The Effect of Eight Weeks of High-Intensity Interval Training Combined with Nigella sativa Supplementation on Selected Antioxidant Pathway Markers (Nrf2/HO-1/NQO1) in the Hippocampus of Rats with Type 2 Diabetes

Abstract

Sussan Ramsari [1]
Bahram Abedi [1*]
Lida Moradi [1]

Introduction: Type 2 diabetes is associated with increased oxidative stress and damage to brain tissues, including the hippocampus. The antioxidant pathway Nrf2/HO-1/NQO1 plays a crucial role in counteracting such damage. This study investigated the effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) combined with Nigella sativa supplementation on the expression of these markers in the hippocampus of diabetic rats.
Methods: This study employed a quasi-experimental design. Forty rats, after one week of laboratory acclimatization, were weight-matched and randomly assigned to five groups (n = 8 per group): healthy control, diabetic control, training, supplement, and training plus supplement. Type 2 diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (50 mg/kg body weight) dissolved in normal saline. The high-intensity interval aerobic training protocol consisted of treadmill running for eight weeks. Nigella sativa extract was administered via oral gavage at the end of each training session at an effective dose of 400 mg/kg/day. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by the Bonferroni post hoc test.
Finding: Induction of type 2 diabetes significantly increased serum levels of Nrf2 (P = 0.000), HO-1 (P = 0.009), and NQO1 (P = 0.014) in the diabetic control group compared with the healthy control group. Moreover, significant increases in tissue levels of Nrf2, HO-1, and NQO1 were observed following high-intensity interval training (P = 0.025, 0.024, and 0.029, respectively) and Nigella sativa supplementation (P = 0.001, 0.042, and 0.003, respectively) compared with the diabetic control group. The combined intervention (HIIT plus Nigella sativa supplementation) demonstrated greater effectiveness than either intervention alone in increasing the expression levels of Nrf2, HO-1, and NQO1 (P = 0.001, 0.004, and 0.002, respectively).
Conclusion: Overall, these findings indicate that high-intensity interval training and Nigella sativa supplementation positively enhance the Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway in the brain and reduce oxidative stress–induced damage. This combined intervention may serve as a complementary strategy for preventing diabetes-related brain damage associated with oxidative stress.
Keywords: High-Intensity Interval Training, Nigella sativa, Nrf2, HO-1, NQO1.

Affiliations

1- Department of Physical Education and Sports Science, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
Corresponding Author: Bahram Abedi. EMAIL: Bahram.Abedi@iau.ac.ir

اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا به همراه مکمل سیاه‌دانه بر برخی نشانگرهای مسیر آنتی اکسیدانی (Nrf۲ /HO– ۱/NQO۱) در هیپوکامپ رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲

چکیده

سوسن رامسری [۱]
بهرام عابدی*[۱]
لیدا مرادی[۱]

مقدمه: دیابت نوع ۲ با افزایش استرس اکسیداتیو و آسیب به بافت‌های مغزی از جمله هیپوکامپ همراه است. مسیر آنتی‌اکسیدانی Nrf۲/HO–۱/NQO۱ نقش مهمی در مقابله با این آسیب‌ها دارد. این مطالعه به بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مکمل سیاه‌دانه بر بیان این نشانگرها در هیپوکامپ رت‌های دیابتی پرداخت.

روش کار: روش مطالعه حاضر به صورت نیمه تجربی بود. ۴۰ سر رت بعد از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه بر اساس همسانسازی وزنی، به گروه‌های کنترل سالم، کنترل دیابتی، تمرین، مکمل، تمرین+ مکمل تقسیم شدند که هر گروه ۸ سر در نظر گرفته شد. القای دیابت به روش تزریق داخل صفاتی استرپتوزوتوسین به میزان ۵۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه حامل سالین نرمال انجام شد. تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا شامل دویدن به مدت ۸ هفته بود. عصاره سیاهدانه، پایان هرجلسه تمرینی به صورت گاواژ و با دوز مؤثر ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم/ روز به موش‌ها خورانده شد. جهت تجزیه وتحلیل داده‌ها از تحلیل یک راهه واریانس و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد القای دیابت نوع ۲ منجر به افزایش سطوح سرمی Nrf۲ (P=۰۰۰.۰)، HO–۱ (p= ۰۰۹.۰) و NQO۱ (P=۰۱۴.۰) در گروه کنترل دیابت نسبت به گروه کنترل نرمال گردید. همچنین افزایش سطوح بافتی Nrf۲، HO–۱ و NQO۱ بر اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (مقدار P به ترتیب برابر است با ۰۲۵.۰، ۰۲۴.۰، ۰۲۹.۰) و مکمل‌یاری سیاه‌دانه (مقدار P به ترتیب برابر است با ۰۰۱.۰، ۰۴۲.۰ و ۰۰۳.۰) در مقایسه با گروه کنترل دیابت مشاهده شد. همچنین تمرین تناوبی با شدت بالا+ مکمل سیاه‌دانه نیز اثرگذاری بیشتری نسبت به مصرف مکمل سیاه‌دانه و تمرین تناوبی با شدت بالا بر افزایش سطوح بیان Nrf۲، HO–۱ و NQO۱ داشت (مقدار P به ترتیب برابر است با ۰۰۱.۰، ۰۰۴.۰، ۰۰۲.۰).

