University of Birjand

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport Research Paper

Spring 2024, 12(29), 54-67

Received: Mar 05, 2023 Revised: Apr 11, 2023 Accepted: Apr 17, 2023

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of aerobic exercise swimming in combination with hydrogen rich water on clinical symptoms, histological changes and oxidative stress markers in experimental colitis model

Zohreh Kolahi[1], Ali Yaghoubi[2]*, Najmeh Rezaeian[2], Majid Khazaei[3]

1. Ph.D Student in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

2. Assistant Professor at Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

3. Professor of Medical Physiology, Metabloic Syndrome Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Abstract

Background and Aim: Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of chronic gastrointestinal diseases that pose a challenge to its treatment. This study aimed to investigate the effect of aerobic swimming exercise and in combination with hydrogen-rich water (HRW) on clinical symptoms, histological changes and oxidative stress markers in an animal model of colitis**. Materials and Methods:** Thirty male C57BL6 mice were divided into control, swimming exercise, colitis, colitis+swimming exercise and colitis+swimming exercise+ colitis groups. At the end of study, colon weight and length, spleen weight, disease activity index, histological changes and oxidative stress markers in colon tissue were evaluated. Data were analyzed using one-way or two-way ANOVA and $p<0.05$ was considered statistically significant. **Results:** Results showed that there were no significant differences between control and swimming exercised groups. But, in colitis animals, the disease activity index (such as weight loss, bleeding, and rectal protrusion) in exercised group decreased significantly compared to the colitis group; which showed a further decrease in the combined group ($p<0.001$). Moreover, colon length was also increased in exercised groups compared to the colitis group ($p<0.05$). Histological indices (such as leukocyte infiltration) and fibrosis were significantly decreased in exercsied groups compared to the colitis group ($p<0.01$). Colitis animals had higher malondialdehyde and lower antioxidative markers (superoxihde dismutase, catalase, total thiol) compared to the control group; while exercise and exercise plus HRW significantly improved antioxidative factors. **Conclusion:** The results showed that swimming exercise especially in combination with HRW could improve clinical symptoms and histological changes of colon tissue in colitis animals and it can be considered as treatment strategy in patients with colitis.

Keywords: Swimming aerobic exercise, Inflammatory bowel disease, Hydrogen rich water, colitis.

Cite this article:
Kolahi, Z., Yaghoubi, A., Rezaeian, N., & Khazaei, M. (2024). The effect of aerobic exercise swimming in combination with hydrogen rich water on clinical symptoms, histological changes and oxidative stress markers in experimental colitis model. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, 12***(29), 54-67.**

*** Corresponding Author, Address: Department of Sport Sciences, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran;**
E-mail: yaghoubiali65@gmail.com
https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.6185.1772

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee **Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport (JPSBS)**. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

نشریه مطالعات کاربردی علوم‌زیستی در ورزش
مقاله پژوهشی
بهار ۱۴۰۳، دوره ۱۲، شماره ۲۹، ص ۶۷-۵۴
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۴ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۸
دانشگاه بیرجند
نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش

اثر استفاده از آب حاوی هیدروژن و تمرینات هوازی شنا بر شدت فعالیت بیماری، تغییرات بافت شناسی و شاخص های استرس اکسیداتیو در موش های مبتلا به کولیت تجربی

زهره کلاهی[۱]، علی یعقوبی[۲*]، نجمه رضائیان[۲]، مجید خزاعی[۳]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.
۲. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.
۳. استاد گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات سندرم متابولیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های التهابی روده دسته‌ای از بیماری‌های مزمن دستگاه گوارش می‌باشند که با اسهال، درد شکم و خونریزی در مدفوع مشخص می شوند و درمان آن ها هنوز با چالش هایی مواجه است. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرینات هوازی شنا به تنهایی و همراه با آب حاوی هیدروژن بر علایم، تغییرات بافت شناسی و شاخص های استرس اکسیداتیو در بیماری التهابی روده در مدل تجربی می‌باشد. **روش تحقیق:** تعداد ۳۰ سر موش نر نژاد C57BL/6 به طور تصادفی به گروه های کنترل، تمرین شنا، کولیت، کولیت+ تمرین شنا، و کولیت+ تمرین شنا+ آب حاوی هیدروژن (ترکیبی) تقسیم شدند. در پایان آزمایش، وزن بدن، طول کولون، تغییرات بافت شناسی و شاخص های استرس اکسایشی اندازه گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک راهه و دو راهه در سطح معنی داری $p<۰/۰۵$ صورت گرفت. **یافته ها:** در حیوانات مبتلا به کولیت، شاخص‌های شدت فعالیت بیماری (کاهش وزن، خونریزی و بیرون‌زدگی رکتوم و قوام مدفوع) در گروه تمرین شنا در مقایسه با گروه کولیت، به طور معنی‌دار کاهش یافت ($p<۰/۰۵$)؛ به گونه ای که این شاخص در گروه درمان ترکیبی در مقایسه با گروه تمرین تنها، کاهش بیشتری داشت ($p<۰/۰۰۱$). طول کولون در گروه‌های تمرین شنا و گروه ترکیبی در مقایسه با گروه کولیت، به طور معنی دار افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). به علاوه، تغییرات بافت‌شناسی در گروه‌های ترکیبی در مقایسه با گروه کولیت، به‌طور معنی‌داری بهبود یافت ($p<۰/۰۱$). حیوانات مبتلا به کولیت دارای سطح بافتی بالای شاخص مالون دی آلدئید و کاهش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی (گروه های تام تیول، سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز) نسبت به گروه کنترل بودند ($p<۰/۰۰۱$) و تمرینات شنا بخصوص در ترکیب با آب حاوی هیدروژن، به طور معنی داری سبب افزایش عوامل آنتی اکسیدان و کاهش مالون دی آلدئید گردید ($p<۰/۰۵$). **نتیجه گیری:** تمرینات هوازی شنا بخصوص در ترکیب با آب حاوی هیدروژن، سبب بهبود علائم و تغییرات هیستولوژیک در کولیت می‌شود و ازاین‌رو، می‌تواند در کنار سایر داروهای معمول، به درمان کولیت کمک نماید.

واژه های کلیدی: تمرینات هوازی شنا، بیماری های التهابی روده، آب حاوی هیدروژن، کولیت.

*نویسنده مسئول، آدرس: بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی بجنورد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: yaghoubiali65@gmail.com
https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.6185.1772

مقدمه

بیماری های التهابی روده[1] (IBD) جزو بیماری های التهابی، مزمن و عود کننده دستگاه گوارش هستند که کولون و سایر قسمت های دستگاه گوارش را درگیر می کنند. این بیماری ها با کاهش وزن، اسهال و خونریزی در مدفوع مشخص می شوند و اگر چه، اتیولوژی دقیق آن ها مشخص نشده است؛ اما عوامل مختلف محیطی، ژنتیک، و سیستم ایمنی ممکن است سبب تشدید پاسخ‌های ایمنی و ایجاد التهاب مزمن شوند (کیزر[2] و دیگران، ۲۰۱۰). تشخیص و درمان سریع این بیماری ها از آن جهت قابل ارزش است که در صورت عدم درمان، خطر ابتلا به سرطان به شدت افزایش می یابد (کوبایاشی[3] و دیگران، ۲۰۲۰). متاسفانه داروهایی که امروزه برای درمان کولیت به کار می روند، دارای اثربخشی مناسب نیستند و یا دارای عوارض جانبی می باشند (کوبایاشی و دیگران، ۲۰۲۰).

