



## Effect of interval training along with *Adiantum capillus-veneris* Linn supplement on surfactant protein (SP-A) in lung male rats

Seyed Hadi Hosseini<sup>1</sup>, Shadmehr Mirdar Harijani<sup>2</sup>, Mehdi Hedayati<sup>3</sup>

1. MSc in Exercise Physiology, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran.

2. Full Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran.

3. Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

### Abstract

**Background and Aim:** Surfactant protein (SP-A) is most abundant surfactant protein in lungs and plays an important role in eliminating the infection and inflammatory mediators. Further, *Adiantum capillus-veneris* Linn (Pare-siavashan) composed elements such as flavonoids and saponins maidenhair and may play an effective role in inhibiting the inflammatory responses. The aim of this study was to investigate the effect of interval training along with *Adiantum capillus-veneris* Linn supplementation on levels of SP-A in lung male rats. **Materials and Methods:** Thirty male Wister rats with three weeks old and average weight of  $68 \pm 9$  g were randomly divided into 2 groups including interval training and control groups. The interval training group was divided into three sub-groups including training, supplementation and training+supplementation groups after the end of 6-week interval training. The *Adiantum capillus-veneris* Linn herbal supplement were fed orally for 3 weeks, with the daily dose of 200 mg per kilogram of body weight. The levels of lung SP-A was measured using Cusabio ELISA kit (China Company). The data were analyzed using one-way ANOVA and LSD tests at the significant level of  $p \leq 0.05$ . **Results:** The results showed no significant differences between lung SP-A levels after 6 ( $p=0.28$ ) and 9 ( $p=0.14$ ) weeks of interval training compared to control group; however SP-A levels significantly decreased in the training - *Adiantum capillus-veneris* Linn group ( $p=0.001$ ) compared to other interventions. **Conclusion:** Regarding the significant reduction of SP-A after interval training, it seems that supplementation may inhibit the pathophysiological effects of incremental trainings and to reduce the inflammatory parameters well and to strengthen the lung immunity.

**Keywords:** Interval training, Herbal supplementation, *Adiantum capillus-veneris* Linn, lung surfactant.



## تأثیر یک دوره تمرین تناوبی همراه با مکمل پرسیاوشان بر سطوح پروتئین سرفکتانت (SP-A) ریه رت‌های نر

سید هادی حسینی<sup>۱\*</sup>، شادمهر میردار هریجانی<sup>۲</sup>، مهدی هدایتی<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
۳. دانشیار، پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** SP-A فراوان ترین پروتئین سرفکتانت ریوی است که نقش مهمی در از بین بردن عفونت و از بین بردن واسطه های التهابی دارد. از طرفی، پرسیاوشان با دارا بودن عناصر ضدالتهابی همچون فلاونوئیدها و ساپونین ها، نقش مؤثری در مهار واکنش های التهابی بازی می کند. هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی همراه با مکمل دهی پرسیاوشان بر سطوح SP-A ریه رت‌های نر بود. **روش تحقیق:** در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار سه هفته‌ای با میانگین وزن  $68 \pm 9$  گرم به طور تصادفی به گروه های کنترل و تمرین تقسیم شدند. گروه تمرین پس از پایان دوره ۶ هفته ای تمرین تناوبی، به سه گروه تمرین، مکمل و تمرین + مکمل تقسیم گردید. به گروه های مکمل و مکمل + تمرین، به مدت سه هفته مکمل گیاهی پرسیاوشان به صورت روزانه ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوآژ خورانده شد. اندازه گیری سطوح SP-A ریه با استفاده از کیت کازابایو ساخت کشور چین و به روش الایزا انجام شد. تحلیل داده ها با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD در سطح  $p < 0.05$  انجام گرفت. **یافته ها:** پس از مدت ۶ و ۹ هفته تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل، تفاوت معنی داری در سطوح SP-A ریه (به ترتیب با  $p = 0.14$  و  $p = 0.28$ ) مشاهده نگردید؛ اما سطوح SP-A ریه در گروه تمرین - مکمل پرسیاوشان نسبت به سایر گروه ها ( $p = 0.001$ ) به طور معنی داری کاهش یافت. **نتیجه گیری:** با توجه به کاهش معنی دار SP-A پس از تمرین، به نظر می رسد مکمل پرسیاوشان با توجه به ترکیبات ضد اکسایشی موجود در آن توانسته است اثرات پاتوفیزیولوژیکی تمرین تناوبی فزاینده را مهار و شاخص های التهابی را به خوبی کاهش دهد و موجب تقویت سیستم ایمنی ریه شود؛ هر چند بررسی های بیشتر در این زمینه ضرورت دارد.

**واژه های کلیدی:** تمرین تناوبی، مکمل گیاهی، پرسیاوشان، سرفکتانت ریه.

## مقدمه

فعالیت اندام های تنفسی به ویژه زمانی که ارگانیسیم فعالیت خیلی شدیدی داشته باشد، ممکن است با اشکالاتی رو به رو شود. به نظر می رسد ورزشکاران در فعالیت های خیلی شدید، به دلیل تنفس مکرر هوا به درون مجاری تنفسی به ویژه نای، با محدودیت هایی در حجم ها و ظرفیت های ریوی، مخصوصاً ظرفیت های دینامیک مواجه می شوند. ریه ها هنگام فعالیت های شدید به دم و بازدم عمیق تر و سرعت جریان هوای سریع تری نیاز دارند که بر اثر مقاومت در مسیرهای تنفسی و آسیب ریوی ناشی از افزایش سایتوکاین های التهابی، محدودیت های زیادی در اجرا به وجود می آید (اکل<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۰۸).

