburg E, Gram TE, et al. In vitro stimulation by paraquat of reactive oxygen-mediated lipid peroxidation in rat lung microsomes. Toxicol Appl Pharmacol 1981; 60: 279-86.
9. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. Biomolecules 2015; 5: 356-77.
10. Gao L, Wang W, Liu D, Zucker IH. Exercise training normalizes sympathetic outflow by central antioxidant mechanisms in rabbits with pacing-induced chronic heart failure. Circulation 2007; 115: 3095-102.
11. Clarkson PM. Antioxidants and physical performance. Crit Rev Food Sci Nutr 1995; 35: 131-41.
12. Fehrenbach E, Northoff H. Free radicals, exercise, apoptosis, and heat shock proteins. Exerc Immunol Rev 2001; 7: 66-89.
13. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. Sports Med 2006; 36: 327-58.
14. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N, et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev 2010; 4: 118-26.
15. Kontek R, Jakubczak M, Matlawska-Wasowska K. The antioxidants, vitamin A and E but not vitamin C and melatonin enhance the proapoptotic effects of irinotecan in cancer cells in vitro. Toxicol In Vitro 2014; 28: 282-91.
16. Becker K, Pons-Kühnemann J, Fechner A, Funk M, Gromer S, Gross HJ, et al. Effects of antioxidants on glutathione levels and clinical recovery from the malnutrition syndrome kwashiorkor–a pilot study. Redox Report 2005; 10: 215-26.
17. Alizadeh M, Kheirouri S. Curcumin reduces malondialdehyde and improves antioxidants in humans with diseased conditions: A comprehensive meta-analysis of randomized controlled trials. Biomedicine 2019; 9: 23.
18. Kakarala M, Dubey SK, Tarnowski M, Cheng C, Liyanage S, Strawder T, et al. Ultra-low flow liquid chromatography assay with ultraviolet (UV) detection for piperine quantitation in human plasma. J Agric Food Chem 2010; 58: 6594-99.
19. Meghwal M, Goswami T. Piper nigrum and piperine: an update. Phytother Res 2013; 27: 1121-30.
20. Zhang X-f, Thompson M, Xu Y-h. Multifactorial theory applied to the neurotoxicity of paraquat and paraquat-induced mechanisms of developing Parkinson's disease. Lab Invest 2016; 96: 496-507.
21. Ranjbar A, Asl SS, Firozian F, Heidary Dartoti H, Seyedabadi S, Taheri Azandariani M, et al. Role of cerium oxide nanoparticles in a paraquat-induced model

