**مقاله پژوهشی**

فصلنامه علمی – پژوهشی طب مکمل، شماره۴، زمستان ۱۳۹۷

# اثر تعاملی تمرین اینتروال و عصارۀ اتانولی گیاه پرسیاوشان بر سطوح متالوتیونین ریۀ موش‌های نر

فاطمه پیری[۱]، شادمهر میردار [۲*]، مهدی هدایتی [۳]

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکدۀ تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران.
۲. استاد، دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکدۀ تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران.
۳. دانشیار، دکترای بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکدۀ علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت:۱۳۹۷/۰۱/۲۶ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۷/۰۸/۰۹

## چکیده

**مقدمه:** هدف از این تحقیق، بررسی اثر تعاملی تمرین اینتروال و عصارۀ اتانولی گیاه پرسیاوشان بر سطوح متالوتیونین ریۀ موش‌های نر بود.

**مواد و روش‌ها:** بیست‌وپنج سر موش صحرایی ویستار نر سه‌هفته‌ای با میانگین وزن ۹ ± ۶۸ گرم پس از دو هفته آشنایی با محیط به‌طور تصادفی به پنج گروه «کنترل ۶ هفته‌ای، کنترل ۹ هفته‌ای، تمرین ۶ هفته‌ای، تمرین ۹ هفته‌ای و گروه تعاملی تمرین و مکمّل پرسیاوشان (۶ هفته تمرین اینتروال + ۳ هفته مکمّل پرسیاوشان)» تقسیم شدند. پس از هفتۀ ششم روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم عصارۀ اتانولی گیاه پرسیاوشان به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت گاواژ به گروه‌های مکمّل خورانده شد. گروه تمرین اینتروال به مدت شش هفته، ۵ جلسۀ ۳۰ دقیقه‌ای در هفته با سرعت ۱۵ تا ۷۰ متر بر دقیقه تمرین کردند. در پایان، جهت اندازه‌گیری سطح متالوتیونین، بافت ریۀ موش‌ها خارج شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح $P\leq ۵٪$ تجزیه‌وتحلیل شد.

**یافته‌ها:** تمرین اینتروال موجب افزایش معنی‌دار سطوح متالوتیونین ریه در گروه تمرین ۶ هفته‌ای (۶٪ ± ۰/۵۲) نسبت به گروه‌های کنترل ۶ هفته‌ای (۴٪ ± ۰/۲۸)، کنترل ۹ هفته‌ای (۵٪ ± ۰/۳۲)، تمرین ۹ هفته‌ای (۴٪ ± ۰/۳۴) و ترکیب تمرین + مکمّل پرسیاوشان (۴٪ ± ۰/۳۸) شد. باوجوداین، تعامل تمرین + مکمّل پرسیاوشان بر سطوح متالوتیونین ریۀ موش‌های نر اثر معنی‌دار نداشت ($p>۵٪$).

**نتیجه‌گیری:** شش هفته تمرین اینتروال، سطوح متالوتیونین ریۀ موش‌ها را به‌طور معنی‌دار افزایش داد. احتمالاً اثر تعاملی مکمّل‌یاری پرسیاوشان و تمرین اینتروال می‌تواند با تعدیل سطوح متالوتیونین ریه به کاهش فشار اکسیداتیو ریوی کمک کند.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین اینتروال؛ پرسیاوشان؛ متالوتیونین ریه؛ موش‌های نر.

*نویسنده مسئول: E.mail: sh.mirdar@umz.ac.ir

## مقدمه

ورزشکاران استقامتی به‌طور گسترده از تمرینات اینتروال استفاده می‌کنند. این نوع تمرینات، نمونه‌ای از تمرینات استقامتی با دورهٔ استراحت و کاهش شدت تمرین به‌صورت متناوب است (۱). اگرچه چنین تمریناتی یک عامل اساسی در شرایط ورزشی است و با پیشرفت در ظرفیت عملکرد بدنی مرتبط است (۲) اطلاعات اندکی در مورد میزان تغییرات بدنی که در پاسخ به این نوع تمرینات رخ می‌دهد، وجود دارد. همچنین، آثار و ویژگی‌های بهینهٔ تمرینات اینتروال نامشخص است. برخی پژوهش‌ها نشان داده است تمرین اینتروال می‌تواند بر سازگاری‌های قلبی – تنفسی اثر مثبت داشته باشد (۳).

متالوتیونین‌ها یکی از عواملی هستند که تحت تأثیر تمرین قرار می‌گیرند. درواقع، متالوتیونین‌ها پروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم در حدود ۶ تا ۸ هزار دالتون، سرشار از اسیدآمینهٔ سیستئین، غیرآنزیمی و متصل‌شونده به فلزات هستند (۴). بیان متالوتیونین‌ها در بافت ریه در مطالعات اخیر گزارش شده است (۵ و ۶). مهم‌ترین نقش متالوتیونین‌ها کنترل جذب، متابولیسم، هموستاز و ذخیرهٔ عناصر کمیاب ضروری و غیرضروری است (۷)؛ به‌طوری‌که اختلال در میزان این عناصر می‌تواند منجر به بیان متالوتیونین‌ها در راه‌های هوایی در دستگاه ریوی شود (۸). علاوه بر این، متالوتیونین یک عامل ضداکسایشی مهم و ویژه در ریه‌هاست (۹)؛ اما تأثیر فعالیت ورزشی بر روی آن در بافت ریوی به‌خوبی مشخص نشده است. گزارش شده است تمرینات ورزشی غلظت متالوتیونین را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار می‌دهد. در تحقیقی نشان داده شد دویدن ارادی موجب افزایش معنی‌دار متالوتیونین در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل شد (۷). هاشیموتو و همکاران نیز نشان دادند دو هفته تمرین ورزشی منظم روی نوارگردان، سطوح متالوتیونین در ستون مهرهٔ موش‌ها را افزایش داد (۱۰). لی و همکاران نشان دادند غلظت متالوتیونین پس از ده هفته شنای وامانده‌ساز در بافت‌های ریه، کبد، قلب و عضلهٔ اسکلتی افزایش یافت (۱۱). باوجوداین، در تحقیق میردار و همکاران پس از تمرین استقامتی شنا تغییر معنی‌داری در مقادیر متالوتیونین گروه تمرین ایجاد نکرد (۱۲). شادمهری و همکاران نیز عدم‌تغییر سطح متالوتیونین بافت قلب موش‌های صحرایی را پس از هشت هفته تمرین هوازی گزارش کردند (۱۳).