سرفکتانت ریوی ترکیبی از چربی و پروتئین موجود در ریه است که نقش منحصر به فرد و مهمی در دفاع ذاتی ریه بازی می کند و موجب کاهش کشش سطحی در سطح مایع- هوای حبابچه، ثبات حبابچه، جلوگیری از فروپاشی حبابچه در طی عمل تنفس، افزایش انطباق ریه، کاهش کار تنفس و تنظیم دفاعی در برابر عفونت های ریوی و پاسخ التهابی می شود (بلاکر<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۴؛ کرونئوز<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). تاکنون چهار پروتئین سرفکتانت (SP) به نام های SP-A، SP-B، SP-C و SP-D در انسان شناسایی شده است. SP-A فراوان ترین پروتئین سرفکتانت ریوی است که در سلول های آلوئولار نوع II<sup>۴</sup> ساخته شده و در تشکیل توپول میلیون در حبابچه، بلوغ ریوی، از بین بردن عفونت، تنظیم ساخته شدن واسطه های اکسیژن فعال و همچنین از بین بردن واسطه های التهابی مانند سایتوکاین ها<sup>۵</sup> نقش مهمی دارد (سامتن<sup>۷</sup> و دیگران، ۲۰۰۸؛ کرونئوز و دیگران، ۲۰۱۰). هنگامی که ریه در معرض محرک های خاص هم چون تمرین بدنی<sup>۸</sup> و تنفس سریع<sup>۹</sup> قرار می گیرد، سرفکتانت ریوی از سلول های آلوئولار نوع II ترشح می شود تا عفونت را از بین ببرد. تمرینات ورزشی می توانند سرفکتانت ریوی را تغییر دهند (سو<sup>۱۰</sup> و دیگران، ۲۰۰۵)؛ از جمله این که اشاره شده فعالیت ورزشی شدید در مانده ساز<sup>۱۱</sup> موجب افزایش سطح SP-A و ماکروفاژهای حبابچه ای<sup>۱۲</sup> (BAMS) در لاواژ ریه<sup>۱۳</sup> می شود. میردار و نیستانی

(۲۰۱۸) نشان داده اند که اجرای تمرین تناوبی فزآینده به مدت ۶ هفته، موجب افزایش ماکروفاژهای آلوئولی و سطح SP-A ریه رت های نر در حال بلوغ می شوند.

نیاز به اختصاص زمان طولانی، خستگی روانی و تنوع کم، از دشواری های اجرای تمرینات هوازی استقامتی است. به همین منظور، از تمرینات تناوبی شدید به عنوان تمرینی جایگزین یاد می شود (هویر<sup>۱۴</sup> و دیگران، ۲۰۱۳). تمرینات تناوبی شدید عبارت است از دوره های تمرینی کوتاه و نسبتاً شدید با دوره های استراحت که موجب افزایش ظرفیت هوازی در مدت زمان کوتاه و همچنین بهبود عملکرد ورزشی می شود (قدس میرحیدری و دیگران، ۲۰۰۴). با وجود مزایای تمرینات شدید در بهبود عملکرد ورزشی، این نکته را باید مدنظر داشت که تمرینات ورزشی شدید سبب ایجاد اختلال موقت در سیستم ایمنی، افزایش استرس اکسایشی، کاهش تعداد و ظرفیت های عملکردی لکوسیت ها می شوند (روکو<sup>۱۵</sup> و دیگران، ۲۰۰۹). همچنین تمرینات ورزشی شدید می توانند یک محرک قوی در ایجاد التهاب ریه به شمار روند (مولدو وینو<sup>۱۶</sup> و دیگران، ۲۰۰۹). تمرینات تناوبی نیز اگر به صورت فزآینده و به مدت طولانی اجرا شوند، ممکن است آثار مشابهی داشته باشند. ورزش شدید همراه با تهویه زیاد می تواند اپی تلیوم مجاری هوایی را با تغییر در ویسکوزیته، نیروی ارتجاعی و یا مقدار مایع پوششی مجاری هوایی؛ تحت تاثیر قرار دهد (آندرسون<sup>۱۷</sup> و دیگران، ۲۰۰۰). در موش های تمرین کرده با پروتکل های ورزشی شدید، افزایش نفوذ لکوسیت ها در دیواره نایژه ای دیده شده است؛ لذا این باور وجود دارد که اجرای تمرینات شدید ممکن است باعث هجوم سلول های التهابی به مسیرهای هوایی و تغییرات اپیتلیال شود (چیمنتی<sup>۱۸</sup> و دیگران، ۲۰۰۷). تاثیرات تمرین تناوبی شدید در بافت های مختلف از جمله عضله اسکلتی و قلب مورد بررسی قرار گرفته است، اما تاثیر این نوع تمرینات بر دستگاه تنفسی عموماً در سطح عضلات تنفسی بررسی نشده و دانش موجود در ارتباط تاثیر این گونه تمرینات روی پروتئین های ریه با خلاء جدی مواجه است.

- |                           |                                      |
|---------------------------|--------------------------------------|
| 1. Eckle                  | 7. Samten                            |
| 2. Blacker                | 8. Physical exercise                 |
| 3. Chronoos               | 9. Hyperventilation                  |
| 4. Surfactant protein     | 10. Su                               |
| 5. Alveolar type II cells | 11. Severe exercise until exhaustion |
| 6. Cytokines              | 12. Bronchoalveolar macrophages      |
|                           | 13. Lung lavage                      |

- |                |
|----------------|
| 14. Hoier      |
| 15. Rocco      |
| 16. Moldoveanu |
| 17. Anderson   |
| 18. Chimenti   |

همزمان مکمل پرسیاوشان و تمرینات ورزشی، این فرضیه مطرح می شود که تمرینات منظم تناوبی و مصرف مکمل یاد شده ممکن است بر پاسخ سرفکتانت ریوی تأثیرگذار باشند. بنابراین در مطالعه حاضر محقق در پی آن است که تأثیر یک دوره تمرین تناوبی و مکمل پرسیاوشان را بر سطوح SP-A ریوی رت‌های نر مورد بررسی قرار دهد و به این پرسش پاسخ دهد که اجرای تمرینات تناوبی و مصرف مکمل پرسیاوشان چه تأثیری بر سطوح SP-A ریوی رت‌های نر نژاد ویستار دارند؟

### روش تحقیق

نمونه های تحقیق حاضر را ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار<sup>۱۳</sup> (سن ۴ هفته و میانگین وزن  $68 \pm 9$  گرم) تشکیل دادند. این حیوانات از انستیتو پاستور شهر آمل خریداری شدند و به آزمایشگاه جانوری گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران منتقل گردیدند. رت‌ها ابتدا به صورت تصادفی به ۲ گروه کنترل و تمرین اولیه تقسیم شدند. نمونه‌ها کاملاً سالم بودند و هیچ گونه سابقه بیماری نداشتند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط جدید در دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند و سپس به مدت یک هفته با نحوه فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. در طی تحقیق، غذای استاندارد پلت<sup>۱۴</sup> و آب به صورت آزاد در اختیار نمونه‌ها قرار گرفت. مطالعه حاضر با مجوز کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران با کد IR.UMZ.IEC.1397.077 انجام گرفته است و سعی شده که تمام موازین اخلاقی کار با حیوان مورد توجه باشد و الزامات معاهده هلسینکی رعایت گردد.

