

تأثیر تمرین استقامتی شنا بر مرگ سلولی برنامه ریزی شده و غلظت متالوتیونین کبد موش‌های صحرایی باردار

نویسندگان: شادمهر میردار هریجانی^۱، نرگس موسوی^۲ و حسین علی‌اصغرزاده
اولیایی^۳

۱. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران،

بابل، ایران

۲. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه

مازندران، بابل، ایران

۳. دبیر تربیت بدنی، اداره آموزش و پرورش شهرستان بابل، مازندران، ایران

* نویسنده مسئول: شادمهر میردار هریجانی E-mail: shadmehr.mirdar@gmail.com

چکیده

مقدمه و هدف: تنظیم نابینجار آپوپتوزیس و متالوتیونین در بافت‌های مادر، ممکن است خطرهایی برای رشد جنین داشته‌باشد. هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین شنا‌ی استقامتی بر مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده و غلظت متالوتیونین (MT) کبدی موش‌های صحرایی باردار بود.

مواد و روش‌ها: شانزده موش صحرایی باردار نژاد ویستار (20 ± 200 گرم) به دو گروه (گروه کنترل و گروه تمرین) تقسیم شدند. گروه تمرین از روز اول بارداری تا انتهای بارداری در استخری ویژه به شناکردن، وادار شدند. مدت زمان تمرین در روز اول بارداری ۳۰ دقیقه بود که این مدت با افزایش روزانه ۵ دقیقه در هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید؛ زمان ۶۰ دقیقه تا پایان هفته سوم ادامه داشت. نمونه‌برداری از بافت کبد، روز دوم پس از زایمان انجام شد. شاخص آپوپتوزی و غلظت MT کبد به ترتیب با استفاده از تست TUNEL و روش ELISA تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل یافته‌های این پژوهش از آزمون تی مستقل یک‌نمونه‌ای در سطح خطای ($p \leq 0.05$) استفاده شد.

نتایج: تمرین شنا‌ی استقامتی، تغییری معنی‌دار در غلظت MT کبد موش‌های صحرایی مادر ایجاد نکرد ($p = 0.509$). تغییر معنی‌داری در شاخص آپوپتوزی کبد میان دو گروه مشاهده نشد ($p = 0.424$). ویژگی‌های مورفولوژی سلول‌های کبدی نیز، طی برنامه تمرینی، هیچ تغییری نسبت به گروه کنترل نشان‌نداد.

نتیجه‌گیری: تمرین شنا‌ی استقامتی با شدت زیربیشینه در دوران بارداری می‌تواند برای کسب مزایای احتمالی فعالیت ورزشی در دوران بارداری استفاده شود بدون اینکه باعث القای آپوپتوزیس یا تغییر در غلظت MT کبد مادر شود.

واژگان کلیدی: متالوتیونین، تمرین استقامتی شنا، شاخص آپوپتوزی، بارداری، کبد

دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست و یکم - شماره ۱۰۸
دی ۱۳۹۲

دریافت: ۱۳۹۲/۷/۲۳
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۲/۱۰/۴
پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۷

مقدمه

پژوهش‌های بسیاری وجود دارند که اهمیت و فواید فعالیت ورزشی در دوران بارداری، شامل آمادگی بدنی بالاتر، تناسب اندام، کاهش حالت افسردگی، افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی، کاهش ضربان قلب استراحت و ... را به اثبات رسانده‌اند (۱)؛ اما برخی شواهد نشان می‌دهند که مرگ سلولی آپوپتوزی^۱ با فعالیت ورزشی تشدید می‌شود. فعالیت ورزشی شدید و سخت، چندین متغیر مؤثر در تنظیم آپوپتوزیس^۲ بافت‌ها را تغییر می‌دهد (۲). نتایج پژوهش هافمن^۳ و همکاران (۲۰۰۹) مطرح می‌کند که فعالیت‌های ورزشی شدید به استرس اکسایشی و القای آپوپتوزیس منجر می‌شود (۳). آپوپتوزیس به عنوان فرایند طبیعی مرگ سلولی در انواع سلول‌های تشکیل‌دهنده اندام‌های جنینی وجود دارد و در اواسط یا اواخر بارداری‌های انسان و جوندگان به طور طبیعی اتفاق می‌افتد و از اساس، سلول‌های جفتی، مستعد آپوپتوزیس هستند؛ اما تنظیم نابهنجار آپوپتوزیس، باعث پیشروی فرایندهای پاتولوژیکی در جفت می‌شود (۴) و افزایش بیش از حد آن با پره‌اکلامپسی^۴ و کندی رشد درون‌زهدانی ارتباط دارد (۵). گفته شده است پره‌اکلامپسی، طی بارداری، اغلب کبد را هم درگیر می‌کند (۶). شواهدی بسیار وجود دارند که نشان می‌دهند متالوتیونین‌ها^۵ (MTs) که پروتئین‌های حاوی فلز هستند (۷) در فرایندهای سلولی از قبیل تکثیر سلولی، آپوپتوزیس، حفظ ردوکس و تنظیم سیگنال درون‌سلولی نیز درگیرند و تنظیم‌کننده منفی آپوپتوزیس شناخته شده‌اند. تعدادی از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزایش بیان MT در سلول‌ها به آثار آنتی‌آپوپتوزی منجر می‌شود در حالی که نبود MT، قابلیت ابتلا به مرگ سلولی آپوپتوزی را افزایش می‌دهد (۸ و ۹)؛ علاوه بر این، فلزهایی مانند روی و مس که عناصر ضروری برای جنین محسوب می‌شوند با غلظت MT پلاسما می‌تواند دوران