آنتی اکسیدان ها موادی هستند که قادرند با اثرات مضر فرآیند فیزیولوژیک اکسیداسیون در بافت ها، مقابله کنند. مولکول های هیدروژن دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشند و مطالعات مختلف، اثرات مفید آب حاوی هیدروژن به عنوان آنتی اکسیدان در پیشگیری از سرطان، کاهش کلسترول و قند خون، افزایش مقاومت بدن، کاهش چین و چروک و لکه های پوستی و ... را نشان داده است (اصغرزاده و دیگران، ۲۰۲۲؛ لیدا[4] و دیگران، ۲۰۱۶؛ کاجیسا[5] و دیگران، ۲۰۱۷؛ جیائو[6] و دیگران، ۲۰۱۸). هیدروژن نه تنها اثرات ضد استرس اکسیداتیو نشان داده است، بلکه دارای تاثیرات متعدد ضد التهابی نیز هست (لیدا و دیگران، ۲۰۲۰؛ کاجیا[7] و دیگران، ۲۰۰۹؛ لیانگ[8] و دیگران، ۲۰۲۱؛ ینگ نینگ[9] و دیگران، ۲۰۲۱). مطالعات اخیر نشان داده است که آب غنی از هیدروژن می تواند به عنوان یک درمان بالقوه برای کاهش آسیب های روده ناشی از رادیوتراپی برای سرطان شکم بوده و موجب بهبود فیبروز و التهاب بافت روده و علایم آن در حیوانات مبتلا به بیماری التهابی روده ای شود (جیائو[10] و دیگران، ۲۰۱۸؛ تایلر[11] و دیگران، ۲۰۲۱). لذا انتظار می رود مصرف آب حاوی هیدروژن با کاهش التهاب در بافت روده بزرگ در موش‌های دچار کولیت، بتواند در همراهی با اثرات ضد التهابی ورزش، اثرات مفیدی بر این بیماری داشته باشد.

اثرات مفید ورزش بخصوص شنا، بر التهاب و استرس اکسیداتیو در مطالعات مختلف نشان داده شده است. تمرینات هوازی شنا با یا بدون کاهش وزن می تواند چربیهای احشایی را کاهش دهد و در نتیجه، تولید و آزادسازی عوامل التهابی را تعدیل نماید (ادلمن[12] و دیگران، ۲۰۱۱). از سوی دیگر، تمرینات هوازی شنا می‌تواند سبب آزاد سازی برخی میوکاین ها[13] از عضله شود که این افزایش در برخی عوامل مثل اینترلوکین-۶، می تواند سبب سرکوب تولید سایتوکاین های التهابی مثل اینترلوکین-۱[14] یا عامل نکرزو دهنده تومور آلفا[15] (TNF آلفا) شده و آزاد سازی بسیاری از عوامل ضد التهابی مثل اینترلوکین-۱۰ را افزایش دهد. ضمن اینکه نشان داده شده است که تمرین هوازی شنا مستقیماً می‌تواند تولید اینترلوکین-۱ و TNF آلفا را در عضلات اسکلتی کاهش دهد (ژنگ[16] و دیگران، ۲۰۱۹). همچنین تمرینات هوازی شنا منظم می تواند سبب کاهش سطح سرمی آنزیم میلوپراکسیداز[17] -که یک شاخص التهابی و استرس اکسایشی می باشد- شده و پراکسیداسیون لیپیدی را نیز کاهش دهد (کین[18] و دیگران، ۲۰۱۷؛ سلام[19] و دیگران، ۲۰۱۶؛ سان[20] و دیگران، ۲۰۱۶). از سوی دیگر، با توجه به پاتوژنز بیماری و مطالعات قبلی انجام شده، نشان داده شده است که در بیماری های التهابی روده از جمله کولیت؛ التهاب و سایتوکین های التهابی در بافت کولون افزایش می یابد؛ روندی که خود با تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو در سرم یا بافت روده همراه است و میزان این تغییرات می تواند در شدت بروز علایم این بیماری و یا پاسخ به درمان آنها موثر باشد (کوبایاشی و دیگران، ۲۰۲۰). از این رو، استفاده از درمان هایی که بتوانند اثرات ضد التهابی یا آنتی اکسیداتیو داشته باشند؛ می تواند در

1. Inflammatory bowel diseases
2. Kaser
3. Kobayashi
4. Iida
5. Kajisa
6. Xiao
7. Kajiya
8. Liang
9. Yingning
10. Xiao
11. Tyler
12. Edelmann
13. Myokines
14. Interleukin-1
15. Tumor Necrosis Factor-α
16. Zheng
17. Myeloperoxidase
18. Qin
19. Sallam
20. Sun

بهبود علایم این بیماری موثر واقع شود.

با توجه به اینکه هنوز درمان مناسبی برای بیماران مبتلا به کولیت شناخته نشده است و با توجه به اثرات مفید تمرینات ورزشی شنا و آب حاوی هیدروژن، به عنوان یک عامل ضد التهاب و ضد استرس اکسایشی، به نظر می‌رسد همراه شدن تمرینات هوازی با آب حاوی هیدروژن بتواند در بهبود علایم کولیت و تغییرات بافت شناسی بخصوص در کاهش التهاب و علایم آن، موثر باشد. لذا هدف این مطالعه بررسی اثر استفاده همزمان از آب حاوی هیدروژن و تمرینات ورزشی شنا بر شدت فعالیت بیماری، تغییرات بافت شناسی و شاخص های استرس اکسیداتیو در مدل تجربی کولیت می باشد.

روش تحقیق

حیوانات و گروه های مورد مطالعه: در این مطالعه، از مدل کولیت ایجاد شده با استفاده از تجویز ماده شیمیایی دکستران سولفات سدیم[1] (DSS) در آب آشامیدنی استفاده شد. حیوانات مورد استفاده، ۳۰ سر موش نر نژاد C57BL/6 (۸-۶ هفته)، با محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم بودند. این حیوانات از انستیتو پاستور تهران خریداری‌شده و در لانه حیوانات دانشکده پزشکی مشهد، تحت شرایط استاندارد زندگی و چرخه روشنایی و تاریکی طبیعی (دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. پس از یک هفته تطابق با شرایط لانه حیوانات، موش ها به صورت تصادفی به گروه های زیر تقسیم گردیدند: گروه کنترل سالم (بدون ورزش و بدون درمان)، گروه تمرینات هوازی شنا: دریافت کننده آب آشامیدنی و انجام ۴۰ روز تمرینات هوازی شنا، گروه کولیت: دریافت کننده DSS در آب آشامیدنی، گروه کولیت+تمرینات هوازی شنا: دریافت کننده DSS در آب آشامیدنی و انجام ۴۰ روز تمرینات هوازی شنا و انجام تمرینات هوازی شنا در طول مدت القای کولیت، و گروه کولیت+تمرینات هوازی شنا+آب حاوی هیدروژن (گروه ترکیبی): که در این گروه حیوانات علاوه بر موارد ذکر شده در گروه چهارم، دریافت کننده آب حاوی هیدروژن از روز سوم تا دهم کولیت بودند. تصویری از طرح تحقیق در شکل شماره یک ارائه شده است.

