The effect of linear endurance trainings along with the salvia extract supplementation on gene expression of some liver inflammatory markers in male rats

Received:
2024/04/26
Accepted:
2024/06/19
Online ISSN
3060-7078

Roghayeh Mostafavi
1. Master of Applied Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Zanjan Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
Mahdi Rezagholizadeh
2. Assistant Professor of Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Zanjan Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
Samaneh Hadi
3. PhD student of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Mohagheg Ardabili University, Ardabil, Iran.
Vahid Nemati
4. Master of Applied Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Faculty of Human Sciences, Zanjan University, Zanjan, Iran.

*Correspondence:
Samaneh Hadi
Email:
samane.hadi.70@gmail.com
Orcid: 0000-0003-3962-8412

ABSTRACT

Purposes: The purpose of this study was to investigate the effect of linear endurance training along with salvia extract supplementation on liver TNF-α and CRP gene expression in male rats.
Materials and Methods: 34 adult male wistar rats (8 weeks old, mean weight of 204.45±9.08 g) after One week of acclimation, were randomly assigned into 5 groups: control (n=6), liner training (n=8), supplementation (n=6), placebo (n=6) and liner training-supplementation (n=8). The training protocol consisted of running on treadmill for 8 weeks (5 days a week) at 10 m/min for 30 minutes in the first week which gradually increased to reach 35 m/min for 70 min in the last week. Salvia extract was administered (100 mg/kg) by oral gavage technique before each training session. TNF-α and CRP gene expression in liver was performed using Real Time PCR test. Data analysis was performed using ANOVA and Tukey post hoc test (P≤0.05).
Results: TNF-α and CRP gene expression in the liver was significantly higher in the linear training group than the control group (P =0.0001). On the other hand, liver tissue CRP gene expression was significantly lower in the linear exercise- salvia extract group than in the linear exercise group (P=0.0001), and liver tissue TNF-α gene expression was non-significantly lower in the linear exercise-salvia extract group than in the linear group (P=0.252).
Conclusion: Intense endurance training causes Inflammation in liver tissue. In addition to its known effects on pathological studies, salvia extract can be effective in modulating the inflammation caused by intense training with its anti-inflammatory effects.
Keywords: Linear endurance training, Salvia extract, Inflammation, Tumor necrosis factor α, C-reactive protein.

Extended abstract

Background: Inflammation is a fundamental aspect of the human body's defense mechanism against injury and infection and is essential for survival. To combat inflammation, various components of the immune system are involved, one of the subsets of which is cytokines (4). Cytokines include a group of soluble proteins or glycoproteins that play the role of transmitting messages between immune cells and other cells (5). Cytokines are grouped into a wide variety of interleukins, interferons, tumor necrosis factor alpha (TNF-α), growth factors, and chemokines based on their structure and action (6). Cytokines are also divided into proinflammatory and anti-inflammatory, TNF-α is one of the proinflammatory cytokines that plays an important role in the response to central nervous system damage (7). Another proinflammatory factor is C-reactive protein (CRP), an acute phase protein that increases significantly during infection, inflammation, and tissue damage (13). It is often produced by the liver in response to blood-borne inflammatory mediators and secreted into the blood (5).
Training scheduling is the systematic variation in the training process to develop training adaptations that prevent the phase of inadaptation and monotony of training responses. Although there are various models of training scheduling, one type of endurance training scheduling is the traditional or linear method. In this type of scheduling, training volume is reduced as the intensity of training increases linearly over the course of the training program (15).
One way to combat inflammation caused by intense and heavy activity, is to use oral supplements. One of these herbal supplements, Salvia, belongs to the mint family and contains several active compounds such as cineole, flavonoids, polyphenolic compounds including rosmarinic acid, fluoric acid, diterpene compounds such as carnosic acid, manol, vitamins C and E (20), and its anti-inflammatory, antifungal, antimicrobial, and anti-anxiety effects have been proven (21). The purpose of this study was to investigate the effect of linear endurance training along with salvia extract supplementation on liver TNF-α and CRP gene expression in male rats.

Methodology: The present study was a semi experimental study with a multi-group post-test design. The samples in this study included 34 male Wistar rats (weight 204.45 ± 9.08 g and age 8 weeks) and after one week of familiarization, they were randomly assigned to five groups: control group (n=6), Salvia group (n=6), saline group (receiving gavage stress) (n=6), linear endurance training group (n=8), and linear endurance training + Salvia group (n=8). The linear endurance training program consisted of eight weeks (five sessions per week) of treadmill running with increasing intensity until the final week (except for the fifth week of reduced load). The training program was performed at a speed of 10 m/min for 30 min in the first week and gradually increased each week until reaching a speed of 35 m/min for 70 min (equivalent to 80-85% of maximal oxygen consumption) in the last week (23). To prevent overtraining, there was a reduction in load in the fifth week. Before the start of each training session, the rats warmed up for 5 min at a speed of 8 m/min and at the end of the training session, they cooled down for 5 min at a speed of 6 m/min. In this study, rats received Salvia leaf extract daily at a rate of 100 mg/kg body weight for eight weeks by gavage (24). After the eight-week experimental period, all groups were anesthetized under completely similar conditions and at baseline (48 hours after the last training session) with a combination of xylazine and ketamine. Then the livers of the rats were isolated. Hepatic gene expression of inflammatory markers was performed using Real Time PCR method.
The normal distribution of the data was examined using Shapiro-Wilk test. Then, considering the normal distribution of the data, one-way analysis of variance test and Tukey post hoc test were used for differences between groups using SPSS version 23 software. $P \leq 0.05$ was considered as statistical significance.

Results: Statistical analysis of one-way ANOVA showed that there was a significant difference in the expression of liver TNF-α gene among the five groups [P=0.0001, F=4.30]. Tukey's post hoc test showed that the expression of liver TNF-α gene in the linear endurance training-extract group was non-significantly lower than in the linear endurance training group (P=0.252). Also, the expression of liver TNF-α gene in the linear endurance training group was significantly lower than in the control group (P=0.0001). The expression of TNF-α gene in the liver of the Salvia extract group was significantly lower than that of the linear endurance training group and the linear endurance training-Salvia extract group (P=0.0001)(P=0.004). Also the expression of TNF-α gene in the liver of the linear-extract endurance training group was significantly higher than that of the control group (P=0.0001).
Results showed that there was a significant difference in liver CRP gene expression among the five groups [P=0.0001, F=4.30]. Tukey's post hoc test results showed that the liver CRP gene expression level in the linear endurance training-extract group was significantly lower than that in the linear endurance training group (P=0.0001). The liver CRP gene expression of the Salvia extract group was significantly lower than that of the linear endurance exercise group and linear endurance exercise-extract group in both groups (P = 0.0001). Liver CRP gene expression in the linear-extract endurance training group was significantly higher than in the control group (P = 0.0001).