از طرفی به دلیل نگرانی روزافزون در مورد عوارض داروهای شیمیایی و بی‌اثر بودن تعدادی از آن‌ها در مصرف طولانی‌مدت، استفاده از ترکیبات طبیعی به‌صورت جایگزین یا مکمّل درمان با عوارض کمتر و خواص متعدد و در برخی موارد به‌عنوان تنها درمان مؤثر، بیش‌ازپیش موردتوجه قرار گرفته است (۱۴). «پرسیاوشان» گیاهی است علفی و پایا از خانوادهٔ سرخس، با ریزوم قهوه‌ای‌رنگ، باریک و گره‌دار و دارای ریشه‌هایی باریک و نازک است. محل رویش این گیاه بیشتر در اروپای جنوبی، کوه‌های آلپ و سواحل آتلانتیک، تهران و مناطق شمالی ایران از جمله مازندران و گیلان است (۱۵). نتایج حاصل از مطالعات گیاه‌شناسی نشان می‌دهد موسیلاژ موجود در این گیاه خاصیت نرم‌کنندگی سینه و اندام تنفس فوقانی را دارد و موجب آسان شدن خروج خلط می‌شود. پرسیاوشان در طبّ سنّتی به‌عنوان داروی ضدسرفه، تب‌بر، خلط‌آور شناخته می‌شد و در رفع سرماخوردگی، تنگی نفس و درمان برونشیت و التهاب گلو جایگاه رفیعی داشت و از آن در درمان بیماری‌های تنفسی به‌صورت چای و شربت استفاده می‌شد. بر اساس تحقیقات، فلاونوئیدهای موجود در این گیاه (روتین و ایزوکورستین) اثر ضدالتهاب و ضدآلرژی دارند و علاوه بر این، دارای اثر حفاظت از عروق، تأثیرگذاری بر هماتوکریت و زمان پرومبوپلاستین و حجم گلبول‌های قرمز هستند (۱۶). از سویی، ارزیابی فیتوشیمیایی گیاه پرسیاوشان نشان از حضور مجموعه‌ای از ترکیبات ازجمله فلاونوئیدها، تری‌ترپنوئیدها، پروپانوئیدها، اولی‌آننس‌ها، کربوهیدرات‌ها، کاروتنوئیدها و آلاسایکلیس‌ها در این گیاه دارویی دارد. بسیاری از ترکیبات یادشده توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و

کاهش التهاب را دارند. در این راستا گزارش شده است عصارۀ گیاه پرسیاوشان توانایی مهار پراکسیداسیون چربی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها و افزایش محتوای گلوتاتیونی تام را دارد (۱۷).

نداشتن فعالیت بدنی عامل مهم مرگ‌ومیر است و با چندین بیماری غیرواگیر مرتبط است. شواهد حاصل از ارتباط فعالیت بدنی با سلامت تنفسی ضعیف است؛ به‌طوری‌که تعداد کمی از مطالعات، ارتباط سودمند بین فعالیت بدنی و سلامت تنفسی را نشان داده‌اند (۱۸ – ۲۰). از طرفی، نتایج نوع تمرین بر شاخص‌های تنفسی، متناقض است. فعالیت بدنی بالاتر با کاهش عملکرد ریه همراه است و خطر ابتلا به بیماری‌های تنفسی را افزایش می‌دهد. تمرین ورزشی با شدت بالا می‌تواند شرایطی از تنش اکسیداتیو را به وجود آورد که در آن تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن بر سیستم دفاع ضداکسیدانی غلبه کند. در چنین مواردی گونه‌های واکنشی اکسیژن می‌توانند به انواع مولکول‌های زیستی حمله کنند و باعث از بین رفتن عملکرد آن‌ها شوند (۲۱). بنابراین گمان می‌رود تمرین‌های تناوبی با شدت بالا به افزایش تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن منجر می‌شوند و بدن انسان برای مقابله با این وضعیت نیاز به ضداکسیدان‌های بیشتری دارد. ازاین‌رو با توجه به آثار مفید پرسیاوشان بر دستگاه تنفس و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن (۲۲)، استفاده از چنین مکمّلی در کنار تمرین تناوبی شدید ممکن است برای بافت ریه و درنهایت برای عملکرد ورزشکاران مفید باشد. با توجه به نتایج متفاوت موجود درزمینۀ تمرینات ورزشی شدید برای ایجاد حداکثر سازگاری ریوی و باوجود مزایای درمانی گیاه پرسیاوشان، تحقیقات اندکی آثار این گیاه ارزشمند به همراه تمرینات ورزشی به‌عنوان مکمّل محافظتی ریه را بررسی کرده‌اند (۲۳ و ۲۴). لذا لازم است آثار این گیاه به همراه تمرینات ورزشی به‌عنوان مکمّل محافظتی ریه بیشتر بررسی شود. بر این اساس، تحقیق حاضر قصد دارد اثر تعاملی تمرین اینتروال و عصارۀ اتانولی گیاه پرسیاوشان بر سطوح متالوتیونین ریۀ موش‌های نر را بررسی کند.

## مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی است. آزمودنی‌های این پژوهش موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با گروه‌های سنّی مشابه بودند که به گروه‌های مختلف تجربی تقسیم شدند و در یک طرح ۶ و ۹ هفته‌ای شرکت داده شدند. نمونه‌ها شامل ۲۵ سر موش صحرایی نر ویستار ۴ هفته‌ای انستیتو پاستور آمل با میانگین وزنی ۹ ± ۶۸ گرم بودند که به‌طور تصادفی به ۵ گروه «کنترل ۶ هفته‌ای، کنترل ۹ هفته‌ای، تمرین ۶ هفته‌ای، تمرین ۹ هفته‌ای و گروه تعاملی تمرین و مکمّل پرسیاوشان (تمرین ۶ هفته + ۳ هفته مکمّل پرسیاوشان)» تقسیم شدند و پس از دو هفته آشنایی با محیط و آشنایی با فعالیت بر روی نوارگردان، از شش هفتگی تمرین را شروع کردند. سپس به محیط آزمایشگاه منتقل شدند و جهت سازگاری با محیط جدید، به مدت یک هفته در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های پلی-کربنات شفاف با دمای ۲ ± ۳۲ درجۀ سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ٪۵۵ و چرخۀ تاریکی به روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طی دورۀ پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به‌صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت. پروتکل این مطالعه بر مبنای دستورالعمل کمیتۀ تحقیقات و اخلاق دانشکدۀ فناوری‌های نوین پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و راهنمای مؤسسۀ ملی بهداشت، مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ( NIH publications No. 80–23) در دانشگاه مازندران طراحی و اجرا شد.

برنامۀ تمرینی اینتروال

برنامۀ آشنایی شامل ۴ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۱۰ تا ۲۵ متر بر دقیقه در شیب صفر و مطابق با پروتکل تمرینی بود که به‌صورت اینتروال اجرا شد. برای تحریک موش‌ها به دویدن، شوک الکتریکی ملایمی در عقب دستگاه تعبیه شد. برای جلوگیری از اثر احتمالی شوک الکتریکی بر یافته‌های پژوهش، در مرحلۀ آشناسازی، به روش شرطی‌سازی با صدا، در روی نوارگردان به حیوانات

آموزش داده شد تا از نزدیک شدن و استراحت در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند. برنامهٔ تمرینی اینتروال فزاینده به شکل ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای انجام شد؛ به‌گونه‌ای که سرعت استراحت نصف سرعت دویدن بود و کل زمان تمرین روزانه برای هر موش ۳۰ دقیقه طول می‌کشید. آزمودنی‌ها در تمام طول هفته به‌غیراز روزهای پنج‌شنبه و جمعه تمرین کردند. موش‌ها برنامهٔ تمرین اینتروال فزاینده را با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه شروع و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه به پایان رساندند. به‌غیراز زمان فعالیت اصلی، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد (۲۵).

برای تهیهٔ عصارهٔ اتانولی گیاه پرسیاوشان از روش خیساندن استفاده شد. بدین‌ترتیب که ۵۰ گرم پودر پرسیاوشان به مدت ۷۲ ساعت در محلول ٪۷۰ اتانول و ٪۳۰ آب مقطر خیسانده شد. در طول این مدت درب ظرف حاوی گیاه پرسیاوشان با پارافیلم به‌خوبی پوشانده و در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد دور از نور نگه‌داری شد. مخلوط، هر ۶ ساعت یک‌بار با میلهٔ شیشه‌ای هم زده شد. پس از گذشت مدت‌زمان یادشده، مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد و حلّال آن با روتاری با دمای زیر ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد (ملایم) حذف شد. عصارهٔ غلیظ‌شده وزن شد و بازده آن ۲۸۰ میلی‌لیتر به دست آمد (۲۶) (جدول شمارهٔ ۱). ترکیب عصارهٔ گیاه پرسیاوشان ۱ گرم عصاره در ۱۰ میلی‌لیتر آب آشامیدنی بود که به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت گاواژ به گروه‌های مکمّل خورانده شد (۲۷ و ۲۸).

در پایان دورهٔ اینتروال از ریهٔ موش‌ها نمونه‌گیری بافتی شد. برای این منظور با تزریق ۳ واحد محلول کتامین (۳۰ – ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۳ – ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) موش‌ها بی‌هوش شدند و بافت ریهٔ آن‌ها خارج شد. بافت‌های ریه با استفاده از ترازوی سارتوریوس بی‌ال ۱۵۰۰ با دقت ۰/۰۰۱ وزن شد.

سطوح متالوتیونین ریهٔ موش‌ها با کیت چینی بیوتک به روش الایزا با دستگاه الایزاریدر مدل سان شرکت تیکن رایس اتریش تعیین شد. برای این منظور، ابتدا بافت ریه با مایع نیتروژن پودر شد. سپس در محلول بافر هموژنیزه شد و به مدت ۱۵ دقیقه و سرعت ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شد. محلول به‌دست‌آمده برای سنجش شاخص موردنظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد.

