

تأثیر تمرین استقامتی شنا در دوران بارداری بر شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان موش‌های صحرائی

شادمهر میردار^{۱*}، حسین علی‌اصغرزاده اولیایی^{**}، غلامرضا حمیدیان^{***}

* دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران.

** کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران.

*** استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۳/۱۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۹/۲۶

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی شنا در دوران بارداری بر شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان موش‌های صحرائی انجام شده است. ۱۶ موش صحرائی بارداری (۲۰ ± ۲۰۰ گرم) به دو گروه (کنترل و تمرین) تقسیم شدند. گروه تمرین از روز اول بارداری تا روز زایمان در استخر ویژه‌ای وادار به شنا شدند. نمونه‌برداری از بافت کبد نوزادان روز دوم پس از تولد انجام و شاخص درصد آپوپتوزی کبد با استفاده از تست TUNEL تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل یافته‌های این پژوهش از آزمون تی مستقل یک‌نمونه‌ای در سطح خطای $\alpha \leq 0.05$ استفاده شد. نتایج نشان داد میانگین شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان در گروه کنترل برابر با ۶/۴۰ درصد و در گروه تمرین شنا ۶/۲۰ درصد بود که حاکی از فقدان تفاوت معنی‌دار بین دو گروه بود ($p > 0.05$). نوزادان گروه تمرین شنا افزایش غیرمعنی‌داری را در وزن هنگام تولد نشان دادند ($p > 0.05$). این نتایج نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی استقامتی شنا در طی بارداری احتمالاً تأثیر منفی و نگران‌کننده‌ای بر رشد و شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان ندارد.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوزیس، تمرین شنا، کبد نوزاد، بارداری.

Effects of swimming endurance training during pregnancy on apoptotic index of rat's neonate liver

Mirdar, Sh. *, Aliasgharzade Oliaei, H. **, Hamidian, Gh. ***

* Associate Professor, Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Iran.

** Master of Science, Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Iran.

*** Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Iran.

Abstract

Background: This study aimed to examine the effects of endurance swimming training during pregnancy on pregnant rat's neonate liver tissue apoptotic index. **Methods:** 16 pregnant rats (200 ± 20 g) were divided into two swimming and control groups. The rats of training group were forced from first day of pregnancy to delivery in a particular pool. The sampling of the neonate liver tissue was performed two days after born and the liver apoptotic percent index was determined with TUNEL technique. Statistical analysis of the data was done using independent t-test ($\alpha \leq 0.05$). **Results:** The results showed that the average neonate liver apoptotic index in the control and training group respectively was 6.40% and 6.20% that indicate no significant difference between two groups ($p > 0.05$). In addition, exercise produced no significant changes in birth weight ($p > 0.05$). **Conclusion:** These results suggest that swimming endurance training during pregnancy maybe have no negative and worrying impact on neonate growth and liver apoptotic index.

