

تأثیر تمرینات ورزشی تداومی و تناوبی همراه با مصرف کروسین بر بیان ژن های AP-1 و NF-κB در بافت قلب موش های صحرائی نر چاق ویستار

زهرا کوه پایه^۱، سیروس فارسی^۲، سید علی حسینی^۳، ایمان فتحی^۴

چکیده

سابقه و هدف: ورزش و فعالیت های فیزیکی منظم نه تنها باعث بهبود سلامت می شود، بلکه می تواند عامل پیشگیری از بسیاری بیماری ها از جمله بیماری های قلبی و عروقی باشد. تمرینات ورزشی منظم می تواند میزان بیان ژن را تعدیل کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرینات تداومی کم شدت و تناوبی شدید همراه با مصرف کروسین بر میزان بیان ژن های AP-1 و NF-κB در بافت قلب موش های صحرائی نر چاق ویستار می باشد. **مواد و روشها:** ۴۲ موش صحرائی نر چاق نژاد ویستار به طور تصادفی در ۷ گروه (۱) تمرین تناوبی شدید، (۲) تمرین تداومی کم شدت، (۳) دریافت کننده کروسین، (۴) تمرین تناوبی شدید و تیمار با کروسین، (۵) تمرین تداومی کم شدت و تیمار با کروسین، (۶) کنترل چاق و (۷) شم قرار گرفتند. کروسین با دوز ۲۵ mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون t مستقل استفاده گردید. سطح معناداری ۰/۰۵ < p منظور گردید. **یافته ها:** نتایج نشان داد کروسین باعث کاهش معنادار بیان ژن های AP-1 و NF-κB به میزان (۰/۳۰۱) و (۰/۱۰۹) برابر نسبت به گروه کنترل چاق شد (p=۰/۰۰۱). تمرینات تداومی کم شدت همراه با کروسین نیز باعث کاهش معنادار بیان ژن AP-1 نسبت به گروه کنترل چاق به میزان (۰/۰۴۹) برابر شد (p=۰/۰۰۱). نتایج همچنین نشان داد که تمرین تداومی کم شدت و مصرف کروسین اثر معنی داری بر بیان ژن NF-κB نسبت به گروه کنترل چاق نداشت. **نتیجه گیری:** تمرینات تداومی کم شدت و مصرف کروسین باعث کاهش میزان بیان ژن AP-1 در بافت قلب موش های صحرائی نر چاق شد. با توجه به نتایج به نظر می رسد کاهش معنادار میزان بیان ژن AP-1 به دلیل اثرات تعاملی بین تمرینات تداومی کم شدت و کروسین می باشد، همچنین تمرینات تداومی کم شدت با کروسین در مقایسه با تمرینات تناوبی شدید با کروسین اثرات محافظتی بیشتری در بیان ژن AP-1 بافت قلب دارد.

واژه های کلیدی: تمرین تناوبی، تمرین تداومی، کروسین، NF-κB، AP-1

۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد لارستان، دانشگاه آزاد اسلامی، لارستان، ایران

۲ استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران. نویسنده مسئول: sirus.farsi@gmail.com

۳ دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۴ استادیار گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج)، رفسنجان، ایران

