Research Paper:

Effect of Aerobic Exercise and Hydroalcoholic Extract of Tribulus Terrestris on Mitochondrial Oxidative Stress Markers in Heart Tissue of Rats Poisoned With Hydrogen Peroxide

Nooshin Delfani[1], ***Maghsoud Peeri**[1], **Hasan Matin Homaee**[1]

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Science, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation: 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. https://doi.org/10.32598/cmja.11.1.995.1

https://doi.org/10.32598/cmja.11.1.995.1

CC BY NC

Article Info:
Received: 18 May 2020
Accepted: 17 Nov 2020
Available Online: 01 Apr 2021

Keywords:
Oxidative stress, Tribulus terrestris, Exercise

ABSTRACT

Objective Oxidative stress can cause DNA damage and apoptosis, and leads to cardiovascular disease. This study aims to evaluate the effect of aerobic exercise combined with consumption of hydroalcoholic extract of tribulus terrestris on mitochondrial oxidative stress markers in heart tissue of rats poisoned with hydrogen peroxide.

Methods This is an experimental study conducted on 42 male Wistar rats divided randomly into seven groups of Control (poisoned without supplementation), Aerobic Exercise, Aerobic Exercise + Supplementation with 5mg/kg extract, Aerobic Exercise + Supplementation with 10 mg/kg extract, Supplementation with 5mg/kg extract, Supplementation with 10mg/kg extract, and healthy control. All groups received hydrogen peroxide (100 mg/kg body weight) for 14 days intraperitoneally. The rats in supplementation groups received hydroalcoholic extract of tribulus terrestris with doses of 5 and 10 mg/kg of body weight by gavage. Aerobic exercise was performed on a treadmill at a speed of 23 m/min for 8 weeks, 5 days per week, each for 30 min. Twenty-four hours after the last exercise session, the heart tissues of rats were collected. Data were analyzed by independent t-test, two-way ANOVA, and Bonferroni post hoc test considering a significance level of $P<0.05$.

Results Consumption of tribulus terrestris extracts alone and in combination with aerobic exercise led to a significant increase in the levels of O6-methylguanine-DNA-methyl transferase, prooxidants-antioxidant balance, and cytochrome C oxidase, and a significant decrease in adenosine triphosphate and malondialdehyde levels compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion It seems that regular aerobic exercise and consumption of various doses of tribulus terrestris extract is a moderating factor in mitochondrial biogenesis, and is effective in reducing DNA damage in the heart tissue of rats. Lower dosage of tribulus terrestris extract has more benefits.

Extended Abstract

1. Introduction

Prooxidant-Antioxidant Balance (PAB) results from the dynamic balance established under homeostasis between the production and release of free radicals. A change in the balance between the production of Reactive Oxygen Species (ROS) and the antioxidant system can induce oxidative stress [1]. Oxidative stress has been reported to cause DNA damage and apoptosis, leading to cardiovascular disease [2].

* *Corresponding Author:*
Maghsoud Peeri, PhD.
Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Science, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Tel: +98 (21) 88562484
E-mail: m.peeri@iauctb.ac.ir

Evidence shows that aerobic exercise reduces oxidative stress by adapting to the antioxidant systems [6]. A study on middle-aged women with obesity showed that 12 weeks of aerobic exercise can lead to an improvement in the oxidant/antioxidant process in the body due to reducing the serum concentration of Malondialdehyde (MDA) and increasing the antioxidant capacity [9]. However, 8 weeks of high-intensity interval training had no effect on the total antioxidant capacity and MDA in the liver tissue of male Wistar rats [10].

Due to the potential role of tribulus terrestris extract and regular exercise in preventing oxidative stress, the present study aims to investigate the effect 8 weeks of aerobic exercise and consumption of tribulus terrestris extract on the oxidative stress markers in the heart tissue of male rats poisoned with Hydrogen Peroxide (H_2O_2).

2. Materials and Methods

This experimental study was conducted in 2019 on male Wistar rats in the animal house of Islamic Azad University of Central Tehran Branch in Iran.

Samples were 42 male Wistar rats randomly divided into seven groups.

All groups received H_2O_2 (100 mg/kg/body weight) for 14 days intraperitoneally [15]. Rats in supplementation groups received hydroalcoholic extracts of tribulus terrestris (5 and 10 mg per day) by gavage [16]. Aerobic exercise was performed on a treadmill at a speed of 23 m/min for eight weeks, 5 days per week, each for 30 min [17]. After the last exercise session, heart tissue of rats was collected and the concentration of oxidative stress markers was then measured by ELISA method.

3. Results

Tribulus terrestris extract and combination of tribulus terrestris extract and aerobic training led to significant increase in levels of O6-methylguanine-DNA-methyl transferase, PAB, and cytochrome C oxidase, and a significant decrease in adenosine triphosphate and MDA levels in the heart tissue of rats compared to the control group poisoned with H_2O_2 ($P<0.05$).

4. Conclusion

The findings of this study were consistent with the results of Carraro et al., [7], Siu et al., [8] and Hejazi et al. [9]. The reasons for oxidative stress and destruction of cellular DNA following aerobic exercise includes increased intracellular responses, reaction of various body tissues to oxidative stress produced during exercise, and catabolism of synthetic components of proteins and cell defense mechanism [23]. Moderate-intensity aerobic exercise can have a protective effect against these damages by strengthening and activating the body's antioxidant and immune systems [24].

Tribulus terrestris has considerable effect on the treatment of various heart diseases including coronary heart disease, myocardial infarction, and atherosclerosis. It protects the heart against ischemic injury by activating protein kinase C [27]. It contains components such as flavonoids, polyphenols, vitamins E and C that have antioxidant properties. The compounds in this plant purify various ROS such as superoxide anion (O^{2-}) and hydroxyl radical (OH) [28]. Therefore, it is possible that the extract of tribulus terrestris protected against free radical damage in the heart tissue of rats in our study due to its compounds.

It seems that regular aerobic exercise along with consumption of various doses of tribulus terrestris extract is a moderating factor in mitochondrial biogenesis and is effective in reducing DNA damage in the heart tissue. Lower dosage of tribulus terrestris extract has more benefits.

Suggestions

It is recommended to use aerobic exercise combined with supplementation of tribulus terrestris extract for its cardiac benefits.

Limitations

There were some limitations in the present study due to study on animals. We did not measure other oxidative stress markers in the heart tissue of rats. Examining the effect of different doses of tribulus terrestris extract on the heart tissue after exercise can help better explain and interpret the results.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of the Islamic Azad University-Marvdasht Branch (Code: IR.IAU.M.REC.1398.028).

