Research Paper

Effects of Aerobic Exercise and Tribulus Terrestris Extract on Some Indicators of Oxidative Stress and Apoptosis in Lung Tissue of Male Rats Poisoned with Hydrogen Peroxide

Ali Rasouli Fooshazdeh[1], *Bahram Abedi[2], Hasan Matinhomaee[1], Parvin Farzanegi[3]

1. Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Mahallat Branch, Islamic Azad University, Mahallat, Iran.
3. Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Citation: Rasouli Fooshazdeh A, Abedi B, Matinhomaee H, Farzanegi P. [The Effect of Aerobic Exercise and Tribulus Terrestris Extract on Some Indicators of Oxidative Stress and Apoptosis in Lung Tissue of Male Rats Poisoning with Hydrogen Peroxide (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2022; 12(1):84-99. https://doi.org/10.32598/cmja.12.1.1154.1

CC BY NC

Article Info:
Received: 26 Feb 2022
Accepted: 25 Mar 2022
Available Online: 01 Apr 2022

Key words:
Oxidation Stress, Hydrogen peroxide, Aerobic training, Tribulus terrestris

ABSTRACT

Objective Oxidative stress and apoptosis due to hydrogen peroxide poisoning have a major effect on the physiological and pathophysiological mechanisms of the lung. This study aims to evaluate the effect of aerobic exercise and Tribulus terrestris extract on some indicators of oxidative stress and lung tissue apoptosis in poisoned male Wistar rats.

Methods In this experimental study, 49 male rats aged 10-12 weeks were randomly divided into seven groups: Control, Poisoned, Poisoning+ Exercise, Poisoning+ Supplementation 1 (Tribulus terrestris 5 mg/kg), Poisoning+ Supplementation 2 (Tribulus terrestris 10 mg/kg), Poisoning+ Exercise + Supplementation 1, Poisoning+ Exercise+ Supplementation 2. The aerobic exercise program consisted of eight weeks (5 days a week) of running on a treadmill at a speed of 20 meters per minute for 60 minutes per session. Alcoholic extract of Tribulus terrestris at two doses of 5 and 10 mg/kg was administered to the target animals by gavage for eight weeks. Serum levels of oxidative stress markers were measured with special kits, and the expression of apoptotic markers of lung tissue was measured by immunohistochemistry. The study hypotheses were analyzed using two-way analysis of variance and Least Significant Difference post hoc test, considering a significance level of $P<0.05$.

Results Eight weeks of aerobic exercise significantly increased Adenosine Triphosphate (ATP) ($F=19.238$, $P=0.002$, $\eta^2=0.468$) and significantly reduced Cytochrome C concentration ($F=68.970$, $P=0.001$, $\eta^2=0.697$) and Prooxidants-Antioxidant balance (PAB) ($F=12.025$, $P=0.001$, $\eta^2=0.464$), while had no significant effect on malondialdehyde (MDA) ($F=1.067$, $P=0.169$, $\eta^2=0.044$). Both doses of Tribulus terrestris extract significantly reduced PAB ($F=10.118$, $P=0.001$, $\eta^2=0.403$) while its 10 mg/kg dose increased ATP ($F=35.040$, $P=0.001$, $\eta^2=0.701$) and reduced cytochrome C ($F=13.730$, $P=0.004$, $\eta^2=0.417$) and MDA ($F=5.824$, $P=0.002$, $\eta^2=0.372$) concentrations. After receiving 5 and 10 mg/kg doses of Tribulus terrestris extract and eight weeks of aerobic exercise, The expression of Bax protein ($F=54.247$, $P=0.001$, $\eta^2=0.804$; $F=51.201$, $P=0.002$, $\eta^2=0.754$) and Caspase 3 ($F= 49.118$, $P=0.003$, $\eta^2=0.504$; $F=49.001$, $P=0.004$, $\eta^2=0.498$) were significantly reduced while the BCl-2 expression ($F=63.014$, $P=0.001$, $\eta^2=0.815$; $F=50.112$, $P=0.003$, $\eta^2=0.706$) significantly increased. The most changes in the study markers were observed when aerobic exercise was combined with 10 mg/kg of Tribulus terrestris extract supplementation.

Conclusion It seems that 8 weeks of aerobic exercise can reduce the effects of oxidative stress and apoptosis caused by hydrogen peroxide poisoning. However, the effects of Tribulus terrestris extract may be dose-dependent in some cases. Although the combination of aerobic exercise with Tribulus terrestris extract supplementation has better results in controlling oxidative stress enzymes and apoptotic factors, for better results, longer training duration and higher doses of extract are recommended.

Corresponding Author:
Bahram Abedi
Address: Department of Exercise Physiology, Mahallat Branch, Islamic Azad University, Mahallat, Iran.
Tel: +98 (918) 8667662
E-mail: abedi@iaumahallat.ac.ir

Extended Abstract

Introduction

Oxidative stress and apoptosis due to hydrogen peroxide poisoning have a major effect on the physiological and pathophysiological mechanisms of the lung. Regular exercise seems to reduce cellular apoptosis and create protective adaptations against poisoning by reducing free radicals and catecholamine autoxidation [8-10]. The change in the activity of antioxidant enzymes is related to the intensity, duration and type of aerobic exercises. There is also great interest in studying the effect of natural antioxidants in improving athletic performance, recovery and immune system [13]. In this regard, the use of Tribulus terrestris extract can be one of the ways to strengthen the antioxidant defense system [14]. Comprehensive information on the simultaneous use of aerobic exercise and alcoholic extract of Tribulus terrestris is not available. Therefore, this study aims to evaluate the effect of 8 weeks of aerobic exercise and Tribulus terrestris extract supplementation on changes in cytochrome C oxidase, Adenosine Triphosphate (ATP), Malondialdehyde (MDA) and Prooxidants-Antioxidant Balance (PAB), Bax, Bcl-2, and Caspase-3 in lung tissue of male rats poisoned with hydrogen peroxide.

Methods

In this experimental study, 49 male rats aged 10-12 weeks were randomly divided into seven groups: Control, Poisoned, Poisoning+ Exercise, Poisoning+ supplementation 1 (Tribulus terrestris 5 mg/kg), Poisoning+ supplementation 2 (Tribulus terrestris 10 mg/kg), Poisoning+ Exercise+ supplementation 1, Poisoning+ Exercise+ supplementation 2. The aerobic exercise program was for eight weeks (5 days a week) and included running on a treadmill at a speed of 20 meters per minute, 60 minutes for each session. Alcoholic extract of Tribulus terrestris was administered to the target animals at doses of 5 and 10 mg/kg by gavage for eight weeks. The amount of MDA was assessed by ELISA method using special kits (Minneapolis, USA) [19]. TMB cation solution was used to evaluate the PAB due to its electrochemical and optical properties [20]. To quantify the concentration of cytochrome C oxidase, the ELISA kits from COX Company, USA was used, and to measure intracellular ATP, the ELISA kits (KA1661) from Promega Company, USA was used [21,22]. Finally, immunohistochemistry was used to evaluate the expression of Bax, Bcl-2, and Caspase 3 in lung tissue. To determine the concentration of variables, the images were analyzed in ImageJ version 49.1 software and described in an ordinal scale [23]. Independent t-test was used to compare the variables between the two groups. The study hypotheses were analyzed using two-way analysis of variance and Least Significant Difference (LSD) post hoc test, considering a significance level of $P<0.05$.

Results

Induction of oxidative stress by H2O2 caused a significant decrease in ATP and Bcl-2 levels and a significant increase in MDA, cytochrome C, PAB, Bax, and Caspase 3 levels compared to the control group. A summary of the effects of aerobic exercise alone, Tribulus terrestris extract alone and their combined effects on oxidative stress and lung apoptosis markers are presented in Table 1.

Table 1. Changes in lung oxidative markers after induction of hydrogen peroxide poisoning

Variable	Mean±SD		F	Sig.
	Control	Poisoned		
MDA (Pmol/mL)	319.20±12.07	919.07±86.49	141.54	0.004
Cytochrome C (ng/mL)	1.34±0.07	6.19±0.32	620.70	0.002
ATP (µM)	22.31±.73	5.88±0.51	1016.22	0.001
PAB (HK)	46.57±6.69	276.55±8.82	1292.32	0.001
Bax (pg/mL)	398.90±46.20	1343.80±346.22	16.44	0.002
Bcl-2 (mg/mL)	13.65±2.44	4.60±0.83	8.31	0.002
Caspase 3 (ng/mL)	2.72±0.68	9.90±1.82	6.04	0.008

Discussion

It seems that 8 weeks of aerobic exercise can reduce the effects of oxidative stress and apoptosis caused by hydrogen peroxide poisoning. The androgenic effect of Tribulus terrestris extract increases pulmonary protection in rats by altering the expression levels of proteins in the apoptotic signaling pathway. However, the effects of Tribulus terrestris extract may be dose-dependent in some cases. Although the combination of aerobic exercise with Tribulus terrestris extract supplementation has better results in controlling oxidative stress enzymes and pulmonary apoptotic factors, for better results, longer duration and and higher doses should be used. Limitations of this study included the inability to control animal appetite, the use of Wistar rats, possible physiological changes in the laboratory environment, the effect of ketamine on the evaluated indicators, lack of a placebo group, and gavage of animals which can influence the results of the study.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This article has been approved by the Research Assistant of Islamic Azad University, Central Tehran Branch (Code: IR.IAU.PS.REC.1398.322).

Funding

This article was extracted from PhD. dissertation of Mr. Ali Rasouli Foshazadeh in Faculty of Physical Education and Sports Sciences of Islamic Azad University, Central Tehran Branch.

Authors' contributions

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

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank all participants as well as the Shahid Beheshti Medical Sciences Laboratory for their cooperation and support.

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین هوازی و عصاره خارخاسک بر برخی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ریه رت‌های نر مسمومشده با پراکسید هیدروژن

علی رسولی فوشازده[۱]، *بهرام عابدی[۲]، حسن متین همائی[۱]، پروین فرزانگی[۳]

۱. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران.
۳. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۰۷ اسفند ۱۴۰۰
تاریخ پذیرش: ۰۵ فروردین ۱۴۰۱
تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۱

چکیده

هدف استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از مسمومیت پراکسید هیدروژن تأثیر عمده‌ای در مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی ریه دارد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر تمرین هوازی و عصاره خارخاسک بر برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آپوپتوز بافت ریه رت‌های نر نژاد ویستار مسمومشده بود.