نتیجه‌گیری: به طور کلی، این نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل‌یاری با سیاه‌دانه بر تقویت مسیر سیگنالینگ Nrf۲/HO–۱/ NQO۱ در مغز و کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو هستند. این ترکیب می‌تواند به عنوان یک روش مکمل در پیشگیری از آسیب‌های مغزی مرتبط با دیابت و استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، سیاهدانه، Nrf۲، HO–۱، NQO۱.–

وابستگی سازمانی نویسندگان

۱–گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نویسنده مسئول:بهرام عابدی. پست الکترونیک: Bahram.Abedi@iau.ac.ir

مقدمه

بیماری دیابت همچنان بخش عمده‌ای از علت مرگ و میر در جهان را به خود اختصاص داد. درباره درمان و پیشگیری از این بیماری مطالعه‌های گسترده‌ای انجام شد(۱). در همین زمینه، امروزه توجه زیادی به نقش موثر وضعیت دیابتی بر اندامهای مختلف بدن از قبیل بافت مغز و سیستم عصبی مرکزی و تنظیم پاسخ‌های جبرانی و محافظتی سیستم عصبی مرکزی در برابر آسیب‌های ناشی از بیماری دیابتی متمرکز شده است(۲،۳). اگر چه مغز به عنوان یک اندام هدف کلاسیک انسولین به حساب نمی‌آید، اخیراً نشان داده شده است که این هورمون پلی پپتیدی نقش مهمی در فیزیولوژی عصبی انسان و اختلال در تنظیم سیگنال گیرنده انسولین در بیماریهای روانی مختلف ایفا میکند(۴،۵). علاوه بر این، مشخص شد که چندین ناحیه مغز قادر به تولید انسولین هستند از قبیل نورونها در قشر هیپوکامپ مغز و سلولهای پیشساز عصبی هیپوکامپ[1](۶،۷). مطالعات اخیر نشان داده است که در وضعیت دیابتی، خطر ابتلا به بیماری آلزایمر افزایش یافته است. با این حال، مکانیسمهای اساسی به طور کامل روشن نشده است. مطالعات قبلی در بیماران مبتلا به دیابت شواهدی را ارائه کرده است که نشان میدهد اختلال در عملکرد شناختی با تغییرات در ساختار و عملکرد هیپوکامپ مرتبط است(۸).

از سوی دیگر، یکی از مهم‌ترین سیستمهای آنتی‌اکسیدانی، سیستم فاکتور هسته‌ای اریتروئید ۲ (Nrf۲[2]) است که یک تنظیم کننده کلیدی سیستم‌های دفاعی در بدن در مقابله با استرس اکسیداتیو است(۹،۱۰). این فاکتور از اعضای فاکتورهای رونویسی خانواده Cap-N-Collar میباشد که بیشتر در مغز، کلیه، عضلات، ریه، قلب و کبد وجود دارد(۱۱، ۱۲). تحت شرایط هومئوستاتیک طبیعی، فاکتور رونویسی NRF۲ در سیتوپلاسم توسط Keap۱[3] مهار می‌شود(۱۳). محققان نشان دادند که همبستگی قوی بین اختلال عملکردی در بیان ژن NRF۲ و سیستم عصبی مرکزی در وضعیت دیابتی در انسان وجود دارد(۱۴). همچنین HO-۱ یک آنزیم محدود کننده سرعت میکروزومی و یک آنزیم القایی در شرایط استرس سلولی است که مسئول اکسیداسیون و تجزیه هم به متابولیتهای فعال بیولوژیکی بیلیوردین[4] است(۱۵). القای HO-۱ به عنوان یک پاسخ دفاعی سلولی تطبیقی در نظر گرفته شده است که از سلولها یا بافتها در برابر آسیبها در حالتهای پاتوفیزیولوژیک محافظت میکند(۱۶،۱۷). همچنین NQO۱ یکی از اهداف پایین دست مسیر Nrf۲-ARE و ژن بیان کننده یک آنزیم اکسیدو ردوکتاز است که موجب کاهش کینون به هیروکینون (آنتی اکسیدان) میشود(۱۸). در NQO۱،CNS پاسخ‌های التهابی را از طریق مکانیسمهای مختلف، از جمله تعدیل سیتوکینهای خاص پیش التهابی و فعالسازی سلولهای ایمنی CNS، مانند آستروسیتها و سلولهای میکروگلیال، کنترل میکند(۱۵).