مقدمه

شناسایی مکانیسم‌های مولکولی نیم‌رخ حفاظت قلبی در پی فعالیت‌های ورزشی مورد توجه قرار گرفته است. در همین راستا، شواهد نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی با تعدیل مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده میوسیت‌های قلبی مرتبط می‌باشد. آپوپتوز نوعی مرگ سلولی است که موجب از بین رفتن سلول‌های غیر عملکردی و غیرطبیعی و یا آسیب‌دیده و همچنین سلول‌های مضر می‌شود. با این حال هنگامی که آپوپتوز بیش از حد باشد می‌تواند منجر به تغییرات غیرطبیعی در ساختار و عملکرد قلب شود. با توجه به پیشنهاد کالج آمریکایی پزشکی ورزشی (ACSM)^۱ بهترین راه درمان و پیشگیری از آسیب‌های قلبی از طریق فعالیت ورزشی است. مطالعات مختلف نشان داده است که فعالیت‌های ورزشی عملکرد قلبی را در انسان بهبود می‌بخشد و سازگاری با فعالیت‌های هوازی با افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی، افزایش برون ده قلبی و در نهایت با افزایش اندازه توده بطن چپ قلب ارتباط دارد (۱). برخی مطالعات نشان می‌دهند که اجرای فعالیت ورزشی طولانی مدت یا شدید پاسخ استرسی و تغییرات پاتولوژیکی بارزی مثل آپوپتوز را در عضلات قلبی تحریک می‌کند (۲). ورزش منظم به عنوان یک برنامه درمانی اصلی در مداوا و پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی همیشه مطرح بوده و منجر به کاهش عوارض ناشی از این بیماری‌ها می‌گردد. تمرینات منظم هوازی عملکرد میتوکندریایی را با کاهش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن تقویت می‌کند (۳). براساس نتایج مطالعات حیوانی و انسانی، تمرینات ورزشی در بیماران قلبی عروقی می‌تواند فشار اکسایشی را کاهش داده و سیستم ضد اکسایشی را تقویت کند (۴). مطالعات نشان داده‌اند که تمرین تناوبی شدید در مقایسه با تمرین تداومی با شدت متوسط در کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش وضعیت آنتی اکسیدانی در افراد مبتلا به نارسایی قلبی و همچنین پس از انفارکتوس قلبی در موش‌ها موثرتر است. (۵). تمرینات تناوبی شدید نه تنها نسبت به تمرینات تداومی سنتی در بازتوانی قلبی بیماران موثرتر بوده است، بلکه از طرف بیماران قلبی عروقی نیز راحت‌تر مورد پذیرش قرار می‌گیرد و ایمن‌تر و قابل تحمل‌تر از تمرینات تداومی سنتی گزارش شده است (۶). رنجبر و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند ۱۰ هفته تمرینات ورزشی پس از انفارکتوس قلبی به وسیله افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد نقش مهمی را در بازسازی بطن چپ و بهبود عملکرد سیستولیک بطن چپ در موش‌های دارای انفارکتوس قلبی بازی می‌کند (۷).

با وجود اینکه مدارک متقاعد کننده نشان می‌دهند ورزش‌های منظم هوازی اثرات محافظتی بر قلب دارند، لکن انتخاب مدلی که شامل فاکتورهای شدت، مدت، فرکانس و نوع تمرین است و بتوان در شرایط واقعی از آن تقلید کرد، هنوز مورد بحث باقی مانده است. فتاحی بافقی و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی تأثیر تمرین‌های شدید تناوبی و مکمل کورکومین بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بافت قلب موش‌های دیابتی به این نتیجه رسیدند که تمرین تناوبی شدید و مکمل کورکومین هر کدام به تنهایی موجب افزایش قابل توجهی در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شدند، اگر چه این دو مداخله تأثیرهای یکدیگر را تقویت نکردند (۸). کروسین یکی از مهم‌ترین کاروتنوئیدهای زعفران و عامل ایجاد کننده رنگ زعفران بوده و جزء معدود کاروتنوئیدهای محلول در آب موجود در طبیعت است. مشخص شده است کروسین سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین را با تنظیم منفی مسیرهای التهابی و آپوپتیک در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد. ثابت شده