Funding

The paper was extracted from the PhD. dissertation of the first authorat the Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Authors' contributions

All authors contributed equally in preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

مقاله پژوهشی:

اثر یک دوره تمرین هوازی به همراه مکمل هیدورالکلی خارخاسک بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو میتوکندریایی بافت قلبی موش‌های صحرای مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن

نوشین دلفانی[1]، *مقصود پیری[1]، حسن متین همایی[1]

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۲۹ اردیبهشت ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۲۷ آبان ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۰

چکیده

هدف استرس اکسیداتیو باعث تخریب DNA و آپوپتوز شده و منجر به بیماری قلبیعروقی می‌شود. هدف از این تحقیق، بررسی تاثیر تمرین و مکمل خارخاسک بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو بافت قلب موش های صحرایی بود.

روش ها در یک کارآزمایی تجربی، ۴۲ موش صحرایی نر ویستار به طور تصادفی در هفت گروه شامل ۱) کنترل (مسمومشده با پراکسید هیدروژن بدون دریافت عصاره)، ۲) تمرین هوازی، ۳) تمرین هوازیعصاره گیاه خارخاسک پنج میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن در روز، ۴) تمرین هوازیعصاره گیاه خارخاسک ده میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن در روز، ۵) عصاره گیاه خارخاسک پنج میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن در روز، ۶) عصاره گیاه خارخاسک ده میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن در روز، ۷) کنترل سالم تقسیم شدند. تمامی گروهها صد میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن را به مدت چهارده روز و به صورت درون صفاقی دریافت کردند. موش‌های صحرایی در گروه‌های مکمل، عصاره هیدروالکلی گیاه خارخاسک با دُزهای پنج و ده میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به روش گاواژ دریافت کردند. تمرین هوازی روی تردمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، سی دقیقه در روز، پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته اجرا شد. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، بافت قلب موش‌ها جمع‌آوری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تی مستقل، تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معناداری $P<0/05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها نتایج نشان داد عصاره گیاه خارخاسک، تمرین و آزمایش ترکیبی عصاره گیاه خارخاسک با تمرین هوازی منجر به افزایش معنادار سطوح متیل گوانین، تعادل اکسیدانتیپرواکسیدانت (PAB) و سیتوکروم اکسیداز C، همچنین کاهش معنادار مقادیر آدنوزین تری‌فسفات (ATP) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) بافت قلب موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل مسمومشده با پراکسید هیدروژن شد ($P<0/05$).

نتیجه گیری به نظر می رسد که آزمایش توأمان تمرینات منظم هوازی و مصرف دُزهای مختلف عصاره گیاه خارخاسک عامل تعدیل‌کننده در بیوژنز میتوکندری و اثرگذار در کاهش تخریب DNA بافت قلب است و مقدار دُز کمتر مزایای بیشتری به همراه دارد.

کلیدواژه‌ها:
استرس اکسیداتیو، خارخاسک، تمرین هوازی

مقدمه

تعادل پرواکسیدانآنتی‌اکسیدان[1] ناشی از تعادل پویای ایجادشده در شرایط هموستاز بین تولید و دفع رادیکال‌های آزاد است. تغییر در تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر[2] و سیستم آنتی‌اکسیدان می‌تواند موجب آسیب اکسیداتیو شود.

استرس اکسایشی شرایطی است که طی آن توازن میان مواد پراکسیدانآنتی‌اکسیدان مختل می‌شود. این شرایط نامساعد ممکن است باعث آسیب سلول و اجزای سازنده بافت‌های بدن شود و در شرایط مختلف فیزیولوژیکی، ازجمله پیری، التهاب و بیماری‌های قلبیعروقی افزایش می‌یابد [۱].

استرس اکسیداتیو باعث تخریب DNA و آپوپتوز شده و منجر به بیماری قلبیعروقی می‌شود. پیشرفت استرس اکسیداتیو یا عدم تعادل بین عوامل پیش اکسیدان و آنتی‌اکسیدان به نفع عوامل اکسیدانی یکی از مکانیسم‌های درگیر در آسیب بافت قلب در بیماری‌های قلبیعروقی است در این شرایط استرس اکسیداتیو با عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن یا نقص در سطوح آنتی‌اکسیدانی درونی و بیرونی ایجاد می‌شود.

1. Prooxidants-antioxidant Balance
2. Reactive Oxygen Species

*نویسنده مسئول:
دکتر مقصود پیری
نشانی: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی.
تلفن: ۸۸۵۶۲۴۸۴ (۲۱) ۹۸+
پست الکترونیکی: m.peeri@iauctb.ac.ir

این شرایط عدم تعادل، وخیم است و می‌تواند به آسیب سلولی و بافتی منجر شود. همچنین می‌تواند موجب تشدید شرایط در بیماری‌های قلبیعروقی شود [۲]. یکی از مراحل ترمیمDNA برداشت متیل از اتم O6- methylguanine ایجادشده تحت تأثیر عوامل آلکیله‌کننده است [۳].

از سوی دیگر،افزایش غیرطبیعی پراکسیداسیون لیپیدی منجر به آسیب غشا و اندامک‌های سلولی می‌شود. مالون‌دی‌آلدئید[3] شکل اصلی آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپید بافت است و به طور گسترده‌ای به عنوان بیومارکر استرس اکسیداتیو و اختلالات متابولیکی جدی بالینی استفاده می‌شود [۴].

افزایش سطح بافتی مالون‌دی‌آلدئید معیاری حساس و اختصاصی در ارتباط با اتواکسیداسیون لیپیدی است و در شرایط افزایش یا کاهش مهار رادیکال‌های آزاد حالت عدم تعادل در بیان پرواکسیدانی ایجاد می‌شود که به عنوان اساس و اصل پاتوژنز بیماری‌های حاد و مزمن مطرح است. سیتوکروم اکسیداز C نیز مرحله نهایی در زنجیره انتقال الکترون‌های میتوکندری را کاتالیز می‌کند و به عنوان یکی از مهم‌ترین جایگاه‌های تنظیم فسفوریلاسیون اکسیداتیو محسوب می‌شود [۵].

شواهد نشان می‌دهد که تمرین هوازی با سازگاری با سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی،استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد. این تمرینات توانایی بدن را برای مقابله با سیستم‌های اکسیداتیو افزایش می‌دهد [۶].

سبک زندگی سالم با فعالیت بدنی منظم و عادات رژیم غذایی مناسب به کنترل وضعیت اکسیداتیو کمک می‌کند [۷]. افزایش بیان سوپراکسیددیسموتاز[4]، کاتالاز و O-6- methylgua nine- DNA متیل ترانسفراز پس از بیست هفته آزمایش اختیاری نسبت به گروه کنترل مشاهد شده است [۸].

همچنین نتایج تحقیقی در زنان میانسال چاق نشان داد که دوازده هفته تمرین هوازی با کاهش غلظت سرمی مالون‌دی‌آلدئید و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به بهبود روند اکسیدانتیآنتی‌اکسیدانتی در بدن منجر شود [۹]. با این حال، هشت هفته تمرین تناوبی شدید تأثیری بر میزان فعالیت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما و همچنین غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت کبد موش‌های صحرایی نر ویستار نداشت [۱۰].