مطالعات متعدد مطالعات اپیدمیولوژیکی در زمینه ورزش نشان میدهد انجام فعالیتهای بدنی منظم برای حفظ و افزایش توده استخوانی و قدرت بدنی، کاهش سطوح لیپیدهای پلاسمایی حیاتی بوده و لذا افراد را در پیشگیری بیماری دیابت نوع ۲ کمک میکنند(۱۹،۲۰). طی سالهای اخیر نوعِ تمرین هوازی توجه زیادی را به خود معطوف ساخته است. هدف تمرینات تناوبی اعمال فشارهای مکرر بر دستگاههای بدن است که به طور فیزیولوژیکی، منجر به سازگاری های کوتاه مدت و بهبود کارایی انرژی و متابولیکی در بدن میشود(۱۹). نشان داده شده است که تمرینات تناوبی میتواند عملکرد انسولین را به طور معنادار بهبود بخشد(۲۵-۲۱).

علاوه بر ورزش، در بیماران دیابتی از داروهای شیمیایی و نیز داروهای گیاهی برای کاهش قند خون استفاده میشود(۲۶). یکی از مکملهای رایج سیاه دانه میباشد که اثر مثبت بر روی متابولیسم دارد و سطح چربی و گلوکز را کاهش میدهد و در نتیجه تحمل گلوکز را افزایش میدهد(۲۷). تحقیقات نشان دادند سیاه دانه نقش مهمی در پیشگیری و درمان بیماریهای التهابی و گوارشی از طریق تعدیل مسیرهای سیگنالی سلولی دارد(۲۸). علیرغم وجود گزارشهای پژوهشی متعدد بیان شده مبنی بر تأثیر مثبت فعالیت بدنی و مکمل‌های گیاهی در مهار پیشرفت دیابت، اما با بررسی‌های انجام شده، تاکنون مطالعه‌ای یافت نشده است که به بررسی اثر آنتی اکسیدانی ورزش هوازی و مکمل گیاهی سیاه دانه بر بیان یا فعالیت مسیر سیستم Nrf۲-HQ-۱ و NQO۱ در بافت هیپوکامپ آزمودنیهای در معرض دیابت پرداخته باشد. بر این اساس این سوال مطرح می شود که آیا یک دوره تمرین هوازی و مکمل گیاهی سیاه دانه میتواند بر مسیر آنتی اکسیدانی Nrf۲-HQ-۱ و NQO۱ در هیپوکامپ رتهای مبتلا به دیابت نوع ۲ موثر واقع شود؟

روش کار

روش مطالعه حاضر به صورت نیمه تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل بود. در این مطالعه ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن ۶ هفته از موسسه پاستور ایران خریداری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه جانوری دانشگاه مازندران در شرایط استاندارد نگهداری حیوانات آزمایشگاهی به صورت گروه‌های ۸ تایی (در دو قفس ۴ تایی) پلی‌اتیلنی استاندارد، با دمای محیط ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در فاز اول، حیوانات بعد از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه بر اساس همسانسازی

1. Neural Progenitor Cells Of The Hippocampus
2. Nucleus Erythroid Factor 2
3. Kelch-Like ECH-Associated Protein 1
4. Biliverdin

جدول 1- برنامه تمرین

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
وهله	2	3	4	5	6	6	6	6
سرعت (متر بر دقیقه)	15	20-25	26-30	31-35	40-36	40	40	40
شیب (درجه)	5	7	9	11	13	15	15	15

جدول 1- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت سنجش بیان ژن‌های Nrf2، NQO1، HO-1.

Gene name	Forward	Reverse
Nrf۲	۵′-GTTTGTAGATGACCATGAGTCGC-۳′	۵′-GCAAAAGGCAGTGAAGGAAC-۳′
NQO۱	۵′-AGCGTTCGGTATTACGATCC-۳′	۵′-AGTACAATCAGGGCTCTTCTCG-۳′
HO-۱	۵′-AGGCTAAGACCGCCTTCCT-۳′	۵′-TCTCCAGGGCCGTGTAGAT-۳′
GAPDH	۵′-TGGCCTTCCGTGTTCCTAC-۳′	۵′-GAGTTGCTGTTGAAGTCGCA-۳′

