Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*

2018; 21(131): 43-54

The Effect of Saffron Stigmas Aqueous Extracts on Serum Cardiac Troponin T and Creatine Kinase MB Isoenzyme of Male Rats Following an Exhaustive Exercise

Amir Khosravi[1*], Fatemeh Omid Ali[2]

1. Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Boroujerdi University,Boroujerd, Iran
2. Instructor, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Boroujerdi University, Boroujerd, Iran.

Received: 16 Dec 2017, Accepted: 11 Mar 2018

Abstract

Background: The exhaustive and strenuous exercise may cause damaging effects to the heart. The present study aims to investigate the effect of Saffron stigmas aqueous extracts on serum cardiac troponin T and Creatine kinase MB isoenzyme of male rats following an exhaustive exercise.

Materials and Methods: 64 Wistar male rats were assigned into following four groups (n=16) :1) without exercise +distilled water 2 ml, 2) without exercise+ aqueous saffron extract, 50 mg/kg+ distilled water 2 ml, 3) distilled water 2 ml + 8 weeks exercise, and 4) aqueous saffron extract, 50 mg/kg +distilled water 2 ml + 8 weeks exercise.At the end of experiment, half of the rats were killed immediately before exhaustive exercise; on the other hand remaining rats were killed immediately after performing an acute bout of exhaustive exercise on the treadmill. Serum cardiac troponin T and CK-MB isoenzyme levels were measured by ELISA and spectrophotometric methods, respectively. Data were analyzed by one–way ANOVA.

Results: The results show that in all groups, cardiac troponin T and CK-MB isoenzyme serum levels were significantly increased following an exhaustive exercise. The lowest increase was observed in group 4 and the highest increase was observed in group 1 ($p<0.05$).

Conclusion: Based on the results of this study, it can be concluded that the use of saffron extract with aerobic training is more effective than aerobic exercise or saffron extract alone in modifying the increase of serum troponin T and CK-MB isoenzyme level following an exhausting exercise.

Keywords: Cardiac troponin T, CK-MB isoenzyme, Exhaustive acute exercise, Saffron aqueous extracts

*Corresponding Author:
Address: Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Boroujerdi University, Boroujerd, Iran
Email: stu_khosravi1@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۱، شماره ۲ (شماره پیاپی ۱۳۱)، اردیبهشت ۱۳۹۷، ۵۴-۴۳

اثر عصاره آبی زعفران بر تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم موش‌های صحرایی نر متعاقب فعالیت وامانده ساز

امیر خسروی[1*]، فاطمه امید علی[2]

۱. استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی(ره)، بروجرد، ایران.
۲. مربی، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی(ره)، بروجرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۵، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: فعالیت های بدنی با شدت بالا و وامانده ساز، ممکن است اثرات آسیب‌زایی بر قلب داشته باشند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر عصاره آبی زعفران بر تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم موش های صحرایی نر متعاقب فعالیت وامانده ساز بود.

مواد و روش‌ها: ۶۴ سر موش صحرایی نر ویستار به ۴ گروه مساوی(n =۱۴) تقسیم شدند: گروه ۱) بدون تمرین+ ۲ میلی لیتر آب مقطر، گروه ۲) بدون تمرین+ ۵۰ میلی گرم عصاره آبی کلاله زعفران محلول در ۲ میلی لیتر آب مقطر، گروه ۳) ۸ هفته تمرین استقامتی + ۲ میلی لیتر آب مقطر و گروه ۴) ۸ هفته تمرین استقامتی + ۵۰ میلی گرم عصاره آبی کلاله زعفران محلول در ۲ میلی لیتر آب مقطر. در پایان تحقیق نیمی از موش‌ها بلافاصله پیش از وامانده شدن و نیمی دیگر بلافاصله پس از آن بر روی نوار گردان قربانی شدند. تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم به ترتیب با استفاده از روش ELISA و اسپکتوفتومتری سنجیده شدند. داده ها با استفاده از آزمون آنووای یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: مقادیر تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم تمامی گروه ها متعاقب وامانده‌سازی افزایش نشان داد ($p<۰/۰۵$). کمترین افزایش در گروه ۴ و بیشترین افزایش در گروه ۱ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان داد مصرف عصاره زعفران به همراه تمرین هوازی نسبت به تمرین هوازی و یا مصرف عصاره زعفران به تنهایی در تعدیل افزایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز موثرتر می باشد.

واژگان کلیدی: فعالیت استقامتی حاد وامانده ساز، عصاره آبی زعفران، تروپونین T قلبی، ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز

***نویسنده مسئول:** ایران، بروجرد، دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی(ره)، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی
Email: stu_khosravi1@yahoo.com