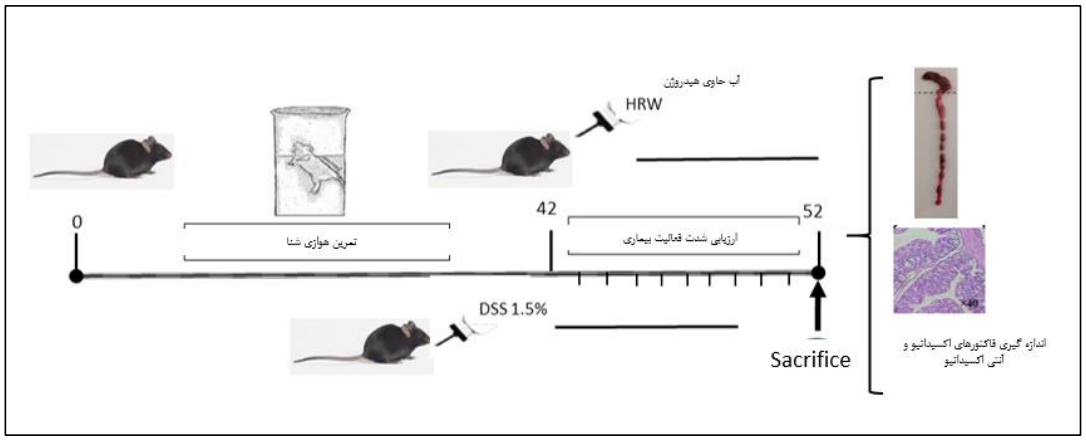
نحوه ایجاد و القاء کولیت: در این مطالعه به منظور ایجاد مدل کولیت از ماده DSS استفاده شد که حل شده با دوز ۱/۵ درصد در آب آشامیدنی بود. این محلول هر روز برای حیوانات تهیه شد و حیوانات آزادانه به آن دسترسی داشتند. طول دوره کولیت ۱۰ روز بود که از روز اول تا روز هفتم، حیوانات DSS دریافت کردند و از روز سوم تا روز دهم درمان با آب حاوی هیدروژن انجام گردید (بینابا‌ج[2] و دیگران، ۲۰۱۹).

نحوه تهیه آب حاوی هیدروژن و مصرف آن: در گروه پنج مطالعه که گروه کولیت+ تمرینات هوازی شنا+ آب حاوی هیدروژن بودند، حیوانات علاوه بر تمرین شنا، دریافت کننده آب محتوی هیدروژن با ۰/۷۸ میلی مول گاواژ با حجم ۱۰۰ میکرولیتر بودند و در طول مدت مطالعه در طول روز، آزادانه به آب حاوی هیدروژن دسترسی داشتند (اصغرزاده و دیگران، ۲۰۲۲).

پروتکل تمرینی شنا: برای انجام تمرین هوازی شنا، استوانه ای از جنس شیشه به ارتفاع ۲۵ و قطر ۱۱ سانتی‌متر حاوی آب با دمای ۱±۲۳ درجه سانتی‌گراد، مورد استفاده قرارگرفت. کل آزمون حدود ۱۰ دقیقه بود. تمرین شنا تا زمانی ادامه پیدا می کرد که حیوان آزمایشگاهی بی‌حرکت یا غوطه ور در آب می شد. تمرین هوازی شنا، ۴۰ روز قبل از کولیت به صورت روزانه شروع شد و در طول دوره کولیت نیز به مدت ۱۰ روز ادامه یافت (کین[3] و دیگران، ۲۰۱۷).

ارزیابی شدت بیماری در طول مطالعه: در طول ایجاد مدل کولیت، حیوانات به صورت روزانه از نظر شدت بیماری کولیت مورد ارزیابی قرار گرفتند. شدت بیماری کولیت در موش‌ها شبیه به ارزیابی کلینیکی بیماری التهابی روده در انسان است. شاخص فعالیت بیماری[4] (DAI) شامل درصد کاهش وزن، بررسی رکتوم از نظر خونریزی و بیرون‌زدگی و همچنین، شکل مدفوع؛ روزانه از روز شروع DSS تا پایان آزمایش بررسی شدند و درجه‌بندی آن در جدول شماره یک ارائه شده است (بینابا‌ج و دیگران، ۲۰۱۹).

1. Dextran sulfate sodium
2 . Beinabaj
3. Qin
4. Disease activity Index



شکل ۱. طراحی مطالعه. DSS: دکستران سولفات سدیم

جدول ۱. درجه‌بندی شدت کولیت با استفاده از شاخص فعالیت بیماری (DAI)

شاخص فعالیت بیماری				
نمره	درصد کاهش وزن	بیرون‌زدگی رکتوم	قوام مدفوع	خونریزی رکتوم
۰	کمتر از یک درصد	ندارد	معمولی	ندارد
۱	یک تا پنج درصد	نشانه‌ای از پرولاپس	نرم	رکتوم قرمز
۲	پنج تا ۱۰ درصد	پرولاپس واضح	خیلی نرم	خون تیره
۳	۱۵-۱۰ درصد	پرولاپس شدید	اسهال	خونریزی واضح
۴	بیشتر از ۲۰ درصد	-	-	-

نمونه برداری و روش تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی: در پایان دوره، حیوانات با کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. کولون موش‌ها از ابتدای سکوم تا انتهای رکتوم جدا شد و طول کولون‌ها با خط کش اندازه‌گیری گردید. سپس سکوم جدا شده و مدفوع داخل رکتوم، توسط نرمال سالین سرد شسته و خشک شد. بخش دیستال کولون به دو قسمت تقسیم شد. یک بخش آن به منظور بررسی‌های بافت‌شناسی با رنگ هماتوکسیلین-ائوزین[1] (H&E) در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و بخش دیگر آن، برای اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسایشی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ارزیابی تغییرات بافت‌شناسی: تجویز DSS باعث ایجاد تغییراتی در بافت کولون می‌شود، تغییراتی که مشابه تغییرات بافت‌شناسی در بیماری التهابی روده در انسان است. این تغییرات مشتمل بر انفیلتراسیون لکوسیت‌ها (که به صورت التهاب بروز می‌کند)، آسیب به مخاط روده، از بین رفتن کریپت‌ها (که در نهایت منجر به تغییر شکل کلی بافت کولون می‌شود) می باشد (کیم[2] و دیگران، ۲۰۱۲). بعد از تهیه لام و رنگ‌آمیزی با H&E، در نهایت شاخص‌های التهاب، آسیب به مخاط، از بین رفتن کریپت‌ها و تغییر شکل کلی بافت کولون؛ بر اساس جدول شماره دو نمره دهی شد.

تهیه هموژن بافتی و اندازه گیری شاخص های استرس اکسیداتیو: به‌منظور تهیه نمونه هموژن از بافت مورد نظر، ابتدا ۰/۱ گرم از بافت وزن گردید و با تیغ بیستوری، به قطعات کوچک تقسیم شد و سپس با یک میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=۷) با غلظت ۵۰ میلی مولار مخلوط و با استفاده از دستگاه هموژنایزر، به‌طور کامل هموژن گردید. هموژن به‌دست‌آمده با سرعت ۱۵۰۰ دور/دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی یا همان سوپرناتانت به میکروتیوب انتقال داده شد و جهت بررسی‌های بعدی در فریزر ۲۰- سانتی‌گراد قرار گرفت. سنجش مالون دی آلدهید[3] (MDA) با استفاده از تری بنزوئیک اسید[4] (TBA) به روش