از طرفی، با افزایش میزان استفاده از گیاهان در درمان بیماری‌ها، نیاز به تحقیق برای به دست آوردن داده‌های علمی و بالینی راجع به خصوصیات دارویی و درمانی این گیاهان و مکانیسم عمل آنها بیشتر احساس می‌شود؛ بنابراین این احتمال وجود دارد که بتوان به واسطه استفاده توأمان تمرینات هوازی و مصرف مکمل‌های گیاهی استرس اکسیداتیو را کاهش داد.

گیاه خارخاسک با نام علمی تریبولوس ترستریس یک گیاه یک ساله خوابیده بومی است که در نواحی مدیترانه و نواحی گرم اروپا، آسیا، آمریکا، آفریقا و استرالیا به طور گسترده پراکنده شده است. این گیاه در طب سنتی چین، هند، عراق و همچنین ایران کاربرد بسیار داشته است.

مطالعات متعدد نشان می‌دهند که گیاه خارخاسک حاوی آلکالوئید، پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر، آهن، سدیم، پتاسیم، گوگرد، ازت و کلر قندهایی مانند گلوکز، آرابینوز و همچنین ساپونین‌های استروئیدی و اسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید است [۱۱].

این گیاه دارای فواید مختلفی، ازجمله خاصیت ضدمیکروبی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است و در درمان بیماری‌های قلبیعروقی نیز کاربرد دارد [۱۲].استفاده طولانی مدت خارخاسک باعث گشاد شدن و بهبود شریان‌های قلبی، بدون اثرات جانبی می‌شود [۱۳].

همچنین گزارش شده که تجویز عصاره گیاه خارخاسک موجب تعدیل شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی شامل سطح گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون‌دی‌آلدئید می‌شود [۱۴].

با این حال، تاکنون اثرات این گیاه بر آسیب DNA بافت‌های مختلف بدن، به‌ویژه قلب بررسی نشده است. پراکسید هیدروژن با ایجاد مسمومیت و افزایش فشار اکسیداتیو مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی را تضعیف می‌کند. این فرایند از طریق واسطه‌های گیرنده‌های ریانودین باعث آزاد شدن Ca^{++} در شبکه سارکوپلاسمی و آسیب به سلول‌های قلب می‌شود [۱۵].

به خوبی مشخص شده که فعالیت‌های بدنی منظم برای بهبود سلامت انسان مهم است. به طوری که فعالیت بدنی منظم جزء ضروری از یک شیوه زندگی سالم است و به پیشگیری و درمان بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های قلبیعروقی کمک می‌کند.

همان‌طور که ذکر شد، عدم تعادل بین عوامل پرواکسیدانت و آنتی‌اکسیدانت باعث افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو خواهد شد که درنهایت عملکرد اکسایشی سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

با توجه به نقش بالقوه عصاره گیاه خارخاسک و تمرینات منظم بدنی برای مقابله با آسیب اکسیداتیو، تحقیق حاضر قصد دارد به بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی به همراه مکمل هیدروالکلی خارخاسک بر نشانگرهای استرس اکسیداتیو میتوکندریایی بافت قلبی موش‌های صحرای مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن بپردازد.

3. Malondialdehyde
4. Superoxide Dismutase

جدول ۱. پروتکل تمرینی هشت هفته‌ای آزمودنی‌ها

هفته	سرعت (متر در دقیقه)	VO2max	مدت (دقیقه)	وهله‌های تمرینی (در هفته)
اول	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵
دوم	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵
سوم	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵
چهارم	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵
پنجم	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵
ششم	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵
هفتم	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵
هشتم	۲۳	۵۰ درصد تا ۶۰ درصد	۳۰	۵

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، یک مطالعه تجربی است که در آن امکان کنترل عوامل تأثیرگذار بر نتایج تحقیق بوده است. طرح تحقیق از نوع پس‌آزمون با گروه کنترل است که با تأیید کمیته اخلاق با شماره IR.IAU.M.REC.1398.028 در پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تأیید و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز اجرا شد.

۴۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار از مؤسسه انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. پس از انتقال موش‌های صحرایی به حیوان‌خانه دانشکده تربیت بدنی تهران مرکز، موش‌های صحرایی به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط جدید، بدون دریافت هیچ نوع آزمایشی در قفس‌های ویژه نگهداری شدند.

روش انتخاب نمونه‌های این تحقیق ابتدا به صورت هدفمند و سپس به صورت تصادفی بود. پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید، موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به هفت گروه شامل ۱) کنترل (مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن بدون دریافت عصاره)، ۲) تمرین هوازی، ۳) تمرین هوازی‌عصاره گیاه خارخاسک پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، ۴) تمرین هوازی‌عصاره گیاه خارخاسک ده میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، ۵) عصاره گیاه خارخاسک پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، ۶) عصاره گیاه خارخاسک ده میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز و ۷) کنترل سالم تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه در قفسه‌های مخصوص جوندگان تقسیم شدند.

دمای اتاق ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت معادل ۵۰-۴۰درصد، سیکل روشنایی‌تاریکی ۱۲:۱۲ بود و همگی به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. همه اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی (برابر پروتکل هلیسنگی ۲۰۰۶) و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

القای فشار اکسیداتیو

تمامی گروه‌ها صد میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن ساخت شرکت سیگما آلدریچ را به مدت چهارده روز و به صورت درون صفاقی بر اساس مطالعه کومار و همکاران دریافت کردند [۱۵].

آماده‌سازی عصاره

دُز عصاره گیاه خارخاسک بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شد. پس از تهیه گیاه خارخاسک از بازار محلی ایران ابتدا گیاه خارخاسک (کل گیاه به جز ریشه) در سایه خشک شده و پودر شد. سپس با استفاده از اتانول ۷۰ درصد (۱:۱۰) در یک دستگاه سوکسله استخراج شده و در دمای شصت درجه سانتی‌گراد تا زمان تبخیر مواد جامد قرار گرفت. این عصاره در کیسه هوای گرم در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و برای درمان حیوانات در آب مقطر (۰/۵ گرم از عصاره خشک‌شده در بیست میلی‌لیتر آب مقطر) حل شد.

موش‌ها در گروه‌های مکمل، عصاره هیدروالکلی گیاه خارخاسک با دُزهای پنج و ده میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به روش گاواژ دریافت کردند[۱۶].