برای مقایسهٔ متغیرها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن از آزمون LSD استفاده شد. تمام محاسبات در نرم‌افزار آماری SPSS/22 انجام شد. سطح معناداری آزمون‌ها ٪۵>P در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد متالوتیونین ریه در گروه‌ها در جدول شمارهٔ ۲ درج شده است. نتایج نشان داد تمرین اینتروال پس از ۶ هفته باعث افزایش معنی‌دار سطوح متالوتیونین ریه نسبت به گروه کنترل ۶ هفته‌ای (p=۰/۰۰۱) و ۹ هفته‌ای (p=۰/۰۰۱) و مکمّل (p=۰/۰۰۱) شد (جدول شمارهٔ ۳). همچنین مشخص شد بین گروه تمرین ۶ هفته‌ای و تمرین ۹ هفته‌ای اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P=۰/۰۰۱) (نمودار شمارهٔ ۱).

## بحث

بر اساس تحقیق حاضر، تمرین اینتروال پس از ۶ هفته سطوح متالوتیونین ریه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در مطالعات قبلی تمرینات ورزشی منظم موجب افزایش سطوح متالوتیونین در بافت‌های مختلف شده بود. این یافتهٔ تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات قبلی همخوان است (۷، ۱۰ و ۱۱). پژوهش‌های اندکی که در رابطه با اثر تمرین بر سطوح متالوتیونین انجام شده سازوکارها و مکانیسم‌های عمل متفاوتی را در تفسیر نتایج بیان کرده‌اند. متالوتیونین یک پروتئین القاشده به‌وسیلهٔ استرس و متعلق به پروتئین‌های مرحلهٔ حاد است که در بیگانه‌خواری رادیکال‌های آزاد نقش دارد و این ویژگی آن حتی مؤثرتر از گلوتاتیون است (۲۹ ، ۳۰). این ویژگی متالوتیونین نقش تشخیصی ارزشمندی در نظارت بر

فعالیت‌های جسمانی و اختلالات در تعادل اکسیدانت و آنتی‌اکسیدانت ایفا می‌کند (۳۱). تحقیقات نشان داد استرس اکسایشی نقش مهمی در پاتوژنز آسیب حاد ریوی ایفا می‌کند و متالوتیونین می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده در مقابل پراکسید لیپید و سوپراکسید آنیون از ریه حفاظت کند (۳۲). همچنین تحقیقات روی عضلهٔ اسکلتی انسان نشان داد افزایش تولید رادیکال‌های آزاد طی ورزش ممکن است باعث تحریک افزایش سطح متالوتیونین و درنتیجه تسهیل‌سازی اثر پاک‌سازی گونه‌های اکسیژن واکنشی تولیدشده در طی ورزش شود (۳۳). بر همین اساس محققان بیان کردند متالوتیونین‌ها عوامل آنتی‌اکسیدانی هستند که از بافت‌های مختلف طی شرایط پاتولوژیکی محافظت می‌کنند (۳۲). بنابراین افزایش متالوتیونین پس از تمرین اینتروال در تحقیق حاضر می‌تواند نشان‌دهندهٔ مکانیسمی باشد که موجب حفاظت در مقابل استرس و آسیب‌های سلول‌ها در هنگام قرارگیری در شرایط تمرینات اینتروال و هایپوکسی ناشی از آن شود. با توجه به استرس اکسایشی ناشی از تمرین اینتروال به نظر می‌رسد افزایش سطوح متالوتیونین یک روش اثرگذار در حفاظت از ریه در مقابل شرایط اعمال‌شده باشد. همچنین در توجیه مکانیسم‌های اثرگذار بر متالوتیونین نشان داده شد فعال‌سازی عوامل رونویسی همچون NF-kB و متعاقباً تولید میانجی‌های پیش‌التهابی نقش مهمی در توسعهٔ آسیب حاد ریه‌ها ایفا می‌کند (۳۴). فعال‌سازی NF-kB در ریه پس از تزریق لیپوپلی‌ساکارید به درون نای با بیان mRNA سایتوکاین‌ها، حاکی از این است که فعال‌سازی NF-kB یک رویداد مؤثر در تولید نوتروفیل‌ها به همراه التهاب ریه است (۳۵). متالوتیونین در سیتوپلاسم و همچنین هستهٔ سلول‌ها وجود دارد و پیشنهاد شده که متالوتیونین می‌تواند با عوامل رونویسی در هسته تعامل داشته باشد. درواقع، TNF القاکنندهٔ فعال‌سازی NF-kB در سلول‌های موش دارای نقص متالوتیونین است (۳۶). بنابراین در تحقیق حاضر تمرینات اینتروال احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیر NF-kB و تأثیر بر عوامل التهابی به افزایش سطوح متالوتیونین در ریه منجر شد. درمجموع، مکانیسم بیولوژیکی که احتمالاً می‌تواند باعث افزایش سطوح متالوتیونین ریه به همراه فعالیت بدنی شود به‌خوبی شناخته نشده است. باوجوداین، مخالف با یافته‌های تحقیق حاضر، پروتکل وامانده‌ساز قبل و بعد از تمرینات استقامتی تغییر معنی‌داری را در مقادیر متالوتیونین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد اما باعث کاهش پاسخ متالوتیونین به پروتکل وامانده‌ساز برابر شد (۳۷). احتمالاً این نتایج حاکی از پایین بودن ظرفیت ضداکسایشی قلب حتی در آزمودنی‌های سالم و آسیب‌پذیر بودن به هنگام اجرای فعالیت‌های شدید و طاقت‌فرسا بود. همچنین گزارش شده است تمرین استقامتی شنا آپوپتوزیس کبد ناشی از کادمیوم را به‌طور معنی‌داری کاهش داد اما بر تغییرات غلظت متالوتیونین کبدی تأثیر معنی‌دار نداشت (۱۲). عدم‌تغییر غلظت متالوتیونین کبد موش‌های مادر در اثر تمرینات شنا می‌تواند به‌عنوان نشانهٔ عدم ایجاد فشار اکسایشی در اثر تمرین شنا تفسیر شود؛ زیرا متالوتیونین یک پروتئین مرحلهٔ حاد است که در واکنش به فشارهای فیزیکی و شیمیایی در بدن القا می‌شود. علاوه بر این، عدم‌تغییر سطح متالوتیونین بافت قلب موش‌های صحرایی پس از تمرین هوازی و تمرین اینتروال با شدت بالا گزارش شده است (۱۳ و ۳۸). احتمالاً عدم همخوانی نتایج این تحقیق با یافته‌های فوق را بتوان به نوع بافت موردبررسی نسبت داد. در پژوهش حاضر سطوح متالوتیونین بافت ریه بررسی شد؛ اما در پژوهش‌های فوق سطوح متالوتیونین بافت قلب، کبد و پلاسما آزمایش شد. از طرفی مدت جلسات تمرین و مدت‌زمان انجام پروتکل تمرین نیز متفاوت بود.