روش‌ها در یک طرح تجربی ۴۹ سر موش ۱۰ تا ۱۲ هفته‌ای به‌طور تصادفی در ۷ گروه تقسیم شدند: کنترل، مسمومیت، مسمومیت+ تمرین، مسمومیت+خارخاسک ۱ (۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن)، مسمومیت+خارخاسک ۲ (۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن)، مسمومیت+تمرین+خارخاسک ۱، مسمومیت+تمرین+خارخاسک ۲. برنامه تمرین هوازی شامل ۸ هفته (۵ روز در هفته) دویدن روی نوارگردان با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه بود. عصاره الکلی پس از تهیه با دُزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به حیوانات هدف در طی ۸ هفته به‌صورت گاواژ تجویز شد. مقادیر سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو با کیت‌های ویژه و میزان بیان شاخص‌های آپوپتوزی بافت ریه با روش ایمنوهیستوشیمی اندازه‌گیری شد. فرضیات پژوهش با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوراهه و آزمون تعقیبی LSD در سطح معناداری ۰/۰۵ تحلیل شد.

یافته‌ها ۸ هفته تمرین هوازی باعث افزایش معنادار آدنوزین تری‌فسفات ($F=۱۹/۲۳۸$, $P=۰/۰۰۲$, $\eta^2=۰/۴۶۸$) و کاهش معنادار غلظت سیتوکروم C ($F=۶۸/۹۷۰$, $P=۰/۰۰۱$, $\eta^2=۰/۶۹۷$)، و توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان ($F=۱۲/۰۲۵$, $P=۰/۰۰۱$, $\eta^2=۰/۴۶۴$) ریوی شد. درحالیکه اثر معنی‌داری بر مقادیر مالون دی‌آلدئید ($F=۱/۰۶۷$, $P=۰/۱۶۹$, $\eta^2=۰/۰۴۴$) نداشت. دریافت دو دُز عصاره خارخاسک موجب کاهش معنادار توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان ($F=۱۰/۱۱۸$, $P=۰/۰۰۱$, $\eta^2=۰/۴۰۳$) و دریافت ۱۰ میلی‌گرم آن موجب افزایش آدنوزین تری‌فسفات ($F=۳۵/۰۴۰$, $P=۰/۰۰۱$, $\eta=۰/۷۰۱$) و کاهش معنادار غلظت سیتوکروم C ($F=۱۳/۷۳۰$, $P=۰/۰۰۴$, $\eta^2=۰/۴۱۷$) و مالون دی‌آلدئید ($F=۵/۸۲۴$, $P=۰/۰۰۲$, $\eta^2=۰/۳۷۲$) شد. پس از دریافت خارخاسک و ۸ هفته تمرین هوازی میزان بیان پروئین Bax ($F=۵۴/۲۴۷$, $P=۰/۰۰۱$, $\eta^2=۰/۸۰۴$)، ($F=۵۱/۲۰۱$, $P=۰/۰۰۲$, $\eta^2=۰/۷۴۵$) و کاسپاز ۳ ($F=۴۹/۱۱۸$, $P=۰/۰۰۳$, $\eta^2=۰/۵۰۴$)، ($F=۴۹/۰۰۱$, $P=۰/۰۰۴$, $\eta^2=۰/۴۹۸$) به‌صورت معناداری کاهش یافت، درحالی‌که میزان بیان BCl-2 ($F=۶۳/۰۱۴$, $P=۰/۰۰۱$, $\eta^2=۰/۸۱۵$)، ($F=۵۰/۱۱۲$, $P=۰/۰۰۳$, $\eta^2=۰/۷۰۶$) افزایش یافت. بیشترین تغییرات شاخص‌های ارزیابی‌شده هنگام ترکیب تمرین هوازی با ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک مشاهده شد.

نتیجه‌گیری ظاهراً ۸ هفته تمرین هوازی راهکار مناسبی برای کاهش عوارض استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از مسمومیت با پراکسید هیدروژن است. درعین‌حال اثرات عصاره خارخاسک ممکن است در مواردی وابسته به دُز باشد. علی‌رغم اینکه تعامل تمرین هوازی با خارخاسک نتایج بهتری در کنترل آنزیم‌های استرس اکسیداتیو و عوامل آپوپتوز ریوی دارد، اما برای کسب نتایج بهتر باید از دوره‌های تمرینی طولانی و دُزهای دارویی بیشتر استفاده کرد.

کلیدواژه‌ها:

* **نویسنده مسئول:**
بهرام عابدی
نشانی: محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد محلات، گروه فیزیولوژی ورزش.
تلفن: ۸۶۶۷۶۶۲ (۹۱۸) ۹۸+
پست الکترونیکی: abedi@iaumahallat.ac.ir

مقدمه

یکی از حیطه‌های پژوهشی پرطرفدار در دو دهه اخیر، پژوهش پیرامون میزان استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ایجادشده در بدن بوده است. استرس اکسیداتیو[1] به عدم تعادل وضعیت ردوکس بدن و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی اطلاق می‌شود که طی آن افزایش رادیکال‌های آزاد تأثیر عمده‌ای در مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی ریه دارد [۱]. عامل اصلی آسیب‌های اکسیداتیو گونه‌های فعال اکسیژن[2] است که نقش مهمی در ایجاد سایر گونه‌های فعال، پیشرفت اختلالات پیری و بیماری‌های تحلیل برنده دارند. معمولاً از شاخص‌های مالون دی‌آلدئید[3] به‌عنوان عامل پراکسیداسیون لیپیدی، آدنوزین تری‌فسفات و سیتوکروم سی[4] به‌عنوان عامل حیات سلولی و توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان[5] به‌عنوان عامل توازن اکسایش احیای سلولی جهت اندازه‌گیری فشار اکسیداتیو در بدن استفاده می‌شود. مالون دی‌آلدئید یکی از محصولات عمده تخریب اسیدهای چرب غیراشباع توسط رادیکال‌های هیدروکسیل است [۲]. از طرفی سیتوکروم C که سیگنال‌دهی ردوکس در فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری را کنترل می‌کند، تحت تأثیر مسمومیت‌ها انرژی سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ازاین‌رو، در بدن انسان تعادل بین تولید و حذف گونه‌های واکنشگر اکسیژن تحت عنوان توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان حیاتی است [۳].

از طرفی آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده یک فرایند زیستی فعال برگشت‌پذیر است که در تنظیم تعادل بین رشد و مرگ سلولی بافت‌ها نقش اساسی دارد. این فرایند تحت کنترل ژن‌های مختلف توسط عوامل درون‌سلولی و برون‌سلولی مانند صدمات ناشی از سموم و تشعشعات، فقدان یا کمبود هورمون‌ها، فعال‌سازی مسیر اتصال لیگاند به رسپتور و فعال‌سازی سیستم ایمنی صورت می‌گیرد [۴]. بنابراین آپوپتوز بیش‌ازحد می‌تواند به سندرم ضعف ایمنی بدن (ایدز) و بیماری‌هایی مانند آلزایمر، پارکینسون، انفارکتوس میوکارد و سرطان منجر شود. شواهدی وجود دارد که گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن می‌تواند موجب فعال شدن نابجای روند آپوپتوز و بسیاری از آسیب‌های مرتبط با فشار اکسیداتیو شوند [۵]. در این زمینه H_2O_2 یکی از قوی‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن است که محققان از آن به‌عنوان یک روش شبیه‌ساز استرس اکسیداتیو در بدن استفاده می‌کنند. براساس مطالعات انسانی و حیوانی هیدروژن پراکسید یا آب‌اکسیژنه موجب ایجاد اختلالاتی مانند پراکسیداسیون فسفولیپید، اکسایش تیول و کاهش آلفا توکوفرول در سلول‌های قلبی و ریوی می‌شود [۶].

1. Oxidative stress
2. Reactive Oxygen Species (ROS)
3. MalonDiAldehyde (MDA)
4. Cytochrome c
5. Prooxidant- Antioxidant Balance (PAB)

براین‌اساس، یافتن راه‌های بازیابی تعادل آنتی‌اکسیدانی به‌منظور پیشگیری و درمان بیماری‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

در اکثر پژوهش‌های انسانی و حیوانی از فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان عامل افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطوح پراکسیداسیون لیپیدی نام برده شده است [۷]. به نظر می‌رسد تمرینات منظم ازطریق کاهش گونه‌های فعال اکسیژن، اتواکسیداسیون کاتکولامین‌ها و پیشگیری از رهاسازی سیتوکروم C سبب کاهش آپوپتوز سلولی، افزایش تراکم مویرگی و ایجاد سازگاری‌های حفاظتی در مقابله با مسمومیت‌ها می‌شوند [۸]. در طرف مقابل تمرینات کوتاه‌مدت ازطریق تولید پراکسید هیدروژن موجب افزایش استرس اکسیداتیو عضلانی می‌شوند. این نتایج حاکی از نقش دوگانه فعالیت‌های ورزشی است و پژوهشگران عدم‌تغییر یا کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به‌شدت، مدت و نوع تمرینات هوازی مربوط می‌دانند [۹]. این پژوهشگران در توجیه کاهش میزان آپوپتوز در اثر تمرینات هوازی با شدت متوسط نیز معتقدند که نیتریک اکسید[6]

در غلظت‌های فیزیولوژیکی ازطریق هایپرپلاریزاسیون غشای میتوکندری سیتوکروم اکسیداز را مهار می‌کند. این فعالیت‌های بدنی ازطریق فعال شدن پروتئین PGC1-α باعث افزایش مقاومت میتوکندری‌ها در برابر نفوذپذیری و سیگنالینگ آپوپتوز شده و تولید گونه‌های فعال اکسیژن را سرکوب می‌کنند. همچنین ممکن است پروتئین‌های بقای سلول ازجمله منگنز سوپراکسید دیسموتاز (MnSOD یا SOD2)، NF-Kb، کیناز تنظیم‌شده خارج سلولی، مسیر Akt و پروتئین‌های شوک گرمایی (HSP)[7] ازطریق این تمرینات ارتقا یابد [۱۰].

