

## تأثیر شش هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف لیموترش بر سطوح پلاسمایی اندوتلین-۱ و نیتریک اکساید در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزوتوسین

کامبیز مرادی ده‌باغی<sup>۱</sup>، مسعود جوکار<sup>۲\*</sup>

### چکیده

مقدمه: هدف از این تحقیق بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف لیموترش بر سطوح پلاسمایی اندوتلین-۱ و نیتریک اکساید در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزوتوسین بود.

روش‌ها: در این تحقیق تجربی، تعداد ۷۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن:  $12 \pm 200$  گرم) انتخاب و پس از دیابتی شدن به‌طور تصادفی به هشت تقسیم شدند. پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۶ هفته بر روی نوارگردان انجام گرفت و اسانس لیموترش به  $50 \text{ mg/kg}$  به روش گاواژ تجویز گردید. سطوح اندوتلین-۱ پلاسما، به روش الایزا و سطوح سرمی نیتريت به‌عنوان یک متابولیت اصلی نیتریک اکساید اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد میانگین سطوح اندوتلین-۱ در گروه تمرین استقامتی + لیموترش و گروه دیابت + تمرین استقامتی + لیموترش در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود ( $P < 0/05$ ). همچنین میانگین سطوح نیتریک اکساید در گروه دیابت + لیموترش در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود اما در گروه تمرین استقامتی + لیموترش و گروه دیابت + تمرین استقامتی + لیموترش در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً تمرین استقامتی به‌همراه مصرف لیموترش از طریق کاهش غلظت سطوح اندوتلین-۱ و افزایش سطوح نیتریک اکساید منجر به بهبود عملکرد آندوتلیالی و رفع انسداد عروق در بیماران دیابتی می‌شود.

واژگان کلیدی: دیابت، اندوتلین-۱، نیتریک اکساید، تمرین استقامتی، STZ

۱- گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران غرب، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

\* نشانی: تهران، خیابان مفتاح جنوبی، دانشگاه خوارزمی، مدیریت تربیت بدنی، کدپستی: ۱۵۷۱۹۱۴۹۱۱، صندوق پستی: ۱۵۸۱۵۳۵۸۷، نامبر:

۰۲۱۸۶۰۷۲۶۹۹، تلفن: ۰۹۱۲۵۸۴۱۷۱۲، پست الکترونیک: m.jokar742@gmail.com

## مقدمه

بیماران مبتلا به دیابت در معرض خطر مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی هستند [۱، ۲]. پیش از این، نشان داده شده است علل مرگ و میر ناشی از نارسایی مزمن قلبی در بیماران مبتلا به دیابت تقریباً دو برابر بیشتر از بیماران مشابه بدون دیابت است [۱، ۳]. بیماران دیابتی از اختلال عملکرد اندوتلیال رنج می‌برند. این اختلالات شامل اختلال در ساختار اندوتلیوم مانند اختلال در تنظیم اتساع و انقباض عروق و افزایش فعالیت‌های التهابی مرتبط با بیماری‌های قلبی عروقی است. از طرفی سلول‌های اندوتلیال عروق به وسیله تولید مواد فعال عروق از قبیل اندوتلین-۱ و نیتریک اکساید (NO) نقش مهمی در تنظیم فعالیت عروق ایفا می‌نمایند [۴]. در دیابت نوع دو، اختلال عملکرد اندوتلیال با هایپرگلیسمی، دیس‌لیپیدمی، التهاب مرتبط با بافت چربی و هایپرانسولینمی همراه است [۵]. تحقیقات گذشته از انسولین به عنوان یک عامل مستقیم و تأثیرگذار در اندوتلیوم عروقی یاد می‌کنند که بر تنظیم تون عروقی تأثیر می‌گذارد [۶]. انسولین با آزادسازی NO و اندوتلین-۱ اثرات خود را بر روی تون عروقی اعمال می‌کند [۷]. مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو باعث انقباض عروق می‌شود، که این اتفاق با کاهش فعالیت NO و افزایش ترشح اندوتلین-۱ همراه است [۴]. از طرف دیگر، اتساع عروق در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو ناشی از هایپرانسولینمی کاهش می‌یابد، که احتمال می‌رود این اختلال بیشتر به دلیل کاهش فعالیت NO باشد [۸].

