Complementary Medicine Journal
Arak University of Medical Sciences

January 2022. Vol 11. Issue 4

Research Paper

Effect of aerobic exercise combined with saffron extract supplementation on serum levels of tumor necrosis factor-α and C-reactive protein in rats following an aerobic exercise until exhaustion

*Amir Khosravi[1], Parisa Khosravi[2], Saeed Daneshyar[1], Vahid Valipour Dehnou[3]

1. Department of Physical Education and Exercise Science, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Borujerdi University, Borujerd, Iran.
2. Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, Iran.
3. Department of Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Khosravi A, Khosravi P, Daneshyar S, Valipour Dehnou V. [Interactive Effect of Aerobic Exercise With Saffron Extract on Serum, Tumor Necrosis Factor-α and C-reactive Protein in Rats Following an Aerobic Exercise Until Exhaustion (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2022; 11(4):358-371. https://doi.org/10.32598/cmja.11.4.1121.1

https://doi.org/10.32598/cmja.11.4.1121.1

CC BY NC

Article Info:
Received: 09 Nov 2021
Accepted: 09 Apr 2022
Available Online: 01 Jan 2022

Keywords:
Aerobic exercise, Exhaustion, C-Reactive Protein, Tumor Necrosis Factor-alpha, Crocus extract

ABSTRACT

Objective Aerobic exercise and Saffron has beneficial effects on inflammatory response. The present study aims to investigate the effect of aerobic exercise combined with saffron extract supplementation on serum levels of Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α) and C-Reactive Protein (CRP) in rats following an aerobic exercise until exhaustion

Methods This is an experimental study. Forty eight Wistar male rats were assigned into four groups: control (C), supplementation) SE), training (AT), and training+supplementation (AT+SE). Aerobic exercise was performed for 8 weeks (five sessions a week). supplementation was done by administrating 100 mg/kg/day saffron extract by oral gavage. At the end of experiment, half of the rats was killed immediately before exhaustion and the remaining immediately after performing an acute aerobic exercise until exhaustion by running on the treadmill. Serum CRP and TNF-α levels were measured by ELISA method. The data were analyzed using one-way ANOVA, considering the significance level of $P< 0.05$.

Results Following an exhausting exercise, serum levels of CRP and TNF-α in the AT+SE group significantly lower than in groups C (P_{CRP} = 0.001; $P_{TNF-α}$=0.001), SE (P_{CRP}=0.001; $P_{TNF-α}$=0.001) and AT (P_{CRP}= 0.021; $P_{TNF-α}$ =0.046). These markers in the AT group significantly lower than in groups C (P_{CRP}=0.004; $P_{TNF-α}$=0.039) and SE (P_{CRP}= 0.014; $P_{TNF-α}$=0.043). There was no significant difference between the other groups.

Conclusion Aerobic exercise alone and in combination with the use of saffron extract may reduce the inflammatory responses following an exhausting exercise.

Extended Abstract

Introduction

Numerous studies have reported that serum Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-α) and C-Reactive Protein (CRP) levels increase significantly after high-intensity aerobic exercise [5, 6]. The inflammatory response has either harmful or protective effects. For preventing or reducing the negative effects of inflammatory response the negative feedback system should be activated. In this regard, one of the methods is the use of nonsteroidal anti-

* *Corresponding Author:*
Amir khosravi, PhD
Address: Department of Physical Education and Exercise Science, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Borujerdi University, Khoramabad, Iran.
Tel: +98 (916) 8606234
E-mail: stu_khosravi1@yahoo.com

inflammatory drugs (NSAIDs) [4]. However, long-term use of these drugs has side effects.

Nowadays, the use of anti-inflammatory natural supplements to prevent or reduce the negative effects of inflammatory responses have been considered by researchers. Saffron contains anti-inflammatory and antioxidant compounds (crocin, crocetin and safranal) [13]. Tajik et al. [14] showed that consumption of saffron extract (40 mg per day) combined with resistance training significantly reduced the serum CRP of the subjects [15].

Due to the scant and inconsistent research in the field of supplementation by saffron extract on inflammatory responses, the question that still arises is "Can saffron extract supplementation prevent the occurrence of inflammatory responses caused by high-intensity aerobic exercise or at least reduce its adverse effects? In this regard, the present study aims to investigate the combined effect of an aerobic exercise program and consumption of saffron extract on CRP and TNF-α serum levels in rats following an acute aerobic exercise until exhaustion.

Methods

All rats, after matching for weight, were randomly divided into four groups of 12: Control (without training +2 ml distilled water), supplementation (without training +100 mg saffron extract), training (aerobic exercise +2 ml distilled water), and supplementation and training (aerobic exercise +100 mg saffron extract + 2 ml distilled water). The rats in training and combined groups ran on a treadmill with a zero-degree slope for eight weeks, five sessions per week (From Saturday to Wednesday). At the beginning and end of each training session, the rats ran at a speed of 16.66 m/min for 5 minutes to warm up or cool down in each stage [18]. Rats in control and supplementation groups ran at a speed of 16.66-20 m/min on a treadmill with a zero-degree slope simultaneously with other two groups at the eighth week of training program (one week before exhaustion) for one week, 5 consecutive days per week, one session per day (5-15 minutes) [18]. At the end of the eighth week, after 72 hours of rest, half of rats in all four groups (6 from each group, total=24 rats) were randomly selected and operated after anesthesia. The remaining rats (24 rats) were exhausted and immediately anesthetized and underwent open thoracic surgery by experienced specialists and blood samples were collected from their left ventricle. Concentrations of TNF-α and CRP were determined quantitatively using ELISA method. Collected data were analyzed in SPSS v.16 using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test. The significance level was set at 0.05.

Results

According to the results of one-way ANOVA presented in Table 1, although serum levels of CRP and TNF-α in all groups increased significantly after exhaustion (P<0.05), their levels in combined group were signifi-

Table 1. One-way ANOVA results for TNF-α and CRP

Variable	Group	Mean±SD		P*		
		Before exhaustion	After exhaustion	Withing-group	Between-group before exhaustion	Between-group after exhaustion
TNF-α (pg/dl)	C	28.6±2.3	51.2±5.9	0.001*	0.93	0.038
	SE	27.2±2.1	46.4±4.3	0.001		
	AT	27.8±1.9	43.5±3.8	0.001		
	SE AT+	26.3±2.5	37.2±3.5	0.001		
CRP (ng/mL)	C	125.6±10.5	250.4±18.7	0.001	0.84	0.024
	SE	120.2±11.6	237.5±20.1	0.001		
	AT	116.7±9.4	188.5±19.6	0.001		
	SE AT+	110±12.1	141.9±11.5	0.001		

Complementary Medicine Journal
Arak University of Medical Sciences

C= control, SE= supplementation, AT= training, SE +AT= supplementation + training. * Significant compared to before exhaustion (p<0.05).

cantly lower than in control (P= 0.001 for TNF-α and CRP), supplementation (P= 0.001 for TNF-α and CRP), and training (P= 0.046 for TNF-α, P= 0.021 for CRP) groups. Moreover, these indices were significantly lower in the training group compared to control (P= 0.039 for TNF-α, P= 0.004 for CRP) and supplementation (P= 0.043 for TNF-α, P= 0.014 for CRP) groups. There was no significant difference between the other groups.

Discussion

Although consumption of saffron extract by aerobic athletes involved in exhausting activities can not prevent from the increase in inflammatory markers, it may reduce inflammatory responses and their adverse effects.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This article is taken from a research project with registration code 15664-166374 which has been registered in the University of Grand Ayatollah Boroujerdi (Code: IR-ABRUH-1397380210-1)

Funding

Grand Ayatollah Boroujerdi University has been the sponsor of this research projec.

Authors' contributions

All authors have participated in the design, implementation and writing of sections of the present study.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

This study was extracted from a research project (registered code: 166374- 15664) approved by Ayatollah Boroujerdi University. The authors would like to thank the university for their financial support.

