University of Birjand

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport Research Paper

Summer 2022, 10(22), 30-40

Received: Nov 29, 2020 Revised: Feb 17, 2021 Accepted: Feb 24, 2021

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of flaxseed alcoholic extract and aerobic exercise on oxidative status of heart tissue in ovariectomized rats

Seyed Zanyar Athari[1], Mir Alireza Nourazar[2], Mohammad Reza Nasirzadeh[2]*

1. PhD Student in Medical Physiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

Abstract

Background and Aim: Ovariectomy can induces oxidative stress in the body. Flaxseed is known as a rich source of natural antioxidants along with regular physical activity can also inhibit the destructive effect of oxidative stress. The present study aimed to evaluate the combined effect of flaxseed extract and aerobic exercise on the oxidative status of cardiac tissue in ovariectomized rats. **Materials and Methods:** In this experimental study, 36 adult female Wistar rats weighing 250±25 gr were randomly divided into six equal groups (n=6) including healthy control, sham (surgical control), ovariectomy, ovariectomy-flaxseed extract, ovariectomy-exercise, and ovariectomy-exercise-flaxseed extract group. Aerobic exercises five days a week for eight weeks were performed on a treadmill. Moreover, the flaxseed treatment groups received 400 mg/kg body weight of flaxseed extract by gavage. At the end of the study, cardiac tissue samples from different animals were obtained and then total antioxidant capacity (TAC), malondialdehyde concentration (MDA), the activity of glutathione peroxidase (GPX), superoxide dismutase (SOD), and paraoxonase 1 (PON1) enzymes were measured. The data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by post hoc Tukey test at the significant level of $p<0.05$. **Results:** The results showed that the activity of SOD, GPX, PON1 enzymes and TAC in ovariectomy mice was significantly lower than control mice but the MDA index was significantly increased ($p<0.05$). However the activity of SOD, GPX, PON1 enzymes and TAC levels were significantly higher and the MDA concentration was significantly lower ($p<0.05$) in mice of ovariectomy-exercise-extract group than the mice of ovariectomy, ovariectomy-extract and ovariectomy-exercise groups. **Conclusion:** The results of this study showed that the combination of flaxseed extract and aerobic exercise more improved the activity of the antioxidant system, reduced the oxidation index of heart tissue in menopause and also the stress caused by aging.

Keywords*:* Oxidative stress, Aerobic exercise, Flaxseed extract, Rat.

Cite this article:

Athari, S.Z., Nourazar, M.A., & Nasirzadeh, M.R. (2022). The effect of flaxseed alcoholic extract and aerobic exercise on oxidative status of heart tissue in ovariectomized rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, 10***(22), 30-40.**

***Corresponding Author, Address: Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran;**

Email: mr.nasirzadeh@yahoo.com & mr.nasirzadeh@iaut.ac.ir

https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3893.1604

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee **Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport (JPSBS)**. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

نشریه مطالعات کاربردی علوم‌زیستی در ورزش مقاله پژوهشی
تابستان ۱۴۰۱، دوره ۱۰، شماره ۲۲، ص ۴۰-۳۰
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۹/۰۹ تاریخ ویرایش: ۹۹/۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۰۶
نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش
دانشگاه بیرجند

تأثیر عصاره الکلی بذر کتان و تمرین هوازی بر وضعیت اکسیداتیو بافت قلب موش صحرایی آواریکتومی شده

سید زانیار اطهری[۱]، میر علیرضا نورآذر[۲]، محمدرضا نصیرزاده[۲]*

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.
۲. استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آواریکتومی (برداشت تخمدان) باعث القاء استرس اکسیداتیو در بدن می‌شود. دانه کتان به عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی همراه با فعالیت بدنی منظم، می‌تواند اثرات مخرب ناشی از استرس اکسیداتیو را مهار کند. هدف تحقیق حاضر بررسی اثر ترکیبی عصاره کتان و تمرین هوازی بر وضعیت اکسیداتیو بافت قلب در موش‌های صحرایی آواریکتومی شده بود. **روش تحقیق:** در این مطالعه تجربی، از ۳۶ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار، با میانگین وزن ۲۵۰±۲۵ گرم استفاده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به شش گروه مساوی (n=۶) شامل گروه های کنترل، شم (شاهد جراحی)، آواریکتومی شده، آواریکتومی- عصاره بذر کتان، آواریکتومی- تمرین، و نهایتا آواریکتومی- تمرین- عصاره بذر کتان؛ تقسیم شدند. تمرینات هوازی به مدت ۸ هفته، هر هفته ۵ روز بر روی نوارگردان به اجرا درآمد و گروه های تیمار با عصاره بذر کتان، روزانه به مقدار ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن عصاره بذر کتان به‌صورت گاواژ دریافت کردند. در پایان دوره مطالعه، نمونه بافت قلب از حیوانات مختلف اخذ گردید و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC)، غلظت مالون دی آلدهید (MDA)، به همراه فعالیت آنزیم های سوپر اکساید دیسمیوتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و پاراکسوناز-۱ (PON1) اندازه‌گیری گردیدند. داده های جمع آوری شده با آزمون های آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی در سطح p<۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** فعالیت آنزیم‌های SOD، GPX، PON1 و میزان TAC در موش‌های گروه آواریکتومی به‌طور معنی‌داری کمتر از موش‌های گروه کنترل بود؛ در حالی که MDA به طور معنی داری افزایش پیدا کرد (p<۰/۰۵). از طرف دیگر، فعالیت آنزیم‌های SOD، GPX، PON1 و میزان TAC در موش‌های صحرایی گروه آواریکتومی- تمرین - عصاره به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های آواریکتومی، آواریکتومی- عصاره و آواریکتومی- تمرین افزایش پیدا کرد؛ در حالی که MDA به طور معنی داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری:** ترکیب عصاره بذر کتان و تمرین هوازی تاثیر بهتری در بهبود فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش شاخص اکسیداسیون بافت قلب در موش صحرایی آواریکتومی شده دارد.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، تمرین هوازی، عصاره بذر کتان، موش صحرایی.

* نویسنده مسوول، آدرس: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی، دانشگاه آزاداسلامی، دانشکده دامپزشکی، بخش فیزیولوژی؛
پست الکترونیک: mr.nasirzadeh@iaut.ac.ir & mr.nasirzadeh@yahoo.com
https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3893.1604

مقدمه

استرس اکسیداتیو بیانگر عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از فعالیت میکرو ارگانیسم‌های داخل بدن و ضداکسیداتیوهای درون‌زا هست که منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد در بدن می‌شود. تنظیم وضعیت نشانگرهای اکسیداتیو برای زنده ماندن سلول، فعال‌سازی، تکثیر و عملکرد اعضای بدن بسیار مهم است. ارگانیسم‌های هوازی دارای سیستم‌های ضداکسیداتیو یکپارچه‌ای هستند که شامل ضداکسیداتیوهای آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد که معمولاً در تعدیل اثرات مضر گونه های فعال اکسیژن[1] (ROS) مؤثر هستند. از عوارض شناخته‌شده استرس اکسیداتیو می‌توان به خطر ابتلا به سرطان، اختلالات عصبی، تصلب شرایین، فشارخون بالا، دیابت، سندرم اختلال حاد تنفسی، فیبروز ریوی ایدیوپاتیک[2]، بیماری انسدادی مزمن ریوی و آسم اشاره کرد (فیاسچی و چیاروقی[3]، ۲۰۱۲).

استروژن به‌خودی‌خود یک هورمون تنظیم‌کننده مهم برای استرس اکسیداتیو است، زیرا باعث تغییر غلظت لیپیدهای سرمی، سیستم‌های انعقادی و فیبرینولیتیک[4] و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (مندلسون[5]، ۲۰۰۲). با حذف استروژن در دوران یائسگی، عوارضی از قبیل افزایش وزن ، اختلال در متابولیسم لیپیدها و استرس اکسیداتیو مشاهده می شود. از این رو، نیمرخ لیپیدی پلاسما در آغاز یائسگی به عنوان یک عامل خطر برای بیماری قلبی محسوب می شود (نصیرزاده و دیگران، ۲۰۱۱).

یائسگی یا آواریکتومی دوطرفه[6] تجربی نقش پاتولوژیک در پیشرفت بیماری‌های قلبی ایفا می‌کند (بیتنر[7]، ۲۰۰۹؛ روزانو[8] و دیگران، ۲۰۰۶). بسیاری از مطالعات ارتباط بین آواریکتومی و ایجاد استرس اکسیداتیو را نشان داده اند (آکساکال[9] و دیگران، ۲۰۱۱). روش مرسوم برای مبارزه با عوارض یائسگی، استروژن درمانی است (موئرمن[10] و دیگران، ۲۰۰۰). استروژن درمانی باعث کاهش کلسترول تام، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم[11] (LDL-C) و تری‌گلیسرید و به طور متقابل، افزایش کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا[12] (HDL-C) می‌شود (هرینگتون[13] و دیگران، ۲۰۰۰). با این حال، درمان جایگزین با استروژن در زنان یائسه، مشکلات و عوارض جانبی متعددی دارد، از جمله این که خطر سرطان پستان را افزایش می‌دهد (آزام[14] و دیگران، ۲۰۱۸) و همچنین باعث افزایش خطر وقوع سرطان اندومتر[15] می‌شود (لاسی[16] و دیگران، ۲۰۰۵). طی مطالعه‌ای، مانوز - کاستاندا[17] و دیگران (۲۰۰۶) بیان کرده‌اند که القاء یائسگی با روش آواریکتومی در موش های صحرایی منجر به افزایش شاخص های استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی بافت قلب و همچنین اختلالات قلبی- عروقی می شود. همچنین نشان داده شده است که آواریکتومی موجب افزایش التهاب و آسیب سلولی در قلب می شود. نتایج این پژوهش مشخص نمود که تجویز عصاره سویا با داشتن ترکیبات استروژنیک، التهاب وآسیب سلولی را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (نصیرزاده و دیگران، ۲۰۱۲). مطالعات دیگری نشان داده اند که آواریکتومی باعث افزایش معنی دار شاخص مالون دی آلدهید[18] (MDA) و کاهش معنی دار آنزیم های آنتی اکسیدانی همچون سوپر اکساید دیسموتاز[19] (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز[20] (GPx) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی[21] (TAC) می شود (هرنانذز[22] و دیگران، ۲۰۰۰؛ نصیرزاده و دیگران، ۲۰۱۴). پاراکسوناز[23] (PON)، یک آنزیم مهارکننده اکسیداسیون چربی می‌باشد که به عنوان یک شاخص آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که این آنزیم دارای اثرات محافظتی در برابر آسیب اکسیداتیو در سلول های اندوتلیال شریانی می باشد (مکنس[24] و دیگران، ۱۹۹۸). همچنین محققین بیان کرده‌اند که PON باعث محافظت در برابر انواع مختلفی از استرس‌های حاد و مزمن مرتبط با بیماری‌هایی مانند تصلب شرایین می شود (موتا[25] و دیگران، ۲۰۰۹). در مطالعه‌ای نشان داده شد که ورزش یا ترکیب ورزش و رژیم غذایی حاوی ایزوفلاون، به طور قابل توجهی موجب افزایش سطح آنزیم PON در موش های صحرایی آواریکتومی‌شده می گردد (لی[26] و دیگران، ۲۰۱۲). گیاه کتان با نام علمی Linum Usitatissimum، گیاهی یک‌ساله است از تیره Linaceae که در شرایط آب و هوایی ایران به شکل بوته‌ای رشد می‌کند (گابیانا[27] و دیگران، ۲۰۰۵). دانه کتان سرشار از ترکیبات فیتواستروژنی[28] است. ترکیبات فیتواستروژن دانه کتان با افزایش گلوبولین متصل شونده به هورمون‌های جنسی، در کاهش عوارض بعد از یائسگی زنان نقش دارند (برزینسکی[29] و دیگران، ۱۹۹۷).

1. Reactive oxygen species
2. Idiopathic
3. Fiaschi and Chiarugi
4. Fibrinolytic
5. Mendelsohn
6. Bilateral ovariectomy
7. Bittner
8. Rosano
9. Aksakal
10. Moerman
11. Low-density lipoprotein-cholesterol
12. High-density lipoprotein-cholesterol
13. Herrington
14. Azam
15. Endometrial cancer
16. Lacey
17. Muñoz-Castañeda
18. Malondialdehyde
19. Superoxide dismutase
20. Glutathione peroxidase
21. Total antioxidant capacity
22. Hernandez
23. Paraoxonase
24. Mackness
25. Motta
26. Lee
27. Gabiana
28. Phytoestrogen
29. Brzezinski

همچنین دانه کتان یک منبع غنی از انواع مختلف فنول‌ها مانند لیگنان[1]، اسیدهای فنولیک[2]، فلاونوئیدها[3] ، فنیل پروپانوئیدها[4] و تانن ها[5] می‌باشد که به‌عنوان منبع غنی از ضداکسیداتیوهای طبیعی شناخته می‌شوند (کاسوت[6]، ۲۰۱۳). در مطالعه ای تنیده و دیگران (۲۰۲۱) نشان داده‌اند که روغن بذر کتان می تواند جایگزین مناسبی برای استروژن بوده و یک درمان بالقوه برای درمان جایگزینی هورمون باشد.

رادیکال های آزاد حاصل از استرس اکسیداتیو در غلظت‌های کم برای بسیاری از عملکردهای مهم فیزیولوژیکی، مانند انقباض عضله و سم زدایی از دارو مورد نیاز هستند. با این حال، افزایش چشمگیر ROS در طی تمرینات بدنی شدید، می تواند به غشای سلول آسیب برساند و اثرات مخربی بر عملکرد عضلات اسکلتی، آسیب ماکرومولکول ها و اختلال در عملکرد سلول داشته باشد. در حالی که فعالیت بدنی منظم می تواند سیستم ضد اکسیداتیو را تقویت نموده و استرس اکسیداتیو را کاهش دهد (سیمیونی[7] و دیگران، ۲۰۱۸؛ رمضانی و دیگران، ۲۰۲۰). طی مطالعه ای، حسینی و اکبری (۲۰۱۷) بیان کرده اند که انجام ورزش هوازی با شدت متوسط، باعث تعدیل اثرات مضر یائسگی در موش‌های صحرایی مدل یائسه می شود.

با توجه به این که بذر کتان دارای خاصیت ضداکسیداتیو و فیتواستروژنیک بوده و ورزش منظم نیز منجر به بهبود سطح ضداکسیداتیو در بدن می‌شود، فرض بر این است که ترکیب تمرین هوازی و عصاره بذر کتان بر میزان فعالیت آنزیم‌های ضداکسیداتیو بافت قلب در رت های آواریکتومی شده تأثیر مثبت مضاعف داشته باشد. بر این اساس و با توجه به این که تاکنون مطالعات اندکی در خصوص تأثیر عصاره بذر کتان و تمرین هوازی بر استرس اکسیداتیو بافت قلب صورت گرفته است؛ هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر عصاره الکلی بذر کتان و تمرین هوازی بر استرس اکسیداتیو بافت قلب در موش‌های صحرایی آواریکتومی شده می باشد.

روش تحقیق

مطالعه حاضر از نوع تجربی است. جهت انجام تحقیق، تعداد ۳۶ سر موش صحرایی ماده بالغ ویستار با میانگین وزنی ۲۰±۲۵۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تهیه شدند. موش ها در محیطی با دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد، شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. همچنین جیره غذایی یکسان و آب آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت و پس از گذشت یک هفته و سازگاری حیوانات به شرایط جدید، آزمایش شروع شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به شش گروه مساوی شامل گروه کنترل، گروه شم[8] (فقط باز کردن شکم و بستن مجدد آن)، گروه آواریکتومی (Ovx)، گروه آواریکتومی- عصاره بذرکتان (Ovx+Flaxseed)، گروه آواریکتومی- تمرین (Ovx+Exercise)، و نهایتا گروه آواریکتومی- تمرین- عصاره بذر کتان (Ovx+Flaxseed+Exercise) تقسیم شدند. موش‌های مورد آزمایش به مدت شش ماه نگهداری شدند تا به عنوان مدل پیری شناخته شوند (جانستون و وارد[9]، ۲۰۱۵).

بر روی همه گروه‌ها غیر از گروه کنترل وگروه شم، جراحی آواریکتومی صورت گرفت (سای[10] و دیگران، ۲۰۰۴). برای انجام جراحی از داروی کتامین[11] به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن و زایلازین[12] به میزان ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی استفاده شد؛ سپس با ایجاد برش در هر دو تهیگاه، تخمدان های راست و چپ برداشته شدند. ۱۰ روز پس از جراحی و پس از بهبودی کامل، حیوانات آماده انجام آزمایش گردیدند.

در گروه‌های تمرین، به مدت هشت هفته، هر هفته به مدت پنج روز بر روی نوارگردان تمرین هوازی اجباری انجام شد. روند تمرین به صورت افزایشی بود و طبق الگوی ارائه شده در جدول ۱ به اجرا درآمد. جهت وادار کردن حیوانات به دویدن، از میله‌های شوک الکتریکی به میزان سه میلی آمپر استفاده شد. شیب دستگاه در طول تمرین صفر درجه بود. گروه‌هایی که تمرین نداشتند نیز همانند گروه‌های تمرین، در حال خاموشی دستگاه، به همان مدت روی نوارگردان قرار داده شدند (صالحی و دیگران، ۲۰۰۹). در پایان دوره مداخله، حیوانات بیهوش شدند و پس از باز نمودن قفسه سینه، قلب حیوان برداشته شد. یک گرم از بافت قلب در بافر یک میلی‌لیتر فسفات (۰/۱ مولار، PH=۷/۴) در یک مکان سرد هموژن شد. هموژنات ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و مایع رویی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا این که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و سطح MDA و TAC سنجیده شود.

گروه های تیمار با عصاره بذر کتان، روزانه به مقدار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره بذر کتان به‌صورت

1. Lignan
2. Phenolic acid
3. Flavonoid
4. Phenylpropanoids
5. Tannin
6. Kasote
7. Simioni
8. Sham
9. Johnston and Ward
10. Cai
11. Ketamine
12. Xylazine

جدول ۱. جزئیات برنامه تمرین هوازی به اجرا درآمده روی نوارگردان

هفته ها	زمان (دقیقه)			سرعت (دقیقه/متر)		
	گرم کردن	تمرین	سرد کردن	گرم کردن	تمرین	سرد کردن
هفته اول	۳	۱۰	۲	۵	۵	۵
هفته دوم	۳	۱۵	۲	۵	۱۰	۵
هفته سوم	۳	۲۰	۲	۵	۱۵	۵
هفته چهارم	۳	۲۵	۲	۵	۲۰	۵
هفته پنجم	۳	۳۵	۲	۵	۲۵	۵
هفته ششم	۳	۴۵	۲	۵	۲۵	۵
هفته هفتم	۳	۵۵	۲	۵	۲۵	۵
هفته هشتم	۳	۶۰	۲	۵	۲۵	۵

گاواژ دریافت کردند (آل‌آنی[1] و دیگران، ۲۰۱۷). موش‌های گروه کنترل و گروه آواریکتومی شده هم حجم عصاره، نرمال سالین به‌صورت گاواژ دریافت کردند. بذر خالص کتان پس از تهیه و تائید توسط گروه فارماکوگنوزی[2] دانشگاه، مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه عصاره بذر کتان، ابتدا دانه‌ها کاملاً آسیاب شد و ۱۲۰ گرم از پودر حاصله پس از اضافه کردن ۵۰۰ میلی‌لیتر پترولیوم اتر[3] (۲۵:۶ وزن محلول:حجم کل محلول[4]) به مدت دو ساعت در دمای اتاق به‌وسیله همزن مغناطیسی، لیپید زدایی شد و سپس مخلوط با یک توری استیل با قطر منافذ ۰/۵ میلی‌متر صاف گردید. اتر باقی‌مانده در پودر لیپید زدایی شده به مدت یک ساعت در دمای اتاق بخار شد و حدود ۱۰۰ گرم از پودر لیپید زدایی شده در محلولی شامل ۶۰۰ میلی لیتر اتانول، آب مقطر و هیدروکسید سدیم[5] (NaOH)، یک مولار به ترتیب نسبت حجمی 4:1:1 به مدت دو ساعت در همزن مغناطیسی مخلوط گردید. سپس اسید سیتریک گلاسیال[6] تا PH=۶ رسید و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد تا پلی‌ساکاریدهای محلول در آب و پروتئین‌ها جداسازی شود (پرتی[7] و دیگران، ۲۰۱۳).

برای اندازه‌گیری SOD از روش جلالی و دیگران (۲۰۰۶) استفاده شد. در این روش از گزانتین[7] و گزانتین اکسیداز[8] جهت تولید رادیکال‌های سوپر اکساید استفاده می‌شود. این رادیکال‌ها با I.N.T یا 3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (iodophenyl)-2- واکنش می‌دهند و رنگ قرمز فورمازون تولید می‌کنند که در طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود (جلالی و دیگران، ۲۰۰۶).

برای اندازه گیری GPx از روش نصیرزاده و دیگران (۲۰۱۴) استفاده شد. آنزیم GPx واکنش گلوتاتیون احیا[9] (GSH) توسط کیومن هیدروپراکساید[10] را کاتالیز می‌نماید. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) مجددا به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌شود؛ واکنشی که با اکسیداسیون همزمان ADPH به $NADP^+$ همراه است. در این واکنش، کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود (نصیرزاده و دیگران، ۲۰۱۴).

برای اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA) از روش سومی[11] و دیگران (۲۰۰۹) استفاده شد. این روش بر پایه واکنش با اسید تیوباربیتوریک[12] (TBARS)، اندازه‌گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه با منحنی استاندارد می‌باشد.

به منظور اندازه‌گیری TAC، TBARS با یک پراکسیداز و آب اکسیژنه مجاور شد تا رادیکال‌های ABTS+ تولید نماید. این ماده، رنگ آبی- سبز دارد که در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه تولید این رنگ را تضعیف می‌کنند. کلیه شاخص‌هایی که روش اندازه گیری آن ها شرح داده شد (MDA، SOD، GPx و TAC) با استفاده از کیت ELISA از سایمن شیمی ساخت کشور آمریکا[13] سنجیده شدند (شهریور و دیگران، ۲۰۱۶).

فعالیت آنزیم PON1 سرم با استفاده از روش اصلاح‌شده اکرسون[14] (۱۹۸۳) به روش اسپکتروفتومتری توسط کیت Enz Chek ساخت کشور انگلیس انجام شد. فعالیت PON1 با استفاده از پاراکسون به‌عنوان یک بستر، با جذب ۴-

1. Al-Ani
2. Pharmacognosy
3. Petroleum Ether
4. Weight of solution in the total volume of solution; w:v
5. Sodium hydroxide
6. Glacial citric acid
7. Xanthine
8. Xanthine oxidase
9. Glutathione
10. Cumene hydroperoxide
11. Somi
12. Thiobarbituric acid
13. Cayman CHEMICAL (USA)
14. Eckerson

نیتروفنول در ۴۱۲ نانومتر مشخص گردید (آگاسایاک[1] و دیگران، ۲۰۱۵).

برای تحلیل داده‌های جمع آوری شده از نرم‌افزار SPSS-22 استفاده شد. داده‌های بدست‌آمده کمّی، به‌صورت میانگین± انحراف استاندارد گزارش شدند و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی[2] مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی‌دار در این مطالعه p< ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

بررسی آماری داده ها با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین کلیه متغیرهای وابسته تحقیق در گروه‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی داری وجود دارد (جدول ۲). در ادامه، آزمون تعقیبی توکی نشان داد که از نظر عوامل مورد ارزیابی بین گروه کنترل با گروه شم اختلاف معنی داری وجود ندارد (p=۱/۰۰). به علاوه، نتایج نشان داد که سطح MDA در گروه آواریکتومی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافته است (p=۰/۰۰۰۱)، در حالی که فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان PON1, SOD و GPX و میزان TAC در گروه آواریکتومی شده در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری (p=۰/۰۰۰۱) پایین تر بود. همچنین در گروه آواریکتومی – عصاره بذرکتان، سطح MDA نسبت به گروه آواریکتومی شده به طور معنی دار پایین تر بود (p=۰/۰۰۰۱). مقایسه میانگین های مربوط به فعالیت آنزیم های PON1, SOD و GPX و میزان TAC در گروه‌های مطالعه شده مشخص نمود که تجویز عصاره بذرکتان فعالیت این عوامل را در گروه آواریکتومی – عصاره نسبت به گروه آواریکتومی شده، به طور معنی داری (p=۰/۰۰۰۱) افزایش داده است. علاوه بر این، مشخص گردید در گروه آواریکتومی – تمرین هوازی نیز سطح MDA نسبت به گروه آواریکتومی شده کاهش معنی داری داشته است (p=۰/۰۰۰۱). بررسی میانگین داده های مربوط به فعالیت آنزیم های PON1, SOD و GPX و میزان TAC در گروه‌های مطالعه شده مشخص نمود که تمرین هوازی فعالیت این عوامل را در گروه آواریکتومی – تمرین نسبت به گروه آواریکتومی شده، به طور معنی داری (p=۰/۰۲) افزایش داده است. علاوه بر این ها، یافته های حاصل از این پژوهش نشان داد که سطح MDA در گروه آواریکتومی - عصاره بذر کتان– تمرین هوازی در مقایسه با گروه های آواریکتومی – عصاره بذرکتان (p=۰/۰۰۰۱) و گروه آواریکتومی – تمرین هوازی (p=۰/۰۰۰۱) کاهش بیشتری داشته است؛ در حالی که بین گروه آواریکتومی - عصاره بذر کتان– تمرین هوازی با گروه کنترل اختلاف معنی داری وجود نداشت (p=۰/۱۰). همچنین بین گروه آواریکتومی - عصاره بذر کتان– تمرین هوازی با گروه کنترل از نظر میزان TAC تفاوت معنی داری (p=۰/۱۰) دیده نشد.

جدول ۲. توصیف و مقایسه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت قلب موش‌های صحرایی ماده در گروه‌های مختلف

گروه / متغیرها	کنترل	شم	آواریکتومی	آواریکتومی – عصاره	آواریکتومی- تمرین	آواریکتومی – تمرین – عصاره	مقدار p	مقدار F
TAC (میلی‌گرم بافت/واحد)	۳/۴۹±۰/۰۸	۳/۵۰±۰/۱۰	۲/۷۰±۰/۱۳^{a}	۳/۱۶±۰/۲۴^{ab}	۳/۰۲±۰/۱۹^{ab}	۳/۲۳±۰/۱۷^{b}	۰/۰۰۰۱	۱۹/۹۵
MDA (گرم بافت/نانومول)	۲/۲۴±۰/۱۲	۲/۲۴±۰/۱۵	۳/۴۰±۰/۱۹^{a}	۲/۹۴±۰/۱۶^{ab}	۳/۰۲±۰/۱۸^{ab}	۲/۲۵±۰/۳۶^{bcd}	۰/۰۰۰۱	۳۴/۰۳
GPX (میلی‌گرم بافت/واحد)	۴۴/۰۴±۴/۴۸	۴۳/۸۸±۲/۵۰	۲۷/۱۲±۲/۶۵^{a}	۳۱/۲۴±۴/۷۱^{a}	۳۵/۳۵±۲/۹۹^{ab}	۳۷/۲۳±۲/۵۳^{ab}	۰/۰۰۰۱	۲۳/۱۸
SOD (میلی‌گرم پروتئین/واحد)	۴/۷۵±۰/۱۰	۴/۷۶±۰/۱۵	۳/۴۸±۰/۲۳^{a}	۳/۸۴±۰/۱۷^{ab}	۳/۷۹±۰/۱۷^{ab}	۴/۴۳±۰/۱۷^{abcd}	۰/۰۰۰۱	۵۹/۶۸
PON1 (لیتر/واحد)	۱۴۷/۳۴±۳/۹۳	۱۴۷/۱۹±۳/۶۵	۱۲۱/۷۸±۳/۶۶^{a}	۱۳۰/۴۶±۳/۱۷^{ab}	۱۳۱/۰۹±۱/۹۲^{ab}	۱۴۰/۹۳±۲/۷۹^{abcd}	۰/۰۰۰۱	۱۵/۶۰

داده ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش شده اند. ^{a} p<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل، ^{b} p<۰/۰۵ نسبت به گروه آواریکتومی، ^{c} p<۰/۰۵ نسبت به گروه آواریکتومی- عصاره، ^{d} p<۰/۰۵ نسبت به گروه آواریکتومی – تمرین. (TAC: ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، MDA: مالون دی‌آلدهید، GPX: گلوتاتیون پراکسیداز، SOD: سوپراکسید دیسموتاز، PON1: پاراکسوناز ۱).

1. Agacayak
2. Tukey

بحث

نتایج این تحقیق مشخص نمود که آواریکتومی باعث افزایش میزان شاخص پراکسیداسیون بافت قلب و کاهش میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی همچون SOD GPX و TAC می شود. افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در TAC در مطالعات بالینی و تجربی بدنبال آواریکتومی نشان داده شده است. میزان MDA در گروه آواریکتومی (تحقیق حاضر) نسبت به سایر گروه ها، افزایش معنی‌داری داشت که نشانگر القای استرس اکسیداتیو در حیوانات آواریکتومی شده می باشد؛ نتایجی که در مطالعه نصیرزاده و رسولی (۲۰۱۶) نیز بدست آمده است. رادیکال های آزاد با القاء آسیب به لیپیدهای غشایی، زمینه تولید MDA را فراهم می کنند. آلدهید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی می تواند با سایر اجزای سلولی مانند پروتئین وارد واکنش شده و آسیب‌های متنوعی ایجاد کند (عجم زیبد و دیگران، ۲۰۱۶). در حالی که بین گروه های آواریکتومی- تمرین - عصاره بذر کتان با گروه کنترل اختلاف معنی داری دیده نشد. به عبارت دیگر، ترکیب تمرین و عصاره بذرکتان، سطح MDA را تا حد مقادیر کنترل کاهش و سطح SOD و TAC را افزایش داده است. این موضوع نشان می دهد که ترکیب تمرین و عصاره بذر کتان به خوبی توانسته است از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از آواریکتومی جلوگیری نماید. از طرف دیگر، نتایج مشخص نمود که بین گروه های آواریکتومی- تمرین هوازی و گروه آواریکتومی- عصاره بذرکتان تفاوت معنی داری وجود ندارد. به عبارت دیگر، اثر ترکیبی تمرین و عصاره بذرکتان تاثیر بیشتری نسبت به هر یک از این دو مداخله به تنهایی داشته است. تولید گونه های واکنشی اکسیژن در طی ورزش به طور موقت افزایش می یابد؛ با این وجود، شیوع بیماری های مرتبط با استرس اکسیداتیو با ورزش منظم کاهش پیدا می کند (هنردوست و دیگران، ۲۰۱۳). ورزش منظم آسیب اکسیداتیو مغز، کبد، کلیه، عضله اسکلتی، و قلب را کاهش می دهد. با این حال، نشان داده شد است که ورزش با شدت بالا به مدت ۱۲ هفته، موجب افزایش شدت استرس اکسیداتیو در مردان جوان می شود (آدامز و بست[1]، ۲۰۰۲). همچنین نشان داده شده است که ورزش منظم، آسیب اکسیداتیو میتوکندریایی ناشی از پیری را کاهش می دهد و موجب تنظیم افزایشی فعالیت سیتوکروم c و سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی در قلب، کبد، کلیه، و مغز موش‌های صحرایی مسن (۵۲ هفته ای) می شود؛ اما بر موش‌های صحرایی پیرتر تاثیری ندارد (سلام و دیگران، ۲۰۱۶). فیتواستروژن‌ها نقش خود را از چند طریق اعمال می‌کنند، از جمله این که قادرند با اتصال به گیرنده های استروژنی، نسبت به استرادیول طبیعی موجود در گردش خون، به عنوان آنتاگونیست عمل نمایند. در حالی که در غیاب استروژن قادرند با اتصال به گیرنده های استروژنی، اثرات استروژن را شبیه سازی نمایند (نصیرزاده و دیگران، ۲۰۱۱). در مطالعه صورت گرفته توسط صالحی و دیگران (۲۰۰۹) مشخص شده است که ورزش روی نوارگردان موجب کاهش MDA بافت قلب در رت های دیابتی ورزش کرده نسبت به رت های دیابتی ورزش نکرده می شود. همسو با این نتایج، پژوهش حاضر نیز اثرات مفید ورزش بر کاهش میزان MDA بافت قلب در موش های صحرایی آواریکتومی شده را تایید نمود. چنانچه در گروه آواریکتومی- تمرین، سطح MDA در مقایسه با گروه آواریکتومی به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. شواهدی وجود دارد که نشانگر افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی ناشی از ورزش در بافت‌های مختلف جوندگان است. همسو با مطالعه حاضر، نصیرزاده و دیگران (۲۰۱۶) طی پژوهشی نشان داده اند که آواریکتومی باعث کاهش معنی دار سطح فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX می‌شود. موافق با این پژوهش، در مطالعه حاضر مشخص گردید که آواریکتومی موجب کاهش معنی دار SOD و GPX نسبت به گروه کنترل می شود. همچنین مشخص گردید که میزان فعالیت آنزیم GPX در گروه های آواریکتومی- تمرین و آواریکتومی- عصاره نسبت به گروه آواریکتومی؛ افزایش معنی داری داشته است. این امر حاکی از اثرات مفید ورزش و عصاره کتان بر استرس اکسیداتیو ناشی از آواریکتومی است. فعالیت بدنی منظم و پیشرونده به سلول‌ها اجازه می دهد تا ROS را بهتر سم زدایی کنند. این موضوع هم در افراد بزرگسال و هم در افراد مسنی نشان داده شده است که سطح فعالیت ضد اکسیداتیو، مشابه افراد کم تحرک جوان از خود نشان می دهند و می‌توانند از فعالیت بدنی منظم برای محافظت از خود در برابر آسیب اکسیداتیو و جلوگیری از اختلالات مربوط به سن استفاده کنند (سیمیونی و دیگران، ۲۰۱۸).

همسو با یافته های مطالعه حاضر، آقاکایاک[2] و دیگران (۲۰۱۵) طی مطالعه ای گزارش کرده اند که آواریکتومی موجب کاهش معنی دار فعالیت آنزیم PON1 نسبت به گروه کنترل می شود . طی مطالعه دیگری نشان داده شده است که کوئرستین[3] به مدت چهار هفته موجب افزایش فعالیت سرمی و کبدی آنزیم PON1 می شود (لکی[4] و دیگران، ۲۰۱۰). همچنین نشان داده شده که فلاونوئیدها نیز فعالیت سرمی آنزیم PON1 را افزایش می‌دهند (حمیدیا و دیگران، ۲۰۱۴). آنزیم PON1 یک آنزیم سرم

1. Adams and Best
2. Agacayak
3. Quercetin
4. Leckey

استراز وابسته به کلسیم از خانواده استرازهاست که به HDL متصل می گردد. شواهد زیادی وجود دارد که این آنزیم در فرآیند گرفتگی عروق[1] اثر محافظتی دارد. چنین بنظر می رسد که PON1 عامل اصلی در عملکرد ضدالتهابی HDL و جلوگیری از اکسیداسیون LDL باشد. تغییر نیمرخ چربی پلاسما در آغاز یائسگی به عنوان یک عامل خطر برای بیماری های قلبی محسوب می شود؛ زیرا یائسگی اغلب با افزایش وزن و اختلال در متابولیسم لیپید همراه است (کو و کیم[2]، ۲۰۲۰). استروژن از طریق القا تولید کبدی لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین[3] (VLDL) و افزایش کاتابولیسم LDL ، بر متابولیسم آن ها موثر است. از طرف دیگر، کتان منبع قابل توجهی از آنتی اکسیدان های فنولی از قبیل فلاونوئید ها، فنولیک اسید، فنیل پروپانوئید و تانن هاست. گزارش شده است که لیگنان های موجود در کتان دارای خواص آنتی اکسیدانی حتی قوی‌تر از ویتامین های با پتانسیل آنتی اکسیدانی همچون ویتامین C می باشد. چنانچه لیگنان های کتان می توانند گزینه مناسب آنتی اکسیدان های طبیعی برای پایداری لیپیدها باشند (کاسوت، ۲۰۱۳). این نتایج نشانگر تاثیر مثبت ترکیب تمرین و رژیم غذایی محتوی ایزوفلاون های کتان بر بهبود استرس اکسیداتیو است. مجموع نتایج مذکور با تحقیق حاضرکه ترکیب عصاره کتان و تمرین هوازی را ارزیابی کرده است، همخوانی دارد و دال بر آن است که تاثیر مثبت عصاره کتان، احتمالا بخاطر ایزوفلاون های موجود در آن می باشد. در کل ، در دوران یائسگی با حذف استروژن، اثر محافظتی استروژن بر سیستم قلبی- عروقی کاهش می یابد؛ چنانچه در زنان در دوران قبل از یائسگی، در مقایسه با مردان و زنان یائسه، بیماری های قلبی- عروقی نادر است (نصیرزاده و دیگران، ۲۰۱۲).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، می‌توان چنین استنباط کرد که انجام تمرین هوازی و مصرف هم‌زمان عصاره بذر کتان، موجب بهبود فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی، کاهش شاخص های اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم PON1 در بافت قلب موش‌های صحرایی آواریکتومی‌شده می شود. هرچند برای رسیدن به مکانیسم های اثر عصاره کتان و تمرین هوازی و تعمیم نتایج به انسان، به مطالعات بیشتری نیاز است. با توجه به این که تغذیه و ورزش دو استراتژی موثر و قابل دسترسی برای حفظ سلامتی در جمعیت پیر هستند؛ سایر ترکیبات طبیعی و غیر سمی و نوآوری در طراحی تحقیق ممکن است این فرصت را برای درک بهتر نقش مکمل های آنتی اکسیداتیو و ارائه راهکار های جدید و امیدوار کننده برای بهبود مراقبت های بهداشتی انسان فراهم کند.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان اظهار نشده است.

قدردانی و تشکر

محققین از کارشناسان محترم آزمایشگاه فیزیولوژی به ویژه آقای مهندس رسولی کوچه به پاس همراهی در انجام این تحقیق، قدردانی می نمایند.

منابع

Adams, A.K., & Best, T.M. (2002). The role of antioxidants in exercise and disease prevention. *The Physician and Sports Medicine, 30***(5), 37-44.**

Agacayak, E., Basaranoglu, S., Tunc, S., Kaplan, İ., Evliyaoglu, O., Gul, T.,... & Mehmet Findik, F. (2015). Oxidant/ antioxidant status, paraoxonase activity, and lipid profile in plasma of ovariectomized rats under the influence of estrogen, estrogen combined with progesterone, and genistein. *Drug Design, Development and Therapy*, *9*, **2975.**

Ajam Zibad, M., TaheriChadorneshin, H., & Abtahi Eivary, S. (2016). The effect of acute resistance exercise on serum levels of some inflammatory and muscle damage markers in inactive women. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, *4***(7), 76-88. [In Persian]**

Aksakal, E., Akaras, N., Tanboga, I. H., Kurt, M., Halici, Z., Odabasoglu, F., & Unal, B. (2011). Relationship between oxidative stress and cardiomyopathic changes in ovariectomized rats. *Cardiology*, *119***(4), 235–241.**

1. Atherogenesis
2. Ku & Kim
3. Very low-density lipoprotein

Al-Ani, I. M., Al-Ani, G. A., Azzubaidi, M. S., & Al-Ahmed, B. I. (2017). The effect of flaxseed ethanolic extract on the structure of the Kidney and the endocrine pancreas in streptozotocin induced diabetic rats. *Makara Journal of Health Research*, *21***(3), 87–92.**

Azam, S., Lange, T., Huynh, S., Aro, A.R., von Euler-Chelpin, M., Vejborg, I., … & Andersen, Z.J. (2018). Hormone replacement therapy, mammographic density, and breast cancer risk: a cohort study. *Cancer Causes & Control, 29***(6), 495–505.**

Bittner, V. (2009). Menopause, age, and cardiovascular risk. *Journal of the American College of Cardiology*, *54***(25), 2374–2375.**

Brzezinski, A., Adlercreutz, H., Shaoul, R., Rosier, A., Shmueli, A., Tanos, V., & Schenker, J.G. (1997). Short-term effects of phytoestrogen-rich diet on postmenopausal women. *Menopause*, *4***(2), 89-94.**

Cai, D.J., Zhao, Y., Glasier, J., Cullen, D., Barnes, S., Turner, C.H., … & Weaver, C.M. (2004). Comparative effect of Soy protein, soy isoflavones, and 17β-Estradiol on bone metabolism in adult ovariectomized rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, *20***(5), 828–839.**

Fiaschi, T., & Chiarugi, P. (2012). Oxidative stress, tumor mcroenvironment, and metabolic reprogramming: A diabolic liaison. *International Journal of Cell Biology, 2012*, **1–8.**

Gabiana, C., McKenzie, B.A.B., & Hill, G.D. (2005). The influence of plant population, nitrogen and irrigation on yield and yield components of linseed. *Agronomy New Zealand, 35***, 44–56.**

Garber, C.E., Blissmer, B., Deschenes, M.R., Franklin, B.A., Lamonte, M.J., & Lee, I. M. (2011). Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *43***(7), 1334–1359.**

Hamidia, Z., Nayeri, H., Naderi, G., Boshtam, M., & Shokoohi Nahrkhalaji, A. (2014). The effect of some flavonoids on paraoxonase-1 activity. *Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences*, *6*, **71–76. [In Persain]**

Herrington, D.M., Reboussin, D.M., Brosnihan, K.B., Sharp, P.C., Shumaker, S.A., Snyder, T.E., … & Waters, D. (2000). Effects of estrogen replacement on the progression of coronary-artery atherosclerosis. *New England Journal of Medicine*, *343***(8), 522–529.**

Honardoost, M., Soleimanjahi, H., & Rajaei, F. (2013). Apoptosis: programmed cell death. *Journal of Inflammatory Disease*, *17***(3), 48-57. [In Persian]**

Hosseini, M., & Akbarigora, F. (2017). Effect of eight weeks intermittent medium intensity training with Curcumin intake on serum levels of ICAM-1 and VCAM-1 in menopause fat rats. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, *16***(5), 409-420. [In Persian]**

Jalali, M., Shahram, F., Ariaeian, N., Zeraati, H., Sadeghi, M.R., Akhlagy, A., ... & Chamary, M. (2006). Blood antioxidant enzyme levels in patients with Rheumatoid Arthritis. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications*, *64***(8), 81-89. [In Persian]**

Johnston, B.D., & Ward, W.E. (2015). The ovariectomized rat as a model for studying alveolar bone loss in postmenopausal women. *BioMed Research International*, *2015,* **1–12.**

Kasote, D.M. (2013). Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *International Food Research Journal*, *20***(1), 27.**

Ko, S.H., & Kim, H.S. (2020). Menopause-associated lipid metabolic disorders and foods beneficial for postmenopausal women. *Nutrients*, *12***(1), 202.**

Lacey, J.V., Brinton, L.A., Lubin, J.H., Sherman, M.E., Schatzkin, A., & Schairer, C. (2005). Endometrial carcinoma risks among menopausal estrogen plus progestin and unopposed estrogen users in a cohort of postmenopausal women. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, *14***(7), 1724–1731.**

Leckey, L.C., Garige, M., Varatharajalu, R., Gong, M., Nagata, T., Spurney, C.F., & Lakshman, R.M. (2010). Quercetin and ethanol attenuate the progression of atherosclerotic plaques with concomitant up regulation of paraoxonase1 (PON1) gene expression and PON1 activity in LDLR−/−mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *34***(9), 1535–1542.**

Lee, J., Cho, H.S., Kim, D.Y., Cho, J.Y., Chung, J.S., Lee, H.K., Seong, N.H. & Kim, W.K. (2012). Combined effects of exercise and soy isoflavone diet on paraoxonase, nitric oxide and aortic apoptosis in ovariectomized rats. *Appetite*, *58***(2), pp.462-469.**

Mackness, B., Durrington, P.N. & Mackness, M.I. (1998). Human serum paraoxonase. *General Pharmacology: The Vascular System*, *31***(3), 329-336.**

Mendelsohn, M.E. (2002). Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *The American Journal of Cardiology*, *89***(12), 12-17.**

Moerman, C.J., Van Hout, B. A., Bonneux, L., & Witteman, J. C. M. (2000). Postmenopausal hormone therapy: less favourable risk-benefit ratios in healthy Dutch women. *Journal of Internal Medicine*, *248***(2), 143–150.**

Motta, S., Letellier, C., Ropert, M., Motta, C. & Thiébault, J.J. (2009). Protecting effect of vitamin E supplementation on submaximal exercise-induced oxidative stress in sedentary dogs as assessed by erythrocyte membrane fluidity and paraoxonase-1 activity. *The Veterinary Journal*, *181***(3), pp.288-295.**

Muñoz-Castañeda, J.R., Muntané, J., Herencia, C., Muñoz, M.C., Bujalance, I., Montilla, P., & Túnez, I. (2006). Ovariectomy exacerbates oxidative stress and cardiopathyinduced by adriamycin. *Gynecological Endocrinology*, *22***(2), 74-79.**

Nasirzadeh, M., & Rasouli, A. (2016). Pretreatment effect of alcoholic olive leaf extract on oxidative and antioxidative enzymes status in ovariectomized rats. *International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences*, *4***(2), 77–80.**

Nasirzadeh, M.R., Khayat Nouri, M.H., Nourazar, A.R., & Roshangar, L. (2012) The effect of methanolic soy extract on heart tissue changes in ovariectomized rats. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*, *12***(1), 97-105. [In Persian]**

Nasirzadeh, M.R., Khayat Nouri, M.H., Nourazar, A.R., & Rahmani, J. (2011) Effect of methanolic soy extract on serum levels of lipid and lipoproteins in ovariectomized rats. *Feyz*, *15***(2), 91-7. [In Persian]**

Nasirzadeh, M.R., Nourazar, A.R., & Roshangar, L. (2014). Effect of olive leaf alcoholic extract on renal ischemia/ reperfusion injury in adult male rats. *Veterinary Clinical Pathology, 8***(29), 373-382. [In Persian]**

Perretti, G., Virgili, C., Troilo, A., Marconi, O., Regnicoli, G. F., & Fantozzi, P. (2013). Supercritical antisolvent fractionation of lignans from the ethanol extract of flaxseed. *The Journal of Supercritical Fluids*, *75*, **94–100.**

Ramezani, S., Peeri, M., Azarbaijani, M., & Dehghan, F. (2020). Effects of aerobic exercise and vitamin D supplementation on the expression of apoptosis genes BCL2, BAX, Caspase3 and BCL2/BAX ratio on lung in male rats exposed to hydrogen peroxide. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, *8***(16), 86-100. [In Persian]**

Rosano, G.M., Vitale, C., & Tulli, A. (2006). Managing cardiovascular risk in menopausal women. *Climacteric*, 9**(sup1), 19–27.**

Salehi, I., Mohammadi, M., & Asadi Fakhr, A. (2009). The effect of treadmill exercise on antioxidant status in the hearts of the diabetic rats. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*, *16***(2), 20-27. [In Persian]**

Sallam, N., & Laher, I. (2016). Exercise modulates oxidative stress and inflammation in aging and cardiovascular diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2016*, **1–32.**

Shahrivar, F.F., Badavi, M., Dianat, M., Mard, A., Ahangarpour, A., Hedayati, M., … & Samarbaf-zadeh, A. (2016). Comparison of therapeutic effects of L-Thyroxin, apelin and a combination of both on antioxidant enzymes in the heart of PTU-induced hypothyroid rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *59*, **1–8.**

Simioni, C., Zauli, G., Martelli, A.M., Vitale, M., Sacchetti, G., Gonelli, A., & Neri, L. M. (2018). Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget*, *9*(**24**), **17181.**

Tanideh, R., Delavari, S., Farshad, O., Irajie, C., Javad Yavari Barhaghtalab, M., Koohpeyma, F., … & Iraji, A. (2021). Effect of flaxseed oil on biochemical parameters, hormonal indexes and stereological changes in ovariectomized rats. *Veterinary Medicine and Science, 7*(**2**), **521-533.**