Conclusion: The present study showed that linear endurance training can increase TNF-α and CRP gene expression in the liver, which seems to cause inflammation, but long-term supplementation of Salvia extract along with linear endurance training probably reduces the inflammation caused by this endurance training. The mechanism of increased TNF-α gene expression in liver tissue in the present study could be due to the fact that cytokines are released from monocytes during exercise, therefore, it seems that at least part of the increased expression of TNF-α gene could be due to the facilitation of its production by monocyte cells (30). It seems that the mechanism of action of Salvia extract is that the rosmarinic acid present in Salvia extract reduces leukotriene B4 and consequently reduces inflammation (32). TNF-α and IL-6 are released from adipose tissue and their release is increased by negative regulation of sympathetic stimulation by physical activity, which may lead to a increase in CRP. TNF-α induces the production of IL-6, and IL-6 stimulates the production of CRP.

Keywords: Linear endurance training, Salvia extract, Inflammation, Tumor necrosis factor α, C-reactive protein.

اثر تمرین استقامتی خطی با مصرف عصاره مریم گلی بر بیان ژن کبدی برخی شاخص‌های التهابی در موش‌های صحرایی نر

تاریخ ارسال:
۱۴۰۳/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۳/۰۳/۳۰
شاپا الکترونیکی
۳۰۶۰-۷۰۷۸

رقیه مصطفوی
کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، زنجان، ایران.
مهدی رضاقلیزاده۲
استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، زنجان، ایران.
سمانه هادی
دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
وحید نعمتی
کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

* نویسنده مسئول: سمانه هادی
ایمیل:
samane.hadi.70@gmail.com
اورکید:0000-0003-3962-8412

چکیده

مقدمه: هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین استقامتی خطی همراه با مصرف عصارهٔ مریم‌گلی بر بیان ژن TNF-α و CRP بافت کبد در موش‌های صحرایی نر ویستار بود.

روش تحقیق: ۳۴سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸هفته و میانگین وزنی ۹.۰۸±۲۰۴.۴۵ گرم پس از یک هفته آشناسازی به طور تصادفی در پنج گروه، کنترل: (۶سر)، تمرین خطی: (۸سر)، عصاره مریم گلی: (۶سر)، دارونما: (۶سر) و تمرین خطی_عصاره مریم گلی: (۸سر) قرار گرفتند. برنامه تمرینی شامل ۸هفته اجرای تمرین استقامتی بر روی نوارگردان (۵ جلسه در هفته) بودکه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته اول انجام شد و بتدریج افزایش یافته و به سرعت ۳۵ متر بر دقیقه به مدت ۷۰ دقیقه در هفته آخر رسید. عصاره هیدروالکلی برگ گیاه مریم‌گلی به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش‌ها به صورت روزانه قبل از هر جلسه تمرین تجویز شد. بیان ژن TNF-α و CRP بافت کبد با استفاده از روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی توکی در سطح (P≤۰.۰۵) انجام شد.

یافته‌ها: بیان ژن TNF-α و CRP بافت کبد در گروه تمرین خطی نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌دار بالاتر بود(P=۰/۰۰۰۱)، از طرفی، بیان ژن CRP بافت کبد در گروه تمرین خطی_عصاره مریم گلی نسبت به گروه تمرین خطی بطور معنی‌داری کمتر بود(P=۰/۰۰۰۱) و بیان ژن TNF-α بافت کبد در گروه تمرین خطی_عصاره مریم گلی نسبت به گروه خطی بطور غیرمعنی‌دار کمتر بود(P=۰/۲۵۲).

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی شدید موجب بروز التهاب در بافت کبد می‌شود. احتمالاً عصاره مریم گلی، علاوه بر اثرات شناخته شده در مطالعات پاتولوژیک، می‌تواند با اثرات ضد التهابی خود، در تعدیل التهاب ناشی از اجرای تمرینات ورزشی شدید موثر باشد.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی خطی، عصاره مریم گلی، التهاب، عامل نکروزدهنده تومور آلفا، پروتئین واکنشگر c

مقدمه:

دانش امروزی حاکی از آن است که در بدن ورزشکاران در حین و بعد از انجام تمرینات ورزشی میزان التهاب بالا می‌رود و عملکرد ایمنی بدن که قابلیت طبیعی آن مقابله با عفونت و بیماری است، فعال می‌شود (۱). اگرچه عملکرد التهابی به عنوان قسمتی از دستگاه ایمنی بدن بر علیه حملهٔ میکروب‌ها و عوامل خارجی ضروری است، اما به عنوان یک عامل مهم در بسیاری از بیماری‌های حاد از جمله سرطان، بیماری قلبی_عروقی و دیابت دخیل می باشد (۲). التهاب یک جنبه اساسی از روش دفاعی بدن انسان علیه آسیب و عفونت بوده و برای زنده ماندن ضروری است. التهاب تحت عنوان التهاب حاد و التهاب مزمن طبقه‌بندی می‌شود. التهاب حاد یک فرآیند کوتاه‌مدت بوده اما اگر تداوم یابد به عنوان التهاب مزمن طبقه‌بندی و توسط تخریب بافت مشخص می‌گردد (۳). برای مقابله با التهاب، اجزای مختلف دستگاه ایمنی درگیر می‌شوند که یکی از زیر مجموعه‌های این دستگاه، سایتوکین‌ها هستند (۴).

سایتوکین‌ها شامل گروهی از پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌های محلول هستند که نقش انتقال پیام بین سلول‌های ایمنی و دیگر سلول‌ها را ایفا می‌کنند (۵). سایتوکین‌ها بر اساس ساختار و عملشان به انواع وسیعی از اینترلوکین‌ها[1]، اینترفرون‌ها[2]، عامل نکروز دهنده تومور آلفا [3](TNF-α)، فاکتورهای رشد[4] و کموکین‌ها[5] گروه‌بندی می‌شوند (۶). سایتوکین‌ها به صورت پیش التهابی و ضد التهابی نیز تقسیم‌بندی می‌شوند، TNF-α جز سایتوکین‌های پیش التهابی است که در پاسخ به آسیب دستگاه عصبی مرکزی نقش مهمی دارد (۷). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تمرینات منظم ورزشی اثرات ضد التهابی بر روی دستگاه ایمنی دارند؛ به این صورت که شش ماه تمرین منظم باعث کاهش سایتوکین TNF-α می‌شود (۸). اما در مورد اثر دوره‌های بلند مدت تمرین استقامتی بر سطح استراحتی TNF-α، یافته‌های متفاوتی شامل افزایش (۹)، عدم تغییر (۱۰) و کاهش (۱۱) این سایتوکین پیش التهابی گزارش شده است. همچنین، گزارش شده است که تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی می‌تواند سطح TNF-α را کاهش دهد (۱۲).

از دیگر عوامل پیش التهابی، پروتئین واکنشگر C [6](CRP) است که از پروتئین‌های فاز حاد بوده که در حین عفونت، التهاب و آسیب بافتی، به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (۱۳). اغلب از طریق کبد در پاسخ به میانجی‌های التهابی خونی ساخته و در خون ترشح می‌شود (۵). از بین پروتئین‌های فاز حاد، اندازه‌گیری CRP به علت افزایش سریع آن در آغاز ضایعه بافتی و کاهش سریع آن به محض بهبودی، بهترین راه تشخیص ضایعات بافتی است (۱۴).