مقاله پژوهشی

تأثیر تعاملی یک دوره تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران بر پروتئین واکنش‌گر C و TNF- α سرم موش‌های صحرایی متعاقب فعالیت هوازی حاد وامانده‌ساز

*امیر خسروی[۱]، پریسا خسروی[۲]، سعید دانشیار[۱]، وحید ولی‌پور دهنو[۳]

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت‌الله العظمی بروجردی (ره)، بروجرد، ایران
۲. گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۳. گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۸ آبان ۱۴۰۰
تاریخ پذیرش: ۲۰ فروردین ۱۴۰۱
تاریخ انتشار: ۱۱ دی ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:
ورزش، وامانده‌ساز، پروتئین واکنش‌گر C، فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا، زعفران، عصاره

چکیده

هدف تمرینات هوازی و زعفران تأثیرات مفیدی بر واکنش‌های التهابی دارند. تحقیق حاضر به منظور تعیین اثر تعاملی یک دوره تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران بر پروتئین واکنش‌گر C و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا سرم موش‌های صحرایی متعاقب فعالیت هوازی حاد وامانده‌ساز انجام شد.

روش‌ها در این مطالعه تجربی، ۴۸ سر رَت نژاد ویستار به صورت تصادفی به چهار گروه مساوی: کنترلواکنش‌گر C، عصاره زعفران، تمرین هوازی و تمرین هوازی + عصاره زعفران تقسیم شدند. تمرین هوازی به مدت هشت هفته (پنج روز در هفته) انجام شد. عصاره زعفران روزانه صد میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ خوراکی استفاده شد. در پایان تحقیق نیمی از موش‌ها بلافاصله پیش و نیمی دیگر بلافاصله پس از وامانده شدن روی نوار گردان، قربانی شدند. میزان واکنش‌گر C و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا سرم با استفاده از روش الایزا سنجیده شدند. داده‌ها با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه در سطح معناداری ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها نتایج نشان داد اگرچه متعاقب وامانده‌سازی میزان واکنش‌گر C و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا سرم تمام گروه‌ها به‌طور معناداری افزایش یافت (P>۰/۰۵)، با این وجود سطوح سرمی CRP و TNF-α در گروه AT+SE به‌طور معناداری از گروه C (P=۰/۰۰۱ P_{CRP}=۰/۰۰۱، $P_{TNF-\alpha}$=۰/۰۰۱)- گروه SE (P=۰/۰۰۱ P_{CRP}، P=۰/۰۴۶ $P_{TNF-\alpha}$) و گروه AT (P=۰/۰۲۱ P_{CRP}) کمتر بود. همچنین این شاخص‌ها در گروه AT در مقایسه با گروه C (P=۰/۰۳۹ $P_{TNF-\alpha}$، P=۰/۰۰۴ P_{CRP}) و گروه SE (P=۰/۰۴۳ $P_{TNF-\alpha}$، P=۰/۰۱۴ P_{CRP})، به‌طور معناداری کمتر بود. بین سایر گروه‌ها تفاوت معنادار وجود نداشت.

نتیجه‌گیری به نظر می‌رسد تمرین هوازی به‌تنهایی و توأم با مصرف عصاره زعفران منجر به کاهش واکنش‌های التهابی متعاقب یک وهله فعالیت وامانده‌ساز می‌شود.

مقدمه

فعالیت‌های ورزشی منظم، نقش چشمگیری در تقویت سیستم ایمنی بدن دارند [۱]. با وجود این، فعالیت‌های ورزشی با شدت بالا یا طولانی‌مدت ممکن است دستگاه ایمنی فرد را با اختلال مواجه کرده و به التهاب حاد یا مزمن منجر شوند [۲]. در طی این‌گونه فعالیت‌ها سطوح شاخص‌های التهابی به‌طور معناداری افزایش می‌یابند [۳].

یکی از این شاخص‌های التهابی، عامل نکروزدهنده تومور آلفا[1] است. عامل نکروزدهنده تومور آلفا به عنوان یک سایتوکاین التهابی کلیدی عمل می‌کند که در شرایط التهاب توسط سلول‌های ایمنی (مونوسیت، ماکروفاژ و سلول‌های کشنده طبیعی[2])، سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های ذخیره‌کننده چربی، تولید شده و با تحریک فعالیت سلول‌کشی سلول‌های کشنده طبیعی، رها کردن پروتئین‌های فاز حاد و افزایش بیان مولکول‌های چسبان سلولی، نقش مهمی در فرایند التهاب ایفا می‌کند [۴]. یکی دیگر

1. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α)
2. Natural killer Cells

* نویسنده مسئول:
دکتر امیر خسروی
نشانی: بروجرد، دانشگاه آیت‌الله العظمی بروجردی (ره)، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی،
تلفن: ۸۶۰۶۲۳۴ (۹۱۶) ۹۸+
رایانامه: Stu_khosravi1@yahoo.com

از شاخص‌های التهابی پروتئین واکنش‌گر-C[3] است. پروتئین واکنش‌گر C، واکنشگر مرحله حاد است که عموماً به عنوان نشانگر التهاب سیستمیک استفاده می‌شود. پروتئین واکنش گر C، به‌طور عمده توسط سلول‌های کبدی، لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها تولید می‌شود [۴].

در تحقیقات متعددی گزارش شده که متعاقب تمرینات هوازی با شدت بالا عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش گر C سرم به‌طور معناداری نسبت به پیش از فعالیت افزایش می‌یابد [۵، ۶]. پاسخ التهابی گاهی اوقات مضر بوده و گاهی اوقات اثرات حفاظتی دارد. التهاب از طریق حذف پاتوژن‌ها، پاکسازی بقایای آسیب‌دیده سلولی وکمک به ترمیم و سازگاری سلولی اثر مفید خود را اعمال می‌کند و نهایتاً منجر به برقراری مجدد هموستاز در بدن میزبان می‌شود [۷].

از سویی، سایتوکاین‌های التهابی می‌توانند اثر مخربی به همراه داشته باشند، ازجمله افزایش احتمال آسیب‌دیدگی، سرکوب دستگاه ایمنی، درد، تأثیر منفی بر عملکرد و متابولیسم، نقش کلیدی در ایجاد سندرم خستگی مزمن و سندرم بیش تمرینی و در کل اختلال در هموستاز [۸].

راهکار جلوگیری یا کاهش اثرات منفی واکنش‌های التهابی عبارت‌اند از: فعال‌سازی سیستم‌های بازخورد منفی که شامل افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی، کاهش تعداد یا حساسیت گیرنده‌های سایتوکاین‌ها، مهار آبشارهای سیگنالی، مهار گیرنده‌های مربوط به میانجی‌های التهابی و فعال‌سازی سلول‌های تنظیم‌کننده است [۴]. یکی از این راهکارهای مؤثر فعال‌سازی سیستم‌های بازخورد منفی از طریق مصرف داروهای غیراستروئیدی ضدالتهابی[4] است [۹].

مصرف این داروها جهت جلوگیری از اثرات منفی یادشده واکنش‌های التهابی، بین ورزشکاران و به‌خصوص ورزشکاران استقامتی رواج دارد [۱۰]، اما ثابت شده که مصرف طولانی‌مدت این قبیل داروها با اثرات نامطلوبی، مثل حالت تهوع، استفراغ، اسهال، یبوست و کم‌آبی بدن، کاهش اشتها، خارش، سردرد، خواب‌آلودگی، مشکلات معده و روده، نارسایی کلیه، نارسایی کبد، زخم معده، خون‌ریزی طولانی‌مدت، ادم، مخصوصاً تورم زانو و اثرات نامطلوب قلبی عروقی همراه است [۱۰]. همچنین در افرادی که به مصرف داروهای غیراستروئیدی ضدالتهابی حساسیت دارند، ممکن است علائم آسم و آلرژی بروز کند [۱۱].

امروزه با توجه به اثرات نامطلوب مصرف داروهای ضدالتهابی و از سویی علاقه‌مندی ورزشکاران به مصرف مکمل‌های ضدالتهابی با منشأ طبیعی و عملکرد مؤثرتر این مکمل‌های طبیعی در جلوگیری یا تقلیل اثرات مخرب واکنش‌های التهابی در مقایسه با داروهای ضدالتهابی سنتزی، سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و قیمت مناسب، مکمل‌های طبیعی به عنوان جایگزین‌های شایسته برای داروهای صناعی، همواره مورد بحث بوده و اخیراً به‌طور خاص مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند [۱۲].

زعفران[5] یکی از گران‌بهاترین ادویه‌جات محسوب می‌شود. این گیاه متعلق به خانواده زنبق است که به‌طور گسترده‌ای علاوه بر ایران در کشورهای حاشیه دریای مدیترانه از اسپانیا، فرانسه و یونان تا چین و هند کاشته می‌شود. تولید سالیانه زعفران در جهان حدوداً ۲۵۰ تن است که بیش از ۸۰ درصد آن در ایران برداشت می‌شود [۱۳].

مواد مؤثر اصلی زعفران کروسین، کروستین و سافرانال در زعفران وجود دارد که هرکدام به ترتیب مسئول رنگ، مزه و بوی زعفران هستند [۱۳]. این گیاه در طب سنتی به عنوان تسهیل‌کننده هضم غذا، اشتهاآور، آرام‌بخش، معرق، خلط‌آور و درمان‌کننده اختلالات کبد و کیسه صفرا، اسپاسم، کرامپ، التهاب مخاط بینی، آسم، برونشیت، تب، استفراغ، سرماخوردگی، اختلالات قلبی-عروقی و سرطان به کار رفته است [۱۴]. همچنین گزارش شده که زعفران خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد [۱۴].

در خصوص اثر زعفران یا ترکیبات مؤثره آن بر التهاب مطالعات بسیار محدودی انجام شده است. تاجیک و همکاران در تحقیقی عنوان کردند که تمرین مقاومتی به مدت دوازده هفته به همراه مصرف عصاره زعفران به میزان چهل میلی‌گرم در روز میزان پروتئین واکنش‌گر-C را به‌طور معناداری در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌دهد [۱۵].

عجمان و همکاران نیز در تحقیقی با بررسی اثر عصاره زعفران بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱[6] و میزان پروتئین واکنش‌گر C سرم زنان جوان سالم پس از یک جلسه تمرین مقاومتی حاد عنوان کردند که چهار هفته مصرف عصاره زعفران (سی میلی‌گرم در روز) به همراه تمرین مقاومتی حاد، بر پروتئین واکنش‌گر C تأثیر نداشته، اما میزان پاراکسوناز-۱ را به‌طور معناداری افزایش داد [۱۶].

اکبری و همکاران در تحقیق گزارش کردند که مصرف هشت هفته‌ای عصاره زعفران (پنجاه میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) در موش‌های ویستار موجب شد میزان اینترلوکین ۶[7] و مالون‌دی‌آلدئید آزمودنی‌های گروه مصرف‌کننده در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری متعاقب فعالیت هوازی وامانده‌ساز کمتر افزایش یابد [۱۷].

3. C-Reactive Protein (CRP)
4. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAID)
5. Crocus Sativus
6. Paraoxonase 1 (PON1)
7. Interleukin 6 (IL-6)

با بررسی تحقیقات انجام‌شده در زمینه اثر عصاره زعفران بر واکنش‌های التهابی می‌توان عنوان کرد که تحقیقات معدودی در این زمینه انجام شده، بخشی با استفاده از آزمودنی‌های انسانی بوده‌اند [۱۵، ۱۶] که در مرحله اجرا متغیرهای مزاحم، ازجمله تغذیه، سطوح آمادگی پیش از تمرین و غیره که در کسب نتیجه مؤثرند، کنترل نشده‌اند. همچنین نتایج حاصل از این تحقیقات نیز ناهمسو هستند، در بعضی تحقیقات اثرات کاهنده بر التهاب داشته [۱۵] و در بعضی موارد بدون تأثیر [۱۶] گزارش شده است.

بنابراین از آنجا که انجام تمرینات ورزشی شدید، احتمالاً با توسعه استرس اکسایشی و التهاب همراه است و موجب بروز آسیب بافتی، به‌خصوص در عضلات اسکلتی و کاهش عملکرد جسمانی در افراد فعال می‌شود و مصرف برخی مکمل‌ها و مواد ضداکسایشی و ضدالتهابی می‌تواند رهایش این عوامل را محدود کرده و از آسیب‌ها و مشکلات بعدی تولید آن‌ها در ورزشکاران جلوگیری کند. از سویی، عصاره زعفران با داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی به عنوان یک داروی طبیعی شناخته شده و این احتمال وجود دارد که مصرف عصاره زعفران در جلوگیری از اثرات مخرب تمرینات سنگین ناشی از وقوع التهاب در ورزشکاران مفید باشد.

با توجه به تحقیقات اندک و ناهمسو در زمینه مکمل‌یاری عصاره زعفران بر واکنش‌های التهابی ناشی از فعالیت‌های ورزشی هنوز این سؤال مطرح است که آیا مکمل‌یاری عصاره زعفران می‌تواند از بروز واکنش‌های التهابی ناشی از انجام فعالیت‌های ورزشی هوازی با شدت بالا جلوگیری کرده یا دست کم باعث کاهش اثرات نامطلوب آن شود؟ از این رو، مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر تعاملی یک دوره تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران بر پروتئین واکنش‌گر C و عامل نکروزدهنده تومور آلفای سرم موش‌های صحرایی متعاقب فعالیت هوازی حاد واماندهساز بود.

مواد و روش‌ها

نمونه ها

پژوهش حاضر به روش مطالعه تجربی شصت سر موش صحرایی نر هشت هفته‌ای با وزن تقریبی ۲۴۰-۲۰۰ انجام شد. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معناداری پنج درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵ درصد (خطای نوع دوم) و با استفاده از نسخه ۱۸/۲/۱ نرم‌افزار Medcalc (دوازده موش در هر گروه) تعیین شد. موش‌ها از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی لرستان تهیه شدند.

برای نگهداری موش‌های صحرایی از قفس‌های جنس پلی کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو استفاده شد. برای جذب ادرار و مدفوع حیوانات و راحتی آن‌ها از تراشه و بریده‌های چوب استریل استفاده شد. یک روز در میان شست‌وشوی قفس‌ها انجام و تراشه‌های چوب نیز تعویض شد. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد کنترل و ثبت شد. چرخه روشنایی تاریکی نیز هر دوازده ساعت یک‌بار به‌طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

طی دوره پژوهش، موش‌ها به آب و غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی دسترسی آزادانه داشتند. یک هفته پس از انتقال موش‌ها به محیط آزمایشگاهی موش‌ها غربالگری شدند و ۴۸ سر موش صحرایی با وزن تقریبی ۸±۲۱۲ گرم موش‌های که معیارهای ورود به تحقیق را که شامل توانایی دویدن با سرعت ۱۶/۶ متر بر دقیقه و به مدت پنج دقیقه روی تردمیل (تردمیل دوازده کاناله TURBO T310 ساخت کره) نر بودن، سلامت کامل (از لحاظ آسیب‌دیدگی ظاهری و مشکل آناتومیکی) و عدم استفاده در تحقیقات گذشته بود، انتخاب شدند.

همچنین معیار خروج از مطالعه، آسیب‌دیدگی یا مرگ در خلال دوره تحقیق، عدم توانایی در اجرای کامل پروتکل تمرینی و عدم تحمل لوله گاواژ به دلیل مشکلات آناتومیکی و غیره و مؤنث بودن بود. تمام موش‌ها پس از همسان‌سازی در وزن به صورت تصادفی به چهار گروه (هر گروه دوازده سر موش) C: گروه کنترل (بدون تمرین + دو میلی‌لیتر آب مقطر)، عصاره زعفران: گروه عصاره (بدون تمرین + صد میلی‌گرم عصاره آبی زعفران+دو میلی‌لیتر آب مقطر)، AT: گروه تمرین (هشت هفته تمرین استقامتی + دو میلی‌لیتر آب مقطر) تمرین هوازی+عصاره زعفران: گروه ترکیبی، تمرین + عصاره (هشت هفته تمرین استقامتی + صد میلی گرم عصاره زعفران + دو میلی‌لیتر آب مقطر) تقسیم شدند.

گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی+عصاره زعفران به مدت هشت هفته، پنج جلسه تمرین در هفته (روزهای پنج‌شنبه و جمعه تمرین انجام نمی‌شد)، روی نوار گردان (شیب صفر درجه) دویدند. در جدول شماره ۱، جزئیات پروتکل تمرینی ارائه شده است. در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرین موش‌ها جهت گرم و سرد کردن در هر مرحله به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۶/۶۶ متر بر دقیقه می‌دویدند [۱۸].

همچنین موش‌های گروه‌های C و عصاره زعفران همزمان با برنامه تمرینی هفته هشتم دو گروه دیگر (یک هفته پیش از وامانده شدن) به مدت یک هفته، پنج روز متوالی هفته و هر روز یک جلسه (بین پنج تا پانزده دقیقه) با سرعت ۱۶/۶ تا ۲۰ متر بر دقیقه روی تردمیل با شیب صفر درصد دویدند [۱۸]. در انتهای هفته هشتم تحقیق متعاقب ۷۲ ساعت استراحت پس از آخرین جلسه تمرین نیمی از موش‌های هر چهار گروه (هر گروه شش سر و در مجموع ۲۴ سر موش) به‌طور تصادفی ساده انتخاب و

پس از بیهوشی جراحی شدند و نیم دیگر باقی‌مانده از موش‌های تمام گروه‌ها وامانده شده (هر گروه شش سر و در مجموع ۲۴ سر موش) و بلافاصله بیهوش سپس جراحی شدند.

وامانده‌سازی بدین شکل بود که ابتدا به مدت سه تا پنج دقیقه با سرعت هشت متر در دقیقه موش‌ها روی تردمیل دویدند و سپس سرعت نوار گردان هر دقیقه، دو متر بر دقیقه افزایش یافت تا سرعت به بیست متر بر دقیقه رسید. در این مرحله، موش‌ها به مدت پنج دقیقه دویده و سپس سرعت نوار گردان به ۲۵ متر در دقیقه افزایش یافت. در این مرحله نیز به مدت ده دقیقه دویدند. در انتها سرعت نوار گردان به سی متر در دقیقه افزایش یافت و این سرعت تا زمان رسیدن آزمودنی به واماندگی حفظ شد. این پروتکل فزاینده وامانده‌ساز با توجه به هزینه انرژی طراحی شده و شدت آن در زمان واماده شدن تقریباً ۷۰ تا ۹۴ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود [۱۹]. زمانی که موش‌ها در هر مرحله از وامانده‌سازی سه بار به شوک الکتریکی تعبیه‌شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی‌دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی می‌ماندند، وامانده محسوب شده و بلافاصله جراحی می‌شدند [۱۹].

نحوه تهیه و خوراندن عصاره آبی زعفران بدین شکل بود که کلاله خشک زعفران[8] خوراکی معروف به زعفران پوشالی قائنات تهیه شد. سپس برای آماده کردن عصاره آبی زعفران از روش خیساندن[9] استفاده شد. به این ترتیب که پس از ریختن کلاله خشک‌شده زعفران در داخل ظرف شیشه‌ای استوانه‌ای (بشر) به ازای هر یک گرم کلاله زعفران، ده میلی‌لیتر آب مقطر به ظروف اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای سی درجه سانتی‌گراد روی دستگاه چرخاننده به آرامی مخلوط شد تا استخراج به خوبی صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا شد تا عصاره اولیه به دست آید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلأ شده و در دمای هشتاد درجه سانتی‌گراد حلال آن‌ها به آرامی تبخیر شد و عصاره تغلیظ‌شده به دست آمد. محلول حاصل به مدت دو هفته در دستگاه بن‌ماری با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا حلال عصاره نیز به آرامی تبخیر شده و پودر عصاره به جا بماند [۲۰].

پودر عصاره‌ها تا زمان استفاده در فریزر و در دمای منفی بیست درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. موش‌های گروه عصاره و گروه ترکیبی تمرین + عصاره زعفران را به میزان صد میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دو میلی‌لیتر آب مقطر حل شده، روزانه یک وهله رأس ساعت هشت صبح و هفت روز هفته به مدت هشت هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. هم‌زمان به موش‌های گروه دارونما و گروه تمرین نیز روزانه به همان میزان دو میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان حلال عصاره زعفران گاواژ شد [۲۱].

در انتهای پروتکل هشت هفته‌ای پژوهش وزن حیوانات از طریق ترازوی دیجیتالی ۰/۰۱ (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد. بدین شکل که وزن همه موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت قبل از جراحی از طریق این نوع ترازو اندازه‌گیری و ثبت شد.

طرز تهیه سرم و سنجش فاکتورهای التهابی

جهت اندازه‌گیری میزان عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر C تمام موش‌ها در دو مرحله قربانی شدند. مرحله اول (بلافاصله پیش از وامانده‌سازی)، در انتهای هشت هفته تمرین متعاقب ۷۲ ساعت عدم فعالیت ورزشی نیمی از موش‌ها (هر گروه شش سر و درمجموع ۲۴ سر موش) مرحله دوم؛ در انتهای هشت هفته تمرین متعاقب ۷۲ ساعت عدم فعالیت ورزشی نیم باقی‌مانده دیگر پس از وامانده‌سازی با داروی دی اتیل اتر بیهوش شدند (بیهوشی با استفاده از محفظه شیشه‌ای دردار محتوی پنبه آغشته به دی اتیل اتر انجام شد که پس از گذشت سه تا پنج دقیقه حیوان در بیهوشی مناسب قرار می‌گرفت).

سپس توسط متخصصین کارآزموده، جراحی قفسه سینه انجام و خون‌گیری از بطن چپ انجام گرفته و سپس نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با سرعت چهار هزار دور در دقیقه و به مدت پانزده دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و سرم آن جدا شد. نمونه‌های سرم برای مرحله بعدی پژوهش در دمای منفی ۷۰ درجه نگهداری شد.

غلظت عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر C به روش کمّی و با استفاده از روش الایزا با استفاده از کیت‌های تجاری الایزا (USA, Assaypro co, RAT Eliza Kit) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده تعیین شد. ضریب تغییرات برون آزمونی و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب برای کیتواکنش‌گر C ۶/۸ درصد و ۰/۰۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر و برای عامل نکروزدهنده تومور آلفا ۴/۶ درصد و بیست پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود. هر اندازه‌گیری دوبار انجام شد.

روش تجزیه وتحلیل اطلاعات

از آمار توصیفی برای تعیین شاخص‌های مرکزی (میانگین) و پراکندگی (انحراف معیار) استفاده شد. پس از تأیید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنف[10] داده‌های خام توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی[11] در سطح معناداری P≤۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شد.

8. Crocus Sativus L
9. Maceration Method
10. Kolmogorov–Smirnov Test
11. Tukey's Test

یافته‌ها

جدول شماره ۲، میانگین±انحراف معیار، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی وزن و زمان وامانده شدن گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج موجود در این جدول بین مقادیر وزن، آزمودنی‌ها، در پیش‌آزمون گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معناداری وجود ندارد (P<۰/۰۵). با وجود این، در پس‌آزمون (انتهای تحقیق) این اختلاف مشاهده شد (P<۰/۰۵). همچنین میانگین وزن تمام گروه‌ها، در پس‌آزمون (انتهای تحقیق) نسبت به پیش آزمون (ابتدای تحقیق) به‌طور معناداری افزایش یافت که با توجه به افزایش سن موش‌های جوان، طبیعی بود (P<۰/۰۵).

بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی که در جدول شماره ۲ ارائه شده است، میانگین وزنی گروه AT+SE در مقایسه با گروه SE (P=۰/۰۱۸) و گروه C (P=۰/۰۰۱) همچنین گروه AT در مقایسه با گروه SE (P=۰/۰۲۱) و گروه C (P=۰/۰۱۳) به طور معناداری کمتر بود. بین میانگین وزنی سایر گروه‌ها اختلاف معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

همچنین بر اساس نتایج موجود در جدول شماره ۲ اختلاف معناداری بین زمان وامانده شدن گروه‌های مختلف وجود دارد (۰/۰۵ >P). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی که در این جدول ارائه شده است میانگین زمان وامانده شدن گروه گروه تمرین هوازی+عصاره زعفران در مقایسه با گروه C (P=۰/۰۰۱)، گروه عصاره زعفران (P=۰/۰۰۱)، گروه تمرین هوازی (P=۰/۰۳۱) و در گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه C (P=۰/۰۰۱) و گروه SE (P=۰/۰۰۱) به‌طور معناداری بیشتر بود. بین میانگین زمان وامانده شدن سایر گروه‌ها اختلاف معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول شماره ۳، میانگین±انحراف معیار، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر C گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج موجود در این جدول بین مقادیر عامل نکروزدهنده تومور آلفای سرم گروه‌های مختلف در پیش از وامانده‌سازی (در حالت استراحت پس از دوره هشت هفته‌ای تحقیق) اختلاف معناداری وجود ندارد (P>۰/۰۵). با وجود این، پس از وامانده‌سازی این اختلاف مشاهده شد (P<۰/۰۵).

بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه که در جدول شماره ۳ ارائه شده است، متعاقب یک وهله فعالیت وامانده‌ساز هوازی نسبت به پیش از وامانده‌سازی عامل نکروزدهنده تومور آلفای سرم موش‌های تمام گروه‌ها [(P=۰/۰۰۱) C، (P=۰/۰۰۱) تمرین هوازی، (P=۰/۰۰۶) تمرین هوازی و (P=۰/۰۱۲) تمرین هوازی+عصاره زعفران] به‌طور معناداری افزایش نشان داد. بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی که در جدول شماره ۳ ارائه شده است، متعاقب وامانده‌سازی میزان عامل نکروزدهنده تومور آلفای گروه تمرین هوازی+عصاره زعفران در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معناداری کمتر بود (P<۰/۰۵). همچنین میزان عامل نکروزدهنده تومور آلفا سرم گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه‌های عصاره زعفران (P=۰/۰۴۳) و C (P=۰/۰۳۹) به‌طور معناداری کمتر بود. از سویی بین میزان عامل نکروزدهنده تومور آلفا سرم گروه‌های عصاره زعفران و C تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۰۸۸). تصویر شماره ۱ نتایج آزمون توکی در در بررسی اختلاف عامل نکروزدهنده تومور آلفای سرم بین گروه‌ها را نشان داده شده است.

جدول ۱. برنامه تمرینی گروه‌های مختلف طی دوره هشت هفته‌ای

گروه		تعداد جلسات تمرین در هفته	مدت هر جلسه تمرین بر حسب دقیقه	سرعت بر حسب متر بر دقیقه
گروه‌های C و عصاره زعفران	یک هفته آشنایی با دویدن روی تردمیل هم‌زمان با هفته هشتم گروه‌های C و عصاره زعفران	۵ جلسه	۵ تا ۲۵	۱۶/۶ تا ۲۰
گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی+عصاره زعفران	هفته اول	۵ جلسه	۲۵	۲۰
	هفته دوم	۵ جلسه	۳۰	۲۰
	هفته سوم	۵ جلسه	۳۵	۲۱/۶۶
	هفته چهارم	۵ جلسه	۴۰	۲۱/۶۶
	هفته پنجم	۵ جلسه	۴۵	۲۳/۳۲
	هفته ششم	۵ جلسه	۵۰	۲۳/۳۲
	هفته هفتم	۵ جلسه	۵۵	۲۴/۹۸
	هفته هشتم	۵ جلسه	۶۰	۲۴/۹۸

جدول ۲. نتایج تحلیل آزمون آنووای تک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی درون و بین‌گروهی وزن و زمان واماندەسازی آزمودنی‌ها

متغیر	گروه	میانگین±انحراف معیار		سطح معناداری درون گروهی	سطح معناداری بین گروهی پیش‌آزمون	سطح معناداری بین گروهی پس‌آزمون
		پیش‌آزمون	پس‌آزمون			
وزن (گرم)	C	۲۱۴/۱±۸/۳	۲۹۳/۶±۱۹/۶	۰/۰۰۱*	۰/۹۲	۰/۰۰۱۴*
	عصاره زعفران	۲۱۶/۱±۸/۹	۲۸۲/۹±۱۶/۶	۰/۰۰۱*		
	تمرین هوازی	۲۱۳/۹±۹/۵	۲۵۰/۳±۱۱/۴	۰/۰۰۱*		
	تمرین هوازی+عصاره زعفران	۲۱۱/۴±۷/۱	۲۴۳/۲±۹/۵	۰/۰۰۱*		
زمان واماندە شدن (دقیقه)	C	–	۱۸/۵±۸/۵	–	–	۰/۰۲۱*
	عصاره زعفران	–	۲۴/۳±۵/۶	–		
	تمرین هوازی	–	۷۰/۵±۱۰/۶	–		
	تمرین هوازی+عصاره زعفران	–	۸۳/۹±۱۴/۱	–		

متغیر	گروه		سطح معناداری بین‌گروهی پس‌آزمون
وزن	تمرین هوازی+عصاره زعفران	تمرین هوازی	۰/۸۹
		عصاره زعفران	۰/۰۱۸#
		C	۰/۰۰۱#
	تمرین هوازی	عصاره زعفران	۰/۰۲۱#
		C	۰/۰۱۳#
	عصاره زعفران	C	۰/۹۲
زمان واماندە شدن	تمرین هوازی+عصاره زعفران	تمرین هوازی	۰/۰۳۱#
		عصاره زعفران	۰/۰۰۱#
		C	۰/۰۰۱#
	تمرین هوازی	عصاره زعفران	۰/۰۰۱#
		C	۰/۰۰۱#
	عصاره زعفران	C	۰/۰۱۱#

*نشانه تفاوت معنادار نسبت به پیش‌آزمون P<۰/۵۰ # نشانه تفاوت معنادار بین‌گروهی P<۰/۵۰.

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

از دیگر نتایج پژوهش حاضر که در جدول شماره ۳ ارائه شده، نشان می‌دهد بین مقادیر پروتئین واکنش‌گر-Cسرم گروه‌های مختلف در پیش از واماندەسازی (در حالت استراحت پس از دوره هشت هفته‌ای تحقیق) اختلاف معناداری وجود ندارد (P>۰/۰۵). با وجود این، پس از واماندەسازی این اختلاف مشاهده شد (۰۵/ P<۰).

همچنین بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه که در این جدول ارائه شده است، متعاقب یک وهله فعالیت واماندەساز هوازی نسبت به پیش از واماندەسازی پروتئین واکنش‌گر C سرم موش‌های تمام گروه‌ها [(P=۰/۰۰۱) C، (P=۰/۰۰۱) تمرین هوازی، (P=۰/۰۰۱) TA، (P=۰/۰۰۱) تمرین هوازی+عصاره زعفران] به‌طور معناداری افزایش نشان داد.

بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی که در جدول شماره ۳ ارائه شده، متعاقب واماندەسازی میزان پروتئین واکنش‌گر C گروه SE+AT در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معناداری کمتر بود (۰۵/ P<۰). همچنین میزان پروتئین واکنش‌گر C سرم گروه AT در مقایسه با گروه‌های C (P=۰/۰۰۴) و SE (P=۰/۰۱۴) و به‌طور معناداری کمتر بود. از سویی بین میزان پروتئین واکنش‌گر C

جدول ۳. نتایج تحلیل آزمون آنووای تک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی درون و بین‌گروهی عامل نکروزدهنده تومور و واکنش‌گر-C

متغیر	گروه	میانگین±انحراف معیار			سطح معناداری بین‌گروهی پیش از واماندەسازی	سطح معناداری بین‌گروهی پس از واماندەسازی
		پیش از واماندەسازی	پس از واماندەسازی	سطح معناداری درون‌گروهی		
عامل نکروزدهنده تومور آلفا (پیکوگرم در دسی‌لیتر)	C	۲۸/۶±۲/۳	۵۱/۲±۵/۹	۰/۰۰۱*	۰/۹۳	۰/۰۳۸*
	عصاره زعفران	۲۷/۲±۲/۱	۴۶/۴±۴/۳	۰/۰۰۱*		
	تمرین هوازی	۲۷/۸±۱/۹	۴۳/۵±۳/۸	۰/۰۰۶*		
	تمرین هوازی+عصاره زعفران	۲۶/۳±۲/۵	۳۷/۲±۳/۵	۰/۰۱۲*		
واکنش‌گر-C (نانوگرم در میلی‌لیتر)	C	۱۲۵/۶±۱۰/۵	۲۵۰/۴±۱۸/۷	۰/۰۰۱*	۰/۸۴	۰/۰۲۴*
	عصاره زعفران	۱۲۰/۲±۱۱/۶	۲۳۷/۵±۲۰/۱	۰/۰۰۱*		
	تمرین هوازی	۱۱۶/۷±۹/۴	۱۸۸/۵±۱۹/۶	۰/۰۰۱*		
	تمرین هوازی+عصاره زعفران	۱۱۰±۱۲/۱	۱۴۱/۹±۱۱/۵	۰/۰۰۱*		

متغیر	گروه		سطح معناداری بین‌گروهی
عامل نکروزدهنده تومور آلفا	تمرین هوازی+عصاره زعفران	تمرین هوازی	۰/۰۴۶#
		عصاره زعفران	۰/۰۰۱#
		C	۰/۰۰۱#
	تمرین هوازی	عصاره زعفران	۰/۰۴۳#
		C	۰/۰۳۹#
	عصاره زعفران	C	۰/۰۸۸
واکنش‌گر-C	تمرین هوازی+عصاره زعفران	تمرین هوازی	۰/۰۲۱#
		عصاره زعفران	۰/۰۰۱#
		C	۰/۰۰۱#
	تمرین هوازی	عصاره زعفران	۰/۰۱۴#
		C	۰/۰۰۴#
	عصاره زعفران	C	۰/۰۹۱

*نشانه تفاوت معنادار نسبت به پیش از واماندەسازی P<۰/۵۰. #نشانه تفاوت معنادار بین‌گروهی P<۰/۵۰.

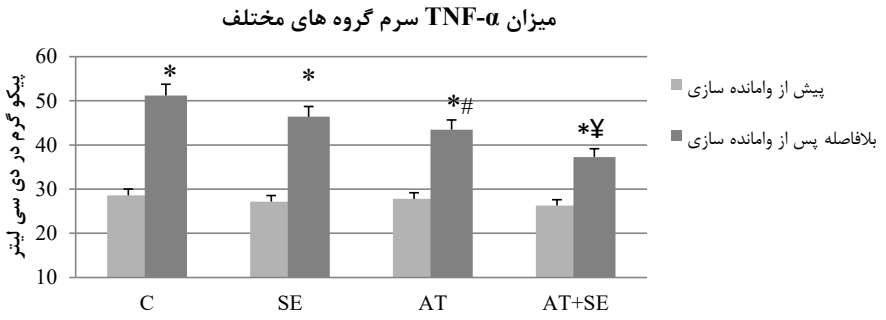
مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

سرم گروه‌های عصاره زعفران و C تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۰۹۱). تصویر شماره ۲ نتایج آزمون توکی در بررسی اختلاف پروتئین واکنش‌گر C سرم بین گروه‌ها را نشان داده شده است.

بحث

نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر نشان داد که یک وهله فعالیت واماندەساز هوازی باعث افزایش معنادار غلظت عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر -C سرمی تمام گروه‌ها شد. با وجود این، میزان این شاخص‌ها در گروه توأم تمرین هوازی + عصاره زعفران در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معناداری افزایش کمتری داشت. همچنین میزان شاخص‌های یادشده در گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه‌های کنترل و عصاره زعفران کمتر بود.

نتایج پژوهش حاضر در خصوص افزایش غلظت عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر -Cسرم متعاقب یک وهله فعالیت واماندەساز هوازی همسو با نتایج تحقیق، دوناتو و



تصویر ۱. تغییرات عامل نکروزدهنده تومور آلفا سرم گروه‌های مختلف، C: کنترل، عصاره زعفران: گروه عصاره، تمرین هوازی: گروه تمرین، تمرین هوازی+عصاره زعفران: گروه ترکیبی تمرین+عصاره) در خلال دو مرحله اندازه‌گیری پیش و بلافاصله پس از واماندەسازی

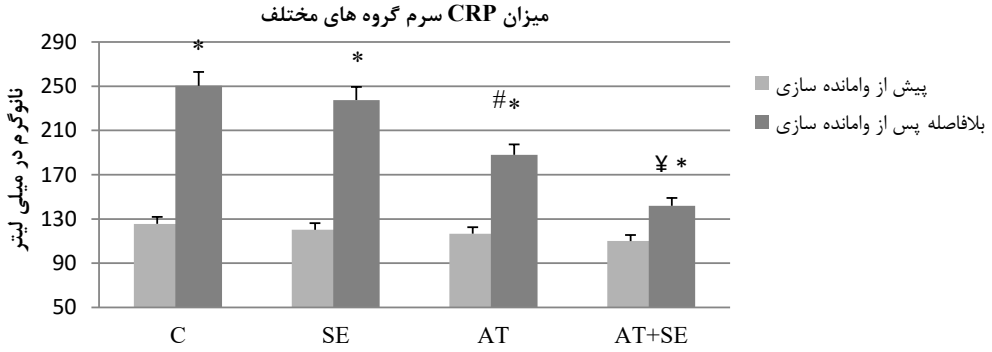
*نشانه تفاوت معنادار نسبت به پیش از واماندەسازی P<۰/۵۰. # نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه‌های PL و عصاره زعفران P<۰/۵۰. ¥ نشانه تفاوت معنادار نسبت به سایر گروه‌ها P<۰/۵۰.

همکاران و همچنین نتو و همکاران است [۵، ۶]. دوناتو و همکاران در تحقیقی گزارش کردند متعاقب یک وهله فعالیت واماندەساز مقادیر اینترلوکین ۶ و پروتئین واکنش‌گر C سرم موش‌ها به‌طور معناداری افزایش می‌یابد [۵].

همچنین نتو و همکاران متعاقب یک وهله فعالیت واماندەساز افزایش معنادار IL-6 و پروتئین واکنش‌گر C عضله و بافت چربی موش‌ها را گزارش کردند [۶]. فعالیت‌های هوازی واماندەساز به عنوان یک عامل فشارآفرین جسمانی با اعمال فشار مکانیکی-متابولیکی، تجمع کلسیم درون سلولی (تشدید فرایند پروتئولیز) و حتی با افزایش فشار اکسایشی ناشی از انفجار نوتروفیلی (افزایش پراکسیداسیون فسفولیپیدهای غشایی) باعث فعال‌سازی عامل هسته‌ای کاپایی و پیامدهای بعدی آن، یعنی بروز التهاب (آغاز آبشار واسطه‌های التهابی) می‌شود [۲۲].

از دیگر عوامل مؤثر بر رهایش شاخص‌های التهابی در سرم می‌توان به آسیب عضلانی، تحریک دستگاه عصبی سمپاتیکی و به دنبال آن کاهش ذخایر گلیکوژن عضلانی اشاره کرد [۲۲]. همچنین افزایش سطوح کاتکولامین‌ها و کورتیکواستروئیدها در فعالیت‌های شدید از یک طرف با تأثیر بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک سلول‌های کبدی باعث افزایش سنتز IL-6 و به ترتیب منجر به ترشح عامل نکروزدهنده تومور آلفا، IL-1 و پروتئین واکنش‌گر C شده [۲۳] و از طرف دیگر با فراخوانی لکوسیت‌ها به محل آسیب‌دیده منجر به لکوسیتوز شده که خود آغازگر آبشاری از واکنش‌های التهابی است [۲۲].

به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر، شدت فعالیت از طریق سازوکار پارگی و آسیب عضلانی در سطح سارکومری و تغییرات هورمونی، ازجمله افزایش آدرنالین و کورتیزول و آسیب‌های اکسیداتیو باعث افزایش عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین



تصویر ۲. تغییرات میزان پروتئین واکنش‌گر C سرم گروه‌های مختلف، C: کنترل، عصاره زعفران: گروه عصاره، عصاره، تمرین هوازی: گروه تمرین، تمرین هوازی+عصاره زعفران: گروه توأم تمرین + عصاره در خلال دو مرحله اندازه‌گیری پیش و بلافاصله پس از واماندەسازی

*نشانه تفاوت معنادار نسبت به پیش از واماندەسازی P<۰/۵۰. # نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه‌های یک و دو P<۰/۵۰. ¥ نشانه تفاوت معنادار نسبت به سایر گروه‌ها P<۰/۵۰.

واکنش‌گر C سرمی شده است. محققین عوامل مختلفی برای کاستن شاخص‌های التهابی معرفی کرده‌اند که می‌تواند تا حدودی تعدیل‌کننده این آبشار التهابی باشد، ازجمله روش‌های پیشنهادی استفاده از گیاهان دارویی ضدالتهابی است.

در مهم‌ترین یافته تحقیق حاضر مشخص شد که متعاقب وامانده‌سازی میزان عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر C سرم گروه توأم تمرین هوازی + عصاره زعفران نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معناداری کمتر بود. دلایل افزایش شاخص‌های التهابی در بخش قبلی ذکر شد؛ بنابراین هر آزمایشی که بتواند بر این عوامل تأثیرگذار باشد، می‌تواند بر التهاب نیز مؤثر باشد. با توجه به ترکیبات عصاره زعفران احتمالاً این عصاره از دو طریق عمده منجر به تعدیل شاخص‌های التهابی اندازه‌گیری شده در تحقیق جاری شده است.