چگونگی واکنش سیستم ایمنی بدن در هنگام مواجهه با عوامل مختل‌کننده فعالیت‌های آنزیمی، ازجمله سمیت ناشی از H_2O_2 نکته‌ای قابل‌بحث است. بیشتر مطالعات قبلی از پراکسیداسیون لیپیدی به‌عنوان نشانگر آسیب اکسیداتیو متعاقب مداخلات، استفاده کرده‌اند [۱۱]. از طرفی رخدادهای مولکولی آپوپتوز اساساً به واسطه تعادل بین پروتئین‌های تنظیمی پیش و ضدآپوپتوزی مشخص می‌شود. در این بین، پروتئین‌های Bax و Bcl-2 به‌عنوان پروتئین‌های اصلی در شکل‌گیری آپوپتوز مطرح می‌شوند. درواقع پروتئین Bax با کاهش پایداری غشای بیرونی میتوکندری به رهایش عوامل آپوپتوزی، مانند سیتوکروم C از فضای بین‌غشایی و پروتئین Bcl-2 منجر می‌شود و با مخالفت با فعالیت عوامل پیش آپوپتوزی موجب حفظ یکپارچگی این غشا می‌شود [۱۲]. بااین‌حال، فصل مشترک همه مسیرهای آپوپتوزی، فعال‌سازی کاسپاز ۳ و تجزیه پروتئین‌های حیاتی سلول است. کاسپازها، پروتئازهایی هستند که به‌عنوان آغازکننده و اجراکننده فرایند آپوپتیک ایفای نقش می‌کنند. در این شرایط احتمالاً تمرینات

6. NO
7. Heat shock protein

هوازی به‌عنوان عامل بهبوددهنده سیستم ایمنی، عامل سازگاری با سمیت و تعدیلات جبرانی در فاکتورهای اکسیداتیو و آپوپتوز باشد [۱۲، ۱۰]. مرور مطالعات در این زمینه نشان می‌دهد اثر تمرینات هوازی بر وضعیت شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آپوپتوزی مدل‌های حیوانی مسموم‌شده با آب اکسیژنه مشخص نیست. بنابراین براساس چنین رویکردی می‌توان به مطالعه اثرات مصرف پراکسید هیدروژن و تمرینات هوازی بر این فاکتورها پرداخت.

از طرفی در سال‌های اخیر، علاقه زیادی به مطالعه آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی با کلاس‌های مختلف فتوشیمیایی ایجاد شده است. چنین تصور می‌شود که فعال‌سازی ورزشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است به‌طور کامل از آسیب اکسایشی جلوگیری نکرده و نیاز به نقش مواد آنتی‌اکسیدانی رژیم غذایی باشد. براین‌اساس استفاده از مکمل‌های گیاهی جهت افزایش عملکرد ورزشی، ریکاوری یا تقویت مؤثر فاکتورهای ایمنی توصیه شده است [۱۳]. در این زمینه استفاده از عصاره گیاه خارخاسک می‌تواند یکی از راه‌های تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی باشد. این گیاه درختچه‌ای از خانواده قیچ‌سانان[8] با حدود ۳۰ سرده و ۲۳۵ گونه است که بیشتر در محیط‌های بیابانی، نواحی شور معتدل و نواحی گرمسیری می‌روید [۱۴]. مهم‌ترین عناصر مفید خارخاسک، ساپونین و فلاونوئیدها با خواص ضدالتهابی، کندکننده روند سالمندی، کاهش‌دهنده قند خون، ضد گرفتگی عروق، ضد مسمومیت و بهبوددهنده سیستم آندروژنی هستند. تصور بر این است که تجویز این گیاه موجب افزایش سطح گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)[9]، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)[10] و کاهش سطح مالون دی‌آلدئید در حد طبیعی می‌شود [۱۵]. ازاین‌رو اثرات خارخاسک می‌تواند تا حدودی شبیه به اثرات تمرین بوده و موجب ایجاد سازگاری‌های مشابه در بافت‌های بدن شود. بااین‌حال، مطالعات انسانی و حیوانی در خصوص اثر مصرف عصاره خارخاسک بر شاخص‌های موردنظر این پژوهش تحت شرایط مسمومیت با H_2O_2 محدود است. همچنین اطلاعات یکپارچه‌ای در زمینه استفاده هم‌زمان از تمرینات هوازی و عصاره الکلی خارخاسک با توجه به میزان دُز مصرفی در دسترس نیست. با توجه به وجود شواهدی مبنی بر اثرگذاری هریک از این مداخلات بر نشانگران اکسیداتیو و آپوپتوزی در بافت‌های مختلف، مشخص نیست کدام‌یک اثر مفیدتری در محافظت ریوی در شرایط مسمومیت دارند. بنابراین هدف این مطالعه بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی و عصاره خارخاسک با دو دُز مصرفی بر تغییرات شاخص‌های مالون دی‌آلدئید، آدنوزین تری‌فسفات سیتوکروم C، توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان، Bcl-2، Bax و کاسپاز ۳ بافت ریوی رت‌های نر مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع آزمایشی با طرح تجربی (پس‌آزمون با گروه کنترل) بود. روش تحقیق، بالینی و با اهداف کاربردی بود. نمونه آماری شامل ۴۹ سر موش ویستار نر ۱۰ تا ۱۲ هفته‌ای (۲۰۰-۲۲۰ گرم) بود که به‌طور تصادفی در ۷ گروه تقسیم شدند: کنترل، مسمومیت، مسمومیت+ تمرین، مسمومیت+خارخاسک ۱ (۵ میلی‌گرم)، مسمومیت+خارخاسک ۲ (۱۰ میلی‌گرم)، مسمومیت+تمرین+خارخاسک ۱، مسمومیت+تمرین+خارخاسک ۲ تقسیم شدند. قبل از شروع آزمایش حیوانات به مدت ۱ هفته در قفسه‌های مخصوص جوندگان با جنس پلی‌کربنات شفاف و کف دارای تراشه‌های تمیز چوبی در محیطی با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ تا ۵۵ درصد و چرخه روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طول دوره پژوهش حیوانات از غذای مخصوص و آب کافی با بطری‌های ویژه برخوردار بودند. موش‌ها بعد از پایان مدت‌زمان سازگاری، ۱ هفته (۵ جلسه ۲۰ تا ۴۰ دقیقه‌ای) با فعالیت روی نوارگردان (شرکت پیشرو اندیشه صنعت مدل ۲۰۱۴) با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و شیب صفر درجه آشنا شدند [۱۶]. پس از آن دوره، گروه‌های هدف با خوراندن ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن آب اکسیژنه مسموم شدند. تمرین هوازی به‌صورت ۸ هفته (۵ روز در هفته) دویدن روی نوارگردان با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه (۸ تا ۱۰ صبح) اجرا شد. هر جلسه تمرین با برنامه گرم کردن شامل ۱۰ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و افزایش تدریجی سرعت شروع می‌شد. گروه‌های کنترل در طول مداخله، هیچ‌گونه فعالیت ورزشی نداشته و درون قفس نگهداری شدند [۱۷].

جهت تهیه عصاره گیاه خارخاسک از روش پروکولاسیون استفاده شد. بر این اساس، پس از خشک کردن، گیاه با استفاده از دستگاه آسیاب برقی پودر شد، آن‌گاه مقادیر کافی در ۲۰۰ میلی‌گرم اتانول ۷۰ درصد حل و ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس مخلوط با کمک دستگاه همزن به شکل یکنواخت درآمده و توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد. درنهایت با کمک دستگاه دیسکاتور تمام رطوبت مخلوط گرفته شد و عصاره‌ای با دُزهای موردنظر به دست آمد [۱۸]. این عصاره با دُز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به حیوانات هدف در طی ۸ هفته به‌صورت گاواژ تجویز شد. در پایان ۸ هفته، تمام گروه‌ها در شرایط مشابه (۲۴ ساعت پس از پایان مداخلات) با کتامین ۳۰-۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش و از ریه آن‌ها با سرنگ ۵ میلی‌لیتری خون‌گیری به عمل آمد و در فریزر منهای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از تهیه سرم به میزان کافی، غلظت بافتی شاخص‌های اکسیداتیو با روش‌های زیر اندازه‌گیری شد.

میزان مالون دی‌آلدئید به روش الایزا و با کیت‌های مخصوص شرکت مینیپولیس آمریکا ارزیابی شد. براین‌اساس پس از

8. Zygophyllaceae
9. Glutathione Peroxidase (GPX)
10. Superoxide dismutase (SOD)

جمع‌آوری نمونه‌های خونی، ۱۵۰ میکرولیتر از اتیلن دی‌آمین ترا استیک اسید به نمونه‌های خونی اضافه و در ۷ دقیقه با سرعت ۲۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس پلاسما و لایه‌های سطحی از اریتروسیت‌ها و جهت اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید به کار رفت [۱۹]. برای ارزیابی توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان از کاتیون TMB[۱۲] به‌دلیل ویژگی‌های الکتروشیمیایی و نوری آن استفاده شد. در این واکنش آنزیمی، TMB رنگ‌زا به‌وسیله پرواکسیدان‌ها به کاتیون رنگی و سپس در یک واکنش شیمیایی توسط آنتی‌اکسیدان‌ها به ترکیبی بی‌رنگ تبدیل می‌شد. در ادامه یک منحنی استاندارد با استفاده از نسبت‌های صفر تا ۱۰۰ درصد پراکسید هیدروژن ۲۵۰ میکرومولار همراه با اسید اوریک ۳ میلی‌مولار رسم شد. براین‌اساس مقادیر نسبت پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان در واحدهای HK برمبنای درصد جذب پراکسید هیدروژن در محلول استاندارد بیان شد [۲۰].

به‌منظور ارزیابی کمی غلظت سیتوکروم C اکسیداز موش‌های آزمایشگاهی از کیت‌های الایزا شرکت COX[۱۳] ساخت آمریکا استفاده شد. براین‌اساس، قسمتی از بافت ریه جداسازی، وزن‌کشی و سپس به‌وسیله دستگاه هموژنولیز در دمای صفر درجه همولیزه شد. آن‌گاه برای جداسازی میتوکندری از محلول، براساس روش لوری، عمل سانتریفیوژ در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در ۲نوبت انجام گرفت. درنهایت با استفاده از کیت و دستگاه اکسپتوروفتومر[۱۴]، میزان فعالیت سیتوکروم C برآورد شد [۲۱]. جهت سنجش آدنوزین تری‌فسفات درون‌سلولی نیز از کیت‌های ارزیابی مدل KA1661 شرکت پرومگا آمریکا استفاده شد. در این روش میزان فعالیت آنزیم لوسیفراز محلول موردنظر با افزودن سوبسترای کیت به نمونه‌ها در دستگاه لومینومتر مدل Biolum III شرکت TIANLONG تعیین شد. در این واکنش آدنوزین تری‌فسفات به همراه لوسیفرین و اکسیژن و با حضور آنزیم لوسیفراز، کمپلکس اکسی لوسیفرین را تشکیل دادند که باعث پیدایش نور شد. شدت نور تولید شده با میزا آدنوزین تری‌فسفات نسبت مستقیم داشت و به‌صورت واحد میکرومتر/لیتر بیان شد [۲۲].

