

## تأثیر مجزا و ترکیبی تمرین هوازی و مکمل سیاه دانه بر سطوح پلاسمایی اپلین و گلوکز در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع 2

اصغر توفیقی<sup>۱</sup>، سولمان بابایی\*<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت 1394/09/09 تاریخ پذیرش 1394/11/18

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** دیابت یکی از مهم‌ترین مشکلات سلامتی در تمامی جوامع به حساب می‌آید. تداخل ورزشی و تداخل دارویی مخصوصاً داروهای گیاهی، ازجمله بهترین رویکردهای بهبود وضعیت در افراد دیابتی محسوب می‌شود. هدف از اجرای این پژوهش، بررسی تأثیر مجزا و ترکیبی تمرین هوازی و مکمل سیاه دانه بر سطوح پلاسمایی اپلین و گلوکز در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع 2 بود.

**مواد و روش کار:** تعداد 75 سر موش نر نژاد ویستار در پنج گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابت + تمرین، دیابت + سیاه دانه، دیابت+تمرین+سیاه دانه قرار گرفتند. دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (50mg/kg) القا شد. برنامه تمرینی شامل 8 هفته تمرین هوازی روی نوارگردان (5 جلسه در هفته، هر جلسه به مدت 30 دقیقه و 22 متر در دقیقه و شیب 5 درصد) بود. پس از 8 هفته تمرین هوازی و مصرف سیاه دانه سطح پلاسمایی گلوکز و اپلین اندازه‌گیری شد. داده‌ها با روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و Tukey با سطح معنی‌داری 5% $p <$  تحلیل شد.

**یافته‌ها:** شاخص گلوکز در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p < 0/001$ ). میانگین شاخص گلوکز در گروه‌های دیابت+سیاه دانه و دیابت +تمرین و دیابت+تمرین+سیاه دانه در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری پایین بود (مقادیر  $p$  به ترتیب  $p < 0/003$ ،  $p < 0/001$ ،  $p < 0/002$ ، در حالی که شاخص اپلین در گروه‌های دیابت +تمرین و دیابت+تمرین+سیاه دانه افزایش معنی‌داری نشان داد (مقادیر  $p$  به ترتیب  $p < 0/001$ ،  $p < 0/002$  اما در گروه دیابت+سیاه دانه ( $p < 0/057$ ) این تغییرات معنی‌دار نبود).

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که انجام فعالیت‌های ورزشی به همراه مصرف گیاهان دارویی خاص، می‌تواند به‌عنوان یک روش درمانی مکمل در بهبود وضعیت بیماران دیابتی مد نظر قرار گیرد.

**کلیدواژه‌ها:** دیابت، تمرینات هوازی، سیاه دانه، اپلین، گلوکز

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره اول، ص 18-10، فروردین 1395

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، تلفن، 09143215066

Email: so\_babaei@yahoo.com

### مقدمه

دیابت یک مشکل جدی پزشکی است که شیوع آن در سراسر جهان به‌طور چشمگیری در حال افزایش است (1). سازمان جهانی بهداشت WHO<sup>1</sup> با توجه به آمار و روند رو به افزایش بیماری دیابت در جهان، آن را به‌عنوان یک اپیدمی نهفته اعلام کرد (1). دیابت نوع 2 شایع‌ترین نوع دیابت در دنیاست و تقریباً 90 درصد بیماران دیابتی را شامل می‌شود (2). دیابت تغییرات عمده‌ای در اغلب سیستم‌های بدن ایجاد می‌کند و سبب بروز عوارض فوری و یا

دیابت یک مشکل جدی پزشکی است که شیوع آن در سراسر جهان به‌طور چشمگیری در حال افزایش است (1). سازمان جهانی بهداشت WHO<sup>1</sup> با توجه به آمار و روند رو به افزایش بیماری دیابت در جهان، آن را به‌عنوان یک اپیدمی نهفته اعلام کرد (1). دیابت نوع 2 شایع‌ترین نوع دیابت در دنیاست و تقریباً 90 درصد بیماران دیابتی را شامل می‌شود (2). دیابت تغییرات عمده‌ای در اغلب سیستم‌های بدن ایجاد می‌کند و سبب بروز عوارض فوری و یا

<sup>۱</sup> دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

<sup>۲</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>3</sup> Organization World Health

از زمان‌های بسیار دور استفاده از گیاهان دارویی از اولین درمان‌های دیابت بوده است (20). تاکنون تأثیر مثبت بیش از 1200 گیاه دارویی در کاهش میزان قند خون و یا کاهش عوارض ناشی از آن شناخته شده است (21). از آنجاکه سازوکار این گیاهان در کاهش قند خون کم‌تر مطالعه شده، به نظر می‌رسد انجام تحقیقات در این زمینه از ارزش خاصی برخوردار باشد؛ چرا که پیدا کردن محل اثر گیاهان کاهنده قند خون می‌تواند در انتخاب گیاه در درمان کمکی دیابت کمک کند. یکی از سازوکارهای پیشنهادی در این زمینه که باعث افزایش متابولیسم قند خون می‌شود گیاه سیاه‌دانه است (22).