برنامه تمرینی

پروتکل شامل پنج روز آشناسازی حیوان با محیط و دستگاه تردمیل بود که به مدت پانزده دقیقه با سرعت پنج تا پانزده متر در دقیقه و شیب صفر درصد انجام گرفت. گروه‌های آزمایش پس

جدول ۲. نتایج آزمون تی مستقل در دو گروه کنترل سالم و کنترل بیمار

متغیرهای مورد پژوهش	گروه‌های مورد بررسی	میانگین±انحراف‌معیار	P	T
متیل گوانین	کنترل سالم	۳۵۴۶/۴±۱۱۶/۸	۰/۰۰۰	۵۹/۵۸۵
	کنترل مسموم	۴۴۸/۳±۵۰/۶		
تعادل اکسیدانتیرواکسیدانت	کنترل سالم	۲۳۳/۵±۱۰/۲	۰/۰۰۰	۲۲/۰۷۴
	کنترل مسموم	۸۶/۴±۱۲/۷		
سیتوکروم اکسیداز C	کنترل سالم	۶/۲±۰/۱۷	۰/۰۰۰	۴۰/۹۴۹
	کنترل مسموم	۱/۲۴±۰/۲۴		
آدنوزین تری‌فسفات	کنترل سالم	۸/۹۴±۱/۴۰	۰/۰۰۰	۲۸/۹۹۷
	کنترل مسموم	۲۶/۰±۰/۳		
مالون‌دی‌آلدئید	کنترل سالم	۲۵۴/۱±۹/۹	۰/۰۰۰	۲۰/۸۰۸
	کنترل مسموم	۱۲۲۵/۲±۱۱۳/۸		

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

از آشناسازی پنج روزه، تمرینات هوازی روی تردمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، سی دقیقه در روز، پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام دادند. پروتکل تمرین ورزشی حاضر بین ساعت شش و هشت صبح اجرا شد [۱۷] (جدول شماره ۱).

نمونه‌گیری بافت و اندازه‌گیری متغیرها

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (نود میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (ده میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شده [۱۸]، سپس بافت بطن چپ قلب موش‌ها جمع‌آوری شد.

بافت قلب موش‌های صحرایی جدا شده و بعد از شستن با محلولPBSبلافاصله در نیتروژن مایع (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) منجمد شده و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

میزان غلظت متیل گوانین با استفاده از کیت الایزا شرکت DLdevelop کشور کانادا با دامنه تشخیص ۵۰۰۰-۱۲۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، حساسیت ۲۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۱۰-۱۲ درصد، MDA با استفاده از کیت الایزا شرکت CUSABIO کشور آمریکا با دامنه تشخیص ۲۰۰۰-۲۵ پیکومول بر میلی‌لیتر، حساسیت ۷/۸۱ پیکومول بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۱۰-۸ درصد، ATP با استفاده از کیت الایزا شرکت ابنوآ کشور تایوان با حساسیت ۰/۰۲ میکرومولار، سیتوکروم اکسیداز C با استفاده از کیت الایزا شرکت CUSABIO کشور آمریکا با دامنه تشخیص ۱۰-۰/۱۵۶ نانوگرم بر میلی‌مول، حساسیت ۰/۰۳۹ نانوگرم بر میلی‌مول و ضریب تغییرات ۱۰-۸ درصد و PAB بافت قلب با استفاده از روش ایمونوسنجی اندازه‌گیری شد.

روش آماری

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از اینکه طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص شد، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات عوامل مورد بررسی در گروه‌ها از آزمون تی مستقل، آزمون تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معناداری در همه موارد P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همه عملیات آماری با نرم‌افزارهای SPSS با نسخه ۲۳ به اجرا درآمد.

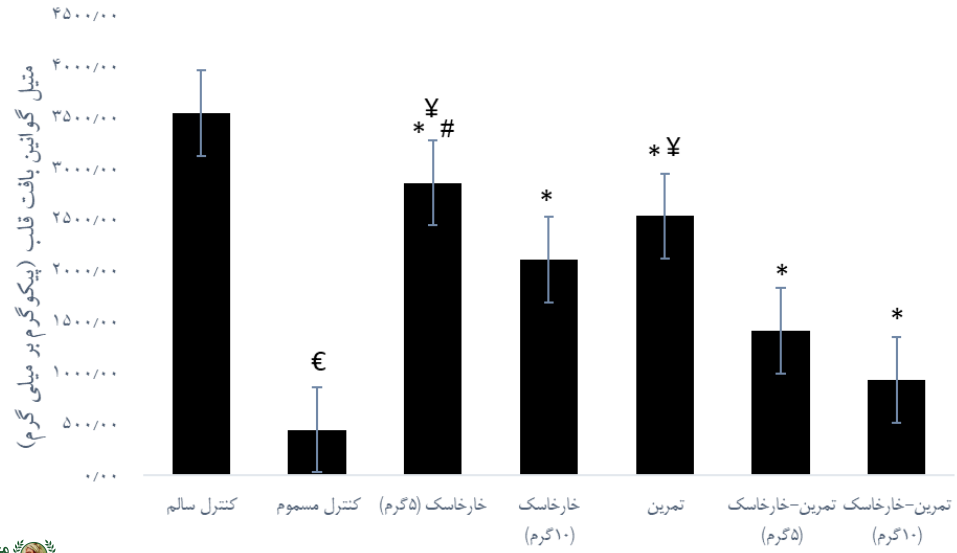
یافته‌ها

در جدول شماره ۲ تغییرات شاخص‌های مورد بررسی ناشی از القای پراکسید هیدروژن در بافت قلب در دو گروه کنترل سالم و کنترل بیمار نشان داده شده است. داده‌های جدول نشان می‌دهد که تفاوت معناداری در میزان متغیرهای مورد پژوهش در بافت قلب بین گروه کنترل سالم و کنترل دریافت‌کننده پراکسید هیدروژن در موش‌های صحرایی وجود دارد (P>۰/۰۰۰).

آزمون تی مستقل

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تمرین، عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) و آزمایش ترکیبی عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) با تمرین هوازی بر غلظت متیل گوانین بافت قلب موش‌های صحرایی مسموم شده با پراکسید هیدروژن تأثیر معناداری داشت (P=۰/۰۰۱).

نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که غلظت متیل گوانین بافت قلب در پایان دوره، بین گروه دریافت عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج گرم و عصاره گیاه خارخاسک با دُز ده گرم تفاوت



مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۱. متیل گوانین بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه

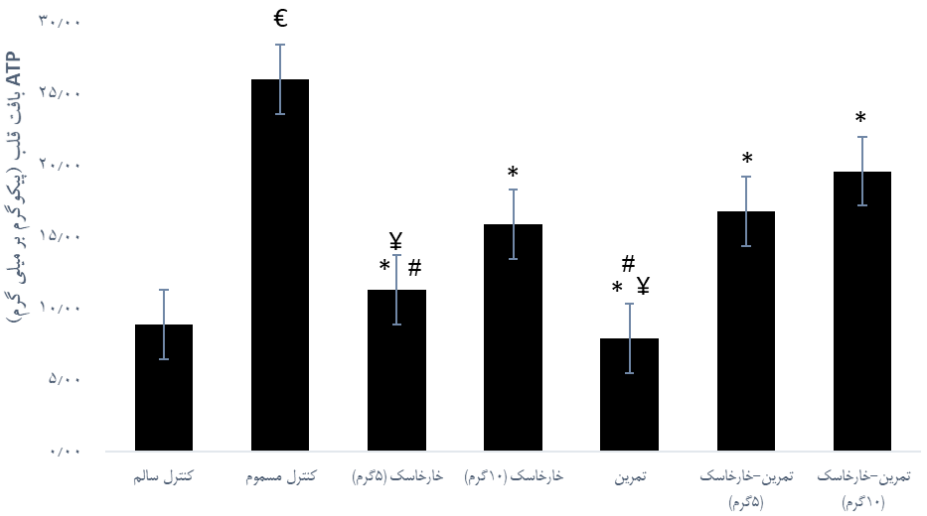
€ تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم، * تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل مسموم، # تفاوت معنادار نسبت به گروه خارخاسک (ده گرم)، ¥ تفاوت معنادار نسبت به گروه آزمایشخارخاسک (پنج گرم) و آزمایشخارخاسک (ده گرم) (P≤۰/۵۰).

معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). غلظت متیل گوانین بافت قلب در گروه عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج و ده گرم به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود(P=۰/۰۰۱)(تصویر شماره ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تمرین، عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) همچنین تعامل تمرین و عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) بر غلظت ATP بافت قلب موش‌های صحرایی مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن تأثیر معناداری داشت (P=۰/۰۰۱).

همچنین نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که غلظت ATP بافت قلب در پایان دوره بین گروه دریافت عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج گرم و عصاره گیاه خارخاسک با دُز ده گرم تفاوت معناداری داشت (P=۰/۰۰۱).

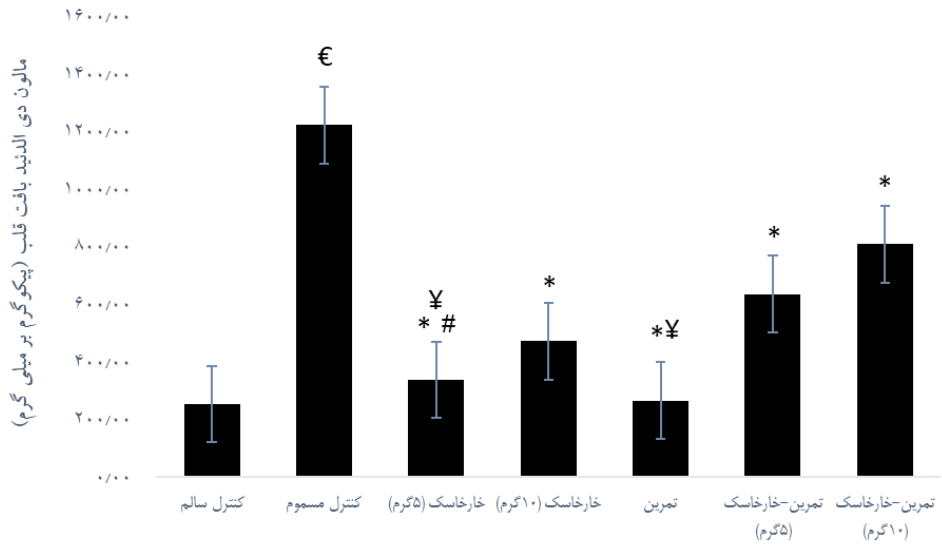
غلظت ATP بافت قلب در گروه عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج و ده گرم به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود(P=۰/۰۰۱) (تصویر شماره ۲).



مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۲. ATP بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه

€ تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم، * تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل مسموم، # تفاوت معنادار نسبت به گروه خارخاسک (ده گرم)، ¥ تفاوت معنادار نسبت به گروه آزمایشخارخاسک (پنج گرم) و آزمایشخارخاسک (ده گرم) (P≤۰/۵۰).



مجله طب مکمل دانشگاه علوم پزشکی اراک

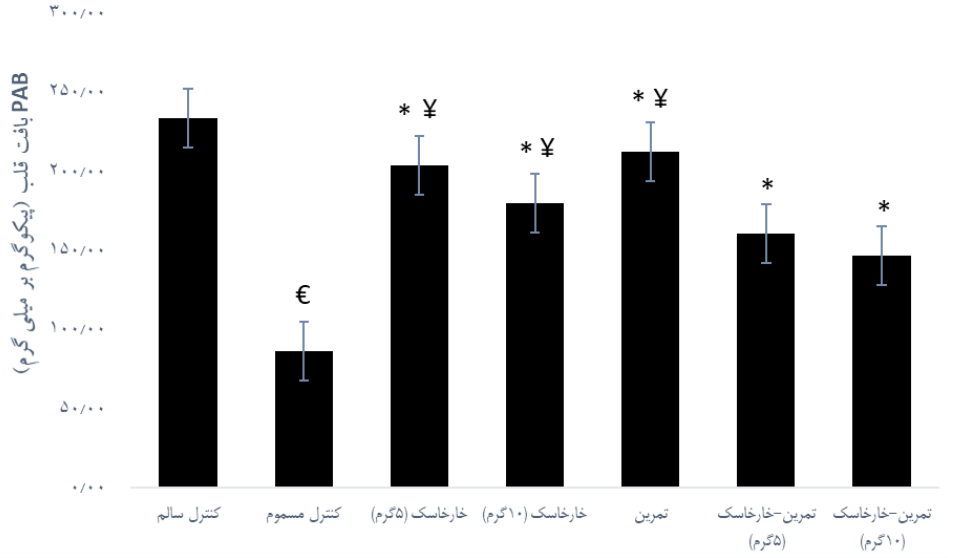
تصویر ۳. ADM بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه

€ تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم، * تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل مسموم، # تفاوت معنادار نسبت به گروه خارخاسک (ده گرم)، ¥ تفاوت معنادار نسبت به گروه آزمایشخارخاسک (پنج گرم) و آزمایشخارخاسک (ده گرم) (P≤۰/۵۰).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که آزمایش، عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) همچنین تعامل آزمایش و عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) بر غلظت MDA بافت قلب موش‌های صحرایی مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن تأثیر معناداری داشت (P=۰/۰۰۱).

همچنین نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که غلظت MDA بافت قلب در پایان دوره بین گروه دریافت عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج گرم و عصاره گیاه خارخاسک با دُز ده گرم تفاوت معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). غلظت MDA بافت قلب در گروه عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج و ده گرم به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود(P=۰/۰۰۱) (تصویر شماره ۳).