ورزشکاران برای کسب آمادگی‌های لازم، پروتکل‌های تمرینی متفاوتی را با هدف بهبود عملکرد قلبی عروقی، سوخت و سازی و عضلانی – اسکلتی اجرا می‌کنند. یکی از پرکاربردترین پروتکل‌های تمرینی در میان ورزشکاران، پروتکل تمرینات استقامتی است که برای کسب آمادگی هوازی به کار می‌رود. تمرینات استقامتی به صورت فعالیت‌های ورزشی مداوم و تکراری (مانند: دویدن، پیاده روی، شنا، دوچرخه سواری و ...) و معمولاً در زمان و مسافت بالای تمرینی اجرا می‌شوند. یکی از عوامل تاثیرگذار در برنامه تمرین استقامتی استفاده از یک برنامه دارای زمانبندی هدفمند است که تا سازگاری ایجاد شده در جهت بهبود هدف مورد نیاز آن رشته ورزشی باشد (۱۵). زمانبندی تمرین عبارت است از تغییرات منظم در روند تمرین برای توسعهٔ سازگاری تمرین که از فاز عدم سازگاری و یکنواختی پاسخ‌های تمرینی جلوگیری می‌کند. اگرچه مدل‌های مختلفی از زمانبندی تمرین وجود دارد،

[1] Interleukin
[2] Interferon
[3] Tumor necrosis factor alpha
[4] Growth Factors
[5] Chemokines
[6] C-Reactive Protein

اما یکی از انواع زمانبندی تمرین استقامتی روش سنتی یا خطی است.
زمانبندی خطی به شکل عمده‌ای برای ورزش‌هایی که دارای یک هدف تمرینی هستند مانند ورزش‌های دو و میدانی استفاده می‌شود که ورزشکار در طول فصل به یک یا دو اوج در عملکرد نیاز دارد. در این نوع زمانبندی، با افزایش خطی شدت تمرین در طول برنامهٔ تمرینی، حجم تمرین کاهش می‌یابد(۱۵).
کبد از اندام‌های اصلی و بزرگ بدن است که با کمک آنزیم‌های مختلف در تنظیم فعالیت‌های هورمونی و سوخت و سازی بدن، هنگام استراحت، تمرین و مرحله برگشت به حالت اولیه پس از انجام فعالیت‌های ورزشی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، در نتیجهٔ تمرینات سنگین جریان خون کبد به ۵ درصد کاهش می‌یابد در صورتی که در شرایط طبیعی، کبد ۲۷ درصد میزان خون در گردش را دریافت می‌کند (۱۶). کاهش طولانی‌مدت خون به کبد در پی ورزش‌های شدید عواقب زیادی را به دنبال دارد که خستگی مشاهده شده به دنبال ورزش‌های زیر بیشینه مداوم بخشی از آن محسوب می‌شود؛ همچنین، کبد از حساس‌ترین بافت‌های هدف فشار اکسایشی و التهاب ناشی از تمرین است (۱۷)، همین عامل سبب می‌شود تا فرضیه بررسی شاخص‌های التهابی در کبد مطرح گردد.
یکی از شیوه‌های مقابله با التهاب‌های ناشی از فعالیت شدید و سنگین و همچنین مهار اثرات نامطلوب آن استفاده از مکمل‌های خوراکی است. در سالیان اخیر استفاده از گیاهان دارویی به علت عوارض کمتر آنها بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، به طوری که ۲۵٪ کل داروهای موجود در آمریکا مشتق از گیاهان دارویی می‌باشد و این گیاهان در بعضی موارد جانشین مناسبی برای فراورده‌های دارویی است. از آنجا که منابع طبیعی گیاهان معمولاً پایدار، فراوان و سالم هستند، بنابراین راه پژوهش بر روی گیاهان دارویی هموار بوده و بررسی گیاهان دارویی در برخی موارد به کاربری درمانی یک گیاه جدید منجر شده و یا موجب کشف یک ماده شیمیایی موثر مشتق از گیاهان گردیده است (۱۸). یکی از این مکمل‌های گیاهی، مریم‌گلی، متعلق به خانواده نعناع می باشد که بیش از ۹۰۰ گونه از آن در جهان شناسایی شده است و بالغ بر ۱۷ گونه آن نیز در ایران گزارش شده است (۱۹). مریم‌گلی دارای چندین ترکیب فعال نظیر سینئول[۷]، فلاونوئیدها[۸]، ترکیب پلی‌فنولی[۹] از جمله رزمارینیک اسید[۱۰]، فلوریک اسید[۱۱]، ترکیبات دیترین چون کارنوسیک اسید[۱۲]، مانول[۱۳]، ویتامین C و E است (۲۰) و اثرات ضد التهابی، ضد قارچی، ضد میکروبی و ضد اضطرابی آن ثابت شده است (۲۱). پژوهش‌هایی انجام شده است که نشان می‌دهد، استعمال موضعی مریم‌گلی میزان التهاب را کاهش می‌دهد (۲۲) و در پژوهشی که خاکپور و همکاران (۲۰۱۴)، در رابطه با اثرات ضد التهابی گیاه مریم‌گلی انجام دادند، نشان دادند که تزریق درون صفاقی عصاره مریم‌گلی باعث کاهش التهاب می‌گردد (۲۲).
با توجه به اینکه، تاکنون پژوهشی درمورد تاثیر شیوهٔ زمانبندی تمرینات استقامتی خطی و مصرف عصاره گیاهی مریم‌گلی و اثر تعاملی هر دو بر روی سطوح شاخص‌های التهابی کبد انجام نشده است، این پژوهش درنظر دارد تا اثر مکمل سازی بلندمدت گیاه مریم گلی را بر شاخص‌های التهابی منتخب کبدی ناشی از اجرای باردهی خطی تمرین استقامتی مورد بررسی قرار دهد.

[7] Cineol
[8] Flavonoid
[9] Polyphenol
[10] Rosmarinic Acid
[11] Fluoric acid
[12] Carnosic acid
[13] Manole

روش تحقیق:

پژوهش حاضر از نوع تجربی و طرح پژوهش بصورت طرح پس‌آزمون چند گروهی بود. نمونه‌ها در این پژوهش شامل ۳۴ سر موش صحرایی نر ویستار (وزن ۹.۰۸±۲۰۴.۴۵ گرم و سن ۸ هفته) بود که از موسسهٔ پاستور کرج خریداری شدند و پس از یک هفته آشناسازی به طور تصادفی در پنج گروه، گروه کنترل(n=6) ، گروه مریم گلی (n=6)، گروه سالین (دریافت کننده استرس گاواژ) (n=6)، گروه تمرین استقامتی خطی (n=8)، گروه تمرین استقامتی خطی+مریم گلی (n=8) قرار گرفتند. حیوانات به‌صورت گروه‌های ۴ سر موش در هر قفس پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲±۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخهٔ تاریکی و روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. آب و مواد غذایی (رژیم پایهٔ استاندارد تهیه شده از شرکت خوراک دام پارس تهران) به صورت دسترسی آزاد بود.