رت‌های گروه تمرین به مدت ۶ هفته در یک دوره برنامه تمرین تناوبی شرکت کردند، در حالی که گروه کنترل فعالیت خاصی نداشتند. در انتهای هفته ششم، رت‌ها به چهار گروه شامل گروه کنترل که از ابتدا به عنوان گروه کنترل شناخته شده بود؛ و سه گروه مداخله تقسیم شدند. این گروه‌ها مشتمل بر گروه تمرین،

از طرفی هم استفاده از مکمل‌های گیاهی می‌تواند سبب تقویت حالت ضد اکسایشی پاسخ ورزشی و کاهش آسیب اکسایشی هنگام تمرین ورزشی شود (واتین<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۳). گیاه پرسیاوشان از مکمل‌های گیاهی است که به دلیل ترکیبات ساختاری خود نقش موثر ضدالتهابی، ضد آلرژی، درمان برونشیت و التهاب تنفسی دارد (انصاری و اخلاصی، ۲۰۱۲). مکمل‌های ضد اکسایشی همچنین می‌توانند موجب تقویت پاسخ‌های ورزشی و بهبود عملکرد ورزشکاران شوند (مارگاریتیسی<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۳). پرسیاوشان با نام علمی *CapillusVeneris* *Adiantum* گیاهی است علفی و پایا از خانواده سرخس (شیرازی و دیگران، ۲۰۱۱) که سابقه ای طولانی در درمان سرفه، عفونت‌های حلق و حبابچه دارد و دارای خواص خلت آور، ضد اکسایش، ضد التهاب و ضد عفونت می باشد (گلیسون<sup>۳</sup>، ۲۰۰۷). تحقیقات انجام شده تایید کرده اند که فلاونوئید موجود در این گیاه (روتین<sup>۵</sup> و ایزوکورتین<sup>۶</sup>) دارای اثر ضد التهابی و ضد آلرژی بوده و موجب کنترل عوامل بیماری‌زا می شوند (شیرازی و دیگران، ۲۰۱۱). اثرات ضد حساسیتی پرسیاوشان و اثر حفاظتی آن از برونکواسپاسم<sup>۷</sup> ناشی از حساسیت و کاهش علائم آسم نیز گزارش شده است (ساروپ<sup>۸</sup> و دیگران، ۲۰۱۲). همچنین فلاونوئیدها، تریترپنوئیدها<sup>۹</sup>، پروپانوئیدها<sup>۱۰</sup> و سایر عناصر ضدالتهابی موجود در پرسیاوشان؛ می‌توانند بیان پروتئین‌های پیش آپوپتوزی<sup>۱۱</sup> و ضدآپوپتوزی<sup>۱۲</sup> حبابچه‌های ریوی را تعدیل کرده و تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر مهار واکنش‌های پروآپوپتوتیکی در ریه داشته باشند (یادگاری و دیگران، ۲۰۱۸).

با توجه به مطالب بیان شده، مطالعه‌ای در مورد اثر تعاملی پرسیاوشان و ورزش تناوبی بر تغییرات SP-A ریوی یافت نشد. از طرف دیگر، با توجه به اثرات مفید پرسیاوشان بر التهاب دستگاه تنفس، استفاده از چنین مکملی در کنار تمرین ورزشی به نظر می‌رسد که بر بافت ریه تأثیرات مثبت گذاشته و در نهایت، منجر به بهبود عملکرد ریوی شود. بر این اساس، نظر به احتمال تأثیر

1. Vatain  
2. Margaritis  
3. Gleeson  
4. Flavonoids  
5. Routine

6. Isocortin  
7. Bronchospasm  
8. Swaroop  
9. Triterpenoids.  
10. Propanoids

11. Pre-apoptosis  
12. Anti-apoptotic  
13. Wistar male rat  
14. Pellete

نزدیک شدن و استراحت در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند. برنامه اصلی تمرین تناوبی شدید به صورت ۱۰ تکرار ۱ دقیقه ای و استراحت فعال ۲ دقیقه ای انجام شد، به گونه ای که سرعت استراحت نصف سرعت دویدن بود و کل تمرین روزانه برای هر رت ۳۰ دقیقه طول کشید (جدول ۱). نمونه ها ۵ جلسه در هفته تمرین کردند. برنامه تمرین تناوبی شدید با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه شروع و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه در پایان هفته ششم به پایان رسید. آزمودنی ها در روزهای پنجشنبه و جمعه استراحت داشتند. به غیر از زمان فعالیت اصلی، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد (میردار و دیگران، ۲۰۱۴؛ یادگاری و دیگران، ۲۰۱۸).