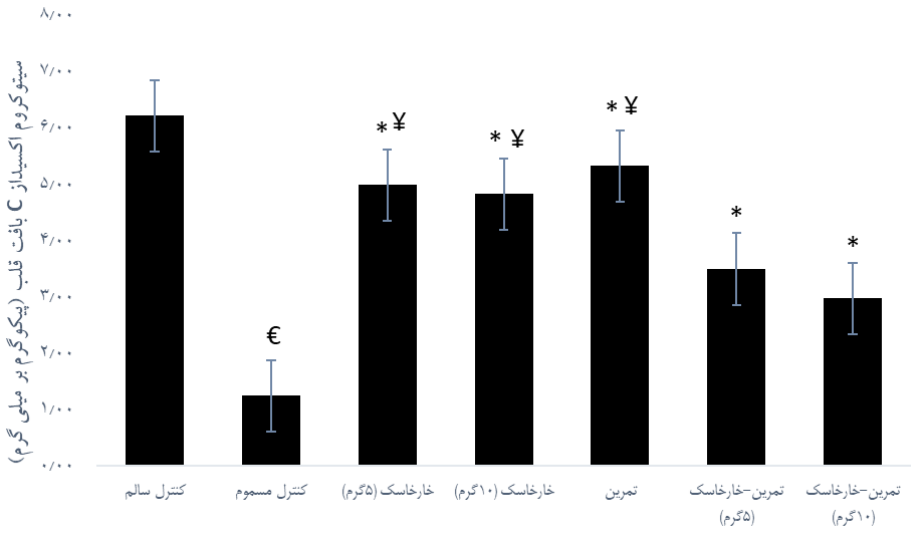
تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که آزمایش، عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) همچنین تعامل آزمایش و عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) بر تعادل اکسیدانتپرواکسیدانت بافت قلب موش‌های صحرایی مسموم‌شده



مجله طب مکمل دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۴. PAB بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه

€ تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم، *تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل مسموم، ¥ تفاوت معنادار نسبت به گروه آزمایشخارخاسک (پنج گرم) و آزمایشخارخاسک (ده گرم) (P≤۰/۵۰).



مجله طب مکمل دانشگاه علوم پزشکی اراک

تصویر ۵. سیتوکروم اکسیداز C بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه

€ تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم، * تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل مسموم، ¥ تفاوت معنادار نسبت به گروه آزمایشخارخاسک (پنج گرم) و آزمایشخارخاسک (ده گرم) (P≤۰/۵۰).

با پراکسید هیدروژن تأثیر معناداری داشت.

همچنین نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که تعادل اکسیدانتیپرواکسیدانت بافت قلب بین گروه دریافت عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج گرم و عصاره گیاه خارخاسک با دُز ده گرم تفاوت معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). تعادل اکسیدانتیپرواکسیدانت بافت قلب در گروه عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج و ده گرم به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود (P=۰/۰۰۱) (تصویر شماره ۴).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که آزمایش، عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) همچنین تعامل آزمایش و عصاره گیاه خارخاسک (پنج گرم و ده گرم) بر سیتوکروم اکسیداز C بافت قلب موش‌های صحرایی مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن تأثیر معناداری داشت (P=۰/۰۰۱).

همچنین نتایج آزمون بونفرونی نشان داد سیتوکروم اکسیداز C بافت قلب بین گروه دریافت عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج گرم و عصاره گیاه خارخاسک با دُز ده گرم تفاوت معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). سیتوکروم اکسیداز C بافت قلب در گروه عصاره گیاه خارخاسک با دُز پنج و ده گرم به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود(P=۰/۰۰۱) (تصویر شماره ۵).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره خارخاسک، آزمایش و آزمایش ترکیبی عصاره گیاه خارخاسک با تمرین هوازی منجر به افزایش معنادار سطوح متیل گوانین، تعادل اکسیدانتیپرواکسیدانت و سیتوکروم اکسیداز C، همچنین کاهش معنادار مقادیر آدنوزین تری‌فسفات و مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب موش‌های صحرایی مسموم‌شده با پراکسید هیدروژن شد. همچنین اثرات مثبت عصاره با دُز کمتر نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد.

یافته‌های تحقیق حاضر، با نتایج برخی مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد [۷-۹، ۱۳]. با این حال، تحقیقات گزارش داده‌اند که تمرینات کوتاه مدت هوازی، به‌ویژه زمانی که با شدت بالا اجرا شوند، به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد منجر شده و با سرکوب سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، موجب ایجاد استرس اکسایشی می‌شوند [۱۹، ۲۰].

تفاوت نتایج فوق با یافته این تحقیق را می‌توان ناشی از تفاوت بین نوع پروتکل تمرینی، محل اندازه‌گیری و نوع نمونه‌ها دانست. پراکسیداسیون لیپیدی یک پیامد آسیب سلولی است که بر اثر حمله رادیکال‌های آزاد به غشاهای سلولی لیپوپروتئین‌ها نیز اسیدهای چرب آزاد رخ می‌دهد.

آلدئیدها، خصوصاً مالون‌دی‌آلدئیدریال که یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است، مکرراً به عنوان شاخص استرس اکسایشی ناشی از ورزش به کار برده شده‌اند [۲۱].

با افزایش شدت فعالیت بدنی، به‌خصوص تمرینات هوازی، مصرف اکسیژن بالا رفته و استرس اکسیداتیو و عدم کفایت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بیشتر بروز می‌کند. تمرینات شدید موجب تولید رادیکال‌های آزاد در عضلات اسکلتی و دیگر بافت‌های بدن می‌شوند [۲۲].

محققین دلیل نتایج به‌دست‌آمده در متعاقب تمرین هوازی را به افزایش پاسخ‌های درون سلولی و واکنش بافت‌های مختلف بدن در برابر استرس اکسایشی تولید شده در جریان تمرینات به اجرا درآمده و کاتابولیسم اجزای سنتزی پروتئین‌ها و ساختمان

دفاعی سلول‌ها ذکر کرده‌اند [۲۳].

تمرینات هوازی با شدت متوسط می‌تواند با تقویت و فعال کردن دستگاه‌های ضداکسایشی و ایمنی بدن اثر حفاظتی در مقابل این آسیب‌ها داشته باشند [۲۴]. مطالعات روی نمونه‌های حیوانی نشان داده که آزمایشات استقامتی سطوح آنتی اکسیدان‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در عضلات اسکلتی و قلبی را افزایش می‌دهد، درنتیجه در مقابل استرس اکسیداتیو حفاظت ایجاد می‌کند [۲۵].

بنابراین به نظر می‌رسد تمرین هوازی در تحقیق حاضر می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان اختلال متابولیک و کاهش آسیب DNA در بافت قلب به دنبال سمیت با پراکسید هیدروژن باشد. فعالیت ورزشی با شدت بالا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در عضلات اسکلتی و قلبی را افزایش می‌دهد و احتمالاً میزان تغییر در این شاخص‌ها به وضعیت تمرین و نوع تارهای عضلانی درگیر نیز بستگی دارد [۲۶].

گیاه خارخاسک اثر معناداری بر درمان بیماری‌های قلبی مختلف، ازجمله بیماری‌های عروق کرونر، انفارکتوس میوکارد و آترواسکروز دارد، تریبولوسین این گیاه از طریق فعال‌سازی پروتئین کیناز C قلب را در مقابل آسیب ایسکمی محافظت می‌کند [۲۷].