مقدمه

فعالیت های بدنی منظم نقش چشمگیری در جلوگیری از ابتلای افراد به انواع بیماری های قلبی-عروقی دارند (۱). با این وجود، فعالیت های بدنی با شدت بالا و وامانده ساز، به ویژه در مواقعی که در مدت و یا شدت غیر متعارف انجام شوند، اثرات نامطلوبی بر قلب از جمله افزایش خطر آسیب به عملکرد بطن، سکته، ایست قلبی و افزایش ۴ تا ۵۶ برابری خطر وقوع حملات قلبی منجر به مرگ و غیر آن در مقایسه با وضعیت استراحت دارند (۲)، به طوری که در ایالات متحده سالانه حدود ۷۵۰۰۰ مورد حمله قلبی بلافاصله پس از ورزش گزارش شده که ۲۵۰۰۰ مورد آن‌ها به مرگ منتهی می شود (۳). امروزه در بررسی آسیب سلول های عضله قلبی از شاخص های بسیار جدیدی به نام تروپونین T قلبی (cTnT) و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز (CK-MB) استفاده می شود (۴). تروپونین T قلبی پروتئینی تنظیمی است که بخشی از دستگاه انقباضی سلول های قلبی را تشکیل می دهد (۵). ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز وظیفه انتقال گروه فسفریل به کراتین در سلول های قلب را بر عهده دارد. گرچه حدود ۳ درصد ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز موجود در خون می تواند ناشی از رهایش از سلول های عضلات اسکلتی باشد. با این وجود، این شاخص به همراه تروپونین T قلبی از مهم-ترین و اختصاصی‌ترین شاخص های نشان‌گر آسیب عضله قلبی هستند (۴). تحقیقات جدید نشان می‌دهند که فعالیت‌های بدنی درمانده ساز باعث رهایش ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز و تروپونین T قلبی به سرم می‌شوند (۸-۶). گرچه سازوکارهای دخیل در رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم پس از فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز طولانی مدت دقیقاً مشخص نیستند، ولی بدون شک یکی از عوامل اصلی این رخداد بروز فشار اکسایشی ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی بیش از ظرفیت دفاع ضد اکسایشی سلول‌های عضلانی قلب به دلیل افزایش جریان خون قلب (بیش از ۴ برابر وضعیت استراحت)، افزایش اکسیژن مصرفی سلول‌های قلبی، هایپوکسی، کاهش منابع گلیکوژن، تغییرات درجه حرارت و pH و در انتها برهم خوردن هومئوستاز یون کلسیم سلول‌های قلبی می‌باشد (۹). فشار اکسایشی منجر به ازهم‌گسیختگی یا آسیب به سلول و غشاء سلول‌های عضلانی قلب شده و در نتیجه منجر به رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم می شود (۵). با توجه به این‌که یکی از عوامل اصلی رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم بروز استرس اکسیداتیو در قلب می باشد، مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی می تواند در میزان رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم تأثیر گذار باشد(۶، ۱۰). یکی از گیاهانی که به دلیل ترکیبات مفید، رنگ، طعم و روش مصرف آسان دارای مصارف فراوانی در طب سنتی، طبخ غذا، صنایع غذایی و دارویی در دنیا است، زعفران می باشد. زعفران گیاهی کوچک و چند ساله از خانواده زنبق به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی متر و دارای پیازی سخت و مدور و گوشت دار و پوشیده از غشاهای نازک قهوه ای است. قسمت مورد استفاده این گیاه، انتهای خامه و کلاله سه شاخه است که به نام زعفران مشهور است (۱۱). در کلاله‌های زعفران، حدود ۱۵۰ نوع ترکیب فعال و غیر فعال وجود دارد که مهم‌ترین ترکیبات آنتی اکسیدانی آن شامل فلاونوئیدها، پروتئین ها، ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، آمینواسیدها، مینرآلها، صمغ ها و هم‌چنین کاروتنوییدهایی مثل سافرنال، کروستین و کروسین می باشد (۱۲). با توجه به ترکیبات این گیاه، اثرات شناخته شده ای در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی، حافظه و بیماری‌های چشمی، بیماری‌های گوارشی، بیماری‌های مرتبط با سیستم عصبی، اثرات ضددرد، ضدالتهاب و ضدتشنج، کاهش اضطراب و بی‌خوابی، اثرات ضد ایسکمی در عضلات، کلیه ها، قلب، مغز و غیره دارد (۱۲). در مورد اثرات محافظتی زعفران و ترکیبات آن بر سلول‌های قلبی در مقابل استرس اکسایش تحقیقاتی انجام شده است. دیانت و همکاران (۲۰۱۴) و جهانبخش و همکاران

(۲۰۱۲) در بررسی اثرات ضد استرس اکسیداتیو کروسین عنوان کردند کروسین از افزایش معنی‌دار میزان مالون دی آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) بافت قلب موش‌ها در نتیجه ایسکمی– رپرفیوژن جلوگیری می کند (۱۳، ۱۴). هم‌چنین مهدی زاده و همکاران (۲۰۱۳) عنوان کردند عصاره زعفران از افزایش لاکتات دهیدروژناز، ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم و مالون دی آلدئید (MDA) بافت قلب موش ها متعاقب سکته از طریق جلوگیری از تغییر در وضعیت ردوکس سلول‌های قلبی ممانعت می کند (۱۵).

مطالعات اندکی در زمینه اثرات محافظتی مصرف عصاره زعفران بر قلب در شرایط ایسکمی قلبی انجام شده است، در حالی که مکانیسم هایی که در آن‌ها ورزش های وامانده ساز منجر به آسیب به سلول های قلبی و رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم می شوند بسیار متنوع و متفاوت تر از این روش می باشند. از سویی، با توجه به شیوع تمرینات با شدت بالا به دلیل نقش این‌گونه تمرینات در ارتقای آمادگی قلبی و عروقی افراد ورزشکار و غیر ورزشکار و از سویی خطرات شناخته شده این‌گونه تمرینات برای قلب و عوارض نامطلوب مصرف داروهای صناعی، معرفی مکمل‌های گیاهی شناخته شده برای عموم مثل زعفران که دارای رنگ، طعم، بو، قابلیت استفاده در روش‌های مختلف، قابلیت دستیابی، اثرات مثبت اثبات شده بر قلب و بدون عوارض جانبی در دوزهای مجاز است، برای کاهش اثرات مخرب ناشی از تمرینات وامانده ساز بر قلب بسیار مفید و ضروری می‌باشد (۱۳). بنابراین معرفی زعفران برای کاهش اثرات مخرب تمرینات وامانده ساز جهت ارائه به افراد درگیر در تمرینات با شدت بالا می تواند در جلوگیری از بروز صدمات قلبی احتمالی و پیامدهای بسیار خطرناک این-گونه تمرینات به حفظ و ارتقای سلامتی افراد جامعه، جلوگیری و یا کاهش هزینه های درمانی کمک کند. در نتیجه، مطالعه حاضر برای اولین بار با بررسی اثرات محافظتی مصرف عصاره آبی کلاله زعفران در جلوگیری از اثرات مخرب تمرینات وامانده ساز بر عضلات قلبی، درصدد پاسخ به این سئوالات است که آیا مصرف کوتاه مدت عصاره آبی کلاله زعفران می تواند از اثرات مخرب تمرینات وامانده ساز در بافت قلب و در نتیجه رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم جلوگیری کند؟

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی است و در پژوهشکده تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گرفت. کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش این دانشگاه بود. ۹۰ سر موش صحرایی نر بالغ ۳ ماهه نژاد ویستار از دانشگاه شهید بهشتی تهران تهیه شد. موش‌ها پس از انتقال به محیط آزمایشگاه، به صورت گروه های ۴ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. طی دوره پژوهش، حیوانات به صورت آزاد به غذا و آب مورد نیازشان دسترسی داشتند.

