نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش مقاله پژوهشی
دوره ۱،شماره ۲،پاییز و زمستان ۱۳۹۲ تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۱۱/۱۴

تاثیر تمرین استقامتی شنا بر تغییرات شاخص آپوپتوزی و غلظت متالوتیونین کبدی موش‌های باردار در معرض مسمومیت کادمیوم

شادمهر میردار[۱] ، نرگس موسوی[۲]، غلامرضا حمیدیان[۳]، مهدی هدایتی[۴]

چکیده

زمینه و هدف: متالوتیونین نقش مهمی در کنترل آپوپتوزیس، دفع فلزات سنگین از بدن و انتقال عناصر ضروری از مادر به جنین ایفا می‌کند. هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین شنای استقامتی بر غلظت متالوتیونین و شاخص آپوپتوزی کبد موش‌های صحرایی باردار در معرض مسمومیت با کادمیوم بود. **روش تحقیق:** ۳۲ موش صحرایی باردار (۲۰ ± ۲۰۰ گرم) به چهار گروه (کنترل، تمرین، کادمیوم، تمرین + کادمیوم) تقسیم شدند. کادمیوم کلراید به صورت محلول در آب خوراکی به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن از روز اول بارداری تا روز زایمان داده شد. پروتکل تمرین شامل شنا به مدت ۶۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته در طی بارداری بود. نمونه‌گیری بافتی از کبد موش‌های صحرایی دو روز پس از زایمان انجام شد. غلظت متالوتیونین و شاخص آپوپتوزی کبدی به ترتیب با استفاده از روش الایزا و تکنیک ایمونوهیستوشیمی تانل به روش غیر رادیواکتیو نشاندار کردن انتهایی در جای خود تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل یافته‌های پژوهش از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD در سطح معناداری $p \leq ۰/۰۵$ استفاده گردید. **یافته‌ها:** تمرین استقامتی شنا آپوپتوزیس کبد ناشی از کادمیوم را به طور معنی‌داری کاهش داد ($p = ۰/۰۰۵$)، اما بر تغییرات غلظت متالوتیونین کبدی تاثیر معنی‌داری نداشت. **نتیجه گیری:** اگر چه تمرین استقامتی شنا تاثیر معنی داری بر افزایش متالوتیونین کبد ندارد، احتمالاً از مسیرهای دیگری شاخص آپوپتوزی را کاهش می دهد و با مرگ سلولی ناشی از کادمیوم مقابله می کند.

واژه‌های کلیدی: متالوتیونین، کادمیوم، موش صحرایی باردار، تمرین استقامتی شنا، شاخص آپوپتوزی.

۱- نویسنده مسئول، دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران،بابلسر، ایران.
آدرس: بابلسر، خیابان شهید بهشتی، دانشگاه مازندران ، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی؛
Email: shadmehr.mirdar@gmail.com
۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
۳- استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۴- استادیار بیوشیمی، پژوهشکده غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران.

مقدمه

کادمیوم[1] یک فلز سمی سنگین است که از طریق تماس پوستی، بلع، و استنشاق، به بدن انسان منتقل شده و با ایجاد مسمومیت در کبد می‌تواند بر متابولیسم کبدی تاثیر بگذارد و منجر به آسیب اکسایشی شود (۸، ۲۸). تجمع این عنصر در جفت مادران سیگاری در طی سه ماهه اول دوره بارداری شروع شده و می تواند باعث افزایش آپوپتوزیس[2] در اندام‌های مختلف مادر و جنین شود (۶، ۹). آپوپتوزیس فعالیت سلولی کاملاً تنظیم شده‌ای است که به سرعت رخ داده و اجسام آپوپتوزی کوچکی را که توسط غشا در برگرفته شده‌اند، به وجود می‌آورد. آپوپتوزیس، مهمترین وسیله برای برداشتن سلول‌هایی است که زنده ماندن آنها توسط فقدان مواد غذایی، آسیب توسط رادیکال‌های آزاد یا پرتوها، یا عملکرد پروتئین‌های سرکوب کننده تومور؛ مختل شده است. وقایع درگیر در فرآیند آپوپتوزیس شامل از بین رفتن تمامیت غشای میتوکندری، فروپاشی **DNA**، چین‌خوردگی سلول و هسته، تغییرات غشای سلول، تشکیل اجسام آپوپتوزی، و سپس برداشته شدن آنها به طریق فاگوسیتوز می‌باشد (۲۵). اعتقاد بر آن است که بیان و افزایش متالوتیونین[3]، از فرد در برابر آپوپتوزیس حفاظت می کند (۱۹). متالوتیونین‌ها گروهی از پروتئین‌های متصل به فلزات و غنی از سیستئین هستند (۷) که افزایش بیان آن‌ها در سلول، منجر به اثرات ضدّ آپوپتوزی گردیده (۶) و به طور قابل ملاحظه‌ای مسمومیت با کادمیوم را کاهش می‌دهند (۲۹). در واقع، این پروتئین از جمله عوامل ضد اکسایشی اصلی محسوب می‌شود که نقش کلیدی در فعالیت‌های آنتی‌آپوپتوزی سلول در شرایط پاتولوژیک مختلف مانند: پاک‌سازی و مهار گونه‌های اکسیژن واکنشی[4] ایفا می‌کند (۳، ۱۱، ۲۰).

