دریافت:۹۴/۱۲/۲ پذیرش:۹۵/۵/۳۱ ص ص:۱۱۴-۹۷

اثر مصرف حاد محلول خوراکی عناب قبل از یک جلسه ورزش مقاومتی دایره‌ای بر آپوپتوز نوتروفیل انسانی

دکتر سید مرتضی طیبی[۱]، دکتر حمید آقاعلی‌نژاد[۲]، دکتر شهریار شفائی[۳]، دکتر رضا قراخانلو[۲]، دکتر محسن آسوری[۴]

چکیده

سابقه و هدف. مطالعات اندکی در خصوص ورزش و مکمل‌گیری و آثر آن بر آپوپتوز نوتروفیل وجود دارد. اما درباره تمرین مقاومتی و مکمل‌گیری عناب به عنوان یک گیاه دارویی سنتی شواهدی یافت نشد. لذا، هدف از تحقیق حاضر اثر مصرف حاد محلول خوراکی عناب یک ساعت قبل از یک جلسه ورزش مقاومتی دایره‌ای بر آپوپتوز نوتروفیل انسانی بود.

مواد و روش‌ها. تعداد ۱۴ دانشجوی داوطلب پسر جوان بطور تصادفی به دو گروه ۷ نفره شامل گروه تمرین مقاومتی دایره‌ای با دارونما (سن ۲/۵۰ ± ۲۴/۵۰، قد ۱/۷۰ ± ۱۷۱/۱۷، و وزن ۴/۹۲ ± ۶۷/۵۱) و گروه تمرین مقاومتی دایره‌ای با محلول عناب (سن ۱/۳۱ ± ۲۵/۲۵، قد ۳/۶۳ ± ۱۷۹/۷۵، و وزن ۵/۷۸ ± ۷۴/۰۷) تقسیم شدند؛ و یک ورزش مقاومتی دایره‌ای را انجام دادند. آزمون شامل سه دایره بدون توقف با ۳ دقیقه استراحت فعال بین دورها، و هر حرکت ۳۰ ثانیه (حدود ۱۴- ۱۰ تکرار) با ۷۵٪ یک تکرار بیشینه (1RM) بود. افراد یک ساعت قبل از ورزش دارونما و محلول عناب (۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲/۵ سی‌سی آب مقطر) را به صورت دوسوکور دریافت نمودند. نمونه‌های خونی یک ساعت قبل از مصرف محلول عناب، بلافاصله و ۲ ساعت پس از ورزش جمع‌آوری گردید. پس از جداسازی و شمارش نوتروفیل‌ها، آپوپتوز نوتروفیل توسط کیت AnexinV-FITC و روش فلوسایتومتری اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها. در گروه محلول عناب کاهش معناداری در نوتروفیل‌های آپوپتوزی اولیه مشاهده شد ولیکن افزایش معناداری در گروه دارونما یافت شد ($p = ۰/۰۴۸$). از طرف دیگر نوتروفیل‌های آپوپتوزی تأخیری در گروه محلول عناب تغییر معناداری نکرد، اما در گروه دارونما کاهش معناداری مشاهده شد ($p = ۰/۰۰۳$).

نتیجه‌گیری. عناب حاوی کربوهیدارت‌ها و اسیدهای آمینه‌ای نظیر آلانین، اسید آسپارتیک، و مخصوصاً اسید گلوتامیک می‌باشد که می‌توانند در شکل‌گیری گلوتامین در بدن شرکت کنند. از این رو می‌توان نتیجه گیری نمود که مهار آپوپتوز در گروه عناب شاید به دلیل فراهمی گلوکز و گلوتامین بدن در نتیجه فراهمی آن‌ها یک ساعت قبل از آزمون توسط مصرف محلول عناب بوده باشد.

واژگان کلیدی: محلول خوراکی عناب، نوتروفیل، آپوپتوز اولیه، آپوپتوز تأخیری/نکروز، تمرین مقاومتی، تمرین دایره‌ای

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه علامه طباطبائی
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس
۳. استادیار گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۴. مرکز تحقیقات شمال کشور، انستیتو پاستور ایران، آمل، مازندران، ایران

مقدمه

نوتروفیل‌ها نقش مهمی را در خط اول دفاع بدن در برابر پاتوژن‌ها بازی می‌کنند. آن‌ها به سرعت در محل عفونت تجمع می‌یابند و پاتوژن‌ها را می‌بلعند و گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) را رها می‌کنند تا پاتوژن‌ها را بکشند، و حتی DNA خود را رها می‌کنند تا تله‌های برون‌سلولی را شکل دهند (۱).

این مهم است که فعالیت نوتروفیل برای جلوگیری از پایایی التهاب به شدت تنظیم شده است (۲). با وجود داشتن یک عمر ۵ روزه تحت موقعیت‌های فیزیولوژیک (۳)، طول عمر نوتروفیل در محیط‌های التهابی توسط تأخیر در آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی افزایش می‌یابد. با این حال، زمانی که واقعه التهاب حاد نوتروفیلی تمام شد، ضروری است که قبل از مصرف سلول‌های آپوپتوزی توسط فاگوسیت‌هایی مانند ماکروفاژها، بسیج نوتروفیل متوقف گردد و نوتروفیل‌های بسیج شده تحت آپوپتوز قرار گیرند، تا از حل مؤثر التهاب اطمینان حاصل گردد (۴).

فرآیند طبیعی آپوپتوز نوتروفیل که توسط فاگوسیتوز پیگیری می‌شود، در حالات متعدد بیماری التهابی انسانی به شکل آپوپتوز تأخیری آسیب می‌بیند (۵–۸) که در حالات ورزش دیده می‌شود (۹). اخیراً مورن و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند که آپوپتوز نوتروفیل اندازه‌گیری شده توسط برچسب شدن آنکسین ۵ و روش فلوسایتومتری، پس از هم دویدن ماراتن و هم آزمون ورزشی آزمایشگاهی به تأخیر افتاد. تأخیر آپوپتوز تحت این حالات ورزشی با افزایش زودگذر کلسیم درون سلولی و کاهش سطوح گلوتاتیون همراه بود (۹). اگرچه مطالعات انسانی گذشته نشان داد که تکرار ورزش حاد سبب کاهش پتانسیل غشاء میتوکندریایی ($\Delta\Psi m$)_به عنوان یکی از نشانگان آپوپتوز_ و افزایش آپوپتوز در نوتروفیل‌ها می‌شود (۱۰–۱۲).

از سوی دیگر، عنوان شده است که یک جلسه ورزش سبب القاء یک پاسخ التهابی می‌شود که با آنچه توسط عفونت و تروما ایجاد می‌گردد مشابه است (۱۳). از این رو، وضعیت التهابی طولانی دارای اثرات سوء بر سلامتی است و مستعدکننده تعدادی از بیماری‌های مزمن و حالات سلامتی می‌شود (۱۳). لذا، کنترل مرگ سلول‌های گرانولوسیت و پاکسازی متعاقب سلول آپوپتوزی نه تنها برای حفظ هموستاز حیاتی است، بلکه حتی برای حل مؤثر التهاب اهمیت دارد (۱۴). بنابراین، نوتروفیل‌ها در محل‌های التهاب تحت آپوپتوز خود به خودی قرار می‌گیرند (۱۵).

درباره مکمل‌گیری گلوتامین در ورزش حاد و پاسخ نوتروفیل گزارشات محدود و متناقضی وجود دارد؛ در یک مقاله مروری گزارش شده است که مکمل‌گیری گلوتامین برای عملکرد ایمنی تنها در شرایط بالینی مفید است و ثابت نشده که در جلوگیری از اختلال عملکرد سلول ایمنی پس از ورزش مؤثر است (۱۶, ۱۷)؛ بطوری که اثر مقادیر زیاد مکمل گلوتامین طی و پس از ورزش بر عملکرد نوتروفیل معنادار نبود (۱۸)؛ اما از طرفی نیز مکمل‌گیری گلوتامین در رت‌ها هم اثر معناداری بر عملکرد نوتروفیل ناشی از ورزش (۱۹)، هم اثر محافظتی بر آپوپتوز نوتروفیل ناشی از ورزش حاد (۲۰, ۲۱)، و همچنین در یک مطالعه بدون مداخله ورزش اثر محافظتی در برابر وقایع همراه با تحریک و اجرای آپوپتوز نوتروفیل هم رت و هم انسان (۲۲) داشت.

اخیراً طب گیاهی و گیاهان دارویی بطور گسترده ای برای درمان بیماری‌ها و کنترل وزن به کار می‌رود (۲۳, ۲۴). زیزیفوس یا جوجوبی یا خرمای قرمز ویا عناب گیاهی از تیره خامانسیا است که محتوی انواع مختلف پروتئین‌ها، قندها و همچنین اسیدهای آمینه‌ای نظیر آلانین، اسید آسپارتیک، اسید گلوتامیک (۲۵) است، که

می‌توانند در شکل‌گیری گلوتامین شرکت کنند. اعتقاد بر این است که میوه‌های خشک شده عناب آرام‌بخش، ضدسرطان، تب‌بر، مسکن، اشتهاآور، قابض، مقوی و تقویت‌کننده پاسخ ایمنی می‌باشد (۲۶–۲۸).