همچنین استفاده از مکمّل گیاهی پرسیاوشان متعاقب تمرین اینتروال باعث افزایش سطوح متالوتیونین نسبت به گروه‌های کنترل شد؛ اما این افزایش معنی‌دار نبود. پرسیاوشان دارای سابقه‌ای طولانی در استفادهٔ دارویی است و مواد اصلی تشکیل‌دهندهٔ آن در شربت سرفه به نام

پر سیاوش در قرن نوزدهم مورداستفاده قرار گرفته است (۱۷). در مطالعات فتوشیمیایی بر روی این گیاه مشخص شد این ترکیبات عبارت‌اند از ایزوبورنول، مشتقی از ایزوبورنول و دی‌متیل ترفتالات. فلاونوئیدها یک گروه بزرگ از ترکیبات فنولی هستند که به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی‌شان نقش مهمی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند (۳۹). تاثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره پرسیاوشان روی پراکسید هیدروژن ناشی از استرس اکسیداتیو گزارش شده است. در همین راستا، انکوباسیون (دورهٔ کمون یا نهفتگی) لنفوسیت های خون با ۱۰۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن به مدت ۲ ساعت به‌طور معنی‌داری پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش و سطح گلوتاتیون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را کاهش داد. رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی سبب آسیب به غشای سلول و DNA شد. عصارهٔ برگ پرسیاوشان توانست به‌طور معنی‌داری مانع از پراکسیداسیون لیپیدی شود و فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و محتوای گلوتاتیون را بهبود بخشد (۴۰).

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد پرسیاوشان، رادیکال‌های آزاد را مهار کرده سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی را بهبود می-بخشد. ازاین‌رو می‌توان حفظ سطوح متالوتیونین ریهٔ موش‌هایی را که از این مکمّل استفاده کرده بودند توجیه کرد. تحقیق مشابهی که آثار این گیاه همراه با فعالیت ورزشی بر سطوح متالوتیونین بافت ریه را بررسی کرده باشد یافت نشد. بر اساس یافته‌ها، سطح متالوتیونین ریه در نمونه‌های تمرین‌کرده به همراه مکمّل گیاهی پرسیاوشان تعدیل شد. شاید بتوان بخشی از آثار تعدیل‌کنندگی مکمّل گیاهی پرسیاوشان بر روی سطح متالوتیونین ریه را با نقش‌های ضداکسایشی و ضدالتهابی آن در پی سازگاری ریه نسبت به تمرینات اینتروال توجیه کرد؛ این تغییرات می‌تواند برای ریه‌ها مفید باشد. ناگفته نماند دوز استفاده از مکمّل گیاهی پرسیاوشان نیز احتمالاً برای تأثیرگذاری آن بر سطح متالوتیونین مهم است؛ بنابراین، باید در تحقیقات آینده این موضوع مدنظر قرار گیرد. ازجمله محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر عوامل التهابی و آنتی‌اکسیدانی بافت ریه اشاره کرد. به نظر می‌رسد مکمّل گیاهی پرسیاوشان می‌تواند شرایط التهابی و آنتی‌اکسیدانی بافت ریه را بهبود بخشد. البته نباید دوز تجویز عصارهٔ پرسیاوشان را نادیده گرفت؛ بدین معنی که شاید با تغییر میزان دوز مصرفی عصاره و تجویز آن در دوزهای مختلف بتوان به نتایج روشن‌تری دست‌یافت. به‌هرحال به تحقیقات بیشتری در این زمینه نیاز است.

## نتیجه‌گیری

تمرین اینتروال فزاینده به مدت شش هفته سبب افزایش معنی‌دار سطوح متالوتیونین ریه شد. احتمالاً مکمّل‌یاری با عصارهٔ گیاه پرسیاوشان متعاقب شش هفته تمرین اینتروال می‌تواند با تعدیل سطوح متالوتیونین ریه به کاهش فشار اکسیداتیو ریوی کمک کند.

## تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامهٔ دورهٔ کارشناسی ارشد است. از کلیهٔ افرادی که در انجام تحقیق همکاری داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

جدول شمارهٔ (۱) ترکیبات استفاده‌شده برای عصاره‌گیری

| | | |
|---|---|---|
| وزن پرسیاوش خشک | قبل از خواباندن | ۵۰ گرم |
| | بعد از خواباندن | ۷۵/۱ گرم |
| الکل (اتانول ٪۷۰) | | ۴۰۰ میلی‌لیتر |
| محلول الکلی | | ۲۸۰ میلی‌لیتر |
| عصارهٔ پرسیاوش | | ۹/۷۷ گرم |

جدول شمارهٔ (۲) میانگین و انحراف معیار متالوتیونین ریه در گروه‌ها

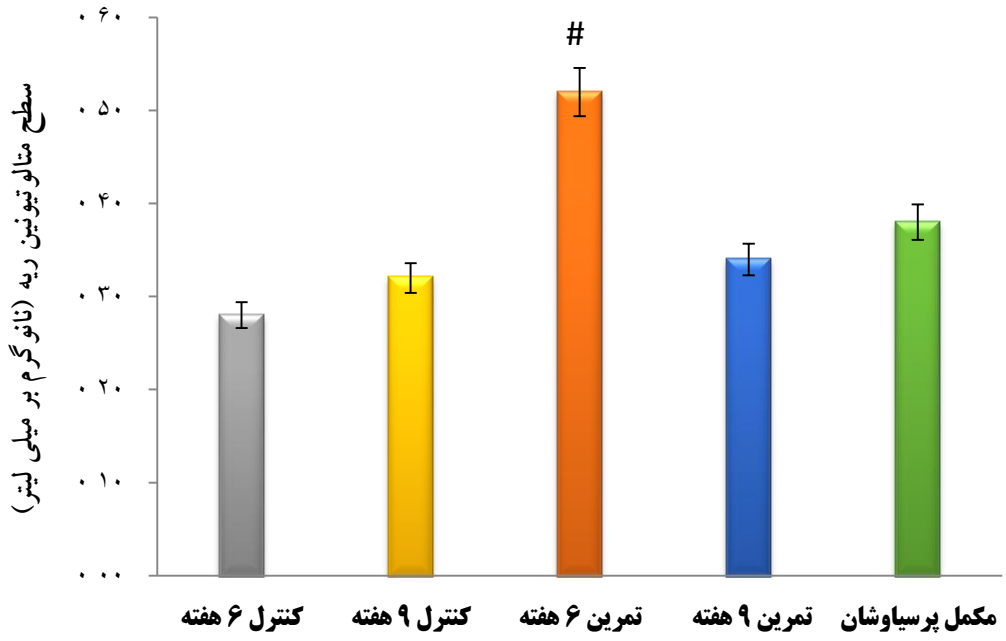
| متغیر | گروه | تعداد | میانگین و انحراف معیار |
|---|---|---|---|
| متالوتیونین (نانوگرم بر میلی‌لیتر) | کنترل ۶ هفته‌ای | ۵ | ۰/۲۸ ± ۴۸۹۱٪ |
| | کنترل ۹ هفته‌ای | ۵ | ۰/۳۲ ± ۵۵۰۴٪ |
| | تمرین ۶ هفته‌ای | ۵ | ۰/۵۲ ± ۶۸۳۰٪* |
| | تمرین ۹ هفته‌ای | ۵ | ۰/۳۴ ± ۴۶۸۱٪ |
| | مکمّل پرسیاوش | ۵ | ۰/۳۸ ± ۴۱۲۳٪ |

*نشانهٔ معنی‌داری در آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه P<۵٪

جدول شمارهٔ (۳) خلاصه نتایج آزمون تعقیبی LSDتغییرات متالوتیونین ریه در گروه‌های مختلف

| گروه | گروه | اختلاف میانگین | سطح معناداری |
|---|---|---|---|
| تمرین ۶ هفته‌ای | کنترل ۶ هفته‌ای | ./۲۳۹۲۰ | ۰/۰۰۱* |
| | کنترل ۹ هفته‌ای | ./۲۰۲۶۰ | ۰/۰۰۱* |
| | تمرین ۹ هفته‌ای | ./۱۸۳۴۰ | ۰/۰۰۱* |
| | مکمّل پرسیاوش | ./۱۳۸۸۰ | ۰/۰۰۱* |

*بر اساس آزمون تعقیبی LSD در سطح P<۵٪




# افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های مختلف نمودار شمارهٔ (۱) مقایسهٔ سطوح متالوتیونین ریه در گروه‌های مختلف