نحوه جمع آوری اطلاعات

حیوانات پس از انتقال به محیط جدید (حیوان-خانه)، به مدت دو هفته در آن نگهداری شدند تا از این طریق استرس احتمالی ناشی از تغییر محل نگهداری و هم-چنین تغییر احتمالی شرایط فیزیولوژیکی حیوان مجدداً به وضعیت اولیه برگردانده شود. تمامی حیوانات در ابتدای هفته سوم مجبور به دویدن با سرعت ۱۶/۶ متر بر دقیقه و به مدت ۵ دقیقه بر روی تردمیل شدند. ۶۴ سر موش صحرایی با وزن تقریبی ۱۸±۲۰۹ گرم که توانایی دویدن در این سرعت را داشتند انتخاب شده و سپس به صورت تصادفی به ۴ گروه شامل: گروه ۱ (بدون تمرین+ ۲ میلی لیتر آب مقطر) ،گروه ۲ (بدون تمرین+ ۵۰ میلی گرم عصاره آبی کلاله زعفران محلول

در ۲ میلی لیتر آب مقطر)، گروه ۳ (۸ هفته تمرین استقامتی + ۲ میلی لیتر آب مقطر)، گروه ۴ (۸ هفته تمرین استقامتی + ۵۰ میلی گرم عصاره آبی کلاله زعفران محلول در ۲ میلی لیتر آب مقطر) (هر گروه ۱۶سر موش) تقسیم شدند. گروه ۱ و ۲، یک هفته پیش از واماندازه سازی ۵ جلسه بر روی تردمیل دویدند،۲ گروه دیگر به مدت ۸ هفته، مطابق با پروتکل توضیح داده شده در بخش بعدی بر روی تردمیل دویدند.

پروتکل تمرینی گروه ۱ و ۲ (بدون تمرین)

موش های گروه ۱ و ۲ همزمان با برنامه تمرینی هفته هشتم دو گروه دیگر (یک هفته پیش از وامانده شدن) به مدت ۱ هفته، ۵ روز متوالی در هفته و هر روز یک جلسه (بین ۵ تا ۱۵ دقیقه) با سرعت ۱۶/۶ تا ۲۰ متر بر دقیقه بر روی تردمیل با شیب صفر درصد دویدند (۱۶). سرعت و مدت به طور تدریجی افزایش داده شد. این برنامه تمرینی سازگاری معنی داری در هیچ یک از شاخص های قلبی و عروقی ایجاد نکرده و فقط جهت تحمل پروتکل وامانده سازی طراحی شده است (۱۶). تمرین بر روی تردمیل ۱۲ کاناله انجام گرفت.

پروتکل تمرینی گروه ۳ و ۴

کل مدت تمرین ۸ هفته بود، به طوری که ابتدا موش‌ها جهت آشنایی با دویدن بر روی تردمیل طی یک دوره یک هفته‌ای، پنج جلسه تمرین ۵ تا ۲۵ دقیقه ای را در پنج روز جداگانه با سرعت ۱۶/۶ بر دقیقه انجام دادند. مدت، سرعت و شیب تردمیل به طور تدریجی افزایش یافت، به صورتی که در ابتدای هفته پنجم به ترتیب به ۶۰ دقیقه، ۲۵ متر بر دقیقه و شیب ۸ درصد رسید که تا پایان دوره ۸ هفته ای تمرینی استقامتی مدت و سرعت حفظ شده، اما شیب به تدریج به ۱۰ درصد افزایش داده شد. تحقیقات گذشته نشان داده اند سرعت ۲۵ متر بر دقیقه معادل ۷۶ درصد توان هوازی موش ها می باشد (۱۶).

پروتکل تمرینی وامانده سازی

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت عدم دسترسی به غذا، نیمی از موش های تمامی گروه ها به طور تصادفی قربانی شدند و به طور همزمان نیم دیگر باقی مانده از تمامی گروه ها وامانده شدند. جهت وامانده سازی، ابتدا موش ها در مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و سپس ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه و در آخر، سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در شیب ۱۰ درصد تا زمان واماندگی بر روی تردمیل مجبور به دویدن شدند (۱۶). زمانی که موش ها در هر مرحله از وامانده سازی سه بار به شوک الکتریکی تعبیه شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی می ماندند وامانده محسوب شده و بلافاصله قربانی می شدند.

نحوه تهیه و خوراندن عصاره زعفران و حلال

کلاله خشک زعفران خوراکی معروف به زعفران پوشالی از قائنات تهیه شد. سپس برای آماده کردن عصاره آبی زعفران از روش خیساندن استفاده گردید. به این ترتیب که پس از ریختن کلاله خشک شده زعفران در داخل ظرف شیشه‌ای استوانه‌ای (بشر) به ازای هر ۱ گرم کلاله زعفران ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ظروف اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر روی دستگاه چرخاننده به آرامی مخلوط گردیده تا استخراج به خوبی صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا شد تا عصاره اولیه به دست آید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلاء گردیده و در دمای ۸۰ درجه سانتی-گراد حلال آن‌ها به آرامی تبخیر گشت و عصاره تغلیظ شده به دست آمد. محلول حاصل به مدت دو هفته در دستگاه بن‌ماری با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا حلال عصاره نیز به آرامی تبخیر شده و پودر عصاره به جا بماند (۱۷). پودر عصاره‌ها تا زمان استفاده در فریزر و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. موش‌های گروه ۲ و ۴، عصاره آبی کلاله زعفران را به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲ میلی لیتر آب مقطر حل شده (۱۸)، روزانه راس ساعت ۸ صبح و ۷ روز هفته به مدت ۸ هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. همزمان به موش‌های گروه های

۱ و۳ نیز روزانه به همان میزان ۲ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال عصاره زعفران گاواژ شد.