برنامه تمرین استقامتی خطی شامل هشت هفته (پنج جلسه در هفته) دویدن بر روی نوارگردان جوندگان (ساخت پیشرو صنعت-شیراز) با افزایش شدت تمرینی تا هفته پایانی (بجز کاهش بار هفته پنجم) بود. برنامهٔ تمرینی با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، به مدت ۳۰ دقیقه در هفته اول اجرا شد و افزایش تدریجی در هر هفته اعمال شد تا به سرعت ۳۵ متر در دقیقه با زمان ۷۰ دقیقه (برابر با ۸۰-۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) در آخرین هفته رسید (۲۳)(شکل ۱). برای جلوگیری از بیش تمرینی، در هفتهٔ پنجم کاهش بار وجود داشت. قبل از شروع هر جلسه تمرین، موش‌ها ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه گرم کردن و در پایان تمرین ۵ دقیقه با سرعت ۶ متر در دقیقه سرد کردن را اجرا کردند. برنامهٔ تمرینی در آزمایشگاه جانوری دانشگاه زنجان انجام شد. در این پژوهش، موش‌ها عصاره برگ گیاه مریم گلی را روزانه به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به مدت هشت هفته و به صورت گاواژ دریافت کردند (۲۴). برای تهیهٔ عصاره مریم گلی ابتدا برگ‌ها شستشو داده شد و سپس در سایه خشک شدند. سپس برگ‌های خشک شده توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شد و پودر حاصل در اتانول بدون تلخی ۹۹.۵ درصد حل گردید. پس از صاف کردن محلول با استفاده از دستگاه روتاری حلال از عصاره جدا شد، نهایتاً پس از خشک کردن عصاره با اضافه نمودن نرمال سالین عصاره آبی به دست آمد (۲۵).

پس از اتمام دوره تجربی هشت هفته‌ای، تمام گروه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی) با ترکیب زایلازین (سه تا پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس کبد موش‌های صحرایی جدا شد. موش‌های صحرایی ۱۲ ساعت قبل از تشریح بدون غذا نگهداری شدند. در زمان تشریح برای جلوگیری از تداخل اثر زمان تشریح (ریتم شبانه‌روزی) بر میزان هورمون‌ها و آنزیم‌ها، موش‌ها به‌صورت متناوب از گروه‌های پنجگانه تشریح شدند. پس از تشریح و نمونه‌برداری، نمونه‌های بافت کبد پس از شستشو با آب مقطر در ازت مایع فریز شده و تا زمان اجرای کارهای آزمایشگاهی در یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بیان ژن کبدی شاخص‌های التهابی با استفاده از روش Real Time PCR و با استفاده از کیت Hybrid-R^{TM} برای TNF-α و RealAmp^{TM}2XqPCRMaster Mix برای CRP ساخت شرکت Gene All کره جنوبی انجام گرفت.

پس از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی و استنباطی تحلیل شد. ابتدا با استفاده از آزمون شاپیروویلک نحوهٔ توزیع طبیعی داده‌ها بررسی شد. سپس با توجه به توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون تحلیل‌واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی به منظور تفاوت‌های بین گروهی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۳ استفاده گردید. در این بررسی مقدار P≤0/05 به معنای رد فرض صفر درنظر گرفته شد.

یافته‌ها:

میانگین و انحراف معیار متغیر وزن نمونه‌های پژوهش و نیز شاخص‌های التهابی موردنظر در بافت کبد آزمودنی‌ها به تفکیک گروه و به ترتیب در جدول شمارهٔ ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱- میانگین وزن اولیه، نهایی و تغییرات وزن نمونه‌ها (وزن برحسب گرم).

گروه	تعداد	وزن اولیه	وزن پایانی	تغییرات وزن
کنترل	۶	۶.۸۲±۲۰۷.۰۰	۸.۰۷±۳۰۸.۵۰	۷.۱۰±۹۱.۰۰
سالین	۶	۱۲.۹۶±۲۰۱.۳۳	۱۵.۸۶±۲۹۹.۳۳	۱۲.۲۲±۹۴.۶۶
عصاره	۶	۱۲.۹۶±۲۰۳.۳۳	۱۰.۴۰±۲۹۴.۰۰	۹.۱۲±۹۰.۶۶
تمرین استقامتی خطی	۸	۳.۵۶±۲۰۲.۸۰	۱۰.۲۰±۲۷۶.۸۰	۷.۰۱±۶۴.۰۰
تمرین استقامتی خطی+عصاره	۸	۹.۱۱±۲۰۷.۸۰	۸.۷۷±۲۹۶.۶۰	۶.۵۹±۸۸.۸۰
جمع کل	۳۴			

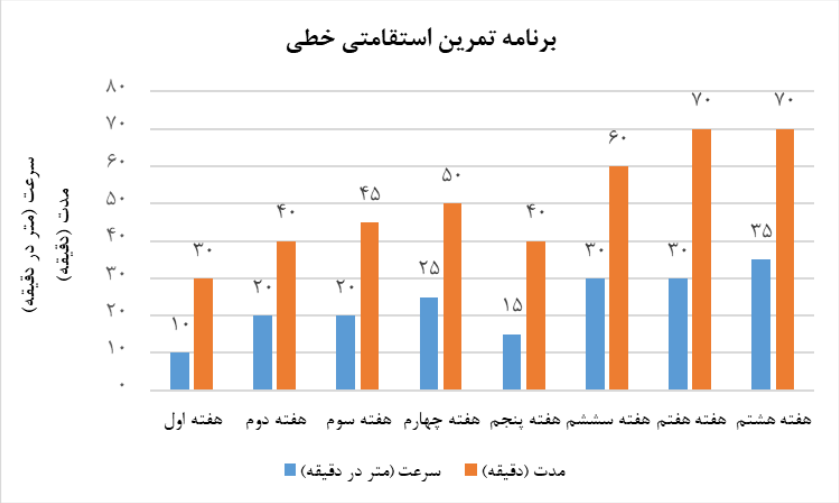
جدول ۲- مقادیر بیان ژن TNF-α و CRP کبد پس از ۸ هفته جلسه تمرینی

متغیر / گروه	TNF-α کبد (کیلوبیس)	CRP کبد (کیلوبیس)
	M ± SD	M ± SD
کنترل	۱.۱۵± ۰.۱۴۵	۱.۰۶ ± ۰.۷۲
استقامتی خطی	۴.۴۴ ± ۰.۳۴	۵.۷۶ ± ۰.۱۶
عصاره مریم گلی	۱.۸۳ ± ۰.۲۲	۱.۶۶ ± ۰.۱۱
سالین	۲.۱۳ ± ۰.۲۰۴	۱.۸۵ ± ۰.۱۴
عصاره+خطی	۳.۴۶ ± ۰.۲۹	۴.۰۴ ± ۰.۰۷