**References:**


1. Buchheit M, Laursen PB. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle. Sports medicine. 2013;43(10):927-54.
2. Stoggl TL, Björklund G. High intensity interval training leads to greater improvements in acute heart rate recovery and anaerobic power as high volume low intensity training. Frontiers in physiology. 2017;8:562.
3. Linde AR, Garcia-Vazquez E. A Simple Assay to Quantify Metallothionein Helps to Learn about Bioindicators and Environmental Health. Biochemistry and Molecular Biology Education. 2006; 34: 360-363.
4. Maret W, Vallee BL. Thiolate ligands in metallothionein confer redox activity on zinc clusters. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1998;95(7):3478-82.
5. Inoue KI, Takano H. Metallothionein as a negative regulator of pulmonary inflammation. Current pharmaceutical biotechnology. 2013;14(4):414-9.
6. Werynska B, Pula B, Muszczynska-Bernhard B, Gomulkiewicz A, Jethon A, Podhorska-Okolow M, Jankowska R, Dziegiel P. Expression of metallothionein-III in patients with non-small cell lung cancer. Anticancer research. 2013;33(3):965-74.
7. Ni H, Li C, Feng X, Cen JN. Effects of forced running exercise on cognitive function and its relation to zinc homeostasis-related gene expression in rat hippocampus. Biological trace element research. 2011;142(3):704-12.
8. Johnston J, Günter Oberdörster, Jacob N. Finkelstein C. Recovery from oxidant-mediated lung injury: response of metallothionein, MIP-2, and MCP-1 to nitrogen dioxide, oxygen, and ozone exposures. Inhalation toxicology. 2001;13(8):689-702.
9. Takano H, Inoue K, Yanagisawa R, Sato M, Shimada A, Morita T, Sawada M, Nakamura K, Sanbongi C, Yoshikawa T. Protective role of metallothionein in acute lung injury induced by bacterial endotoxin. Thorax. 2004;59(12):1057-62.
10. Hashimoto K, Hayashi Y, Inuzuka T, Hozumi I. Exercise induces metallothioneins in mouse spinal cord. Neuroscience. 2009; 163(1): 244-51.
11. Li Z, Gao Y, Li S, Chen K, Ge S, Pang Y, Tang C. The effect of endurance training and exhaustive exercise on metallothionein in rats. Chinese journal of applied physiology. 1997;13(1):16-7.
12. Mirdar S, Musavi N, Hamidian G, Hedayati M. The effect of swimming endurance training on changes in liver apoptotic index and metallothionein levels in pregnant rats exposed to cadmium. Journal of Applied Studies in Science and the Environment of the Sun. 2014; 1(2): 9-20. (Persian)
13. Shadmehri S, Shabaniorcid M, Daryanoosh F; Sherafati Moghadam M. The effect of eight weeks' aerobic exercise on troponin T and metallothionein levels of cardiac tissue in healthy male rats. Journal of Physical Activity and Hormones. 2018; 47-60
14. Sadighi J, Maftoon F, Ziai SA. Herbal medicine: Knowledge, attitude and practice in Tehran. Journal of Medicinal Plants. 2005;1(13):60-7. (Persian)
15. Gharavi MRA, Moatar F. The acute and chronic effect of Adiantum capilus veneris L. Extract on hemoglobin, hematocrite, mean corpuscle volume, prothrombin time and partial thromboplastin

time in rat. Journal of Zanjan University of Medical Sciences. 1994;2:6-13. (Persian)
16. Pan C, Chen YG, Ma XY, Jiang JH, He F, Zhang Y. Phytochemical constituents and pharmacological activities of plants from the genus Adiantum: A review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2011;10(5):681-92.
17. Dehdari S, Hajimehdipoor H. Medicinal Properties of Adiantum capillus-veneris Linn. in Traditional Medicine and Modern Phytotherapy: A Review Article. Iran J Public Health. 2018;47(2):188-197.
18. Titz C, Hummler S, Schmidt ME, Thomas M, Steins M, Wiskemann J. Exercise behavior and physical fitness in patients with advanced lung cancer. Support Care Cancer. 2018;26(8):2725-2736.
19. Farkhooy A, Bodegård J, Erikssen JE, Janson C, Hedenström H, Stavem K, Malinovschi A. Cross-sectional and longitudinal analyses of the association between lung function and exercise capacity in healthy Norwegian men. BMC Pulmonary Medicine. 2018;18(118):1-7.
20. Fuertes E, Carsin AE, Antó JM, Bono R, Corsico AG, Demoly P, et al. Leisure-time vigorous physical activity is associated with better lung function: the prospective ECRHS study. Thorax. 2018;73(4):376-84.
21. MacLaren D, Morton J. Biochemistry for sport and exercise metabolism. John Wiley & Sons. 2011.
22. Ibraheim Z, Ahmed AS, Gouda YG. Phytochemical and biological studies of Adiantum capillus-veneris L. Saudi pharmaceutical journal. 2011;19(2):65-74.
23. Yadegari M, Riahy S, Mirdar S, Hamidian G. Effect of the Adiantum capillus Veneris Extract on Bax and Bcl2 Apoptotic Markers of Lung Modulation in Trained Rats and Exposed to Hypoxic Stress. Journal of Medicinal Plants. 2018;4(64):162-71. (Persian)
24. Yadegari M, Riahy S, Mirdar S, Hamidian G. Interactive effects of reducing exercise intensity and Adiantum capillus veneris extract on remodeling and modulation of pulmonary apoptotic indices in the rats exposed to the hypoxia. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2018;23(2):81-91.
25. Yadegari M, Mirdar S, Hamidian Gh. The effect of high-intensity interval training on lung parenchymal and non-parenchymal structural changes. Daneshvar .2016;23:51-60. (Persian)
26. Wendakoon C, Calderon P, Gagnon D. Evaluation of selected medicinal plants extracted in different ethanol concentrations for antibacterial activity against human pathogens. Journal of Medicinally Active Plants. 2012;1(2):60-8.
27. Mary Fe S. Behiga, Angelic C. Jagualing, Jaesson L. Napone, Gerardeane Anne B. Vocal. The Hypoglycemic Activity of Adiantum Capillus-Veneris Linn. (Alambrillo) Leaf Extract on Alloxan-Induced Male Mus Musculus Linn. (Webster White Mice). Asian Journal of Health. 2017;7(1): 31-43.
28. Ullah S, Jan G, Gul F, Khan S, Khattak M, Bibi H, Sher J. Phytochemistry, anti-inflammatory and antipyretic activities of Adiantum capillus-veneris in Swiss albino mice. International Journal of Fauna and Biological Studies. 2018; 5(3): 19-25
29. Heger Z, Rodrigo MA, Krizkova S, Ruttkay-Nedecky B, Zalewska M, et al. Metallothionein as a Scavenger of Free Radicals - New