بارداری همبستگی بالایی دارند زیرا MT در انتقال عناصر ضروری از مادر به جنین، درگیر است (۱۰)؛ همچنین القای MT، توسط فعالیت بدنی برای حفاظت در برابر گونه‌های اکسیژن واکنشی و استرس اکسایشی در عضلات، مهم تلقی شده است چراکه MT، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانسی دارد (۱۱). گزارش شده است که یک جلسه دویدن روی نوارگردان به مدت ۳۰ دقیقه، غلظت بیان MT-mRNA را ۱۲ ساعت پس از آغاز فعالیت به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد (۱۲)؛ اما نتایج پژوهش لی^۷ و همکاران (۱۹۹۷) نشان می‌دهد که غلظت MT، پس از شنای استقامتی به مدت ده هفته در بافت‌های ریه، کبد، قلب و عضله اسکلتی کاهش و پس از شنای وامانده‌ساز در بافت‌های مغز، قلب، ریه، کبد و عضله اسکلتی افزایش می‌یابد (۱۳). هرچند پژوهش‌هایی در خصوص تأثیر فعالیت ورزشی در دوران بارداری بر عوامل مختلف مادری وجود دارد، این اولین پژوهشی است که تأثیر تمرین استقامتی شنا بر مرگ برنامه‌ریزی‌شده و غلظت MT کبد مورد مطالعه قرار داده است. از آنجاکه کبد یکی از مهم‌ترین اندام‌هایی است که تحت تأثیر ورزش قرار می‌گیرد و سوء عملکرد آن می‌تواند برای مادر و جنین، فاجعه‌آمیز باشد (از جمله اینکه تغییر در غلظت متالوتیونین کبد مادر می‌تواند انتقال عناصر ضروری به جنین را تحت تأثیر قرار دهد (۵ و ۱۰))، هدف پژوهش حاضر، این است که تأثیر یک دوره برنامه تمرین شنای استقامتی با شدت زیربیشینه روی مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده و غلظت MT کبد موش‌های صحرایی باردار را بررسی کند.

روش انجام آزمایش

حیوانات: این پژوهش از نوع پژوهش‌های تجربی بودند و آزمایش که در آزمایشگاه گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد. در این پژوهش از

- 1- Apoptotic cell death
- 2- Apoptosis
- 3- Hoffman
- 4- Preeclampsia
- 5- Metallothioneine

تهیه نمونه بافتی: دو روز پس از زایمان، موش‌های مادر با تزریق مخلوط کتامین (۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، بی‌هوش و آسان‌کشی‌شده، سپس بافت کبد آنها خارج شد (۱۶). قسمتی از بافت کبد به وسیله بافر فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و برای مطالعات بافتی در ظروف ویژه قرار گرفت؛ باقیمانده بافت کبد در میکروتیوپ قرار داده شد و با فریز در مایع نیتروژن به یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و نگهداری شد؛ سپس بافت‌های یخ‌زده با کوبیدن پودر شدند و عمل هموژنیزاسیون بافت‌ها به وسیله دستگاه هموژنایزر حاوی محلول سالین بافر شده با فسفات^۱ (PBS) متشکل از یک میلی‌لیتر PBS در هر ۰/۵ گرم بافت و یک ترکیب مهارکننده پروتئاز در ۷/۲ pH = انجام گرفت؛ محلول به دست آمده با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، سانتریفیوژ شد. اندازه‌گیری غلظت MT با استفاده از کیت ویژه به روش الیزا مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده (Cusabio Biotech, Wuhan, China, 22/91D/1099) انجام شد (۱۷).