وزنی، به ۲ گروه (۱) کنترل نرمال (سالم) (NC[1]) (۸ سر) و (۲) دیابت (۳۲ سر) تقسیم‌بندی شدند. القای دیابت به روش تزریق داخل صفاتی استرپتوزوتوسین[2] به میزان ۵۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه حامل سالین نرمال انجام شد(۱۰). سپس رت‌های گروه دیابت به ۴ گروه: (۱) کنترل دیابتی (DC[3])، (۲) دیابت + تمرین (DT[4])، (۳). دیابت + مکمل (DS[5])، (۴) دیابت + تمرین+ مکمل (DTS) تقسیمبندی شدند. مطالعه حاضر با کد اخلاق REC.SARI.IAU.IR.۱۴۰۳,۲۲۰ در کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به تصویب رسید. گروه‌های تمرین پس از القای دیابت و آشنایی با نوار گردان برنامه تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا را شروع کردند. تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا با دویدن به تعداد ۲ وهله‌ی ۳ دقیقه‌ای با سرعت ۲۰-۱۵ متر در دقیقه و استراحت فعال سه دقیقه‌ای با سرعت ۱۴-۱۲ متر در دقیقه بین وهله‌ها با شیب ۵ درجه شروع شد. در این پروتکل، تعداد وهله، سرعت و شیب فعالیت به‌صورت تدریجی به میزان ۶ وهله با سرعت ۴۰ متر بر دقیقه و ۱۵ درجه افزایش پیدا کرد. جلسه اول تمرینی با سرعت اولیه ۱۵ متر در دقیقه شروع و سپس در هر جلسه ۵ متر در دقیقه بر اساس توانایی موش‌ها به‌سرعت نوارگردان اضافه شد. در انتهای هفته‌ی پنجم سرعت به ۴۰ متر در دقیقه رسید و تا پایان دوره تمرینی ثابت باقی ماند. سرعت نوار گردان در ریکاوری فعال نیز با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای جلسه اول شروع و هر هفته ۱-۲ متر در دقیقه به‌سرعت نوارگردان اضافه شد. تمرینات به مدت ۸ هفته با تواتر ۵ جلسه در هفته بر روی نوارگردان موتوردار اجرا شد(۲۹). آزمون سرعت بیشینه در هفته میانی پروتکل تمرین به منظور تخمین دقیق شدت تمرین و تعدیل اثر سازگاری رت‌ها ناشی از تمرین انجام شد و پس از محاسبه سرعت بیشینه جدید، شدت تمرین به طور نسبی اصلاح شد.

عصاره سیاهدانه به کمک قهوه آسیاب کن پودر شده و به وسیلهی دستگاه سوکسله با به حجم ۲۵۰ میلی لیتر حلال ان-هگزان ساخت شرکت Merck به مدت ۲ ساعت عصاره گیری شد. سپس از کاغذ صافی عبور داده و در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتیگراد به کمک دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد و عصارهی روغنی آن به رنگ زرد به دست آمد و بر اساس وزن بدن موشها، پایان هرجلسه تمرینی به صورت گاواژ و با دوز مؤثر ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم/ روز به موش‌ها خورانده شد(۳۰).

القای دیابت به روش تزریق داخل صفاتی استرپتوزوتوسین[6] به میزان ۳۰ تا ۵۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه حامل سالین نرمال انجام شد (۳۳-۳۱). یک هفته پس از تزریق برای اطمینان از ایجاد دیابت در رتها، قطرهای خون از ورید دُمی اخذ و میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (آکیوچک آلمان) اندازه گیری شد. رتهای دارای قند خون بالای ۱۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر دیابتی در نظر گرفته شدند(۲۹). در انتهای اعمال پروتکل‌ها (القای دیابت و ۸ هفته پروتکل تمرین- مکمل)، به مدت ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ۸ ساعت ناشتایی با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۸۰ میلیگرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و آسان کشی شدند. نمونه خونی در حدود ۵ میلی‌گرم از بطن چپ آنها گرفته شد و سپس عمل

1. Normal Control
2. Streptozotocin
3. Diabetic Control
4. Training +Diabetes
5. Supplement+Diabetes
6. Streptozotocin

جدول 2- سطوح متغیرهای تحقیق به تفکیک گروه‌ها

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	کمینه	بیشینه
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	کنترل سالم	101.23	10.16	91.74	111
	کنترل دیابت	191.57	33.88	158.98	224.67
	دیابت + تمرین	113.42	14.51	99.67	127.41
	دیابت + مکمل	121.58	16.08	105.90	137
	دیابت + مکمل + تمرین	111.34	11.04	100.14	122.12
انسولین (میلی‌واحد در لیتر)	کنترل سالم	7.47	0.17	7.3	7.64
	کنترل دیابت	13.18	0.39	7.45	8.23
	دیابت + تمرین	8.72	0.24	7.48	7.96
	دیابت + مکمل	8.8	0.21	7.59	8.01
	دیابت + مکمل + تمرین	8.57	0.18	7.39	7.75
Nrf2	کنترل سالم	1	0.0	1	1
	کنترل دیابت	1.37	0.50	1.71	2.05
	دیابت + تمرین	1.93	0.57	1.21	1.57
	دیابت + مکمل	1.57	0.58	1.01	1.33
	دیابت + مکمل + تمرین	2.78	0.78	0/87	1.21
HO-1	کنترل سالم	1	0.0	1	1
	کنترل دیابت	2.04	0.16	2.41	2.87
	دیابت + تمرین	2.56	0.82	2.38	2.74
	دیابت + مکمل	2.14	0.46	1.26	1.7
	دیابت + مکمل + تمرین	2.94	0.78	1.18	1.46
NQO1	کنترل سالم	1	0.0	1	1
	کنترل دیابت	1.45	0.48	1.33	1.57
	دیابت + تمرین	2.55	0.17	1.34	1.66
	دیابت + مکمل	1.96	0.11	1.15	1.57
	دیابت + مکمل + تمرین	3.06	0.15	0.86	1.14