1. Hematoxylin and Eosin
2. Kim
3. Malondialdehyde
4. Trinitrobenzoic acid

جدول ۲. امتیازدهی و نمره دهی بافت‌شناسی

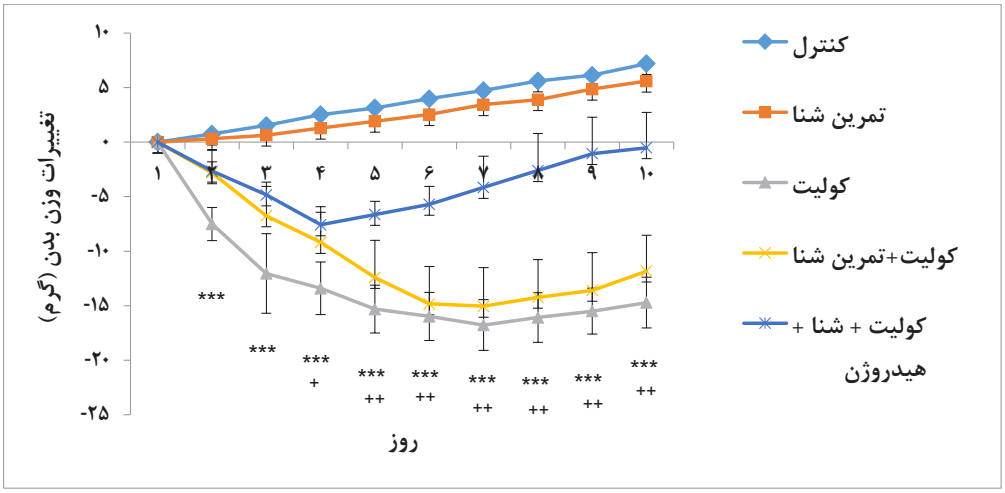
نمره	التهاب	آسیب مخاط	از بین رفتن کریپت	درصد تغییرات بافت‌شناسی
۰	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد
۱	خفیف	لایه مخاطی	۱/۳	۱-۲۵
۲	متوسط	لایه زیر مخاطی	۲/۳	۲۶-۵۰
۳	شدید	عضله و سروز	همه‌ی کریپت‌ها	۵۱-۷۵
۴			تخریب کریپت‌ها همراه با اپیتلیوم	۷۶-۱۰۰

اسپکتروفتومتری، سنجش گروه‌های تام تیول[1] به روش کالری متری با استفاده از دی تیو نیترو بنزوئیک اسید[2] (DTNB)، و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز[3] (SOD) و کاتالاز[4] به ترتیب با روش رنگ سنجی و بر اساس توانایی آن در تجزیه پراکسید هیدروژن به روش Aebi سنجیده شد (آئبی[5] و دیگران، ۱۹۸۴؛ اصغرزاده و دیگران، ۲۰۲۲؛ مادش[6] و دیگران، ۱۹۹۸).

روش های آماری: جهت بررسی طبیعی بودن داده ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف[7] استفاده شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها و مقایسه بین گروه ها، از آزمون تحلیل واریانس یک راهه[8] یا دو راهه و آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار[9] (LSD)؛ استفاده شد. تفاوت‌ها در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شدند و تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS20 صورت گرفت.

یافته ها

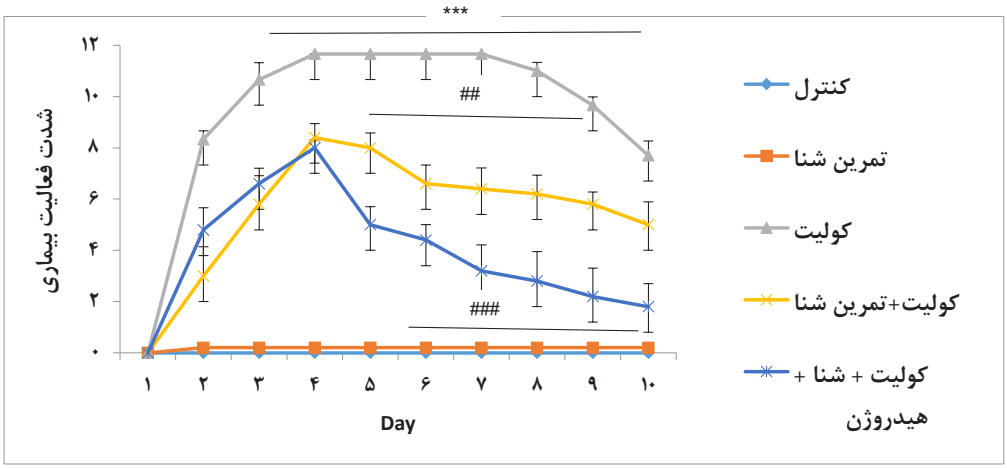
وزن حیوانات: گروه کنترل سالم و گروه تمرینات هوازی شنا در طول مطالعه افزایش طبیعی وزن داشتند، در حالی که تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد (p=۰/۸۸). اما حیوانات مبتلا به کولیت (در مقایسه با گروه کنترل سالم) به‌طور مداوم وزن بدن خود را تا پایان آزمایش به‌طور معنی‌داری از دست دادند (p=۰/۰۰۱). تمرینات هوازی شنا در حیوانات سالم و در حیوانات مبتلا به کولیت، اثر معنی داری بر وزن حیوانات نداشت؛ اما تجویز آب حاوی هیدروژن به همراه تمرینات هوازی شنا در حیوانات دچار کولیت، سبب بهبود وزن حیوانات و افزایش معنی دار آن نسبت به گروه کولیت گردید (p=۰/۰۰۹) (شکل دو).



شکل ۲. مقایسه تغییرات وزن حیوانات در گروه های مختلف. *** نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم و تمرین شنا در سطح p<۰/۰۰۱، ++ نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۱ و + نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۱ با گروه تمرین شنا همراه با آب حاوی هیدروژن.

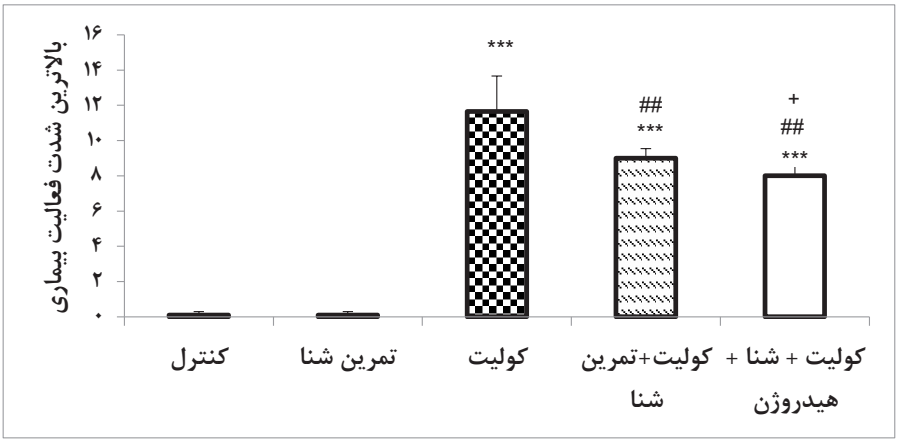
1. Total thiol groups
2. Dithio-nitrobenzoic acid
3. Superoxide dismutase
4. Catalase
5. Aebi
6. Madesh
7. Kolmogorov–Smirnov
8. One-way ANOVA
9. Least significant difference

شدت فعالیت بیماری: بررسی شاخص شدت فعالیت بیماری یا DAI، نشان داد که مصرف DSS به‌طور معنی‌داری باعث افزایش DAI نسبت به گروه سالم گردیده است (p=۰/۰۰۱). تمرینات هوازی شنا در حیوانات مبتلا به کولیت به طور معنی داری سبب کاهش شاخص شدت فعالیت بیماری گردید (p=۰/۰۴) و تجویز آب حاوی هیدروژن همراه با تمرینات هوازی شنا، این اثر را بهبودی بیشتری بخشید، به طوریکه تفاوت معنی داری بین گروه کولیت دریافت کننده تمرینات هوازی شنا همراه با آب حاوی هیدروژن و گروه تمرینات هوازی شنا به تنهایی، وجود داشت (p=۰/۰۴) (شکل سه).