تشخیص ایمنو هیستوشیمیایی سلول‌های آپوپتوزی: برای تشخیص سلول‌های آپوپتوزی، هسته این سلول‌ها با استفاده از روش غیررادایوکتیو نشان‌دار کردن انتهایی در جای خود^۲ رنگ و شناسایی شد؛ در این روش، مقاطع تهیه شده به ضخامت ۳ میکرومتر ابتدا با استفاده از دو ظرف گزیلول، پارافین‌زدایی و سپس با غلظت‌های نزولی الکل آب‌دهی شدند و در نهایت سه مرتبه با محلول بافر فسفات عاری از نوکلئاز شستشو شدند؛ برای از بین بردن پراکسیدازهای درون‌زاد، مقاطع با پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد در متانول به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند؛ سپس مقاطع، پس از شستشو با بافر فسفات عاری از نوکلئاز با کمک پروتئیناز K تیمار شدند. کیت آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق، کیت تشخیص مرگ سلولی POD ساخت شرکت روژ آلمان (کیت شماره ۹۱۰ ۸۱۷ ۶۶۸۴

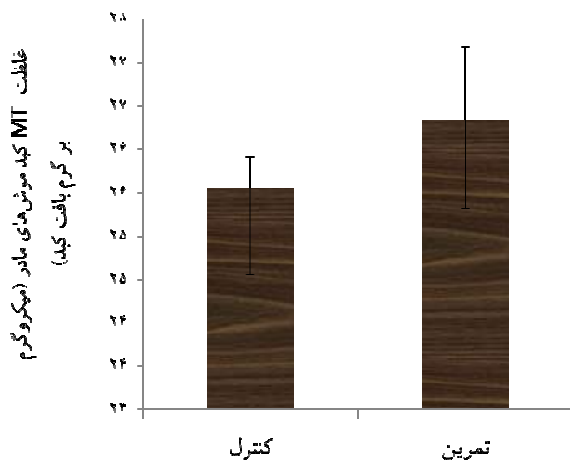
شانزده سر موش صحرایی ماده با میانگین وزنی 20 ± 20 گرم استفاده شد. موش‌ها به صورت گروه‌های چهارتایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند؛ طی دوره پژوهش، غذای استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت و آنها یک هفته پس از انتقال به آزمایشگاه و سازگاری با محیط جدید، برای آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی به استخر شنا منتقل شده، تمرین شنا را به مدت یک هفته انجام دادند؛ طی این یک هفته، تمرین با ۱۰ دقیقه آغاز و با افزایش ۵ دقیقه تمرین در هر روز تا پایان هفته به ۳۰ دقیقه رسید؛ سپس هر دو موش ماده با یک موش نر برای جفت‌گیری در یک قفس قرار گرفتند و پس از ۴۸ ساعت با مشاهده پلاک واژنی بر واژینال، روز اول بارداری مشخص شد (۱۴)؛ سپس موش‌ها به دو گروه هشت‌تایی تقسیم شدند: گروه کنترل: موش‌های صحرایی دوران بارداری را به‌طور طبیعی طی کردند.

گروه تمرین: موش‌های صحرایی در دوران بارداری در یک برنامه تمرین شنا استقامتی شرکت کردند. برنامه تمرینی: موش‌های باردار گروه تمرین، یک‌بار در روز و پنج روز در هفته در استخری ویژه به ابعاد ۵۰ × ۵۰ × ۱۰۰ سانتی‌متر (درجه حرارت آب: ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد) که توسط میردار و همکاران (۲۰۱۲) در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران ساخته شده بود، شنا کردند. برنامه اصلی تمرین شنا در دوران بارداری با ۳۰ دقیقه آغاز شد که این مدت با افزایش ۵ دقیقه روزانه به زمان تمرین در هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید. زمان ۶۰ دقیقه تا پایان هفته سوم، ثابت بود. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام می‌شد که در هفته سازگاری با تمرین، ثابت و در هفته‌های تمرین، طی دوران بارداری با ثابت ماندن زمان ۶۰ دقیقه، سرعت و قدرت جریان آب از ۷ به ۱۵ لیتر در دقیقه افزایش می‌یافت (۱۵).

¹- Phosphate- buffered saline

²- In situ end labeling

باردار حفظ کرد.



نمودار ۱. مقایسه غلظت MT کبد (میکروگرم بر گرم بافت کبد) در گروه‌های کنترل و تمرین شنا
نمودار نشان می‌دهد که تمرین استقامتی شنا با شدت زیربیشینه در دوران بارداری، بر غلظت MT کبد موش‌های صحرایی مادر تأثیری نداشته. نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شده است.