پرفیوژن توسط سالین سرد به منظور خارجسازی خون از مغز قبل از کشتار حیوان صورت گرفت. براساس اطلس پاکسینوس نواحی مورد نظر یعنی هیپوکامپ مغز مشخص شد و با استفاده از وسایل جراحی نواحی مورد نظر به دقت جداسازی شد و

مورد بررسی آناتومیکال قرار گرفت و قسمتهای جدا شده مغز به سرعت در نیتروژن مایع منجمد و در ۸۰- درجه سانتیگراد تا زمان بررسی، نگهداری شدند. کیت سنتز cDNA توسط Ther-mo Scientific که با شماره کاتالوگ K۱۶۲۲ تولید شده است، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج RNA وcDNA ، حدود ۵۰ میلیگرم میلیگرم از بافت هیپوکامپ رتهای مورد مطالعه بهصورت جداگانه جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۲ در QIAzol Reagent Lysis هموژن گردید. برای تعیین بیان ژن‌های Nrf۲، NQO۱، HO-۱ به روش re-al-time PCR انجام شد. پرایمرها با استفاده از نرمافزار Al-lelID و توسط شرکت CinnaGen ساخته شده و پس از آن هر پرایمر توسط نرمافزار BLAST مورد ارزیابی قرار گرفت تا از قرارگیری جفتی پرایمرها اطمینان حاصل شود. در این تحقیق، ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه منظور گردید، به‌طوریکه دمای هر چرخه برای ۱۵ ثانیه تا ۹۴ درجه سانتیگراد و برای ۳۰ ثانیه تا ۶۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. پرایمرهای مربوط به رتها در جدول ۱ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

مقادیر میانگین، انحراف استاندارد، کمینه و بیشینهی هر یک از گروههای تحقیق در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان داد سطوح پروتئین بافتی Nrf۲، HO-۱ و NQO۱ در گروههای کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم به ترتیب حدود ۱۳۷، ۲۰۴ و ۱۴۵ درصد بالاتر بود و کمترین مقدار را در بین سایر گروه‌ها نسبت به گروه کنترل سالم نشان داد. همچنین، بیشترین مقادیر سطوح پروتئین Nrf۲، HO-۱ و NQO۱ در گروه دیابت+ تمرین+ مکمل (به ترتیب ۹۸.۱ ، ۹۴.۲ و ۰۶.۳) مشاهده شد.

طبق نتایج تحلیل واریانس، اختلاف معنی‌داری در سطوح پروتئین بافتی مسیر سیگنالینگ Nrf۲/HO-۱/NQO۱ در بین گروه‌های پژوهش مشاهده شد (P=۰۰۱.۰). در نمودار ۱ میانگین و انحراف استاندارد سطوح پروتئین بافتی مسیر سیگنالینگ Nrf۲/HO-۱/NQO۱ هیپوکمپ مغز را در گروههای مختلف مطالعه پس از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل سیاه‌دانه آورده شده است. بررسیهای بین گروهی با استفاده از آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد که القای دیابت موجب افزایش سطوح بافتی Nrf۲ (P=۰۰۰.۰)، HO-۱ (P=۰۰۹.۰) و NQO۱ (P=۰۱۴.۰) در گروه کنترل دیابت نسبت به گروه کنترل سالم گردید. افزایش سطوح بافتی Nrf۲ بر اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (P=۰۲۵.۰) و مکمل‌یاری سیاه‌دانه (P=۰۰۱.۰) در مقایسه با گروه کنترل دیابت مشاهده شد. همچنین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا+ مکمل سیاه‌دانه اثرگذاری بیشتری در افزایش سطح بافتی Nrf۲ (P=۰۰۱.۰) نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید (نمودار ۱- الف). همچنین، طبق نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی، سطوح پروتئین HO-۱ بافت هیپوکمپ مغز در پاسخ به تمرین تناوبی با شدت بالا (P=۰۲۴.۰) و مکمل‌یاری با سیاه‌دانه (P=۰۴۲.۰) افزایش یافتند. تمرین تناوبی با شدت بالا+ مکمل سیاه‌دانه نیز اثرگذاری بیشتری نسبت به گروه کنترل بر افزایش سطوح پروتئین HO-۱ بافت هیپوکمپ مغز داشت (P=۰۰۴.۰) (نمودار ۱- ب). طبق نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی، ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (P=۰۲۹.۰) و مکمل‌یاری توسط سیاه‌دانه (P=۰۰۳.۰) با افزایش سطوح پروتئین NQO۱ در بافت هیپوکمپ مغز همراه بود. همچنین، مکمل‌یاری با سیاه دانه به همراه تمرین تناوبی با شدت بالا نیز بیشترین اثر معنی‌داری را بر افزایش سطوح پروتئین NQO۱ در بافت هیپوکمپ مغز داشت (P=۰۰۲.۰) (نمودار ۱- ج). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شده است. سطح معنی داری ≥ ۰۵.۰ گزارش شده است. NC: کنترل نرمال؛ DC: کنترل دیابت؛ DT: دیابت + تمرین؛ DS: دیابت + مکمل؛ DST: دیابت + مکمل + تمرین. [a] در مقایسه با گروه NC، [b] در مقایسه با گروه DC.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که القای دیابت موجب افزایش سطوح بافتی Nrf۲، HO-۱ و NQO۱ در گروه کنترل دیابت نسبت به گروه کنترل سالم گردید. این یافته با برخی پژوهش‌های پیشین هم‌راستا(۳۴،۲۲) و با برخی دیگر متفاوت است(۲۳). این تفاوت‌ها ممکن است ناشی از تفاوت‌های بافتی، سن حیوانات، نوع تمرین و ویژگی‌های بیماری باشد. این یافته‌ها مؤید آن است که افزایش بیان Nrf۲ می‌تواند بخشی از پاسخ تطابقی بدن نسبت به استرس‌های اکسیداتیو ناشی از بیماری‌هایی چون دیابت یا سکته باشد و تمرینات ورزشی می‌توانند در این مسیر تعدیل‌گر مثبتی تلقی شوند(۹). افزایش Nrf۲ و ژن‌های هدف آن، نشان‌دهنده یک پاسخ جبرانی سلول در مقابل بار اکسیداتیو القاشده توسط دیابت است(۹).