خون‌گیری و تهیه سرم

نیمی از موش ها بلافاصله پیش از وامانده سازی و نیم باقی مانده دیگر پس از وامانده سازی با داروی کلروفورم بیهوش شدند و برای خون‌گیری از قلب، قفسه سینه حیوان از حدود یک سانتی متر پایین تر از زائده گزیفوئید باز شد و قلب در معرض دید قرار گرفت. خون‌گیری از ناحیه اپکس قلب با استفاده از سرنگ و به میزان کافی انجام شد.

برای تعیین غلظت تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم، پس از تشکیل لخته ابتدا نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سرم را جدا نموده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمودیم. اندازه گیری تروپونین T قلبی سرم با استفاده از روش ELISA و با استفاده از دستورالعمل بوئمو بر حسب نانوگرم در نانولیتر گزارش شد (۱۹).

هم‌چنین ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به وسیله دستگاه اتو آنالایزر بیوشیمی با استفاده از کیت اختصاصی طبق دستوالعمل سازنده کیت اندازه گیری و در طول موج ۳۴۰ نانو متر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری خوانده شد و نتایج به صورت واحد بر لیتر (U/L) گزارش گردید (۲۰).

تحلیل آماری

برای نشان دادن توزیع طبیعی داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. سپس از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه به منظور بررسی تفاوت هر یک از شاخص‌ها بین گروه‌های مختلف و از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین محل تفاوت استفاده شد.

سطح معنی داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمون آنووای یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معنی داری از نظر میانگین مقدار تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم بین چهار گروه بلافاصله پیش از وامانده شدن وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). هم‌چنین تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم بلافاصله پس از وامانده شدن نسبت به پیش از وامانده شدن در هر چهار گروه به طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). با این وجود، تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم بین هر چهار گروه بلافاصله پس از وامانده شدن مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$). با استفاده از آزمون تعقیبی مشخص شد که به طور متوسط بالاترین میانگین تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم در گروه ۱ و کمترین مقدار درگروه ۴ بود (جدول۱، نمودار ۱).

هم‌چنین جدول ۱ تغییرات وزن بدن موش های صحرایی را در گروه های مورد بررسی پس ازدو بار توزین نشان می‌دهد. میانگین وزن بدن تمامی گروه‌ها، در مرحله دوم نسبت به مرحله‌ی اول به طور معنی‌داری افزایش یافت که با توجه به افزایش سن موش‌های جوان، طبیعی بود ($p<۰/۰۰۱$).

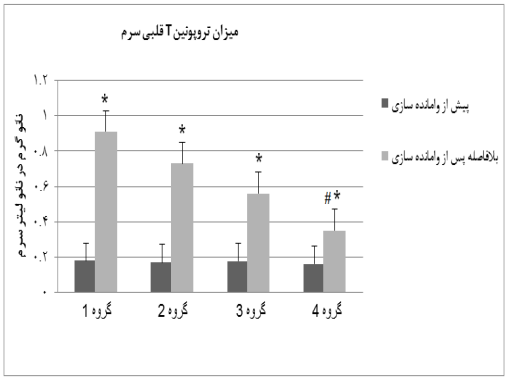
در ابتدای دوره تحقیق، هیچ گونه اختلاف معنی داری بین وزن گروه‌های مختلف مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$)، با این وجود در پایان تحقیق این اختلاف مشاهده شد که میانگین وزنی گروه های ۱ و۲ به طور معنی داری از گروه های ۳ و ۴ بیشتر بود ($p<۰/۰۰۱$).

هم‌چنین جدول ۱ میانگین زمان وامانده شدن موش های چهار گروه را نشان می دهد که این زمان در موش‌های گروه ۳ و ۴ به طور معنی داری بیشتر از موش های گروه های ۱ و ۲ بود ($p<۰/۰۰۱$).

جدول ۱. میزان ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم، میانگین زمان وامانده شدن و وزن موش های صحرایی

شاخص	زمان اندازه‌گیری	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه۴
ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز(u/l)	بلافاصله پیش از وامانده سازی	۳۳/۴±۲۵۸/۵	۲۸/۹±۲۴۹/۳	۲۱/۵±۲۵۰/۲	۱۸/۱±۲۴۳/۶
	بلافاصله پس از وامانده سازی	$^{H\#}$ ۳۴/۱*±۳۷۵/۹	$^{\#}$ ۳۱/۸*±۳۵۱/۷	$^{\#}$ ۲۸/۱*±۳۲۰/۴	$^{L\#}$ ۲۲/۸*±۲۹۳/۶
	p	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
وزن (بر حسب گرم)	ابتدای دوره تحقیق	۲۰۶/۵± ۱۶/۴	۲۱۴/۹ ± ۲۱	۲۱۱/۲ ± ۱۵	۲۰۳/۳ ± ۱۸/۱
	انتهای دوره تحقیق	۱۷/۹*±۲۸۸/۱	۱۴/۳*±۲۸۰/۶	$^{¥}$ ۱۲/۱*±۲۵۹/۲	$^{¥}$ ۱۰/۷*±۲۴۷/۷
	p	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
زمان وامانده شدن (دقیقه)		^{L}۵/۱ ±۱۹/۳	۶/۴ ±۲۴/۸	۹/۱ $^{¥}$ ±۷۶/۱	^{H}۱۱/۵$^{¥}$±۸۳/۳

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند؛ * اختلاف معنی دار بین دو مرحله اندازه گیری (درون گروهی). #اختلاف معنی‌دار با سایر گروه‌ها (بین گروهی). L و H به ترتیب کمترین و بیشترین میزان نسبت به سایر گروه‌ها؛¥ اختلاف معنی‌دار با گروه های ۱ و ۲ (سطح معنی‌داری $p<۰.۰۵$).