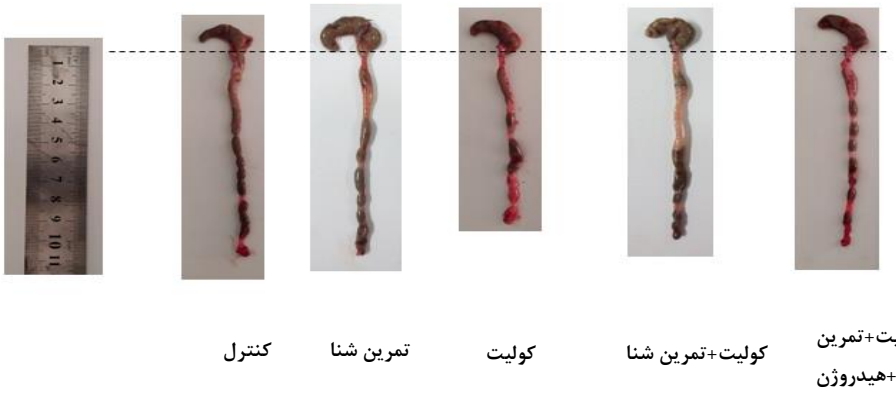
شکل ۳. تغییرات شدت فعالیت بیماری یا DAI در طول دوره تحقیق، ***نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم و تمرین شنا در سطح p<۰/۰۰۱، ### نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۰۱ و ##نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۱ با گروه کولیت.

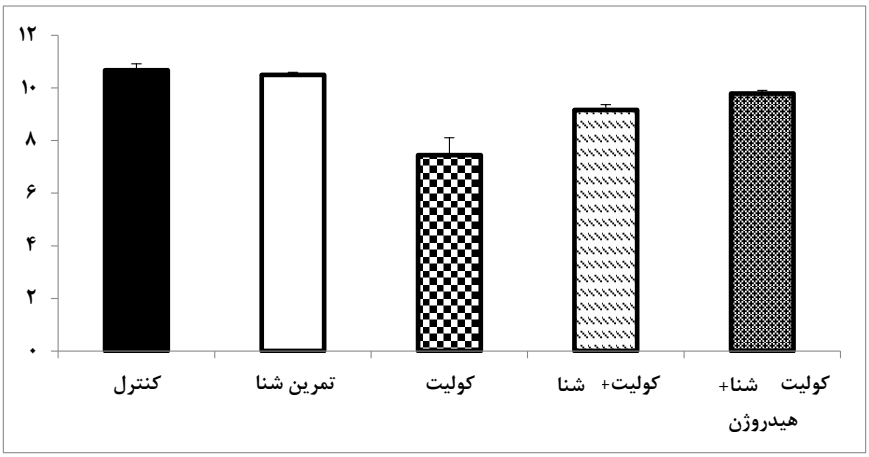
نتایج نشان داد حیوانات گروه کولیت بیشترین درجه شدت فعالیت بیماری را دارند و در گروه تمرینات هوازی شنا و دریافت کننده تمرینات هوازی شنا و آب حاوی هیدروژن، این شدت فعالیت بیماری به طور معنی داری کمتر بود (p=۰/۰۳). ضمن اینکه گروه کولیت دریافت کننده آب حاوی هیدروژن همراه با تمرینات هوازی شنا، نسبت به گروه تمرینات هوازی شنا، نیز کاهش معنی داری را نشان داد (p=۰/۰۲) (شکل چهار).



شکل ۴. مقایسه بالاترین درجه شدت فعالیت بیماری یا DAI در طول آزمایش در گروه‌های مختلف. *** نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل سالم و گروه تمرین شنا در سطح p<۰/۰۰۱؛ ### نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۰۱ و ## نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۱ با گروه کولیت. +نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۵ با گروه کولیت همراه با تمرین شنا.

طـــول کولـــون و ویژگی‌هـــای ماکروســـکوپی آن: همـــان طـور کـه در شـکل پنـج مشـاهده مـی شـود، طـول کولـون در گـروه سـالم و گـروه تمرینـات هـوازی شـنا، تفـاوت معنـی‌داری نـدارد (p=۰/۰۶). امـا در گـروه کولیـت نسـبت بـه گـروه کنتـرل، طـول کولـون به‌طـور معنـی داری کاهـش یافتـه اسـت (p=۰/۰۰۱). در حیوانـات مبتـلا بـه کولیـت کـه تحـت تمرینـات هـوازی شـنا قـرار گرفتـه بودنـد، طـول کولـون افزایـش داشـت (p=۰/۰۰۹) و مصـرف آب حـاوی هیـدروژن بـه همـراه تمرینـات هـوازی شـنا، باعـث افزایـش بیشـتر در طـول کولـون گردیـد (p=۰/۰۰۸).

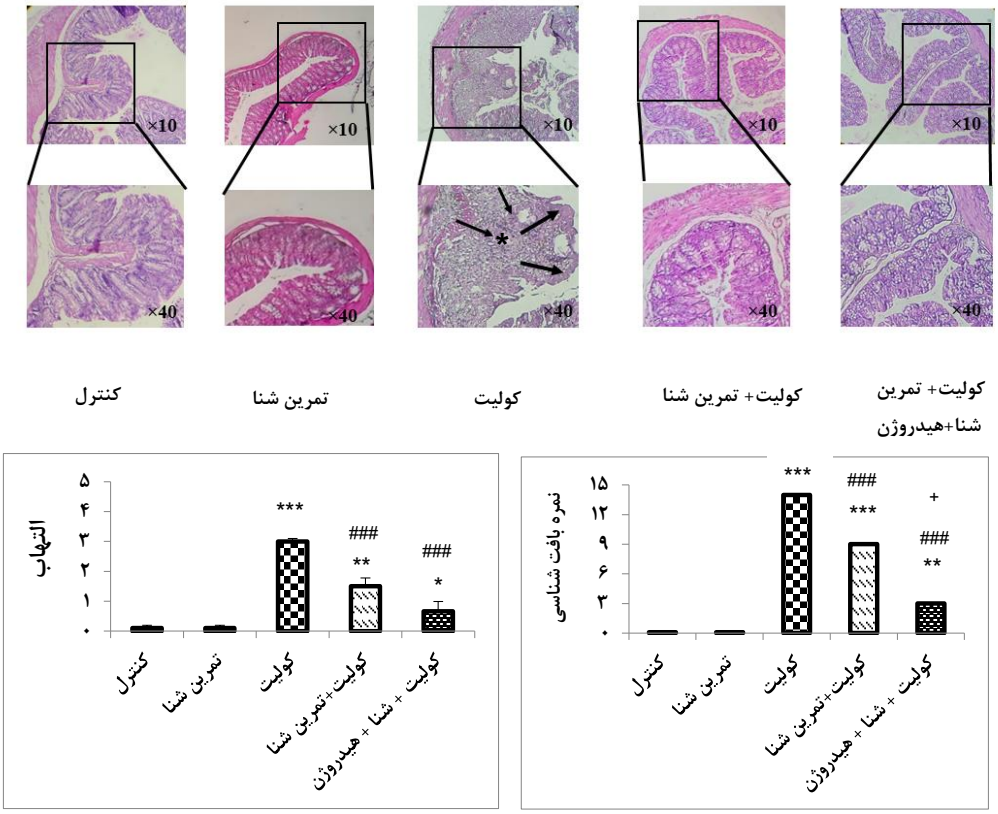




شکل ۵. نمای ماکروسکوپی کولون ها (بالا) و تغییرات طول کولون (پایین) در گروه های مختلف. * نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۰۱ با گروه کنترل سالم و ورزش، * نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۵ با گروه کنترل سالم و گروه تمرین شنا. ## نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۱ با گروه کولیت.**

تغییـــرات بافـــت شناســـی کولـــون: بـا توجـه بـه شـکل شـش، در موش‌هـای دریافت‌کننـده DSS، نفـوذ سـلول‌های التهابـی، آسـیب مخـاط و از دسـت رفتـن کریپت‌هـا در مقایسـه بـا کنتـرل، قابـل مشـاهده اسـت. ایـن تغییـرات در حیوانـات مبتـلا بـه کولیـت کـه تحـت تمرینـات هـوازی شـنا یـا دریافـت کننـده آب حـاوی هیـدروژن همـراه بـا تمرینـات هـوازی شـنا بودنـد، بهبـود قابـل توجهـی یافـت (p=۰/۰۰۱) و بهبـود تغییرات امتیـاز دهـی بافـت شناسـی در گـروه تمرینـات هـوازی شـنا همـراه بـا آب حـاوی هیـدروژن در مقایسـه بـا گـروه تمرینـات هـوازی شـنا، معنـی دار بـود (p=۰/۰۰۶).