اگرچه مطالعاتی در خصوص اثر محرک ایمنی عناب (۲۶–۳۰)، اثرات ضدالتهابی (۳۱, ۳۲)، و اثرات محافظتی آن بر وضعیت اکسیدانی وجود دارد (۳۳, ۳۴) و حتی گزارشاتی در خصوص اثر محافظتی ورزش به همراه عصاره خوراکی عناب بر وضعیت بیش‌وزنی و بیماری قلبی عروقی ارائه شده است (۳۵)، اما تحقیقات بسیار اندکی در خصوص اثرات عصاره عناب بر القاء آپوپتوز در سلول‌های تومور (۳۶, ۳۷) و در رابطه با اثرات عصاره عناب بر وضعیت آپوپتوز عضله قلبی در پاسخ به ورزش حاد (۳۸) گزارش شده است، ولی مخصوصاً در زمینه نوتروفیل مدرک چندانی وجود ندارد. محققین حاضر (۲۰۱۴) اثر یک هفته بارگیری محلول عناب را بر آپوپتوز نوتروفیل انسانی در پاسخ به یک جلسه تمرین مقاومتی دایره‌ای بررسی و گزارش کردند که احتمالاً در مهار آپوپتوز نوتروفیل مؤثر باشد (۳۹).

بنابراین، سؤال اصلی تحقیق این است که اثر دریافت حاد محلول خوراکی عناب یک ساعت قبل از یک جلسه ورزش مقاومتی دایره‌ای بر آپوپتوز سلول‌های نوتروفیل انسانی که توسط برچسب آنکسین- ۵ و روش فلوسایتومتری انجام می‌شود، چیست؟

روش‌شناسی تحقیق

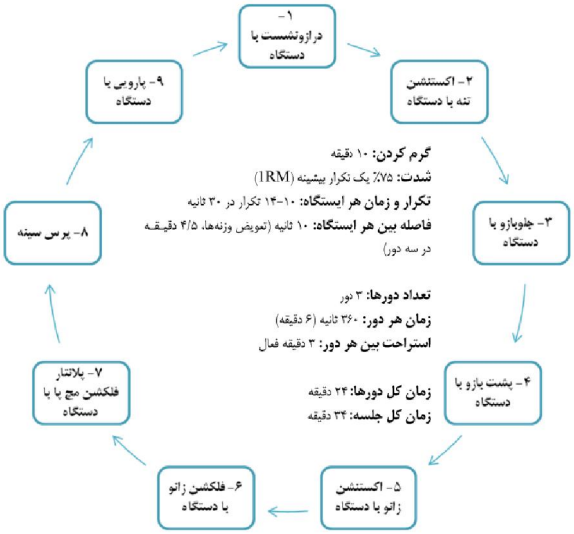
نمونه‌ها. مطالعه حاضر توسط کمیته اخلاق تحقیق دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تأیید شده است، و در راستای خط مشی‌های اظهارنامه وزارت بهداشت ایران انجام شده است. با دریافت رضایت نامه از ۱۴ دانشجوی پسر جوان، از آن‌ها خواسته شد که یک آزمون پزشکی را به همراه یک پرسشنامه پزشکی تکمیل کنند تا قبل از شروع آزمون از مواردی از قبیل عدم مصرف: داروی منظم در یک ماه گذشته، سیگار، الکل؛ عدم انجام ورزش منظم در ۲ ماه گذشته؛ عدم بیماری‌های قلبی- عروقی و متابولیک؛ و همچنین، نشانه‌های تازه از عفونت بخش فوقانی دستگاه تنفسی در یک ماه گذشته اطمینان حاصل گردد. داوطلبین بطور تصادفی به دو گروه ۷ نفره شامل گروه تمرین مقاومتی دایره‌ای با دارونما (سن ۲/۵۰ ± ۲۴/۵۰، قد ۱/۷۰ ± ۱۷۱/۱۷، و وزن ۴/۹۲ ± ۶۷/۵۱) و گروه تمرین مقاومتی دایره‌ای با محلول عناب (سن ۱/۳۱ ± ۲۵/۲۵، قد ۳/۶۳ ± ۱۷۹/۷۵، و وزن ۵/۷۸ ± ۷۴/۰۷) تقسیم شدند.

پروتکل ورزشی و جمع‌آوری خون. قبل از تمرین آزمون اصلی، داوطلبین سه مرتبه در سالن تمرین حضور یافتند. اولین و دومین جلسه به گرفتن آزمون قدرت برگزار شد تا مقادیر یک تکرار بیشینه (1RM) هر کدام از ۹ حرکت مقاومتی درگیر در این مطالعه تعیین گردد. مقادیر 1RM توسط اضافه و کم کردن وزنه پس از هر تلاش در هر کدام از ۹ حرکت به دست آمد. هر نمونه اجازه داشت هر مدت زمانی که لازم می داند برای ریکاوری هر تلاش خود استراحت کند. نمونه ها یک وهله تمرینی را انجام دادند تا مطمئن شوند که هر داوطلب قادر است کل وهله تمرین را در سومین جلسه انجام دهد، و همچنین ثابت کند که وزنه برداری سبب خستگی تا پایان تمرین می شود. تأیید آن توسط بازخورد بصری و کلامی از شرکت کننده ها انجام شد (۴۰). رکورد یک تکرار بیشینه (1RM) نمونه ها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. توصیف رکورد 1RM نمونه‌ها

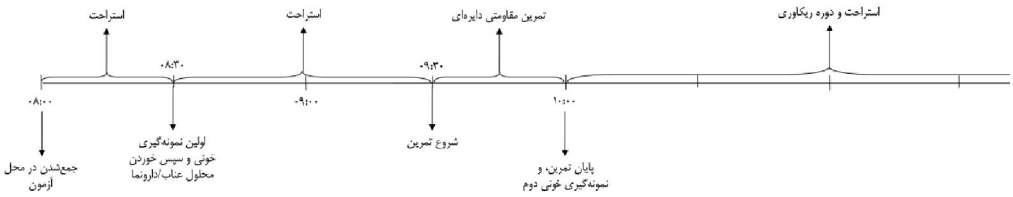
ردیف	متغیر	گروه‌ها	خطای استاندارد ± میانگین
۱	درازونشست (kg)	دارونما	۱۲۷/۱۲ ± ۸/۶۶
		محلول عناب	۱۲۹/۴۹ ± ۱۰/۲۱
۲	اکستنشن تنه (kg)	دارونما	۱۹۹/۷۶ ± ۲۴/۴۶
		محلول عناب	۲۷۰/۷۷ ± ۸۲/۱۲
۳	جلوبازو (kg)	دارونما	۵۴/۰۱ ± ۵/۳۸
		محلول عناب	۶۲/۵۵ ± ۴/۴۹
۴	پشت بازو (kg)	دارونما	۵۷/۳۹ ± ۴/۲۹
		محلول عناب	۶۰/۹۷ ± ۴/۶۷
۵	اکستنشن زانو (kg)	دارونما	۱۵۶/۱۵ ± ۱۳/۰۷
		محلول عناب	۱۷۳/۶۹ ± ۱۱/۲۷
۶	فلکشن زانو (kg)	دارونما	۱۰۰/۴۳ ± ۹/۶۷
		محلول عناب	۱۱۰/۳۵ ± ۱۸/۱۲
۷	پلانتار فلکشن مچ پا (kg)	دارونما	۱۵۲/۶۳ ± ۱۵/۲۰
		محلول عناب	۱۶۶/۰۸ ± ۱۰/۲۵
۸	پرس سینه (kg)	دارونما	۷۳/۲۹ ± ۳/۳۸
		محلول عناب	۷۷/۵۶ ± ۹/۸۳
۹	پارویی (kg)	دارونما	۱۲۶/۴۶ ± ۷/۷۳
		محلول عناب	۱۴۹/۱۵ ± ۱۱/۴۵

نمونه‌های هر دو گروه به محل آزمون در ساعت ۰۸:۰۰ آورده شدند و برای ۳۰ دقیقه استراحت کردند. نمونه‌ها در ساعت ۰۸:۳۰ دارونما و محلول عناب را به صورت دوسوکور دریافت نمودند و برای ۶۰ دقیقه استراحت نمودند، در ۰۹:۳۰ همه نمونه‌ها یک ورزش مقاومتی دایره‌ای را در دو دایره همزمان انجام دادند. هر دایره شامل ۹ حرکت با دستگاه (درازو نشست، اکستنشن تنه، جلوبازو، پشت بازو، اکستنشن زانو، فلکشن زانو، ساق پا، پرس سینه، پارویی) بود. آزمون شامل سه دایره بدون توقف با ۳ دقیقه استراحت فعال بین دورها بود. هر حرکت ۳۰ ثانیه (حدود ۱۴- ۱۰ تکرار) با ۷۵٪ یک تکرار بیشینه (1RM) در نظر گرفته شد. پروتکل تمرین در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.