نمودار ۱. میزان تروپونین T قلبی سرم گروه های مختلف * اختلاف معنی دار با مقادیر پیش از وامانده سازی $p<۰/۰۵$. # اختلاف معنی دار با مقادیر پس از وامانده سازی سایر گروه ها $p<۰/۰۵$.

بحث

نتایج حاصل از تحقیق جاری حاکی از افزایش میزان تروپونین T قلبی سرم هر چهار گروه پس از اجرای فعالیت هوازی وامانده ساز در مقایسه با سطوح استراحتی قبل از آن بود. همسو با نتایج پژوهش حاضر در مورد افزایش غلظت تروپونین T قلبی سرم پس از فعالیت وامانده ساز، نی و همکاران (۲۰۱۰) و ال سویان و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش تروپونین T قلبی سرم موش ها را متعاقب فعالیت حاد بدنی وامانده ساز گزارش کردند (۷، ۶). گرچه مکانیسم های دخیل در رهایش تروپونین T قلبی سرم پیرو فعالیت های سنگین ورزشی تاکنون به طور دقیق شناسایی نشده اند، با وجود این، احتمالا اثرات ورزش بر قابلیت نفوذپذیری و گیرنده‌های هترودیمری غشاء سلول های میوکارد از مهم‌ترین عوامل محسوب می شوند (۲۱). افزایش قابلیت نفوذ پذیری غشاء سلول های میوکارد موجب تسهیل رهایش تروپونین T قلبی سرم به سیتوزول سلول می‌شود. این افزایش در نتیجه دیفوزیون منفعل این شاخص از قسمت درون به برون سلول، به دلیل افزایش فشار مکانیکی، افزایش تولید رادیکال های آزاد، تغییر در تعادل pH، نکروز سلول‌های میوکارد و تحریک گیرنده‌های هترودیمری عضلات قلبی به دلیل کشش سلول های عضلانی قلب می‌باشد (۲۱). در دیگر یافته تحقیق حاضر، میزان ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم هر چهار گروه پس از اجرای فعالیت هوازی وامانده ساز در مقایسه با سطوح استراحتی قبل از آن افزایش نشان داد. همسو با نتایج پژوهش حاضر در مورد افزایش غلظت ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم پس از فعالیت وامانده ساز، نی و همکاران (۲۰۱۱) و رهنما و همکاران (۲۰۱۱) نیز افزایش ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم را متعاقب فعالیت حاد بدنی وامانده ساز گزارش کردند (۲۲، ۸). افزایش ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم در نتیجه رهایش این آنزیم از درون به برون سلول-های قلبی می باشد. بنابراین فشار مکانیکی و یا آسیب های ناشی از استرس اکسایش و یا هر عامل که منجر به آسیب به غشاء سلول‌های میوکارد و یا تغییر در نفوذپذیری غشای سلول‌های قلبی شود می‌تواند موجب رهایش این ایزوآنزیم به سرم شود (۲۳).