شـاخص هـای اسـترس اکسـیداتیو: سـطح MDA بافتـی در گـروه کولیـت نسـبت بـه گـروه کنتـرل بـه طـور معنـی داری بالاتـر بـود (p=۰/۰۰۱) و تمرینـات هـوازی شـنا در حیوانـات مبتـلا بـه کولیـت، سـبب کاهـش معنـی دار آن شـد (p=۰/۰۳). ایـن کاهـش در حیوانـات مبتـلا بـه کولیـت کـه تمرینـات هـوازی شـنا بـه همـراه آب حـاوی هیـدروژن اسـتفاده کردنـد، بیشـتر بـود (p=۰/۰۱)؛ بـه طوریکـه بیـن گـروه تمرینـات هـوازی شـنا و گـروه تمرینـات هـوازی شـنا همـراه بـا هیـدروژن، تفـاوت معنـی‌داری وجـود داشـت (p=۰/۰۲). بررسـی سـطح بافتـی عوامـل آنتی‌اکسـیدانی گـروه هـای تـام تیـول، سوپراکسـید



شکل ۶. نمای میکروسکوپی بافت کولون رنگ آمیزی شده با H&E (شکل بالا) و نمره تغییرات بافت شناسی (شکل پایین).* نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۰۱ با گروه کنترل سالم و گروه تمرین شنا و ** در سطح p<۰/۰۱ با گروه کنترل سالم و گروه تمرین شنا. ### نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۰۱ با گروه کولیت. + نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۵ با گروه کولیت همراه با تمرین شنا.**

دسموتاز و کاتالاز نشان دهنده کاهش معنی‌دار در گروه کولیت در مقایسه با گروه کنترل بود (p=۰/۰۰۱) . تمرینات هوازی شنا و تمرینات هوازی شنا به همراه آب حاوی هیدروژن در حیوانات کولیت، سبب افزایش معنی دار تمام این شاخص ها در مقایسه با گروه کولیت شدند (p=۰/۰۵) و این افزایش در گروه تمرینات هوازی شنا به همراه آب حاوی هیدروژن، در مقایسه با گروه کولیت+تمرینات هوازی شنا، معنی دار بود (p=۰/۰۰۷) (شکل هفت).

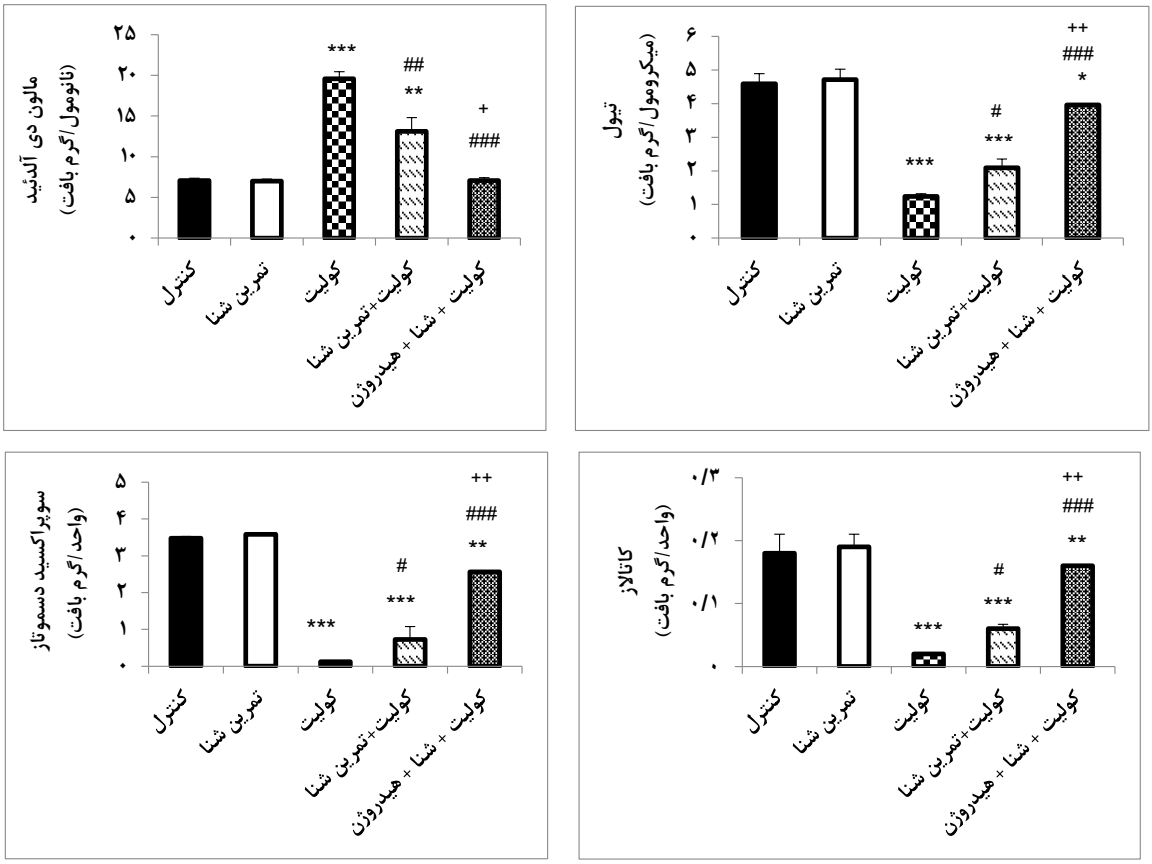
بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرینات هوازی شنا بخصوص در ترکیب با مصرف آب حاوی هیدروژن در حیوانات مبتلا به کولیت، با کاهش معنی دار در وزن و شاخص فعالیت بیماری از طریق کاهش التهاب بافتی، افزایش طول کولون و بهبودی معنی داری شاخص های استرس اکسیداتیو در بافت کولون همراه است.

طبق نتایج مطالعه حاضر، کاهش قابل‌توجهی در وزن بدن حیوانات در گروه کولیت در مقایسه با کنترل ایجاد شد. انجام تمرینات هوازی شنا به تنهایی و بخصوص در همراهی با آب حاوی هیدروژن به عنوان درمان، باعث کاهش اسهال و کاهش وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که کاهش وزن از علائم بیماری کولیت می باشد و می‌تواند به علت اسهال و از دست دادن آب و همچنین عدم جذب غذای کافی باشد و به دنبال آن؛ حیوانات مبتلا به کولیت دچار کاهش وزن می شوند. بر اساس سایر شواهد، موش‌های مبتلا به کولیت دچار کاهش وزن می شوند، اما گروه های تحت درمان با دارو، در مقایسه با گروه کولیت، کاهش وزن کمتری داشته‌اند (صابر[1] و دیگران، ۲۰۱۹).