Keywords: Apoptosis, Swimming Training, Neonate Liver, Pregnancy

مقدمه

دوران بارداری حساس‌ترین مرحله زندگی بانوان است. این دوران از این نظر حائز اهمیت است که سلامت و بهتریستن مادر به طور مستقیم در زندگی جنین مؤثر است [۱]. پژوهشگران نشان داده‌اند نوزادان مادرانی که در دوران بارداری در فعالیت‌های ورزشی شرکت می‌کنند از مزایایی چون کاهش چربی، بهبود تحمل استرس، بلوغ عصبی و رفتاری مناسب‌تر برخوردارند. در مقابل، برخی دیگر نیز معتقدند نوزادان مادرانی که حجم بالای فعالیت‌های ورزشی را در دوران بارداری تجربه می‌کنند در مقایسه با گروه دارای حجم برنامه تمرینی کمتر، لاغرتر و سبک‌ترند [۲]. تغییر در مصرف اکسیژن طی دوران بارداری در هنگام استراحت مادر یا فعالیت‌های ورزشی با تحمل وزن با شدت زیربیشینه به نوع فعالیت ورزشی اجرا شده بستگی دارد (مانند پیاده‌روی، پله و دویدن روی نوارگردان) که مصرف اکسیژن در مقایسه با وضعیت غیر بارداری افزایش می‌یابد [۲]. اما بر اساس تحقیقات پژوهشگران اکثر خانم‌ها از آگاهی کافی درباره سطح شناخته‌شده و مقبول ورزش در بارداری خصوصاً از لحاظ مدت و شدت فعالیت‌هایی نظیر شنا و پیاده‌روی برخوردار نیستند [۳]. حضور در فعالیت‌های ورزشی پیامدهای مفیدی دارد که می‌توان به اثر آن بر کبد و نقش جدایی‌ناپذیر آن در فیزیولوژی ورزش نیز اشاره کرد. کبد سوبستراهای انرژی را از طریق چرخه کوری و کاتابولیسم گلیکوژن برای بافت‌های پیرامونی فراهم می‌کند و به‌علاوه مولکول‌های فعال بیولوژیکی مانند فاکتورهای رشدی را به درون گردش خون رها می‌کند [۴]. اما شواهد نشان می‌دهند تمرین‌های استقامتی با ایجاد استرس اکسایشی و میتوکندریایی باعث ایجاد آسیب کبدی می‌شود [۵] و عوامل آغازکننده آپوپتوزیس یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی^۱ را رها می‌سازد [۶]. هنگام فعالیت‌های ورزشی جریان خون به سمت اندام‌های داخلی مانند روده و کبد محدود می‌شود و بعد از فعالیت‌های ورزشی به سطوح استراحتی بازمی‌گردد. این وضعیت شبیه ایسکمی-توزیع مجدد است و ممکن است به افزایش تشکیل گونه‌های اکسیژن واکنشی^۲ (ROS) بینجامد [۷]. تولید فزاینده ROS بدون دفاع آنتی‌اکسیدانتی کافی به استرس اکسایشی^۳ و مرگ سلولی و آپوپتوزیس منجر می‌شود که متضمن ایجاد انواع بیماری‌ها و ناهنجاری‌های رشدی و سالمندی است [۸]. یکی از موقعیت‌های ویژه برای تولید رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن افزایش استرس اکسایشی دوران بارداری است. براساس نتایج حکاک‌دخت و همکاران (۲۰۱۱) در دوران بارداری که فشار اکسایشی در بدن مادر بیشتر می‌شود، انجام تمرین هوازی افزایش فعالیت سیستم ضد اکسایشی بدن را در پی دارد [۹]. به‌علاوه، مولکول‌های آنتی آپوپتوزیس مختلف هم با تمرین ورزشی افزایش پیدا می‌کنند و پس از بی‌تمرینی در سطوح بالایی باقی می‌مانند [۱۰]. نتایج مطالعه بایک و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان داد در توله‌موش‌هایی که به‌علت جداشدن از مادر دچار آپوپتوز سلول‌های عصبی شده بودند، آپوپتوزیس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، اما فعالیت استقامتی روی نوارگردان آپوپتوزیس ناشی از جدایی

1. Programmed Cell Death
2. Reactive Oxygen Species
3. Oxidative Stress

مادر را سرکوب کرد و افسردگی ناشی از آن را نیز کاهش داد [۱۱]. با توجه به نکاتی که گزارش شد، در پاسخ به ابهامات ناشی از اثرات آپوپتوزیس یا حفاظتی فعالیت‌های ورزشی در موقعیت‌های فیزیولوژیک مختلف و از جمله دوران حیاتی و حساس بارداری که تأثیر انکارناپذیری بر نوزاد و اندام‌های حیاتی او از جمله کبد دارد، مطالعه آن ضروری و اجتناب‌ناپذیر است. بنابراین محقق درصدد است با بررسی اثر یک دوره برنامه تمرین استقامتی شنا بر شاخص آپوپتوزی کبدی نوزادان موش‌های باردار، به پرسش‌های مربوط به این زمینه پاسخ دهد.