دانه گیاه سیاه دانه به سیاه دانه با نام علمی *Nigella sativa* L معروف است و از خانواده رانونکولاسه آ گیاهی می‌باشد و به‌طور وسیعی در درمان آسم، سردرد، چاقی، بیماری قلبی عروقی، فشار خون و مشکلات گوارشی استفاده می‌شود (23). همچنین مصرف سیاه دانه تأثیر بسزایی در بیماران دیابتی دارد به گونه‌ای که سیاه‌دانه روی سلول‌های بتا اثر گذاشته و موجب افزایش سطح *Insulinotropic* انسولین سرم و کاهش قند خون می‌شوند (24). فعالیت هوازی نیز، با کاهش قند خون و کاهش هموگلوبین قندی (*HbA1c*)، در افراد دیابتی، از بروز عوارض ثانویه آن جلوگیری کرده و به‌عنوان یک روش غیر دارویی و مؤثر برای مدیریت و کنترل بیماری دیابت، شناخته می‌شود (25). کدوگلو و همکاران (2012) افزایش غلظت آپلین و بهبود حساسیت به انسولین را در بیماران دیابتی نوع 2 پس از دوازده هفته تمرین هوازی نشان دادند (26). نتایج پژوهش‌های انجام گرفته در بررسی تأثیر تمرینات بر غلظت آپلین پلاسمایی با توجه به اینکه محدودند، ضد و نقیض نیز هستند. مرال و همکاران (2010) نشان دادند که تمرین هوازی همراه با کاهش وزن موجب کاهش مقاومت انسولینی و سطوح آپلین در نمونه‌های دیابتی شده است (27).

امروزه برای بهبود وضعیت جسمانی در افراد دیابتی به جای دارو از تمرینات ورزشی منظم و گیاهان دارویی استفاده می‌شود (28). پژوهش‌های بسیاری درباره تأثیر ورزش بر نشانگرهای مختلف بیماری دیابت انجام شده است ولی هنوز مطالعه‌ای که به بررسی اثر تمرین هوازی و مصرف مکمل سیاه‌دانه بر عامل نشانگر بیوشیمیایی در موش‌های دیابتی انجام شود یافت نشد. بنابراین هدف از تحقیق حاضر تأثیر مجزا و ترکیبی تمرین هوازی و مکمل یاری سیاه دانه بر سطوح پلاسمایی آپلین و گلوکز در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع 2 بود.

(3). بیش از 60 درصد از همه بیماران دیابتی نوع دو بخاطر بیماری‌های قلبی عروقی می‌میرند (5)؛ و در پژوهشی نشان داده شد که شیوع بیماری قلبی -عروقی و چاقی در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 حدود 2-4 برابر افراد غیر دیابتی می‌باشد (6). همچنین مطالعات همه گیرشناسی وجود رابطه‌ای مستقیم بین عوامل خطر بیماری‌زای قلبی عروقی، چاقی و دیابت را نشان دادند (7). در این رابطه بسیاری از مطالعات حاکی از نقش مهم آدیپوکین‌ها در عوارض مربوط به دیابت نوع 2 می‌باشد (8،9). آدیپوکین‌ها اعمال حیاتی زیادی را تنظیم می‌کنند و نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی مقاومت به انسولین، دیابت، آترواسکلروز، اختلال در اندوتلیال عروقی و التهاب ایفا می‌کنند (10،11). یکی از آدیپوکین‌هایی که بر روی متابولیسم و به ویژه اختلال سندروم متابولیک اثرگذار است آپلین می‌باشد که رابطه‌ی زیادی با فیزیولوژی قلبی -عروقی و حساسیت به انسولین دارد و از متسع کننده‌های قوی عروقی است (12). آپلین خود یک آدیپوکینی است که با مقاومت به انسولین و دیابت نوع 2 ارتباط نزدیکی دارد (13). آپلین محصول ژن *APLN* است که 77 اسید آمینه را ترجمه می‌کند و هورمون پپتیدی تازه شناخته شده‌ای است که با افزایش جذب گلوکز در بافت‌های چربی و عضلانی، در تنظیم قند خون، نقش مهمی را ایفا می‌کند (14). شهاتا<sup>2</sup> (2013) در تحقیق خود که بر روی اثر آپلین بر سطح سرمی گلوکز و انسولین، انجام داد، بیان کرد، آپلین در افراد دیابتی، سطح گلوکز خون را کاهش می‌دهد (15). پژوهش‌های آزمایشگاهی اولیه روی گونه‌های حیوانی نشان می‌دهد که آپلین و گیرنده آن در بیماران دیابتی نقش عمده‌ای دارد (16). مدت‌های طولانی است که تمرین ورزشی به‌عنوان یک مکمل در درمان دارویی، در کنترل بیماری دیابت مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات انجام شده در انسان‌ها و حیوانات نشان داده‌اند که ورزش، مقاومت انسولین را بهبود می‌بخشد و حساسیت انسولین را افزایش می‌دهد (17). اگرچه در حال حاضر درمان اصلی و مؤثر برای دیابت، استفاده از انسولین و داروهای کاهنده قند خون است، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعددی مانند افزایش ذخایر چربی، تحلیل رفتن بافت چرب در محل تزریق و بروز شوک هیپوگلاسمیک بوده و در دراز مدت نیز بر روند ایجاد عوارض ناتوان کننده دیابت تأثیری ندارد (18). امروزه برای بهبود وضعیت جسمانی در بیماران دیابتی به جای دارو از تمرینات ورزشی منظم و گیاهان دارویی استفاده می‌شود. داروهای گیاهی نسبت به داروهای شیمیایی دارای سمیت کم‌تر و اثرات جانبی کم‌تری می‌باشند و اقبال عمومی برای مصرف آن‌ها بیشتر است (19).