یافته دیگر این مطالعه این می‌باشد که افزایش سطوح بافتی Nrf۲، HO-۱ و NQO۱ بر اثر تمرین تناوبی با شدت بالا در مقایسه با گروه کنترل دیابت مشاهده شد. مطالعات مختلف اثرات تمرینات ورزشی و مکمل‌ها بر شاخص‌های مختلف بیوشیمیایی و ژنتیکی را بررسی کرده‌اند که برخی از آنها با نتایج تحقیق هم‌راستا هستند(۲۲،۲۴). افزایش سطوح بافتی Nrf۲،HO-۱ و NQO۱ در پاسخ به تمرینات تناوبی با شدت بالا

در مقایسه با گروه کنترل دیابت ممکن است ناشی از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط با پاسخ بدن به استرس ناشی از تمرینات ورزشی و افزایش نیاز به مقابله با استرس اکسیداتیو باشد(۳۱). تمرینات تناوبی با شدت بالا، نه‌تنها منجر به افزایش تولید پروتئین‌های محافظتی مانند Nrf۲ می‌شود، بلکه همچنین با تقویت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، به کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد سلولی کمک می‌کند.

یافته دیگر این مطالعه این بود که افزایش سطوح بافتی Nrf۲، HO-۱ و NQO۱ بر اثر مکمل سیاه دانه در مقایسه با گروه کنترل دیابت مشاهده شد. این یافته با برخی از نتایج تحقیقاتی که به مطالعه اثرات سیاه دانه در شرایط مشابه پرداخته‌اند، تطبیق دارد(۳۵،۳۶). مجموعه‌ای از نتایج این مطالعات، نشان‌دهنده اثرات محافظتی و آنتی‌اکسیدانی سیاه دانه در شرایط مختلف، به‌ویژه در دیابت، است که مشابه با یافته‌های شما مبنی بر افزایش سطوح Nrf۲،HO-۱ وNQO۱ در پاسخ به مکمل سیاه دانه می‌باشد(۲۷). مکانیسم افزایش سطوح بافتی متغیرهای تحقیق بر اثر مکمل سیاه دانه در موش‌های دیابتی ممکن است از طریق فعال‌سازی مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی صورت گیرد(۲۸).

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مکمل‌یاری با سیاه دانه به همراه تمرین تناوبی با شدت بالا به طور هم‌زمان می‌تواند تأثیرات معناداری بر افزایش سطوح پروتئین‌های Nrf۲،HO-۱ و NQO۱ در بافت هیپوکمپ مغز داشته باشد. سیاه دانه، به ویژه ترکیب فعال تیموکینون موجود در آن، می‌تواند با فعال‌سازی مسیر Nrf۲ موجب ترشح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند HO-۱ و NQO۱ در سلول‌ها شود(۱۰). از سوی دیگر، تمرین تناوبی با شدت بالا به‌طور مستقل نیز اثرات ویژه‌ای بر فعال‌سازی مسیرهای آنتی‌اکسیدانی دارد. این نوع تمرین، به دلیل شدت بالا، باعث تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو در بدن می‌شود. تمرینات با شدت بالا به‌طور خاص می‌توانند افزایش تولید پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی مانند Nrf۲،HO-۱ و NQO۱ را در بافت‌های مختلف، از جمله مغز، تحریک کنند(۳۵).