این گیاه موجب کاهش قابل توجهی در مالون‌دی‌آلدئید و میزان آپوپتوز میوکارد می‌شود. تجویز خوراکی خارخاسک می‌تواند برخی از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو بافت مغزی را در موش دیابتی کاهش دهد و در جلوگیری از برخی بیماری‌های عصبی ناشی از تشدید استرس اکسیداتیو مؤثر باشد [۱۳].

در همین راستا، روغنی و سلیمانی اثر تجویز خوراکی عصاره گیاه خارخاسک بر سطح بافتی برخی مارکرهای پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو در بافت مغز موش‌های صحرایی دیابتی را بررسی کرده‌اند.

دو گروه تحت تیمار با گیاه پودر این گیاه مخلوط شده با غذای استاندارد موش را با نسبت وزنی ۳ درصد به مدت پنج هفته دریافت کردند.

نتایج نشان داد که درمان با عصاره گیاه خارخاسک میزان مالون‌دی‌آلدئید را به صورت معناداری کاهش داد. گیاه خارخاسک دارای عواملی، ازجمله فلاونوئید، پلی‌فنل و ویتامین E و C است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند.

ترکیبات موجود در این گیاه موجب پاک‌سازی گونه‌های مختلف واکنش‌دهنده اکسیژنی فعال، ازجمله آنیون سوپراکسید (O^{2-}) و رادیکال هیدروکسیل (OH) می‌شوند [۲۸]. در تحقیقی خواص احیاکنندگی خارخاسک بیان شده که احتمالاً به علت وجود مشتقاتی از کوماریل کوئینیک اسید است. این ترکیبات معمولاً به عنوان دهنده هیدروژن مطرح هستند که موجب احیای رادیکال‌های آزاد می‌شوند [۲۹].

وجود ترکیبات فروستانول، اسپیروستانول و سارساساپوژنین به عنوان ساپونین‌های فعال عصاره گیاه خارخاسک نیز منجر به کاهش خواص مخرب رادیکال‌های آزاد در سلول‌های زنده می‌شوند [۳۰].

در تحقیق حاضر، احتمال می‌رود که با توجه به ترکیبات موجود در عصاره گیاه خارخاسک موجب محافظت در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد در بافت قلب شده است. در تأیید این یافته‌ها خواص مثبت گیاه خارخاسک بر آنزیم‌های ترمیم‌کننده DNA در سلول‌های پروکاروتی و یوکاریوتی و گیرنده‌های آدرنرژیکی قلب گزارش شده است [۳۱].

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که عصاره گیاه خارخاسک در دُز پایین‌تر اثرات بیشتر و مفیدتری در تعدیل بیوژنز میتوکندری و کاهش تخریب DNA بافت قلب دارد. در همین زمینه نشان داده شده که عصاره متانولی و آبی خارخاسک موجب کاهش فشار خون وابسته به دُز می‌شود [۲۷].

مکانسیم عمل عصاره گیاه خارخاسک نیز به این شکل است که موجب آزاد شدن نیتریک اکسید و هیپرپلاریزه شدن غشای عضلات صاف دیواره عروق و درنتیجه انبساط عروقی می‌شود. در مجموع، می‌توان چنین گفت که عصاره گیاه خارخاسک در دُز پایین و تمرین هوازی احتمالاً از طریق کاهش تخریب DNA و فشار اکسیداتیو بافت قلب به بهبود عملکرد قلب کمک می‌کند.

تمرین هوازی با شدت متوسط از نقاط قوت تحقیق حاضر بود، چراکه این نوع تمرین، پاسخ‌ها و سازگاری‌های متفاوتی نسبت به برنامه‌های تمرینی دیگر می‌تواند به همراه داشته باشد.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که آزمایش توأمان تمرینات منظم هوازی و مصرف دُزهای مختلف عصاره گیاه خارخاسک عامل تعدیل‌کننده در بیوژنز میتوکندری و اثرگذار در کاهش تخریب DNA بافت قلب است و مقدار دُز کمتر، مزایای بیشتری به همراه دارد.

بنابراین توصیه می‌شود از آزمایش ترکیبی تمرین هوازی و عصاره گیاه خارخاسک با دُز مفید به منظور مزایای قلبی آن استفاده شود.

محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که ازجمله می‌توان به مطالعه روی نمونه‌های حیوانی اشاره کرد. از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر فاکتورهای فشار اکسیداتیو در بافت قلب اشاره کرد.

بررسی تأثیر دُزهای مختلف عصاره گیاه خارخاسک بر ساختار بافت قلب به دنبال تمرین نیز می‌تواند در تبیین و تفسیر بهتر نتایج کمک کند.این نقطه ضعف پژوهشی پیشنهادی به مطالعات آینده به منظور اندازه‌گیری این عوامل در بافت قلب همراه با مصرف عصاره گیاه خارخاسک است.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله با تأیید کمیته اخلاق با شماره IR.IAU.M.REC.1398.028 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت اجرا شد.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری نویسنده اول در گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی استخراج شده است.

مشارکت‌نویسندگان

همه نویسندگان در مشارکت برای تکمیل این مقاله سهم یکسانی دارند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

Refrences

[1] Pingitore A, Lima GP, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. Nutrition. 2015; 31(7-8):916-22. [DOI:10.1016/j.nut.2015.02.005] [PMID]

[2] Khan AA, Rahmani AH, Aldebasi YH, Aly SM. Biochemical and pathological studies on peroxidases-an updated review. Global Journal of Health Science. 2014; 6(5):87-98. [DOI:10.5539/gjhs.v6n5p87] [PMID] [PMCID]

[3] Aquilina G, Biondo R, Dogliotti E, Meuth M, Bignami M. Expression of the endogenous O6-methylguanine-DNA-methyltransferase protects Chinese hamster ovary cells from spontaneous G:C to A:T transitions. Cancer Research. 1992; 52(23):6471-5. [PMID]

[4] Algül S, Ugras S, Kara M. Comparative evaluation of MDA levels during aerobic exercise in young trained and sedentary male subjects. Eastern Journal of Medicine. 2018; 23(2):98-101. [DOI:10.5505/ejm.2018.40469]

[5] Li Y, Park JS, Deng JH, Bai Y. Cytochrome c oxidase subunit IV is essential for assembly and respiratory function of the enzyme complex. Journal of Bioenergetics and Biomembranes. 2006; 38(5-6):283-91. [DOI:10.1007/s10863-006-9052-z] [PMID] [PMCID]

[6] Ammar A, Trabelsi K, Boukhris O, Glenn JM, Bott N, Masmoudi L, et al. Effects of aerobic-, anaerobic- and combined-based exercises on plasma oxidative stress biomarkers in healthy untrained young adults. IInternational Journal of Environmental Research and Public Health. 2020; 17(7):2601. [DOI:10.3390/ijerph17072601] [PMID] [PMCID]