اولین مسیر تأثیر مستقیم بر پیش‌سازهای تحریک‌کننده واکنش‌های التهابی است. بدین صورت که عصاره زعفران کموتاکسی لوکوسیت‌ها و مونوسیت‌های خون را که در التهاب نقش کلیدی دارند، کاهش می‌دهد [۲۴]. به علاوه عصاره زعفران تأثیر بلوکه‌کننده بر سیکلواکسیژناز[12] ۱ و ۲ دارد [۲۴].

همچنین کروسین و کروستین موجود در زعفران فعال‌سازی عامل هسته‌ای کاپایی NF-kB که باعث افزایش رونویسی از ژن‌های سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود را مهار می‌کند [۱۴]. مصرف عصاره زعفران با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما از طریق افزایش بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (افزایش غلظت فاکتور هسته‌ای اریتروئید ۲ مرتبط با فاکتور ۲[13]) و تقویت سیستم دفاع ضداکسایش غیرآنزیمی [۱۴]، همچنین جمع‌کنندگی مستقیم رادیکال‌های آزاد، به روش اکسیده شدن فلاونوئیدها توسط رادیکال‌های آزاد، قابلیت به دام اندازی یون فریک (جلوگیری از واکنش هابر ویس توسط فلاونوئیدها)، قابلیت مسدودکنندگی فلاونوئیدها بر تولید نیترید اکساید و اکساتین اکسیداز از یک سو باعث تقلیل اثرات تخریبی استرس اکسایش ناشی از فعالیت‌های وامانده‌سازی و درنتیجه کاهش برانگیخته شدن آبشار التهابی و تقلیل رهایش عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر C می‌شود و از طرفی رونویسی از ژن‌های شاخص‌های التهابی را که توسط گونه‌های اکسیژنی فعال تحریک می‌شوند، تقلیل می‌دهد [۲۵].

یکی دیگر از مسیرهای مهمی که در خلال تمرینات وامانده‌ساز منجر به تحریک سایتوکاین‌ها و رهایش آن‌ها در سرم می‌شود، ایسکمی-خون‌رسانی مجدد ۲۲ است. فلاونوئیدهای موجود در عصاره زعفران در خلال این رخداد با کاهش تعداد لکوسیت‌های ساکن، التهاب را کاهش می‌دهند [۲۵]؛ بنابراین ترکیبات موجود در عصاره زعفران از یک سو به‌طور مستقیم موجب تقلیل واکنش‌های التهابی می‌شود و از سویی با تأثیر کاهنده بر استرس اکسیداتیو، فشار اکسایشی ناشی از رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و از آسیب ماکرومولکول‌ها، ازجمله پروتئین‌ها، غشای لیپیدها، دی‌ان‌ای عضلانی جلوگیری می‌کند؛ بنابراین تأثیر مطلوبی در کاهش تولید سایتوکاین‌های التهابی دارند که در تحقیق حاضر نیز در گروه توأم تمرین هوازی + عصاره زعفران این کاهش دیده شد.

نتایج این بخش از تحقیق با نتایج تحقیقات نصری و همکاران و اکبری و همکاران که اثرات ضدالتهابی زعفران را گزارش کردند، همسو است [۱۷، ۲۶]. اکبری و همکاران در تحقیقی گزارش کردند مصرف هشت هفته‌ای عصاره زعفران (پنجاه میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) در موش‌های ویستار موجب شد میزان اینترلوکین ۶ و مالون‌دی‌آلدئید آزمودنی‌های گروه مصرف‌کننده در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری متعاقب فعالیت هوازی وامانده‌ساز کمتر افزایش یابد [۱۷].

نصری و همکاران نیز در تحقیقی با بررسی اثر ضدالتهابی زعفران (با تزریق فرمالین) و ترکیبات مؤثره آن در موش‌های نر کوچک عنوان کردند عصاره زعفران (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) التهاب را به ترتیب ۳۰، ۶۶ و ۸۰ درصد مهار می‌کند، اما سافرانال و کروسین در این مورد اثری ندارند [۲۶].

نکته قابل ذکر در خصوص نتایج حاصل از تحقیق حاضر این است که مصرف عصاره زعفران نتوانست از افزایش معنادار شاخص‌های التهابی متعاقب وامانده سازی جلوگیری کند که احتمالا ناشی از این موضوع است که مسیرهای متعددی درگیر در تحریک واکنش‌های التهابی هستند که عصاره زعفران نمی‌تواند بر آن‌ها تأثیرگذار باشد، ازجمله اعمال فشار مکانیکی و آسیب‌های ناشی از آن، همچنین فشارهای متابولیکی، ازجمله کاهش ذخایر گلیکوژن عضلانی، از سویی تحریک دستگاه عصبی سمپاتیکی و تجمع کلسیم درون سلولی (تشدید فرایند پروتئولیز) [۲۷].

از سویی مزایای واکنش‌های حاد التهابی را در برقراری هموستاز و نقش مثبت واکنش‌های التهابی در سازگاری‌های سلولی نسبت به ورزش [۲۷] باید مدنظر داشت که بلوکه کردن کامل واکنش‌های التهابی را از لحاظ علمی به‌طور کامل زیر سؤال می‌برد؛ بنابراین جلوگیری نکردن از افزایش عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر C-سرمی را در گروه ترکیبی تمرین عصاره در تحقیق حاضر نمی‌توان یک عامل منفی در نظر گرفت. هرچند که در تحقیق حاضر شاخص های مرتبط با استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری نشد که به‌طور حتم در مورد تأثیرات آنتی‌اکسیدانی عصاره زعفران ابراز نظر کرد. این مورد یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر بود و بر اساس تحقیقات پیشین به اثر آنتی‌اکسیدانی زعفران اشاره شد.

12. Cyclooxyyenuse (cox)
13. Nuclear Factor-erythroid 2–related Factor 2

از سویی با توجه به اینکه متعاقب وامانده‌سازی عامل نکروزدهنده تومور آلفا و پروتئین واکنش‌گر C سرمی گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل و گروه عصاره زعفران تغییر معنادار کمتری داشت، می‌توان عنوان کرد که هشت هفته تمرین هوازی در کسب نتایج حاصل از گروه توأم تمرین هوازی + عصاره زعفران مؤثر است. فعالیت‌های هوازی منظم به دلایلی متنوعی منجر به تقلیل واکنش‌های التهابی در خلال فعالیت‌های وامانده‌ساز می‌شوند که می‌توان به برخی از آن‌ها، ازجمله کاهش وزن و لپتین، افزایش آدینوپوکتین و حساسیت انسولینی [۲] کاهش تولید سیتوکین‌ها از بافت‌های غیر از بافت چربی مثل عضلات اسکلتی و سلول‌های منو نوکلئر[14]، بهبود عملکرد سلول‌های اندوتلیال، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی [۲]-افزایش سطوح سایتوکاین ضدالتهابی، ازجمله اینترلوکین ۱۰ اشاره کرد [۲] .