گروه مکمل پرسیاوشان و گروه تمرین+ مکمل پرسیاوشان می‌گردید که به مدت ۳ هفته در مرحله دوم تحقیق شرکت داده شدند. نمونه های گروه مکمل در طی این ۳ هفته، عصاره پرسیاوشان را به صورت گاوژ دریافت کردند. تعداد رت های هر گروه شامل ۵ سر رت بود. برای گروه های تمرین، ابتدا برنامه آشنا سازی شامل ۴ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۱۰ تا ۲۵ متر بر دقیقه و شیب صفر درصد روی دستگاه نوارگردان اجرا شد. برای تحریک به دویدن، شوک الکتریکی ملایمی در عقب دستگاه نوارگردان تعبیه شد. برای جلوگیری از اثر احتمالی شوک الکتریکی بر یافته‌های تحقیق، در مرحله آشناسازی حیوانات با فعالیت روی نوارگردان، با روش شرطی سازی با صدا به حیوانات آموزش داده شد که از

جدول ۱. برنامه تمرین تناوبی شدید گروه ۶ هفته و ۹ هفته

هفته ها	آشنایی	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم	نهم
سرعت نوارگردان (متر/دقیقه)	۱۰-۲۵	۲۵-۳۵	۳۵-۴۵	۴۵-۵۵	۵۵-۶۵	۶۵-۷۰	۶۵-۷۰	۶۵-۷۰	۶۵-۷۰	۶۵-۷۰
زمان نوبت شدید (دقیقه)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
استراحت بین نوبت ها (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تعداد نوبت ها در هر جلسه	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تعداد جلسات در هفته	۴	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵

نگهداری گردید. این مخلوط هر ۶ ساعت یک بار توسط میله شیشه‌ای هم زده شد. پس از گذشت مدت زمان مذکور، مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد و حلال آن توسط روتاری<sup>۱</sup> با دمای ملایم (زیر ۶۰ درجه سانتی‌گراد) حذف گردید. عصاره پرسیاوشان پس از پایان دور اول تحقیق (پایان هفته ۶) به مقدار ۲۰۰

برای تهیه عصاره پرسیاوشان، از روش خیساندن استفاده شد، بدین ترتیب که ۵۰ گرم پودر پرسیاوشان در محلول ۷۰ درصد اتانول و ۳۰ درصد آب مقطر به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد. در این مدت، درب ظرف حاوی پرسیاوشان با پارافیلیم به خوبی پوشانیده شده و در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد دور از نور

به منظور مقایسه متغیرها در گروه‌های مورد مطالعه، از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه<sup>۶</sup> و متعاقب آن از آزمون ال-اس-دی<sup>۷</sup> استفاده گردید. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و سطح معنی داری فرضیه‌های آماری  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

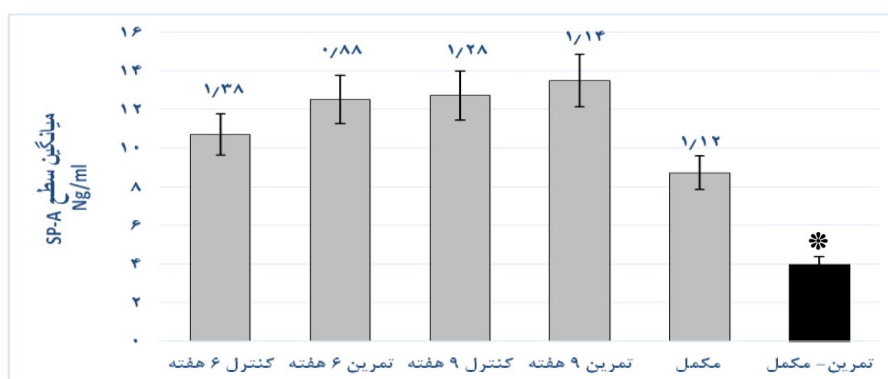
#### یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد SP-A ریه در گروه‌های مورد تحقیق در نمودار ۱ آورده شده است. بر اساس نتایج، سطوح SP-A ریه پس از ۶ هفته تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل ۶ هفته‌ای، تغییر معنی‌داری نکرد ( $p=0/14$ ). علاوه بر این، سطوح SP-A ریه پس از ۹ هفته تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل ۹ هفته‌ای، با تغییر معنی‌داری همراه نبود ( $p=0/28$ ). از طرف دیگر، سطوح SP-A ریه در گروه تمرین - پرسپاوشان نسبت به سایر گروه‌های تحقیق (کنترل ۶ هفته، تمرین ۶ هفته، کنترل ۹ هفته، تمرین ۹ هفته و گروه مکمل)، به طور معنی‌داری ( $p=0/0001$ ) کاهش یافت (نمودار ۱). نمای میکروسکوپی بافت ریه در شکل ۱ نشان داده شده است.

میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ به گروه‌های مکمل خورنده شد.

نمونه‌گیری بافتی از ریه رت‌ها در پایان دوره ورزش تناوبی شدید انجام شد. رت‌ها با تزریق ۳ واحد محلول کتامین<sup>۱</sup> (۵۰-۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین<sup>۲</sup> (۵-۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) به صورت زیر صفاقی بی‌هوش شدند و بافت ریه آن‌ها خارج گردید. ریه سمت راست پس از چند بار شستشو با محلول سالین با استفاده از ترازوی سارتوریوس بی‌ال<sup>۳</sup> ۱۵۰۰ با دقت ۰/۰۰۱ وزن شد.

سطوح SP-A ریه با استفاده از کیت CUSABIO BIOTECH، Wuhan کشور چین با ضریب تغییرات ۶/۸ و حساسیت ۰/۷۸ توسط دستگاه الیزا ریدر<sup>۴</sup> اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ابتدا بافت ریه با استفاده از مایع نیتروژن پودر و سپس در محلول بافر هموژنیزه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ (دوران بر هر دقیقه)<sup>۵</sup> سانتریفیوژ شد. محلول به دست آمده برای سنجش شاخص مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد.



نمودار ۱. توصیف (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) و مقایسه سطح SP-A ریه در گروه‌های مختلف تحقیق؛

\* نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر گروه‌ها در سطح  $p=0/0001$ .