بررسی ساختار بافتی و شاخص آپوپتوزی کبد
نتایج موبوط به تأثیر تمرین استقامتی شنا با شدت زیربیشینه در دوران بارداری بر شاخص آپوپتوزی کبد موش‌های صحرایی به صورت درصد در نمودار ۲ ترسیم شده است. یافته‌های پژوهش نشان می‌دهند که این شاخص در گروه تمرین استقامتی شنا در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته ولی این افزایش از لحاظ آماری، معنی‌دار نبوده ($p=0/424$) (نمودار ۲). مطالعه ساختار بافتی در شکل ۱ نشان داد که تمرین استقامتی شنا باعث ایجاد تغییرهای ساختاری خاصی در بافت کبد نشد و به‌رغم افزایش کم فضای سینوزوئیدی، ویژگی‌های مورفولوژی سلول‌های کبدی، طی تمرین هیچ تغییری نسبت به گروه کنترل نشان‌نداد؛ شکل ۲ نیز شاخص آپوپتوزی کبد را به صورت سلول‌هایی با رنگ قهوه‌ای تیره در هر دو گروه کنترل و تمرین شنا مقایسه کرده است.

(۱۱) بود که تمامی مراحل آن مطابق با دستورالعمل همراه کیت انجام پذیرفت. برای تعیین شاخص آپوپتوزی در هر مقطع، ده میدان دید میکروسکوپی با بزرگ‌نمایی بالا ($\times 100$) به طور تصادفی انتخاب شده، هسته‌های TUNEL مثبت (هسته‌هایی به رنگ قهوه‌ای تیره و یکنواخت) و TUNEL منفی شمارش شدند؛ سپس شاخص آپوپتوزی (LI) با استفاده از رابطه $LI = a/(a+b) \times 100$ محاسبه شد که در آن "a" تعداد هسته‌های TUNEL مثبت و "b" تعداد هسته‌های TUNEL منفی در هر میدان دید میکروسکوپی است (۱۸).

تمامی مراحل اجرای پژوهش، مطابق با دستورالعمل مؤسسه سلامت و تغذیه درخصوص مورد مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد.

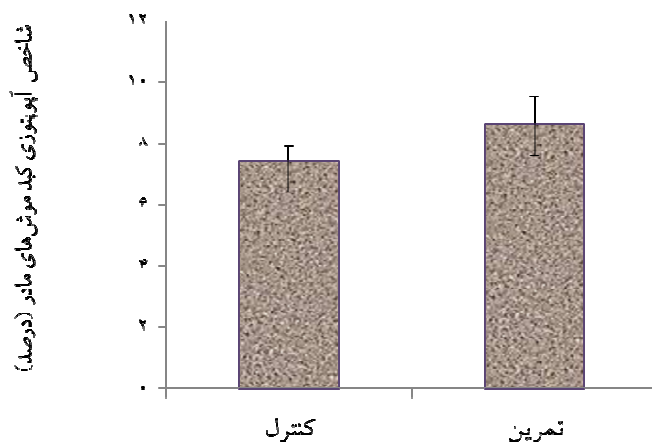
تحلیل آماری

داده‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از آزمون کالموگروف-اسمیرنف به منظور بررسی توزیع طبیعی داده‌ها و سپس آزمون تی مستقل برای مقایسه میان گروه‌ها استفاده و نتایج با ($p \leq 0/05$) معنی‌دار لحاظ شدند. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS21 انجام گرفتند و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 ترسیم شدند.

یافته‌ها

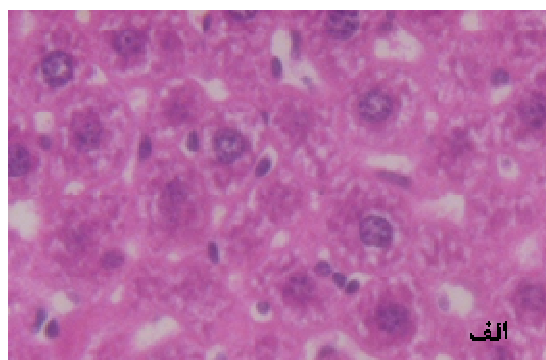
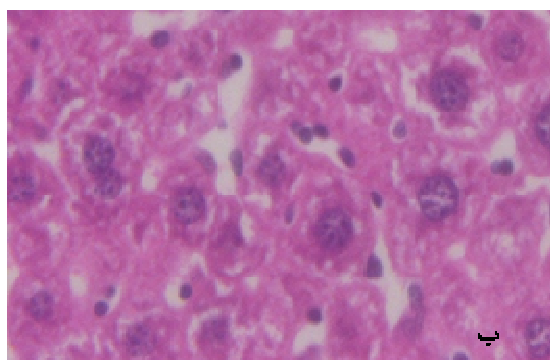
نتایج حاصل از پژوهش درباره تأثیر تمرین استقامتی شنا با شدت زیربیشینه بر غلظت MT کبد موش‌های صحرایی باردار در نمودار ۱ ارائه شده است؛ همان‌طور که نمودار نشان می‌دهد، غلظت پروتئین MT کبد در گروه تمرین، تغییری معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نداشت ($p=0/509$)؛ بنابراین، برنامه تمرینی تجویز شده در این پژوهش، سطوح پایه MT را در کبد موش‌های صحرایی