روش‌شناسی

پژوهش حاضر از جمله پژوهش‌های تجربی بود که دو گروه از موش‌های صحرایی باردار را مطالعه کرد. برای این پژوهش ۱۶ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی 20 ± 20 گرم از مرکز انستیتو پاستور آمل تهیه شد. به منظور سازگاری حیوانات با محیط جدید، موش‌ها به مدت یک هفته به همراه آب و غذای کافی در مکانی ویژه با دمای کنترل شده 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و در روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. قبل از اجرای مرحله اصلی پژوهش، با توجه به اینکه این پژوهش برای اولین بار در کشور به اجرا درمی‌آمد و نمونه مشابهی نداشت، محقق استخر ویژه موش‌های رت و مایس را با سفارش ساخت یک مخزن آب فایبرگلاس به ابعاد $100 \times 50 \times 50$ سانتی‌متر طراحی کرد. پس از ارزیابی اولیه استخر به منظور افزایش دقت کار، قابلیت کنترل جریان آب مخزن با استفاده از فلومتر^۱ و تنظیم دور پمپ فراهم شد و در نتیجه امکان گردش آب به جای وضعیت راکد مرحله مقدماتی به مخزن افزوده شد تا امکان شنا و تحرک بیشتر موش‌ها را فراهم آورد. سپس با تنظیم برنامه تمرینی و اصلاحات لازم برنامه نهایی به اجرا درآمد. قبل از اجرای برنامه تمرینی، به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با محیط تمرینی، موش‌ها دو هفته در داخل آب استخر قرار گرفتند. مدت زمان تمرین شنا طی دوره سازگاری ۱۰ دقیقه و جریان آب راکد بود [۱۲]. پس از انتقال به محیط جدید و انجام تمرین شنا، هر دو موش ماده با یک موش نر جهت جفت‌گیری در یک قفس قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت با بررسی توده واژینال، روز اول بارداری مشخص شد [۱۳]. سپس موش‌ها به دو گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول شامل موش‌هایی بود که به طور طبیعی دوران بارداری خود را طی می‌کردند (گروه کنترل) و گروه دوم موش‌های بارداری که از روز اول بارداری تا روز زایمان در یک دوره برنامه تمرین استقامتی شنا شرکت کردند. کلیه مراحل تمرین و اجرای پژوهش مطابق با دستورالعمل مؤسسه سلامت و تغذیه درباره مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد.

موش‌های باردار در گروه‌های تمرینی یک‌بار در روز و پنج‌روز در هفته تا روز زایمان در استخر در طی سه هفته به شنا پرداختند. این برنامه صبح‌ها از ساعت ۸ به اجرا در می‌آمد. مدت زمان تمرین در آب در روز اول بارداری ۱۰ دقیقه بود که این مدت با افزایش پنج دقیقه روزانه به زمان تمرین در هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید. زمان ۶۰

1. Flow Meter

دقیقه تا پایان هفته سوم ثابت بود. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام می شد که در هفته های سازگاری تمرین ثابت و در هفته های تمرین در طی دوران بارداری با ثابت ماندن زمان ۶۰ دقیقه سرعت جریان آب از ۷ به ۱۵ لیتر در دقیقه افزایش یافت [۱۲].

نمونه گیری بافتی از کبد نوزادان دو روز پس از تولد انجام شد. حیوانات با تزریق مخلوط کتامین (۹۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم) بی هوش و سپس با قیچی سر بریده شدند [۱۴]. برای مطالعه ساختار بافت شناسی، نمونه های بافت کبد پس از اندازه گیری وزن، به منظور تثبیت در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی از نمونه ها، به روش معمول تهیه مقاطع بافتی عمل شد. در این روش، پس از ثبوت، با استفاده از دستگاه هیستوکینت مدل ۲۰۰۰ ساخت شرکت لیکا آلمان، مراحل مختلف پاساژ بافتی شامل آب گیری (با استفاده از ۷ ظرف الکل با غلظت صعودی)، شفاف سازی (با استفاده از ۲ ظرف گزیلول) و آغستگی به پارافین انجام گرفت و سپس با استفاده از میکروتوم دوار برش های بافتی به ضخامت ۵-۷ میکرومتر جهت مطالعه تغییرات ساختار بافتی و ضخامت ۳ میکرومتر جهت مطالعه ایمونوهیستوشیمی تهیه شد. به منظور مطالعه تغییرات ساختار بافتی، برش های مد نظر با استفاده از رنگ همتاکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری سه چشمی اولمپیوس متصل به دوربین دیجیتال تحت بررسی و ارزیابی قرار گرفتند.