<sup>2</sup>-Shehata

## مواد و روش کار

پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی می‌باشد که به شیوه میدانی و آزمایشگاهی انجام شد. تمام اعمال انجام شده روی حیوانات مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه مستخرج از دستورالعمل هلسینگی بود. تعداد 75 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن 14-12 هفته و محدوده وزنی 240-180 گرم، از دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شد. حیوانات مورد آزمایش، طی مراحل پژوهش در قفس‌های پلی کربنات شفاف، در دمای محیطی  $21 \pm 2$  درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 45-55 درصد و چرخه تاریکی روشنایی 12:12 ساعت نگهداری شدند. موش‌ها با غذای استاندارد موش، تغذیه شدند و آب مورد نیاز آن‌ها در بطری‌های 500 میلی‌لیتری در اختیار آنها گذاشته شد. حیوانات در طی مراحل پژوهش هیچ محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند. تمام مراحل آزمایش، بر اساس مقررات نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، انجام شد. پس از یک هفته سازگاری موش‌ها با محیط، جهت ایجاد دیابت از تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) به میزان 50 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه حامل سالین نرمال استفاده شد. Stz از شرکت سیگما ساخت کشور آلمان خریداری شد. با این روش 48 ساعت بعد از تزریق، دیابت در موش‌ها ایجاد گردید که جهت تأیید آن، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانس در دم حیوان، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر منتقل شد که 300 mg/dl به عنوان شاخص دیابتی شدن گلوکومتر قرائت و قندخون بالا در نظر گرفته شد (19). پس از اطمینان از دیابتی شدن موش‌های دیابتی موش‌ها به‌طور تصادفی در 5 گروه 15 سری شامل گروه‌های کنترل سالم، کنترل دیابتی، گروه دیابت + تمرین، گروه دیابت + سیاه‌دانه و گروه دیابت + تمرین + سیاه‌دانه قرار گرفتند.

### روش تهیه عصاره سیاه‌دانه:

عصاره سیاه‌دانه به کمک قهوه‌ی آسیاب کن پودر و به وسیله‌ی دستگاه سوکسله با به حجم 250 میلی لیتر حلال ان-هگزان ساخت شرکت مرک به مدت 2 ساعت عصاره گیری شد. سپس از کاغذ صافی عبور داده و در دمای 50 درجه‌ی سانتیگراد به کمک دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد و عصاره‌ی روغنی آن به رنگ زرد به دست آمد.

### برنامه تمرینی:

میزان شدت فعالیت هوازی موش‌ها، با استفاده از سرعت دویدن آن‌ها بر روی نوار گردان کنترل می‌شود. سرعت دویدن 20-25 متر

در دقیقه روی موش‌ها به‌عنوان یک فعالیت هوازی متوسط محسوب می‌شود (29). برنامه تمرینی در مطالعه حاضر شامل تمرین هوازی روی نوارگردان، 5 روز در هفته و به مدت 8 هفته بود. در ابتدا موش‌ها به مدت یک هفته با سرعت 5 تا 10 متر در دقیقه، به مدت 10 دقیقه و با شیب صفر درجه روی تردمیل با برنامه ریزی اتوماتیک، ساخت شرکت تکنیک آزما راه رفتند (مرحله آشنایی). پس از یک هفته سازگاری موش‌ها با تردمیل، شدت فعالیت در دو هفته اول تمرین، با سرعت 10 متر در دقیقه، شیب 5 درجه و به مدت 15 دقیقه شروع و پس از آن در هر دو هفته بر شدت و مدت فعالیت به تدریج افزوده شد تا اینکه در دو هفته آخر شدت فعالیت به سرعت 22 متر در دقیقه و مدت فعالیت به 30 دقیقه افزایش یافت و شیب تردمیل از ابتدا تا انتهای دوره‌ی تمرین روی 5 درجه ثابت ماند. لازم به ذکر است که از مجموع 30 دقیقه مذکور، در شروع هر جلسه تمرین، 5 دقیقه (سرعت 10 متر در دقیقه و شیب صفر درجه) جهت گرم کردن در نظر گرفته شد و سپس در پایان هر جلسه به‌منظور سرد کردن، سرعت نوارگردان به مدت 5 دقیقه به‌طور معکوس کاهش می‌یافت تا به سرعت اولیه برسد. در مدت این 8 هفته، موش‌های گروه کنترل نیز برای آشنایی با تردمیل، یک جلسه در هفته، به مدت 5 دقیقه، با سرعت 10 متر در دقیقه و با شیب صفر درجه، روی تردمیل راه رفتند. این پروتکل بر اساس اصول علمی انجمن ASCM و به صورت فزاینده طراحی شده است. عصاره سیاه دانه نیز بر اساس وزن بدن موش‌ها، پایان هر جلسه تمرینی به صورت گاواژ و با دوز مؤثر 400mg/kg/day (28) به موش‌ها خورانده شد. به‌منظور یکسان سازی شرایط (دریافت شوک گاواژ) به گروه‌های دیگر نیز در حجم‌های مساوی، آب گاواژ شد. وزن موش‌ها نیز هفته‌ای یک بار اندازه‌گیری و ثبت شد.