این تحقیق محدودیت‌هایی داشت که عبارت‌اند از: مطالعه روی نمونه‌های حیوانی، عدم اندازه‌گیری سایر شاخص‌های التهابی و ضدالتهابی و شاخص‌های استرس اکسایش و ضداکسایش بود که می‌توانست در مشخص کردن دقیق مسیرهای ضدالتهابی عصاره زعفران مؤثر باشد. توصیه می‌شود با دُزهای متفاوت عصاره زعفران و سایر عصاره‌های گیاهی ضدالتهابی همراه با شدت‌های تمرینی مختلف تحقیقات آتی انجام شود. همچنین در پژوهش‌های آینده زمان نمونه‌برداری و سایر شاخص‌های التهاب و ضدالتهابی اندازه‌گیری شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که یک دوره فعالیت هوازی به تنهایی و توأم با مصرف عصاره زعفران موجب تقلیل شاخص‌های التهابی ناشی از فعالیت وامانده‌ساز هوازی می‌شود. با وجود این، عصاره زعفران به تنهایی تأثیر معناداری در تقلیل واکنش‌های التهابی ناشی از فعالیت وامانده‌ساز هوازی ندارد. این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف عصاره زعفران توسط ورزشکاران رشته‌های هوازی درگیر در فعالیت‌های وامانده‌ساز گرچه نمی‌تواند از افزایش معناداری شاخص‌های التهابی جلوگیری کند، احتمالاً موجب تقلیل واکنش‌های التهابی و درنتیجه کاهش اثرات نامطلوب ناشی از واکنش‌های التهابی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله برگرفته از طرح پژوهش با کد ثبتی 15664-166374 که در دانشگاه آیت‌الله العظمی بروجردی (ره) به ثبت رسیده است (کد اخلاق به شماره IR-ABRUH-1397380210-1)

14. Mononuclear Cell

حامی مالی

دانشگاه آیت‌الله العظمی بروجردی (ره) به عنوان حامی مالی طرح این پژوهش بوده است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مسئولین دانشگاه آیت‌الله العظمی بروجردی (ره) به دلیل تأمین مالی این طرح و از ورزشکارانی که در انجام این طرح به عنوان آزمودنی همکاری کردند، سپاس‌گزاری می‌کنند.

References

[1] Archer T, Fredriksson A, Schütz E, Kostrzewa RM. Influence of physical exercise on neuroimmunological functioning and health: Aging and stress. Neurotoxicity Research. 2011; 20(1):69-83. [DOI:10.1007/s12640-010-9224-9] [PMID]

[2] Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: Mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nature Reviews Immunology. 2011; 11(9):607-15. [DOI:10.1038/nri3041] [PMID]

[3] Moein A, Zarghami Khameneh A. [The effect of silymarin supplementation on the serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein following a single bout of aerobic exercise in healthy men (Persian). Daneshvar Medicine. 2018; 25(134):39-50. http://daneshvarmed.shahed.ac.ir/article_1825.html?lang=en

[4] Pournot H, Bieuzen F, Louis J, Mounier R, Fillard JR, Barbiche E, et al. Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multi exposures following severe exercise. PloS One. 2011; 6(7):e22748. [DOI:10.1371/journal.pone.0022748] [PMID] [PMCID]

[5] Donatto FF, Prestes J, Frollini AB, Palanch AC, Verlengia R, Cavaglieri CR.- Effect of oat bran on time to exhaustion, glycogen content and serum cytokine profile following exhaustive exercise. Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2010; 7:32. [DOI:10.1186/1550-2783-7-32] [PMID] [PMCID]

[6] Rosa Neto JC, Lira FS, Oyama LM, Zanchi NE, Yamashita AS, Batista ML Jr, et al. Exhaustive exercise causes an anti-inflammatory effect in skeletal muscle and a pro-inflammatory effect in adipose tissue in rats. European Journal of Applied Physiology. 2009; 106(5):697-704. [DOI:10.1007/s00421-009-1070-1] [PMID]

[7] Ghasemi H. Roles of IL-6 in ocular inflammation: A review. Ocular Immunology and Inflammation. 2018; 26(1):37-50. [PMID]

[8] Mikkelsen U, Couppe C, Karlsen A, Grosset J, Schjerling P, Mackey A, et al. Life-long endurance exercise in humans: Circulating levels of inflammatory markers and leg muscle size. Mechanisms of Ageing and Development. 2013; 134(11-12):531-40. [DOI:10.1016/j.mad.2013.11.004] [PMID]

[9] Woods JA, Wilund KR, Martin SA, Kistler BM. Exercise, inflammation and aging. Aging and Disease. 2012; 3(1):130-40. [PMID]

[10] Huang HY, Appel LJ, Croft KD, Miller ER 3rd, Mori TA, Puddey IB. Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: Results of a randomized controlled trial. The American Journal of Clinical Nutrition. 2002; 76(3):549-55. [PMID]

[11] Cotugna N, Vickery CE, McBee S. Sports nutrition for young athletes. The Journal of School Nursing. 2005; 21(6):323-8. [DOI:10.1177/10598405050210060401] [PMID]

[12] Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitecki S, et al. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: Studies in atherosclerotic mice and in humans. Drugs Under Experimental and Clinical Research. 2002; 28(2-3):49-62. [PMID]

[13] Fotoohi A, Moloudi MR, Hosseini S, Hassanzadeh K, Feligioni M, Izadpanah E. A novel pharmacological protective role for safranal in an animal model of huntington's disease. Neurochemical Research. 2021; 46(6):1372-9. [DOI:10.1007/s11064-021-03271-8] [PMID]

[14] Milajerdi A, Mahmoudi M. [Review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to nervous system, cardiovascular and gastrointestinal diseases (Persian)]. Clinical Excellence. 2014; 3(1):108-27. http://ce.mazums.ac.ir/article-1-139-en.html

[15] Tajik A, Zirahian F, Shahabi H, Kalani F. [Effects of exercise training and saffron extract on some of the predictors of cardiovascular diseases (Persian)]. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2017; 25(9):690-700. http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-4161-en.html

[16] Ajam M, Afzalpour MI, Abtahi H, Saghebjou M. [The effect of saffron extract consumption on the serum Paraoxonase-1 (PON1) enzyme activity and C - Reactive Protein (CRP) in healthy young women following a session of acute resistance training (Persian)]. Sport Physiology & Management Investigations. 2015; 7(1):97-111. http://www.sportrc.ir/article_66150.html?lang=en

[17] Akbari-Fakhrabadi M, Najafi M, Mortazavian S, Rasouli M, Memari AH, Shidfar F. Effect of saffron (Crocus sativus L.) and endurance training on mitochondrial biogenesis, endurance capacity, inflammation, antioxidant, and metabolic biomarkers in Wistar rats. Journal of Food Biochemistry. 2019; 43(8):e12946. [DOI:10.1111/jfbc.12946] [PMID]

[18] Mirzaei B, Khosravi A, Rasoulian B, Mehrabani J. [Comparing the effects of acute exhaustive exercise on cardiac troponin T serum and malondialdehyde of heart tissue response levels of endurance trained young rats (Persian)]. Journal of Sport and Biomotor Sciences. 2013; 5(9):16-24. http://journals.hsu.ac.ir/sbs/article-1-177-en.html

[19] Belviranlı M, Gökbel H, Okudan N, Büyükbaş S. Effects of grape seed polyphenols on oxidative damage in liver tissue of acutely and chronically exercised rats. Phytotherapy Research. 2013; 27(5):672-7. [DOI:10.1002/ptr.4772] [PMID]

[20] Singh J. Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. In: Swami Handa S, Preet S, Khanuja S, Longo G, Rakesh DD, editors. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Trieste: International Centre for Science and High Technology; 2008. https://www.unido.org/sites/default/files/2009-10/Extraction_technologies_for_medicinal_and_aromatic_plants_0.pdf

[21] Rameshrad M, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Saffron and its derivatives, crocin, crocetin and safranal: A patent review. Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2018; 28(2):147-65. [PMID]

[22] Cerqueira É, Marinho DA, Neiva HP, Lourenço O. Inflammatory effects of high and moderate intensity exercise-A systematic review. Frontiers in Physiology. 2020; 10:1550. [PMID]

[23] Bijeh N, Hosseini SA, Hejazi K. The effect of aerobic exercise on serum C-reactive protein and leptin levels in untrained middle-aged women. Iranian Journal of Public Health. 2012; 41(9):36-41. [PMID]

[24] Zeinali M, Zirak MR, Rezaee SA, Karimi G, Hosseinzadeh H. Immunoregulatory and anti-inflammatory properties of Crocus sativus (Saffron) and its main active constituents: A review. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2019; 22(4):334-44. [PMID]

[25] Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MC, Rahu N. Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? Oxidative Medicine and cellular Longevity. 2016; 2016:7432797. [DOI:10.1155/2016/7432797] [PMID] [PMCID]

[26] Nasri S, Hosseini SY, Sahraei H, Zardouz H.[Inhibition of pain and inflamation induced by formalin in male mice by ethanolic extract of saffron (crocus sativus) and its constituents; crocin and safranal (Persian)]. Kowsar Medical Journal. 2011; 15(4):189-95. https://www.sid.ir/fa/journal/ViewPaper.aspx?ID=116245

[27] Gleeson M. Immune function in sport and exercise. Journal of Applied Physiology. 2007; 103(2):693-9. [DOI:10.1152/japplphysiol.00008.2007] [PMID]