¹ The American College of Sports Medicine

است کروسین باعث کاهش شاخص‌های اکسایشی مالون دی آلدئید و زانتین اکسیداز بافت کلیه ناشی از سمیت استرپتوزوتوسین در رتهای دیابتی می‌شود و فعالیت آنزیم گلوکوتیون را در این رت‌ها افزایش می‌دهد (۹). در کنار سایر عوامل مؤثر سلامت بافت قلب و عروق، مطالعات ژنومی حاکی از تنوع بیش از ۳۲ ژن در این رابطه هست (۱۰). از این میان، پروتئین فعال کننده نوع ۱ (AP-1) یک فاکتور رونویسی که تنظیم بیان ژن در پاسخ به محرک‌های گوناگون، از جمله سیتوکین، فاکتورهای رشد، استرس و عفونت‌های باکتریایی و ویروسی است و مورد دوم، فاکتور رونویسی کاپا B (NF-κB) است که در سال ۱۹۸۶، به عنوان پروتئین متصل شونده به DNA که یک موتیف بسیار مهم را در بخش انترونیک زنجیره سبک ایمونوگلوبین K شناسایی می‌کند، معرفی شد. با وجود مطالعات انجام شده، اثر حفاظتی و همزمان تمرین‌های تناوبی شدید همراه با مکمل کروسین با در نظر گرفتن خواص مستند آنتی‌اکسیدانی آن، به عنوان یک راهبرد کمک درمانی دیدگاه تازه‌ای است که تاکنون مورد توجه پژوهشگران قرار نگرفته است. لذا در این پژوهش بر آن شدیم تا اثر هشت هفته تمرینات تداومی و تناوبی شدید همراه با مصرف کروسین را بر سطوح AP-1 و NF-κB موش‌های صحرایی نر چاق و بیستار مورد بررسی قرار دهیم چرا که می‌تواند راهگشای حل بسیاری از مشکلات با تعمیم نتایج به نمونه‌های انسانی شود.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی بوده است که گروه آزمایش و کنترل انجام گرفته است. در این پژوهش ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد بیستار استفاده گردید که از مرکز تکثیر و خانه حیوانات موش‌های صحرایی دانشگاه آزاد مرودشت خریداری گردیدند.

طرح تحقیق: دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد کنترل و ثبت شد. چرخه روشنایی - تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به طور دقیق توسط تنظیم کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. موش‌ها یک هفته در محیط آزمایشگاه جهت سازگاری با محیط آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از گذشت یک هفته تمامی موش‌های صحرایی به مدت سه ماه تحت رژیم غذایی در دسترس پرچرب قرار گرفتند که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی (مشتق شده از روغن حیوانی) حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم بود (۱۱). پس از ۸ هفته شاخص لی^۱ برای سنجش معیار چاقی استفاده گردید که بر این اساس، موش‌های بالای ۳۱۰ گرم موش چاق به حساب آمدند. در ادامه، موش‌های صحرایی در ۷ گروه ۱: تمرین تناوبی شدید، ۲: تمرین تداومی کم شدت، ۳: مصرف کروسین، ۴: تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف کروسین، ۵: تمرین تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین، ۶: کنترل و ۷: شم قرار گرفتند. در ادامه گروه‌های ۱، ۲، ۴ و ۵ به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته روی نوارگردان دویند. همچنین گروه‌های ۳، ۴ و ۵ به مدت هشت هفته روزانه ۲۵ mg/kg کروسین به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. به منظور تهیه‌ی کروسین، ابتدا پودر آماده شده‌ی کروسین خریداری شد و سپس هر روز، میزان، ۴۹۵ میلی گرم کروسین، با ۱۸ میلی لیتر، سرم فیزیولوژیک ترکیب شد و روزانه به صورت داخل صفاقی به موش‌های صحرایی تزریق می‌شد. روش داخل صافی به این دلیل انتخاب شد که جذب دارو سریعتر و راحتتر می‌باشد. این نکته قابل ذکر است که پس از چاق شدن موش‌های صحرایی رژیم غذایی پرچرب را به اتمام رسانده و رژیم غذایی معمولی را ادامه دادند.