مطالعات اخیر به دنبال راهکارهای جدید غیر دارویی هستند که بتوان از طریق آن‌ها این اختلالات را در بیماران دیابتی کاهش دهند. از طرفی فعالیت ورزشی آثار مفیدی بر بهبود عملکرد اندوتلیال عروقی دارد که یکی از شاخص‌های عملکرد اندوتلیال همان پاسخ اتساع عروقی حاصل از جریان خون است [۹]. همچنین مطالعات متعددی نشان می‌دهد فعالیت هوازی، گشاد شدن عروقی وابسته به اندوتلین در افراد را موجب می‌شود [۱۰]. ورزش هوازی با شدت متوسط، بیشتر

باعث کاهش تولید و عملکرد سیستم فعال کننده اندوتلین-۱ می‌شود که این موضوع ممکن است برای درک آثار ورزش بر جلوگیری و درمان خطرات مرتبط با دیابت مفید باشد [۱۱]. از طرفی دیگر چندین مطالعه‌ی حیوانی و آزمایشگاهی نشان داد که مصرف لیموترش در کاهش هایپرگلیسمی و هایپرلیپیدمی مفید است [۱۲، ۱۳]. در مطالعات دیگری خواص التهابی و آنتی‌اکسیدانی لیموترش مورد تأیید قرار گرفته بود [۱۲، ۱۵]. یک مطالعه‌ی دیگر نشان داد که لیموترش می‌تواند باعث کاهش آنزیم هیدروکسی متیل‌گلوکاریل کوآنزیم آ ردوکتاز (HMG-CoA)<sup>۲</sup> شود [۱۶]. که ممکن است اثرات مفیدی در کاهش اختلالات عملکرد اندوتلیال در بیماران دیابتی داشته باشد [۱۷]. در سطح دانش ما، هیچ مطالعه‌ای تاکنون تأثیر تمرین استقامتی به همراه مصرف لیموترش بر سطوح سرمی اندولین-۱ و NO در موش‌های دیابتی را بررسی نکرده است. بنابراین با توجه به نیاز به توسعه‌ی راهبردهای غیردارویی نظیر تمرین ورزشی و مکمل‌های گیاهی برای درمان عوارض مرتبط با دیابت لزوم انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود. از این رو، هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تمرین استقامتی به همراه مصرف لیموترش بر سطوح سرمی اندولین-۱ و نیتریک اکساید در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزوتوسین (STZ)<sup>۳</sup> است.

## روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تحقیقات تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل انجام شد. در این تحقیق ۷۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در سن هشت هفتگی و در محدوده‌ی وزنی  $15 \pm$  گرم در شرایط دمایی  $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد تحت شرایط ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی و رطوبت ۵۰ درصد نگهداری شدند و با غذای مخصوص موش (Pellet) تهیه شده از شرکت جوانه‌ی خراسان و آب تغذیه شدند. بعد از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، رت‌ها براساس وزن همسان‌سازی

<sup>2</sup> hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase

<sup>3</sup> Streptozotocin

<sup>1</sup> Nitric Oxide

### مکمل دهی

گروه‌های لیموترش، به مدت شش هفته اسانس لیموترش را به مقدار ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت گاوآز روزانه دریافت کردند [۲۰]. اسانس خالص لیموترش به صورت تجاری از شرکت باریج اسانس کاشان تهیه شد. برای کنترل تأثیر روانی مکمل، گروه‌های تمرین در وهله‌ی متفاوت از گروه تمرین+ مکمل، تمرینات را انجام دادند.

### پروتکل تمرین استقامتی

پروتکل تمرینی به مدت شش هفته (پنج روز در هر هفته) انجام شد. ابتدا، گروه‌های تمرینی به مدت ۹ روز با دستگاه تردمیل (مدل LE9800، ساخت شرکت Harvard Apparatus، فرانسه) با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه آشناسازی شدند. سپس مدت زمان و سرعت به تدریج در طول شش هفته افزایش یافت، به طوری که در هفته‌ی پایانی سرعت به ۳۰ متر بر دقیقه و زمان تمرین به ۵۰ دقیقه در هر روز رسید که شدتی معادل با ۹۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. شوک الکتریکی برای موش‌ها جهت اجرا کامل تمرین در طول دوره انجام شد. گروه‌های کنترل در طول دوره‌ی تمرین در قفس‌ها بدون تمرین نگه داشته شدند [۲۱] (جدول ۱).

و به طور تصادفی به هشت گروه کنترل سالم ( $n=9$ )، گروه کنترل سالم + لیموترش ( $n=9$ )، گروه سالم تمرین استقامتی ( $n=9$ )، گروه سالم تمرین استقامتی+لیموترش ( $n=9$ )، گروه کنترل دیابت ( $n=9$ )، گروه کنترل دیابت+لیموترش ( $n=9$ )، گروه دیابت تمرین استقامتی ( $n=9$ )، گروه دیابت تمرین استقامتی+ لیموترش ( $n=9$ )، تقسیم شدند.