جهت تشخیص سلول های آپوپتوز شده، هسته این سلول ها با استفاده از روش غیر رادیواکتیو نشان دار کردن انتهایی در جای خود^۱ رنگ و شناسایی شد. در این روش، پس از ثبوت و طی مراحل معمول و استاندارد تهیه مقاطع بافتی، برش هایی به ضخامت ۳ میکرومتر تهیه شد. سپس مقاطع با استفاده از دو ظرف گزیلول پارافین زدایی شدند و با غلظت های نزولی الکل آب دهی شدند و در نهایت سه مرتبه با محلول بافر فسفات عاری از نوکلئاز شستشو شدند. جهت از بین بردن پراکسیدازهای درون زاد، مقاطع با پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد در متانول به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس مقاطع بعد از شستشو با بافر فسفات عاری از نوکلئاز با کمک پروتئین کیناز K تیمار شدند. کیت آزمایشگاهی به کار رفته در این تحقیق کیت تشخیص مرگ سلولی POD ساخت شرکت روژ آلمان (کیت شماره ۹۱۰ ۸۱۷ ۶۶۸۴ ۱۱) بود که تمام مراحل آن مطابق با دستورالعمل همراه کیت انجام پذیرفت. برای تعیین شاخص آپوپتوزی در هر مقطع، ۱۰ میدان دید میکروسکوپی با بزرگ نمایی بالا به طور تصادفی در هر ناحیه انتخاب شد و هسته های TUNEL مثبت (هسته هایی به رنگ قهوه ای تیره و یکنواخت) و TUNEL منفی شمارش شد. سپس شاخص آپوپتوزی^۲ (LI) از فرمول زیر محاسبه شد:

$$LI = a / (a + b) \times 100$$

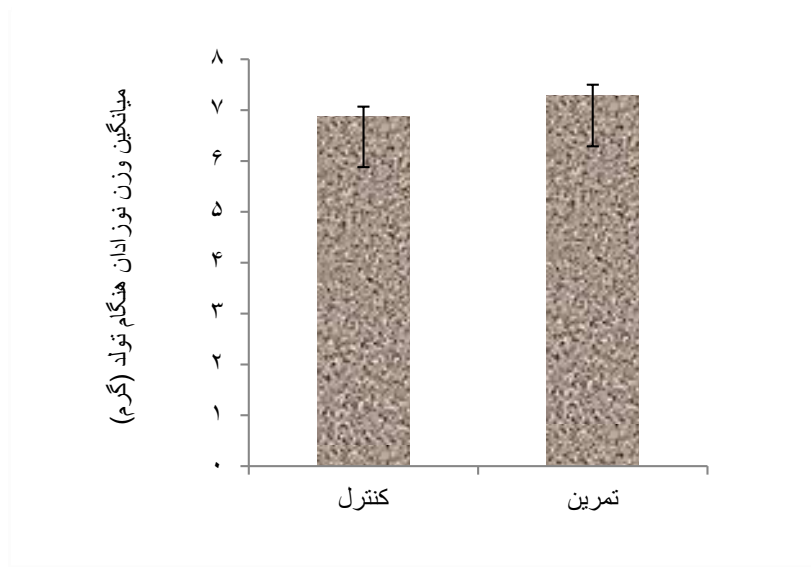
"a" تعداد هسته های TUNEL مثبت و "b" تعداد هسته های TUNEL منفی در هر ناحیه است [۱۵].

1. In Situ End Labeling
2. Labeling Index

جهت تجزیه و تحلیل آماری از آزمون نرمالیتی کلموگراف اسمیرنف و آزمون تی مستقل یک نمونه‌ای استفاده شد. تمام محاسبات با استفاده از نرم‌افزار اس پی اس ۲۱ و در سطح خطای ($\alpha \leq 0/05$) انجام گرفت.