of oxidative stress: emergence of neuroprotective results in the brain. J Mol Neurosci 2018; 66: 420-27.
22. Roshanbakhsh H, Elahdadi Salmani M, Namvar Ashdash S, Ahmadian SR, et al. Piperine pre-treatment has immunomodulatory effects in hippocampal local model of demyelination. Koomesh journal 2021; 23: 155-65. [Farsi]
23. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Abtahi Eivari H, et al. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. Physiol Behav 2015; 147: 78-83.
24. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. J Exercise Physiol Online 2003; 6: 80-87.
25. Khodayar MJ, Kiani M, Hemmati AA, Rezaie A, Rashidi Nooshabadi MR, Goudarzi M, et al. The preventive effect of atorvastatin on paraquat-induced pulmonary fibrosis in the rats. Adv Pharm Bull 2014; 4: 345-9.
26. Yeh ST-Y, Guo H-R, Su Y-S, Lin H-J, Hou Ch-Ch, Chen H-M, et al. Protective effects of N-acetylcysteine treatment post acute paraquat intoxication in rats and in human lung epithelial cells. Toxicology 2006; 223: 181-90.
27. Ibrahim FW, Zainudin UN, Latif MA. Neuroprotective effects of ethyl acetate extract of Zingiber zerumbet (L.) smith against oxidative stress on paraquat-induced parkinsonism in rats. Sains Malaysiana 2018; 47: 2337-47.
28. Akerman G, Amcoff P, Tjärnlund U, Fogelberg K, Torrissen O, Balk L, et al. Paraquat and menadione exposure of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)--studies of effects on the pentose-phosphate shunt and thiamine levels in liver and kidney. Chem Biol Interact 2003; 142: 269-83.
29. Sharifi-Rigi A, Heidarian E. Therapeutic potential of Origanum vulgare leaf hydroethanolic extract against renal oxidative stress and nephrotoxicity induced by paraquat in rats. Avicenna Journal of Phytomedicine 2019; 9: 563-73.
30. Purisai MG, McCormack AL, Cumine S, Li J, Isla MZ, Di Monte DA, et al. Microglial activation as a priming event leading to paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. Neurobiol Dis 2007; 25: 392-400.
31. Dinis-Oliveira R, Remiao F, Carmo H, Duarte JA, Navarro AS, Bastos ML, et al. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. Neurotoxicology 2006; 27: 1110-22.
32. Hou L, Sun F, Sun W, Zhang L, Wang Q. Lesion of the locus coeruleus damages learning and memory performance in paraquat and maneb-induced mouse Parkinson's disease model. Neuroscience 2019; 419: 129-40.
33. Chen Q, Niu Y, Zhang R, Guo H, Gao Y, Li Y, et al. The toxic influence of paraquat on hippocampus of mice: involvement of oxidative stress. Neurotoxicology 2010; 31: 310-16.
34. McCormack AL, Di Monte DA. Effects of l-dopa and other amino acids against paraquat-induced nigrostriatal degeneration. J Neurochem 2003; 85: 82-6.
35. Ye Y, Lin H, Wan M, Qiu P, Xia R, He J, et al. The effects of aerobic exercise on oxidative stress in older adults: A systematic review and meta-analysis. Front Physiol 2021;12: 701151.
36. Rauscher FM, Sanders RA, Watkins III JB. Effects of piperine on antioxidant pathways in tissues from normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Biochem Mol Toxicol 2000; 14: 329-34.
37. Kawamura T, Muraoka I. Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. Antioxidants 2018; 7: 119.
38. Koul IB, Kapil A. Evaluation of the liver protective potential of piperine, an active principle of black and long peppers. Planta Med 1993; 59: 413-17.

Original Article

Effects of 7-Week Aerobic Training and Piperine Supplementation on Oxidative Stress Markers of Brain Tissue in Male Wistar Rats Exposed to Paraquat

Asadi Ferizi SM[1], Hejazi K[1], Askari VR[2], Haghighi AH[1]

[1]Department of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran, [2]International UNESCO Center for Health-Related Basic Sciences and Human Nutrition, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R. Iran

e-mail: k.hejazi@hsu.ac.ir

Received: 11/12/2022 **Accepted**: 21/02/2023

Abstract

Introduction: Paraquat triggers oxidative stress and apoptosis. This study aimed to explore the effects of 7-week aerobic training and piperine supplementation on oxidative stress markers of brain tissue in male Wistar rats exposed to paraquat. Materials and Methods: Forty-eight adult rats were divided into 6 groups: 1) sham, 2) paraquat (negative control), 3) paraquat+training, 4) paraquat+training+piperine, 5) paraquat+piperine, and 6) paraquat+vitamin E. Aerobic training included 7 weeks of walking on a treadmill, 5 sessions per week for 30-40 minutes per session with 10 to 18 m/min. The paraquat was prepared at a dose of 5 mg/kg body weight; it was injected intraperitoneally 3 times a week. The animals were fed daily on piperine supplementation (20 mg) and vitamin E (20 mg/kg body weight). Oxidative stress markers, including malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels, were measured in samples obtained from the brain hippocampus tissue. Results: The MDA concentration was significantly higher in the negative control group (2.20±0.24) than in the sham (0.54±0.16), paraquat + training (1.64±0.25), paraquat+piperine (1.57±0.24), paraquat+training+piperine (1.16±0.18), and paraquat+vitamin E groups (1.43±0.15; P<0.001). However, the GSH concentration was significantly lower in the negative control group (1.63±0.20; P<0.001) than in sham (3.59±0.65), paraquat+training (1.94±0.25), paraquat+piperine (2.28±0.34), paraquat+training+piperine (3.20±0.39), and paraquat+vitamin E groups (2.08±0.31). Conclusion: The use of training alone and training with piperine supplementation can be considered a new strategy to prevent paraquat-induced neurotoxicity.

Keywords: Paraquat, Piperine, Aerobic exercise, Malondialdehyde, Glutathione