تجزیه و تحلیل آماری آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین گروه‌های پنجگانه در میزان بیان ژن TNF-α کبد تفاوت معنی‌داری وجود دارد [$F_{۴،۳۰}$=۲۱.۰۵۳،P=۰.۰۰۰۱ ، η^2=۰.۷۶]. برای مقایسه میزان این متغیر در گروه‌های پنجگانه از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن TNF-α کبد در گروه تمرین استقامتی خطی-عصاره (۳.۴۶±۰.۲۹ کیلوبیس) نسبت به گروه تمرین استقامتی خطی (۴.۴۴±۰.۳۴ کیلوبیس) بطور غیر معنی‌داری کمتر بود(P=۰.۲۵۲). همچنین، بیان ژن TNF-α کبد گروه تمرین استقامتی خطی (۴.۴۴±۰.۳۴ کیلوبیس) نسبت به گروه کنترل (۱.۱۵±۰.۱۴۵ کیلوبیس) بطور معنی دار بالاتر بود(P=۰.۰۰۰۱).

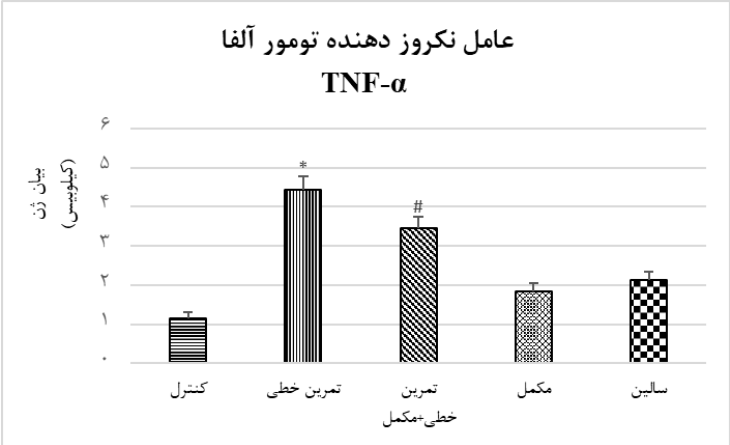
همچنین، بیان ژن TNF-α کبد گروه سالین (۲.۱۳±۰.۲۰۳) نسبت به گروه عصاره مریم‌گلی (۱.۸۳±۰.۲۲ کیلوبیس) بطور غیر معنی‌داری بالاتر بود(P=۰.۹۸۵). علاوه بر این، بیان ژن TNF-α کبد گروه عصارهٔ مریم گلی (۱.۸۳±۰.۲۲ کیلوبیس) نسبت به گروه تمرین استقامتی خطی (۴.۴۴±۰.۳۴ کیلوبیس) و تمرین استقامتی خطی-عصاره مریم گلی(۳.۴۶±۰.۲۹ کیلوبیس) بطور معنی‌داری کمتر بود (P=۰.۰۰۰۱)(P=۰.۰۰۴). همچنین، بیان ژن TNF-α کبد گروه سالین (۲.۱۳±۰.۲۰۳ کیلوبیس) نسبت به

گروه تمرین استقامتی خطی (۴.۴۴±۰.۳۴ کیلوبیس) و تمرین استقامتی خطی-عصاره (۳.۴۶±۰.۲۹ کیلوبیس) بطور معنی‌داری کمتر بود (P=۰.۰۳۲)(P=۰.۰۰۰۱). و نیز، بیان ژن TNF-α کبد گروه تمرین استقامتی خطی-عصاره (۳.۴۶±۰.۲۹ کیلوبیس) نسبت به گروه کنترل (۱.۱۵±۰.۱۴۵ کیلوبیس) بطور معنی‌داری بالاتر بود (P=۰.۰۰۰۱)(شکل ۱).



شکل ۱- برنامهٔ تمرین استقامتی خطی

مصرف مکمل گیاهی مریم گلی در کنار تمرین استقامتی التهاب ناشی از تمرین را کاهش داد که این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۲). همچنین، اجرای تمرین استقامتی سبب افزایش التهاب در کبد موش‌های صحرایی شده است (شکل ۲).



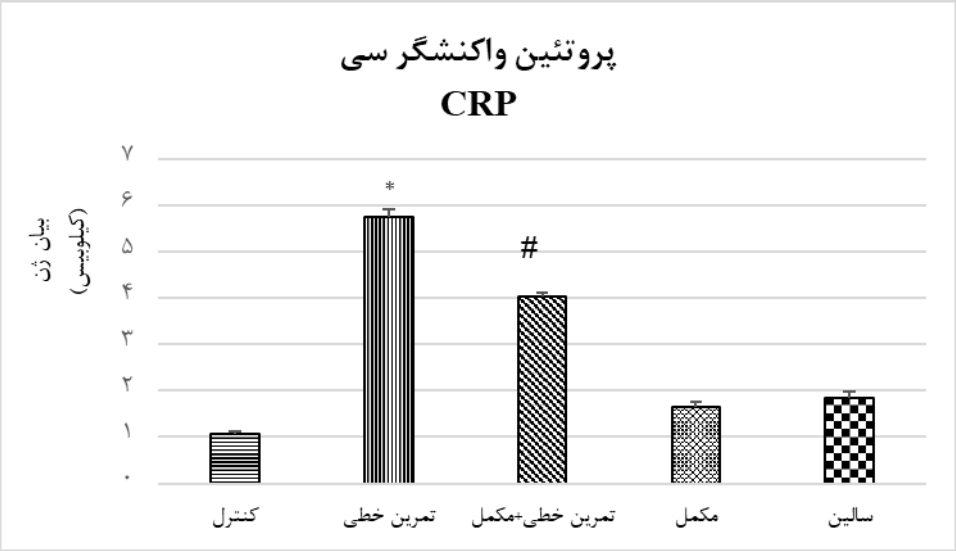
شکل ۲- تغییرات بیان ژن TNF-α کبد

*: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل، مریم گلی و سالین

#: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل، مریم گلی و سالین

تجزیه و تحلیل آماری آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین گروه‌های پنجگانه در بیان ژن CRP کبد تفاوت معنی‌داری وجود دارد [$F_{۴،۳۰}$=۱۷۳.۵۳۰،P=۰.۰۰۰۱ ، $\eta^{۲}$=۰.۹۶]. برای مقایسه میزان این متغیر در گروه‌های پنجگانه از آزمون

تعقیبی توکی استفاده شد و نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد میزان بیان ژن CRP کبد گروه تمرین استقامتی خطی–عصاره (۴.۰۴±۰.۰۷ کیلوبیس) نسبت به گروه تمرین استقامتی خطی (۵.۷۶±۰.۱۶ کیلوبیس) بطور معنی‌داری کمتر بود (P=۰.۰۰۰۱).