تصویر شماره ۱. پروتکل ورزش

جهت تهیه محلول خوراکی عناب، میوه‌های نیمه‌رسیده عناب زیزیفوس شسته شده و سپس دانه‌های آن از بخش قرمز نرم جدا و حذف گردید. نمونه‌ها در $50^{\circ}c$ خشک گردیده و در یک هاون به پودر تبدیل شد (۳۶). مطالعات نشان داده‌اند که به هنگام گرسنگی و قبل از دریافت غذا (صبحانه، ناهار و شام) میزان هورمون های اشتها نظیر گرلین، افزایش می‌یابد و از این جهت میزان جذب بالا می‌رود (۴۱, ۴۲). از این رو، همه افراد در شرایط ناشتایی ۱۲ ساعته شبانه محلول خود را دریافت کردند؛ بطوریکه گروه تجربی پودر عناب به میزان ۰/۵ گرم محلول در ۲/۵ سی‌سی آب مقطر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، و گروه دارونما به میزان ۲/۵ سی‌سی آب مقطر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (که با شیرین‌کننده بدون کالری و رنگ خوراکی که تقریباً هم‌مزه و همرنگ با گروه تجربی شود) مصرف کردند (۳۹). نمونه‌های خونی اول در ساعت ۰۸:۳۰ و قبل از مکمل‌گیری دارونما و محلول عناب گرفته شد، نمونه‌های دوم بلافاصله پس از ورزش در ساعت ۱۰:۰۰، سپس نمونه‌ها ۱۲۰ دقیقه نشستند و نمونه‌های سوم در ساعت ۱۲:۰۰ گرفته شد. طرح تحقیق و جمع‌آوری خون در تصویر شماره ۲ نشان داده شده است.



تصویر شماره ۲. طرح تحقیق و جمع‌آوری خون

ترکیب‌سنجی عصاره آبی عناب با روش GC-MS. به منظور جداسازی و شناسایی اجزای موجود عصاره آبی عناب توسط GC-MS و با استفاده از روش نیمه کمی استفاده گردید. محتویات عناب با استفاده از استاندارد داخلی (۳–اوکتانول، ۹۹٪، سیگما آلدریچ) تعیین شد. ترکیبات عصاره با استفاده از یک طیف سنج جرمی مدل Agilent 5975 متصل به یک گاز کروماتوگراف مدل Agilent 7890A (Agilent، Santa Clara، USA) انجام شد. یک ستون DB-WAX (۶۰ متر × ۰/۲۵ میلی‌متر ID و ۰/۲۵ میکرومتر ضخامت فیلم) برای جداسازی استفاده شد. پارامترهای کار به شرح زیر است: درجه حرارت انژکتور، ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد؛ منبع EI، ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد؛ MS Quad، ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد؛ و خط انتقال، ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد. دمای اولیه ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه بود، که به ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد در یک نرخ ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت. درجه حرارت دریچه انژکتور، ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و هلیوم به عنوان گاز حامل در نرخ جریان ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. در مجموع ۱۵ ترکیب مثبت یا آزمایشی توسط GC-MS مشخص شد که در مجموع ۹۲/۲۷٪ سطح زیر پیک را به خود اختصاص داده است (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲. ترکیب‌سنجی عصاره آبی عناب با روش GC-MS.

ترکیبات	زمان بازداری (min)	سطح زیر پیک (٪)
furfural	۲۰/۲۱	۵۱/۳۳
4-Pyrone	۱۷/۰۷	۹/۵۱
Oleic acid	۳۹/۰۰	۶/۳۱
palmic acid	۳۵/۷۰	۴/۱۵
Imidazole	۲۳/۵۹	۳/۰۳
Cyclononasiloxane	۴۲/۰۵	۲/۰۳
Cyclodecasiloxane	۳۵/۶۳	۱/۷۵
Oxantin	۱۰/۶۵	۱/۶۱
Guanine	۲۷/۲۰	۱/۵۸
gamma.-Sitosterol	۴۴/۵۶	۱/۱۷
Niphimycin	۲۶/۸۹	۱/۱۶
Iron	۴۵/۶۵	۱/۱۰
Butanediol	۲۷/۰۰	۱/۰۷
Phthalic acid	۴۵/۴۸	۱/۰۲
Pentasiloxane	۴۸/۳۴	۱/۰۱
Dodecanoic acid	۲۷/۶۱۶	۰/۹۷
octadecamethyl	۳۲/۶۰۴	۰/۹۵
Methyl 2-furoate	۱۴/۲۸	۰/۹۲
1,4-dicarbonic acid	۵۱/۹۹۷	۰/۸۶
Tetradecanoic acid	۳۱/۸۴۰	۰/۷۴
Total		۹۲/۲۷

مواد شیمیایی لازم در جداسازی نوتروفیل. *محلول ضد انعقاد* ACD [ترکیبی از اسید سیتریک (Sigma Aldrich، آلمان)، سیترات سدیم (Sigma Aldrich، آلمان)، دکستروز (Sigma Aldrich، آلمان)، و آب مقطر دیونیزه استریل/$dsdH_2O$ (بهار افشان، ایران)]، *محلول دکستران ۶٪* [ترکیبی از پودر دکستران با وزن مولکولی حداقل ۱۰۰,۰۰۰ (درجه B، BDH lab، GPR^{TM}، انگلستان)، NaCl ۰/۹٪ (Sigma Aldrich، آلمان)، و $dsdH_2O$]، *محلول* KCl *۰/۶ مولار* [ترکیبی از KCl (Sigma Aldrich، آلمان)، و $dsdH_2O$]، *محلول سالین بافرشده با فسفات*/PBS با pH ۷/۴ و اتوکلاوشده [ترکیبی از NaCl، KCl، Na_2HPO_4 (Sigma Aldrich، آلمان)، KH_2PO_4 (Sigma Aldrich، آلمان)، و $dsdH_2O$]، *محلول نمکی متعادل‌شده با محلول هنک*/HBSS بدون کلسیم و منیزیوم با pH ۷/۴ و اتوکلاوشده [ترکیبی از NaCl، KCl، Na_2HPO_4، KH_2PO_4، $NaHCO_3$ (Sigma Aldrich، آلمان)، گلوکز (Sigma Aldrich، آلمان)، و $dsdH_2O$]، *فایکول‌هایپک ۱۰/۷۷* (بهار افشان، ایران).

جداسازی نوتروفیل. خون سیاهرگی از داوطلبان سالم گرفته، با ضدانعقاد ACD مخلوط شد و نوتروفیل‌ها از آن در سه مرحله جدا شد: الف) رسوب توسط دکستران، لیزشدن توسط محلول هیپوتونیک، و رسوب توسط فایکول (۴۳). بطور خلاصه، محلول دکستران ۶٪ و NaCl ۰/۹٪ به ترکیب خون و ACD اضافه شد و پس از خوب مخلوط شدن در دمای اتاق بی‌حرکت قرارداده شد تا جداسازی تکمیل گردید. سپس، مواد رویی زردرنگ جدا و با تکانش پایین سانتریفیوژ شد. مواد رویی دور ریخته و پِلِت به جامانده ظرف مدت ۲۰ ثانیه با $dsdH_2O$ سوسپانسیون گردید و سریعاً KCl ۰/۶ مولار به آن اضافه و در نهایت با PBS رقیق شد. در ادامه با تکانش بالا سانتریفیوژ گردید. مواد رویی دور ریخته و پِلِت به جامانده با PBS سوسپانسیون شد. سوسپانسیون سلول روی فایکول‌هایپک لایه‌گذاری و با تکانش پایین سانتریفیوژ شد. در نهایت مواد رویی دور ریخته و پلت نوتروفیل‌ها در HBSS سوسپانسیون گردید. آزمون زیست‌پذیری تیپان بلو با استفاده از هموسایتومتر چمبر برای زنده بودن سلول‌ها نیز انجام شد و بیش از ۹۶٪ برآورد شد.