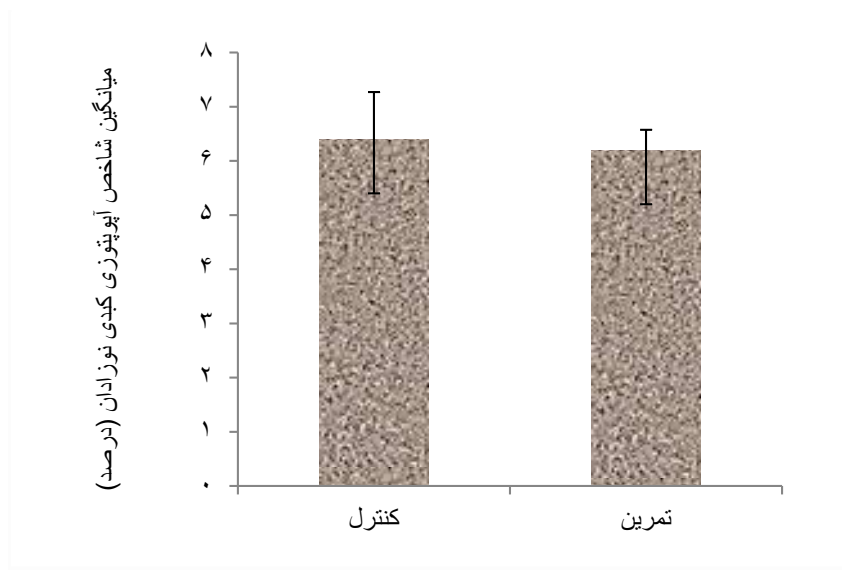
نتایج

نتایج تغییرات وزن بدن آزمودنی‌های دو گروه مبین افزایش غیرمعنی‌دار وزن نوزادان موش‌های گروه تمرین نسبت به گروه کنترل بود (نمودار ۱). میانگین وزن بدن نوزادان گروه تمرین استقامتی شنا ۷/۲۹ گرم و میانگین وزن بدن نوزادان گروه کنترل ۶/۸۸ گرم بود.



نمودار- ۱. مقایسه میانگین وزن بدن نوزادان موش‌های گروه تمرین و کنترل (گرم)

شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان گروه تمرین استقامتی شنا در مقایسه با نوزادان گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت (نمودار ۲). میانگین شاخص آپوپتوزی بافت کبد در گروه تمرین استقامتی شنا ۶/۲۰ درصد و میانگین شاخص آپوپتوز کبدی در گروه کنترل ۶/۴۰ درصد بود.



نمودار-۲. مقایسه میانگین شاخص آپوپتوزی کبدی نوزادان (درصد)

بحث

هدف این پژوهش تأثیر یک دوره تمرین استقامتی شنا در دوران بارداری موش‌های نژاد ویستار بر شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان موش‌های باردار بود. نتایج پژوهش حاضر درباره وزن بدن نوزادان نشان داد تمرین استقامتی شنا باعث افزایش غیرمعنی دار ۶ درصدی وزن تولد نوزادان شد. این نتایج مخالف یافته‌های پژوهش هافتون و همکاران (۲۰۰۰) است که کاهش توده بدنی نوزادان موش‌هایی را گزارش کردند که از چهار هفته پیش از بارداری تا روز نوزدهم بارداری تمرین کرده بودند. این پژوهشگران پیشنهاد کردند که جنین تحت استرس هایپوکسیک، توده اندام‌های حیاتی مانند مغز، قلب و کبد را به قیمت توزیع مجدد جریان خون از اندام‌های غیرحیاتی، مثل کلیه، به اندام‌های حیاتی حفظ می‌کند. این سازوکارهای تطبیقی به طور نامناسبی به اندازه بدنی کوچک‌تر جنین و اندام‌های حیاتی بزرگ‌تر منجر می‌شود که نسبت بزرگ‌تر اندام‌های حیاتی جنین به کل توده بدنی جنین آشکار می‌شود [۱۶]. به نظر می‌رسد تفاوت یافته‌های پژوهش حاضر با پژوهش هافتون و همکاران درباره وزن تولد نوزادان ناشی از تفاوت‌های مهم در دو پروتکل تمرینی باشد. پروتکل تمرینی به‌کاررفته در پژوهش هافتون دوییدن روی نوارگردان به مدت ۶۰ دقیقه و ۵ روز در هفته بود، درحالی‌که پژوهش حاضر برنامه تمرین شامل شنای استقامتی زیربیشینه با شدت تدریجی و سپس تثبیت آن بود. تمرین ورزشی آبی به دلیل نیاز نداشتن به تحمل وزن در آب ظاهراً جایگزین معقول‌تری نسبت به برنامه ورزشی روی زمین است [۲]. بنابراین نوع و شدت پروتکل تمرینی پژوهش حاضر به‌گونه‌ای بود که بر وزن تولد نوزادان تأثیر منفی نداشت.