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، شاخص فعالیت بیماری در گروه کولیت و گروه‌های درمان نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری داشتند و گروه‌های درمان نیز نسبت به گروه کولیت، کاهش معنی‌داری در این شاخص تجربه کردند. شاخص فعالیت بیماری، جمع‌بندی علائم بالینی است که شدت بیماری کولیت

1. Saber



شکل ۷: مقایسه سطح مالون دی آلدئید (A)، گروه‌های تام تیول (B)، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز (C) و کاتالاز (D) در گروه‌های مختلف. ** نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۱ با گروه کنترل سالم و گروه تمرین شنا و * در سطح p<۰/۰۰۱ با گروه کنترل سالم و گروه تمرین شنا. ### نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۰۱ با گروه کولیت و ## در سطح p<۰/۰۱ با گروه کولیت. ++ نشانه تفاوت معنی دار در سطح p<۰/۰۱ با گروه کولیت همراه با تمرین شنا و + در سطح p<۰/۰۵ با گروه کولیت همراه با تمرین شنا.**

را مشخص می‌کند و ارتباط بین مصرف DSS ، افزایش شدت فعالیت بیماری و کاهش طول کولون در مطالعات قبلی نشان داده شده است؛ و این کاهش طول کولون در بیماری کولیت می‌تواند به دلیل التهاب و وجود بافت فیبروز باشد (ابرمایر[1] و دیگران، ۱۹۹۹) . مطالعات قبلی نیز نشان داده اند که طول کولون در حیواناتی که با DSS مبتلا به کولیت شده‌اند، کاهش می‌یابد (پارک[2] و دیگران، ۲۰۱۵). در مطالعه حاضر، نیز نشان داده شد که DSS موجب کاهش طول کولون می‌شود و در گروه‌هایی که با تمرینات هوازی شنا و آب حاوی هیدروژن درمان شدند، طول کولون به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کولیت، افزایش یافت.

نتایج حاصل از بررسی های بافت‌شناسی در این مطالعه نشان داد تمرینات هوازی شنا و بخصوص تمرینات هوازی شنا همراه با حاوی هیدروژن، موجب کاهش آسیب به مخاط، کاهش دیسپلازی کریپت‌ها و کاهش میزان التهاب می‌شود و این اثرات در درمان ترکیبی بیشتر مشهود بود. تغییرات مورفولوژیکی رخداده در این مطالعه مشابه مطالعات قبلی بود که در آنها درجات قابل‌توجهی از آسیب بافتی همراه با احتقان، خونریزی، ورم، نفوذ لکوسیتیک، نفوذ زخم عمیق به دیواره روده بزرگ، التهاب شدید و تغییرات تخریب مانند نکروز گزارش شده است (چوی[3] و دیگران، ۲۰۱۷؛ کیمو دیگران، ۲۰۱۲). مطالعه اسزالای[4] و دیگران (۲۰۱۴) نشان داد در رت های مبتلا به کولیت که تحت مداخله هشت هفته تمرینات هوازی شنای استقامتی قرار گرفته بودند. بیان ژن‌های TNF آلفا، اینترلوکین-۱ و آنزیم نیتریک اکساید سنتاز[5] کاهش پیدا می کند و اینکه، تمرینات هوازی شنای استقامتی می توانند با کاهش بیان

1 . Obermeier
2. Park
3. Choi
4. Szalai
5. Nitric oxide synthase

ژن‌های عوامل پیش التهابی، به بهبود بیماری کولیت کمک نمایند.

مطالعه ما همچنین نشان داد تمرینات هوازی شنا و به همراه آب حاوی هیدروژن، سطح فعالیت شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی تام تیول، سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را نسبت به گروه کولیت، به‌طور معنی‌داری افزایش و سطح شاخص اکسیدانی MDA را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. این اثرات گروه ترکیبی از اثرات تمرینات هوازی شنا به تنهایی بسیار بیشتر بود که احتمالاً می تواند به اثرات هیدروژن در تعدیل سیستم ایمنی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی یا ضدالتهاب آن نسبت داده شود (ناکائو[1] و دیگران، ۲۰۱۰؛ نوگوئیرا[2] و دیگران، ۲۰۱۸). علیرغم نتایج این مطالعه، مطالعات محدودی نیز وجود دارد که نشان می دهد هشت هفته تمرین تمرینات هوازی شنای مثل راه رفتن، اثر معنی داری بر سطح اکسیداسیون LDL ندارد (مانسون[3] و دیگران، ۲۰۰۲). از طرف دیگر، نشان داده شده است که در هنگام تمرینات هوازی شنا به دلیل نیاز متابولیک بالا، جریان خون عضلات و میزان اکسیژن دریافتی آنها افزایش می یابد که این امر موجب تولید بیشتر گونه های فعال اکسیژن، در عضلات اسکلتی می‌شود. این افزایش موقت در گونه های فعال اکسیژن، سبب فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ مثل عامل هسته‌ای کاپا - تقویت کننده سلول‌های B فعال[4] (NF-kB) و افزایش بیان آنزیم های آنتی اکسیداتیو مثل سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز می شود (سلام و دیگران، ۲۰۱۶).

بر اساس گزارش مطالعات مختلف، هیدروژن با قابلیت نفوذ خود به درون سلول و اندامک های درون سلول مثل میتوکندری، می تواند فعالیت آنزیم های کاسپاز ۳[5] و کاسپاز ۱۲ که به ترتیب مربوط به مراحل نهایی آپوپتوزیس[6] و شکل گیری روند التهاب هستند را متوقف کند (کوبایاشی و دیگران، ۲۰۲۰). همچنین در مطالعه ای که بر روی موش های مبتلا به بیماری التهاب پوستی صورت گرفت، استفاده از آب غنی از هیدروژن باعث کاهش شدت بیماری و بهبود سیستم ایمنی از طریق کاهش عوامل التهابی مثل اینترلوکین-۱ و جلوگیری از نفوذ ماست سل‌ها[7] به محل ضایعه شد (کاجیسا و دیگران، ۲۰۱۷).

نتیجه گیری: تمرینات هوازی شنا در حیوانات مبتلا به کولیت، منجر به کاهش التهاب بافتی، بهبود شاخص های استرس اکسیداتیو، تغییرات ماکروسکوپی و میکروسکوپی در کولیت می شود. این اثرات مفید، بخصوص در گروه‌های دریافت کننده تمرینات هوازی شنا به همراه آب حاوی هیدروژن، قابل توجه است. اگر چه در این مطالعه تغییرات شاخص های التهابی در بافت روده و سرم اندازه‌گیری نگردید، ولی نتایج این مطالعه نشان می دهد که استفاده از آب حاوی هیدروژن به همراه تمرینات هوازی شنا، اثرات بسیار مفیدی در بهبود علایم و تغییرات بافت شناسی کولون در حیوانات مبتلا به کولیت دارد و لذا پیشنهاد می گردد از تمرینات هوازی شنا و آب حاوی هیدروژن به‌عنوان یک روش درمان در کنار سایر داروهای استاندارد، استفاده شود.

تعارض منافع

نویسندگان تایید می کنند که هیچ تعارض منافعی وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

بدین وسیله از همکاری آقای دکتر حسینی و همکاران شاغل در مرکز نگهداری حیوانات دانشکده پزشکی مشهد که در انجام این پایان نامه همکاری نمودند، قدردانی می‌شود.