در پایان برای بررسی بیان Bax، Bcl-2 و کاسپاز ۳ بافت ریه از روش ایمنوهیستوشیمی استفاده شد. بدین‌منظور برای هر متغیر به‌طور تصادفی ۵ برش نازک غیرمتوالی به ضخامت ۵ میکرومتر از ریه انتخاب و ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت [۲۳]. در ادامه به روش انویژن[۱۵] از آنتی‌بادی‌های اختصاصی Bcl-2کد ۴۳۶-۰۴۴ ساخت شرکت milli pore Bax، کد ۶۹۶۶۴۳ ساخت شرکت Abcam و کاسپاز ۳ کد ۳۰۷۵۶ ساخت شرکت Elabscience استفاده شد. در این روش پس از مراحل اولیه شست‌وشو و اضافه کردن محلول‌ها، فلورسانت سلول‌ها با میکروسکوپ شمارش شد. در ادامه با استفاده از دوربین از هر اسلاید میکروسکوپیک ۵ فیلد مختلف انتخاب و تصویربرداری صورت گرفت. درنهایت برای مشخص کردن میزان غلظت متغیرها، تصاویر با نسخه ۴۹/۱ نرم‌افزار ImageJ مورد آنالیز قرار گرفت و به‌صورت داده‌های رتبه‌ای توصیف شدند [۲۴، ۲۳].

پس از جمع‌آوری اطلاعات و محاسبه میانگین و انحراف استاندارد داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی، جهت تعیین توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد. جهت مقایسه متغیرها بین دو گروه، از آزمون آماری تی‌تست مستقل و برای بررسی فرضیات پژوهش از آزمون تحلیل واریانس دوراهه و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. کلیه عملیات‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام و نتایج در سطح معناداری ۰/۰۵ گزارش شده است.

یافته‌ها

در ابتدا، القای فشار اکسایشی ناشی از H_2O_2 موجب کاهش معنادار غلظت آدنوزین تری‌فسفات (P=۰/۰۰۱، F=۱۰۱۶/۲۲) و سطوح 2-lcB (P=۰/۰۰۲، F=۸/۳۱) و افزایش معنادار مالون دی‌آلدئید (P=۰/۰۰۴، F=۱۴۱/۵۴)، سیتوکروم C (P=۰/۰۰۲، F=۶۲۰/۷۰)، توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان (P=۰/۰۰۱، F=۱۲۹۲/۳۲) و سطوح Bax (P=۰/۰۰۲، F=۱۶/۴۴) و کاسپاز ۳ (P=۰/۰۰۲، F=۸/۳۱) نسبت به گروه کنترل شد (جدول شماره ۱ و ۲).

براساس نتایج، تمرین هوازی (η=۰/۴۶۸، P=۰/۰۰۲، F=۱۹/۲۳۸) و دریافت ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک (η=۰/۷۰۱، P=۰/۰۰۱، F=۳۵/۰۴۰) باعث افزایش معنادار غلظت آدنوزین تری‌فسفات ریوی شد. تلفیق ۲ مداخله نیز اثر معنی‌داری بر غلظت آدنوزین تری‌فسفات داشت (η=۰/۳۷۸، P=۰/۰۰۳، F=۹/۱۰۶). بیشترین غلظت آدنوزین تری‌فسفات در زمان ترکیب تمرین هوازی با ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک مشاهده شد (تصویر شماره ۱).

در رابطه با غلظت سیتوکروم C نتایج حاکی از کاهش معنادار مقادیر ریوی پس از ۸ هفته تمرین هوازی (η=۰/۶۹۷، P=۰/۰۰۱، F=۶۸/۹۷۰)، پس از دریافت ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک (η=۰/۴۱۷، P=۰/۰۰۴، F=۱۳/۷۳۰) و پس از تعامل تمرین هوازی و دُزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک (η=۰/۷۶۰، P=۰/۰۰۲، F=۲۹/۸۵۵) بود. تفاوتی بین میزان سیتوکروم C گروه دریافت‌کننده ۵ میلی‌گرم عصار خارخاسک با گروه کنترل مشاهده نشد (η=۰/۰۶۱، P=۰/۰۷۲، F=۱/۰۳۵) (تصویر شماره ۱).

11. Tetramethylbenzidine
12. Tetramethylbenzidine (TMB)
13. Cytochrome C Oxidase (COX)
14. Expetorophtometre
15. Envision

براساس نتایج آزمون تحلیل واریانس دوراهه، ۸ تمرین هوازی اثر معنی‌داری بر غلظت مالون دی‌آلدئید ریوی نداشت (η=۰/۰۴۴، P=۰/۱۶۹، F=۱/۰۶۷). تنها دریافت ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک موجب کاهش معنی‌داری غلظت مالون دی‌آلدئید در بافت ریه شد (η=۰/۳۷۲، P=۰/۰۰۲، F=۵/۸۲۴). تعامل تمرین و عصاره خارخاسک اثر کاهنده بر غلظت مالون دی‌آلدئید بافت ریه داشت (η=۰/۷۹۸، P=۰/۰۰۱، F=۹/۹۱۴). کمترین میزان غلظت این شاخص در زمان تلفیق تمرین هوازی با ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

از طرفی تمرین هوازی (η=۰/۴۶۴، P=۰/۰۰۱، F=۱۲/۰۲۵)، دریافت دُزهای خارخاسک (η=۰/۴۰۳، P=۰/۰۰۱، F=۱۰/۱۱۸) و تعامل تمرین هوازی و عصاره خارخاسک (η=۰/۵۵۹، P=۰/۰۰۱، F=۱۳/۰۲۴) موجب کاهش معنی‌دار توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان بافت ریه شد. تفاوت معنی‌داری بین توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان گروه‌های آزمایش مشاهده نشد (η=۰/۰۶۹، P=۰/۳۴۱، F=۱/۱۱۴) (تصویر شماره ۲).

غلظت Bax پس از دُزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک (η=۰/۸۰۴، P=۰/۰۰۱، F=۵۴/۲۴۷) و ۸ هفته تمرین هوازی (η=۰/۷۵۴، P=۰/۰۰۲، F=۵۱/۲۰۱) به‌صورت معناداری کاهش یافت. تعامل تمرین و عصاره خارخاسک نیز اثر کاهنده بر غلظت این شاخص داشت (η=۰/۷۹۹، P=۰/۰۰۰، F=۵۶/۹۲۴). کمترین میزان غلظت Bax پس از مصرف ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک و تلفیق آن با تمرین هوازی مشاهده شد (تصویر شماره ۳). از طرفی مصرف دُزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک (η=۰/۸۱۵، P=۰/۰۰۱، F=۶۳/۰۱۴) و ۸ هفته تمرین هوازی (η=۰/۷۰۶، P=۰/۰۰۳، F=۵۰/۱۱۲) باعث افزایش غلظت Bcl-2 شد. هم‌زمانی تمرین و عصاره خارخاسک نیز موجب افزایش قابل‌توجه این شاخص شد (η=۰/۸۲۴، P=۰/۰۰۰، F=۷۹/۰۱۷) (تصویر شماره ۳). درنهایت دریافت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک (η=۰/۵۰۴، P=۰/۰۰۳، F=۴۹/۱۱۸) و ۸ هفته تمرین هوازی (η=۰/۴۹۸، P=۰/۰۰۴، F=۴۹/۰۰۱)، موجب کاهش معنی‌دار غلظت کاسپاز ۳ بافت ریه شد. بااین‌حال بیشترین کاهش معنی‌دار هنگام تعامل تمرین هوازی و عصاره خارخاسک (η=۰/۸۰۱، P=۰/۰۰۰، F=۷۶/۲۴۴) مشاهده شد (تصویر شماره ۳).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد القای مسمومیت با H_2O_2 سبب کاهش میزان آدنوزین تری‌فسفات و Bcl-2 و افزایش سطح سیتوکروم C، مالون دی‌آلدئید، توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان، Bax، و کاسپاز ۳ می‌شود. در این رابطه نتایج ما با مطالعات اکبری و همکاران و سیفی و همکاران هم‌خوانی دارد. براساس این مطالعات سطوح بالای H_2O_2 سبب تولید رادیکال‌های سمی، انواع بیماری‌ها و تغییر سرنوشت سلولی ازجمله رشد، تکثیر، پیری و آپوپتوز در بافت‌های مختلف بسته به نوع سلول، وضعیت فیزیولوژیکی، مدت‌زمان قرارگیری و غلظت آن می‌شود. پراکسید هیدروژن ازطریق واکنش فنتون و تشکیل رادیکال هیدروکسیل موجب آسیب سلولی می‌شود. همچنین بیشترین مقدار افزایش پراکسید هیدروژن خارج‌سلولی در طی آزمون بروس و آزمون وینگیت مشاهده شده است، درحالی‌که ۸ هفته تمرین هوازی تأثیری بر افزایش سطوح آن ندارد [۲۵، ۲۶].