¹ - Terminal Deoxynucleotidyl Transferase mediated Deoxyuridine Triphosphate Nick-End Labeling



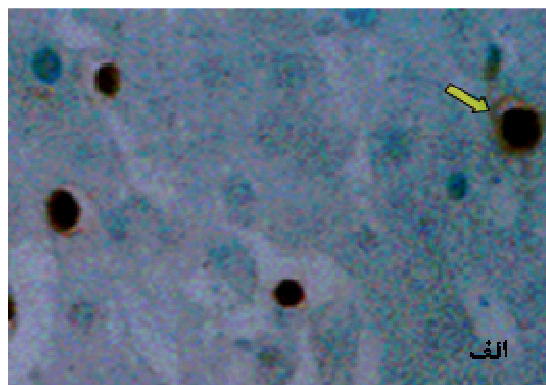
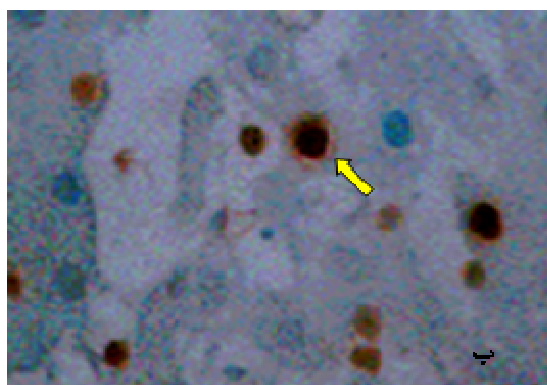
نمودار ۲. مقایسه شاخص آپوپتوزی کبد (درصد) در گروه‌های کنترل و تمرین شنا

نمودار نشان می‌دهد که تمرین استقامتی شنا با شدت زیربیشینه در دوران بارداری بر شاخص آپوپتوزی کبد موش‌های صحرائی مادر تأثیری نداشته. نتایج به صورت $mean \pm SEM$ ارائه شده است.



شکل ۱. مقایسه ساختار بافتی کبد در گروه کنترل «الف» و گروه تمرین «ب» رنگ آمیزی H&E بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰

همان‌گونه که مشاهده می‌شود، ساختار بافتی کبد در هر دو گروه به‌طور کامل، طبیعی است.



شکل ۲. مقایسه شاخص آپوپتوزی کبد در گروه کنترل «الف» و گروه تمرین «ب» با استفاده از تست TUNEL

بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰

همان‌گونه که مشاهده می‌شود، تعداد سلول‌های TUNEL مثبت (هسته‌های با رنگ قهوه‌ای تیره که با فلش نشان داده شده‌اند)، در گروه تمرین، کمی بیشتر است.

بحث

است و پس از ایجاد استرس اکسایشی القامی‌شود؛ بنابراین عدم القای آپوپتوزیس ناشی از تمرین شنا را باید به سازوکاری غیر از تغییرهای غلظت MT کبد موش‌های صحرایی نسبت داد. سازوکار (مکانیسم) عدم بروز آپوپتوزیس در بافت کبد موش‌های صحرایی باردار به احتمال از افزایش تدریجی و آرام مدت تمرین شنا و رعایت اصل تحریک و تثبیت در تنظیم برنامه تمرینی موش‌های صحرایی باردار نشأت می‌گیرد که طی سازگاری مناسب با آن، موجب عدم افزایش تعداد سلول‌های آپوپتوزی ناشی از استرس شنا می‌شود چراکه سرنوشت یک سلول به نسبت درون سلولی نیروی آنتی‌آپوپتوزی و پروآپوپتوزی آن بستگی دارد. میتوکندری یک اندامک کلیدی در کنترل آپوپتوزیس است و دپولاریزاسیون غشای آن، باعث رهایش مولکول‌های پروآپوپتوزی می‌شود. نیتریک اکساید^۴ (NO) در غلظت‌های فیزیولوژیکی به صورت معکوس سیتوکروم اکسیداز (کمپلکس IV از زنجیره انتقال الکترونی) را مهار می‌کند که به هایپریولاریزاسیون غشای میتوکندری منجر می‌شود. انواع مولکول‌های آنتی‌آپوپتوزی، مانند نیتریک اکساید سنتاز القایی^۵ (iNOS)، لوسمی سلول میلوئیدی یا مغز استخوانی^۶ (Mcl-1)، پروتئین تنظیم‌شده به وسیله گلوکز ۷۷۸ (Grp78) و اینترلوکین-۸، طی تمرین، مستقیم و غیرمستقیم توسط NO تحت تنظیم افزایشی قرار می‌گیرند (۲۱) و پس از بی‌تمرینی نیز در مقادیر بالا باقی می‌مانند و روند آپوپتوزیس را کندی کنند (۲۱)؛ از سوی دیگر گزارش شده است تمرین منظم روزانه، روی دوجرخه کارسنج، موجب دفع مقادیر قابل توجهی فلز روی به همراه تعریق می‌شود (۲۲)؛ همچنین تمرین دوی استقامتی طولانی مدت نیز باعث کاهش غلظت فلز روی پلاسما در حالت استراحت می‌شود (۲۳)؛ بنابراین