در مهم‌ترین یافته تحقیق مشاهده شد که میزان تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم گروه ۴ (گروه مصرف کننده عصاره زعفران به همراه ۸ هفته تمرینات هوازی) پیرو وامانده سازی نسبت به سه گروه دیگر کمتر افزایش یافت. با توجه به این‌که میزان تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم این گروه پیرو وامانده سازی در مقایسه با مقادیر این شاخص در گروه ۳ که برنامه تمرینی مشابهی در طی ۸ هفته داشتند کمتر گزارش شده، احتمالا این تفاوت مربوط به مصرف عصاره زعفران و اثرات محافظتی این عصاره در مقابل اثرات مخرب استرس اکسایش در بافت قلب می باشد، چراکه استرس اکسایش یکی از مسیرهای عمده تحریک نفوذپذیری و گیرنده‌های هترودیمری غشاء سلول‌های میوکارد و رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز در سرم می‌باشد (۲۱، ۲۳). بنابراین نتایج این بخش از تحقیق با نتایج تحقیقات دیانت و همکاران (۲۰۱۴)، جوکار و همکاران (۲۰۱۴)، جهانبخش و همکاران (۲۰۱۲) و مهدی زاده و همکاران (۲۰۱۳) که نشان دادند عصاره زعفران اثرات مخرب استرس اکسیداتیو بر قلب را تقلیل می دهد همسو می باشد (۱۵-۱۳، ۲۴). مهدی زاده و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثرات محافظتی عصاره زعفران بر سکته های قلبی ناشی از ایزوپروترنال عنوان کردند این عصاره ها از افزایش شاخص های آسیب قلبی لاکتات دهیدروژناز، ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز، سرم و MDA بافت قلب از طریق جلوگیری از استرس اکسیداتیو در سلول های قلبی تأثیرگذار است (۱۵). هم‌چنین دیانت و همکاران (۲۰۱۴) و جهانبخش و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثرات ضد استرس اکسیداتیو کروسین عنوان کردند کروسین از افزایش معنی‌دار میزان مالون دی آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT بافت قلب موش‌ها در نتیجه ایسکمی– رپرفیوژن جلوگیری می‌کند (۱۴، ۱۳). جوکار و همکاران (۲۰۱۳) نیز در بررسی اثرات مصرف زعفران در برابر آریتمی بطنی کشنده ناشی از رپرفیوژن قلبی در موش‌ها عنوان کردند که عصاره زعفران از طریق کاهش هدایت الکتریکی و افزایش مدت زمان پتانسیل به دلیل حفظ تعادل ردوکس سلول های قلبی عمل آریتمی بطنی کشنده ناشی از رپرفیوژن را تقلیل می دهد (۲۴). با این وجود، گرچه زمینه تحقیق جاری و تحقیقات انجام شده (۱۵-۱۳، ۲۴) تقریبا مشابه می باشد، اما تحقیق جاری در برخی موارد با تحقیقات گذشته متفاوت می باشد. از جمله در دو تحقیق از تحقیقات گذشته (۱۳، ۱۴) فقط از یکی از ترکیبات آنتی اکسیدانی زعفران یعنی کروسین استفاده شده است؛ هم‌چنین القای استرس اکسیداتیو با استفاده از مواد شیمیایی و یا انسداد عروق در قلب موش ها، استفاده از موش های بی تمرین، هم‌چنین تفاوت در طول دوره مصرف عصاره زعفران که در تحقیقات گذشته بین ۷ تا ۲۱ روز بوده را می توان نام برد. از سویی، گرچه در این تحقیق هیچ یک از شاخص های نشانگر استرس اکسایش اندازه گیری نشده است، با این وجود با توجه به تحقیقات پیشین که به خوبی نشان دادند عصاره زعفران اثرات ضد استرس اکسایش در سلول های قلبی دارد (۱۵-۱۳، ۲۴) و از سویی با توجه به مکانیسم هایی که در مورد رهایش تروپونین T و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم عنوان شد، احتمالاً تنها دلیلی که می‌توان برای توجیح نتایج این بخش از تحقیق ارائه کرد تاثیر عصاره زعفران بر استرس اکسایش و تقلیل اثرات مخرب استرس اکسایش بر سلول های قلبی و در نتیجه کاهش رهایش تروپونین T و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم می‌باشد. مکمل‌های آنتی اکسیدانی از جمله زعفران عمدتا از دو طریق سیستم آنتی اکسیدانی سلول ها را تقویت می‌کنند: ابتدا با تحریک افزایش بیان ژن آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و دوم بلوکه کردن مسیرهای تولید و یا واکنش مستقیم با رادیکال های آزاد (۲۵). در تحقیق حاضر عصاره زعفران به عنوان یک مکمل آنتی اکسیدانی شناخته شده با استفاده از یک و یا هر دو روش فوق عمل نموده است. عناصر تشکیل دهنده عصاره زعفران از جمله سافرنال از طریق افزایش بیان ژن آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و گلوتاتیون S – ترانسفراز

(GST)سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی را تقویت می کنند (۲۶). از سویی، عنوان شده عناصر تشکیل دهنده عصاره زعفران میزان تولید رادیکال های آزاد با منشاء برون و درون میتوکندریایی را کاهش داده و پراکسیداسیون لیپیدی را در شرایط درون و برون بدنی بلوکه می‌کنند (۱۲) که نشان دهنده نقش بلوکه کنندگی عصاره زعفران بر عملکرد رادیکال های آزاد می باشد. کاروتنوئیدهای حاوی زعفران از جمله کروسین‌ها و کروستین هم به طور مستقیم با آنیون‌های سوپراکسید و سایر رادیکال ها و گونه های اکسیژنی فعال واکنش کرده و با پایداری کردن آن‌ها سلول ها را در مقابل استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۲۷). هم‌چنین گروه هیدروکسیل ترکیبات فلاونوئیدهای عصاره زعفران توسط رادیکال ها اکسیده شده و از این طریق به صورت مستقیم رادیکال های آزاد را خنثی می کنند. هم‌چنین فلاونوئیدها با تداخل در عملکرد نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) مانع تولید بیش از حد نیتریک اکساید (NO)که یکی از منابع اصلی آسیب های بافتی است می‌شوند. هم‌چنین فلاونوئیدها با مهار عمل گزانتین اکسیداز مانع تولید رادیکال فعال سوپراکسید شده و از این طریق یکی از منابع اصلی تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب بافتی در خلال ورزش های وامانده ساز بلوکه می‌شود. هم‌چنین گزانتین اکسیداز (XO) به عنوان یک منبع اکسیدانی عمل کرده و یک شیمیوتاکتیک برای نوتروفیل‌ها می باشد که با بلوکه شدن عمل آن فراخوان نوتروفیل ها و در نتیجه آسیب‌های ناشی از آن بر بافت قلب کاهش می یابد (۲۸). هم‌چنین فلاونوئیدها با کاهش تعداد لوکوسیت های غیر متحرک و مهار دگرانولاسیون نوتروفیل ها مانع از تشکیل رادیکال‌های آزاد مشتق شده از اکسیژن و هم‌چنین رهایی اکسیدان‌های سمی، واسطه‌های التهابی و فعال سازی بیشتر سیستم کمپلمان می‌شوند و به طور کلی کاهش پاسخ التهابی، هم‌چنین مهار متابولیسم اسید آراشیدونیک، شلاته کردن آهن و بنابراین حذف فاکتورهای مسبب برای توسعه‌ی رادیکال های آزاد، اثرات ضد رادیکالی خود را اعمال می کنند (۲۸). از سویی، یکی از روش هایی که ورزش موجب بروز استرس اکسیداتیو در قلب شده و در نتیجه سطوح تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم را افزایش می دهد کاهش جریان خون یا هیپوکسی می باشد که شرایط مشابهی البته با اثرات مخرب کمتر در مقایسه با شرایط ایسکمی ایجاد می کند (۲۹، ۳۰). سنتز رادیکال های آزاد و اثرات تخریب ناشی از نیتریک اکساید (NO) و گزانتین اکسیداز در شرایط هیپوکسی به سرعت افزایش می یابد، هیپوکسی از عوامل اصلی آسیب های وارده به قلب تحت شرایط تمرینات وامانده ساز هستند، در تحقیقات مختلف ثابت شده که ترکیبات حاوی زعفران اثرات ضد ایسکمی در بافت های مختلف از جمله هیپوکامپ مغز، کلیه، قلب و عضله به دلیل تاثیر بر نیتریک اکساید (NO) و گزانتین اکسیداز می-باشد (۱۲). بنابراین، با توجه به این موضوع که میزان تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم گروه ۴ (گروه مصرف کننده عصاره به همراه تمرینات هوازی) متعاقب وامانده سازی کمتر از گروه ۲ که فقط عصاره زعفران را به تنهایی مصرف می کرد (گرچه میزان تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم این گروه نسبت به گروه ۱ کمتر بود که مکانیسم تاثیر کاهنده عصاره زعفران بر تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم در بخش قبلی ذکر شد) بود، می توان دلیل آن را تاثیرات تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران بر بیان ژن آنزیم های آنتی اکسیدانی بافت قلب در خلال دوره ۸ هفته ای تحقیق عنوان کرد. تحقیقات نشان داده که غلظت رادیکال های آزاد تولیدی در سلول نقش حیاتی در تنظیم مثبت و یا منفی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی دارد و از قانون U وارونه تبعیت می‌کند؛ بدین شکل که غلظت پایین و یا بالای گونه‌های فعال اکسیژن منجر به کاهش و یا عدم تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی شده و غلظت متعادل گونه‌های فعال اکسیژن منجر به افزایش بیان ژن آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود (۳۱). در تحقیق حاضر احتمالا مصرف عصاره زعفران در گروه ۴