نتیجه گیری

به طور کلی، این نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل‌یاری با سیاه‌دانه بر تقویت مسیر سیگنالینگ Nrf۲/HO-۱/NQO۱ در مغز و کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو هستند. این ترکیب می‌تواند به عنوان یک روش مکمل در پیشگیری از آسیب‌های مغزی مرتبط با دیابت و استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدر دانی

این مطالعه بر گرفته از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی است از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال است لذا از مسئولین دانشکده تربیت بدنی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1.Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management. Nurs Stand. 2022 Jan 5;37(1):61-66.

2.Calimag APP, Chlebek S, Lerma EV, Chaiban JT. Diabetic ketoacidosis. Dis Mon. 2023 Mar;69(3):101418.

3.Cole JB, Florez JC. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. Nat Rev Nephrol. 2020 Jul;16(7):377-390.

4.Malik A, Ananthakrishnan S. Diabetes Physical Examination. Med Clin North Am. 2022 May;106(3):483-494.

5.Rafiee Z, García-Serrano AM, Duarte JMN. Taurine Supplementation as a Neuroprotective Strategy upon Brain Dysfunction in Metabolic Syndrome and Diabetes. Nutrients. 2022 Mar 18;14(6):1292

6.Davidson TL, Stevenson RJ. Appetitive interoception, the hippocampus and western-style diet. Rev Endocr Metab Disord. 2022 Aug;23(4):845-859.

7.Ivask M, Pajusalu S, Reimann E, Kõks S. Hippocampus and Hypothalamus RNA-sequencing of WFS1-deficient Mice. Neuroscience. 2018 Mar 15;374:91-103.

8.Ergenc M, Ozacmak HS, Turan I, Ozacmak VH. Melatonin reverses depressive and anxiety like-behaviours induced by diabetes: involvement of oxidative stress, age, rage and S100B levels in the hippocampus and prefrontal cortex of rats. Arch Physiol Biochem. 2022 Apr;128(2):402-410.

9.Rebai R, Jasmin L, Boudah A. The antidepressant effect of melatonin and fluoxetine in diabetic rats is associated with a reduction of the oxidative stress in the prefrontal and hippocampal cortices. Brain Res Bull. 2017 Sep;134:142-150.

10.Dodson M, Shakya A, Anandhan A, Chen J, Garcia JGN, Zhang DD. NRF2 and Diabetes: The Good, the Bad, and the Complex. Diabetes. 2022 Dec 1;71(12):2463-2476.

11.Liu Z, Nan P, Gong Y, Tian L, Zheng Y, Wu Z. Endoplasmic reticulum stress-triggered ferroptosis via the XBP1-Hrd1-Nrf2 pathway induces EMT progression in diabetic nephropathy. Biomed Pharmacother. 2023 Aug;164:114897.

12.Nguyen V, Taine EG, Meng D, Cui T, Tan W. Pharmacological Activities, Therapeutic Effects, and Mechanistic Actions of Trigonelline. Int J Mol Sci. 2024 Mar 16;25(6):3385.

13.Li S, Zheng L, Zhang J, Liu X, Wu Z. Inhibition of ferroptosis by up-regulating Nrf2 delayed the progression of diabetic nephropathy. Free Radic Biol Med. 2021 Jan;162:435-449.

14.Jin T, Chen C. Umbelliferone delays the progression of diabetic nephropathy by inhibiting ferroptosis through activation of the Nrf-2/HO-1 pathway. Food Chem Toxicol. 2022 May;163:112892.

15.Feng X, Wang S, Sun Z, Dong H, Yu H, Huang M, et all. Ferroptosis Enhanced Diabetic Renal Tubular Injury via HIF-1α/HO-1 Pathway in db/db Mice. Front Endocrinol (Lausanne). 2021 Feb 18;12:626390.

16.Ma L, Wu F, Shao Q, Chen G, Xu L, Lu F. Baicalin Alleviates Oxidative Stress and Inflammation in Diabetic Nephropathy via Nrf2 and MAPK Signaling Pathway. Drug Des Devel Ther. 2021 Jul 21;15:3207-3221.

17.Wu R, Zhu Z, Zhou D. VEGF, apelin and HO-1 in diabetic patients with retinopathy: a correlation analysis. BMC Ophthalmol. 2020 Aug 8;20(1):326.

18.Barzegari A, Amouzad Mahdirejei H, Hanani M, Esmaeili MH, Salari AA. Adolescent swimming exercise following maternal valproic acid treatment improves cognition and reduces stress-related symptoms in offspring mice: Role of sex and brain cytokines. Physiol Behav. 2023;269:114264.

19.Sun H, Lu S, Qu G, Li J, Song B. Mesenchymal stem cells-derived exosomes ameliorate high glucose and lipopolysaccharide-induced HPMECs injury through the Nrf2/HO-1 pathway. Autoimmunity. 2023 Dec;56(1):2290357.