[7] Carraro E, Schilirò T, Biorci F, Romanazzi V, Degan R, Buonocore D, et al. Physical activity, lifestyle factors and oxidative stress in middle age healthy subjects. International Journal of Environmental Research And Public Health. 2018; 15(6):1152. [DOI:10.3390/ijerph15061152] [PMID] [PMCID]

[8] Siu PM, Pei XM, Teng BT, Benzie IF, Ying M, Wong SH. Habitual exercise increases resistance of lymphocytes to oxidant-induced DNA damage by upregulating expression of antioxidant and DNA repairing enzymes. Experimental Physiology. 2011; 96(9):889-906. [DOI:10.1113/expphysiol.2011.058396] [PMID]

[9] Hejazi M, nezamdoost Z, Saghebjoo M. [Effect of twelve weeks of aerobic training on serum levels of leptin, vaspin and some indicators of oxidative stress in obese middle-aged women (Persian)]. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2014; 16 (2):111-8. http://ijem.sbmu.ac.ir/article-1-1664-en.html

[10] Usefpor M, Ghasemnian AA, Rahmani A. [The effect of a period of high intensive interval training on total antioxidant capacity and level of liver tissue malondialdehyde in male Wistar rats (Persian)]. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2017; 22(5):103-10. http://sjku.muk.ac.ir/article-1-3564-en.html

[11] Chhatre S, Nesari T, Somani G, Kanchan D, Sathaye S. Phytopharmacological overview of Tribulus terrestris. Pharmacognosy Reviews. 2014; 8(15):45-51. [DOI:10.4103/0973-7847.125530] [PMID] [PMCID]

[12] Shalaby MA, Hammouda AA. Assessment of protective and antioxidant properties of Tribulus terrestris fruits against testicular toxicity in rats. Journal of Intercultural Ethnopharmacology. 2014; 3(3):113-8. [DOI:10.5455/jice.20140627123443] [PMID] [PMCID]

[13] Guo Y, Shi DZ, Yin HJ, Chen KJ. Effects of tribuli saponins on ventricular remodeling after myocardial infarction in hyperlipidemic Rats. The American Journal of Chinese Medicine. 2007; 35(2):309-16. [DOI:10.1142/S0192415X07004837] [PMID]

[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] Kumar S, Srivastava N, Gomes J. The effect of lovastatin on oxidative stress and antioxidant enzymes in hydrogen peroxide intoxicated rat. Food and Chemical Toxicology. 2011; 49(4):898-902. [DOI:10.1016/j.fct.2010.12.014] [PMID]

[16] Gauthaman K, Ganesan AP. The hormonal effects of Tribulus terrestris and its role in the management of male erectile dysfunction--an evaluation using primates, rabbit and rat. Phytomedicine. 2008; 15(1-2):44-54. [DOI:10.1016/j.phymed.2007.11.011] [PMID]

[17] Mallikarjuna K, Shanmugam KR, Nishanth K, Wu MC, Hou CW, Kuo CH, et al. Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats. Alcohol. 2010; 44(6):523-9. [DOI:10.1016/j.alcohol.2010.07.004] [PMID]

[18] Akbari N, Peeri M, Azarbayjani MA, Delfan M. [Effect of High Intensity Interval Training (HIIT) on the gene expression of MMP-2, COL-III and myocardial function in type 2 diabetic rats (Persian)]. Research on Medicine. 2020; 44(2):415-21. http://pejouhesh.sbmu.ac.ir/article-1-2076-en.html

[19] Hamedinia MR, Nikbakht H, Rasayi MJ, Gaini A, Fatima S. [Effect of exhaustive exercise on markers of oxidative stress and creatine kinase in the student-athlete (Persian)]. Olympic Journal. 2003; 3-4(22):39-47. https://www.sid.ir/fa/Journal/ViewPaper.aspx?id=8221

[20] Wang Z, Zhang D, Hui S, Zhang Y, Hu S. Effect of tribulus terrestris saponins on behavior and neuroendocrine in chronic mild stress depression rats. Journal of Traditional Chinese Medicine. 2013; 33(2):228-32. [DOI:10.1016/S0254-6272(13)60130-2]

[21] Benzie IF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability Of Plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Analytical Biochemistry. 1996; 239(1):70-6. [DOI:10.1006/abio.1996.0292] [PMID]

[22] Hoffman GL, Spagnuolo AP. Effect of repeated exercise stress on caspase 3, Bcl-2, HSP 70 and CuZn-SOD protein expression in mouse intestinal lymphocytes. Journal of Neuroimmunology. 2007; 187(1-2):94-101. [DOI:10.1016/j.jneuroim.2007.04.012] [PMID]

[23] Hernández-Torres RP, Ramos-Jiménez A, Torres-Durán PV, Romero-Gonzalez J, Mascher D, Posadas-Romero C, et al. Effects of single sessions of low-intensity continuous and moderate-intensity intermittent exercise on blood lipids in the same endurance runners. Journal of Science and Medicine in Sport. 2009; 12(2):323-31 [DOI:10.1016/j.jsams.2007.12.002] [PMID]

[24] Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. The American Journal of Physiology. 1997; 272(1 Pt 2):R363-9. [DOI:10.1152/ajpregu.1997.272.1.R363] [PMID]

[25] Ramel A, Wagner KH, Elmadfa I. Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. European Journal of Nutrition. 2004; 43(1):2-6. [DOI:10.1007/s00394-004-0432-z] [PMID]

[26] Belviran M, Goldbel H. Acute exercise induced oxidative stress and antioxidant changes. European Journal of Medical Genetics. 2006; 3(3):126-31. [DOI:10.29333/ejgm/82392]

[27] Zhang S, Li H, Yang SJ. Tribulosin protects rat hearts from ischemia/reperfusion injury. Acta Pharmacologica Sinica. 2010; 31(6):671-8. [DOI:10.1038/aps.2010.45] [PMID] [PMCID]

[28] Roghani M, Arbab-Soleymani S. [The effect of oral feeding of tribulus terrestris fruit on some markers of oxidative stress in the brain of diabetic rats (Persian)]. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2013; 21(2):127-35. http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-2419-en.html

[29] Zarian A, Malekaneh M, Hasanpour M, Najari MT, Abad M. [Antioxidant properties of 28 medicinal plants in Iran (Persian)]. Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2005; 11(1):9-15. http://journal.bums.ac.ir/article-1-175-fa.html

[30] Shi J, Arunasalam K, Yeung D, Kakuda Y, Mittal G, Jiang Y. Saponins from edible legumes: Chemistry, processing, and health benefits. Journal of Medicinal Food. 2004; 7(1):67-78. [DOI:10.1089/109662004322984734] [PMID]

[31] Jan AT, Kamli MR, Murtaza I, Singh JB, Ali A, Haq QM. Dietary flavonoid quercetin and associated health benefits- an overview. Food Reviews International. 2010; 26(3):302-17. [DOI:10.1080/87559129.2010.484285]