در خصوص آدنوزین تری‌فسفات نتایج ما نشان‌دهنده بیشترین افزایش معنی‌دار متعاقب استفاده هم‌زمان از ۸ هفته تمرین هوازی و مکمل ۱۰ میلی‌گرم خارخاسک بود. در این رابطه مهم‌ترین مکانیسم‌های فیزیولوژیکی،

مسیرهای سیگنالی گونه‌های فعال اکسیژن، PI3K/Akt، پروتئین پروتئین کینازهای سی c(PKCs)، پمپ سدیم پتاسیم و کانال های پتاسیم حساس به آدنوزین تری فسفات (ATP-sensitive K+ channel (KATP آدنوزین تری‌فسفات هستند [۲۷]. درواقع القای مسمومیت با پراکسید هیدروژن باعث کاهش فعالیت مسیرهای سیگنالی پروتئین کیناز سی می‌شود که ظاهراً این موضوع ازطریق استفاده از مکمل گیاهی خارخاسک و سازگاری با فعالیت هوازی مرتفع خواهد شد. علی‌رغم اثرگذاری عوامل متعددی مانند تناسب بدنی، آمادگی قلبی‌عروقی و سازگاری‌های ویژه فعالیت بدنی منظم بر غلظت آدنوزین تری‌فسفات سلولی و عضلانی، تاکنون نتایج متناقضی درمورد اثرات فعالیت ورزشی گزارش شده است. هاگتون و همکاران کاهش آدنوزین تری‌فسفات کبدی را به دنبال فعالیت ورزشی در موش‌های صحرایی گزارش کردند [۲۸]. همچنین دلفانی و همکاران در پژوهشی مشابه با پروتکل‌های ما نشان دادند که ۸ هفته تمرین هوازی بر روی تردمیل و دریافت عصاره خارخاسک با دُزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم موجب کاهش مقادیر آدنوزین تری‌فسفات در بافت ریه می‌شود [۲۹]. بااین‌حال قنبری و همکاران در بررسی اثر تمرین استقامتی (۶۰ دقیقه با شدت ۲۵ متر بر دقیقه) نشان دادند تمرینات استقامتی کوتاه‌مدت (۳ هفته) و بلندمدت (۱۲ هفته) موجب افزایش معنی‌دار غلظت این شاخص در بافت کبد می‌شود [۳۰]. همچنین شکوهی راد و همکاران در بررسی ۸ هفته تمرین هوازی بروی تردمیل نشان دادند که غلظت آدنوزین تری‌فسفات عضله نعلی موش‌های نر تمرین‌کرده به‌طور معنی‌داری متعاقب مسمومیت با پراکسید هیدروژن افزایش داشت [۳۱]. از دلایل اختلاف در نتایج به تغییر میزان لاکتات تولیدی در اثر نوع تمرین (شدت، مدت و فاصله تمرین تا بیهوشی) می‌توان اشاره کرد، زیرا محققان مهم‌ترین علت کاهش آدنوزین تری‌فسفات را تلاش اندام‌ها برای کاهش لاکتات تولیدی در حین تمرین می‌دانند [۲۲]. در پژوهش ما با افزایش میزان دُز عصاره خارخاسک غلظت آدنوزین تری‌فسفات بافت ریه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این زمینه، مطالعه‌ای درمورد اثر عصاره خارخاسک بر میزان آدنوزین تری‌فسفات سلولی یافت نشد. این نتایج را می‌توان به

جدول ۱. تغییرات شاخص‌های اکسیداتیو ریه ناشی از القای مسمومیت با هیدروژن پراکسید به‌صورت میانگین±انحراف معیار

متغیر	میانگین±انحراف معیار		F	P
	گروه کنترل	گروه مسموم‌شده		
مالون دی‌آلدئید (Pmol/mL) پیکومول/میلی لیتر	۳۱۹/۲۰±۱۲/۰۷	۹۱۹/۰۷±۸۶/۴۹	۱۴۱/۵۴	۰/۰۰۴
سیتوکروم c (ng/mL) نانوگرم در سی سی	۱/۳۴±۰/۰۷	۶/۱۹±۰/۳۲	۶۲۰/۷۰	۰/۰۰۲
آدنوزین تری‌فسفات (µM) میکرومتر	۲۲/۳۱±۰/۷۳	۵/۸۸±۰/۵۱	۱۰۱۶/۲۲	۰/۰۰۱
توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان (HK)	۴۶/۵۷±۶/۶۹	۲۷۶/۵۵±۸/۸۲	۱۲۹۲/۳۲	۰/۰۰۱

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فالونوئیدها در درمان بیماری‌های عروق کرونر، آترواسکروز و آزاد شدن نیتریک اکسید مربوط دانست [۱۵].

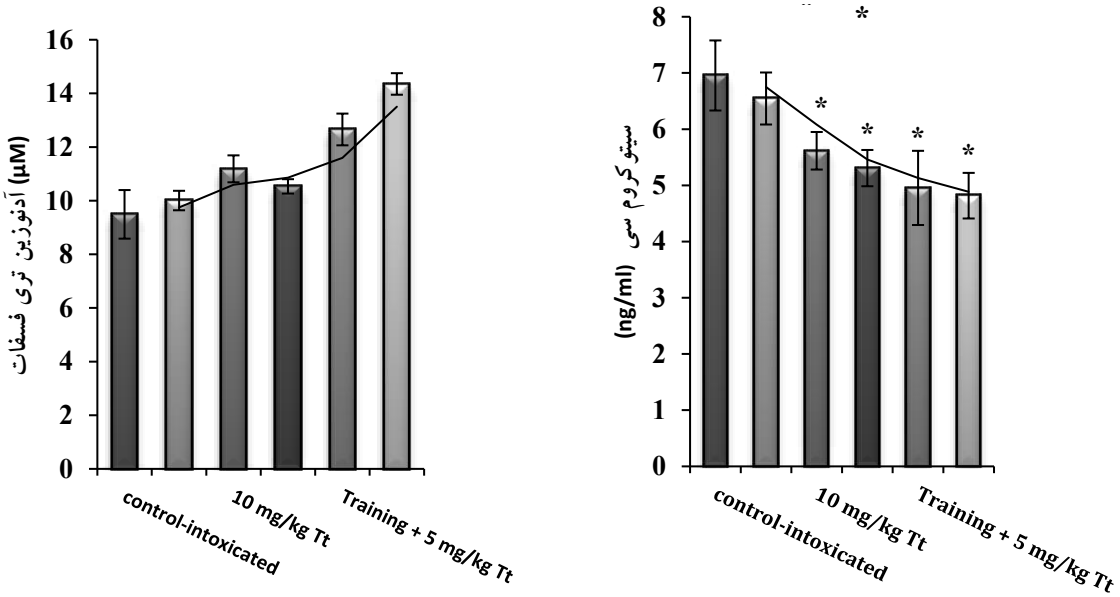
بررسی فعالیت آنزیم سیتوکروم C اکسیداز ریوی نشان‌دهنده اثرات کاهش‌دهنده ۸ هفته تمرین هوازی و ۱۰ میلی‌گرم مکمل خارخاسک بود. درحالی‌که تلفیق آن‌ها موجب کاهش بیشتری نشد. در این راستا شریف و همکاران نشان دادند فعالیت آنزیم سیتوکروم C اکسیداز پس از ۱۲ هفته تمرین استقامتی و مصرف مکمل آهن افزایش معنی‌داری یافته و روی زمان دویدن تأثیرگذار است [۳۲]. همچنین دلفانی و همکاران نیز نشان دادند ۸ هفته تمرین هوازی در ترکیب با دُزهای عصاره خارخاسک موجب افزایش معنادار سطوح سیتوکروم اکسیداز C بافت ریه می‌شود [۲۹]. از طرفی ناصری و همکاران در یک بررسی مروری نشان دادند که عصاره خارخاسک از نشت سیتوکروم C میتوکندری جلوگیری می‌کند و موجب مهار کاسپازهای دخیل در آپوپتوز می‌شود [۳۳]. بااین‌حال در پژوهش ما زمان و کیفیت دویدن گروه‌ها مورد مقایسه قرار نگرفت تا بتوان درمورد نتایج این تحقیقات نتیجه‌گیری کرد. ازآنجایی‌که فعالیت‌های هوازی منجر به افزایش چگالی میتوکندری و فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو عضلانی می‌شود، یافته ما تا حدی بحث‌برانگیز است. در این راستا جهت تبیین نتایج می‌توان در پژوهش‌های آینده تغییرات کاهشی یون آهن سیتوکروم C تحت تأثیر فعالیت ورزشی و مکمل مصرف‌شده را بررسی کرد. آهن جدا از عملکرد مهمی که به‌عنوان یکی از اجزای سازنده هموگلوبین دارد، یک عامل اصلی در بسیاری از آنزیم‌ها، ازجمله کمپلکس III زنجیره انتقال الکترون است که دستخوش تغییراتی جهت سازگاری با برنامه‌های ورزشی می‌شود.

از نظر بیوشیمیایی افزایش سطح بافتی مالون دی‌آلدئید یکی از اثرات استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت با پراکسید هیدروژن است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین هوازی موجب کاهش معنی‌دار مالون دی‌آلدئید ریوی موش‌های مسموم‌شده نشد. این نتایج با پژوهش‌های مشابه حوزه انسانی و حیوانی همخوانی ندارد. دبیدی روشن و اشرفی (۲۰۱۶) در یک مطالعه مروری و دلفانی و همکاران در یک مقاله پژوهشی نشان دادند ۸ هفته تمرین منظم هوازی با شدت متوسط جهت تنظیم کاهشی مالون دی‌آلدئید ضروری است [۲۳،۲۹]. بااین‌حال همایی و همکاران نتیجه گرفتند ۶ هفته تمرین هوازی اثر معنی‌داری بر فاکتور مالون دی‌آلدئید بافت کلیه موش‌های دیابتی ندارد [۳۴]. نوع فعالیت ورزشی (تناوبی یا تداومی)، شدت و مدت فعالیت ورزشی می‌تواند از دلایل ناهمسو بودن این یافته‌های پژوهشی باشد. از طرفی در خصوص اثرات گیاه خارخاسک بر میزان غلظت بافتی و سرمی مالون دی‌آلدئید مطالعات محدودی وجود دارد. نتایج ما نشان داد اثرات مفید عصاره خارخاسک می‌تواند وابسته به دُز مصرفی (حداقل ۱۰ میلی‌گرم) باشد. در این زمینه به اثر حفاظتی خارخاسک در بهبود پروفایل لیپیدی، بهبود گرفتگی عروق و کاهش قند ازطریق تقویت دفاع اکسیدانی اشاره شده است. ناصری و همکاران و دلفانی و همکاران گزارش کردند که

جدول ۲. تغییرات شاخص‌های آپوپتوز ریه ناشی از القای مسمومیت با هیدروژن پراکسید به‌صورت میانگین±انحراف معیار

متغیر	میانگین±انحراف معیار		F	P
	گروه کنترل	گروه مسموم‌شده		
Bax (pg/mL)	۳۹۸/۹۰±۴۶/۲۰	۱۳۴۳/۸۰±۳۴۶/۲۲	۱۶/۴۴	۲۰۰/۰
Bcl-2 (mg/mL)	۱۳/۶۵±۲/۴۴	۴/۶۰±۰/۸۳	۸/۳۱	۲۰۰/۰
کاسپاز ۳ (ng/mL)	۲/۷۲±۰/۶۸	۹/۹۰±۱/۸۲	۶/۰۴	۸۰۰/۰