¹ Lee index

الگوی تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین تداومی کم شدت

آزمون عملکرد ورزشی فزاینده با شیب صفر درجه جهت برآورد حداکثر سرعت دویدن اجرا شد. جهت انجام این آزمون و پس از آشناسازی موشها با نوار گردان، ابتدا موشها با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه شروع به دویدن کردند و در ادامه، سرعت نوار گردان به ازای هر ۱ دقیقه، یک متر بر دقیقه افزایش یافت. این روند تا وقتی ادامه داشت که موش‌های صحرایی دیگر قادر به دویدن (واماندگی) بودند. پس از برآورد سرعت، گروه HIIT به مدت ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن تمرین کردند. تمرینات HIIT از ۶ وهله تمرینی شدید در هر جلسه همراه با ۶ وهله سبک یک دقیقه‌ای بین وهله‌های شدید در هفته اول، به ۱۲ وهله تمرینی شدید در هر جلسه در هفته آخر رسید. گروه تمرین تداومی کم شدت نیز با مدت و تکرار مشابه، با شدت ۵۰ تا ۵۵ درصد حداکثر دویدن به تمرین پرداختند. تمرینات تداومی کم شدت به گونه‌ای بود که مدت زمان تمرین در هفته اول از ۱۹ دقیقه شروع و در هفته آخر به ۴۷ دقیقه رسید. این نکته قابل ذکر است که در هر دو گروه تمرینات تداومی کم شدت و HIIT تمامی موش صحرایی (روی نوار گردان ۵ کاناله) به طور همزمان با یک سرعت معین در هر جلسه می‌دویدند. در پایان دوره تحقیق و پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه، تحت جراحی قرار گرفتند.

استخراج و تهیه نمونه بافتی: در پایان دوره آزمایش موش‌های صحرایی نر چاق به روش آسان کشتی (بدون درد و رنج) قربانی شدند و جهت اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق بافت قلب موش‌های صحرایی پس از خروج از بدن موش‌های صحرایی در داخل تانک ازت قرار داده شد و به آزمایشگاه انتقال داده شد. حیوانات به وسیله کتامین و زایلوزین پس از حدود پنج دقیقه بیهوش شدند.

روش اندازه‌گیری متغیرها: استخراج RNA بر اساس دستورالعمل کیت استخراج RNA ساخت شرکت یکتا تجهیز، با استفاده از محلول‌های کیت استخراج و پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده انجام شد. سنتز cDNA طبق دستورالعمل موجود در کیت فرمنتاز (۱۶۲۲) تهیه گردید و جهت انجام RT-PCR مورد استفاده قرار گرفت. بررسی بیان ژنها در بافت قلب موش‌های صحرایی نر ویستار با استفاده از مخلوط PCR، RealQ 2x Master Dye mix Green ساخت AMPLQON دانمارک طبق دستورالعمل کیت و بوسیله دستگاه Real-time PCR انجام شد. پس از پایان کار دستگاه و مشاهده نتایج نمودارهای به دست آمده، افزایش تعداد قطعه مد نظر را با محاسبه $\Delta\Delta Ct$ میزان بیان ژن‌های AP-1 و NF- κ B نسبت به B2m و حالت کنترل سنجیده شد. برای مقایسه میزان بیان ژن در گروه‌های مختلف با استفاده فرمول $\Delta\Delta Ct$ ۲ محاسبه شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده به صورت زیر بود:

شماره ژن	ژن	رفت (3'-5')	برگشت (5'-3')	اندازه
NM_012512	B2m	CGTGCTTGCCATTCA GAAA	ATATACATCGGTCTC GGTGG	۲۴۴
NM_001276711	NF- κ B	ACGCTCTTTGGATGA ATGAGTAC	TGCAAGCTACCAGGA GAAATCAAAC	۲۳۴
NM_012953	AP-1	CCGATACGGGATGAA TGAGTAC	CTACCAGGAGAAATC AAACCCGTAC	۱۵۸

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو - ویلک^۱ و جهت بررسی تفاوت سطوح بین ژنی متغیرهای تحقیق در دو گروه کنترل و شم (شاهد) از آزمون t مستقل بهره گرفته شد. همچنین آزمون تحلیل واریانس دو طرفه جهت بررسی اثر تمرینات تداومی و مصرف کروسین بر سطح بیان ژن استفاده گردید. در ادامه، آزمون مقایسه میانگین بون فرونی جهت مقایسه تفاوت تمرین تداومی کم شدت و تناوبی شدید بر سطح بیان ژن انجام شد. تمام محاسبات آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد و $p < 0.05$ بعنوان سطح معناداری منظور گردید.