### نمونه‌گیری خون:

48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و متعاقب 12 ساعت ناشتایی، موش‌ها با استفاده از کتامین (80 میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی) بی‌هوش شدند. سپس با برش پوست در ناحیه شکم و قفسه سینه، از طریق باز کردن حفره شکمی، حدود 10 میلی لیتر خون مستقیماً از قلب موش‌ها توسط سرنگ گرفته شد و به لوله آزمایش حاوی EDTA منتقل شد. سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده به سرعت سانتریفیوژ شدند (با سرعت 3000 دور در دقیقه و مدت 10 دقیقه) پلاسمای به دست آمده تا هنگام انجام آزمایش‌های مربوطه در فریز 80-درجه نگهداری شد. میزان اپلین پلازما، به وسیله‌ی کیت آزمایشگاهی سنچس اپلین، ساخت شرکت "رای بایو" و توسط دستگاه الایزا ریدر تمام خودکار،

SPSS نسخه 19 انجام گرفت و سطح معنی داری آزمون  $p < 5\%$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در جدول 1 میانگین سطح آلبین، گلوکز و وزن موش‌ها، بعد از 8 هفته تمرین و مصرف سیاه دانه در گروه‌های پنج گانه تحقیق ارائه شده است. در جدول 2 نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه در گروه‌های پنج گانه ارائه شده است. بر اساس نتایج موجود در این جدول، بین میانگین شاخص آلبین در گروه‌های پنج گانه اختلاف معنی دار مشاهده شد ( $p=0/0001$ ).

مارک "الیسیس یونو"<sup>3</sup> ساخت شرکت آلمانی "هیومن"، شد و برای اندازه‌گیری میزان سطح گلوکز پلاسما از راه رنگسنجی آنزیمی براساس روش گلوکزآکسیداز با دستگاه اتوآنالیزور (هیتاچی 902، بهرینگر مانهیم، آلمان) و کیت ویژه (شرکت پارس آزمون، ایران) با حساسیت 1 میلی‌گرم بر دسی لیتراندازه‌گیری گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری:

ابتدا به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها، به منظور بررسی اثر متغیر مستقل بر متغیرهای وابسته از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تمام آزمون‌های آماری، با استفاده از نرم‌افزار آماری

**جدول (۱):** میانگین و انحراف استاندارد سطوح آلبین، گلوکز پلاسما و وزن موشها قبل و پس از 8 هفته مداخله

متغیر	زمان	کنترل سالم	کنترل دیابتی	دیابت+تمرین	دیابت+سیاه دانه	دیابت+مکمل+تمرین
وزن (g)	پیش آزمون	216/34 ± 4/03	208/83 ± 6/15	198/97 ± 8/79	214/26 ± 7/37	209/83 ± 12/17
	پس آزمون	220/12 ± 9/21	225/12 ± 6/64	186/86 ± 1/75*	181/98 ± 28/2*	179/75 ± 83/12*
گلوکز (mg/dl)	پیش آزمون	90/12 ± 1/01	374/29 ± 8/36	378/21 ± 12/5	398/29 ± 8/36	397/89 ± 9/89
	پس آزمون	86/98 ± 85/23	384/85 ± 87/75	290/35 ± 12/91*	284/12 ± 3/71*	271/2 ± 1/03*
آلبین (پیکوگرم/میلیلیتر)	پس آزمون	279/28 ± 81/2	281/03 ± 73/6*	291/1 ± 28/7	285/8 ± 10/47	298/6 ± 84/59*

\*وجود تفاوت معنی دار ( $p < 5\%$ ) بین گروه‌های مورد مطالعه

در جدول 2 نتایج آزمون تعقیبی Tukey در خصوص مقایسه‌های جفتی شاخص آلبین در گروه‌ها ارائه شده است. بر اساس نتایج موجود در این جدول، میانگین شاخص آلبین در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم به‌طور معنی داری بالاتر بود ( $p=0/0001$ ). همچنین میانگین شاخص آلبین در گروه‌های دیابت+تمرین و دیابت+تمرین+سیاه دانه در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی داری بالاتر بود اما در گروه دیابت+سیاه دانه این افزایش معنی دار نبود (مقادیر  $p$  به ترتیب 0/002، 0/0004).

**جدول (۲):** نتایج آزمون تعقیبی Tukey در خصوص مقایسه‌های جفتی شاخص آلبین در گروه‌ها

مقدار p	گروه‌ها
0/048*	کنترل دیابتی و دیابت+تمرین
0/057	کنترل دیابتی و دیابت+سیاه دانه
0/001*	کنترل دیابتی و دیابت+تمرین+سیاه دانه
0/002*	دیابت+تمرین و دیابت+تمرین+سیاه دانه
0/001*	دیابت+سیاه دانه و دیابت+تمرین+سیاه دانه
0/058	کنترل سالم و کنترل دیابتی