1. Ketamine

2. Xylazine

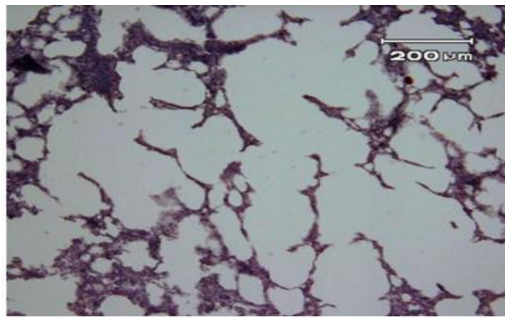
3. Sartorius: BI 1500

4. Elisa reader machine

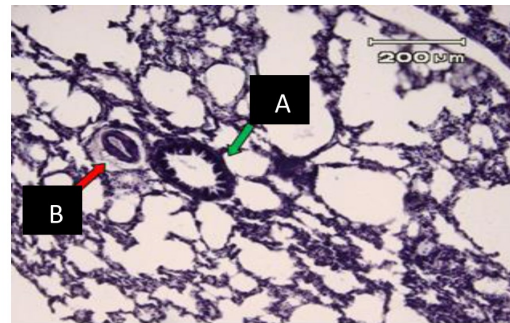
5. Rotation per minute

6. One-way ANOVA

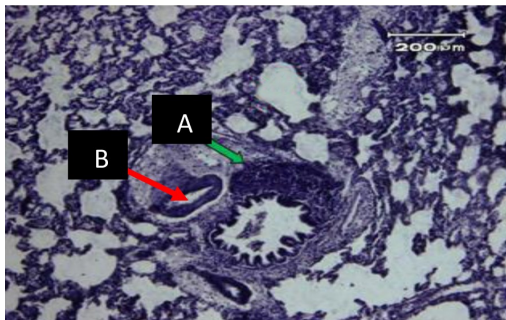
7. Least significant difference (LSD)



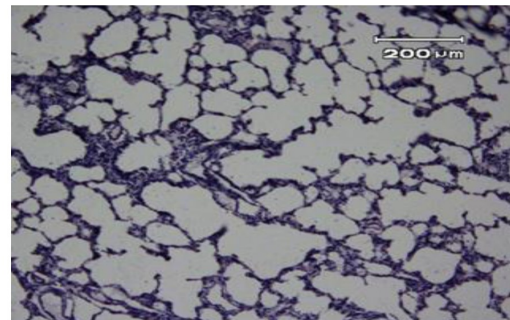
ب



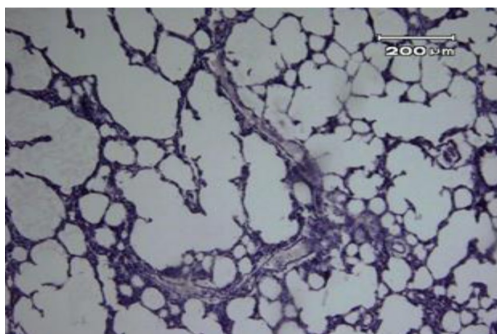
الف



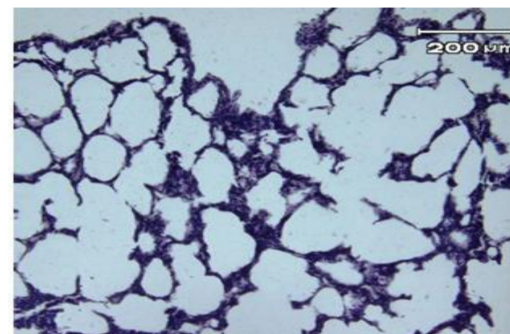
د



ج



و



ن

شکل ۱. نمای میکروسکوپی از ساختار بافتی ریه در رت ها (رنگ آمیزی، H&E بزرگنمایی ۲۰۰). الف. گروه تمرین تناوبی ۹ هفته: التهاب شدید پارانشیم بافت ریه، نفوذ سلول های التهابی و لنفوسیت ها در بافت همبند اطراف مجاری تنفسی، فلش سبز (A) و تیغه های بینابینی فلش قرمز (B) قابل مشاهده است. درگیری پنومونی بینابینی و آمفیزم نسبتاً شدید قابل رویت است. ب. گروه کنترل ۶ هفته: ساختار بافتی پارانشیم ریه، مجاری هدایت کننده و مجاری تنفسی حدوداً طبیعی است. فلش سبز یک برونشیول و فلش قرمز یک سرخرگ ریوی را نشان می دهد. ج. کنترل ۹ هفته: پنومونی خفیف بینابینی و آمفیزم شدید قابل مشاهده است. ساختار طبیعی دیواره آئول تنفسی دچار بهم ریختگی است. د. تمرین ۶ هفته: هرچند مقداری التهاب و آمفیزم بسیار خفیف قابل مشاهده است، اما پارانشیم تنفسی ریه از انسجام ساختاری مناسب تر برخوردار است. ن. مکمل: التهاب خفیف پارانشیم تنفسی قابل مشاهده است. ساختار دیواره آئول های تنفسی نسبت گروه های تمرین از انسجام بهتری برخوردار است و میزان آمفیزم نیز کاهش یافته است. و. مکمل - تمرین: ساختار بافتی پارانشیم ریه نسبت به سایر گروه ها طبیعی تر بوده و از انسجام ساختاری مناسب تری برخوردار است.

## بحث

به طور خلاصه یافته های تحقیق حاضر نشان داد که متعاقب ۳ هفته مصرف عصاره پرسیاوشان در نمونه های تمرین کرده، سطوح SP-A ریه کاهش می یابد. همچنین دیده شد که ۳ هفته مصرف عصاره پرسیاوشان به همراه تمرین تناوبی، سطوح SP-A ریه را به طور معنی دار کاهش داد. از آنجا که SP-A از فراوان ترین پروتئین های سرفکتانت ریوی بوده و در تنظیم ساخته شدن واسطه های اکسیژن فعال، از بین بردن واسطه های التهابی و ایمنی ریه نقش مهمی دارد (سامتن و دیگران، ۲۰۰۸؛ کرونتوز و دیگران، ۲۰۱۰)؛ چنین به نظر می رسد که عصاره پرسیاوشان توانسته است در نمونه هایی که یک دوره تمرینات تنش زای شدید ورزشی را تجربه کرده اند، شرایط را به سمت کاهش آسیب سلول های ریوی و بهبود شاخص های التهابی پیش ببرد.