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سه هفته تمرین استقامتی شنا، تغییری معنی‌دار در غلظت MT کبد موش‌های صحرایی مادر ایجاد نکرد؛ همچنین تمرین یادشده، شاخص آپوپتوزی کبد را نیز تحت تأثیر قرار نداد؛ این نتایج با یافته‌های کیم و همکاران (۲۰۰۲) و اوکولف^۱ و همکاران (۲۰۰۶) همسو است (۲ و ۱۹)؛ این در حالی است که پروتکل تمرینی پژوهش کیم و همکاران، یک هفته تمرین استقامتی دویدن روی نوار گردان با سرعت متوسط و پروتکل تمرینی پژوهش اوکولف و همکاران نیز، هشت هفته تمرین استقامتی دویدن روی نوارگردان با شدت پیشرونده در موش‌های صحرایی نر (در مقابل سه هفته تمرین شنای استقامتی با شدت زیربیشینه در موش‌های صحرایی ماده باردار در پژوهش حاضر) بود؛ از سوی دیگر، یافته‌های پژوهش حاضر با یافته‌های پنکوا^۲ و همکاران (۲۰۱۱) (یک جلسه دوجرخه سواری با شدت ۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه به مدت ۳ ساعت در مردان سالم) و هاشیموتو^۳ و همکاران (۲۰۰۹) (۳۰ دقیقه دویدن در روز، روی نوار گردان به مدت دو هفته در موش‌های آزمایشگاهی نر) مطابقت ندارد (۱۱ و ۱۲). از آنجاکه MT یک پروتئین فاز حاد است و بدین معنی است که MT در واکنش به استرس اکسایشی در بدن القامی‌شود (۲۰)، عدم تغییر معنی‌دار غلظت MT در پژوهش حاضر می‌تواند به عنوان نشانه عدم ایجاد استرس اکسایشی به وسیله تمرین شنا تفسیر شود؛ یافته‌های پژوهش حاضر در خصوص عدم القای آپوپتوزیس کبد موش‌های صحرایی مادر نیز مؤید این مدعا است.

هرچند نشان داده شده است که MT تنظیم‌کننده منفی آپوپتوزیس است و در فرایندهای سلولی از قبیل تکثیر سلولی و آپوپتوزیس نیز، درگیر است و همچنین افزایش بیان آن در سلول‌ها به آثار آنتی‌آپوپتوزی منجر می‌شود (۹)، همان‌طور که اشاره شد، MT، یک پروتئین فاز حاد

⁴- Nitric Oxide

⁵- Inducible nitric oxide synthase

⁶- Myeloid cell leukemia-1

⁷- Glucose-regulated protein 78

¹- Okolow

²- Penkowa

³- Hashimoto

می‌شوند به طوری که پس از سه هفته تمرین، مقادیر آن در سطح مقادیر پایه حفظ می‌شود؛ در پژوهش هاشیموتو نیز، تمرین استقامتی افزایش غلظت MT ناشی از یک جلسه فعالیت را تعدیل کرد؛ بنابراین می‌توان گفت که میزان تغییرهای غلظت MT، طی فعالیت ورزشی به شدت و مدت فعالیت ورزشی به کاررفته بستگی دارد و تمرین‌های منظم شنا با شدت زیربیشینه در دوران بارداری، ممکن است غلظت MT را تعدیل کنند. برخلاف نتایج برخی پژوهش‌ها، در پژوهش حاضر، تمرین شنا با شدت زیربیشینه، باعث تنظیم کاهشی غلظت MT کبد موش‌های مادر نشده و تأثیر منفی بر فعالیت این متالوپروتئین در عملکرد مادری نداشته‌است.