20.Carbone S, Del Buono MG, Ozemek C, Lavie CJ. Obesity, risk of diabetes and role of physical activity, exercise training and cardiorespiratory fitness. Prog Cardiovasc Dis. 2019 Jul-Aug;62(4):327-333.

21.Mahdirejei HA, Peeri M, Azarbayjani MA, Fattahi Masrour F. Fluoxetine combined with swimming exercise synergistically reduces lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior by normalizing the HPA axis and brain in-

flammation in mice. Pharmacol Biochem Behav. 2023;232:173640.
22.Amouzad Mahdirejei H, Peeri M, Azarbayjani MA, Masrour FF. Diazepam and exercise training combination synergistically reduces lipopolysaccharide-induced anxiety-like behavior and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice. Neurotoxicology. 2023 Jul;97:101-108.
23.Amouzad Mahdirejei H, Fadaei Reyhan Abadei S, Abbaspour Seidi A, Eshaghei Gorji N, Rahmani Kafshgari H, Ebrahim Pour M, et all. Effects of an eight-week resistance training on plasma vaspin concentrations, metabolic parameters levels and physical fitness in patients with type 2 diabetes. Cell J. 2014 Fall;16(3):367-74.
24.Nadaf fahmideh M, Gholamrezaei S, Shabani R. The Effect of Two Types of Interval Training Intensity on Mitochondrial NRF1 and NRF2 Mitochondrial Gene Expression in Male Rats Myocardial Infarction Models. J Jiroft Univ Med Sci 2022; 9 (1) :896-904. [Persian]
25.Malekpour M, Rezai R, Salesi M, Daryanoosh F, Nemati J. The Effect of Six Weeks High Intensity Interval Training along with Taking Coenzyme Q10 Supplement on Nrf2 and, NQO1 in Heart Muscle of Old Male Diabetic Rats. ijdld 2023; 23 (2) :114-124. [Persian]
26.Amouzad Mahdirejei H., Peeri M., Azarbaijani M. A., Fattahi Masrour F. The Effect of Swimming Exercise, Diazepam, and Fluoxetine on Serum Corticosterone and Testosterone Levels in Mice Exposed to Lipopolysaccharide. Educational Management - Health Sciences, 2025; 2(2): 1-12. [Persian]
27.Frajtabar Z., Fathi R., Nasiri K., Ahmadi F. The Effect of Aerobic Exercise and Ethanol Consumption on Nrf2 Gene Expression in Heart Tissue and Some Antioxidant Indices in Male Rat. Sport Physiology, 2021; 13(49): 65-88. [Persian]
28.Derosa G, D'Angelo A, Maffioli P, Cucinella L, Nappi RE. The Use of Nigella sativa in Cardiometabolic Diseases. Biomedicines. 2024 Feb 9;12(2):405.
29.Farhangi MA, Dehghan P, Tajmiri S, Abbasi MM. The effects of Nigella sativa on thyroid function, serum Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) - 1, Nesfatin-1 and anthropometric features in patients with Hashimoto's thyroiditis: a randomized controlled trial. BMC Complement Altern Med. 2016 Nov 16;16(1):471.
30.Fasipe B, Laher I. Nrf2 modulates the benefits of evening exercise in type 2 diabetes. Sports Med Health Sci. 2023 Sep 9;5(4):251-258.
31.Gal A, Odunayo A. Diabetes Ketoacidosis and Hyperosmolar Hyperglycemic Syndrome in Companion Animals. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2023 May;53(3):531-550.
32.Holmes A, Coppey LJ, Davidson EP, Yorek MA. Rat models of diet-induced obesity and high fat/low dose streptozotocin type 2 diabetes: effect of reversal of high fat diet compared to treatment with enalapril or menhaden oil on glucose utilization and neuropathic endpoints. Journal of diabetes research. 2015;2015.
33.Gawas CG, Mathur S, Wani M, Tabassum H. Nigella sativa and its nano-mediated approach toward management of neurodegenerative disorders: A review. Ibrain. 2023 Feb 7;9(1):111-123.
34.Gayatri V, Krishna Prasad M, Mohandas S, Nagarajan S, Kumaran K, Ramkumar KM. Crosstalk between inflammasomes, inflammation, and Nrf2: Implications for gestational diabetes mellitus pathogenesis and therapeutics. Eur J Pharmacol. 2024 Jan 15;963:176241. [Persian]
35.Tofighi A, Babaei S. The Effects Of Separate And Combined Exercise And Nigella Supplement On Plasmatic Levels Of Apelin And Glucose In Type 2 Diabetes Mouse. Studies in Medical Sciences 2016; 27 (1) :10-18. [Persian]
36.Rezaei Z, Mokhtari M, Shariati M. The Effect of Hydroalcoholic Extract of Sativa Nigella and Honey on Liver Enzymes (AST, ALT, ALP) in Adult Male Rats Following Induction of Diabetes Mellitus. aumj 2022; 11 (2) :197-206. [Persian]