در مورد اثر تمرینات ورزشی بر ترکیبات سرفکتانت ریوی تحقیقات زیادی صورت نگرفته است. ضمن بررسی تاثیر ورزش حاد و ۷ هفته تمرین ورزشی با شدت بالا بر ترکیبات سرفکتانت ریوی از طریق لاواژ، گزارش شده است که نسبت ترکیبات سرفکتانت در پی یک ورزش حاد (دایل<sup>۱</sup> و دیگران، ۱۹۹۴) و طی یک دوره ورزش ۷ هفته ای بلافاصله بعد از ورزش و همچنین در زمان استراحت (دایل و دیگران، ۲۰۰۰)، تغییر می کند؛ به طوری که نسبت SP-A به کلسترول و نسبت SP-A به فسفولیپید اشباع سرفکتانت؛ افزایش می یابد. همچنین سو و دیگران (۲۰۰۵) اظهار داشته اند که سطح SP-A ریه رت ها پس از فعالیت ورزشی شدید تا حد و اماندگی، نسبت به گروه کنترل (بی تمرین) افزایش می یابد. میردار و نیستانی (۲۰۱۸) نیز نشان دادند که تمرین تناوبی فزاینده ۶ هفته ای، موجب افزایش ماکروفاژهای آلوئولی و سطح سرفکتانت پروتئین A ریوی رت ها در طی دوره بالیدگی می شود. در تحقیق حاضر دیدیم که سطح SP-A ریه رت ها پس از تمرین تناوبی نسبت به گروه های کنترل ۶ و ۹ هفته ای، افزایش یافت؛ اما این افزایش معنی دار نبود. این تغییرات در سطح SP-A ریه ممکن است به وسیله مکانیسم های خود تنظیمی مختلفی ایجاد شود. ورزش طولانی و درمانده ساز اغلب با علائم و نشانه های التهاب راه هوایی همراه است و التهاب راه های هوایی

را می توان به عواملی از جمله تنفس عمیق و سریع، فشار اکسایشی و همچنین تولید و رهایش سایتوکاین ها، گونه های فعال اکسیژن و یا استنشاق آرزنها و آلاینده ها نسبت داد (دایمتریو<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۱۵). مطالعات نشان داده اند که در ورزشکاران استقامتی، تکرار روزانه فعالیت بدنی در دوره زمانی بالا، موجب آسیب های اپیتلیالی و افزایش التهاب در مخاط تنفسی می شود. گزارش شده است که تمرینات ورزشی با بار سنگین از طریق افزایش تهویه، موجب افزایش ساییدگی راه های هوایی و پارگی اپی تلیوم تنفسی می شوند و آسیب اپی تلیالی را به همراه دارند (کارلسن<sup>۳</sup>، ۲۰۱۱). در شرایط استراحت، از دست دادن فعالیت سطحی آلوئولار، روند آهسته داشته، زمان برگشت سرفکتانت آلوئولار طولانی بوده و ظرف چند ساعت رخ می دهد (دایتل<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۰۴)؛ این در حالی است که این روند ممکن است در طول ورزش یا در شرایط پاتولوژیک، افزایش یابد. مطالعات نشان داده اند زمانی که ریه در معرض محرک های خاص مانند تنفس عمیق و سریع یا تمرین بدنی قرار می گیرد، سرفکتانت ریوی از سلول های اپیتلیال نوع II ترشح می شود (دایتل و دیگران، ۲۰۰۴؛ سو و دیگران، ۲۰۰۵) که نشان می دهد به غلظت های بالاتری از SP-A برای مهار فاگوسیتوز ماکروفاژ برانکو آلوئولار در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل، نیاز است.

فعالیت ورزشی شدید با افزایش سرعت تهویه همراه است و موجب جریانی از واکنش ها می شود که با کاهش آب در مایع سطح مجاری تنفسی آغاز می گردد و به دنبال آن، خاصیت اسمزی سلول های پوشاننده مجاری تنفسی تغییر می کند. زمانی که فعالیت ورزشی متوقف گردید، کاهش آب مجاری تنفسی به حالت طبیعی بر می گردد و اسمولاریته سلول های پوشاننده مجاری تنفسی نیز به حالت اولیه برمی گردد. اما این بازگشت تعادل، با رهایش عوامل التهابی از سلول های آسیب دیده همراه است که موجب انقباض عضلات صاف مجاری تنفسی و در نتیجه انقباض برونش ها می شود (جابسون<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۰۹). حضور یک سیستم دفاعی میزبان در ریه برای حفظ عملکرد طبیعی ریه و دفاع در برابر عفونت ضروری است. اگر چه عوامل زیادی به ایمنی ریه کمک می کند، اما سرفکتانت ریوی نقش منحصر به

1. Doyle  
2. Dimitriou  
3. Carlsen

4. Dielt  
5. Jobson



هایپوکسی<sup>۲</sup> نشان دادند که مکمل پرسیاوشان، میانگین آپوپتوزیس راه های هوایی نایژه و نایژک رت ها را در گروه های مکمل نسبت به گروه تمرین تناوبی کاهش می دهد؛ به گونه ای که در گروه های مصرف مکمل پرسیاوشان، علاوه بر کاهش آپوپتوزیس، میانگین زمان خستگی (پس از اجرای آزمون وامانده ساز) نیز کاهش می یابد.