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

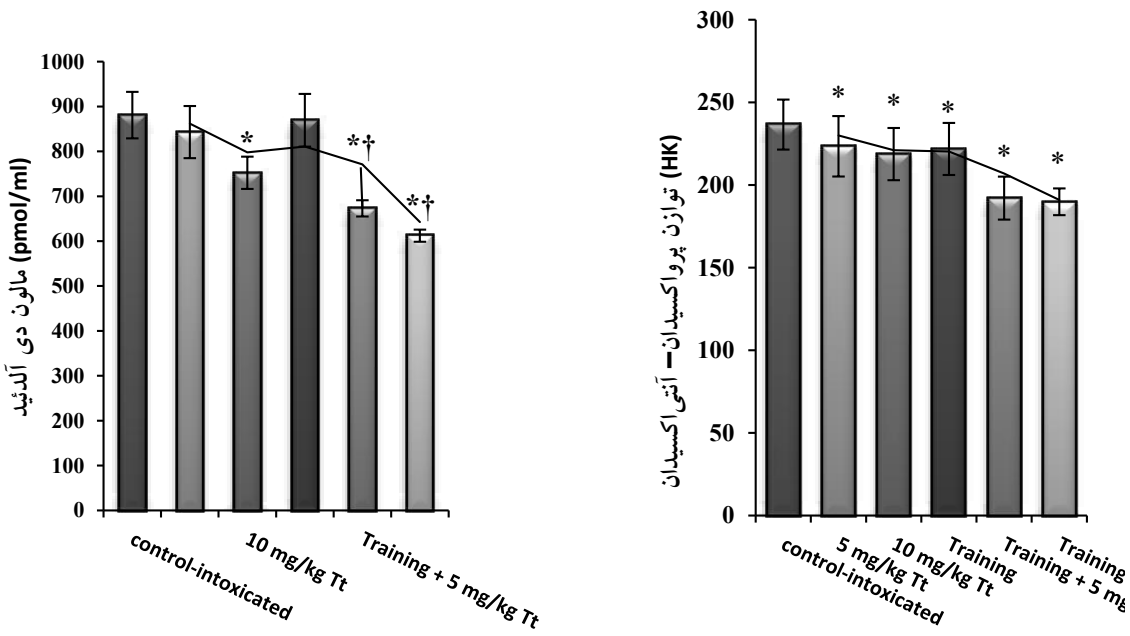


مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۱. غلظت آدنوزین تری‌فسفات و سیتوکروم C بافت ریه در گروه‌های موردمطالعه

* نشانه افزایش یا کاهش معنادار. † نشانه تعامل معنادار

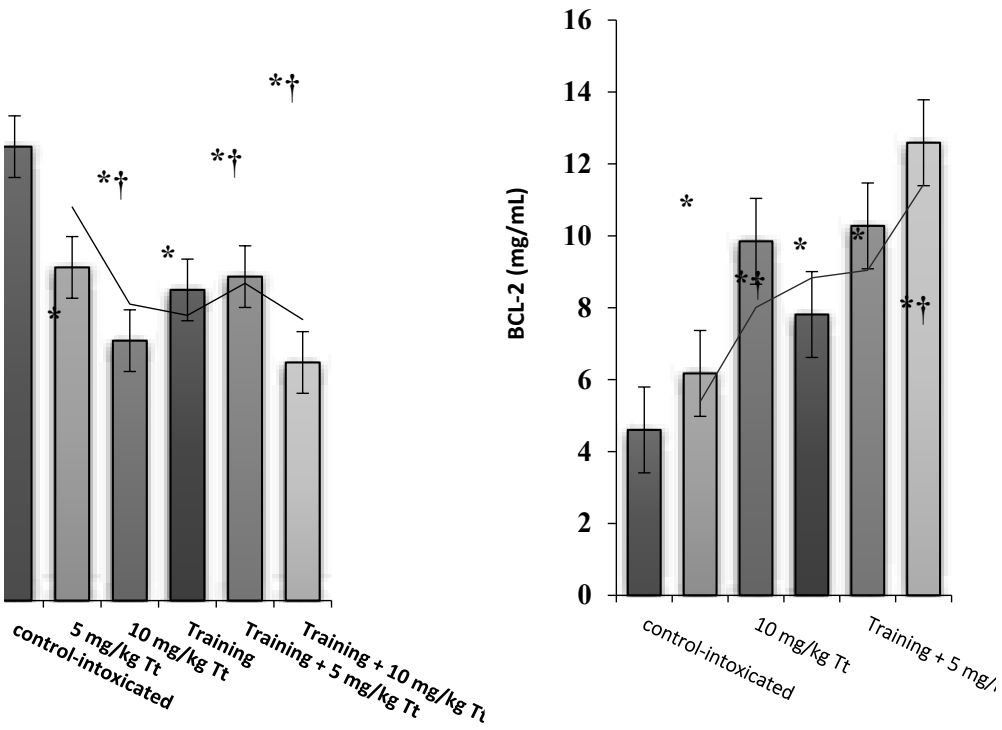
تریبولوسین گیاه خارخاسک ازطریق فعال‌سازی پروتئین کینازC، موجب کاهش قابل‌توجهی در مالون دی‌آلدئید، آسپارتات ترانس آمیناز، کراتین کیناز، فعالیت الکتات دهیدروژناز و میزان آپوپتوز میوکاردشده و میزان سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد [۳۴، ۳۳]. علاوه بر این پژوهش حاضر نشان داد ترکیب ۸ هفته تمرین هوازی و ۱۰ میلی‌گرم خارخاسک به کاهش بیشتر غلظت مالون دی‌آلدئید بافت ریه منجر می‌شود. سازوکار دقیق این اثر تعاملی بر کاهش مالون دی‌آلدئید مشخص نیست.

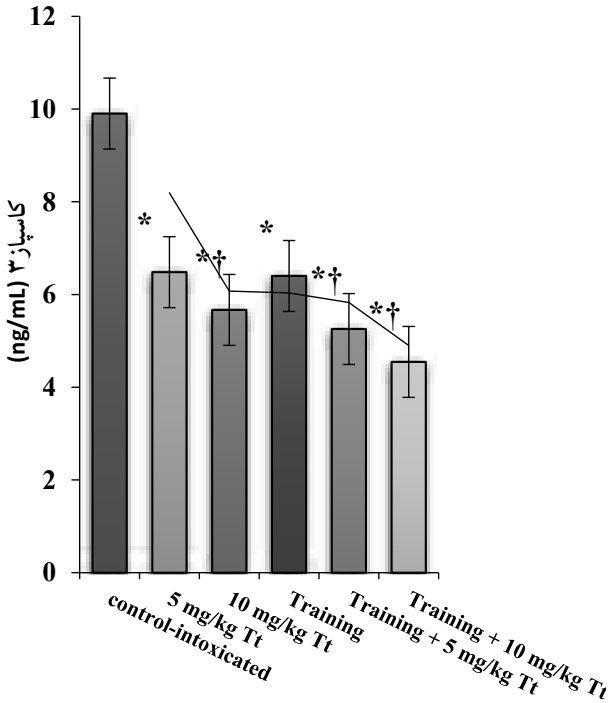


مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۲. غلظت مالون دی‌آلدئید و توازن پروآکسیدان آنتی‌اکسیدان بافت ریه در گروه‌های موردمطالعه

* نشانه کاهش معنی‌دار. † نشانه تعامل معنی‌دار





مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۳. غلظت Bax، Bcl-2 و کاسپاز ۳ بافت ریه در گروه‌های موردمطالعه

* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه مسموم‌شده. † نشانه تفاوت معنادار نسبت به سایر گروه‌ها

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف ۵ و ۱۰ میلی‌گرم مکمل خارخاسک باعث کاهش معنی‌دار توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان می‌شود. درواقع صرف‌نظر از تمرین هوازی، مکمل عصاره خارخاسک نیز به‌تنهایی اثرات معناداری بر توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان داشت و از این جهت تفاوت معناداری بین دُزهای مصرفی نبود. تحقیقات اولیه نشان داده‌اند که فعالیت بدنی منظم با تأثیر بر نسبت سوپراکسید به پرواکسیدان از وقوع بیماری‌ها جلوگیری می‌کند. روه و همکاران در بررسی اثر تمرین هوازی و چاقی بر توازن اکسیدانی آنتی‌اکسیدانی نشان دادند سطوح ROS[16] آزمودنی‌ها بعد از ۵ روز تمرین هوازی کاهش و سطوح سوپراکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد [۳۵]. هم‌راستا با نتایج ما شکوهی راد و همکاران نشان دادند توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان پس از ۸ هفته تمرین استقامتی در موش‌های نر مسموم‌شده کاهش یافت [۳۱]. شمس و همکاران نیز گزارش کردند ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف ویتامین D موجب افزایش معنی‌دار غلظت GPx و کاهش معنی‌دار نسبت توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان بافت ریه رت های در معرض آب اکسیژنه می‌شود. بااین‌حال دلفانی و همکاران در جدیدترین نتایج نشان دادند ۸ هفته تمرین هوازی در ترکیب با دُزهای خارخاسک به افزایش تعادل اکسیدانت پرواکسیدانت بافت ریه منجر می‌شود. در تبیین نتایج ما و سایر مطالعاتی که به افزایش شاخص توازن پرواکسیدان- آنتی‌اکسیدان پس از تمرینات هوازی اشاره کرده‌اند، ظاهراً بیشترین تغییرات سازشی مربوط به آنزیم GPx است. درواقع GPx با آنزیم دیگری به نام گلوتاتیون ردوکتاز به‌عنوان اولین خط دفاعی در برابر اکسایش هیدروژن پراکسیداز عمل می‌کند [۳۶]. بنابراین کاهش معنادار نسبت پرواکسیدان‌ها متعاقب ۸ هفته تمرین هوازی را می‌توان به افزایش معنی‌دار GPx و نقش آن در تبدیل H_2O_2 به آب، مناسب بودن شدت و مدت برنامه هوازی نسبت داد. همچنین در رابطه اثر کاهنده دُزهای مصرفی خارخاسک بر شاخص توازن پرواکسیدان- آنتی‌اکسیدان محدودیت‌های زیادی وجود دارد. ازآنجایی‌که بسیاری از محققان استفاده هم‌زمان از مکمل گیاهی حین مداخلات ورزشی را به‌دلیل خنثی‌سازی استرس اکسیداتیو توصیه می‌کنند، ظاهراً مکمل خارخاسک قادر است با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی موجب کاهش توازن پرواکسیدان آنتی‌اکسیدان شود.