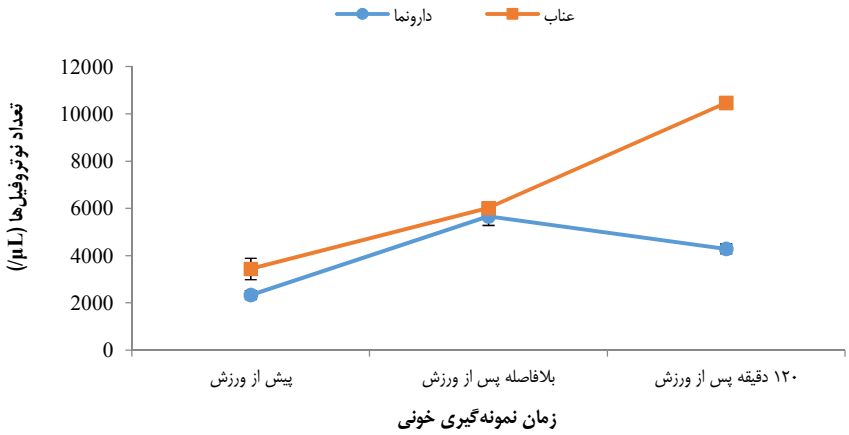
اندازه‌گیری آپوپتوز. مرگ سلولی آپوپتوزی با استفاده از کیت آنکسین PI/۵ مزدوج با FITC[1] (BioVision، آمریکا) و توسط فلوسایتومتری (COULTER, EPICS XL-MCL, by Beckman Coulter, USA) سنجیده شد. بطور خلاصه، پس از جمع‌آوری ۵×۱۰^۵ سلول توسط سانتریفیوژ، در ۵۰۰ µl 1X Binding Buffer سوسپانسیون شد؛ سپس، ۵ µl آنکسین-۵ و PI به سوسپانسیون اضافه شد و برای ۵ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق اینکیوبیت گردید. سرانجام، اتصال آنکسین-۵ توسط فلوسایتومتری (Ex = ۴۸۸ nm، Em = ۵۳۰ nm) و توسط ردیاب سیگنال FITC (FL1)، و رنگ‌آمیزی PI توسط ردیاب سیگنال نشر فایکواریترین (FL2) تحلیل شد. درصد سلول‌های رنگ شده با آنکسین -۵ به عنوان آپوپتوز اولیه، درصد سلول‌های رنگ شده با هم آنکسین -۵ و هم PI به عنوان آپوپتوز تأخیری یا مرحله نکروز برآورد شد (دستورالعمل کیت).

تحلیل‌های آماری. تحلیل واریانس اندازه‌های تکراری برای تعیین اثرات متغیرهای زمان و محلول توسط SPSS در سطح معناداری $p < ۰/۰۵$ بکار رفت. همه داده‌ها به شکل میانگین و خطای استاندارد میانگین در جداول و نمودارها نمایش داده می‌شود.

1 - FITC-conjugated Annexin-V/PI assay kit

یافته‌های تحقیق

تعداد نوتروفیل‌ها. مفروضه کرویت ماوکلی برای تعداد نوتروفیل‌ها برآورده شد (p = ۰/۳۵، w = ۰/۸۳). اثر متقابل گذر زمان و محلول با فرض کرویت معنادار (p = ۰/۰۰۱، F = ۱۱/۸۸) و هم خطی (p = ۰/۰۰۶، ۱۰/۹۵ = F) و هم نمایی (p = ۰/۰۰۳، F = ۱۳/۹۹) بود [نمودار ۱]. به عبارت دیگر، تعداد نوتروفیل‌ها بطور معناداری در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در هر دو گروه محلول عناب و دارونما افزایش یافت، اما این افزایش در گروه دارونما بالاتر بود. این افزایش در گروه محلول عناب و در دوره ریکاوری ۲ ساعته بطور معناداری ادامه یافت؛ اما، در این زمان تعداد نوتروفیل‌ها بطور معناداری در گروه دارونما نسبت به بلافاصله پس از تمرین کاهش یافت؛ بطوریکه هنوز بالاتر از سطح پایه بود.

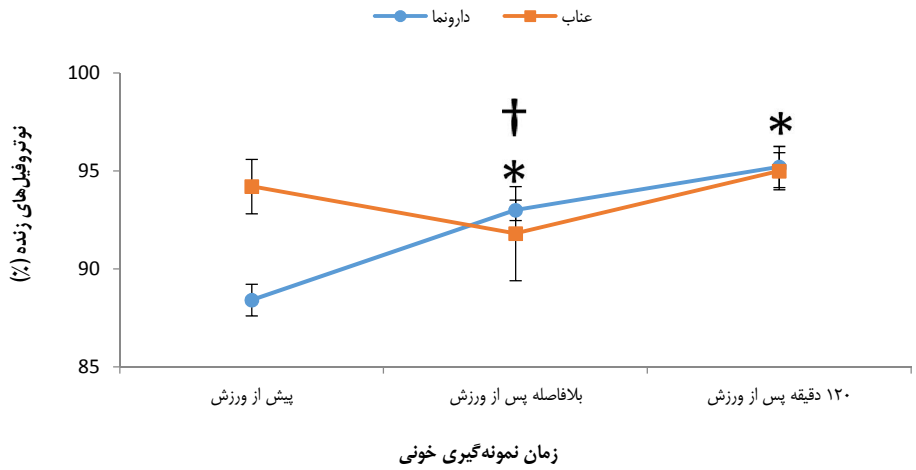


نمودار ۱. پاسخ تعداد نوتروفیل به دریافت حاد محلول خوراکی عناب و تمرین مقاومتی دایره‌ای.

*. تفاوت معنادار نسبت به زمان پیش از ورزش در هر دو گروه.

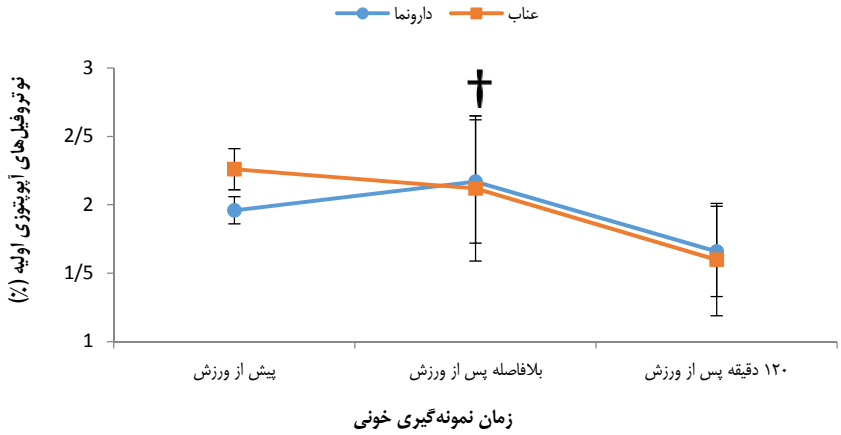
†: تفاوت معنادار نسبت به زمان پیش از ورزش در گروه عناب.

نوتروفیل‌های زنده. مفروضه کرویت ماوکلی برای نوتروفیل‌های زنده برآورده شد (p = ۰/۱۲۱، w = ۰/۶۸). اثر متقابل گذر زمان و محلول با فرض کرویت معنادار (p = ۰/۰۲۲، F = ۴/۴۹۲) و خطی (p = ۰/۰۳۷، ۵/۵۱ =F) بود [نمودار ۲]. به عبارت دیگر، هنگامی که نوتروفیل‌های زنده بطور معناداری در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در گروه محلول عناب تغییر نکرد، بطور معناداری در گروه دارونما افزایش یافت. تغییرات نوتروفیل‌های زنده در هر دو گروه محلول عناب و دارونما در دوره ریکاوری ۲ ساعته مشابه بود و اختلاف میان گروهی معنادار نبود؛ بطوریکه در این زمان تنها افزایش معناداری نسبت به سطوح پایه قبل از تمرین و نه نسبت به بلافاصله پس از تمرین داشت.



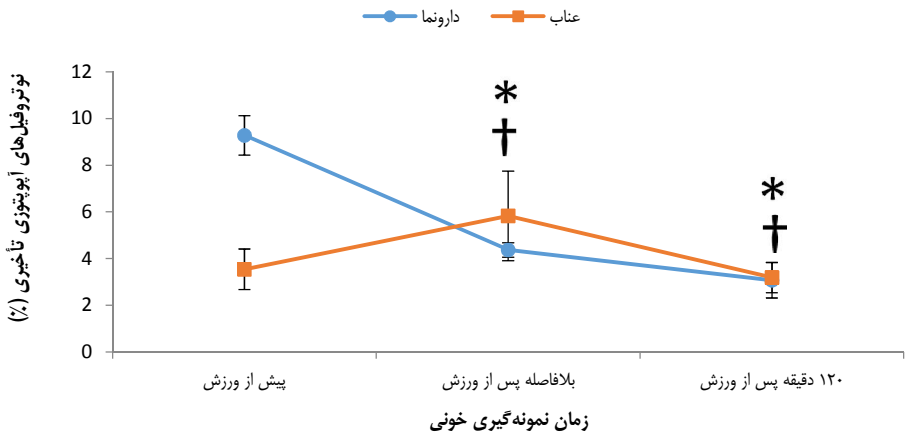
نمودار ۲. پاسخ نوتروفیل‌های زنده به دریافت حاد محلول خوراکی عناب و تمرین مقاومتی دایره‌ای.
*. تفاوت معنادار نسبت به زمان پیش از ورزش در گروه دارونما.
†: اثر متقابل معنادار گذر زمان و گروه.

نوتروفیل‌های آپوپتوزی اولیه. مفروضه کرویت ماوکلی برای نوتروفیل‌های آپوپتوزی اولیه برآورده شد (p = ۰/۷۷۳، w = ۰/۹۵۴). اثر متقابل گذر زمان و محلول با فرض کرویت معنادار (p = ۰/۰۴۸، F = ۲/۴۹۲) و خطی (p = ۰/۰۴۹، F = ۲/۵۲) بود [نمودار ۳]. به عبارت دیگر، هنگامی که نوتروفیل‌های آپوپتوزی اولیه بطور غیرمعناداری در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در گروه محلول عناب کاهش یافت، در گروه دارونما بطور غیرمعناداری افزایش یافت؛ و اثر جمعی این تغییرات در اثر متقابل گذر زمان و محلول معنادار بود. تغییرات نوتروفیل‌های آپوپتوزی اولیه در هر دو گروه محلول عناب و دارونما در دوره ریکاوری ۲ ساعته مشابه هم و غیرمعنادار بود.



نمودار ۳. پاسخ نوتروفیل‌های آپوپتوزی اولیه به دریافت حاد محلول خوراکی عناب و تمرین مقاومتی دایره‌ای.
†: اثر متقابل معنادار گذر زمان و گروه.

نوتروفیل‌های آپوپتوزی تأخیری. مفروضه کرویت ماوکلی برای نوتروفیل‌های آپوپتوزی تأخیری برآورده شد (p = ۰/۲۸۱، w = ۰/۷۹۴). اثر متقابل گذر زمان و محلول با فرض کرویت معنادار (p = ۰/۰۰۳، F = ۷/۴۴۴) و هم خطی (p = ۰/۰۱۱، F = ۸/۹۹) و هم نمایی (p = ۰/۰۳۱، F = ۵/۹۸) بود [نمودار ۴]. به عبارت دیگر، هنگامی که نوتروفیل‌های آپوپتوزی تأخیری بطور معناداری در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در گروه محلول عناب تغییری نکرد، در گروه دارونما بطور معناداری کاهش یافت. از سوی دیگر، زمانی که نوتروفیل‌های آپوپتوزی تأخیری در گروه محلول عناب و در دوره ریکاوری ۲ ساعته بطور معناداری کاهش یافت؛ در این زمان در گروه دارونما تغییر معناداری نکرد.



نمودار ۳. پاسخ نوتروفیل‌های آپوپتوزی تأخیری به دریافت حاد محلول خوراکی عناب و تمرین مقاومتی دایره‌ای.

*. تفاوت معنادار نسبت به زمان پیش از ورزش در گروه دارونما.

†: اثر متقابل معنادار گذر زمان و گروه.

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر مشاهده شد که تعداد نوتروفیل ها بطور معناداری در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در گروه محلول عناب افزایش یافت، اما افزایش در گروه دارونما جزئی و غیرمعنادار بود. در ادامه و در دوره ریکاوری ۲ ساعته، در گروه محلول عناب افزایش جزئی دیده شد؛ اما، در این زمان تعداد نوتروفیل ها بطور معناداری در گروه دارونما هم نسبت به بلافاصله پس از تمرین و هم نسبت به سطح پایه افزایش یافت. مطالعات متعددی گزارش نمودند که ورزش کوتاه تعداد نوتروفیل های گردش خون را بالا می‌برد (۴۴, ۴۵). قنبری نیاکی و طیبی (۲۰۱۳) گزارش دادند که تعداد نوتروفیل های گردش خون دانشجویان تربیت بدنی پسر در پاسخ به یک جلسه تمرین مقاومتی دایره‌ای با ۳۵٪ 1RM تغییری نکرد (۴۶)؛ اما، طیبی و همکاران (داده های چاپ نشده) نشان دادند که یک جلسه تمرین مقاومتی دایره‌ای با ۶۰٪ 1RM منجر به افزایش معنادار تعداد نوتروفیل های گردش خون تنها دانشجویان تربیت بدنی پسر و البته نه وزنه‌برداران شد.

طی ورزش خیلی شدید که تنها ۶۰ ثانیه طول کشید، تعداد نوتروفیل گردش خون افزایش یافت و تا ۱۵ دقیقه پس از ورزش به اوج خود رسید (۴۷). با توجه به گزارشات گذشته و نتایج تحقیق حاضر شاید بتوان گفت که برای ورزش کوتاه گرانولوسیتوز به شدت تمرین وابسته است (۴۸). همچنین عنوان شده که تعداد نوتروفیل گردش خون متعاقب ورزش کوتاه خسته‌کننده تا ۹۰٪ افزایش می‌یابد (۴۹). به نظر می‌رسد که حاشیه‌گزینی‌زدایی نوتروفیل‌ها توسط آدرنالین گزینشی است، زیرا تزریق آدرنالین مسبب نوتروفیلیایی شد که تا حدودی دارای یک درصد بالاتری از نوتروفیل‌های بالغ بودند (۵۰).

اما از طرفی، در این تحقیق مشاهده شد که نوتروفیل های زنده در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در گروه محلول عناب بطور غیرمعناداری کاهش یافت، اما کاهش معناداری در گروه دارونما نشان داد. در ادامه و در دوره ریکاوری ۲ ساعته تغییرات نوتروفیل های زنده در هر دو گروه محلول عناب و دارونما مشابه بود و افزایش معناداری یافت، اما اختلاف میان گروهی معنادار و گروه عناب در سطح بالاتری نسبت به گروه دارونما قرار داشت. مطالعات اخیر پیشنهاد می کنند که کاهش در تعداد لکوسیت ها پس از ورزش در نتیجه القاء مرگ آن ها رخ می دهد (۱۰). علاوه بر آن افزایش در تکه‌تکه‌شدن DNA به شدت و مدت ورزش بستگی دارد (۱۹, ۵۱). ورزش خسته‌کننده سبب افزایش تکه‌تکه‌شدن DNA در لنفوسیت ها و نوتروفیل های ورزشکاران می شود (۵۲–۵۵). مطالعه لاگرانها[1] و همکاران (۲۰۰۴) افزایشی در آپوپتوز نوتروفیل های رت های نابالغ و بالغ پس از یک جلسه ورزش نشان داد (۲۱). نتایج مشابهی توسط لوادا– پیرس[2] و همکاران (۲۰۰۸) در نوتروفیل های ورزشکاران نخبه پس از یک مسابقه سه‌گانه یافت شد (۵۳).

همچنین مشاهده شد نوتروفیل‌های آپوپتوزی اولیه در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در هر دو گروه محلول عناب و دارونما بطور معناداری افزایش یافت که البته این افزایش در گروه دارونما بیشتر بود؛ اما در ادامه و در دوره ریکاوری ۲ ساعته، هنگامی که گروه محلول عناب کاهش به زیر سطوح پایه و معناداری از خود نشان می داد، کاهش ناچیز و غیرمعناداری در گروه دارونما مشاهده شد. از سوی دیگر، نوتروفیل های آپوپتوزی تأخیری/نکروز در پاسخ به ورزش مقاومتی دایره‌ای در گروه محلول عناب تغییر معناداری نکرد، اما در گروه دارونما بطور معناداری افزایش یافت. در ادامه و در دوره ریکاوری ۲ ساعته، نوتروفیل های آپوپتوزی تأخیری هر دو گروه محلول عناب و دارونما بطور معناداری کاهش یافت. گزارش ها حاکی از آن است که ورزش سبب بسیج سلول های ایمنی محیطی می شود و بزرگی این اثر منعکس‌کننده شدت و مدت تلاش است (۵۶, ۵۷). تمرین شدید موجب افزایش استعداد به عفونت ها می شود (۵۸) و این شاید منتج از تخریب عملکرد نوتروفیل یا تسریع در فرآیند مرگ نوتروفیل باشد (۱۰). ورزش خسته‌کننده کوتاه مدت یا ورزش تردمیل شدید سبب آسیب به DNA در لنفوسیت ها در افراد غیرتمرین‌کرده می شود (۵۹). لاگرانها و همکاران (۲۰۰۴ و ۲۰۰۵) نشان دادند که یک جلسه ورزش سبب تخریب تکه‌تکه‌شدن DNA و دپولاریزه‌شدن غشاء میتوکندریایی، موجب افزایش بیان ژن های پیش‌آپوپتوزی (bax و bcl-xS) و کاهش بیان ژن های ضدآپوپتوزی (bcl-xL) در نوتروفیل های رت شد (۱۹, ۲۱).

آپوپتوز یک پدیده بسیار پیچیده و شامل یک سری از وقایع تنظیمی است، و تا اندازه‌ای توسط محرک های برون‌سلولی شامل سایتوکان‌ها و شاید موجودیت مواد مغذی کنترل شود (۶۰). اگرچه به اندازه کمی از نقش

1 - Lagranha
2 - Levada-Pires

گلوکز و گلوتامین برای فرآیند آپوپتوز درک شده است؛ اما برخی مطالعات مشخص کرده‌اند که نوتروفیل ها از این متابولیت ها به اندازه بالایی مصرف می کنند (۶۱).

مطالعات پیشین آشکار کرد که عناب حاوی اجزاء متعددی شامل اسیدهای تریترپنیک[۱]، فلاونوئیدها[۲]، سربروسیدها[۳]، اسیدهای آمینه، اسیدهای فنولیک[۴]، مواد معدنی، و پلی‌ساکاریدها[۵] است؛ و مطالعات شیمی گیاهی[۶] میوه های عناب سبب پدیدارشدن برخی از اثرات بیولوژیک آن ها مانند ضد سرطان، ضدالتهابی، ضدچاقی، محرک ایمنی، آنتی اکسیدانی، محافظ هپاتیت، و فعالیت های محافظ روده‌ای- معده‌ای و بازداری تشکیل سلول اسفنجی[۷] در ماکروفاژها داشت (۶۲).

یافته های این تحقیق نشان می دهد که طی ورزش، زمانی که تعداد نوتروفیل های گروه عناب افزایش می یابد، در گروه دارونما تغییری نمی بینیم. ولی در طی ریکاوری تعداد نوتروفیل های گروه دارونما افزایش می یابد ولی بطور برعکس در گروه عناب مهار می شود (اثر متقابل محلول و گذر زمان). از طرفی، طی ورزش زمانی که نوتروفیل های زنده گروه دارونما کاهش معناداری را نشان می داد، این کاهش در گروه محلول عناب ناچیز بود و به عبارتی مهار شد، ولی در دوره ریکاوری روند افزایشی و بازگشت به سمت سطوح پایه را به خود گرفت؛ بطوریکه نوتروفیل های زنده گروه محلول عناب افزایش معناداری را حتی نسبت به سطوح پایه از خود نشان داد. از طرف دیگر، نوتروفیل های آپوپتوزی اولیه گروه عناب طی ورزش افزایش معنادار کمتری نسبت به افزایش معنادار گروه دارونما داشت؛ و حتی طی ریکاوری ۲ ساعته کاهش معنادار نوتروفیل های آپوپتوزی اولیه به زیر سطوح پایه خود بود، ولی در گروه دارونما این کاهش کم و غیرمعنادار بود. همچنین، نوتروفیل های آپوپتوزی تأخیری طی تمرین در گروه عناب مهار شدند و در گروه دارونما در سطحی بالاتر از گروه عناب افزایش یافت؛ و در دوره ریکاوری اگرچه هر دو گروه کاهش معناداری به سمت سطوح پایه داشتند؛ ولی تنها در گروه عناب به زیر سطوح پایه خود کاهش چشمگیری یافت.

در واقع به خوبی روشن نیست که پیش تیمار با محلول عناب خوراکی در مردان جوان تحت شرایط پژوهشی ما با چه سازوکاری رخداد روند آپوپتوزیس را مهار می کند. با این وجود ، شاید به توان با توجه به ترکیبات دارویی و مواد مؤثره موجود در عناب به تعدادی از ساز وکارهای احتمالی اثر ایمنی عناب اشاره کرد. بررسی‌های انجام شده روی میوه عناب نشان می‌دهد که عصاره این میوه فعالیت سیتوتوکسیک داشته و می‌تواند در سلول‌های سرطانی و برخی از تومورها اثر اپوپتوزیس ایجاد نماید (۳۶). آن‌ها همچنین اظهار داشتند که در سلول‌ها کشت داده شده تزریق عصاره عناب موجب چروگیدکی و جدایی در سلول‌های چسبیده و HeLa و HEp-2 گردید و با افزایش غلظت عصاره اثر بیشتر گردید. لنفوسیت‌های طبیعی انسانی فقط در مقادیر بسیار بالایی یعنی ۱۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر گردید. از طرفی دیگر فعالیت ضد تکثیری سلولی و مهار کننده رشدی سلول‌های توموری توسط اسیدهای تری ترپینن موجود در عناب نیز مورد توجه قرار گرفته است. این احتمال وجود دارد که پیش تیمار افراد با عناب توانسته قابلیت این فعالیت را در سلول‌هایی نوتروفیلی طبیعی در برابر استرس فیزیکی جلوگیری نماید.

1 - Triterpenic Acids
2 - flavonoids
3 - Cerebrosides
4 - Phenolic Acids
5 - Polysaccharides
6 - Phytochemical
7 - Foam Cell

هوانگ و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه ای اثر داروی چینی مرکب حاوی عناب را به عنوان محرک ایمنی در موس‌ها ارزیابی کردند. نتایج نشان داد که این ترکیب دارویی توانسته از کاهش تعداد گلبول‌های سفید ناشی از سیکلوفسفامید یک مهار کننده دستگاه ایمنی جلوگیری نماید (۶۳). شن و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده نمودند که تیمار موش‌ها با عصاره الکلی عناب در دو مقدار ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از کاهشی سطوح آنتی اکسیدانی (گلوتاتیون و سوپر اکسید دیسموتاز) ناشی از کربن تتراکلراید (CCl4) ممانعت کرده است (۶۴). تأثیر عصاره برگ درخت عناب بر فعالیت فاگوسیتوز نوتروفیل انسانی توسط کاناچاری و همکاران (۲۰۰۴) مطالعه شد و نتایج نشان داد که عصاره به طور وابسته به مقدار حرکت تعداد نوتروفیل را از بخش بالا به سطح پایین فیلتر افزایش داده و فاگوسیتوز نوتروفیلی با افزایش مقدار عصاره به تدریج کاهش یافت. یو[1] و همکاران (۲۰۱۲) و گویال[2] و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعات بالینی اثرات ضدالتهابی عناب و برخی اجزاء آن را بررسی نمودند و گزارش دادند جزء اسیدهای تریترپن عناب، فعالترین بخش آن برای مهار التهاب بود (۳۲)، و همچنین خود میوه آن در برابر واکنش های التهابی حاد و مزمن تجربی از طریق تضعیف فعالیت NOS محافظت نمود (۳۱). لی[3] و همکاران (۲۰۱۱) و ژائو[4] و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثر محرک ایمنی عناب و برخی اجزاء آن را بررسی بررسی نمودند و گزارش کردند جزء پلی‌ساکاریدهای عناب سبب افزایش شاخص های تیموس و طحال در موش ها شد و تکثیر اسپلینوسیت ها و ماکروفاژهای صفاقی را تقویت کرد (۲۹)، و دو پلی‌ساکارید پکتینی عناب دارای فعالیت معنادار در تقویت اثر تکثیر سلول های طحال بود (۳۰). اما در خصوص اثرات ایمنی میوه عناب در ورزش مطالعه ای وجود ندارد. تنها قنبری نیاکی و همکاران (۲۰۱۳) اثر تمرین هوازی با و بدون عصاره گیاهی عناب را بر غلظت های نسفاتین-۱، ATP، HDL-c، و LDL-c فوندوس در رت های ماده بررسی کردند و گزارش کردند که ورزش و استفاده از عصاره عناب احتمالاً از بیش‌وزنی و بیماری های قلبی- عروقی پیشگیری می کند (۳۵). طیبی و همکاران (داده های منتشر نشده) نیز اثر دریافت محلول خوراکی عناب را یک ساعت قبل از یک جلسه تمرین مقاومتی دایره‌ای بر وضعیت آپوپتوز نوتروفیل انسانی بررسی نمودند (دقیقاً به شیوه تحقیق حاضر اما بطور حاد) و مشاهده کردند که آپوپتوز نوتروفیل انسانی در گروه محلول عناب بازداری شد.

بر اساس علوم غذایی، عناب حاوی مواد مغذی مختلفی شامل قندها (نشاسته: ۲۱/۸٪، فروکتوز: ۱۶٪، گلوکز ۹/۶٪، و ساکاروز ۲۱/۸٪)، چربی (۱۹٪)، اسیدهای آمینه متعدد (آلانین، اسید آسپارتیک، گلایسین، هیستیدین، لوسین، ایزولوسین، فنیل‌آلانین، پرولین، سرین، تِراونین و ...) اسید گلوتامیک، پروتئین (۵/۶٪ - ۴/۵٪)، مواد معدنی مختلف (آهن، سدیم، پتاسیم، روی، منگنز، سولفور و ...) و ویتامین ها (C، B1، B) است. بطور کلی، میوه عناب از نظر کربوهیدرات ها، مخصوصاً فروکتوز و گلوکز بسیار غنی است، بطوری که ۷۷٪ وزنش را به خود اختصاص می‌دهد. ویتامین های C، A، و مجموعه B، همچنین کلسیم، پتاسیم، و دیگر عناصر مواد معدنی، در میوه عناب شناسایی شده اند (۶۵، ۶۶).

همانطور که در مطالعات گذشته اشاره شده است گلوکز و گلوتامین دو ماده سوختی بسیار مهم برای سلول های دستگاه ایمنی است. بطور ویژه عملکرد گلوتامین در نوتروفیل‌های رت‌ها را مطالعه و برای اولین بار اثبات شد که میزان مصرف گلوتامین در این سلول‌ها بالاتر از گلوکز است (۶۱). به نظر می‌رسد مصرف گلوتامین در

1 - Yu
2 - Goyal
3 - Li
4 - Zhao

نوتروفیل‌های آپوپتوزی افزایش یافت. از سوی دیگر، نشان داده شد گلوتامین رخداد آپوپتوز خودبه‌خودی[1] در نوتروفیل‌ها را به تأخیر اندازد و غلظت پلاسمایی گلوتامین بطور مثبتی با پتانسیل غشاء میتوکندری (MTP) همبسته بود (۲۲). کاهشی در MTP به عنوان لزوم تعهد سلول‌ها به آپوپتوز تشخیص داده شد (۵۴). همچنین گلوتامین پلاسما بطور معکوس با آنکسین V متصل به فسفاتیدیل‌سرین خارجی‌شده[2]، و با تغلیظ کروماتین در نوتروفیل‌های هم رت و هم انسان همبسته بود (۲۲). از سوی دیگر، اسیدهای آمینه‌ای نظیر آلانین، اسید آسپارتیک، مخصوصاً اسید گلوتامیک می توانند در شکل‌گیری گلوتامین در بدن شرکت کنند، و به نظر می رسد فراهمی این اسیدهای آمینه در بدن توسط بارگیری آن ها یک هفته قبل از تمرینات بتواند در ساخت گلوتامین اثرگذار باشد. از این رو می توان نتیجه گیری نمود که مهار آپوپتوز در گروه عناب احتمالاً به دلیل فراهمی گلوکز و گلوتامین بدن در نتیجه بارگیری آن ها در یک هفته قبل از آزمون بوده باشد.

در پایان باید اشاره نمود که اگرچه بهتر بود در تحقیق حاضر در زمان یک ساعت پس از دریافت محلول عناب و دارونما و یا قبل از شروع تمرین نیز خونگیری انجام می‌گرفت؛ و یا دو گروه محلول عناب بدون تمرین و گروه دارونمای بدون تمرین نیز اضافه و نتیجه‌گیری با دقت بالاتری ارائه می‌شد؛ اما از طرفی این نخستسن پژوهشی است که اثر مکمل سازی با عصاره آبی را بر شرایط آپوپتوزی ناشی از تمرین و ضدآپوپتوزی این عصاره به همراه تمرین مقاومتی یک جلسه ای بررسی کرده است. نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که عناب بدلیل ویژگی تغذیه‌ای و ارزش غذایی آن می‌تواند به عنوان یک مکمل مناسب قبل از فعالیت‌های مقاومتی، به ویژه دایره‌ای باشد چون می‌تواند از افزایش آپوپتوز نوتروفیلی ناشی از تمرین تا حدودی جلوگیری نماید که به رخداد تعدادی از حوادث درونی سلولی وابسته است. لذا به تحقیقات بیشتری لازم است تا سازوکارهای مناسب مهاری و ضد آپوپتوزی عناب را ارزیابی نماید.

References:

1. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. Science. 2004;303(5663):1532-5.
2. Duffin R, Leitch AE, Fox S, Haslett C, Rossi AG. Targeting granulocyte apoptosis: mechanisms, models, and therapies. Immunol Rev. 2010;236:28-40.
3. Pillay J, den Braber I, Vrisekoop N, Kwast LM, de Boer RJ, Borghans JAM, et al. In vivo labeling with 2H2O reveals a human neutrophil lifespan of 5.4 days. Blood. 2010;116(4):625-7.
4. Serhan CN, Brain SD, Buckley CD, Gilroy DW, Haslett C, O'Neill LA, et al. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. FASEB J. 2007;21(2):325-32.
5. Fialkow L, Fochesatto Filho L, Bozzetti MC, Milani AR, Rodrigues Filho EM, Ladniuk RM, et al. Neutrophil apoptosis: a marker of disease severity in sepsis and sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. Crit Care. 2006;10(6):R155.
6. Fitzpatrick AM, Holguin F, Teague WG, Brown LA. Alveolar macrophage phagocytosis is impaired in children with poorly controlled asthma. J Allergy Clin Immunol. 2008;121(6):1372-8, 8 e1-3.

1 - Spontaneous Apoptosis
2 - Annexin V Binding to Externalized Phosphatidylserine

7. Munoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. Nat Rev Rheumatol. 2010;6(5):2–۸۰ .۹
8. Raza K, Scheel-Toellner D, Lee CY, Pilling D, Curnow SJ, Falciani F, et al. Synovial fluid leukocyte apoptosis is inhibited in patients with very early rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2006;8(4):R120.
9. Mooren FC, Völker K, Klocke R, Nikol S, Waltenberger J, Krüger K. Exercise delays neutrophil apoptosis by a G-CSF-dependent mechanism. J Appl Physiol. 2012;113(7):1082-90.
10. Hsu T-G, Hsu K-M, Kong C-W, Lu F-J, Cheng HU, Tsai K. Leukocyte mitochondria alterations after aerobic exercise in trained human subjects. Med Sci Sports Exerc. 2002;34(3):438-42.
11. Syu GD, Chen HI, Jen CJ. Severe Exercise and Exercise Training Exert Opposite Effects on Human Neutrophil Apoptosis via Altering the Redox Status. PLoS One. 2:(۹)۶;۰۱۱e24385.
12. Tuan TC, Hsu TG, Fong MC, Hsu CF, Tsai KKC, Lee CY, et al. Deleterious effects of short-term, high-intensity exercise on immune function: evidence from leucocyte mitochondrial alterations and apoptosis. Br J Sports Med. 2008;42(1):11.۵–
13. Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. Clin Chim Acta. 2010;411(11-12):785-93.
14. Geering B, Simon HU. Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils. Cell Death Differ. 2011;18(9):1457-69.
15. Savill JS, Wyllie AH, Henson JE, Walport MJ, Henson PM, Haslett C. Macrophage phagocytosis of aging neutrophils in inflammation. Programmed cell death in the neutrophil leads to its recognition by macrophages. J Clin Invest. 1989;83(3):865-75.
16. Gleeson M. Can Nutrition Limit Exercise-Induced Immunodepression? Nutr Rev. 2006;64(3):119-31.
17. Gleeson M, Nieman DC, Pedersen BK. Exercise, nutrition and immune function. J Sports Sci. 2004;22(1):115-25.
18. Walsh NP, Blannin AK, Bishop NC, Robson PJ, Gleeson M. Effect of oral glutamine supplementation on human neutrophil lipopolysaccharide-stimulated degranulation following prolonged exercise. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2000;10(1):39-50.
19. Lagranha CJ, deLima TM, Senna SM, Doi SQ, Curi R, Pithon-Curi TC. The effect of glutamine supplementation on the function of neutrophils from exercised rats. Cell Biochem Funct. 2005;23(2):101-7.
20. Lagranha CJ, Hirabara SM, Curi R, Pithon-Curi TC. Glutamine supplementation prevents exercise-induced neutrophil apoptosis and reduces p38 MAPK and JNK phosphorylation and p53 and caspase 3 expression. Cell Biochem Funct. 2007;25(5):563-9.
21. Lagranha CJ, Senna SM, De Lima TM, Silva ÉPP, Doi SQ, Curi RUI, et al. Beneficial Effect of Glutamine on Exercise-Induced Apoptosis of Rat Neutrophils. Med Sci Sports Exerc. 2004;36(2):210-7.

22. Pithon-Curi TC, Schumacher RI, Freitas JJ, Lagranha C, Newsholme P, Palanch AC, et al. Glutamine delays spontaneous apoptosis in neutrophils. Am J Physiol Cell Physiol. 2003;284(6):C1355-61.
23. Solati J, Soleimani N. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of Ziziphus vulgaris L. on streptozocin-induced [corrected] diabetic adult male Wistar rats. Acta Diabetol. 2010;47 Suppl 1:219-23.
24. Tian WX, Li LC, Wu XD, Chen CC. Weight reduction by Chinese medicinal herbs may be related to inhibition of fatty acid synthase. Life Sci. 2004;74(19):2389-99.
25. Osman MA, Ahmed MA. Chemical and proximate composition of (Zizyphus spina-christi) nabag fruit. Nutr Food Sci. 2009;39(1):70-5.
26. Bown D, Herb Society of A. Encyclopedia of herbs and their uses: Dorling Kindersley; 1995. 424 p.
27. Duke JA, Ayensu ES. Medicinal plants of China: Reference Publications Algonac; 1985. S219–S ۲۴p.
28. Him-Che Y. Handbook of Chinese herbs and formulas. Institute of Chinese Medicine, Los Angeles. 1985;1:S219–S24.
29. Li J, Shan L, Liu Y, Fan L, Ai L. Screening of a functional polysaccharide from Zizyphus Jujuba cv. Jinsixiaozao and its property .Int J Biol Macromol. 2011;49(3):255-9.
30. Zhao Z, Li J, Wu X, Dai H, Gao X, Liu M, et al. Structures and immunological activities of two pectic polysaccharides from the fruits of Ziziphus jujuba Mill. cv. jinsixiaozao Hort. Food Res Int. 2006;39(8):917-23.
31. Goyal R, Sharma P, Singh M. Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory effect of Ziziphus jujuba in rat. J Nat Med. 2011;65(3-4):514-8.
32. Yu L, Jiang BP, Luo D, Shen XC ,Guo S, Duan JA, et al. Bioactive components in the fruits of Ziziphus jujuba Mill. against the inflammatory irritant action of Euphorbia plants. Phytomed. 2012;19(3–4):239-44.
33. Chen CF, Lee JF, Wang D, Shen CY, Shen KL, Lin MH. Water extract of Zizyphus Jujube attenuates ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats (PP106). Transplant Proc. 2010;42(3):741-3.
34. Zhang H, Jiang L, Ye S, Ye Y, Ren F. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (Ziziphus jujuba Mill.) from China. Food Chem Toxicol. 2010;48(6):1461-5.
35. Ghanbari Niaki A, Hosseini F, Rooadbari F, Rahmati Ahmadabad S, Rooadbari M. Effects of Aerobic Training, with or without Zizyphus Jujuba Water Extraction, on Fundus Nesfatin-1, ATP, HDL-C, and LDL-C Concentrations in Female Rats. Iran J Health Phys Act. 2013;4(1):9-16.
36. Vahedi F, Fathi Najafi M, Bozari K. Evaluation of inhibitory effect and apoptosis induction of Zyzyphus Jujube on tumor cell lines, an in vitro preliminary study. Cytotechnology. 2008;56(2):105-11.

37. Sun Y-F, Song C-K, Viernstein H, Unger F, Liang Z-S. Apoptosis of human breast cancer cells induced by microencapsulated betulinic acid from sour jujube fruits through the mitochondria transduction pathway. Food Chem. 2013;138(2–3):1998-2007.
38. Liang S, Juan J. Effect of jujube extract on oxidative injury in heart muscles of exhausted training rats. Afr J Microbiol Res. 2011;5(14):1896-9.
39. Tayebi SM, Agha-Alinejad H, Shafaee S, Gharakhanlou R, Asouri M. Short-Term Effects of Oral Feeding Jujube Ziziphus Solution before a Single Session of Circuit Resistance Exercise on Apoptosis of Human Neutrophil. Ann Appl Sport Sci. 2014;2(1):53-68.
40. Ghanbari-Niaki A. Ghrelin and glucoregulatory hormone responses to a single circuit resistance exercise in male college students. Clin Biochem. 2006;39(10):966-70.
41. Tayebi SM, Ghorban-alizadeh F, Ghaziani., Mohamadi H, Bazneshin. Oral glucose administration after circuit resistance exercise induced plasma ghrelin suppression. Euro J Exp Bio. 2012;2(5):1616-24.
42. Ghanbari-Niaki A, Abednazari H, Tayebi SM, Hossaini-Kakhak A, Kraemer RR. Treadmill training enhances rat agouti-related protein in plasma and reduces ghrelin levels in plasma and soleus muscle. Metabolism. 2009;58(12):1747-52.
43. Heit BJ. Human Peripheral blood's Neutrophil isolation 2001 [cited 2012]. Available from: http://www.bio.net/bionet/mm/immuno/2001-August/016695.html.
44. McCarthy DA, Dale MM. The leucocytosis of exercise. A review and model. Sports Med. 1988;6(6):333-63.
45. Pyne DB. Regulation of neutrophil function during exercise. Sports Med. 1994;17(4):245-58.
46. Ghanbari-Niaki A, Tayebi SM. Effects of a Light Circuit Resistance Exercise Session on Some Hematological Parameters of Male Collage Students. Ann Appl Sport Sci. 2013;1(1):6-11.
47. Gabriel H, Urhausen A, Kindermann W. Mobilization of circulating leucocyte and lymphocyte subpopulations during and after short, anaerobic exercise. Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1992;65(2):164-70.
48. Gabriel H, Schwarz L, Steffens G, Kindermann W. Immunoregulatory hormones, circulating leucocyte and lymphocyte subpopulations before and after endurance exercise of different intensities. Int J Sports Med. 1992;13.۶۶–۳۵۹:(۵)
49. Field CJ, Gougeon R, Marliss EB. Circulating mononuclear cell numbers and function during intense exercise and recovery. J Appl Physiol. 1991;71(3):1089-97.
50. Fehr J, Grossmann HC. Disparity between circulating and marginated neutrophils :evidence from studies on the granulocyte alkaline phosphatase, a marker of cell maturity. Am J Hematol. 1979;7(4):369-79.
51. Levada-Pires AC, Cury-Boaventura MF, Gorjao R, Hirabara SM, Puggina EF, Pellegrinotti IL, et al. Induction of lymphocyte death by short- and long-duration triathlon competitions. Med Sci Sports Exerc. 2009;41(10):1896-901.
52. Hartmann A, Plappert U, Raddatz K, Grunert-Fuchs M, Speit G. Does physical activity induce DNA damage? Mutagenesis. 1994;9(3):269-72.

53. Levada-Pires AC ,Cury-Boaventura MF, Gorjao R, Hirabara SM, Puggina EF, Peres CM, et al. Neutrophil death induced by a triathlon competition in elite athletes. Med Sci Sports Exerc. 2008;40(8):1447-54.
54. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. Med Sci Sports Exerc. 2001;33(3):393-6.
55. Wang JS, Huang YH. Effects of exercise intensity on lymphocyte apoptosis induced by oxidative stress in men. Eur J Appl Physiol. 2005;95(4):290-7.
56. Matthews CE, Ockene IS, Freedson PS, Rosal MC, Merriam PA, Hebert JR. Moderate to vigorous physical activity and risk of upper-respiratory tract infection. Med Sci Sports Exerc. 2002;34(8):1242-8.
57. Silveira EM, Rodrigues MF, Krause MS, Vianna DR, Almeida BS, Rossato JS, et al. Acute exercise stimulates macrophage function: possible role of NF-kappaB pathways. Cell Biochem Funct. 2007;25(1):63-73.
58. Castell LM, Poortmans JR, Newsholme EA. Does glutamine have a role in reducing infections in athletes? Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1996;73(5):488-90.
59. Mars M, Govender S ,Weston A, Naicker V, Chuturgoon A. High Intensity Exercise: A Cause of Lymphocyte Apoptosis? Biochem Biophys Res Commun. 1998;249(2):366-70.
60. Duchen MR. Contributions of mitochondria to animal physiology: from homeostatic sensor to calcium signalling and cell death. J Physiol. 1999;516(1):1-17.
61. Curi TC, De Melo MP, De Azevedo RB, Zorn TM, Curi R. Glutamine utilization by rat neutrophils: presence of phosphate-dependent glutaminase. Am J Physiol. 1997;273(4 Pt 1):C1124-9.
62. Gao Q-H, Wu C-S, Wang M. The Jujube (Ziziphus Jujuba Mill.) Fruit: A Review of Current Knowledge of Fruit Composition and Health Benefits. J Agric Food Chem. 2013;61(14):3351-63.
63. Huang GC, Wu LS, Chen LG, Yang LL, Wang CC. Immuno-enhancement effects of Huang Qi Liu Yi Tang in a murine model of cyclophosphamide-induced leucopenia. J Ethnopharmacol. 2007;109(2):229-35.
64. Shen X, Tang Y, Yang R, Yu L, Fang T, Duan JA. The protective effect of Zizyphus jujube fruit on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in mice by anti-oxidative activities. J Ethnopharmacol. 2009;122(3):555-60.
65. Guil-Guerrero JL, Diaz Delgado A, Matallana Gonzalez MC, Torija Isasa ME. Fatty acids and carotenes in some ber (Ziziphus jujuba Mill) varieties. Plant Foods Hum Nutr. 2004;59(1):23-7.
66. Huang YL, Yen GC, Sheu F, Chau CF. Effects of water-soluble carbohydrate concentrate from Chinese jujube on different intestinal and fecal indices. J Agric Food Chem. 2008;56(5):1734-9.