در بررسی نقش عصاره پرسیاوشان و تمرین مشخص شد ساختار بافتی پارانشیم ریه در گروه تمرین - مکمل نسبت به سایر گروه ها طبیعی تر بوده و از انسجام ساختاری مناسب تری برخوردار است (شکل ۱). ارزیابی فیتوشیمیایی پرسیاوشان نشان می دهد که این گیاه دارای ترکیبات پلی فنولی، تریپنوئید<sup>۳</sup>، آلکالوئید<sup>۴</sup>، ترکیبات N اکسید و فیبر با خاصیت ضد اکسایشی و ضد التهابی قوی است (راجورکار و گایکوآد<sup>۵</sup>، ۲۰۱۲). تریترپنوئیدها<sup>۶</sup> متابولیت های ثانویه پنتاسیکلیک<sup>۷</sup> هستند که مشتقات مختلفی از جمله سیانون متیل بسولات<sup>۸</sup> دارند که از قوی ترین مهار کننده های تولید NO بوده (باعث القای تولید اینترفرون گاما<sup>۹</sup> می شود) و موجب مهار سنتز DNA می شود. همچنین گزارشات حاکی از نقش عصاره پرسیاوشان در مهار پر اکسیداسیون چربی، افزایش فعالیت ضد اکسایشی آنزیم ها و افزایش محتوای گلوکوتانیونی است که خود از مهار مستقیم رادیکال های آزاد و در نتیجه ارتقای سیستم دفاع ضد اکسایشی ناشی می شود. علاوه بر این، عصاره پرسیاوشان توانایی مهار تولید PGE2<sup>۱۰</sup> ناشی از عملکرد LPS<sup>۱۱</sup> و همچنین مهار تولید سایتوکاین های اینترلوکین-۶<sup>۱۲</sup> و عامل نکروز دهنده تومور آلفا<sup>۱۳</sup> (TNF-α) در مونسیت ماکروفاژ را دارد؛ تاثیراتی که بخش مهمی از آن به دلیل غیر فعال سازی فاکتور هسته ایکاپایی (NF-KB) می باشد. مطالعات نشان داده اند که p38 MAPK<sup>۱۴</sup> برای نسخه برداری NF-KB ناشی از تحریک TNF-α ضروری است. در همین راستا، نتایجی موجود است مبنی بر این که عصاره پرسیاوشان ممکن است به طور انتخابی بر فسفریلاسیون p38 MAPK اثرگذار باشد و تأثیر مهاری بر آن داشته باشد (یوان<sup>۱۵</sup> و دیگران، ۲۰۱۳).

فرد و مهمی در دفاع میزبان ریوی ایفا می کند (گلاسر<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۰۷). عملکرد سرفکتانت ریوی در درجه اول کاهش کشش سطحی در سطح مایع - هوا حبابچه، جلوگیری از فروپاشی حبابچه طی عمل تنفس، تنظیم دفاعی بدن در برابر عفونت های ریوی و پاسخ التهابی است (سامتن و دیگران، ۲۰۰۸).

نتایج تحقیق حاضر در گروه های مصرف کننده مکمل گیاهی پرسیاوشان، کاهش سطوح SP-A ریه رت ها را نشان داد؛ به طوری که این کاهش در گروه تمرین تناوبی- پرسیاوشان حتی از گروه مکمل پرسیاوشان به طور معنی داری کمتر بود. ساروپ و دیگران (۲۰۱۲) با بررسی اثر ضد حساسیتی پرسیاوشان در خوکچه های هندی مسموم نشان داده اند که این گیاه به طور قابل توجهی از برونکواسپاسم ناشی از حساسیت محافظت کرده و با خواصیت ضد حساسیتی قابل توجهی که دارد، به کاهش علائم آسم می انجامد. این محققین پیشنهاد کرده اند که این گیاه می تواند برای درمان آسم سودمند باشد. تحقیق مشابهی که به بررسی اثرات این گیاه همراه با فعالیت ورزشی پرداخته باشد، یافت نشد؛ اما مارگاریتیس و دیگران (۲۰۰۳) تأثیر مکمل گیری بر پاسخ های ضد اکسایشی فعالیت ورزشی را مورد بررسی قرار داده و دریافتند که مکمل ضد اکسایشی در دوزهای تغذیه ای، حالت ضد اکسایشی فعالیت ورزشی را با تأثیر بر روی استرس های اکسایشی ناشی از فعالیت ورزشی و عدم تأثیر بر آسیب های اکسایشی؛ تقویت می کند. همچنین یادگاری و دیگران (۲۰۱۸) با بررسی نقش عصاره پرسیاوشان در تعدیل شاخص های آپوپتوزی Bax و Bcl2 ریوی رت های تمرین کرده، نشان داده اند که عصاره پرسیاوشان موجب بهبود شاخص های آپوپتوزی Bax و Bcl2 می گردد و بیان پروتئین پیش آپوپتوزی Bax و نسبت Bax/Bcl2 را به طور معنی داری کاهش می دهد. در همین راستا، میردار و دیگران (۲۰۱۵) با بررسی یک دوره کاهش بار تمرینی و مکمل گیاهی پرسیاوشان بر آپوپتوزیس بافت پوششی راه های هوایی (نایژه و نایژک) در پی یک دوره تمرین تناوبی و هایپوباریک

1. Glasser  
2. Hypobaric hypoxia  
3. Terpenoids  
4. Alkaloids  
5. Rajurkar & Gaikwad

6. Triterpenoids  
7. Secondary pentacyclic metabolites  
8. Cyanone of methyl boswellates (CEMB)  
9. Interferon gamma  
10. Prostaglandin E2

11. Lipopolysaccharides  
12. Interleukin-6  
13. Tumor necrosis factor alpha  
14. Mitogen-activated protein kinases  
15. Yuan

از جمله محدودیت های تحقیق حاضر می توان به عدم اندازه گیری نسبت SP-A به کلسترول و نسبت SP-A به فسفولیپید اشباع سورفکتانت اشاره کرد و پیشنهاد می شود در پژوهش های آتی اندازه گیری و بررسی این شاخص ها مورد توجه قرار گیرد.

**نتیجه گیری:** بر اساس یافته های مطالعه حاضر، تمرینات تناوبی فزآینده به همراه مصرف مکمل پرسیاوشان موجب کاهش معنی دار سطح پروتئین سورفکتانت (SP-A) ریه رت ها شد. به نظر می رسد مصرف مکمل گیاهی پرسیاوشان راهبردی غیر دارویی است که احتمالاً از طریق عناصری چون فلاونوئیدها، تریترپنوئیدها، پروپانوئیدها و سایر عناصر ضدالتهابی خود می تواند

#### قدردانی و تشکر

بدین وسیله از همکاری که در این تحقیق محقق را یاری نموده اند، سپاس و قدردانی می گردد. نتایج این مقاله، بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی مصوب دانشگاه مازندران است.