ازسوی دیگر، نتایج پژوهش حاضر نشان داد یک دوره برنامه تمرینی شنای استقامتی موش‌های باردار تغییر معنی‌داری در شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان آنها ایجاد نکرد. با توجه به بررسی‌های انجام‌شده تاکنون پژوهشی مشابه با پژوهش حاضر یافت نشده است. اهمیت آپوپتوزیس طی رشد مجرای کبد به‌وسیله نمایش آن در

جنین‌های دارای سندروم میکال نشان داده شد که در آن مقاومت صفحه پوششی، کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوزی و افزایش سطوح bcl-2 را نشان داد [۶].

به نظر می‌رسد در طی رشد جنین هم تکثیر سلولی و هم آپوپتوزیس برای رشد صحیح بافت اصلی کبد ضروری هستند [۶]. بقا یا آپوپتوزیس سلول به وسیله تعامل بین مولکول‌های آغازگر آپوپتوزی و آنتی آپوپتوزی تعیین می‌شود [۱۰]. میردار و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی گزارش کردند سطوح فاکتور القایی هایپوکسی آلفا ۱ (HIF-1 α) به طور معنی‌داری در ریه نوزادان موش‌های بارداری که در دوران بارداری تمرین شنای استقامتی داشتند افزایش می‌یابد [۱۲]. هایپوکسی و خصوصاً HIF-1 α اثرات آغازگر آپوپتوزی یا آنتی آپوپتوزی اعمال می‌کند. فعالیت آغازگر آپوپتوزی، بیشتر در هایپوکسی طولانی یا شدید اتفاق می‌افتد و از اشتراک و به هم پیوستگی HIF-1 α و P53 [۱۷] به منزله عامل مهمی ناشی می‌شود که آپوپتوزیس میتوکندریایی را از طریق مسیر مستقل از نسخه برداری القا می‌کند [۱۸]. از آنجایی که آپوپتوزیس مبتنی بر شدت هایپوکسی است و هایپوکسی متوسط به واسطه بیان پروتئین‌های آنتی آپوپتوزی متفاوت به وسیله فعالیت رونویسی HIF-1 نسبتاً حفاظتی است [۱۷] به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر شدت هایپوکسی ایجاد شده از طریق تمرین استقامتی شنای زیربیشینه تغییر معنی‌داری در آپوپتوزیس بافت کبد نوزادان ایجاد نکرد. به خوبی نشان داده شده است که تمرین ورزشی منظم وضعیت آنتی اکسیدان‌تی را در بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد بهبود می‌بخشد [۱۹]. علاوه بر سوپر اکسید دیسموتازها، خانواده وابسته به گلوتاتیون‌ها در مقابله با استرس اکسایشی نقش مهمی دارند. گلوتاتیون پروکسیداز ۴ به عنوان آنزیم آنتی اکسیدان‌تی نقش مهمی در تنظیم آپوپتوزیس ایفا می‌کند [۲۰]. حکاک دخت و همکاران (۲۰۱۱) افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوتاتیون پروکسیداز را در موش‌های باردار گزارش کردند [۹]. از آنجایی که برای ایجاد سازگاری در اثر تمرین استقامتی، عوامل مختلفی باید به صورت موضعی و سیستمی با هم فعالیت کنند [۱۲]، افزایش فعالیت احتمالی آنزیم گلوتاتیون پروکسیداز ۴ می‌تواند یکی دیگر از سازوکارهای کنترل آپوپتوزیس در گروه تمرینی در پژوهش حاضر باشد. احتمالاً افزایش تدریجی در شدت تمرین، آبشاری از مولکول‌ها و عوامل آنتی آپوپتوزی و آنتی اکسیدان‌تی به راه می‌اندازد تا با تمرین استقامتی در جهت کنترل القای آپوپتوزیس در بافت‌ها به ویژه کبد سازگاری ایجاد کند. علاوه بر این، اگر مادران باردار بتوانند با نیازهای فیزیولوژیکی فعالیت ورزشی و رشد کودک سازگاری پیدا کنند فعالیت ورزشی در طی بارداری نه تنها خطری برای مادر و نوزاد ندارد، بلکه می‌تواند سودمند نیز باشد.

نتیجه گیری

با توجه به تغییر غیرمعنی‌دار شاخص آپوپتوزی کبد نوزادان موش صحرائی در پی تمرین شنای استقامتی، پیشنهاد می‌شود برای اطمینان بیشتر، شاخص آپوپتوزی طی تمرین شنای استقامتی درباره نمونه‌های انسانی نیز ارزیابی شود.

منابع

1. Sedaghati, P., Ardjmand, A., Sedaghati, N. (2006). Does regular ergometric training have any effect on the pregnancy outcome?. *Iranian Journal of Pediatrics*. 2006. 16(3): 325-31.
2. Field, T. (2012). Prenatal exercise research. *Infant Behavior & Development*. 35(3): 397-407.
3. Allock, H. (2001). Royal London Hospital Department of sports. BASEM Congress.
4. Aoi, W., Ichiishi E, Sakamoto N, Tsujimoto A, Tokuda H, Yoshikawa T. (2004). Effect of exercise on hepatic gene expression in rats: a microarray analysis. *Life Sciences*. 75(29): 3117-28.
5. Sun, L, Shen, W., Liu, Z., Guan, S., Liu, J., Ding, S. (2010). Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. *Life Sciences*. 86(1-2): 39-44.
6. Bai, J., Odin, J.A. (2003). Apoptosis and the liver: relation to autoimmunity and related conditions. *Autoimmunity Reviews*. 2003. 2(1): 36-42.
7. Mikami, T., Sumida, S., Ishibashi, Y., Ohta, S. (2004). Endurance exercise training inhibits activity of plasma GOT and liver caspase-3 of mice [correction of rats] exposed to stress by induction of heat shock protein 70. *Journal of Applied Physiology*. 96(5): 1776-81.
8. Leonarduzzi, G., Sottero, B., Poli, G. (2010). Targeting tissue oxidative damage by means of cell signaling modulators: the antioxidant concept revisited. *Pharmacology & Therapeutics*. 128(2): 336-74.
9. حکاک دخت، الهام، سلامی، فاطمه، رجیبی، حمید، هدایتی، مهدی. (۲۰۱۱). اثر تمرین هوازی و مکمل های ویتامینی E و C بر GSH و آنزیم های ضد اکسایشی GPX و SOD در موش های باردار. فصلنامه المپیک. ۳(۵۵): ۴۷-۵۶.
10. Su, S.H., Jen, C.J., Chen, H.I. (2011). NO signaling in exercise training-induced anti-apoptotic effects in human neutrophils. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 405(1): 58-63.
11. Baek, S.S., Jun, T.W., Kim, K.J., Shin, M.S., Kang, S.Y., Kim, C.J. (2012). Effects of postnatal treadmill exercise on apoptotic neuronal cell death and cell proliferation of maternal-separated rat. pups. *Brain & Development* 34(1): 45-56.
12. Mirdar, S., Arab, A., Hajzade, A., Hedayati, M. (2012). The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 α levels of neonatal lung. *Tehran Univ Med J*. 69(12): 754-60.
13. Koumentaki, A., Anthony, F., Poston, L., Wheeler, T. (2002). Low-protein diet impairs vascular relaxation in virgin and pregnant rats. *Clin Sci*. 102(5): 553-60.
14. Van Pelt, L.F. (1977). Ketamine and xylazine for surgical anesthesia in rats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 171(9): 842-4.
15. Melen-Mucha, G., Balcerczak, E., Mucha, S., Panczyk, M., Lipa, S., Mirowski, M. (2004). Expression of p65 gene in experimental colon cancer under the influence of 5-fluorouracil given alone and in combination with hormonal modulation. *Neoplasma*. 51(4): 319-24.
16. Houghton, P.E., Mottola, M.F., Plust, J.H., Schachter, C.L. (2000). Effect of maternal exercise on fetal and placental glycogen storage in the mature rat. *Canadian Journal of Applied Physiology*. 25(6): 443-52.
17. Piret, J.P., Mottet, D., Raes, M., Michiels, C. (2002). Is HIF-1 α a pro- or an anti-apoptotic protein? (2002). *Biochemical Pharmacology*. 64(5-6): 889-92.
18. Qi, Z., He, J., Zhang, Y., Shao, Y., Ding, S. (2011). Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Free Radical Biology and Medicine*. 50(7): 794-800.
19. Mallikarjuna, K., Shanmugam, K.R., Nishanth, K., Wu, M.C., Hou, C.W., Kuo, C.H., Reddy, K.S. (2010). Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats. *Alcohol*. 44(6): 523-9.
20. Ufer, C., Wang, C.C. (2011). The roles of glutathione peroxidases during embryo development. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 4: 1-14.