شکل ۳- تغییرات بیان ژن CRP کبد

*: افزایش معنی‌دار نسبت به سایر گروه‌ها

#: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل، مریم گلی و سالین

بیان ژن CRP کبد گروه تمرین استقامتی خطی (۵.۷۶±۰.۱۶ کیلوبیس) نسبت به گروه کنترل (۱.۰۶±۰.۷۲ کیلوبیس) بطور معنی‌داری بالاتر بود (P=۰.۰۰۰۱). همچنین، بیان ژن CRP کبد گروه سالین (۱.۵۸±۰.۱۴ کیلوبیس) نسبت به گروه عصاره مریم‌گلی (۱.۶۶±۰.۱۱ کیلوبیس) بطور غیر معنی‌داری کمتر بود (P=۰.۹۳۶). علاوه بر این، بیان ژن CRP کبد گروه عصارهٔ مریم گلی (۱.۶۶±۰.۱۱ کیلوبیس) نسبت به گروه استقامتی خطی(۵.۷۶±۰.۱۶ کیلوبیس) و تمرین استقامتی خطی–عصاره (۴.۰۴±۰.۰۷ کیلوبیس) بطور معنی‌داری کمتر بود (P=۰.۰۰۰۱) در هر دو. همچنین، بیان ژن CRP کبد گروه سالین (۱.۵۸±۰.۱۴ کیلوبیس) نسبت به گروه تمرین استقامتی خطی (۵.۷۶±۰.۱۶ کیلوبیس) و تمرین استقامتی خطی–عصاره (۴.۰۴±۰.۰۷ کیلوبیس) بطور معنی‌داری کمتر بود (P=۰.۰۰۰۱) در هر دو و نیز، بیان ژن CRP کبد گروه تمرین استقامتی خطی–عصاره (۴.۰۴±۰.۰۷ کیلوبیس) نسبت به گروه کنترل (۱.۰۶±۰.۷۲ کیلوبیس) بطور معنی‌داری بالاتر بود (P=۰.۰۰۰۱)(شکل ۳).

بحث:

یافته‌های پژوهش نشان داد که اجرای بلندمدت تمرین استقامتی خطی سبب افزایش بیان ژن کبدی هردو شاخص التهابی TNF-αو CRP در موش‌های صحرایی شد و نیز مصرف مکمل گیاهی مریم گلی در کنار اجرای این تمرین استقامتی، این افزایش ناشی از اجرای تمرین را کاهش داد (شکل‌های ۱ و ۲).

سایتوکین TNF-α به عنوان یک عامل التهابی مطرح بوده و منبع اصلی تولید آن، سلول‌های کشنده طبیعی و ماکروفاژها هستند و یکی از مهمترین سازوکارهای دفاعی بدن در برابر عفونت ناشی از عوامل مختلف به حساب می‌آید (۲۶). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعالیت‌های ورزشی اثرات التهابی و ضد التهابی بر روی دستگاه ایمنی دارند؛ در مورد اثر دوره‌های بلندمدت تمرین

استقامتی بر سطح استراحتی TNF-α یافته‌های متفاوتی شامل افزایش (۹)، عدم تغییر (۱۰) و کاهش (۱۱) این سایتوکین پیش التهابی گزارش شده است. نعمتی و همکاران (۲۰۱۸)، در پژوهش خود نشان دادند که اجرای تمرین استقامتی خطی سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن TNF-α در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر ویستار شد (۲۷). همچنین، مولدوون[14] و همکارانش (۲۰۰۰)، نشان دادند که سه ساعت تمرین هوازی با شدت ۶۰–۶۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشنه منجر به افزایش میزان TNF-α می‌شود، آنها این افزایش را به تغییرات سوخت و ساز و عصبی–هورمونی ناشی از تمرینات ورزشی نسبت دادند که یافته‌های این دو پژوهش، همسو با یافته‌های پژوهش حاضر بود (۲۸). از طرفی، سلامت و همکاران (۲۰۱۷)، پس از اجرای هشت هفته تمرین هوازی (سه جلسه در هفته به مدت ۱۵۰ دقیقه)، تغییر معنی‌داری را در مقدار TNF-α در سرم آزمودنی‌ها مشاهده نکردند (۲۹) که ناهمسو با یافته‌های پژوهش حاضر بود. علت ناهمسویی می‌تواند به دلیل طول دوره تمرینات مورد استفاده شده، نوع آزمودنی‌ها و بافت مورد اندازه‌گیری در پژوهش باشد. همچنین، در پژوهش حاضر احتمالاً، شدت تمرینات و نوع برنامه‌ریزی تمرینات به کار گرفته شده به گونه‌ای بوده است که سبب افزایش بیان ژن TNF-α در بافت کبد شده است. سازوکار افزایش بیان ژن TNF-α در بافت کبد در تحقیق حاضر، می‌تواند به این دلیل باشد که سایتوکین‌ها در هنگام فعالیت ورزشی از مونوسیت‌ها آزاد می‌شوند، بنابراین، به نظر می‌رسد حداقل قسمتی از افزایش میزان بیان ژن عامل نکروز دهنده آلفا، می تواند ناشی از تسهیل تولید آن توسط سلول‌های مونوسیت باشد (۳۰).

همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که مصرف عصاره مریم گلی در کنار تمرین استقامتی خطی، سبب کاهش غیرمعنی‌دار بیان ژن TNF-α ، نسبت به گروه تمرین استقامتی خطی شد. یافته‌های پژوهش حاضر با یافته‌های پژوهش نعمتی و همکاران (۲۰۱۸) همسو بود، آنها در پژوهش خود نشان دادند که مصرف عصارهٔ مریم گلی در کنار اجرای تمرینات استقامتی خطی کاهش غیرمعنی‌داری را در بیان ژن TNF-α در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر ویستار ایجاد کرد (۲۷). از سویی، یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج پژوهش فرهادی و همکاران (۱۳۹۵) که در پژوهش خود نشان دادند، استفاده از قرص انار در کنار ۸ هفته فعالیت هوازی سبب افزایش معنی‌دار TNF-α در مردان غیر ورزشکار شده است، ناهمسو بود (۳۱). علت ناهمسویی می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع و میزان ترکیبات فنولی موجود در مکمل‌های مورد استفاده، نوع آزمودنی‌ها، شدت تمرینات به کار گرفته شده باشد.

در توجیه این آثار ضد التهابی، به نظر می‌رسد که سازوکار عمل عصاره مریم گلی بدین صورت است که اسید رزمارینیک موجود در عصاره گیاه مریم گلی باعث کاهش لکوترین B4 و در نتیجه کاهش التهاب می‌شود (۳۲). فعال‌سازی لوکوسیت‌ها در طی التهاب حاد موجب تراوش بسیاری از واسطه‌های پیش التهابی از جمله TNF-α می‌شود. همچنین، یافته‌های این پژوهش نشان داد که تمرینات ورزشی همراه با مصرف عصاره مریم گلی سبب تعدیل بیان ژن TNF-α در بافت کبد شده است، انتظار می‌رود این تعدیل منجر به کاهش التهاب مزمن و عوارض وابسته به آن شود.