نتیجه‌گیری کلی

تمرین‌های استقامتی با شدت زیربیشینه، باعث القای آپوپتوزیس کبدی نمی‌شود و غلظت پایه پروتئین MT را که برای رشد جنین ضروری است، حفظ می‌کند. هرچند در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد که تمرین‌های استقامتی، خطری برای مادر به همراه ندارد، درخصوص تأثیر آن بر جنین، محقق، پژوهش‌هایی بیشتر را به‌ویژه در نمونه‌های انسانی توصیه می‌کند.

منابع

1. Field T. Prenatal exercise research. *Infant Behavior & Development* 2012; 35: 397-407.
2. Kim SH, Kim HB, Jang MH, Lim BV, Kim YJ, Kim YP, et al. Treadmill exercise increases cell proliferation without altering of apoptosis in dentate gyrus of Sprague-Dawley rats. *Life Science* 2002; 71(11): 1331-40.
3. Hoffman-Goetz L, Pervaiz N, Guan J. Voluntary exercise training in mice increases the expression of antioxidant enzymes and decreases the expression of TNF-alpha in intestinal lymphocytes. *Brain Behavior & Immunity* 2009; 23(4): 498-506.
4. Hirofumi Y, Masaki U, Xi J-H, Takashi M, Koji U, Kunio D, et al. Essential role of p53 in trophoblastic apoptosis induced in the developing rodent placenta by treatment with a DNA-damaging agent. *Apoptosis* 2007; 12: 1743-54.
5. Charles AK, Liu D, Rao RM, Waddell BJ, Dickinson J E, Rao A J, et al. The expression of apoptosis related genes in the first trimester human placenta using a short term in vitro model. *Apoptosis* 2005; 10: 135-40.
6. Bacq Y. Liver diseases unique to pregnancy: a 2010 update. *Clinical Research Hepatology and Gastroenterology* 2011; 35(3): 182-93.
7. Waalkes M P. Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research* 2003; 533(1-2): 107-20.
8. Lindeque J Z, Hidalgo J, Louw R and Van Der Westhuizen F H. Systemic and organ specific metabolic

می‌توان نتیجه‌گرفت این رویدادها با کاهش مقادیر پایه فلز روی می‌توانند به نقص عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانتی سوپراکساید دیسموتاز متصل به مس و روی (یکی از آنزیم‌های تنظیف‌کننده اصلی سوپراکساید درون سلولی) (۲۴)، منجر شوند. فلزاتی مانند روی و مس که عناصر ضروری برای جنین محسوب می‌شوند، با غلظت MT پلاسمایی دوران بارداری همبستگی بالایی دارند زیرا MT در انتقال عناصر ضروری از مادر به جنین، درگیر است (۹)؛ بنابراین تغییرهای غلظت MT، یکی از شاخص‌هایی است که باید در دوران بارداری مورد توجه قرار گیرد. تمرین‌های شنا مورد استفاده در پژوهش حاضر به دلیل قرارگیری در آب و تعریق کمتر، همچنین به دلیل کوتاه بودن مدت آن در مقایسه با تمرین دوی استقامتی طولانی مدت، به احتمال، غلظت پلاسمایی روی را تحت تأثیر قرار نخواهد داد؛ این یکی از مزیت‌های تمرین شناست که علاوه بر صرف هزینه انرژی کمتر می‌تواند در حفظ متابولیسم عناصر ضروری نیز مفید و موثر باشد. اگرچه برخی پژوهش‌ها افزایش مقادیر MT را طی فعالیت‌های ورزشی گزارش کرده‌اند، اما با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر به نظر می‌رسد تمرین‌های طولانی و مزمن، موجب تعدیل غلظت MT

variation in metallothionein knockout mice challenged with swimming exercise. *Metabolomics* 2013; 9 (2): 418-32.

9. Gurel Z, Ozcelik D, Dursun S. Apoptotic rate and metallothionein levels in the tissues of cadmium- and copper-exposed rats. *Biological Trace Element Research* 2007; 116(2): 203-17.
10. Chan H M, Tamura Y, Cherian M G, Goyer R A. Pregnancy-associated changes in plasma metallothionein concentration and renal cadmium accumulation in rats. *Experimental Biology and Medicine* 1993; 202 (4): 420-7.
11. Penkowa M, Keller P, Keller C, Hidalgo J, Giralt M, Pedersen B K. Exercise-induced metallothionein expression in human skeletal muscle fibres. *Experimental physiology* 2011; 90(4): 477-86.
12. Hashimoto K, Hayashi Y, Inuzuka T, Hozumi I. Exercise induces metallothioneins in mouse spinal cord. *Neuroscience* 2009; 163(1): 244-51.
13. Li Z, Gao Y, Li S, Chen K, Ge S, Pang Y, et al. The effect of endurance training and exhaustive exercise on metallothionein in rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* 1997; 13(1): 16-7.
14. Koumentaki A, Anthony F, Poston L, Wheeler T. Low-protein diet impairs vascular relaxation in virgin and pregnant rats. *Clinical Science* 2002; 102(5): 553-60.
15. Mirdar S, Arab A, Hedayati M, Hajizade A. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 α levels of neonatal lung. *Tehran University Medical Journal* 2012; 69: 754-60.