منجر به تعدیل غلظت رادیکال های آزاد در بافت قلب از طریق مکانیسم های اشاره شده در بخش قبلی شده و از این طریق احتمالا سیستم آنتی اکسیدانی سلول های قلبی نسبت به گروه ۲ که فقط عصاره مصرف کردند و یا گروه ۳ که فقط تمرین هوازی داشتند به طور موثرتری تقویت شده، در نتیجه سلول های قلبی در مقابل اثرات استرس اکسیداتیو مقاوم تر بود و رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز به سرم نسبت به سایر گروه ها کمتر افزایش یافت.

در دیگر یافته این تحقیق مشخص شد که میزان تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم گروه ۳ نسبت به گروه های کنترل ۱ و ۲ پیرو وامانده شدن کمتر افزایش یافت که نتایج این بخش از تحقیق در رابطه با تروپونین T قلبی سرم با نتایج تحقیقات گذشته از جمله نی و همکاران (۲۰۱۰) و ال سویان و همکاران (۲۰۱۰) که گزارش کردند میزان تروپونین T قلبی سرم گروه‌های تمرین کرده پیرو وامانده شدن افزایش کمتری دارد همسو می‌باشد (۶، ۷) و در بخش ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم با نتایج تحقیقات نی و همکاران (۲۰۱۱) و رهنما و همکاران (۲۰۱۱) که گزارش کردند میزان ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم گروه های تمرین کرده پیرو وامانده شدن افزایش کمتری دارد همسو است (۸، ۲۲). از سویی همان‌طور که عنوان شد، یکی از دلایل افزایش میزان تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم پیرو فعالیت های وامانده ساز، افزایش قابلیت نفوذپذیری غشاء عضلات میوکارد به دلایل مختلفی از جمله وقوع استرس اکسیداتیو است (۲۱). بنابراین، یکی از دلایلی که غلظت تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم گروه های ۳ و ۴ نسبت به گروه ۱ و ۲ کمتر افزایش یافت، انجام تمرینات استقامتی پیش از وامانده شدن بود، چراکه این‌گونه تمرینات موجب تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی قلب شده (۶، ۷) و در نتیجه از بروز استرس اکسایش در بافت قلب این گروه‌ها در مقایسه با گروه ۱ و ۲ پیرو وامانده سازی جلوگیری کرده و یا آن را تقلیل داده است. در انتها لازم به ذکر است که در تحقیق جاری فقط یک دوز عصاره آبی کلاله زعفران استفاده شد، از سویی از شاخص‌های استرس اکسایش هیچ‌کدام اندازه گیری نشدند که از محدودیت‌های تحقیق حاضر می باشند. با توجه به این‌که اثرات محافظتی عصاره زعفران در شرایط تمرینات وامانده ساز ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی این عصاره می باشد و این اثرات وابسته به دوز است، پیشنهاد می شود تحقیقی با عنوان مشابه تحقیق حاضر که در آن از دوزهای متنوع‌تری از عصاره آبی و الکلی زعفران استفاده شده انجام شود.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف عصاره زعفران میزان افزایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز سرم موش های تمرین کرده را پیرو یک وهله فعالیت حاد وامانده ساز کاهش می دهد، ولی به دلیل عوامل متعدد دخیل در رهایش تروپونین T قلبی و ایزوآنزیم قلبی کراتین کیناز در سرم قادر به جلوگیری از افزایش این شاخص ها پیرو این‌گونه تمرینات نمی باشد. با این وجود، در این زمینه نیازمند تحقیقات بیشتری به ویژه با استفاده از نمونه های انسانی هستیم که در آن‌ها شاخص های آسیب قلبی موجود در سرم پیرو ورزش‌های وامانده ساز پس از مصرف عصاره زعفران اندازه گیری شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی با کد مصوب ۱۳۶۷۹۵- ۱۵۶۶۴ است که در دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی به ثبت رسیده است. بدین وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از تمامی کسانی که در انجام این مطالعه همراهی نمودند اعلام می‌دارند.