### نحوه‌ی اعمال دیابت

پس از اتمام پروتکل آشناسازی، پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، القاء دیابت با تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن محلول STZ؛ (حل شده در بافر سیترات ۰/۰۵ M با pH: ۴/۵) انجام شد [۱۸]. به موش‌های غیردیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات ۰/۰۵ M با pH: ۴/۵ به صورت درون صفاقی تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانسست بر روی ورید دم، یک قطره‌ی خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و نوار توسط دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت روشه آلمان) اندازه‌گیری و موش‌های صحرائی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰ mg/dl بود، به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون در پایان برنامه‌ی تمرینی نیز قند خون موش‌ها اندازه‌گیری شد [۱۹].

جدول ۱- پروتکل تمرینی

هفته	هفته‌ی اول	۱	۲	۳	۴	۵	۶
سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۴	۲۴	۲۸	۲۸	۳۰
مدت (دقیقه)	۲۰	۳۰	۳۰	۴۰	۴۰	۵۰	۵۰

EDTA<sup>۱</sup> جمع‌آوری و در لوله‌ی حاوی این ماده ریخته شد. نمونه‌های خونی سریع به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پلاسماها در میکروتیوب‌های مخصوص (هر نمونه ۲ عدد) منتقل و در نیتروژن مایع منجمد

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی، ۷۲ سر موش از طریق تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۹۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش و بلافاصله خون از بطن راست با سرنگ آغشته به مایع

<sup>۱</sup> Ethylenediaminetetraacetic acid

شد و جهت اندازه گیری‌های بعدی در فریزر با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه نمونه‌گیری از ساعت ۸ صبح آغاز شد و تا ۱۱:۳۰ صبح تمام یافت. سطوح اندولین-۱ پلاسما، به روش الیزا با حساسیت ۰/۰۱ mM از کیت شرکت کازابایو ساخت کشور ژاپن تعیین شد. همچنین برای بررسی سطوح NO از کیت شرکت پرومگا، ژاپن استفاده شد. با استفاده از این کیت سطوح سرمی نیتريت به‌عنوان یک متابولیت اصلی NO اندازه‌گیری شد.

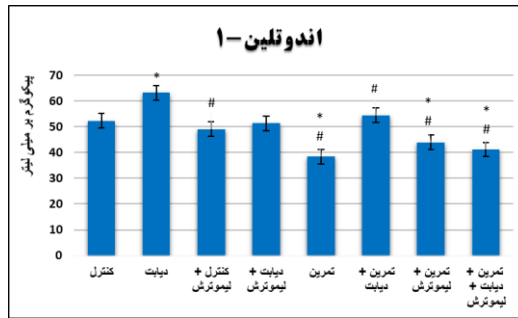
### روش آماری

در بخش آمار توصیفی از شاخص پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف و برای همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) برای تعیین اختلاف در متغیرها بین گروه‌ها به همراه آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمام تحلیل‌های آماری در سطح معنی‌داری  $p \leq 0.5$  انجام گرفت.

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار متغیرهای وزن و قند خون رت‌ها در گروه‌های مختلف

متغیرها	گروه‌ها	کنترل	دیابت + تمرین	دیابت	تمرین + لیموترش	دیابت + تمرین + لیموترش	دیابت + لیموترش	کنترل + لیموترش
وزن هفته اول (کیلوگرم)	۲۰۵±۷	۲۰۷±۵	۲۰۶±۱۱	۲۰۹±۱۰	۲۰۹±۴	۲۱۰±۸	۲۱۲±۶	۲۰۷±۴
وزن هفته آخر (کیلوگرم)	۲۱۹±۱۱	۱۶۵±۱۴	۱۸۶±۰۹	۲۱۶±۱۴	۱۶۹±۷	۱۴۸±۱۰	۱۷۹±۱۵	۱۹۶±۱۰
گلوکز (هفته اول) (mg/dl)	۱۰۵±۱۱	۴۰۹±۹۹	۱۱۱±۸	۴۳۸±۸۱	۱۰۹±۱۰	۴۸۶±۵۸	۴۹۲±۶۱	۱۰۱±۶
گلوکز (هفته آخر) (mg/dl)	۱۰۹±۱۴	۲۹۶±۳۲	۱۰۶±۸	۴۰۵±۶۹	۱۰۶±۱۰	۱۹۹±۲۸	۳۲۴±۵۲	۱۰۹±۶
اندوتلین-۱ (پیکوگرم بر میلی لیتر)	۵۲/۲±۱۳/۳	۵۴/۳±۱۸/۱	۳۸/۳±۹/۹	۶۳/۱±۱۹/۲	۴۳/۹±۱۵/۱	۴۱/۱±۱۰/۳	۵۱/۳±۱۶/۸	۴۹/۱±۱۲/۹
NO (میکرومول بر لیتر)	۱۴/۱±۴/۳	۱۴/۲±۲/۳	۲۳/۱±۶/۸	۹/۸±۱/۲	۱۹/۲±۷/۱	۲۱/۱±۹/۲	۱۰/۲±۳/۶	۱۶/۱±۵/۲