\*وجود تفاوت معنی دار ( $p < 5\%$ ) بین گروه‌های مورد مطالعه

<sup>3</sup> -Elisys UNO

کننده جذب گلوکز ساعت‌ها بعد از فعالیت، فعال باقی می‌ماند (35). همسو با نتایج تحقیق حاضر زائویی و همکاران در سال 2002 در تحقیق خود در پی 12 هفته تمرین و مصرف سیاه دانه نشان دادند که در حیواناتی که تمرین و مصرف سیاه‌دانه داشتند گلوکز سرمی کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان دادند (36). کانتر و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان اثرات سیاه‌دانه روی استرس اکسیداتیو و آسیب سلول‌ها با استرپتوزوتوکسین ایجاد کننده دیابت در رت گزارش کردند که درمان با سیاه دانه از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و حفاظت سلول‌های بتا پانکراس و کاهش گلوکز خون و فاکتورهای لیپیدی باعث محافظت در برابر دیابت می‌شود (37). همچنین پژوهش‌ها نشان می‌دهند که ورزش منظم منجر به کاهش معنی‌دار در سطح پلاسمایی گلوکز، افزایش معنی‌داری در حساسیت انسولین و بهبود مقاومت انسولینی می‌شود (38، 39). در مطالعه‌ای دیگر سورجر و همکاران (2009) نشان دادند که بهبود متابولیسم گلوکز نقش مهمی در سطوح اپلین ایفا می‌کند (40) که همسو با نتایج تحقیق حاضر است که نشان داده پس از پایان 8 هفته تمرین هوازی و مصرف سیاه دانه میزان اپلین پلاسما در گروه‌های تمرین و سیاه دانه و گروه ترکیبی از سیاه‌دانه و تمرین نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری داشت و این افزایش در گروه ترکیبی تمرین و سیاه دانه بیشتر از گروه دیابت +تمرین بود. این یافته با یافته مطالعات اخیر همسو می‌باشد (41)، مبنی بر این که سطوح پلاسمایی اپلین موش‌های دیابتی تمرین ارتباط منفی با سطوح گلوکز داشت، به طوری که سطوح پلاسمایی اپلین به موازات کاهش گلوکز افزایش داشت. یافته حاضر با یافته‌ای از مطالعه گذشته همسوست (42). اپلین، گلوکز مصرفی را مستقیماً از طریق مسیر سیگنالی مربوط به اتصال Gq به APJ و فعال سازی پروتئین کیناز فعال شونده با آدنوزین مونو فسفات (AMPK) و نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیوم (eNOS) افزایش می‌دهد (43، 44). نتایج یانگ و همکاران نشان می‌دهد ترشح بیشتر اپلین در گروه آزمایش، نوعی مدیریت اپلین بر دیابت نوع 2 می‌باشد (38). کادگلو و همکاران نیز افزایش غلظت سرمی اپلین و بهبود حساسیت به انسولین را در بیماران دیابتی نوع 2 پس از 6 ماه تمرین هوازی با شدت متوسط نشان دادند (38) که همسو با نتایج تحقیق حاضر است در حالی که کریست و همکاران کاهش غلظت سرمی اپلین و بهبود حساسیت به انسولین را در بیماران دیابتی نوع 2 پس از 12 هفته تمرین بدنی مشاهده کردند (45). در همین راستا می‌توان به تحقیق محبی و همکاران اشاره کرد این محققان، تأثیر 8 هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط بر سطوح اپلین پلاسما و مقاومت به انسولین در زنان مبتلا به دیابت نوع 2 را بررسی کردند نتایج این تحقیق نشان داد وزن بدن، سطوح اپلین

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف سیاه‌دانه و تمرین به صورت جداگانه و ترکیبی تأثیر معنی‌داری بر شاخص اپلین دارد همچنین با توجه به میانگین‌های ارائه شده در جدول 2 ملاحظه می‌شود که مصرف سیاه‌دانه همراه با تمرین در مقایسه با مصرف سیاه دانه و ورزش به تنهایی تأثیر بیشتری داشته است.

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که 8 هفته تمرین هوازی و مصرف سیاه دانه به صورت ترکیبی و مجزا از هم باعث کاهش در سطح گلوکز و افزایش سطح اپلین در موش‌های دیابتی شد. دیابت با افزایش گلیکولیزه شدن سوبستراهای مختلف در نواحی هدف و با وساطت محصول نهایی و پیشرفته گلیکوزیلاسیون و همچنین با افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد و فعال اکسیژن و تشدید پراکسیداسیون لیپیدی و تجزیه پروتئین‌ها، عوارض جدی در جامعه افراد دیابتی و نیز در حیوانات دیابتی به وجود می‌آورد (30). قابل ذکر است که دیابت حالتی همراه با استرس اکسیداتیو بالا است و به نظر می‌رسد که سیاه‌دانه با خواص آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی را در پیشگیری از استرس اکسیداتیو ایفا می‌کند (31). لذا در بررسی ما این احتمال وجود دارد که انجام فعالیت‌های بدنی و مصرف سیاه‌دانه در این زمینه کمک شایانی در این مورد داشته باشد، چرا که سیاه‌دانه به علت داشتن ترکیب‌های فلاونوئید با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، در کاهش بروز عوارض دیابت بسیار مؤثر است (32). اخیراً با تحقیق پیشرفته در مورد مکانیسم اثر گیاهان دارویی نشان داده شد که برخی از این گیاهان خاصیت شبه انسولینی داشته و از جذب مناسب کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها از روده باریک جلوگیری می‌کند (33). از طرفی دیگر نتایج تحقیق‌های قبلی نشان داده است که پلی‌ساکاریدها، فلاونوئیدها گلیکوپروتئین‌ها و پلی‌پپتیدها، استروئیدها، آلکونوئیدها و پکتین موجود در گیاهان دارویی می‌تواند خاصیت هیپوگلیسمی احتمالی برخی از گیاهان مورد استفاده در درمان دیابت شامل سیاه دانه را از نظر جلوگیری از تغییر بیوشیمی خون به خوبی توجیه کند (34). در تحقیق حاضر مشخص گردید که با انجام 8 هفته فعالیت‌هوازی و مصرف سیاه دانه، میزان گلوکز پلاسما در گروه‌های دیابتی+تمرین، دیابتی+سیاه‌دانه و دیابتی+تمرین+سیاه‌دانه نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌داری پیدا کرد که این کاهش در گروه دیابتی+تمرین+سیاه دانه نسبت به گروه دیابتی +تمرین و دیابتی+سیاه‌دانه بیشتر بود. بر این اساس علاوه بر مصرف سیاه‌دانه که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند، انجام فعالیت‌های بدنی از طریق افزایش جذب گلوکز خون باعث می‌شود که جذب گلوکز به عضله، حتی بعد از فعالیت نیز بالا بماند، زیرا مسیرهای تحریک