#### منابع

- Anderson, S. D., & Daviskas, E. (2000). The mechanism of exercise-induced asthma is thought to relate to the consequences of heating and humidifying large volumes of air during exercis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(3), 453-459.
- Ansari, R., & Ekhlesi-Kazaj, K. (2012). *Adiantum capillus-veneris*. L: Phytochemical constituents, traditional uses and pharmacological properties: A Review. *Journal of Advanced Scientific Research*, 3(4), 15-20.
- Blacker, H. A., Orgeig, S., & Daniels, C. B. (2004). Hypoxic control of the development of the surfactant system in the chicken: evidence for physiological heterokairy. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287(2), 403-410.
- Carlsen, K. H. (2011). The breathless adolescent asthmatic athlete. *European Respiratory Journal*, 38(3), 713-720.
- Chimenti, L., Morici, G., Paternò, A., Bonanno, A., Siena, L., Licciardi, A., ... & Bonsignore, M. R. (2007). Endurance training damages small airway epithelium in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 175(5), 442-449.
- Chroneos, Z., Sever-Chroneos, Z., & Shepherd, V. (2010). Pulmonary surfactant: an immunological perspective. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 25(1), 13-26.
- Dietl, P., Frick, M., Mair, N., Bertocchi, C., & Haller, T. (2004). Pulmonary consequences of a deep breath revisited. *Neonatology*, 85(4), 299-304.
- Dimitriou, L., Hill, J. A., Jehnali, A., Dunbar, J., Brouner, J., McHugh, M. P., & Howatson, G. (2015). Influence of a montmorency cherry juice blend on indices of exercise-induced stress and upper respiratory tract symptoms following marathon running—a pilot investigation. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12(1), 22.

- Doyle, I. R., Jones, M. E., Barr, H. A., Orgeig, S., Crockett, A. J., McDonald, C. F., & Nicholas, T. E. (1994). Composition of human pulmonary surfactant varies with exercise and level of fitness. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 149(6), 1619-1627.
- Doyle, I. R., Morton, S., Crockett, A. J., Barr, H. A., Davidson, K. G., Jones, M. J., ... & Nicholas, T. E. (2000). Composition of alveolar surfactant changes with training in humans. *Respirology*, 5(3), 211-220.
- Eckle, T., Faigle, M., Grenz, A., Laucher, S., Thompson, L. F., & Eltzschig, H. K. (2008). A2B adenosine receptor dampens hypoxia-induced vascular leak. *Blood*, 111(4), 2024-2035.
- Ghods Mirheidari, S., & Takally, H. (2004). Analyzing and studying the effects of interval training on students heart rate. *Harakat*, 18, 153-160. [Persian]
- Glasser, J. R., & Mallampalli, R. K. (2012). Surfactant and its role in the pathobiology of pulmonary infection. *Microbes and Infection*, 14(1), 17-25.
- Gleeson, M. (2007). Immune function in sport and exercise. *Journal of Applied Physiology*, 103(2), 693-699.
- Hoier, B., Passos, M., Bangsbo, J., & Hellsten, Y. (2013). Intense intermittent exercise provides weak stimulus for vascular endothelial growth factor secretion and capillary growth in skeletal muscle. *Experimental Physiology*, 98(2), 585-597.
- Jobson, S. A., Passfield, L., Atkinson, G., Barton, G., & Scarf, P. (2009). The analysis and utilization of cycling training data. *Sports Medicine*, 39(10), 833-844.
- Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A. S., Richard, M. J., & Favier, A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(2), 147-156.
- Moldoveanu, B., Otmishi, P., Jani, P., Walker, J., Sarmiento, X., Guardiola, J., ... & Yu, J. (2009). Inflammatory mechanisms in the lung. *Journal of Inflammation Research*, 2, 1.
- Neystani, FO. (2015). *SP-A levels and remodeling pulmonary alveolar following the taper and Nigella sativa in the maturing rat*. Ph.D Thesis, Physical Education and Sport Sciences, Spring. Mazandaran University. [Persian]
- Niazi, S. (2015). *Effect of hypobaric hypoxia and interval training on lung HIF-1 male rats following the taper program and supplements adiantum capillus veneris*. Ph.D Thesis, Physical Education and Sport Sciences, Spring. Mazandaran University. [Persian]
- Rajurkar, N. S., & Gaikwad, K. (2012). Evaluation of phytochemicals, antioxidant activity and elemental content of *Adiantum capillus veneris* leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(1), 365-374.

Rocco, P. R., Dos, C. S., & Pelosi, P. (2009). Lung parenchyma remodeling in acute respiratory distress syndrome. *Minerva Anesthesiologica*, 75(12), 730-740.

Samten, B., Townsend, J. C., Sever-Chroneos, Z., Pasquinelli, V., Barnes, P. F., & Chroneos, Z. C. (2008). An antibody against the surfactant protein A (SP-A)-binding domain of the SP-A receptor inhibits T cell-mediated immune responses to *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Leukocyte Biology*, 84(1), 115-123.

Shirazi, M. H., Amin, G., Akhondi Lavasani, B., & Eshraghi, S. S. (2011). Study of antibacterial properties of adiantum capillus-veneris extract on eight species of gram positive and negative bacteria. *Journal of Medicinal Plants*, 4(40), 124-132.

Su, S., Chen, H. I., & Jen, C. J. (2005). Exercise enhances surfactant-mediated phagocytosis in bronchoalveolar macrophages. *Chinese Journal of Physiology*, 48(4), 210.

Swaroop, K. K., Anbu, J., Ashwini, A., Sumithra, M., & Sathish, R. (2012). Influence of ethanolic leaf extract of *Sargassum wightii* and *Adiantum capillus* on histamine induced asthma in animal model. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 121-123.

Vatain, D., Khataii, T., & Norozian, N. (2013). The effects of coenzyme Q10 supplementetation during taper on some performance indicators in endurans. *Journal of Biological Sciences Sports*, 5(3), 13-28. [Persian]

Yadegari, M., Riahy, S., Mirdar, S., & Hamidian, G. (2018). 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*, 4(64), 162-171.

Yuan, Q., Zhang, X., Liu, Z., Song, S., Xue, P., Wang, J., & Ruan, J. (2013). Ethanol extract of adiantum capillus-veneris L. suppresses the production of inflammatory mediators by inhibiting NF- $\kappa$ B activation. *Journal of Ethnopharmacology*, 147(3), 603-611.