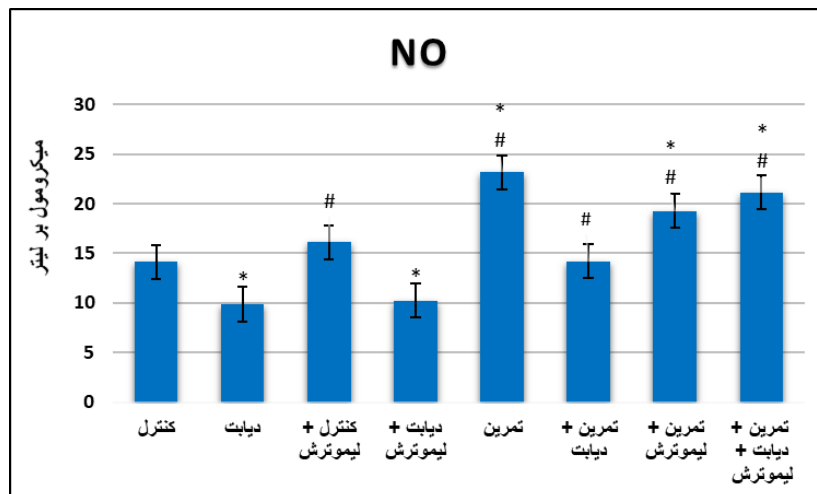
میانگین سطوح اندوتلین-۱ در گروه دیابت در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ( $P=0/013$ ). اما در گروه تمرین استقامتی ( $P=0/001$ )، گروه تمرین استقامتی + لیموترش ( $P=0/020$ ) و گروه دیابت + تمرین استقامتی + لیموترش ( $P=0/010$ ) در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود. همچنین میانگین سطوح اندوتلین-۱ در گروه کنترل + لیموترش ( $P=0/010$ )، گروه تمرین استقامتی ( $P=0/001$ )، گروه تمرین استقامتی + دیابت ( $P=0/029$ )، گروه تمرین استقامتی + لیموترش ( $P=0/001$ ) و گروه دیابت + تمرین استقامتی + لیموترش ( $P=0/001$ ) در مقایسه با گروه دیابت به‌طور معنی‌داری کمتر بود (نمودار ۱).



نمودار ۱- میانگین سطوح اندوتلین-۱ گروه‌های مختلف، گروه کنترل (n=۹)، گروه سالم + تمرین (n=۹)، گروه دیابت (n=۹)، گروه دیابت + تمرین (n=۹)، گروه کنترل + لیموترش (n=۹)، گروه سالم + تمرین + لیموترش (n=۹)، گروه دیابت + لیموترش (n=۹)، گروه دیابت + تمرین + لیموترش (n=۹). در نمودار فوق \* P < 0.05 در مقایسه با گروه کنترل و # P < 0.05 در مقایسه با گروه دیابتی بر روی نمودار مشخص شده است.

NO در گروه کنترل + لیموترش (P=۰/۰۱۱)، گروه تمرین استقامتی (P=۰/۰۰۱)، گروه تمرین استقامتی + دیابت (P=۰/۰۳۲)، گروه تمرین استقامتی + لیموترش (P=۰/۰۱۴) و گروه دیابت + تمرین استقامتی + لیموترش (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه دیابت به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (نمودار ۲).

میانگین سطوح NO در گروه دیابت (P=۰/۰۰۱) و گروه دیابت + لیموترش (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود اما در گروه تمرین استقامتی (P=۰/۰۰۱)، گروه تمرین استقامتی + لیموترش (P=۰/۰۱۸) و گروه دیابت + تمرین استقامتی + لیموترش (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین میانگین سطوح



نمودار ۲- میانگین سطوح NO گروه‌های مختلف، گروه کنترل (n=۹)، گروه سالم + تمرین (n=۹)، گروه دیابت (n=۹)، گروه دیابت + تمرین (n=۹)، گروه کنترل + لیموترش (n=۹)، گروه سالم + تمرین + لیموترش (n=۹)، گروه دیابت + لیموترش (n=۹)، گروه دیابت + تمرین + لیموترش (n=۹). در نمودار فوق \* P < 0.05 در مقایسه با گروه کنترل و # P < 0.05 در مقایسه با گروه دیابتی بر روی نمودار مشخص شده است.