یافته‌های پژوهش حاضر در ارتباط با اثر افزایشی تمرین استقامتی خطی بر روی بیان ژن CRP در بافت کبد همسو با یافته‌های پژوهش شاهدی و همکاران (۲۰۱۹)، بود که در پژوهش خود نشان دادند که اجرای تمرین استقامتی سبب افزایش معنی‌دار CRP در بافت قلب موش‌های صحرایی شد (۳۳). از طرفی، یافته‌های پژوهش حاضر ناهمسو با یافته‌های پژوهش سلامت و همکاران (۲۰۱۷) بود، آنها پس از اجرای هشت هفته تمرین هوازی (سه جلسه در هفته به مدت ۱۵۰ دقیقه)، کاهش معنی‌داری را در مقدار CRP در سرم آزمودنی‌ها مشاهده کردند (۲۹). علت ناهمسویی می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع آزمودنی‌ها، میزان اولیه CRP، شیوه برنامه تمرینی (شدت، مدت) و شیوه اندازه‌گیری باشد. سازوکاری که سبب کاهش CRP در پژوهش یاد شده، عنوان شده

[14] Moldoveanu, 2000

است شاید به دلیل کاهش عامل نکروز دهندۀ آلفا باشد. چورچ[15] و همکاران (۲۰۰۲)، پیشنهاد کردند که TNF-α و IL-6 از بافت چربی رها می‌شوند و رهایی آنها، به واسطۀ تنظیم منفی تحریک سمپاتیک از طریق فعالیت جسمانی افزایش می‌یابد که ممکن است منجر به کاهش CRP شود. TNF-α سبب تولید IL-6 شده و IL-6 نیز تولید CRP را تحریک می‌کند. تکرار فعالیت ورزشی به صورت منظم TNF-α و IL-6 را کاهش می‌دهد. بدین طریق ممکن است IL-6 مسئول کاهش CRP باشد (۳۴). همچنین، نتایج برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد فعالیت بدنی منظم، بیان مولکول‌های چسبان لکوسیتی و سطوح خونی آنها را کاهش می‌دهند و از تعامل بین مونوسیت‌ها و سلول‌های آندوتلیال ممانعت ایجاد می‌کنند و تولید سایتوکین‌های ضد التهابی در سلول‌های تک هسته‌ای را کاهش می‌دهند. همچنین، با ایجاد تعادل بین تولید سایتوکین‌های پیش التهابی و ضد التهابی در عضلات اسکلتی دفاع آنتی اکسیدانی را بهبود می‌بخشد (۳۵). اما در پژوهش حاضر، خلاف این مطالب مشاهده شد که می توان آن را به بروز التهاب سیستمیک در بدن، در اثر اجرای تمرینات استقامتی نسبتاً سنگین نسبت داد. همچنین، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که مصرف عصاره مریم‌گلی در کنار تمرین استقامتی خطی، سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن CRP بافت کبد نسبت به گروه تمرین استقامتی خطی شد. یافته‌های پژوهش حاضر همسو با یافته‌های نورا و همکاران (۲۰۲۰)، بود که در پژوهش خود نشان دادند که مصرف ژل رویال در کنار تمرین استقامتی (هشت هفته، پنج جلسه در هفته، ۱۵ تا ۲۰ متر در دقیقه) سبب کاهش معنی‌دار CRP در بافت عضلانی موش صحرایی شد(۳۶). همچنین، یافته‌های پژوهش حاضر ناهمسو با یافته‌های پژوهش براری و همکاران (۲۰۱۲)، بود که نشان دادند مصرف دو هفته‌ای عصاره خار مریم به دنبال فعالیت هوازی (با شدت ۷۰ درصد ضربان قلب ذخیره) منجر به افزایش پاسخ التهابی (اینترلوکین-۶) در دانشجویان مرد می‌شود (۳۷). علت ناهمسویی موجود بین یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج پژوهش یاد شده ممکن است ناشی از تفاوت در شیوۀ مکمل‌سازی (نوع مکمل، قرارداد مصرف مکمل، میزان و زمان مصرف)، قرارداد ورزشی (شدت، مدت و نوع فعالیت) باشد.

CRP، پروتئین واکنشگر مرحله حاد است که عموماً به عنوان نشانگر التهاب سیستمیک استفاده می‌شود. CRP به طور عمده توسط سلول‌های کبدی، لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها تولید می‌شود (۳۸). مکمل‌های گیاهی می‌توانند CRP تولید شده در حین فعالیت را کاهش دهند. سازوکار پیشنهادی درخصوص اثر ضد التهابی مکمل مریم‌گلی می‌تواند بدین صورت باشد که مواد موجود در عصاره مصرف شده به دلیل شباهت ساختاری به هورمون‌های استروئیدی می‌تواند وارد هسته سلولی شود و با اثر بر روی آنزیم‌های RNA پلی‌مراز I و رونویسی rRNA، شکل‌گیری ریبوزوم‌ها را در جهت افزایش روند سنتز پروتئین‌های ساختاری و عملکردی، بهبود بخشد (۳۹). این تحریک ممکن است در ادامه با افزایش یکپارچگی غشا سلولی، آن را در مقابله با انواع فشارهای مکانیکی و متابولیکی ناشی از فعالیت‌های بدنی توانمند سازد. به علاوه در پژوهش‌های آزمایشگاهی، چنین بیان شده است که مواد موجود در عصاره مریم‌گلی از طریق بلوکه کردن کینازهای وابسته به سیگنال برون سلولی فعال شده بر اثر میتوژن ۱ و ۲ و فعال کردن مسیر ضد التهابی پروتئین کیناز A وابسته به آدنوزین مونو فسفات حلقوی باعث مهار مسیر پیام دهی فاکتور هسته‌ای کاپا-بی به عنوان عامل اصلی در رونویسی عوامل التهابی و کاهش سایر عوامل آبشار التهابی از جمله عامل نکروز دهنده تومور آلفا می‌گردد (۴۰).

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که به کارگیری تمرین استقامتی خطی می‌تواند سبب افزایش بیان ژن TNF-α و CRP در کبد گردد که به نظر می‌رسد این امر می‌تواند سبب بروز التهاب شود، اما استفاده از مکمل‌سازی بلندمدت عصاره مریم گلی در کنار اجرای

[15] Church, 2002

تمرین استقامتی خطی، احتمالاً التهاب ناشی از این تمرین استقامتی را کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر حاصل پایان نامهٔ کارشناسی ارشد فیزیولوژی تغذیه ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی زنجان است که با هزینهٔ شخصی دانشجو و حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه انجام شده است.

منابع:

Alinejad HA, Shamsi MM. Exercise induced release of cytokines from skeletal muscle: emphasis on IL-6. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2010;12(2):181-90, 203.

Shishehbor MH, Bhatt DL, Topol EJ. Using C-reactive protein to assess cardiovascular disease risk. Cleveland Clinic journal of medicine. 2003;70(7):634-40.