برخی پژوهش‌ها گزارش کرده‌اند تمرین ورزشی غلظت متالوتیونین را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار می‌دهد. لی[5] و همکاران (۱۹۹۷) کاهش غلظت متالوتیونین را پس از تمرینات شنای استقامتی در بافت‌های ریه، کبد، قلب و عضله اسکلتی گزارش کرده اند (۱۶)؛ اما پژوهش اوکولوف[6] و همکاران (۲۰۰۶) عدم تغییر غلظت این پروتئین را پس از ۸ هفته دویدن بر روی نوارگردان نشان داده است (۲۴).

در رابطه با تاثیر فعالیت ورزشی بر شاخص آپوپتوزی نیز کاهش شاخص آپوپتوزی سلول‌های شوان[7] پس از ۸ هفته تمرین استقامتی (۴)، و عدم تغییر شاخص آپوپتوزی پس از فعالیت استقامتی بر روی نوارگردان (۱۳)، گزارش شده است. علیرغم مشاهدات فوق، در رابطه با تاثیر تمرینات ورزشی بر آپوپتوزیس بافت کبدی، گزارشی بدست نیامد. از آنجا که فلزات سنگین می‌توانند به آسانی و از طریق تماس پوستی، بلع و استنشاق به بدن انسان منتقل شوند، و اثرات سمی بر سلامت انسان، به ویژه کودکان دارند(۵)، آگاه کردن زنان از خطرات

1. Cadmium
2. Apoptosis
3. Metallothionein
4. Reactive Oxygen Species
5. Li
6. Okołów
7. Schwann Cell

تماس با مواد سمی موجود در آلاینده‌ها در دوران بارداری (مصرف سیگار یا مصرف مواد غذایی آلوده به کادمیوم از قبیل برنج، قارچ، و ...) (۲) و یافتن راهی برای به حداقل رساندن اثرات مضر آن‌ها، اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. با توجه به این که در رابطه با تاثیر تمرین شنا بر آپوپتوزیس کبدی ناشی از کادمیوم در دوران بارداری پژوهش ها بسیار اندک هستند، پژوهش حاضر قصد دارد تاثیر یک دوره برنامه منظم تمرین شنای استقامتی را بر تغییرات شاخص آپوپتوزی و غلظت متالوتیونین کبدی موش‌های صحرایی باردار در معرض مسمومیت با کادمیوم، بررسی کند.

روش تحقیق

حیوانات: در این پژوهش از ۳۲ سر موش صحرایی ماده با میانگین وزنی ۲۰ ± ۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به صورت گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲ ± ۲۳ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد، و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه و سازگاری با محیط جدید، جهت آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، حیوانات به استخر شنا منتقل شده و تمرین شنا را به مدت یک هفته انجام دادند. طی این یک هفته، تمرین با ۱۰ دقیقه آغاز و با افزایش ۵ دقیقه تمرین در هر روز، تا پایان هفته به ۳۰ دقیقه رسید. سپس هر دو موش ماده با یک موش نر جهت جفت‌گیری در یک قفس قرار گرفتند و پس از ۴۸ ساعت با مشاهده پلاک واژنی بر واژینال، روز اول بارداری مشخص شد (۲۱). سپس موش‌ها به ۴ گروه ۸ تایی شامل کنترل، تمرین، کادمیوم، و تمرین + کادمیوم؛ تقسیم شدند.

برنامه تمرینی: موش‌های باردار گروه تمرین، یک بار در روز و ۵ روز در هفته در استخر ویژه‌ای به ابعاد ۵۰ ×۵۰ × ۱۰۰ سانتی‌متر به شنا پرداختند. برنامه اصلی تمرین شنا در دوران بارداری، با ۳۰ دقیقه آغاز شد و با افزایش پنج دقیقه در هر روز، به زمان ۶۰ دقیقه در هفته دوم رسید. این زمان ۶۰ دقیقه ای، تا پایان هفته سوم ثابت بود. در طول دوره تمرین، دمای آب بین ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام شد که در هفته سازگاری با تمرین قبل از بارداری ثابت بود، ولی در دوران بارداری با ثابت ماندن زمان ۶۰ دقیقه، سرعت و قدرت جریان آب از ۷ به ۱۵ لیتر در دقیقه افزایش یافت (۲۱).