## بحث و نتیجه گیری

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف لیموترش بر سطوح پلاسمایی اندولین-۱ و نیتریک‌اکساید در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزوتوسین انجام گرفت. در مطالعه‌ی حاضر، نشان داده شد شش هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف لیموترش باعث کاهش سطوح اندولین-۱ و افزایش سطوح NO در موش‌های دیابتی شد. گزارش شده است که تمرینات هوازی موجب بهبود عملکرد اندوتلیالی و کاهش ایسکمی می‌کارد می‌شود. بنابراین تمرینات ورزشی از طریق بهبود عملکرد اندوتلیالی و کاهش مقاومت منظم عروقی و افزایش اتساع پذیری سرخرگی، به افزایش جریان خون کرونری و بهبود عملکرد ورزشی منجر می‌شود [۲۲، ۱۰]. لایه‌ی سلولی اندوتلیال دارای کانال‌های یونی اختصاصی از قبیل کانال‌های پتاسیمی-کلسیمی است که در پاسخ به افزایش جریان عروق باز می‌شوند. باز شدن کانال پتاسیمی موجب هیپرپلاریزه شدن سلول‌های اندوتلیال می‌شود و نیروی محرک را در باز نمودن کانال‌های کلسیمی سلول‌های اندوتلیال افزایش می‌دهد و کلسیم شارژ شده، آنزیم اکسید نیتریک سنتاز اندوتلیالی را فعال می‌کند که پس از آن تولید اکسید نیتریک آشکار می‌شود [۲۳، ۱۱]. محرک فیزیولوژیک احتمالی برای تولید اکسید نیتریک افزایش جریان خون در مجرای رگ شناخته شده است، که اثر حاد آن موجب افزایش اکسید نیتریک سنتاز و تعدیل اتساع عروق برای متعادل سازی فشار است. این یافته‌ها این احتمال را تقویت می‌کند که به دلیل این که تمرین منظم به طور مکرر سبب افزایش فشار نبض و پرضربانی می‌شود، در نتیجه می‌تواند در دسترس بودن زیستی اکسید نیتریک را افزایش دهد [۲۴، ۲۵]. همچنین این مطلب مورد توجه قرار گرفته است که ET-۱ پلاسمای موجود در گردش خون از سلول‌های اندوتلیال عروق منشأ می‌گیرد و حجم ET-۱ تراوش کننده در پلازما بازتابی از حجم تولید ET-۱ از سلول‌های اندوتلیال عروق خونی است [۲۵]. به همین دلیل ممکن است که سطوح ET-۱ پلازما بازتابی از سطوح بافتی در برخی از شرایط پاتوفیزیولوژیکی باشد. بنابراین در این پژوهش احتمالاً تغییر ET-۱ موجود در گردش خون به وسیله ورزش ممکن است بازتابی از

اصلاح تولید ET-۱ به وسیله سلول‌های اندوتلیال عروق یا مقدار ET-۱ بافتی در عروق زنان موش‌های دیابتی باشد [۹]. ET-۱ یک فعالیت تکثیر فوق‌العاده بر سلول‌های عضلانی صاف عروق دارد و بنابراین، دلیل پیشرفت آترواسکلروز است [۹]. گزارش شده است که بیان ژنی ET-۱ پیشرفت آترواسکلروز را افزایش می‌دهد [۲۶]. به عبارت دیگر به خوبی مشخص شده است که تمرین منظم تأثیر مفیدی بر سیستم قلبی عروقی می‌گذارد [۲۷]. ورزش طولانی مدت فشار خون را در بیماران مبتلا به فشار خون کاهش می‌دهد [۲۷، ۲۸]. هم‌چنین گزارش شده است که تمرین ورزشی تأثیر مفیدی بر جلوگیری از پیشرفت آترواسکلروز دارد [۲۹]. به هر حال سازوکار دقیقی که به وسیله‌ی آن ورزش موجب کاهش فشار خون و کاهش خطر آترواسکلروز می‌شود هنوز کاملاً مشخص نیست. پژوهش حاضر مشخص کرد که افزایش ET-1 به طور معنی داری پس از طی دوره‌ی تمرینی کاهش یافت. ET-۱ نه تنها یک فعالیت تنگ کننده‌ی قوی بر عروق دارد، بلکه وظیفه‌ی تکثیر سلول‌های عضلانی صاف عروق را به عهده دارد [۲۹]. بنابراین کاهش تولید ET-۱ در سلول‌های اندوتلیال به وسیله‌ی ورزش تا حدی تأثیرات مفیدی بر روی سیستم قلبی عروقی بیماران دیابتی دارد. از طرف دیگر میزان فعالیت و مقادیر گونه‌های واکنشگر اکسیژنی<sup>۱</sup> (ROS) و مقادیر لیپوپروتئین کم چگالی اکسید شده به عنوان یکی از عوامل مؤثر بر فعالیت زیستی نیتریک اکساید به حساب می‌آیند. با وجود این فعالیت و عملکرد اندوتلیال طبیعی نیز به تعادل اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها وابسته است [۳۰]. از طرف دیگر هایپرگلیسمی یکی از دلایل اصلی اختلال عملکرد اندوتلیال در دیابت به شمار می‌رود. هایپرگلیسمی یکی از عواملی است که تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژنی را افزایش می‌دهد [۳۱]. در شرایط استرس اکسایشی، سوپر اکسید با نیتریک اکساید ترکیب می‌شود و باعث تولید پروکسی نترات می‌گردد. در نتیجه میزان فعالیت زیستی نیتریک اکساید و نیمه عمر آن را کاهش می‌دهد [۳۰]. تمرین ورزشی و به ویژه تمرین هوازی باعث کاهش اکسیدان‌ها و افزایش آنتی اکسیدان‌ها می‌شود [۳۰، ۳۲]. از آنجایی که اکسیدان سوپر اکسید باعث کاهش نیتریک اکساید می‌شود،

<sup>1</sup> Reactive Oxygen species

کننده‌ی عروق یا مهار مولکول‌های انقباض عروق [۳۵]. در نتیجه، مطالعات اضافی برای تعیین سازوکارهایی که لیموترش از طریق آن باعث گشاد شدن عروق و ارزیابی اثرات لیموترش در مدل‌های حیوانی آترواسکلروز انجام می‌شود، لازم است [۱۷]. تحقیق حاضر به تنهایی قادر نبود تمامی مسیرها و فاکتورهای درگیر در عملکرد اندوتلیال را کنترل کند و از این مورد می‌توان به‌عنوان محدودیت این تحقیق نام برد، از این رو پیشنهاد می‌شود که محققان اثرات متقابل بقیه‌ی فاکتورهای درگیر در این فرآیند را مورد بررسی قرار دهند. به طور کلی براساس نتایج حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً تمرین استقامتی به همراه مصرف لیموترش از طریق کاهش غلظت سطوح اندوتلین-۱ و افزایش سطوح NO منجر به بهبود عملکرد اندوتلیالی و رفع انسداد عروق در بیماران دیابتی می‌شود.

### سپاسگزاری

مراتب سپاس و قدردانی خود را از تمام افرادی که در پژوهش حاضر همکاری داشته‌اند اعلام می‌نمایم.

بنابراین فعالیت ورزشی هوازی باعث بهبود فعالیت زیستی نیتریک اکساید می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که انسولین در شرایط فیزیولوژیکی باعث رهایش نیتریک اکساید می‌شود، درحالی‌که در هنگام مقاومت انسولینی مسیر رهایش نیتریک اکساید آسیب می‌بیند و میزان رهایش نیتریک اکساید کاهش می‌یابد [۳۳]. بنابراین، یکی دیگر از دلایل افزایش تولید نیتریک اکساید را می‌توان ناشی از کاهش مقاومت انسولین دانست. NO یک مولکول قوی گشاد کننده‌ی عروق اندوتلیال است که اثرات ضد التهابی و ضد ترومبوتیکی نیز به نمایش می‌گذارد. با توجه به خواص آن، NO می‌تواند به‌عنوان یک ماده‌ی ضد آترواسکلروتیک در نظر گرفته شود و اندازه‌گیری آن نشانگر عملکرد اندوتلیال باشد [۳۴]. این نتایج نشان می‌دهد که پاسخ عروق ناشی از لیموترش مستقل از سنتز NO است. این اثرات را می‌توان با خواص آنتی‌اکسیدانی لیموترش توضیح داد، که می‌تواند با افزایش دسترسی به دسترس مولکول‌های گشادکننده عروق، اختلالات عروق را بهبود بخشد [۳۵]. با این حال، ما نمی‌توانیم این موضوع را رد کنیم که لیموترش می‌تواند سنتز سایر مولکول‌های واکنشی که در این مطالعه ارزیابی نشده‌اند را تنظیم کند (به‌عنوان مثال افزایش بیان عوامل گشاد

### مآخذ

1. Kearney MT. *Chronic heart failure and type 2 diabetes mellitus: The last battle?*: SAGE Publications Sage UK: London, England; 2015.
2. Liang Q, Kobayashi S. Mitochondrial quality control in the diabetic heart. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2016;95:57-69.
3. Cubbon R, Woolston A, Adams B, Gale C, Gilthorpe M, Baxter P, et al. Prospective development and validation of a model to predict heart failure hospitalisation. *Heart* 2014; 100(12):923-9.
4. Reynolds LJ, Credeur DP, Manrique C, Padilla J, Fadel PJ, Thyfault JP. Obesity, type 2 diabetes, and impaired insulin-stimulated blood flow: role of skeletal muscle NO synthase and endothelin-1. *Journal of applied physiology* 2017;122(1):38-47.
5. Akoumianakis I, Antoniadis C. Impaired vascular redox signaling in the vascular complications of obesity and diabetes mellitus. *Antioxidants & redox signaling* 2019; 30(3):333-53.
6. Sansbury BE, Hill BG. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide. *Free radical biology and medicine* 2014; 73:383-399.
7. Orlando A, Viazzi F, Giussani M, Nava E, Cazzaniga E, Bonino B, et al. Endothelin-1/nitric oxide balance and HOMA index in children with excess weight and hypertension: a pathophysiological model of hypertension. *Hypertension Research* 2019; 42: 1192-1199.
8. Babik B, Peták F, Agócs S, Blaskovics I, Alács E, Bodó K, et al. Diabetes mellitus: endothelial dysfunction and changes in hemostasis. *Orvosi hetilap* 2018; 159(33):1335-45.
9. Lee J-H, Lee R, Hwang M-H, Hamilton MT, Park Y. The effects of exercise on vascular endothelial function in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology & metabolic syndrome* 2018;10(1):15.
10. Jun J-K, Park H-G, Li W, Lee Y-R, Jung J-H, Lee W-L, et al. Effects of endurance exercise on estrogen receptors, endothelin-1, and eNOS expression in aorta of OVX rats. *Exercise Science* 2016; 25(3):159-65.
11. Olver TD, Laughlin MH. Endurance, interval sprint, and resistance exercise training: impact on microvascular dysfunction in type 2 diabetes. *American journal of*