یافته‌ها

وزن موش‌های صحرائی در جدول ۱ به صورت زیر آورده شده است. همچنین، سطح بیان ژنی NF- κ B و AP-1 موش‌های مورد تحقیق در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱: وزن پیش آزمون و پس آزمون موش‌های صحرائی چاق گروه‌های ۷ گانه تحقیق

پس آزمون	پیش آزمون	گروه
۳۴۲/۱۲±۴۴/۱۱	۳۶۰/۴۴±۱۳/۱۲	چاق، تمرین تناوبی شدید
۳۵۲/۱۱±۱۷/۱۸	۳۷۸/۱۲±۳۳/۱۸	چاق، تمرین تداومی کم شدت
۳۶۴/۱۲±۱۳/۱۰	۳۴۵/۲۵±۴۴/۰۸	چاق، مصرف کروسین
۳۹۲/۴۱±۴۶/۵۲	۴۱۰/۴۷±۳۰/۸۷	چاق، تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف کروسین
۳۵۴/۲۲±۱۸/۱۲	۳۹۴/۸۸±۲۵/۶۶	چاق، تمرین تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین
۴۰۹/۶۲±۴۵/۱۷	۳۹۰/۵۹±۴۲/۳۳	شم
۴۱۴/۴۸±۲۵/۳۵	۳۵۹/۵۸±۴۵/۳۸	کنترل چاق

جدول ۲: سطح بیان ژن NF- κ B و AP-1 در موش‌های صحرائی نر چاق

AP-1	NF- κ B	تمرین ورزشی
۰/۶۸۵	۰/۹۵۸	چاق، تمرین تناوبی شدید
۰/۲۳۷	۱/۰۱۱	چاق، تمرین تداومی کم شدت
۰/۱۰۹	۰/۳۰۱	چاق، مصرف کروسین
۰/۷۶۷	۰/۵۳۸	چاق، تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف کروسین
۰/۰۴۹	۰/۵۴۱	چاق، تمرین تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین
۱/۰۰۸	۰/۹۶۵	شم
۱	۱	کنترل چاق

¹ Shapiro-Wilk

به منظور بررسی تفاوت سطوح بیان ژنی متغیرهای تحقیق در گروه‌های کنترل و شم، آزمون تی مستقل انجام گردید که نتایج نشان داد تفاوت معنی داری در سطوح NF- κ B ($p=0/78$ و $t=0/16$)، AP-1 ($p=0/94$) و $t=0/07$) در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های کنترل و شم وجود ندارد. مطابق با نتایج جدول ۳، هشت هفته مصرف کروسین اثر معنی داری بر کاهش سطوح بیان ژنی NF- κ B بافت قلب موش‌های صحرایی چاق داشت ($p=0/001$ ، $F=30/50$ و اندازه اثر $0/59$). با این وجود هشت هفته تمرین تداومی اثر معنی داری بر تغییرات سطوح NF- κ B موش‌های صحرایی چاق نداشت ($p=0/41$ ، $F=0/73$ و اندازه اثر $0/16$)، همچنین هشت هفته مصرف کروسین و تمرینات تداومی دارای اثرات تعاملی در کاهش سطوح بیان ژنی NF- κ B در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق نبود ($p=0/19$ ، $F=2/14$ و اندازه اثر $0/07$).