افراد سالم جهت تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از ایجاد بیماری جلوگیری کرد (پیشگیری اولیه (و در بیماران نیز با تقویت این سیستم از عوارض ناشی از بیماری‌ها مخصوصاً بیماری دیابت جلوگیری کرد یا بروز آن را به تعویق انداخت. با توجه به این که مستندات کافی درخصوص مناسب‌ترین دوز مصرف سیاه دانه در جهت بهبود شاخص‌های مرتبط با بیماری دیابت وجود ندارد، لذا پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی اثر دوزهای مختلف سیاه دانه در گروه‌های مختلف به‌طور همزمان مورد بررسی قرار گیرد. همچنین استفاده از شدت‌های مختلف تمرین هوازی در دوره‌های تمرینی طولانی‌تر نیز می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری در خصوص اثر تمرین بر این متغیرها حاصل نماید. همچنین می‌توان اشاره کرد که در تحقیقات تجربی و آزمایشگاهی، استفاده از مدل‌های حیوانی محدودیت‌هایی مثل ویژگی‌های جسمانی (گونه، نژاد و سن)، عوامل محیطی (نور، دما، رطوبت) کنترل غذایی (مکمل‌ها، داروها، تغذیه) و کنترل فعالیت (مدت، شدت، استراحت) در اختیار محقق بود؛ اما عواملی مثل تغییرات فیزیولوژیکی احتمالی در محیط آزمایشگاه، در کنترل محقق نبود.

پلاسمایی، انسولین خون و شاخص مقاومت به انسولین آزمودنی‌ها کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند (41). با توجه به نتایج تحقیق اخیر و تحقیق حاضر، می‌توان گفت در تمرینات طولانی مدت چند هفته‌ای به دلیل ایجاد یک‌سری سازگاری‌های خاص سطوح آپلین افزایش پیدا می‌کند اما در تمرینات تک جلسه‌ای نیاز است که برای پاسخ به افزایش فشار خون، افزایش قدرت انقباض پذیری قلب از طریق بالا رفتن سطوح آپلین صورت بگیرد. در نهایت باید گفت تغییرات آپلین به شدت فعالیت ورزشی، مدت زمان فعالیت ورزشی، سطح آمادگی بدنی و شاخص‌های فیزیولوژیک آزمودنی‌ها تغذیه بستگی دارد و احتمالاً برنامه تمرینی و مصرف سیاه‌دانه در تحقیق حاضر، توانسته است به‌عنوان یک عامل تحریکی در افزایش آپلین مؤثر باشد. به هر حال، نتایج این تحقیق برای اولین بار نشان داد که مصرف همزمان سیاه دانه به همراه ورزش، اثر بهتری نسبت به هر دوی ورزش و مصرف سیاه دانه به تنهایی دارد که آن را از سایر تحقیقات موجود متمایز می‌کند. زیرا تاکنون تحقیقی که در این زمینه انجام شود یافت نشد و این اولین تحقیقی است که در این زمینه انجام می‌گیرد. در نهایت با توجه به فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره سیاه دانه و ورزش هوازی می‌توان با توصیه به

## References:

1. Esteghamati A, Eskandari D, Mirmiranpour H, Noshad S, Mousavizadeh M, Hedayati M, et al. Effects of metformin on markers of oxidative stress and antioxidant reserve in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Clin Nutr* 2013; 32(2): 179-85.
2. Shahbazian H, Shahbazian H, Roshan pajoh, F. Survey The Prevalence of nephropathy in Early Diagnosis of type 2 diabetes in patients of diabetes clinic of Ahvaz. *Jundishapur Univ Med Sci* 2006; 3(50): 600- 7. (persian)
3. Azizi F, Hatami H, Janghorbani M. *Epidemiology and control of common disorders in Iran*. 2nd ed. Tehran: Khosravi; 2000.P.111-9. (persian)
4. Ahmadi A, Hasanzadeh J, Rahimi MM, Lashgari L. Factors affecting the quality of life in patients with type 2 diabetes Chahar Mahal Bakhtiari. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2011; 3(1): 7-13. (persian)
5. Duexworth W, Abraia C, Reaven T, et al. Glucose Control and Vascular Complications in Veterans with Type 2 Diabetes. *NEJM* 2009; 360:129-39.
6. Shakori K, Davodi B. Response of Blinking in the diagnosis of subclinical cranial nerve neuropathy in patients with type 2 diabetes. *J Tabriz Univ Med Sci* 2003; 63:29-32. (persian)
7. Gomes M, Guilherme VG. Physical exercise and metabolic syndrome. *Rev Bras Med Esporte* 2004; 10:319-24.
8. Peterson MC. Circulating transforming growth factor beta-1 a partial molecular explanation for associations between hypertension, diabetes, obesity, smoking and human disease involving fibrosis. *Med Sci Monit* 2005; 11:229-32.
9. Rajala MW, Scherer PE. The adipocyte at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003; 144:3765-73.
10. Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kadowaki T. Adiponectin receptors: a review of their structure, function and how they work. *Best Res C End Metab* 2014; 28(1):15-23.
11. Daniele G, Mendoza RG, Winnier D, Fiorentino T, Pengou Z, Cornell J, et al. The inflammatory status