منابع

1. Recchioni R, Marcheselli F, Antonicelli R, Lazzarini R, Mensa E, Testa R, et al. Physical

activity and progenitor cell-mediated endothelial repair in chronic heart failure: Is there a role for epigenetics? Mechanisms of ageing and development. . 2016;159 (3):71-80
2. Bohm P, Scharhag J, Meyer T. Data from a nationwide registry on sports-related sudden cardiac deaths in Germany. European journal of preventive cardiology. 2016;23(6):649-56.
3. Schmied C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes. Journal of internal medicine. 2014;275(2):93-103.
4. McLean AS, Huang SJ. Biomarkers of cardiac injury. Biomarkers: In Medicine, Drug Discovery, and Environmental Health. 2010;20(2):119-55.
5. Gresslien T, Agewall S. Troponin and exercise. International journal of cardiology. 2016; (6) 221: 9-21.
6. Al-Sowyan N. Effect of Exercise and Vitamin E on Cardiac Troponin Alterations in Myocardium and Serum of Rats after Stressful Intense Exercise. International Journal of Zoological Research. . 2010;6(1):24-29.
7. Nie J, Close G, George KP, Tong TK, Shi Q. Temporal association of elevations in serum cardiac troponin T and myocardial oxidative stress after prolonged exercise in rats. European journal of applied physiology. 2010;110(6):1299-303.
8. Nie J, Tong T, George K, Fu F, Lin H ,Shi Q. Resting and post exercise serum biomarkers of cardiac and skeletal muscle damage in adolescent runners. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 2011;21(5): 625–629.
9. Binayi F, Joukar S, Najafipour H, Karimi A, Abdollahi F, Masumi Y .The effects of nandrolone decanoate along with prolonged low-intensity exercise on susceptibility to ventricular arrhythmias. Cardiovascular toxicology. 2016;16(1):23-33.
10. Asdaq SMB, Inamdar MN. Pharmacodynamic interaction of captopril with garlic in isoproterenol induced myocardial damage in rat. Phytotherapy research. 2010;24(5): 720–725.
11. Ramezani T, Baharara J, Saghiri N. The Effect of Saffron Aqueous Extract (Crocus sativus L) on Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014;21(2):169-178.
12. Rezaee R, Hosseinzadeh H. Safranal: from an aromatic natural product to a rewarding pharmacological agent. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):12-26.
13. Dianat M, Esmaeilizadeh M, Badavi M, Samarbaf-zadeh AR, Naghizadeh B. Protective effects of crocin on ischemia-reperfusion induced oxidative stress in comparison with vitamin E in isolated rat hearts. Jundishapur journal of natural pharmaceutical products. 2014;9(2):22-36.
14. Jahanbakhsh Z, Rasoulian B, Jafari M, Shekarforoush S, Esmailidehaj M, taghi Mohammadi M, et al. Protective effect of crocin against reperfusion-induced cardiac arrhythmias in anaesthetized rats. EXCLI journal. 2012;11:20-29.
15. Mehdizadeh R ,Parizadeh MR, Khooei A-R, Mehri S, Hosseinzadeh H. Cardioprotective effect of saffron extract and safranal in isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):56-63
16. Mirzaei B, khosravi a ,rasoulian b, mehrabani j. Comparing the effects of acute exhaustive exercise on cardiac troponin T serum and malondialdehyde of heart tissue response levels of endurance trained young rats. 2. 2013;5(9):16-24.
17. Shirali S, Bathaei S, Nakhjavani M, Ashoori M. Effects of saffron (Crocus sativus L.) aqueous extract on serum biochemical factors in streptozotocin-induced diabetic rats. 2012;2(56):293-303.
18. Mirzaei B, mehrabani j, rasoulian b. The interaction effects of aerobic training and Saffron extracts consumption on anti-oxidant defense system of heart and brain premotor cortex of young male rats following an acute bout of exhaustive endurance exercise. Sport Physiology. 2015;7(25): 16-24.

19. Mueller C, Giannitsis E, Christ M, Ordóñez-Llanos J, McCord J, Body R ,et al. Multicenter evaluation of a 0-hour/1-hour algorithm in the diagnosis of myocardial infarction with high-sensitivity cardiac troponin T. Annals of emergency medicine. 2016;68(1):76-87.
20. Yao Y, Fang N, Shi C, Li L. Sevoflurane postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury. Chin Med J (Engl). 2010;123(10):1320-1328.
21. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-Induced Cardiac Troponin ElevationEvidence, Mechanisms, and Implications. Journal of the American College of Cardiology. 2010;56(3):169-176.
22. Rahnama N, Faramarzi M, Gaeini AA. Effects of intermittent exercise on cardiac troponin I and creatine kinase-MB. International journal of preventive medicine. 2011;2(1):3-20.
23. Eijsvogels TM, Fernandez AB, Thompson PD. Are there deleterious cardiac effects of acute and chronic endurance exercise? Physiological reviews. 2015;96(1):99-125.
24. Joukar S, Ghasemipour-Afshar E, Sheibani M, Naghsh N, Bashiri A. Protective effects of saffron (Crocus sativus) against lethal ventricular arrhythmias induced by heart reperfusion in rat: a potential anti-arrhythmic agent. Pharmaceutical biology. 2013;51(7):836-843.
25. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy reviews. 2010;4(8): 118–126.
26. Farahmand SK, Samini F, Samini M, Samarghandian S. Safranal ameliorates antioxidant enzymes and suppresses lipid peroxidation and nitric oxide formation in aged male rat liver .Biogerontology. 2013;14(1):63-71.
27. Alavizadeh SH, Hosseinzadeh H. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. Food and Chemical Toxicology. 2014; 64(3):65-80.
28. Brewer M. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. Comprehensive reviews in food science and food safety. 2011;10(4):221-247.
29. HR SR. Reducing creatine kinase-MB levels following oxytocin administration during ischemia-reperfusion periods in isolated rat heart. Tehran University Medical Journal TUMS Publications. 2012;69(11):663-770.
30. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. Journal of the American College of Cardiology. 2010;56(3):169-176.
31. Peake JM, Markworth JF, Nosaka K, Raastad T, Wadley GD, Coffey VG. Modulating exercise-induced hormesis: does less equal more? Journal of Applied Physiology. 2015;119(3):172-189.