جدول ۳: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه جهت بررسی اثر تمرینات تداومی و مصرف کروسین بر سطوح بیان ژن NF- κ B

اندازه اثر	سطح معنی داری	F	درجه آزادی	مجموع مربعات	گروه
0/59	0/001	30/50	1	23/49	چاق، کروسین
0/016	0/41	0/73	2	0/33	چاق، تمرین تداومی
0/07	0/19	2/14	2	0/81	چاق، کروسین و تمرین تداومی

نتایج آزمون آنالیز واریانس دو طرفه در جدول ۴ نشان می‌دهد که هشت هفته مصرف کروسین ($p=0/001$ ، $F=109/60$ و اندازه اثر $0/84$) اثر معنی داری بر کاهش سطوح بیان ژن AP-1 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق داشته، همچنین هشت هفته تمرینات تداومی و مصرف کروسین دارای اثرات تعاملی در کاهش سطح بیان ژنی AP-1 بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق می‌باشند ($p=0/001$ ، $F=39/01$ و اندازه اثر $0/42$). همچنین، نتایج آزمون مقایسه میانگین بون فرونی جهت مقایسه تفاوت تمرین تداومی کم شدت و تناوبی شدید بر سطوح AP-1 در جدول ۵ آورده شده است.

جدول ۴: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه جهت بررسی اثر تمرینات تداومی و مصرف کروسین بر سطوح بیان ژن AP-1

اندازه اثر	سطح معنی داری	F	درجه آزادی	مجموع مربعات	گروه
0/84	0/001	109/60	1	36/09	چاق، کروسین
0/29	0/001	16/24	2	14/25	چاق، تمرین تداومی
0/42	0/001	39/01	2	16/39	چاق، کروسین و تمرین تداومی

نتایج آزمون مقایسه زوجی بون فرونی نشان داد تمرین تداومی کم شدت در مقایسه با عدم تمرین اثر معنی داری بر کاهش سطوح بیان ژنی AP-1 بافت قلب موش‌های نر صحرایی چاق دارد ($p=0/001$ و $M=1/36$). با این وجود هشت هفته تمرین تناوبی شدید در مقایسه با عدم تمرین اثر معنی داری بر کاهش سطوح بیان ژنی AP-1

بافت قلب موش‌های نر صحرایی چاق ندارد ($p=0/57$ و $M=0/42$). همچنین هشت هفته تمرین تداومی کم شدت در مقایسه با تمرین تناوبی شدید اثر معنی داری بر کاهش بیان ژنی AP-1 بافت قلب موش‌های نر صحرایی چاق دارد ($p=0/01$ و $M=-1/94$).

بحث و بررسی

تنظیم در سیستم‌های بیولوژیک و فیزیولوژیک در بسیاری از موارد رفتارهای پیچیده از خود بروز می‌دهد و از مکانیسم‌هایی با تعامل بین اجزا و فیدبک‌های منفی و مثبت تشکیل می‌شود. برای مثال تنظیم پیچیده در عملکرد قلبی و عروقی به منظور ایجاد و حفظ جریان خون در تمام بدن و همچنین در خود عضله قلبی مشاهده می‌شود (۱۲). بنابراین سیستم قلبی و عروقی برای حفظ عملکرد طبیعی خود در پاسخ به محرک‌های درونی و بیرونی به طور دائم نیازمند تعامل و ارتباط متقابل بین اجزای درونی خود سیستم قلبی-عروقی و عوامل بیرونی مانند بیماری‌های مختلف، سبک زندگی، رژیم غذایی، هورمون‌ها، داروها، فعالیت‌های فیزیکی و ورزش می‌باشد (۱۳ و ۱۴). هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات تداومی کم شدت و تناوبی شدید همراه با مصرف کروستین بر میزان بیان ژن AP-1 و NF-κB بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق نژاد ویستار بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته مصرف کروستین اثر معنی داری بر کاهش میزان بیان ژن‌های AP-1 و NF-κB موش‌های صحرایی نر چاق نژاد ویستار دارد. ژن AP-1 نیز با توابع فیزیولوژیکی متعددی به ویژه در تعیین طول عمر موجودات زنده و بازسازی بافت‌های همراه است. تمایز سلولی رونویسی AP-1 عمیقاً در مدولاسیون بیان ژن درگیر است. تغییر در بیان ژن سلولی در شروع سنتز DNA و تشکیل مشتقات متفاوت می‌تواند به تمایز سلولی منجر شود. عامل رونویسی AP-1 با طیف گسترده‌ای از فعل و انفعالات مربوط به آپوپتوز در ارتباط است (۱۵). فاکتور رونویسی کاپا B (NF-κB) در سال ۱۹۸۶، به عنوان پروتئین متصل شونده به DNA که یک موتیف بسیار مهم را در بخش انتروونیک زنجیره سبک ایمونوگلوبین K شناسایی می‌کند، معرفی شد (۱۶).