- score including IL-6, TNF- $\alpha$ , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Acta diabetologica* 2014;51(1):123-31.
12. Beltowski J. Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity. *Med Sci Monit* 2006; 12:112-9.
  13. Hamzadeh B. The effect of 4 weeks of intense interval training on changes in serum cortisol levels in 14 women Bsktbaltym IGFBP-3 and Iran, *Biological Sciences Sport*, Winter 2013; 5(4): 35-48. (persian)
  14. Boule NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ. Effects of Exercise on Glycemic Control and Body Mass in Type 2 Diabetes Mellitus. *JAMA* 2001;286: 1218-27.
  15. Shehata MI, Ahmed SA, Gomaa RS, Abulmeaty MM. Effect of apelin on insulin resistance, beta cell function and lipid profile in healthy and diabetic rat models. *ZUMJ* 2013; 19: 51-61.
  16. Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE, Tripathi G, Hallschmid M, Patel S, et al. Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinol* 2010; 151(7): 3169-80.
  17. Howarth F, Marzouqi F, Salem Al Saeedi A, Shaul Hameed R, Adegate E. The effect of a heavy exercise program on the distribution of pancreatic hormones in the streptozotocin-induced diabetic rat. *JOP* 2009; 10(5): 485-91.
  18. Pinent M, Castell A, Baiges I, Montagut G, Arola L, Ardevol A. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. *Compr Rev Food Sci F* 2008; 7: 299-308.
  19. Işık H, Cevikbaş A, Gürer US, Kiran B, Uresin Y, Rayaman P, Rayaman E, Gürbüz B, Büyüköztürk S. Potential Adjuvant Effects of *Nigella sativa* Seeds to Improve Specific Immunotherapy in Allergic Rhinitis Patients. *Med Princ Pract* 2010; 19 (3): 206 - 11.
  20. Kim HJ, Park JY, Lyul Oh S, Kim YA, So B, Seong JK, et al. Effect of treadmill exercise on interleukin-15 expression and glucose tolerance in Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes Metab J* 2013; 37: 358-64.
  21. Laghari AQ, Memon S, Nelofar A, Laghari AH. Extraction, identification and antioxidative properties of the flavonoid-rich fractions from leaves and flowers of *cassia angustifolia*. *Am J Anal Chem* 2011; 2: 871-8.
  22. Saber-Tehrani M, Givianrad MH, Azar-Aberoomand P, Waqif-Husain S, Jafari-Mohammadi SA. Chemical composition of Iran's *pistacia atlantica* cold-pressed oil. *J Chem* 2012;20(13): 1-6. (persian)
  23. Salehi surmaghi MH. *Nigella Sativa*. In *Herbal Medicine and Herbal Therapy*, volum 2. Tehran Iran: Donyay Taghziah press; 2008. P. 216-9. (persian)
  24. Soriguer F, Garrido L, Garcia-Serrano S, Garcia-Almeida JM, Garcia-Arnes J, Tinahones FJ, et al. Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obes Surg* 2009; 19(11):1574-80.
  25. Tapan S, Tascilar E, Abaci A, Sonmez A, Kilic S, Erbil MK, et.al. Decreased plasma apelin levels in pubertal obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; 23(10): 1039-46.
  26. Kadoglou NP, Vrabas IS, Kapelouzou A, Lampropoulos S, Sailer N, Kostakis A, et.al. The impact of aerobic exercise training on novel adipokines, apelin and ghrelin, in patients with type 2 diabetes. *Med Sci Monit* 2012; 18(5): 290-5.
  27. Meral C, Tascilar E, Karademir F, Tanju IS, Cekmez F, pcioglu OM, et.al. Elevated Plasma Levels of Apelin in Children with Type 1 Diabetes Mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010. 23 (5): 497-502.
  28. Salehi surmaghi MH. *Nigella Sativa*. In *Herbal Medicine and Herbal Therapy*, volum 2. Tehran: Donyay Taghziah press; 2008. P. 216-9. (persian)