منابع

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology, 105*,**121-6. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3**

Asgharzadeh, F., Tarnava, A., Mostafapour, A., Khazaei, M., & LeBaron, T. W. (2022). Hydrogen-rich water exerts anti-tumor effects comparable to 5-fluorouracil in a colorectal cancer xenograft model. *World Journal of Gastrointestinal Oncology, 14*(1), **242-252. https://doi.org/10.4251/wjgo.v14.i1.242**

1. Nakao
2. Nogueira
3. Manson
4. Nuclear factor kappa -enhancer of activated B cells
5. Caspase
6. Apoptosis
7. Mast cells

Binabaj, M.M., Asgharzadeh, F., Avan, A., Rahmani, F., Soleimani, A., Parizadeh, M. R., ... & Hassanian, S.M. (2019). EW-7197 prevents ulcerative colitis-associated fibrosis and inflammation. *Journal of Cellular Physiology, 234***(7), 11654-11661. https://doi.org/10.1002/jcp.27823**

Choi, J.H., Chung, K.S., Jin, B.R., Cheon, S.Y., Nugroho, A., Roh, S.S., & An, H.J. (2017). Anti-inflammatory effects of ethanol extract of Aster glehni via inhibition of NF-κB activation in mice with DSS-induced colitis. *Food & Function*, 8**(7), 2611-2620. https://doi.org/10.1039/c7fo00369b**

Edelmann, F., Gelbrich, G., Dungen, H.D., Frohling, S., Wachter, R., Stahrenberg, R., ... & Pieske, B. (2011). Exercise training improves exercise capacity and diastolic function in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results of the Ex-DHF (exercise training in dastolic hart filure) pilot study. *Journal of American College Cardiology, 58***(17), 1780-1791. https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.06.054**

Iida, A., Nosaka, N., Yumoto, T., Knaup, E., Naito, H., Nishiyama, C., . . . & Nakao, A. (2016). The Clinical application of hydrogen as a medical treatment. *Acta Medica Okayama, 70***(5), 331-337. https://doi.org/10.18926/AMO/54590**

Kajisa, T., Yamaguchi, T., Hu, A., Suetake, N., & Kobayashi, H. (2017). Hydrogen water ameliorates the severity of atopic dermatitis-like lesions and decreases interleukin-1β, interleukin-33, and mast cell infiltration in NC/Nga mice. *Saudi Medical Journal, 38***(9), 928. https://doi.org/10.15537/smj.2017.9.20807**

Kajiya, M., Silva, M. J., Sato, K., Ouhara, K., & Kawai, T. (2009). Hydrogen mediates suppression of colon inflammation induced by dextran sodium sulfate. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 386***(1), 11-15. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.05.117**

Kajisa, T., Yamaguchi, T., Hu, A., Suetake, N., & Kobayashi, H. (2017). Hydrogen water ameliorates the severity of atopic dermatitis-like lesions and decreases interleukin-1β, interleukin-33, and mast cell infiltration in NC/Nga mice. *Saudi Medical Journal, 38***(9), 928. https://doi.org/10.15537/smj.2017.9.20807**

Kaser, A., Zeissig, S., & Blumberg, R.S. (2010). Inflammatory bowel disease. *Annual Review of Immunology, 28***, 573-621. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-030409-101225**

Kim, J.J., Shajib, M.S., Manocha, M.M., & Khan, W.I. (2012). Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. *Journal of Visualized Experiments,1***(60), 3678. https://doi.org/10.3791/3678**

Kobayashi, T., Siegmund, B., Le Berre, C., Wei, S. C., Ferrante, M., Shen, B., ... & Hibi, T. (2020). Ulcerative colitis. *Nature Reviews Disease Primers, 6***(1), 74. https://doi.org/10.1038/s41572-020-0205-x**

LeBaron, T.W., Asgharzadeh, F., Khazaei, M., Kura, B., Tarnava, A., & Slezak, J. (2021). Molecular hydrogen is comparable to sulfasalzine as a treatment for DSS- induced colitis in mice. *EXCLI Journal, 20***, 1106-1117. https://doi.org/10.17179/excli2021-3762**

Li, Y., Wang, Z., Lian, N., Wang, Y., Zheng, W., Xie, K. (2021). Molecular Hydrogen: A Promising Adjunctive Strategy for the Treatment of the COVID-19. *Frontiers in Medicine, 8***, 671215. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.671215**

Liang, I.C., Ko, W.C., Hsu, Y.J., Lin, Y.R., Chang, Y.H., Zong, X.H., ... & Hung, C.F. (2021). The anti-inflammatory effect of hydrogen gas inhalation and its influence on laser-induced choroidal neovascularization in a mouse model of neovascular age-related macular degeneration. *International Journal of Molecular Sciences, 22***(21),12049. https://doi.org/10.3390/ijms222112049**

Madesh, M., & Balasubramanian, K. (1998). Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics, 35***(3), 184-188. PMID: 9803669**

Manson, J.E., Greenland, P., LaCroix, A.Z., Stefanick, M.L., Mouton, C.P., Oberman, A., . . . & Siscovick, D.S. (2002). Walking compared with vigorous exercise for the prevention of cardiovascular events in women. *New England Journal of Medicine, 347***(10), 716-725. https://doi.org/10.1056/nejmoa021067**

Nakao, A., Toyoda, Y., Sharma, P., Evans, M., & Guthrie, N. (2010). Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome—an open label pilot study. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 46***(2), 140-149. https://doi.org/10.3164/jcbn.09-100**

Nogueira, J.E., Passaglia, P., Mota, C.M.D., Santos, B.M., Batalhao, M.E., Carnio, E.C., & Branco, L.G. S. (2018). Molecular hydrogen reduces acute exercise-induced inflammatory and oxidative stress status. *Free Radical Biology and Medicine, 129***, 186-193. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.028**

Obermeier, F., Kojouharoff, G., Hans, W., Schölmerich, J., Gross, V., & Falk, W. (1999). Interferon-gamma (IFN-γ)-and tumour necrosis factor (TNF)-induced nitric oxide as toxic effector molecule in chronic dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Clinical & Experimental Immunology, 11***, 238, .2-6. https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.1999.00878.x**

Park, Y.H., Kim, N., Shim, Y.K., Choi, Y.J., Nam, R.H., Choi, Y.J., ... & Lee, C.M. (2015). Adequate dextran sodium sulfate-induced colitis model in mice and effective outcome measurement method. *Journal of Cancer Prevention, 20***(4), 260. https://doi.org/10.15430/jcp.2015.20.4.260**

Qin, L., Yao, Z.Q., Chang, Q., Zhao, Y.L., Liu, N.N., Zhu, X.S., . . . & Li, J.T. (2017). Swimming attenuates inflammation, oxidative stress, and apoptosis in a rat model of dextran sulfate sodium-induced chronic colitis. *Oncotarget, 8***(5), 7391-7404. https://doi.org/10.18632/oncotarget.14080**

Sallam, N., & Laher, I. (2016). Exercise modulates oxidative stress and inflammation in aging and cardiovascular diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016***, 7239639. https://doi.org/10.1155/2016/7239639**

Sun, Y., Cui, D., Zhang, Z., Zhang, T., Shi, J., Jin, H., ... & Ding, S. (2016). Attenuated oxidative stress following acute exhaustive swimming exercise was accompanied with modified gene expression profiles of apoptosis in the skeletal muscle of mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016***, 8381242. https://doi.org/10.1155/2016/8381242**

Szalai, Z., Szasz, A., Nagy, I., Puskas, L.G., Kupai, K., Kiraly, A., ... & Varga, C. (2014). Anti-inflammatory effect of recreational exercise in TNBS-induced colitis in rats: role of NOS/HO/MPO system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2014***, 925981. https://doi.org/10.1155/2014/925981**

Xiao, H.w., Li, Y., Luo, D., Dong, J.l., Zhou, L.x., Zhao, S.y., ... & Fan, S.J. (2018). Hydrogen-water ameliorates radiation-induced gastrointestinal toxicity via MyD88's effects on the gut microbiota. *Experimental & Molecular Medicine, 50***(1), e433. https://doi.org/10.1038/emm.2017.246**

Zheng, G., Qiu, P., Xia, R., Lin, H., Ye, B., Tao, J., & Chen, L. (2019). Effect of aerobic exercise on inflammatory markers in healthy middle-aged and older adults: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in Aging Neuroscience, 26*(**11**), **98. https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00098**