Castellano V, Patel DI, White LJ. Cytokine responses to acute and chronic exercise in multiple sclerosis. Journal of Applied Physiology. 2008;104(6):1697-702.

Howatson G, Van Someren KA. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. Sports Medicine. 2008;38(6):483-503.

Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. The Journal of clinical investigation. 2006;116(7):1793-801.

Makhija K, Karunakaran S. The role of inflammatory cytokines on the aetiopathogenesis of depression. Australian & New Zealand Journal of Psychiatry. 2013;47(9):828-39.

Tarkowski E, Blennow K, Wallin A, Tarkowski A. Intracerebral production of tumor necrosis factor-α, a local neuroprotective agent, in Alzheimer disease and vascular dementia. Journal of clinical immunology. 1999;19(4):223-30.

Fleg JL. Physical Activity as Anti-Inflammatory Therapy for Cardiovascular Disease. Preventive cardiology. 2005;8(1):8-10.

Scheett TP, Nemet D, Stoppani J, Maresh CM, Newcomb R, Cooper DM. The effect of endurance-type exercise training on growth mediators and inflammatory cytokines in pre-pubertal and early pubertal males. Pediatric research. 2002;52(4):491.

Greiwe JS, Cheng B, Rubin DC, Yarasheski KE, Semenkovich CF. Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor α in frail elderly humans. The FASEB Journal. 2001;15(2):475-82.

Linke A, Adams V, Schulze PC, Erbs S, Gielen S, Fiehn E, et al. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. Circulation. 2005;111(14):1763-70.

Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2010;20(8):608-17.

Alizadeh H, Daryanoush F, Mehrabani D, Kushki Jahromi M. Evaluation of changes in inflammatory indices and muscle damage in male mice after eight weeks of aerobic exercise and omega-3 supplementation 3. Journal of Exercise Biosciences (Movement). 2011; 10: 77-94.(in persian).

Simopoulos A. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. Biomedicine & pharmacotherapy. 2006;60(9):502-7.

Kraemer, W. J., & Ratamess, N. A. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. Medicine and science in sports and exercise. 2004; 36(4), 674-688.

Ajami Nezhad M, Sabet Jahromi MJ. The effects of a single bout of aerobic exercise at different intensities on markers of liver function and blood hemoglobin in healthy untrained male. The Horizon of Medical Sciences. 2014;19(4):184-91.

Galteau M, Siest G, Boura M. Does mild exercise affect the reference values of the blood parameters?(author's transl). Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 1974;55(3):353-7.

Hayder N, Abdelwahed A, Kilani S, Ammar RB, Mahmoud A, Ghedira K, et al. Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) Myrtus communis. Mutation

Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2004;564(1):89-95.
Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. The pharmacological effects of Salvia species on the central nervous system. Phytotherapy Research. 2006;20(6):427-37.
Lu Y, Foo LY. Polyphenolics of Salvia—a review. Phytochemistry. 2002;59(2):117-40.
Walch SG, Ngaba Tinzoh L, Zimmermann BF, Stühlinger W, Lachenmeier DW. Antioxidant capacity and polyphenolic composition as quality indicators for aqueous infusions of Salvia officinalis L.(sage tea). Frontiers in pharmacology. 2011;2:79.
Khakpour S, Khosravi M, Jafari Marandi S, Ahadi Ali M. The effect of hydroalcoholic extract of Salvia officinalis L. on the inflammatory reduction in male mice. Medical Science Journal of Islamic Azad Univesity-Tehran Medical Branch. 2014;24(3):136-42.
Gorzi A, Rajabi H, Gharakhanlou R, Azad A. Effects of Endurance Training on A12 Acetyl Cholinesterase Activity in Fast and Slow-Twitch Skeletal Muscles of Male Wistar Rats. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013;15(10):28-31.
Gomar AS, Hosseini A, Mirazi N, Gomar M. The effect of alcoholic extract of Salvia officinale on reducing hyoscine pain in adult male Wistar rats. Journal of Ardabil University of Medical Sciences 2015; 15 (3), 237-245.
Kar A, Panda S, Bharti S. Relative efficacy of three medicinal plant extracts in the alteration of thyroid hormone concentrations in male mice. Journal of ethnopharmacology. 2002;81(2):281-5.
Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. Jama. 2003;289(14):1799-804.
Nemati V, Rahmani A, Qasemnian A, Karimi asl A. The effect of linear and nonlinear endurance training with salovia supplementation on some oxidative stress indices, TNF-α gene expression, hippocampal apoptosis and endurance performance in male rats. Ministry of Science and Research. 2018. Zanjan University, Faculty of Humanities. (in persian).
Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1β, IL-6, and TNF-α in blood mononuclear cells. Journal of Applied Physiology. 2000;89(4):1499-504.
Mohamadzadeh Salamat K, Bakhtiari N. The Effects of Endurance and Resistance Training on Systemic Inflammatory Markers and Metabolic Syndrome Parameters in Overweight and Obese Men. Report of Health Care. 2017;3(3):15-26.
Dill DB, Costill DL. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. Journal of applied physiology. 1974;37(2):247-8.
Farhadi H, Rahimi F, Baqaei b. The effect of taking pomegranate pill supplement for eight weeks on inflammatory markers and muscle damage in non-athlete overweight men under different intensities of VO2max. Applied studies of life sciences in sports. 2017; 5 (9): 31-41.
Al-Sereiti M, Abu-Amer K, Sena P. Pharmacology of rosemary (Rosmarinus officinalis Linn.) and its therapeutic potentials. 1999.
Shahedi V, Soori R. The Effect of Endurance Training and Purslane Seed Consumption on NF-κB and CRP in the Heart Tissue of Rats Exposed to Oxidative Damage Induced by H 2 O 2. Journal of Archives in Military Medicine.7(1-2).
Church TS, Barlow CE, Earnest CP, Kampert JB, Priest EL, Blair SN. Associations between cardiorespiratory fitness and C-reactive protein in men. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2002;22(11):1869-76.
Kasapis C, Thompson PD. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. Journal of the american College of Cardiology. 2005;45(10):1563-9.

Noura M, Arshadi S, Zafari A, Banaeyfar A. Effect of Endurance Training with Royal Jelly on CRP Gene Expression in Muscle Tissue of Rats with Alzheimer's Disease. Middle East Journal of Rehabilitation and Health Studies. 2020;7(1).

Barari AR, Alavi SH, Shirali S, Ghazalian F. Effect of short-term endurance training and silymarin consumption on some of preinflammatory cytokines, growth mediators and immune system performance. Annals of Biological Research. 2012;3(6):2933-7.

Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. Circulation. 2003;107(3):363-9.

Hackett E, Twedt D, Gustafson D. Milk thistle and its derivative compounds: a review of opportunities for treatment of liver disease. Journal of veterinary internal medicine. 2013;27(1):10-6.

Sherif IO, Al-Gayyar MM. Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of silymarin on hepatic dysfunction induced by sodium nitrite. European cytokine network. 2013;24(3):114-21.