نتایج پژوهش در رابطه با اثر تمرین هوازی بر شاخص‌های آپوپتوزی ریوی نشان داد پس از ۸ هفته تمرین هوازی، بیان پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl-2 به‌طور معناداری افزایش و بیان پروتئین‌های آپوپتوزی Bax و کاسپاز ۳ به‌طور معناداری کاهش یافت. تغییرات مشاهده‌شده در شاخص‌های Bcl-2 و Bax با نتایج مطالعات داخلی و خارجی همخوانی کامل دارد [۱۲]. قاجری و همکاران و مهری و همکاران نشان دادند۸ هفته تمرین استقامتی باعث افزایش معنادار Bcl-2 و کاهش بیان Bax در قلب موش‌ها می‌شود [۳۸، ۳۷]. بااین‌حال کاهش مقادیر کاسپاز ۳ ریوی متعاقب تمرین هوازی با برخی از نتایج مطالعات تناقض دارد. لی و همکاران و کاظمی و همکاران نشان دادند یک دوره تمرین استقامتی موجب افزایش فعالیت کاسپاز ۳ و میزان آپوپتوز در موش‌های مبتلا به سرطان سینه و سکته مغزی می‌شود [۴۰، ۳۷]. همچنین صدیقی و همکاران نشان دادند ۶ هفته برنامه تمرین هوازی (۱۰-۱۸ متر در دقیقه، ۱۰ تا ۴۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته) روی تردمیل موجب افزایش معنادار کاسپاز ۳ قلبی موش‌های صحرایی نر می‌شود [۴۱]. از طرفی مطالعات زیادی نشان می‌دهد که میزان کاسپاز ۳ به دنبال ۸ هفته فعالیت هوازی کاهش و سطح آنتی‌اکسیدان‌ها افزایشی می‌شود. ظاهراً شدت ورزش نقش مهمی در مسیرهای کنترل آپوپتوز سلولی دارد، بااین‌حال چندین سازوکار دیگر برای اثرات محافظتی تمرینات ورزشی مطرح شده است [۴۲].

شواهدی وجود دارد که پروتئین شوک گرمایی (HSP70) با کاهش انتشار سیتوکروم C و جلوگیری از افزایش کاسپاز ۳ روند آپوپتوز را مهار می‌کند. همچنین رابطه معنی‌دار HSP70 با Bcl-2 می‌تواند یکی از دلایل کاهش آپوپتوز بر اثر فعالیت بدنی باشد. کاهش نسبتBax به Bcl-2 نیز در اثر تمرینات ورزشی می‌تواند آپوپتوز را توسط به حداقل رساندن نفوذپذیری میتوکندری کاهش دهد [۱۰]. ازجمله مکانیسم‌های دیگر می‌توان به افزایش بیان ژن پروتئین SIRT1 متعاقب فعالیت بدنی و افزایش نسبت نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید اکسیدشده (NAD+)[17] به نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید احیاشده (NADH) اشاره کرد که می‌تواند نقش آنتی‌اکسیدانی بازی کند. مهم‌تر از همه، پس از فعالیت‌های هوازی میتوکندری حساسیت کمتری نسبت به محرک‌های آپوپتوتیک نشان می‌دهد و تجمع سیتوکروم C در سیتوزول و میزان قطعه‌قطعه شدن DNA کاهش می‌یابد. از طرفی اثر محافظتی فعالیت بدنی بر آپوپتوز را ناشی از کاهش پروتئین FADD، TNF-α، Fas، TNFR-1 و همچنین افزایش سطح پروتئین PI3K و Akt بیان کرده‌اند. همچنین کاهش قابل‌توجهی در بیان ژن فاکتورهای پروآپوپتوزیس و افزایش معنی‌داری در میزان Act و سطح پروتئین BC پس از تمرین هوازی گزارش شده است [۱۲، ۱۰].

جدیدترین یافته ما نشان داد اثر آندروژنیکی خارخاسک ازطریق تغییر سطوح بیان پروتئین‌های مسیر سیگنالینگ آپوپتوزیک باعث افزایش محافظت ریوی در موش‌ها شد. غلظت Bax و کاسپاز ۳ پس از مصرف دُز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم خارخاسک به‌طور معنی‌داری کاهش و غلظت Bcl-2 افزایش یافت. نکته قابل‌توجه اختلاف در ایجاد تفاوت‌های معنادار بین دُزهای خارخاسک بود.

16. Reactive oxygen species (ROS)

17. (Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD

به‌طوری‌که مصرف ۱۰ میلی‌گرمی مکمل باعث تغییرات بیشتری نسبت به دُز ۵ میلی‌گرم شد. در این زمینه پیشینه تحقیق نشان می‌دهد گیاه خارخاسک می‌تواند به‌عنوان یک آندروژنیک طبیعی جهت افزایش هورمون‌های آزاد در خون استفاده شود. مصرف این گیاه با فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال‌شده توسط میتوژن به افزایش بیان پروتئین‌های سوخت‌وساز چربی و کاهش عامل رونویسی هسته‌ای کاپا B (NF-KB)- منجر می‌شود. همچنین مطالعات به افزایش سیتوکین ضدالتهابی IL-10 و مهار IL-1β، TNF-α، IL-6 و IL-8 پس از مصرف خارخاسک اشاره کرده‌اند که توجیه‌کننده بخشی از اثرات ضدآپوپتوزی سودمند این گیاه است [۴۳]. بااین‌حال، ظاهراً تلفیق ۲ مداخله تمرین هوازی و دریافت خارخاسک به‌ویژه با دُز ۱۰ میلی‌گرم ازطریق مسیرهای متفاوت سینرژیستی قادر به تقویت اثرات یکدیگر در کاهش آپوپتوز بافت ریه هستند. در این راستا یئن و همکاران بهبود عملکرد ورزشی موش‌های چاق را پس از مصرف mg/ ۱۲۰ kg عصاره خارخاسک نشان دادند. همچنین سطوح گیرنده IGF-1 و گیرنده بتا آدرنرژیک ۱ پس از ترکیب تمرین و مصرف خارخاسک به‌طور معنی‌داری بالاتر رفت [۴۴]. پژوهشگران به این نتیجه رسیده‌اند که مصرف عصاره خارخاسک با دُز mg/day ۱۲۵۰ موجب کاهش کراتین کیناز و آسیب عضلانی ناشی از تمرینات شدید ورزشی می‌شود. همچنین تمرین مقاومتی و مکمل خارخاسک می‌تواند به واسطه کاهش بیان ژن کاسپاز ۳ و BAknksojxj/jX و افزایش Bcl-2 اثر پیشگیرانه در آپوپتوز قلب داشته باشد [۴۳].

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد ۸ هفته تمرین هوازی و عصاره خارخاسک با دُزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به‌تنهایی راهکار مناسبی برای کاهش عوارض استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت با پراکسید هیدروژن هستند. درعین‌حال اثرات عصاره خارخاسک ممکن است در مواردی وابسته به دُز باشد. علی‌رغم اینکه تعامل تمرین هوازی با خارخاسک نتایج بهتری در کنترل آنزیم‌های استرس اکسیداتیو و عوامل آپوپتوز ریوی داشت، اما تأثیر آن‌ها بر این شاخص‌ها یکسان نبود. بنابراین ازآنجایی‌که تغییرات مشاهده‌شده با سطوح پایه فاصله آشکاری داشتند، احتمالاً باید از دوره‌های تمرینی طولانی‌تر و دُزهای دارویی بیشتری استفاده کرد. معمولاً در این مطالعات نوع تمرین یا روش تهیه عصاره دست‌یابی به اطلاعات یکپارچه در این حیطه را محدود می‌کند. محدودیت‌هایی مانند عدم امکان کنترل دقیق اشتهای موش‌ها، استفاده از موش‌های با نژاد ویستار، تغییرات فیزیولوژیکی احتمالی در محیط آزمایشگاه، تأثیر آب اکسیژنه و کتامین بر شاخص‌ها، عدم استفاده از دارونما و شبه‌دارو و گاواژ کردن حیوانات، ممکن است بر روی نتایج پژوهش اثرگذار بوده باشد. همچنین باید توجه داشت این یافته‌ها در بافت ریه رت‌ها بررسی شده‌اند و تعمیم آن نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله به تأیید معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی رسیده است (کد اخلاق: IR.IAU. PS.REC.1398.322).

حامی مالی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج رساله دکتری آقای علی رسولی فوشازاده در دانشکده تربیت بدنی وعلوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی بوده است.

مشارکت‌نویسندگان

همه نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش بخش های پژوهش حاضر مشارکت یکسانی داشته اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان تعارض منافعی در مقاله وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان از همکاری و حمایت همه شرکت کنندگان و همچنین آزمایشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تشکر می کنند.

References

[1] Ornatowski W, Lu Q, Yegambaram M, Garcia AE, Zemskov EA, Maltepe E, et al. Complex interplay between autophagy and oxidative stress in the development of pulmonary disease. Redox Biology. 2020; 36:101679. [DOI:10.1016/j.redox.2020.101679] [PMID] [PMCID]

[2] Gallelli CA, Calcagnini S, Romano A, Koczwara JB, Ceglia Md, Dante D, et al. Modulation of the oxidative stress and lipid peroxidation by endocannabinoids and their lipid analogues. Antioxidants. 2018; 7(7):93. [DOI:10.3390/antiox7070093] [PMID] [PMCID]

[3] Ghazizadeh H, Saberi-Karimian M, Aghasizadeh M, Sahebi R, Ghazavi H, Khedmatgozar H, et al. Pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) as a prognostic index in assessing the cardiovascular risk factors: A narrative review. Obesity Medicine. 2020; 19:100272. [DOI:10.1016/j.obmed.2020.100272]

[4] Manning AA, Zhao L, Zhu Z, Xiao H, Redington CG, Ding VA, et al. IL-39 acts as a friend to pancreatic cancer. Medical Oncology. 2018; 36(1):12. [DOI:10.1007/s12032-018-1236-y] [PMID]

[5] Sun Y, Cui D, Zhang Z, Zhang T, Shi J, Jin H, et al. Attenuated oxidative stress following acute exhaustive swimming exercise was accompanied with modified gene expression profiles of apoptosis in the skeletal muscle of mice. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016; 2016:8381242. [DOI:10.1155/2016/8381242] [PMID] [PMCID]

[6] Shlyonsky V, Boom A, Mies F. Hydrogen peroxide and sodium transport in the lung and kidney. BioMed Research International. 2016; 2016:1-7. [DOI:10.1155/2016/9512807] [PMID] [PMCID]