نحوه خوراندن کادمیوم: کادمیوم در طول دوره بارداری به صورت کادمیوم کلراید محلول در آب، به میزان ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در لیتر، از طریق آب آشامیدنی به موش‌ها خورانده شد. ظروف آب حاوی کادمیوم به طور روزانه کنترل و همواره پر می‌شد، به طوری‌که موش‌ها در تمام مدت قادر به مصرف آب به مقدار دلخواه بودند (۲۱).

تهیه نمونه بافتی: ۲ روز پس از زایمان، موش‌های مادر با تزریق مخلوط کتامین (۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش و آسان‌کشی شده و سپس بافت کبد آن‌ها خارج شد (۲۷). قسمتی از بافت کبد به

وسیله بافر فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و جهت مطالعات بافتی در ظروف ویژه قرار گرفت. باقیمانده بافت کبد در میکروتیوپ قرار داده شد و با فریز در مایع نیتروژن به یخچال دمای ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل شد. در ادامه کار، بافت‌های یخ زده با کوبیدن، پودر شدند و عمل هموژنیزاسیون بافت‌ها به وسیله دستگاه هموژنایزر حاوی محلول سالین بافرشده با فسفات[1] (**PBS**)، متشکل از یک میلی‌لیتر **PBS** در هر ۰/۵ گرم بافت و یک ترکیب مهار کننده پروتئاز در **pH**=۷/۲ انجام گرفت. محلول به دست آمده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. اندازه‌گیری غلظت متالوتیونین با استفاده از کیت ویژه به روش الایزا مطابق با دستوالعمل شرکت سازنده(**Cusabio Biotech, Wuhan, China, 22/91D/1099**) انجام شد (۲۳).

تشخیص ایمونوهیستوشیمیایی سلول‌های آپوپتوزی: جهت تشخیص سلول های آپوپتوزی، هسته این سلول ها با استفاده از روش غیر رادیواکتیو نشان‌دار کردن انتهایی در جای خود[2]، رنگ شده و شناسایی گردید. در این روش، مقاطع تهیه شده به ضخامت ۳ میکرومتر ابتدا با استفاده از دو ظرف گزیلول، پارافین زدایی شده و سپس با غلظت‌های نزولی الکل آب‌دهی شدند و در نهایت، سه مرتبه با محلول بافر فسفات عاری از نوکلئاز شستشو داده شدند. جهت از بین بردن پراکسیدازهای درون‌زا، مقاطع با پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد در متانول به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس مقاطع، بعد از شستشو با بافر فسفات عاری از نوکلئاز با کمک پروتئیناز **K** تیمار شدند. کیت آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق کیت تشخیص مرگ سلولی **POD** ساخت شرکت روچ[3] آلمان (کیت شماره ۱۱ ۶۶۸۴ ۸۱۷ ۹۱۰) بود که تمامی مراحل آن مطابق با دستورالعمل همراه کیت انجام پذیرفت. برای تعیین شاخص آپوپتوزی در هر مقطع، ۱۰ میدان دید میکروسکوپی با بزرگ نمایی بالا (**x**۱۰۰) به طور تصادفی انتخاب شده و هسته‌های **TUNEL** مثبت (هسته‌هایی به رنگ قهوه ای تیره و یکنواخت) و **TUNEL** منفی، مورد شمارش قرار گرفت. سپس شاخص آپوپتوزی[4] (**LI**) با استفاده از رابطه $LI = a/(a+b) \times 100$ محاسبه گردید که در آن "**a**" تعداد هسته‌های **TUNEL** مثبت، و "**b**" تعداد هسته‌های **TUNEL** منفی در هر میدان دید میکروسکوپی می‌باشد (۱۸).

نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای موسسه بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی که توسط کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران بررسی و تایید گردید، انجام پذیرفت.

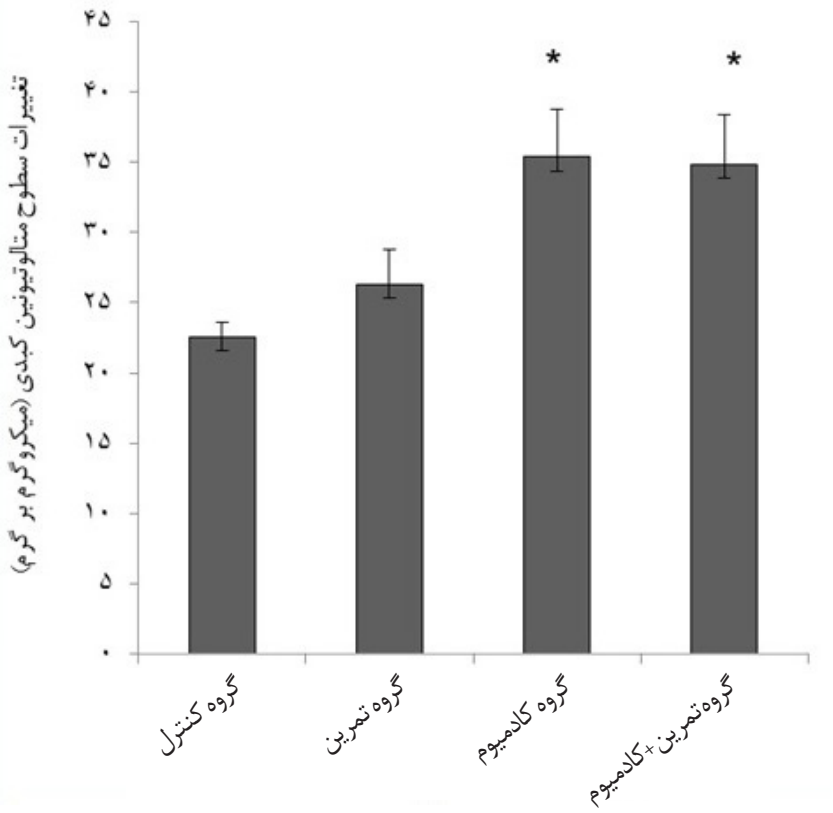
روش های تحلیل آماری: داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد شده از میانگین ارائه شدند. جهت تجزیه و تحلیل آماری، ابتدا داده‌ها با آزمون نرمالیته کولموگروف ـ اسمیرنوف بررسی

1. Phosphate-buffered Saline
2. In Situ End Labeling
3. Roch
4. Labeling Index

شدند و سپس با روش تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی **LSD**، نتایج استخراج گردیدند. $p \leq ۰/۰۵$ به عنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار **SPSS.۲۱** انجام گرفت و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار **Microsoft Excel 2010** ترسیم گردیدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از پژوهش در رابطه با تاثیر تمرین استقامتی شنا با شدت زیربیشینه بر غلظت متالوتیونین کبد موش‌های صحرایی باردار در معرض مسمومیت با کادمیوم در شکل شماره ۱ ارائه شده است. همان‌طور که شکل نشان می‌دهد، تمرین استقامتی شنا در دوران بارداری غلظت متالوتیونین کبد موش‌های صحرایی را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار نداد ($p = ۰/۰۵$)؛ اما مصرف کادمیوم باعث افزایش معنی‌دار ($p = ۰/۰۰۱$) غلظت متالوتیونین کبد موش‌های صحرایی شد (شکل شماره ۱).



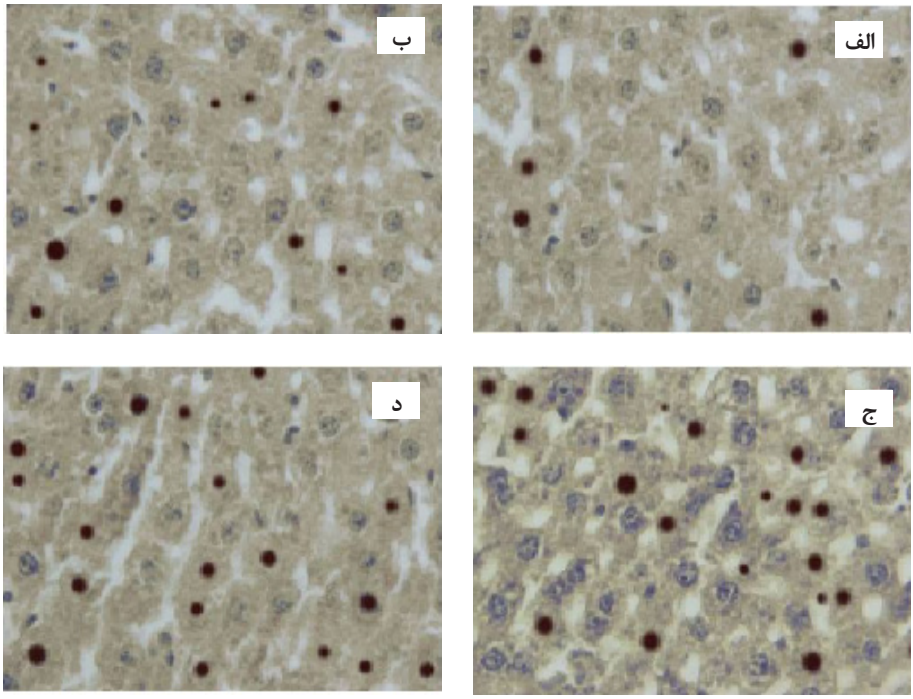
شکل شماره ۱. غلظت پروتئین متالوتیونین کبدی (میکروگرم بر گرم) موش‌های مادر در گروه‌های مختلف پژوهش. علامت * نشانه معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ($p \leq ۰/۰۵$). نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) ارائه شده است.

شاخص آپوپتوزی کبد موش‌های صحرایی باردار در معرض مسمومیت کادمیوم، در گروه تمرین استقامتی شنا افزایش یافت (جدول شماره ۱)، ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (p = ۰/۴۲). بیشترین افزایش شاخص آپوپتوزی در گروه کادمیوم (۴۳۷٪) رخ داد (p = ۰/۰۰۱) و در گروه تمرین + کادمیوم نیز به طور معنی‌داری افزایش داشت (p = ۰/۰۰۱) (جدول شماره ۱). شکل شماره ۲ شاخص آپوپتوزی کبد را به صورت مورفولوژیکی و به شکل سلول‌هایی با رنگ قهوه‌ای تیره در هر ۴ گروه به تصویر کشیده است.

جدول شماره ۱. شاخص آپوپتوزی کبد موش‌های مادر در گروه‌های مختلف در اثر تمرین شنا و مصرف کادمیوم.
نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) ارائه شده است.

گروه ها	میانگین (درصد)	خطای استاندارد میانگین	مقدار p
کنترل	۷/۴۰±۶	۰/۵۰	-
تمرین	۸/۶۰±۶	۰/۹۲	۰/۴۲
کادمیوم	۳۲/۴۰±۲۸	۱/۶۳	۰/۰۰۱
تمرین+کادمیوم	۲۸±۲۵	۱/۳۰	۰/۰۰۱

نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل و * نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کادمیوم ($p \leq ۰/۰۵$).



شکل شماره ۲. تصویر میکروسکوپیک کبد در گروه های مختلف (TUNEL, X40). هسته های قهوه ای تیره هسته های تانل مثبت بوده و بیانگر میزان افزایش آپوپتوزیس در سول های کبدی در گروه های کنترل (الف)، تمرین (ب)، کادمیوم (ج) و تمرین +کادمیوم (د) می‌باشد.

بحث

هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین شنای استقامتی بر تغییرات غلظت متالوتیونین و آپوپتوزیس ناشی از مسمومیت با کادمیوم در موش‌های صحرایی باردار بود. یافته اصلی پژوهش حاضر حاکی از این است که تمرین شنای استقامتی میزان افزایش آپوپتوزیس ناشی از مسمومیت با کادمیوم را در کبد موش‌های مادر به طور معنی‌داری کاهش می دهد. یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم اندازه‌گیری میزان جذب کادمیوم در بافت کبد موش‌های صحرایی باردار بود. با این حال، افزایش شاخص آپوپتوزی کبدی موش‌های صحرایی باردار گروه کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل، موید مسمومیت این بافت با کادمیوم مصرف شده در دوران بارداری می‌باشد. همچنین، از آن جایی که نیمه‌عمر بسیار طولانی کادمیوم در بدن موجود زنده تا اندازه‌ای به شکل‌گیری متالوتیونین نسبت داده می‌شود که در سطوح رونویسی توسط کادمیوم القا می‌شود (۲۹)، افزایش غلظت متالوتیونین در کبد موش‌های صحرایی مادر در گروه کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل، دلیل دیگری بر مسمومیت

این حیوانات با کادمیوم مصرفی می‌باشد. این یافته با نتایج کاواگویی[1] و همکاران (۲۰۰۵) و چاتر[2] و همکاران (۲۰۰۸) همسو است (۱، ۱۰). با توجه به این که تمرین تغییر معنی‌داری در غلظت متالوتیونین ایجاد نکرده، بنابراین افزایش غلظت آن در گروه کادمیوم + تمرین نیز تماماً می‌تواند به کادمیوم نسبت داده شود. از سوی دیگر، عدم تغییر شاخص آپوپتوزی و عدم تغییر غلظت متالوتیونین کبد موش‌های مادر در اثر تمرینات شنا می‌تواند به عنوان نشانه عدم ایجاد فشار اکسایشی در اثر تمرین شنا تفسیر گردد، زیرا متالوتیونین یک پروتئین مرحله حاد است که در واکنش به فشارهای فیزیکی و شیمیایی در بدن القا می‌شود (۱۴). هر مولکول متالوتیونین می‌تواند به ۶ تا ۷ مولکول کادمیوم متصل شود تا آن را متابولیزه و خنثی کند (۳۰). با توجه موارد ذکر شده، انتظار می‌رود که کادمیوم باعث افزایش غلظت متالوتیونین در کبد موش‌های صحرایی شده باشد که نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر حاکی از این افزایش می‌باشد. افزایش آپوپتوزیس توسط کادمیوم احتمالاً از طریق هدف‌گیری میتوکندری صورت می‌گیرد. مسیر اصلی افزایش آپوپتوزیس وابسته به میتوکندری، مبتنی بر فعالیت کاسپازها است که توسط آزادسازی مداوم سیتوکروم **C** میتوکندریایی میانجی گری می‌شود (۱۵). به دنبال فشارهای مختلفی که منجر به رها شدن یون کلیسم (Ca^{2+}) از شبکه اندوپلاسمی می‌شوند، میتوکندری نقش مهمی در جمع‌آوری این کلسیم‌های سیتوزولی ایفا می‌کند. در واقع، آزادسازی سریع Ca^{2+} از لومن شبکه اندوپلاسمی باعث القای نفوذپذیری غشای میتوکندری و تحریک پاسخ‌های آپوپتوزی می گردد. میتوکندری بازیگر اصلی فرایند آپوپتوزیس است و این کار را از طریق ادغام سیگنال‌های مرگ به وسیله پروتئین‌های متعلق به خانواده لنفوم سلول **B**، انجام می‌دهد (۱۵). لنفوم سلول **B** در شبکه اندوپلاسمی نیز تجمع یافته و می‌تواند جریانات Ca^{2+} را در خلال آپوپتوزیس تنظیم نماید. در سلول‌های سالم، میتوکندری و شبکه اندوپلاسمی جایگاه‌های تماس زیادی دارند که انتقال Ca^{2+} را بین این دو اندامک تسهیل می‌کند. هر گونه تغییر در مورفولوژی شبکه اندوپلاسمی و یا قطعه قطعه شدن میتوکندری می‌تواند باعث زایل شدن نقاط تماس بین این دو اندامک و ممانعت از تعامل بین آن ها گردد (۲۲). یافته‌ها از این که متالوتیونین باعث حفظ یکپارچگی ساختاری برخی اندامک‌های سلولی مانند شبکه اندوپلاسمی و میتوکندری می‌شود، حمایت می‌کنند (۱۲). اما همان طور که اشاره شد، غلظت متالوتیونین در اثر تمرین شنا در پژوهش حاضر تغییری نکرد؛ بنابراین، کاهش شاخص آپوپتوزی در گروه تمرین + کادمیوم در مقایسه با گروه کادمیوم را باید به مکانیسم دیگری غیر از افزایش متالوتیونین نسبت داد. اولاً، باید اشاره شود که مکانیسم عدم بروز آپوپتوزیس در بافت کبد موش‌های صحرایی باردار در گروه تمرین احتمالاً ناشی از افزایش تدریجی

1. Kawagoe
2. Chater

و آرام مدت تمرین شنا و رعایت اصل تحریک و تثبیت در تنظیم برنامه تمرینی و تنظیم دمای آب در هنگام شنا کردن (۳۲-۳۰ درجه سانتی‌گراد) می‌باشد که طی سازگاری مناسب با آن، موجب عدم افزایش تعداد سلول‌های آپوپتوزی ناشی از فشار شنا گردیده است. ثانیاً، همان طور که قبلاً نیز ذکر شد، در رابطه با کاهش شاخص آپوپتوزی در کبد موش‌های صحرایی گروه تمرین + کادمیوم، باید به دنبال مکانیسمی غیر از افزایش متالوتیونین بود؛ زیرا تمرین غلظت متالوتیونین کبد را تحت تاثیر قرار نداده است. توجه به این نکته ضروری است که سرنوشت یک سلول به نسبت درون سلولی نیروی ضدآپوپتوزی و پروآپوپتوزی آن بستگی دارد. میتوکندری یک اندامک کلیدی در کنترل آپوپتوزیس است و دپولاریزاسیون غشای آن باعث رهایش مولکول‌های پروآپوپتوزی می‌شود. در طی تمرین با شدت متوسط، نیتریک اکساید[1] (NO) در غلظت‌های فیزیولوژیکی به صورت معکوس سیتوکروم اکسیداز (کمپلکس IV از زنجیره انتقال الکترونی) را مهار می‌کند که منجر به هایپرپولاریزاسیون غشای میتوکندری می‌شود و بنابراین، از آپوپتوزیس جلوگیری می‌کند. انواع مولکول‌های ضدآپوپتوزی، مستقیم و غیرمستقیم توسط NO تحت تنظیم افزایشی قرار می‌گیرند و روند آپوپتوزیس را کند می‌سازند (۲۶). علاوه براین، از آنجا که تمرینات ورزشی استقامتی می توانند موجب بهبود بیوژنز میتوکندریایی و از سوی دیگر، مهار فعال‌سازی کمپلکس‌های موثر در فشار اکسایشی میتوکندری کبدی شوند (۱۷)، می‌توان پیشنهاد کرد که تمرین شنای استقامتی با شدت زیربیشینه با رعایت اصل تحریک و تثبیت اضافه بار، یا افزایش آپوپتوزیس را مهار می‌کند و یا با راه‌اندازی مکانیسم‌های جبرانی، آن را کاهش می‌دهد.

نتیجه‌گیری

اگرچه تمرین تاثیری بر افزایش متالوتیونین کبد موش‌های صحرایی نداشت، اما با توجه به تاثیر تمرین شنای استقامتی بر کاهش شاخص آپوپتوزی کبدی ناشی از کادمیوم، می‌توان ادعا کرد برنامه تمرینی به کار رفته در پژوهش حاضر اثرات مثبتی برای مادر به دنبال داشته است و تا حدودی توانسته با آپوپتوزیس ناشی از کادمیوم مقابله کند. با این حال و با عنایت به اهمیت سلامتی نوزادان، محقق پژوهش‌های بیشتر بر روی عوامل مورد نظر در نوزادان موش‌های صحرایی باردار را نیز توصیه می‌نماید.

قدردانی و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری صمیمانه جناب آقای حسین اولیایی در طی اجرای پژوهش سپاسگزاری نمایند.

1. Nitric Oxide

منابع

1. Chater, S., Douki, T., Garrel, C., Favier, A., et al., 2008. Cadmium-induced oxidative stress and DNA damage in kidney of pregnant female rats. *Comptes Rendus Biologies*, vol. 331, no. 6, pp. 426-432.
2. El, H., and Hammouda F., 2011. Interrelationships between cadmium, zinc and antioxidants in the liver of the rat exposed orally to relatively high doses of cadmium and Zinc. *Ecotoxicology and Environment Safety*, vol. 74, pp. 2099-2104..
3. Florence, G., Serafim, A., Joao Bebianno, M., 2003. Antioxidant enzyme activity, metallothioneins and lipid peroxidation? *Ecotoxiocology*, vol. 12, pp. 417-426.
4. Ghaffar, S., Mohammadali, M., Roshangar, L., Mesgari, M., et al., 2008. The effects of aerobic exercise training on the age-related lipid peroxidation Schwann cell apoptosis and ultrastructural changes in the sciatic nerve of rats. *Life Science*, vol. 82, pp. 840-846.
5. Guo, G., Wu, F., Xie, F., Zhang, R., 2012. Spatial distribution and pollution assessment of heavy metals in urban soils from southwest China. *Journal of Environmental Science (China)*, vol. 24, no. 3, pp. 410-418.
6. Gurel, Z., Ozcelik, D., Dursun, S., 2007. Apoptotic rate and metallothionein levels in the tissues of cadmium- and copper-exposed rats. *Biology and Trace Element Research*, vol. 116, no. 2, pp. 203-217.
7. Hashimoto, K., Hayashi, Y., Inuzuka, T., Hozumi, I., 2009. Exercise induces metallothioneins in mouse spinal cord. *Neuroscience*, vol. 163, no. 1, pp. 244-251.
8. James C., Scott S., 2011. Cadmium. *Fish Physiology*, vol. 31, pp. 125-184.
9. Kantola, M., Purkunen, R., Kroger, P., Tooming, A., et al., 2000. Accumulation of cadmium, zinc, and copper in maternal blood and developmental placental tissue: differences between Finland, Estonia, and St. Petersburg. *Environmental Research section*, vol. 83, no. 1, pp. 54-66.
10. Kawagoe, M., Hirasawa, F., Cun Wang, S., Liu, Y., et al., 2005. Orally administrated rare earth element cerium induces Metallothionein synthesis and increases glutathione in the mouse liver. *Life Science*, vol. 77, no. 8, pp. 922-937.
11. Keith A., 2000. Zinc and health: Current status and future directions, function and mechanism of zinc metalloenzymes. *Journal of Nutrition*, vol. 130, pp. 1437-1446.
12. Kilic, G.A., Kutlu, M., 2010. Effects of exogenous metallothionein against Thallium-induced oxidative stress in rat liver. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 48, no. 3, pp. 980-987.
13. Kim, S.H., Kim, H.B., Jang, M.H., Lim, B.V., et al., 2002. Treadmill exercise increases cell proliferation without altering of apoptosis in dentate gyrus of Sprague-Dawley rats. *Life Science*, vol. 71, no. 11, pp. 1331-1340.
14. Kondoh, M., Kamada, K., Kuronaga, M., Higashimoto, M., et al., 2003. Antioxidant property of metallothionein in fasted mice. *Toxicology Letters*, vol. 143, no. 3, pp. 301-306.
15. Lemarie, A., Lagadic-Gossmann, D., Morzadec, C., Allain, N., et al., 2004. Cadmium induces caspase-independent apoptosis in liver hep3b cells: role for calcium in signaling oxidative stress-related impairment of mitochondria and relocation of endonuclease G and apoptosis-inducing factor. *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 36, pp. 1517-1531.
16. Li, Z., Gao, Y., Li, S., Chen, K., et al., 1997. The effect of endurance training and exhaustive ex-

ercise on metallothionein in rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, **vol. 13, no. 1, pp. 16-17.**

17. Lijuan, S., Zhongbo, L., Shangyi, G., Jiankang, L., et al., 2010. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. *Life Science*, **vol. 86, pp. 39-44.**

18. Melen-Mucha, G., Balcerczak, E., Mucha, S., Panczyk, M., et al., 2004. Expression of p65 gene in experimental colon cancer under the influence of 5-fluorouracil given alone and in combination with hormonal modulation. *Neoplasma*, **vol. 51, no. 4, pp. 319-324.**

19. Mesna, O.J., Wilhelmsen, T.W., Andersen, R.A., 2000. Correlations between cadmium treatment, oxygen uptake and metallothionein response in liver and kidney from two mice strains. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, **vol. 125, no. 1, pp. 21-27.**

20. Milena Penkowa, P.K., Charlotte K., Juan H., Mercedes G., et al., 2005. Exercise-induced Metallothionein expression in human skeletal muscle fibres. *Experimental Physiology*, **vol. 90, pp. 477–486.**

21. Mirdar, S., Arab, A., Hedayati, M., Hajizadeh, A., 2013. Evaluation of the effect of a swimming training program on levels of lung hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) in pups of mother rats exposed to cadmium. *Qom University Medicine Science Journal*, **vol. 7, no. 3, pp. 11-20.**

22. Montazeri, F., Rahgozar, S., Ghaedi, K., 2011. Apoptosis and cytosolic organelles. *Genetics in the 3rd Millennium*, **vol. 9, no. 1, pp. 2300-2312.**

23. Pan, L., Zhang, H., 2006. Metallothionein, antioxidant enzymes and DNA strand breaks as biomarkers of Cd exposure in a marine crab, Charybdis Japonica. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology*, **vol. 144, no. 1, pp. 67-75.**

24. Podhorska-Okolow, M., Dziegiel, P., Dolinska-Krajewska, B., Dumanska, M., et al., 2006. Expression of metallothionein in renal tubules of rats exposed to acute and endurance exercise. *Folia Histochemcal Cytobiology*, **vol. 44, no. 3, pp. 195-200.**

25. Queira, J., 2010. *Basic histology: A text and atlas*. **12th ed. Lippincott Williams & Wilkins.**

26. Shu, S., Hsiun-ing, C., 2011. NO signaling in exercise training-induced anti-apoptotic effects in human neutrophils. *Biochem and Biophys Res Commun*, **vol. 405, pp. 58–63.**

27. Van Pelt L., 1977. Ketamine and Xylazine for surgical anesthesia in rats. *Journal of American Veterinary Research And Medicine Association*, **vol. 171, no. 9, pp. 842.**

28. Vogiatzis, A.K., Loumbourdis, N.S., 1999. A study of glycogen, lactate, total fats, protein, and glucose concentration in the liver of the Frog Rana Ridibunda, after exposure to cadmium for 30 days. *Environmental Pollution*, **vol. 104, pp. 335-340.**

29. Waalkes, M.P., 2003. Cadmium carcinogenesis. *Mutationt Research*, **vol. 533, no. 1-2, pp. 107-120.**

30. Yudkovski, Y., Rogowska-Wrzesinska, A., Yankelevich, I., Shefer, E., et al., 2008. Quantitative immunochemical evaluation of fish metallothionein upon exposure to cadmium. *Marine Environmental Research*, **vol. 65, no. 5, pp. 427-436.**

ABSTRACT

The effect of swimming endurance training on changes in liver apoptotic index and metallothionein levels in pregnant rats exposed to cadmium

Shadmehr Mirdar[1] , Narges Musavi[2] , Gholamreza Hamidian[3], Mehdi Hedayati[4]

Background and Aim: Metallothionein plays important role in control of apoptosis, heavy metals elimination from body, and trace element transportation from mother to fetus. The aim of current study was to investigate the effects of swimming endurance training on induction of liver hepatic metallothionein **(MT)** in pregnant rats exposed to cadmium poisoning. **Materials and Methods:** Thirty-two pregnant rats (200 ± 20 g) were divided into four groups (control, swimming training, cadmium, and swimming training+ cadmium). Cadmium chloride was given orally (400 mg/kg in drinking water) from the first day of pregnancy until delivery. Training protocol was included 60 minutes swimming for 5 days a week during pregnancy. Liver tissues were removed two days after delivery. Liver MT levels and apoptotic index were determined by ELISA method and nonradioactive in situ end labeling method using TUNEL immunocytochemical technique, respectively. The ANOVA and post hoc LSD tests were used to analyze the data of study at $p \leq 0.05$. **Results:** Swimming endurance training significantly decreased cadmium-induced apoptosis ($p = 0.005$), but had no effect on liver MT levels. **Conclusion:** Although, swimming endurance training had no effect on liver MT levels, but decreased cadmium-induced apoptosis presumably via other mechanism than induction of liver MT. Thus, it was somewhat effective to contrast with cadmium-induced cell death.

Keywords: Metallothionein, Cadmium, Pregnant Rat, Swimming Endurance Training, Apoptotic Index.

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, vol.1, no.2, Fall & Winter, 2013/2014.
Received: Jan 4, 2014 *Accepted: Feb 3, 2014*

1. Corresponding Author: Associate Professor of Exercise Physiology Department, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran; Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Beheshti St., Babolsar, Iran; Email: shadmehr.mirdar@gmail.com
2. Master in Physical Education, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
3. Assisstant Professor, Faculty of Veterinarian, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
4. Associate Professor of Biochemistry, Institute of Endocrinology and Metabolism,University of Shahid Beheshti, Tehran, Iran.