16. Van Pelt L. Ketamine and xylazine for surgical anesthesia in rats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1977; 171(9): 842.
17. Pan L , Zhang H. Metallothionein, antioxidant enzymes and DNA strand breaks as biomarkers of Cd exposure in a marine crab, *Charybdis japonica*. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C Toxicology Pharmacology* 2006; 144(1): 67-75.
18. Melen-Mucha G, Balcerczak E, Mucha S, Panczyk M, Lipa S, Mirowski M. Expression of p65 gene in experimental colon cancer under the influence of 5-fluorouracil given alone and in combination with hormonal modulation. *Neoplasma* 2004; 51(4): 319-24.
19. Podhorska-Okolow M, Dziegiel P, Dolinska-Krajewska B, Dumanska M, Cegielski M, Jethon Z, et al. Expression of metallothionein in renal tubules of rats exposed to acute and endurance exercise. *Folia Histochemical & Cytobiological* 2006; 44(3): 195-200.
20. Kondoh M, Kamada K, Kuronaga M, Higashimoto M, Takiguchi M, Watanabe Y, et al. Antioxidant property of metallothionein in fasted mice. *Toxicology Letters* 2003; 143(3): 301-06.
21. Su SH, Jen CJ, Hsiun-ing C. NO signaling in exercise training-induced anti-apoptotic effects in human neutrophils. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2011; 405: 58–63.
22. Córdova A , Navas F J. Effect of training on zinc metabolism: changes in serum and sweat zinc concentrations in sportsmen. *Annals of Nutrition and Metabolism* 1998; 42(5): 274-82.
23. Cordova A, Alvarez-Mon M. Behaviour of zinc in physical exercise: a special reference to immunity and fatigue. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 1995; 19(3): 439-45.
24. Szuster-Ciesielska A, Stachura A, Slotwinska M, Kaminska T, Sniezko R, Paduch R, et al. The inhibitory effect of zinc on cadmium-induced cell apoptosis and reactive oxygen species (ROS) production in cell cultures. *Toxicology* 2000; 145(2-3): 159-71.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
21st year, No. 108
December 2013,
January 2014*

Received: 2013/10/15

Last revised: 2014/01/04

Accepted: 2014/01/07

The effect of endurance swimming training on liver apoptotic index and metallothioneine concentration in pregnant rats

Shadmehr Mirdar Harijani¹, Narges Musavi¹, Hossein Aliasgharzade Oliaei²

1. Department of Exercise physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
2. Master of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
3. Office of Education, Babol, Mazandaran, Iran.

E-mail: shadmehr.mirdar@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Abnormal regulation of apoptosis and metallothioneine in maternal tissues may be dangerous for the developing fetus. The aim of this study was to investigate the effect of endurance swimming training on liver apoptotic index and metallothioneine concentration in pregnant rats.

Materials and Methods: Sixteen pregnant Wistar rats (200 ± 20 g) were divided into two groups: control (Cnt) and swimming training (ST). Pregnant rats in ST group were forced to swimming in a specific pool from first day of pregnancy until delivery. The time of training in first day of pregnancy was 30 min and this time in second week reached to 60 min by increasing of 5 min per day. This time (60 min) continued to the end of third week. Liver tissue was collected two days after delivery. The liver apoptotic index and MT concentration were determined with TUNEL and ELISA methods, respectively. Independent sample t-test was applied for statistical analysis of the data ($p < 0.05$).

Results: Endurance swimming training did not cause significant changes in liver MT levels in pregnant rats ($p=0.509$). No significant changes were observed in liver apoptotic index between the groups ($p=0.424$). Morphological characteristics of hepatocytes showed no changes during training program as compared to control group.

Conclusion: Sub-maximal endurance swimming training during pregnancy can be used to gain the benefits of exercise during pregnancy without induction of maternal liver apoptosis or changes in MT concentration.

Key words: Metallothioneine, Endurance swimming training, Apoptotic index, Pregnancy, Liver.