29. Haji Sharifi A. Black Cumin. In *Secretes in Medicinal Plants* (3rd ed). Tehran: Hafez-e-Novin press; 2003.P. 658 - 61. (persian)
30. Yildirim O, Buyukbingol Z. Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of Streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell biochem funct* 2003;21:27-33.
31. Altan MF, Kanter M, Donmez S, Kartal ME, Buyukabs S. Combination therapy of *Nigella sativa* and human parathyroid hormone on bone mass, biomechanical behavior and structure in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Histochem* 2007; 109: 304-14.
32. Martin-Nizard F, Shapaz S, Furman C, Fruchart JC, Duriez P, Billeul F. Natural Phenylpropanoids Protect Endothelial Cells Against Oxidized LDL-Induced Cytotoxicity. *Planta Med* 2003;69:207-11.
33. Jelodar Gholamali A, Maleki M, Motadayen MH, Sirus S. Effect of Fenugreek, Onion and Garlic on Blood Glucose and Histopathology of Pancreas of Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Indian J Med Sci* 2005; 59:64-9.
34. Farah N, Benghuzzi H, Tucci M, Cason Z. The Effects of Isolated Antioxidants from Black Seed on the Cellular Metabolism of A549 Cells. *Biomed Sci Instrum* 2005;41:211-6.
35. Heinonen MV, Laaksonen DE, Karhu T, Karhunen L, Laitinen T, Kainulainen S, et al. Effect of diet-induced weight loss on plasma apelin and cytokine levels in individuals with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovas*. 2009; 19(9): 626-33.
36. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H, Hassar M. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* 2002; 9: 69-74.
37. Kanter M. Effects of *Nigella sativa* seed extract on ameliorating lung tissue damage in rats after experimental pulmonary aspirations. *Acta histochemica* 2009;111(5):393-403.
38. Yang G, Li Q, Tang Y, Yang M, Yang H, and Li K. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006;114:544-8.
39. Malinowski K, Betros CL, and Flora L. Effect of training on age-related changes in plasma insulin and glucose. *Equine Vet J* 2002;34:147-53.
40. Soriguer F, Garrido L, Garcia-Serrano S, Garcia-Almeida JM, Garcia-Arnes J, Tinahones FJ, and Garcia-Fuentes E. Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obes Surg* 2009;19:1574-80.
41. Mohebbi H, Rhmaninia F, Hedayati Emami MH, Saidi Ziabari T. [Effects of 8-week moderate-intensity aerobic training on levels of plasma apelin and insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Sport Physiol* 2014; 5(20): 115-28. (persian)
42. Frosig C, Richter EA. Improved insulin sensitivity after exercise: focus on insulin signaling. *Obesity* 2009;17(S3):S15-S20.
43. Izadi M, Zarifian A, Eghdami A, Khorshidi D, Doeli H. Relationship between cardiovascular risk factors and blood adiponectin in diabetic males. *ISMJ* 2012; 15(2): 101-8. (persian)
44. Kadoglou NP, Fotiadis G, Kapelouzou A, Kostakis A, Liapis CD, Vrabas IS. The differential anti-inflammatory effects of exercise modalities and their association with early carotid atherosclerosis progression in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2013; 30(2): 41-50.
45. Krist J, Wieder K, Klötting N, Oberbach A, Kralisch S, Wiesner T, et.al. Effects of weight loss and exercise on apelin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Obes Facts* 2013; 6(1): 57-69.



## THE EFFECTS OF SEPARATE AND COMBINED EXERCISE AND NIGELLA SUPPLEMENT ON PLASMATIC LEVELS OF APELIN AND GLUCOSE IN TYPE 2 DIABETES MOUSE

Asghar Tofighi<sup>1</sup>, Solmaz Babaei\*<sup>2</sup>

Received: 30 Nov, 2015; Accepted: 30 Feb, 2016

### Abstract

**Background & Aims:** Diabetes is one of the health problems in all societies. Exercise training and drug interventions, especially herbal medicines are considered as effective approaches in improving diabetes. The objective of this study was to investigate the effect of regular aerobic exercise and Nigella supplementation and a combination of both on the Apelin and Glucose in rats with type 2 diabetes.

**Materials & Methods:** Seventy five male Wistar rats were divided into five groups: normal control, diabetic control, diabetes+aerobic training, diabetes+Nigella, diabetes+aerobic training+ Nigella. Diabetes was induced by intra-peritoneal injection of streptozotocin (50mg/kg). Exercise program included 8 weeks of aerobic training on a treadmill (5 sessions per week, 30 minutes per session, with a speed of 22m/min and 5% incline). After 8 weeks of aerobic training and Nigella consumption, plasma glucose and apelin were measured. The data were analyzed via ANOVA and Tukey with a significant level of  $P < 0.05$ .

**Results:** Apelin and glucose index in diabetic control group was significantly higher than normal control group. Also the mean of glucose index in diabetes+ Nigella, diabetes+ training and diabetes+ training+ Nigella groups was significantly lower than diabetic control group. But the mean of Apelin index in diabetes+ training and diabetes+ training+ Nigella groups was significantly higher than diabetic control group. but diabetes+ training group wasn't significantly.

**Conclusion:** It seems that aerobic training along with the use of specific herbal plants can be considered as a complementary therapy in improvement of diabetics.

**Keywords:** Diabetes, Aerobic training, Nigella, Apelin, Glucose

**Address:** Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, Urmia University, Urmia, Iran

**Tel:** +98 9143215066

**Email:** so\_babaei@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016; 27(1): 18 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> Department of exercise physiology, Faculty of Physical Education and sport science, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>2</sup> Phd student of Exercise Physiology, Young Researchers and Elite Club, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran (Corresponding Author)