- physiology Heart and circulatory physiology* 2016; 310(3):H337-50.
12. Khodsooz S, Moshtaghian J, Eivani M. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* (Lemon Balm) in alloxan-induced diabetic rats. *Physiology and pharmacology* 2016; 20(1):24-30.
  13. Weidner C, Wowro SJ, Freiwald A, Kodelja V, Abdel-Aziz H, Kelber O, et al. Lemon balm extract causes potent antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects in insulin-resistant obese mice. *Molecular nutrition & food research* Mol Nutr Food Res 2014; 58(4):903-7.
  14. Jandaghi P, Noroozi M, Ardalani H, Alipour M. Lemon balm: A promising herbal therapy for patients with borderline hyperlipidemia—A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complementary therapies in medicine* 2016; 26:40-126.
  15. Fazli D, Malekirad AA, Pilevarian AA, Salehi H, Zerratpishe A, Rahzani K, et al. Effects of *Melissa officinalis* L. on oxidative status and biochemical parameters in occupationally exposed workers to aluminum: a before after clinical trial. *International Journal of Pharmacology* 2012; 8(5):455-8.
  16. Adelifar A, Motamedi P, Gholam Hossein YM. The effect of short-term supplementation of *Melissa officinalis* extract on the level of serum malondialdehyde and total antioxidant capacity after aerobic activity at a negative slope. *Eur Online J Nat Social Sci* 2016; 5(1):241-8.
  17. Li J, Wang JJ, Chen D, Mott R, Yu Q, Ma J-x, et al. Systemic administration of HMG-CoA reductase inhibitor protects the blood-retinal barrier and ameliorates retinal inflammation in type 2 diabetes. *Experimental eye research* 2009; 89(1):71-8.
  18. Gajdosik A, Gajdosikova A, Stefek M, Navarova J, Hozova R. Streptozotocin-induced experimental diabetes in male Wistar rats. *General physiology and biophysics* 1999; 18:54-62.
  19. Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *Journal of Applied Physiology* 2005; 98(3):804-9.
  20. Mojtahedin A. Investigation of Peripheral Effects of Citrus Limon Essential Oil on Somatic Pain in Male Wistar Rats: Role of Histaminergic System. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 2016; 6(3):399-408.
  21. Sun L, Shen W, Liu Z, Guan S, Liu J, Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. *Life sciences* 2010; 86(1-2):39-44.
  22. Taş M, Kiyici F. The chronic effect of speed exercises of football players on the Nitric oxide (NO) level. *AGE* 2010; 18(19.00):30.00.
  23. Saygin O. Acute effect of speed exercise on nitric oxide (NO) level of footballers. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2009; 39(3):361-5.
  24. Okada S, Hiuge A, Makino H, Nagumo A, Takaki H, Konishi H, et al. Effect of exercise intervention on endothelial function and incidence of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *Journal of atherosclerosis and thrombosis* 2010;1005120226.
  25. Qiu S, Cai X, Yin H, Sun Z, Zügel M, Steinacker JM, et al. Exercise training and endothelial function in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Cardiovascular diabetology* 2018; 17(1):64.
  26. Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation* 2003; 108(5):530-5.
  27. Ye F, Wu Y, Chen Y, Xiao D, Shi L. Impact of moderate-and high-intensity exercise on the endothelial ultrastructure and function in mesenteric arteries from hypertensive rats. *Life sciences* 2019; 222:36-45.
  28. Carvalho EEV, Crescêncio JC, Elias Jr J, Brito LBA, Gallo Jr L, Simoes MV. Improved endothelial function and reversal of myocardial perfusion defects after aerobic physical training in a patient with microvascular myocardial ischemia. *American Journal of physical medicine & rehabilitation* 2011; 90(1):59-64.
  29. Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *European Journal of heart failure* 2008; 10(8):725-32.
  30. Wisløff U, Støylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognum Ø, Haram PM, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation* 2007; 115(24):3086-94.
  31. Brouwers O, Niessen P, Haenen G, Miyata T, Brownlee M, Stehouwer C, et al. Hyperglycaemia-induced impairment of endothelium-dependent vasorelaxation in rat mesenteric arteries is mediated by intracellular methylglyoxal levels in a pathway dependent on oxidative stress. *Diabetologia* 2010; 53(5):989-1000.
  32. Gordon LA, Morrison EY, McGrowder DA, Young R, Fraser YTP, Zamora EM, et al. Effect of exercise therapy on lipid profile and oxidative stress indicators in patients with type 2 diabetes. *BMC complementary and alternative medicine* 2008; 8(1):1-10.
  33. Strembitska A, Mancini SJ, Gamwell JM, Palmer TM, Baillie GS, Salt IP. A769662 inhibits insulin-stimulated Akt activation in human macrovascular endothelial cells independent of AMP-activated protein kinase. *International Journal of molecular sciences* 2018; 19(12):3886.
  34. Li H, Förstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *The Journal of pathology* 2000; 190(3):244-54.
  35. Campos J, Schmeda-Hirschmann G, Leiva E, Guzman L, Orrego R, Fernandez P, et al. Lemon grass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) polyphenols protect human umbilical vein endothelial cell (HUVECs) from oxidative damage induced by high glucose, hydrogen peroxide and oxidised low-density lipoprotein. *Food chemistry* 2014; 151:175-81.



## **THE EFFECT OF SIX WEEKS OF ENDURANCE TRAINING WITH LEMON CONSUMPTION ON PLASMA LEVELS OF ENDOTHELIN-1 AND NITRIC OXIDE IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS**

Kambiz Moradi Dehbaghi<sup>1</sup>, Masoud Jokar<sup>\*2</sup>

1. *Department of Physical Education, Islamic Azad University, West Tehran Branch, Tehran, Iran*

2. *Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran*

### **ABSTRACT**

**Background:** The purpose of this study was to evaluate the effect of six weeks of endurance training with sour lemon consumption on plasma levels of endothelin-1 and nitric oxide in streptozotocin-induced diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 72 male Wistar rats (Weight;  $200 \pm 12$  g) were selected and randomly divided into eight groups after becoming diabetic. Endurance training protocol was performed on rats for 6 weeks. Lemon essential oil (50 mg/kg) was administered using gavage. Plasma endothelin-1 levels were measured by ELISA and serum nitrite levels were measured as a major metabolite of nitric oxide. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for statistical analysis.

**Results:** The results showed that the mean levels of endothelin-1 in the endurance training + lemon group and diabetes + endurance training + lemon were significantly lower than the control group ( $p < 0.05$ ). Also, the mean nitric oxide levels in the diabetes + lemon group were significantly lower compared to the control group, but in the endurance + lemon training group and the diabetes + endurance training + lemon group was significantly higher than the control group ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** According to the results of this study, it can be concluded that endurance training with consumption of lemon may improve endothelial function and vascular occlusion in diabetic patients by reducing the concentration of endothelin-1 levels and increasing nitric oxide levels.

**Keywords:** Diabetes, Endothelin-1, Nitric Oxide, Endurance Training, STZ

---

\* Tehran-South Mofteh Street-Kharazmi University-Physical Education Management, Postal Code: 1571914911, Postal Box: 158153587, Fax: 02186072699, Phone: 09125841712, Email: m.jokar742@gmail.com