Cardioprotective Therapeutic Agent or Initiator of Tumor Chemoresistance? Curr Drug Targets. 2016;17(12):1438-51.
30. Ling XB, Wei HW, Wang J, Kong YQ, Wu YY, Guo JL, Li TF, Li JK. Mammalian metallothionein-2A and oxidative stress. International Journal of Molecular Sciences. 2016;17(9):1483.
31. Wochyński Z. Nowak P, Milnerowicz H, Sobiech KA. Can metallothionein be considered a diagnostic marker in physical exercise? Advances in Clinical and Experimental Medicine. 2003;5:641–645.
32. Romero MB, Polizzi P, Chiodi L, Robles A, Heredia SR, Gerpe M. Metallothionein and lipid peroxidation as markers to assess health status of chronically oiled Magellanic penguins in Argentina. Acta Toxicol. Argent. 2015; 23(1): 15-24
33. Kozakowska M, Pietraszek-Gremplewicz K, Jozkowicz A, Dulak J. The role of oxidative stress in skeletal muscle injury and regeneration: focus on antioxidant enzymes. Journal of muscle research and cell motility. 2015; 36(6):377-93.
34. Gonzalez PK, Zhuang J, Doctrow SR, Malfroy B, Benson PF, et al. Role of oxidant stress in the adult respiratory distress syndrome: evaluation of a novel antioxidant strategy in a porcine model of endotoxin-induced acute lung injury. Shock. 1996;6:23-6
35. Thomas JP, Bachowski GJ, Girotti AW. Inhibition of cell membrane lipid peroxidation by cadmium- and zinc-metallothioneins. Biochimica et Biophysica Acta .1986; 884:448–61
36. Blackwell TS, Blackwell TR, Holden EP, Christman BW, Christman JW. In vivo antioxidant treatment suppresses nuclear factor-kappa B activation and neutrophilic lung inflammation. The Journal of Immunology. 1996;157(4):1630-7.
37. Jolazadeh T, Dabidi V. the effect of aerobic exercise program and exhaustive progressive construction of metallothionein and malondialdehyde levels in the Wistar rat heart tissue. Olympic Magazine. 2011;19(2):65-75. [Persian]
38. Shabani M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh FA. Effect of four weeks high intensity interval training versus aerobic exercise on metallothionein levels of myocardial tissue in rats. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2016;20(3):13-9. [Persian]
39. Sheikh O, eslami vatani D, Khatayi T, Norouzian M, Rajabi H. effects of coenzyme Q10 supplementation during endurance runners taper on some performance indicators of biological. Sport Biosciences. 2013;5(18):13-28. [Persian]
40. Kumar A. Antioxidant effect of Adiantum capillus-veneris Linn. on human lymphocyte: an in vitro study. Journal of Cell and Tissue Research. 2009;9(2):1899-902.

Original Article

# The interactive effect of interval training and ethanol extract of Adiantum Capillus Veneris on the levels of metallothionein in lung male rats

Piri F [1], Mirdar S *[2], Hedayati M [3]

1. MSc. in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran.
2. Professor, PhD in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran.
3. Associate Professor, PhD in Biochemistry, Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 15 April, 2018؛Accepted: 31 October, 2018

**Abstract**

**Introduction:** The aim of this study was to investigate the interactive effect of interval training and ethanol extract of Adiantum Capillus Veneris on the levels of metallothionein in lung male rats.

**Methods:** 25 Male Wister rats three weeks with an average weight of 68 ± 9g after two weeks the familiar with the environment were randomly divided into five groups; 6-week control, 9-week control, 6-week training, 9-week training, interactive training and supplement (6-week interval training + 3 weeks Adiantum Capillus Veneris). Adiantum Capillus Veneris herbal supplement after 6 weeks, the daily dose of 200 mg per kilogram of body weight orally supplemented groups were fed. Increasing interval training for 6 sessions per week, each session 30 minutes at a speed of 15 to 70 meters per minute rehearsing. Finally, lung tissue was extracted for measuring the levels of metallothionein. Analysis of data was performed using one-way ANOVA at $P \leq 0.05$.

**Results:** The results showed that the interval training significantly increased the level of metallothionein in the 6-week training group (0.52±0.06) compared to the 6-week control group (0.28±0.04), 9-week control group (0.32±0.05), 9-week training group (0.34±0.04) and the combination of training-supplementation (0.38±0.04). However, the interaction training-supplementation did not have significant effect on the levels of metallothionein in the lungs of male rats ($p>0.05$).

**Conclusion:** According to the results, six weeks of interval training resulted to significant increase in lung metallothionein levels. Probably the interactive effect of Adiantum Capillus Veneris supplementation and interval training can help reduce pulmonary oxidative stress by modulating lung metallothionein levels.

**Keywords*:*** Interval Training, Adiantum Capillus Veneris, lung metallothionein, Male Rats

*Corresponding author: E.mail: sh.mirdar@umz.ac.ir