[7] de Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, Lewis JE, de Andrade RV, Simões HG. The Antioxidant Effect of Exercise: A systematic review and meta-analysis. Sports Medicine. 2017; 47(2):277-93. [DOI:10.1007/s40279-016-0566-1] [PMID]

[8] Gar C, Rottenkolber M, Haenelt M, Potzel AL, Kern-Matschilles S, Then C, et al. Altered metabolic and hormonal responses to moderate exercise in overweight/obesity. Metabolism. 2020; 107:154219. [DOI:10.1016/j.metabol.2020.154219] [PMID]

[9] Rosety-Rodríguez M, Camacho A, Rosety MA, Fornieles G, Diaz AJ, Rosety I, et al. A short-term training program reduced oxidative damage in elderly diabetic rats. Revista de Investigación Clínica. 2013; 65(4):331-5. [PMID]

[10] Mathot E, Liberman K, Cao Dinh H, Njemini R, Bautmans I. Systematic review on the effects of physical exercise on cellular immunosenescence-related markers-An update. Experimental Gerontology. 2021; 149:111318. [DOI:10.1016/j.exger.2021.111318] [PMID]

[11] Zhang X, Wang L, Lu H, Zong Z, Chen Z, Li Y, et al. Preservation of hydrogen peroxide-induced oxidative damage in HepG-2 cells by rice protein hydrolysates pretreated with electron beams. Scientific Reports. 2020; 10(1):8415. [DOI:10.1038/s41598-020-64814-7] [PMID] [PMCID]

[12] Hossini s. [Effects of Aerobic Exercise and Curcumin on Apoptosis: A review (Persian)]. Pars Journal of Medical Sciences. 2018; 16(2):58-66. [DOI:10.52547/jmj.16.2.58]

[13] Mason SA, Trewin AJ, Parker L, Wadley GD. Antioxidant supplements and endurance exercise: Current evidence and mechanistic insights. Redox Biology. 2020; 35:101471. [DOI:10.1016/j.redox.2020.101471] [PMID] [PMCID]

[14] Amin A, Lotfy M, Shafiullah M, Adeghate E. The Protective Effect of Tribulus terrestris in Diabetes. Annals of the New York Academy of Sciences. 2006; 1084:391-401. [DOI:10.1196/annals.1372.005] [PMID]

[15] Kilany O, Abdou R, El-Beltagy M, Mohammad H. Protective effects of tribulus terrestris against gentamicin mediated nephrotoxicity, oxidative damage and apoptosis in male rats. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. 2020; 12:41-58. [DOI:10.21608/EAJBSZ.2020.85736]

[16] Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M, et al. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2014; 17(4):237-43. [PMID] [PMCID]

[17] Darash K, Ghanbarzadeh M, Nikbakht M. Effect of simultaneous eight-week exercise and crocin usage on the oxidation and anti-oxidation indices of male rats' testicles subjected to apoptosis. Thrita. 2019; 8(1):e90438. [DOI:10.5812/thrita.90438]

[18] Hosseini E. [The effect of tribulus terrestris extract on hepatic complications due to the gelofen consumption in adult female rats (Persian)]. Journal of Advanced Biomedical Sciences. 2016; 6(2):155-61. [Link]

[19] Abbasnezhad M, Jafari M, Asgari A, Hajihoseini R, Hajigholamali M, Salehi M, et al . [The study regarding effect of paraoxon on oxidative stress (Persian)]. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2009; 19(73):16-26. [Link]

[20] Tavana S, Amini S, Hakhamaneshi MS, Andalibi P, Hajir MS, Ardalan A, et al. Prooxidant-antioxidant balance in patients with phenylketonuria and its correlation to biochemical and hematological parameters. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2016; 29(6):675-80. [DOI:10.1515/jpem-2015-0398] [PMID]

[21] Javidtabrizi N, Bashiri J, Narimanirad M. [Effect of 12 weeks of treadmill aerobic training on cytochrome c and caspase-9 gene expression in cardiac muscle of male rats (Persian)]. Qom University of Medical Sciences Journal. 2017; 11(6):1-9. [Link]

[22] Bangsbo J, Krustrup P, González-Alonso J, Saltin B. ATP production and efficiency of human skeletal muscle during intense exercise: Effect of previous exercise. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2001; 280(6):E956-64. [DOI:10.1152/ajpendo.2001.280.6.E956] [PMID]

[23] Yadegari M, Riahy S, Mirdar S, Hamidian G. [Interactive effects of reducing exercise intensity and Adiantum capillus veneris extract on remodeling and modulation of pulmonary apoptotic indices in the rats exposed to the hypoxia (Persian)]. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2018; 23(2):81-91. [DOI:10.29252/sjku.23.2.81]

[24] Wendakoon CN, Calderon P, Gagnon D, editors. Evaluation of selected medicinal plants extracted in different ethanol concentrations for antibacterial activity against human pathogens. Journal of Medicinally Active Plants. 2012; 1(2):59-68. [DOI:10.7275/R5GH9FV2]

[25] Akbari M, Shahidi F, Rajabi H, Kashef M, Mazaheri Z. [The simultaneous effect of six weeks forced swimming and crocin supplementation on the expression of 3-cardiomyocyte genesase 3 in male rats infected with hydrogen peroxide (Persian)]. Razi Journal of Medical Sciences. 2018; 25(9):26-37. [Link]

[26] Seyfi A, Shahidi F, Salehpor M. The interactive effect of crocin supplementation on the alteration of malondialdehyde and cardiomyocyte catalase in male rats poisoned with hydrogen peroxide.Qom University of Medical Sciences Journal. 2019; 13(8):5-13. [DOI:10.29252/qums.13.8.5]

[27] Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. Redox Biology. 2017; 11:613-9. [DOI:10.1016/j.redox.2016.12.035] [PMID] [PMCID]

[28] Houghton CR, Hawkins RA, Williamson DH, Krebs HA. The effects of physical training on the metabolic response to short-term severe ex-

ercise in the rat. Biochemical Journal. 1971; 124(5):57P. [DOI:10.1042/bj1240057Pa] [PMID] [PMCID]

[29] Delfani N, Peeri M, Matin Homaee H. [Effect of aerobic exercise and hydroalcoholic extract of tribulus terrestris on mitochondrial oxidative stress markers in heart tissue of rats poisoned with hydrogen peroxide (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2021; 11(1):30-43. [DOI:10.32598/cmja.11.1.995.1]

[30] Ghanbari-Niaki A, Kraemer RR, Abednazari H. [Time-course alterations of plasma and soleus agouti-related peptide and relationship to ATP, glycogen, cortisol, and insulin concentrations following treadmill training programs in male rats (Persian)]. Hormone and Metabolic Research. 2011; 43(2):112-6. [DOI:10.1055/s-0030-1267998] [PMID]

[31] Shokohirad N, Bagherpour T, Nemati N, Hojati V. [The effect of pumpkin seed and endurance training on oxidative stress factors and DNA damage (Persian)]. Daneshvar Medicine: Basic and Clinical Research Journal. 2020; 28(3):28-41. [Link]

[32] Shetab-Boushehri S, Samavati-Sharif M, Ravasi A, Kordi M, Javadi E, Minaii B. Effect of oral iron supplementation and endurance training on cytochrome C oxidase activity in rat soleus muscle. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2010; 2(2):33-5. [Link]

[33] Naseri L, Akbari Bazm M, Khazaei M. [A review on therapeutic effects of tribulus terrestris (Persian)]. Journal of Medicinal Plants. 2019; 4:1-22. [DOI:10.29252/jmp.4.72.1]

[34] Fakourian A, Matinhomaee H, Azarbayjani MA, Farzanegi P. Effect of aerobic training and l-carnitine consumption on some oxidative stress factors in diabetic rat kidney. Armaghan-e-Danesh. 2019; 24(3):293-305. [Link]

[35] Roh HT, So WY. The effects of aerobic exercise training on oxidant-antioxidant balance, neurotrophic factor levels, and blood-brain barrier function in obese and non-obese men. Journal of Sport and Health Science. 2017; 6(4):447-53. [DOI:10.1016/j.jshs.2016.07.006] [PMID] [PMCID]

[36] Shams Z, Azarbayjani MA, peeri M, Matin Homaee H. [The effect of aerobic training and vitamin don gpx concentration and PABin lung tissue of rats exposed to hydrogen peroxide (Persian)]. Razi Journal of Medical Sciences. 2020; 26(12):156-66. [Link]

[37] Ghajari H, Hosseini SA, Farsi S. The effect of endurance training along with cadmium consumption on Bcl-2 and bax gene expressions in heart tissue of rats. Annals of Military and Health Sciences Research. 2019; 17(1):e86795. [DOI:10.5812/amh.86795]

[38] Mehri A, Hosseinpourdelaware S, Azizi M, Azarbaijani M A, Farzangi P. [The effect of aerobic training and resveratrol on some regulatory and executive factors of cardiomyocytes apoptosis in STZ-diabetic male rats (Persian)]. Medical Sciences. 2020; 30(1):59-66. [DOI:10.29252/iau.30.1.59]

[39] Kazemi A, Mirza-zade E. The effect of endurance training on tumor tissue levels of caspase-3 and caspase-9 in mice with breast cancer. Iranian Journal of Breast Diseases. 2018; 11(3):32-43. [DOI:10.30699/acadpub.ijbd..11.3.32]

[40] Li F, Shi W, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, et al. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. Journal of Neuroscience Research. 2017; 95(4):1017-24. [DOI:10.1002/jnr.23890] [PMID]

[41] Sadighi A, Abdi A, Azarbayjani MA, Barari A. [Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats (Persian)]. Feyz. 2019; 23(5):495-502. [Link]

[42] Mardani Z, Hosseini SA, Matinhomaee H, Rahmati-Ahmadabad S. Effect of endurance training with coriander seed consumption on caspase-3 and cytochrome-c in the heart tissue of H2O2-poisoned rats. Modern Care Journal. 2020; 17(2):e100003. [DOI:10.5812/modernc.100003]

[43] Reshma PL, Binu P, Anupama N, Vineetha RC, Abhilash S, Nair RH, et al. Pretreatment of tribulus terrestris l. causes anti-ischemic cardioprotection through mapk mediated anti-apoptotic pathway in rat. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019; 111:1342-52. [DOI:10.1016/j.biopha.2019.01.033] [PMID]

[44] Yin L, Wang Q, Wang X, Song LN. Effects of tribulus terrestris saponins on exercise performance in overtraining rats and the underlying mechanisms. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2016; 94(11):1193-201. [DOI:10.1139/cjpp-2016-0086] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank