

**Research Paper**

**The Effect of Caffeine Supplementation and High Intensity Interval Training on Myocardial Oxidation Stress in Male Wistar Rats**



Safar Safarzade Gargari<sup>1</sup>\*, Asghar Tofighi<sup>1</sup>, Afshar Jafari<sup>2</sup>, Javad Tolouei Azar<sup>1</sup>, Fereshteh Farajdokht Alchin<sup>3</sup>

1. Department of Exercise Physiology and Corrective Movements, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

2. Department of Sports Biology, Faculty of Sports and Health Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

3. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Medical of Science University, Tabriz, Iran.

Use your device to scan  
and read the article online



**Citation** Tofighi A, Safarzade Gargari S, Jafari A, Tolouei Azar J, Farajdokht F. [The Effect of Caffeine Supplementation and High Intensity Interval Training on Myocardial Oxidation Stress in Male Wistar Rats (Persian)]. *Jundishapur Journal of Medical Sciences*. 2022; 21(3):448-459. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2760>



<https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2760>



**ABSTRACT**

**Background and Objectives** The role of stress oxidative on cardiac disease prevalence has been studied by researchers and the effects of high-intensity interval training (HIIT) have not been specified clearly. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of HIIT training with caffeine consumption on myocardial oxidative stress in rats.

**Subjects and Methods** Thirty-two male rats were randomly divided into four groups (eight rats per group): control, HIIT (TA), caffeine (CA), and HIIT + caffeine (TA+CA). One hour before exercise, caffeine was injected into the CA and TA+CA groups. HIIT was performed five days a week with 85-90% maximum running speed on a treadmill for eight weeks. Then, 48 hr after the last exercise session and anaesthetization, the left ventricular was removed and the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) levels were measured by spectrophotometry.

**Results** The results indicated that MDA levels in the CA+TA and CA groups significantly decreased compared to the control group ( $P<0.05$ ). Also, the levels of SOD and CAT significantly increased in the three groups compared to the control group.

**Conclusion** HIIT along with caffeine consumption can protect the cardiac tissue in rats and prevent heart injury.

**Keywords** HIIT training, Malondialdehyde, Superoxide dismutase, Catalase and caffeine

Received: 16 Jan 2022

Accepted: 18 Jun 2022

Available Online: 23 July 2022

**\* Corresponding Author:**

Asghar Tofighi, PhD.

Address: Department of Exercise Physiology and Corrective Movements, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

Tel: +98 (914) 1940174

E-Mail: [a.tofighi@urmia.ac.ir](mailto:a.tofighi@urmia.ac.ir)

## Extended Abstract

### Introduction

**T**he enzymatic defense system includes the enzymes glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutase, which are responsible for intracellular protection [1]. One of the most important products of lipid peroxidation is malondialdehyde, which has been of great interest and is considered the main indicator of oxidative stress [4, 5]. Aerobic and endurance exercises can improve tissue resistance against harmful stimuli that improve intracellular oxidative stress and apoptosis [7, 8]. Following intense physical activities, with an increase in reactive oxygen species and lipid peroxidation, including malondialdehyde, and an imbalance between oxidative stress and antioxidant defense, a decrease in total antioxidant capacity occurs [11]. Caffeine increases heart protection by negatively regulating inflammatory and apoptotic pathways in rats [13]. Songstad et al. showed that performing six weeks of intense interval training caused no significant difference in the amount of total antioxidant capacity and malondialdehyde in the liver and heart tissue of pregnant rats [12]. According to the conflicting results of the research regarding the effect of intense intermittent exercise on cardiac oxidative stress indicators and/or the use of caffeine supplements on oxidative stress indicators, it is necessary to conduct a study in order to find an effective non-pharmacological solution to reduce these indicators on the heart of rats. Therefore, the present research was done to investigate the effect of eight weeks of intense intermittent exercise and caffeine supplementation on the levels of malondialdehyde and the activity of superoxide dismutase and catalase enzymes in the heart tissue of male rats.

### Methods

In this experimental study, 40 male Wistar rats with an average age of 8 weeks and an average weight of 200-220 grams were purchased from the Center for Research and Breeding of Laboratory Animals at Pasteur Institute, Tehran. After two weeks of familiarization with the environment and how to perform the activity, the rats after weight matching were randomly divided into four groups ( $n=8$ ) including 1- healthy control (C), 2- exercise, 3- caffeine supplement, and 4- caffeine supplement. The training program included running on a treadmill in two-minute intervals for eight weeks and every week for five days. The warm-up and cool-down phase at the beginning and end of the main phase of the exercise was performed with an intensity of 40-50% of the maximum speed (16-20 m/min) for 5 minutes on the treadmill. Animals

performed high-intensity interval training (5 to 12 2-minute bursts with an intensity of 90-85% of the maximum running speed and a minute of rest between bursts and 10 meters per minute equivalent to 30-40% intensity of the maximum oxygen consumption) at 19-20 pm, on a treadmill [9]. The control groups did not participate in any activity program. Then, 48 hours after the last training session, a part of the left ventricular tissue of the heart was carefully removed and frozen in nitrogen at -80°C. Pure anhydrous caffeine powder (dry) prepared from Merck, German was administrated according to the body weight of the animals (70 mg per kilogram of body weight) by intraperitoneal injection from 15:00 to 17:00 for eight weeks and five days per week [14]. Each 100 mg of tissue was homogenized in 1 ml of saline phosphate buffer containing antiprotease cocktail by a homogenizer, and then the tissue was homogenized in Rcf 10,000 for 15 minutes at 4 °C and the supernatant was collected and used to measure the biochemical indices of the research.

### Statistical Analysis

The Kolmogorov-Smirnov test was used to check the normal distribution of the data. To investigate the difference between groups, a one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were performed at a significance level of less than 0.05 using SPSS software.

### Results

The results of the one-way analysis of variance showed a significant difference in the levels of malondialdehyde ( $P<0.001$  and  $F=508.808$ ) and the activity of superoxide dismutase ( $P<0.001$  and  $F=115.266$ ) and catalase ( $P<0.05$ ) between groups. The results of Tukey's test showed that the level of malondialdehyde in the caffeine group ( $P=0.081$ ) did not change significantly compared to the control group, but it decreased significantly in the training group ( $P=0.01$ ). Following high-intensity interval training and caffeine consumption, the level of malondialdehyde decreased significantly ( $P=0.0078$ ) compared to the control group, although the decrease in malondialdehyde levels in the caffeine+training group was not significant compared to the caffeine and training groups ( $P=0.07$ ). The levels of superoxide dismutase in the caffeine ( $P=0.02$ ), training ( $P=0.012$ ), and training+caffeine ( $P=0.0083$ ) groups had a significant increase compared to the control group and the simultaneous effect of exercise and caffeine was not significant compared to the caffeine and training groups ( $P=0.14$ ). Also, catalase levels increased significantly in the research groups compared to the control group ( $P=0.019$  in the caffeine group,  $P=0.001$  in the training group, and  $P=0.0094$  in the training+caffeine group).

## Discussion

In this study, there was a significant decrease in the levels of the oxidative index, malondialdehyde, and a significant increase in the activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in the heart tissue of the caffeine+training group in comparison with the healthy control group. In the present study, an increase in the levels of superoxide dismutase was observed following caffeine consumption, which was associated with a decrease in the levels of malondialdehyde. This result is inconsistent with the findings of Ashrafi et al. [16] and Saker et al. [15], possibly due to the amount of caffeine consumed. In line with the results of this research, Bafghi et al. showed that eight weeks of interval training in 3-minute intervals with an intensity of 80% oxygen consumption and for 20 minutes in each session, along with curcumin supplementation, significantly increased the activity levels of superoxide dismutase and catalase enzymes [22].

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

In this study, all procedures on the animals were in accordance with ethical guidelines. This study was approved by the ethics committee of [Tabriz University of Medical Sciences](#) (Code: IR.TBZMED.VCR.REC.1397.389).

### Funding

This study was extracted from the PhD thesis of Safar Safarzade Gargari approved by the Faculty of Physical Education and Sports Sciences, [Urmia University](#). The study was not funded by any organizations.

### Authors contributions

Investigation, data collection, and writing: Safar Safarzade Gargari; Conceptualization, data analysis: Asghar Tofighi; Data analysis and interpretation: Afshar Jafari; Investigation and editing: Javad Toluoei Azar; Laboratory works: Fereshteh Farajdokht Alchin.

### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

### Acknowledgements

The authors would like to thank the laboratory manager at [Tabriz University of Medical Sciences](#) for the cooperation.

## مقاله پژوهشی

### اثر مکمل دهی کافئین و تمرینات تناوبی پر شدت بر فشار اکسایشی میوکارد موش‌های صحرایی نر ویستار

صفر صفرزاده گرگری<sup>۱</sup>، اصغر توفیقی<sup>۱</sup>، افشار جعفری<sup>۲</sup>، جواد طلوعی آذر<sup>۱</sup>، فرشته فرجدت آلچین<sup>۳</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی و حرکات اصلاحی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲. گروه زیست شناسی ورزشی، دانشکده علوم ورزش و بهداشت، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی، تبریز، ایران.



**Citation** Tofighi A, Safarzade Gargari S, Jafari A, Tolouei Azar J, Farajdokht F. [The Effect of Caffeine Supplementation and High Intensity Interval Training on Myocardial Oxidation Stress in Male Wistar Rats (Persian)]. *Jundishapur Journal of Medical Sciences*. 2022; 21(3):448-459. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2760>



<https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2760>

## جیکید



؛ مینه و هدف نقش استرس اکسایشی در بروز بیماری‌های قلبی مورد توجه پژوهشگران است و تأثیر تمرینات تناوبی باشدت بالا با مصرف مکمل کافئین بر آن بصورت واضح مشخص نشده است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرینات تناوبی باشدت بالا همراه با مصرف مکمل کافئین بر فشار اکسایشی میوکارد رت‌هایم باشد.

**روش بررسی:** بدین منظور ۳۲ سرت نر بالغ بهطور تصادفی ساده به ۴ گروه (۸ تایی) شامل: ۱-کنترل سالم؛ ۲-تمرین؛ ۳-مکمل کافئین؛ ۴-مکمل کافئین همراه با تمرین تقسیم شدند. ۷۰ میلی گرم پودر کافئین خالص به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به گروه‌های کافئین بهصورت درون صفاتی تزریق شد. تمرین‌های تناوبی شدید شامل ۸ هفته با تواتر ۵ روز در هفته در قالب تمرین‌های تناوبی باشدت ۸۵ الی ۹۰ درصد حداکثر سرعت دودین رونی نوارگردان برای گروه‌های تمرینی استفاده شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و بعد از بی‌هوشی کامل، بطن چپ قلب خارج و میزان آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدهید به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها نتایج نشان داد سطح مالونیل دی‌آلدهید در گروه‌های تمرین+کافئین ( $P=0.0078$ ) و کافئین ( $P=0.0081$ ) نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشتند، همچنین، غلظت آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گروه‌های دریافت کننده مکمل کافئین با وجود تمرین و تمرین بهتفهای نسبت به گروه کنترل بهطور معنادار بیشتر بود.

**نتیجه‌گیری:** براساس نتایج تحقیق می‌توان اظهار داشت که تمرینات تناوبی باشدت بالا اگر همراه با مصرف کافئین انجام پذیرد، می‌تواند اثرات محافظتی بر قلب رت‌ها داشته باشد و از بروز آسیبهای قلبی جلوگیری کند.

**کلیدواژه‌ها:** تمرینات تناوبی باشدت بالا، مالون دی‌آلدهید، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، کافئین

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ دی ۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱ خرداد ۲۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱ مرداد ۱

\* نویسنده مسئول:

دکتر اصغر توفیقی

نشانی: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: +۹۸ (۰۹۱۴) ۴۴۶۰۷۹

ایمیل: a.tofighi@urmia.ac.ir

برابر بیماری‌ها می‌شود [۱۲] . دالمازیو و همکاران در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی کافئین گزارش کردند که این ماده به میزان بالایی در حذف گونه‌های فعال اکسیژن مشارکت دارد. بر این اساس، قابلیت آنتی‌اکسیدانی کافئین مشابه گلوتاپیون است و از قدرت آنتی‌اکسیدانی اسید آسکوربیک (ویتامین C) بالاتر است. دسته دیگری از محققین قابلیت آنتی‌اکسیدانی کافئین را به متابولیت‌های عمدۀ آن از جمله: ۱- متیل گزانتین و ۲- متیل اسیداوریک مربوط دانستند. با وجود این، برخی از تأثیرات کافئین مانند افزایش رهایی کاتکولامین‌ها، در ایجاد فشار اکسایشی می‌تواند دخالت داشته باشد. اولسینا و همکاران اثر مصرف ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم کافئین را بر میزان استرس اکسایشی ناشی از وزش را در آزمون چرخ کارسنج با شدت ۷۵ درصد حداقل اکسیژن مصرفی<sup>۶</sup> در مرحله حالت پایدار مورد بررسی قرار دادند. نتایج افزایش معناداری را در استرس اکسایشی با افزایش، بر اکسیداسیون لبیده، آشکا، ساخت.

نتایج لامبرتوچی و همکاران نشان دادند که عصاره جدنشده از چای سبز بهنام پلی فنون که در ترکیبات کافئین موجود است باعث تخریب شبکه اندوپلاسمیک سلول‌های سلطانی می‌شود این مکانیسم باعث فعال شدن مسیرهای تکروپوتوزی از طریق پروتئین بورن تری دی‌هیدرودوبورین<sup>۱</sup> مستقل از کاسپازها می‌شود [A]. همچنین نشان داده شده است کافئین، با تنظیم منفی مسیرهای التهابی و آپوپتیک در موش‌های صحرایی، محافظت از قلب را افزایش می‌دهد [۱۲] از سوی دیگر، سانگست و همکاران نشان داده‌اند که انجام ۶ هفته تمرین اینتروال شدید، تفاوت معناداری در میزان ظرفیت تمام آنتی‌اکسیدانی و مالون دی‌آلدهید بافت کبد و قلب رت‌های باردار، ایجاد نمی‌کند [۱۳]. باتوجه به نتایج متناقض تحقیقات در زمینه تأثیر تمرین تناوبی شدید بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو اقلبی و یا همراه مصرف مکمل کافئین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو، جهت یافتن راهکار غیرداروی مؤثر برای کاهش این شاخص‌ها بر قلب رت‌ها ضرورت دارد مطالعه‌ای صورت گیرد. بنابراین باتوجه به موارد پیش گفت، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مکمل کافئین بر سطوح مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز؛ بافت قلب، رت‌های، نرم باشد.

روش پردازی

در این مطالعه تجربی ۴۰ سر رت نر ویستار با میانگین سنی ۸ هفته و میانگین وزن ۲۰۰-۲۲۰ گرم از مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی از ائیستیتو پاستور تهران خریداری شد. سپس در آزمایشگاه حیوانی دانشگاه علوم پزشکی تبریز نگهداری

مقدمه

سیستم دفاع آنژیماتیک شامل آنژیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز<sup>۱</sup>، کاتالاز<sup>۲</sup> و سوپراکسیدیسموتاز<sup>۳</sup> است. این آنژیم‌های مسئول محافظت‌های داخل سلولی هستند [۱]. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با مکانیسم‌های متعددی مانند برداشت اکسیژن با کاهش غلظت موضعی اکسیژن، برداشت یون‌های فلزی کاتالیتیک، برداشت گونه‌های فعال اکسیژن و برداشت آهن سوپراکسید و هیدروژن پراکسید<sup>۴</sup> عمل کنند [۲، ۳]. استرس کسیداتیو در محیط سلولی منجر به تشکیل لیپید پراکسیدهای ناپایدار و واکنشگر می‌شود. یکی از مهم‌ترین محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدها، مالون دی‌آلدهید<sup>۵</sup> است که بسیار مورد نوچه بوده و نشانگر اصلی استرس اکسیداتیو محسوب می‌شود [۴، ۵]. استراتژی‌های مختلفی جهت کاهش فشار اکسیاسیونی از تمرینات ورزشی برآفته‌های غیرهدف به کار گرفته شده است که از این بین می‌توان به استفاده از گیاهان دارویی، رژیم غذایی و نیز انواع مختلف تمرینات طولانی مدت [۵، ۶] با هدف فرابلیش سطح آنتی‌اکسیدانی بافت اشاره کرد.

در زمینه تأثیر فعالیت بدنی بر استرس اکسیداتیو و پیشگیری یا درمان سمتی بافتی ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال بیشتر پژوهش‌ها بر تأثیر تمرين هوازی تداومی (شنا، چرخ دوار، دویدن روى نوار گردان) تمركز کرده اند و نشان داده‌اند تمرين‌های هوازی و استقامتی می‌تواند مقاومت بافتی را در برابر حرکت‌های زیان‌آوری که باعث بهبود استرس اکسیداتیو داخل سلولی و پوپتووز می‌شوند بهبود دهد [۸]. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که تمرين تناوبی شدید با وجود زمان کم و کاهش حجم کل فعالیت در مقایسه با تمرين تداومی باشد متوسط، سازگاری‌های فیزیولوژیکی قابل توجهی ایجاد می‌کند [۹]. در مقابل، نتایج بعضی پژوهش‌ها نشان داد که بهدلیل فعالیت‌های بدنی شدید با افزایش گونه‌های واکنشگر اکسیژن و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی از جمله مالون دی‌آلدهید و عدم تعادل بین فشار اکسایشی و دفاع ضد اکسایشی منجر به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام می‌شود [۱۰]. حکاک و همکاران با بررسی اثر تمرين هوازی به این نتیجه رسیدند که هم تمرين با شدت متوسط و هم شدت پایین باعث افزایش سطوح کاتالاز و سویر اکسید دیسموتاز می‌شود [۱۱]. در مطالعات بر روی انسان و حیوانات آزمایشگاهی، گزارش شده است که تمرينات شدید و حاد قادر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و درنتیجه آسیب سلولی به بافت‌های بدن از جمله قلب می‌شوند، در حالی که تمرينات منظم و با شدت متوسط قادر به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم ایمنی بدن در

1. Glutathione Peroxidase
  2. Catalase
  3. Superoxiddymotase
  4. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  5. Malondialdehyde

توسط هوموزنایزر، هوموزن شدن و سپس بافت هموژات در RCF ۱۰۰۰۰ برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و سوپرناتانت ( محلول رویی) جمع آوری شد. برای اندازه گیری، شاخص های بیوشیمیابی تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. کیت های تحلیل بیوشیمیابی از شرکت ZellBio آلمان، تهیه شدند. سطوح بافتی مالون دی آلدهید به روش لپنا و همکاران و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Unico S2100 ساخت کشور آمریکا و کیت مخصوص اندازه گیری شد. اساس روش اندازه گیری مالون دی آلدهید بر پایه واکنش با تیوبابیتوريک اسید، استخراج با بوتائل نرمال اندازه گیری جذب با روش اسپکتروفوتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد در طول موج ۵۳۲ نانومتر استوار بود [۱۵]. فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز توسط کیت تحقیقاتی، با ضریب تغییرات ۴/۷ و حساسیت ۱ میکرومول به روش رنگ سنجدی آنزیمی و در طول موج ۵۰۵ نانومول اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز توسط کیت تحقیقاتی مخصوص (با ضریب تغییرات ۴/۳ و حساسیت ۵/۰ میکرومول به روش رنگ سنجدی آنزیمی) و در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد.

## تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند. برای بررسی توزیع نرمال داده ها از آزمون کلموگروف - اسمیرنوف<sup>۱</sup> استفاده شد. برای بررسی تفاوت بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی در سطح معناداری کمتر از ۵ درصد به کمک نرم افزار SPSS انجام شد.

## یافته ها

نتایج سطح مالون دی آلدهید و میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در تصاویر شماره ۱، ۲ و ۳ گزارش شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معناداری در سطوح مالون دی آلدهید ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و ( $F = ۵۰/۸/۸۰/۸$ ) و میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و ( $F = ۱۱۵/۲۶۶$ ) و کاتالاز ( $P < ۰/۰۵$ ) و ( $F = ۲۱۷/۲۱۱$ ) موش های صحرایی گروه ای تحقیق وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطح مالونیل دی آلدهید در گروه کافئین ( $P = ۰/۰۸۱$ ) در مقایسه با گروه کنترل تغییر معناداری نداشت، اما در گروه تمرین ( $P = ۰/۰۱$ ) کاهش معناداری داشت. همچنین در اثر انجام تمرینات تناوبی باشدت بالا همراه با مصرف کافئین سطح مالون دی آلدهید ( $P = ۰/۰۰۷۸$ ) نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت. با وجود کاهش مالون دی آلدهید در گروه تمرین + کافئین نسبت به گروه های کافئین و تمرین این تغییرات معنادار نبودند ( $P = ۰/۰۷$ ). میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در

شدن. حیوانات پس از ورود به محیط پژوهش در قفس های تمیز و شفاف تحت شرایط استاندارد چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته و دمای  $۲۲ \pm ۳$  درجه سانتی گراد و رطوبت هوای  $۳۵ \pm ۵$  درصد با تهویه مناسب و با دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت ۲ هفته قبل از شروع آزمایش ها برای ایجاد تطبیق با محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. به منظور آشنایی با نحوه انجام پروتکل و فعالیت روی نوار گردان و بیرون با جوندگان، برنامه تمرین سبک شامل ۱۰ جلسه راه رفت و دویدن با سرعت ۱۰-۸ متر در دقیقه در شب صفر درجه و به مدت ۱۰-۵ دقیقه انجام شد. بعد از ۲ هفته آشناسازی با محیط و نحوه انجام فعالیت، موش های صحرایی پس از مطابقت وزنی به طور تصادفی ساده در ۴ گروه (۸ تایی) شامل: ۱- کنترل سالم (C)، ۲- تمرین؛ ۳- مکمل کافئین - ۴- مکمل کافئین همراه با تمرین گروه بندی شدند.

برنامه تمرینی شامل دویدن روی نوار گردان بدون شب، ویژه جوندگان به صورت تناوب های ۲ دقیقه ای در ۸ هفته و هر هفته به مدت ۵ روز اجرا شد. مرحله گرم کردن و سرد کردن در ابتدا و انتهای مرحله اصلی تمرین باشدت ۵۰-۴۰ درصد سرعت بیشینه (۲۰-۱۶ متر در دقیقه) به مدت ۵ دقیقه بر روی نوار گردان انجام شد. حیوانات در قالب تمرینات تناوبی باشدت بالا (۵) الی ۱۲ و هله ۲ دقیقه ای باشدت ۹۰-۸۵ درصد حداقل سرعت دویدن و ۱ دقیقه استراحت بین وله ها (۱۰ متر در دقیقه معادل شدت ۲۰-۱۹ درصد حداقل اکسیژن مصرفی) طی ساعت ۴۰-۳۰ عصر، روی نوار گردان دویدند [۶]. گروه های کنترل در هیچ گونه برنامه فعالیتی شرکت نکردند. برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان با سایر گروه های تمرینی، ۵ روز در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط روی نوار گردان بی حرکت قرار داده می شدند. به منظور تحریک موش ها برای دویدن از محرك الکتریکی با ولتاژ کم تعییه شده در قسمت عقبی نوار گردان، استفاده شد. تمامی موش های صحرایی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، توسط ایجاد درفتگی در مهره های به راحتی کشته شدند. سپس بخشی از بافت بطن چپ قلب با دقت برداشته شده و در نیتروژن  $-۸۰$  فریز شدند.

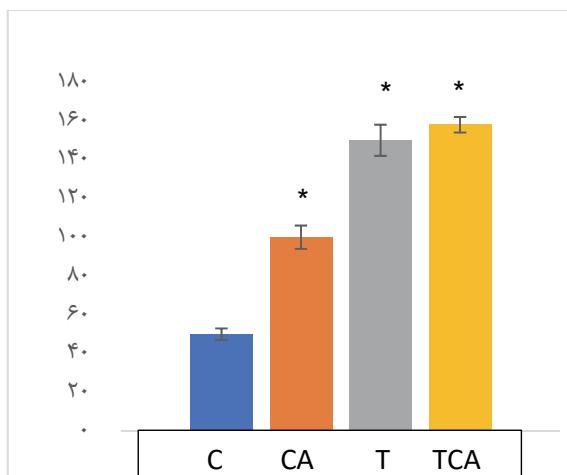
## مکمل کافئین

پودر کافئین خالص انھیدروز (خشک) تهیه شده از شرکت آلمانی مرک با توجه به وزن بدن حیوانات (۷۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم از وزن بدن) در گروه های دریافت کننده کافئین به صورت تزریق درون صفاقی از ساعت ۱۵ الی ۱۷ به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هر هفته در روزهای تمرینی تجویز شد [۱۴].

## تجزیه و تحلیل هیستولوژی

در ابتدا نمونه های بافت از فریز خارج شدن و برای آماده سازی نمونه هر ۱۰۰ میلی گرم بافت در ۱ میلی لیتر بافر فسفات نمکی حاوی کوکتل آنتیپرتوثاز (ساخت شرکت Gold bio آمریکا)

9. Kolmogorov-Smirnov



مجله علمی پژوهشی  
جندي شاپور

تصویر ۱. تغییرات در غلظت مالون دی‌آلدهید در گروه‌های مختلف-کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل، TCA (تمرين+کافئين)، CA (کافئين)، C (کنترل)

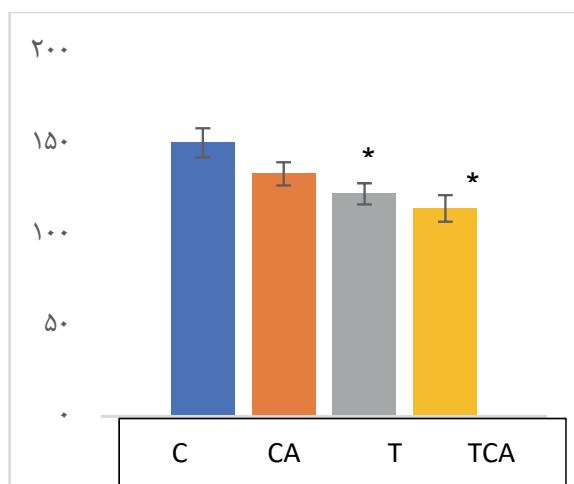
اکسیداتیو، مالون دی‌آلدهید، و افزایش معناداری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بافت قلبی گروه دریافت‌کننده کافئین+تمرين در مقایسه با گروه کنترل سالم (سالین) مشاهده شد. در تحقیق حاضر افزایش مقادیر سوپراکسید دیسموتاز متعاقب مصرف کافئین مشاهده شد و این افزایش با کاهش مقادیر مالونیل دی‌آلدهید قرین شده بود. این نتیجه با یافته‌های ساکر<sup>۱</sup> و همکاران [۱۵] و اشرفی و همکاران [۱۶] نامه‌مو می‌باشد علت را می‌توان در میزان دُز مصرفی کافئین جست‌وجو کرد. در ضمن بیل ویرانی و گوکبل اثر تمرينات تمرين تداومی و تغییرات آنتی‌اکسیدانی بر میزان استرس اکسایشی را مورد بررسی قرار داده‌اند که نتایج نشان داد تمرينات تداومی و منظم باعث بروز فشار اکسایشی می‌شوند. این در حالیست که تمرينات در شدت بالايی انجام می‌شوند

10. Sakr

گروه‌های کافئین ( $P=0.02$ ), تمرين ( $P=0.012$ ) تمرين+کافئین ( $P=0.083$ ) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشتند. اثر همزمان تمرين و کافئین نسبت به گروه‌های کافئین و تمرين به تنهایی تغییر معناداری نداشت ( $P=0.14$ ). همچنان براساس یافته‌های پژوهش میزان آنزیم کاتالاز نیز در گروه‌های تحقیق نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت ( $P=0.019$  در گروه کافئین،  $P=0.001$  در گروه تمرين و  $P=0.094$  در گروه تمرين+کافئین).

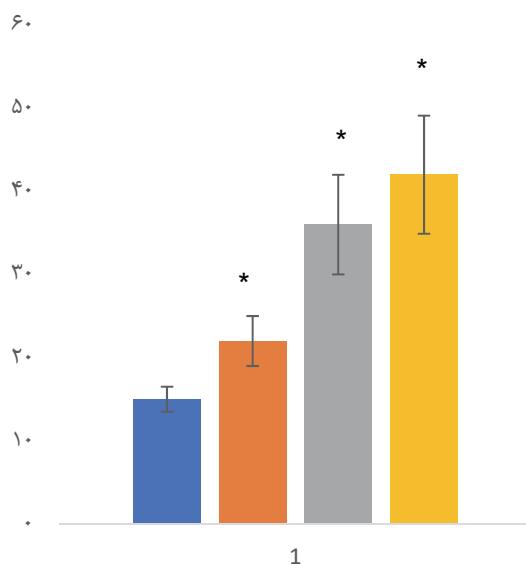
## بحث

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرين تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کافئین بر میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی مالونیل دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت قلب (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز) رت‌های نر بود. در این مطالعه، کاهش معناداری در سطح شاخص



مجله علمی پژوهشی  
جندي شاپور

تصویر ۲. تغییرات در غلظت سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های مختلف-افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل، (تمرين+کافئين)، (تمرين)، CA (کافئين)، C (کنترل)



تصویر ۳. تغییرات در غلظت کاتالاز در گروه‌های مختلف \*افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل، TCA (تمرین+کافین)، CA (کافین)، C (کنترل)

## جندي شاپور

ادامه آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز اثرات سمی پراکسید هیدروژن را حذف می‌کنند [۲۴، ۲۵]. کاتالاز یکی از اصلی‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت است که هیدروژن پراکسید را به آب و اکسیژن در یک واکنش دو مرحله‌ای تجزیه می‌کند [۲۶]. در مرحله اول، یک مولکول هیدروژن پراکسید به آب و کاتالاز آزاد به ترکیب (I) اول، یک مولکول پورپرین+(Fe4+) (porphyrin+(-Fe4+)=O) تبدیل می‌شود. در مرحله دوم، ترکیب (I) دومین هیدروژن پراکسید را به مولکول اکسیژن و فری کاتالاز اکسید می‌کند و مولکول آب آزاد می‌شود. بنابراین این آنزیم، سلول‌ها را از اثرات سمی هیدروژن پراکسید محافظت می‌کند [۲۷].

در پژوهش حاضر افزایش معنادار در غلظت آنزیم‌ها در پاسخ به ۸ هفته تمرین می‌تواند به دلیل فعال شدن اولین و دومین سد دفاعی در مقابل استرس اکسایشی باشد. یافته دیگر پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته مصرف کافین و انجام تمرینات تناوبی باشد. با شدت بالا باعث کاهش معنادار در غلظت مالون دی‌آلدهید و افزایش معنادار در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیدیسموتاز و کاتالاز بافت قلب رت‌های می‌شود. آسیب اکسیدانتیو ناشی از تخریب تعادل اکسیدان/آنتی‌اکسیدان، به نفع اکسیدان‌ها است. همچنان در تحقیق دیگری گزارش شده است ترکیب کافین و تمرین تناوبی شدید در برابر استرس اکسیدانتیو بافت قلب رت‌های دیابتی شده (نوع ۲) با رژیم غذایی پرچرب اثر محافظتی دارد و سطوح مالون دی‌آلدهید کاهش و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در گروه کافین و تمرین در مقایسه با گروه دیابتی درمان‌نشده افزایش یافته است. چندین مطالعه کافین را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان معرفی کرده‌اند [۲۸، ۲۹، ۱۰، ۸]. بنابراین انتظار بر این است کافین سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن را بهبود ببخشد. در این پژوهش آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیس موتاز به عنوان

و فرد با شرایط تمرینی هنوز سازگار نشده است. علاوه‌بر این پیشنهاد می‌کنند تمرینات منظم ورزشی، مقاومت بدن در مقابل رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش می‌دهد.

نتایج مطالعات گذشته، استرس اکسایشی را عامل اصلی مسمومیت در قلب معرفی کرده‌اند [۱۸، ۱۷]. در این خصوص، سازوکارهای متعددی از قبیل پراکسایشی لیپیدی [۱۹] مهار اسیدنوكلئیک و سنتز پروتئین [۲۰] و آسیب میتوکندریایی [۲۱] پیشنهاد شده است. هم‌سو با نتایج این پژوهش، بافقی و همکاران نشان دادند ۸ هفته تمرین تناوبی در تناوب‌های ۳ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی و به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه، به همراه مصرف مکمل کورکومین سطوح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را به طور معناداری افزایش می‌دهد [۲۲]. در زمانه‌ی پاسخ آنزیم‌های ضدکسایشی نسبت به فعالیت‌های بدنه، پژوهش‌های گذشته چنین فرضیه‌ای را مطرح کرده‌اند که احتمالاً همراه با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، سازگاری‌هایی در میزان تولید و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سلول‌ها رخ می‌دهد که آثار نامطلوب آن را خنثی می‌کند [۲۳].

هرچند که مسیر سیگنالینگ این واقعی تا حدودی ناشناخته باقی مانده است. با وجود این اعتقاد بر این است که در سیستم جذب آنزیم، سوپراکسید دیسموتاز به عنوان آنزیمی کلیدی، در اولین مرحله حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد. افزایش مصرف آنزیم به بیش از ۲۰ برابر حالت استراحت و بالارفتن جریان آنزیم به داخل زنجیره انتقال الکترون در زمان فعالیت بدنه، موجب رهاسازی رادیکال سوپراکسید دیسموتاز این زنجیره می‌شود. در این زمان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز این رادیکال را به رادیکال آزاد ضعیفتری به نام پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. برای این عمل سوپراکسید دیسموتاز سیتوپلاسمی نیز در دسترس است. در

## حامی مالی

مطالعه حاضر برگرفته از رساله دکتری تخصصی صفر صفرزاده گرگری دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی گرایش قلب، عروق و تنفس از دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه ارومیه می باشد و هیچ گونه کمک مالی از سازمانی های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

## مشارکت نویسندگان

اجرای تحقیق، جمع آوری و نتیجه گیری: صفر صفرزاده گرگری؛ ایده تحقیق، تحلیل آماری و جمع بندی داده ها: اصغر توفیق؛ تحلیل آماری و تفسیر داده ها: افشار جعفری؛ مشارکت در اجرای تحقیق و ویراستاری: جواد طلوعی آذر؛ همکاری اخدم نتایج و امورات آزمایشگاهی: فرشته فرج دخت.

## تعارض منافع

بنابر اظهار نظر نویسندگان، این مقاله هیچ گونه تعارض منافعی ندارد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان از مدیریت آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی تبریز و همچنین از کلیه افرادی که در این پژوهش همکاری داشتند، قدردانی می کنند.

آن تی اکسیدان های آنزیمی مورد بررسی قرار گرفتند. سوپراکسید دیسموتاز یک آنتی اکسیدان آنزیمی محافظ است که وجود آن برای محافظت از سلول ها در مقابل رادیکال های آزاد ضروری است.

برخی از تحقیقات تأثیرات قهقهه و کافئین را بر عوامل فشار اکسایشی در نمونه های حیوانی در محیط آزمایشگاهی بررسی کردند. برخی دیگر صرفاً تأثیرات کافئین را مورد مطالعه قرار داده اند. دمیرتاز و همکاران تأثیر مصرف ۳۰ و ۱۰۰ میلی گرم کافئین در هر کیلو گرم از وزن بدن حیوان را در ۱۴ روز مورد بررسی قرار دادند، نتایج افت مقادیر مالونیل دی آلدهید، افزایش در فلوراید سدیم را به همراه سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز نشان داد. بیرکنر و همکاران مصرف کافئین به میزان ۳ میلی گرم در هر کیلو گرم از وزن بدن را به مدت ۵۰ روز بر روی موش ها مورد بررسی قرار دادند. نتایج هیچ تغییری را برای غلظت های آزمیمه ای کاتالاز و گلوتاتیون دیس موتاز آشکار نساخت، اما فعالیت آزمیمه ای کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به ترتیج کاهش و افزایش پیدا کرد [۳۰]. در تحقیقی دیگر آبرو و همکاران، قهقهه دائمی و کافئین را بر عملکرد شناختی و سیستم آنتی اکسیدانی در مغز موش ها مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد مصرف مزمن قهقهه و کافئین (قریباً ۴۰-۲۰ میلی گرم در هر روز) پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داد و غلظت های گلوتاتیون<sup>۱۱</sup> و فعالیت سوپراکسید دیس موتاز را افزایش می دهد، در صورتی که هیچ تغییری در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز ایجاد نشده بود [۳۱]. نتایج این محققین نشان می دهد مصرف مستمر قهقهه سیستم آنتی اکسیدانی درون زاد را در مغز تنظیم می کند و این ناشی از وجود کافئین در ترکیب قهقهه است. یکی از محدودیت های تحقیق می تواند عدم کنترل استرس درونی رت ها حین تمرین باشد.

## نتیجه گیری

به طور کلی، مطالعه حاضر نشان می دهد مصرف ۵ میلی گرم کافئین فشار اکسایشی ناشی از انجام تمرین اینترووال باشد بالا را با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت آنتی اکسیدان آنزیمی مهار می کند. بدین ترتیب موجب اثرات محافظتی بر قلب می شود و از بروز آسیب های قلبی جلوگیری می کند. یکی از محدودیت های تحقیق عدم اندازه گیری میزان استرس موش ها قبل از تمرین و کشته شدن بود.

## ملاحظات اخلاقی

## پیروی از اصول اخلاق پژوهش

کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق بر اساس موازین اخلاقی مصوب با استانداردهای اخلاقی می باشد و دارای کد (IR.TBZMED.VCR.REC.1397.3891) اخلاق از دانشگاه علوم پزشکی تبریز است.

11. Glutathione

## References

- [1] Saritaş N, Uyanik F, Hamurcu Z. Effects of acute twelve minute run test on oxidative stress and antioxidant enzyme activities. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2011; 5(9):1218-22. [DOI:10.5897/AJPP11.263]
- [2] Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: A review. *Med Sci Monit.* 2004; 10(6):141-7. [PMID]
- [3] Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Balça MM, Moreira PI, Oliveira PJ, Magalhães J, et al. Physical exercise mitigates doxorubicin-induced brain cortex and cerebellum mitochondrial alterations and cellular quality control signaling. *Mitochondrion.* 2016; 26:43-57. [DOI:10.1016/j.mito.2015.12.002] [PMID]
- [4] Mokni M, Hamlaoui S, Kadri S, Limam F, Amri M, Marzouki L, et al. Efficacy of grape seed and skin extract against Doxorubicin-induced oxidative stress in rat liver. *Pak J Pharm Sci.* 2015; 28(6):1971-8. [PMID]
- [5] Ascensão A, Lumini-Oliveira J, Machado NG, Ferreira RM, Gonçalves IO, Moreira AC, et al. Acute exercise protects against calcium-induced cardiac mitochondrial permeability transition pore opening in Doxorubicin-treated rats. *Clin Sci.* 2011; 120(1):37-49. [DOI:10.1042/CS20100254] [PMID]
- [6] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015; 65(1):5-29. [DOI:10.3322/caac.21254] [PMID]
- [7] Chicco AJ, Hydock DS, Schneider CM, Hayward R. Low-intensity exercise training during doxorubicin treatment protects against cardiotoxicity. *J Appl Physiol.* 2006; 100(2):519-27. [DOI:10.1152/japplphysiol.00148.2005] [PMID]
- [8] Lambertucci RH, Levada-Pires AC, Rossoni LV, Curi R, Pithon-Curi TC. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mech Ageing Dev.* 2007; 128(3):267-75. [DOI:10.1016/j.mad.2006.12.006] [PMID]
- [9] Gibala MJ, Little JP, Macdonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol.* 2012; 590(5):1077-84. [DOI:10.1113/jphysiol.2011.224725] [PMID] [PMCID]
- [10] Freyssin C, Verkindt C, Prieur F, Benach P, Maunier S, Blanc P. Cardiac rehabilitation in chronic heart failure: Effect of an 8-week, high-intensity interval training versus continuous training. *Arch Phys Med Rehabil.* 2012; 93(8):1359-64. [DOI:10.1016/j.apmr.2012.03.007] [PMID]
- [11] Hakkak dokht E, Salami F, Rajabi H, Hedayati M. [The effect of aerobic exercise and vitamin E and C supplementation on GSH and antioxidative enzymes (GPX and SOD) in pregnant rats (Persian)]. *J Olympic.* 2011; 19(3):47-56. [Link]
- [12] Songstad NT, Kaspersen KH, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. *Plos One.* 2015; 10(11):e0143095. [DOI:10.1371/journal.pone.0143095] [PMID] [PMCID]
- [13] Elsherby NM, Salama MF, Said E, El-Sherbiny M, Al-Gayyar MM. Crocin protects against Doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats through down-regulation of inflammatory and apoptic pathways. *Chem Biol Interact.* 2016; 247:39-48. [DOI:10.1016/j.cbi.2016.01.014] [PMID]
- [14] Rezaei R, Nurshahi M, Bigdeli MR, Khodagoli F, Haghparast A. [Effect of eight weeks of continuous and periodic aerobic training on VEGFA and VEGFR-2 levels of male brain Wistar rats (Persian)]. *J Sports Physiol Phys Activ.* 2015; 8(2):1213-21. [Link]
- [15] Sakr SA, Mahran HA, Lamfon HA. Protective effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on adriamycininduced hepatotoxicity in albinos rats. *J Med Plants Res.* 2011; 5(1):133-40. [Link]
- [16] Ashrafi J, Dabidi Roshan V, Zolfagharpazeh F. [Tissue toxicity induced by Doxorubicin in rats: Protective role of aerobic regular exercise (Persian)]. *J Urmia Med Sci.* 2014; 25(4):353-62. [Link]
- [17] Kalender Y, Yel M, Kalender S. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. The effects of vitamin E and Catechin. *Toxicology.* 2005; 209(1):39-45. [DOI:10.1016/j.tox.2004.12.003] [PMID]
- [18] Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, Sahin O, Nacar A, Karaman O, et al. Protective effects of erdosteine on Doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res.* 2007; 38(4):380-5. [DOI:10.1016/j.arcmed.2007.01.007] [PMID]
- [19] Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, Karliner JS. Doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiology.* 2010; 115(2):155-62. [DOI:10.1159/000265166] [PMID] [PMCID]
- [20] Oz E, Ilhan MN. Effects of Melatonin in reducing the toxic effects of doxorubicin. *Mol Cell Biochem.* 2006; 286(1-2):11-5. [DOI:10.1007/s11010-005-9003-8] [PMID]
- [21] Kavazis AN, Smuder AJ, Min K, Tümer N, Powers SK. Short-term exercise training protects against Doxorubicin-induced cardiac mitochondrial damage independent of HSP72. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010; 299(5):H1515-24. [DOI:10.1152/ajpheart.00585.2010] [PMID] [PMCID]
- [22] Fattah Bafghi A, Matin Homaee H, Azarbayanji MA. Effects of high intensity interval training and Curcumin supplement on antioxidant enzyme in heart tissue of diabetic rats. *Iran J Diabetes Obes.* 2017; 8(3):135-41. [Link]
- [23] Tütür G, Kurtış B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2001; 72(7):883-8. [DOI:10.1902/jop.2001.72.7.883] [PMID]
- [24] Zolfagharpazeh F, Dabidi-Roshan V, Hajizadeh Moghaddam A. [Pretreatment effect of three and six weeks aerobic exercise on acute doxorubicin-induced hepatic stress (Persian)]. *Modern Olympic* 2015; 1(2): 117-28. [Link]
- [25] El-Sayed EM, El-azeem ASA, Afify AA, Shabana MH, Ahmed HH. Cardioprotective effects of Curcuma longa L. extracts against doxorubicininduced cardiotoxicity in rats. *J Med Plants Res.* 2011; 5(17): 4049-58. [Link]

- [26] Díaz A, Loewen PC, Fita I, Carpena X. Thirty years of heme catalases structural biology. *Arch Biochem Biophys.* 2012; 525(2):102-10. [\[DOI:10.1016/j.abb.2011.12.011\]](https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.12.011) [\[PMID\]](#)
- [27] Alfonso-Prieto M, Vidossich P, Rovira C. The reaction mechanisms of heme catalases: An atomistic view by ab initio molecular dynamics. *Arch Biochem Biophys.* 2012; 525(2):121-30. [\[DOI:10.1016/j.abb.2012.04.004\]](https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.04.004) [\[PMID\]](#)
- [28] Heck SO, Fulco BC, Quines CB, Oliveira CE, Leite MR, Cechella JL, et al. Combined therapy with swimming exercise and a diet supplemented with diphenyl diselenide is effective against age-related changes in the hepatic metabolism of rats. *J Cell Biochem.* 2017; 118(6):1574-82. [\[DOI:10.1002/jcb.25819\]](https://doi.org/10.1002/jcb.25819) [\[PMID\]](#)
- [29] Peng CC, Chen KC, Hsieh CL, Peng RY. Swimming exercise prevents fibrogenesis in chronic kidney disease by inhibiting the myofibroblast transdifferentiation. *Plos One.* 2012; 7(6):e37388. [\[DOI:10.1371/journal.pone.0037388\]](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037388) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [30] Demirtas C, Ofuoglu E, Hussein A, Pasaoglu H. [Effects of caffeine on oxidant-Antioxidant mechanisms in the rat liver (Turkish)]. Paper presented at: Proceedings of the 22<sup>nd</sup> National Biochemistry Congress/Eskisehir 4th National Molecular Medicine Congress. September 4-9 2012; IEskisehir, Turkey.
- [31] Demir EO, Demirtaş CY, Paşaoğlu ÖT. [Ratlarda böbrek antioksidan aktivitesi üzerine kafeinin etkileri (Turkish)]. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2016; 41(3):216-22. [\[Link\]](#)

This Page Intentionally Left Blank