این فاکتورهای رونویسی در فعالیت‌های متنوع سلولی دخیل بوده و در اعمال بیولوژیک متفاوتی دارای نقش حائز اهمیتی است. فعالیت نامناسب NF-κB یکی از مکانیسم‌های برخی از بیماری‌هاست به ویژه آن‌هایی که با التهاب یا آپوپتوز همراه هستند. کروستین از اجزای تشکیل دهنده زعفران و یکی از محدود کاروتنوئیدهای محلول در آب است و خواصی همچون محافظت از قلب و عروق، سیستم عصبی و ضد سرطانی برای آن شناخته شده است (۱۷). در تحقیقات انجام شده مشخص شده است که کروستین به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود قادر است که سلول‌های عضلانی قلب موش‌های صحرایی را در برابر آسیب هیپوکسی محافظت کند (۱۸). همچنین نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هشت هفته تمرینات تداومی کم شدت اثر معنی داری بر کاهش بیان AP-1 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق دارند، با این وجود اثر تمرینات تداومی کم شدت بیشتر از تناوبی شدید بود. همچنین تمرینات تداومی کم شدت اثر معناداری بر کاهش NF-κB بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق ندارد. در تحقیقی به بررسی تعیین اثر ۶ هفته تمرین هوازی بر بیان NF-κB بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان پرداختند. حجم تومور و بیان ژن‌های NF-κB در گروه تومور - تمرین نسبت به گروه تومور - کنترل کاهش یافت (۱۹). تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت ۷۵٪ یک تکرار بیشینه را بر سطوح سرمی TNF-α، MDA، TAC، NF-κB در زنان بررسی کردند. پژوهش آنها نشان داد این تمرینات باعث افزایش

سطوح TAC و NF-κB گردیده که بیانگر بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. به نظر می‌رسد ورزش مقاومتی منجر به تقویت دستگاه ضداکسایشی می‌شود هر چند این تغییرات در آزمودنی‌های جوان بیشتر است (۲۰). هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرینات تداومی کم شدت و تناوبی شدید همراه با مصرف کروسین بر میزان بیان ژن AP-1 و NF-κB موش‌های صحرایی نر چاق نژاد ویستار بود. نتایج نشان داد هشت هفته تمرینات تداومی کم شدت و مصرف کروسین دارای اثرات تعاملی در کاهش سطوح بیان ژنی AP-1 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق نژاد ویستار می‌باشد ولی تمرین تداومی کم شدت و مصرف کروسین در کاهش سطوح بیان ژنی NF-κB در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق معنی دار نبود. هشت هفته مصرف کروسین به تنهایی اثر معنی داری بر کاهش سطوح بیان ژنی NF-κB و AP-1 موش‌های صحرایی نر چاق دارد. نتایج همچنین نشان داد هشت هفته تمرینات تداومی کم شدت اثر معنی داری بر کاهش بیان AP-1 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق دارد. اما تمرینات تداومی کم شدت تاثیری بر کاهش بیان ژن NF-κB بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق ندارد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق در مدت زمان هشت هفته تمرینات تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین باعث کاهش معنادار میزان بیان ژن AP-1 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق نژاد ویستار شد. با توجه به نتایج کاهش معنادار میزان بیان ژن AP-1 می‌تواند به دلیل اثرات تعاملی بین تمرینات تداومی کم شدت و کروسین باشد. از طرفی این اثر تعاملی بین تمرین تداومی کم شدت و مصرف کروسین در مدت زمان هشت هفته در کاهش میزان بیان ژن NF-κB در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق ویستار مشاهده نشد. همچنین به نظر می‌رسد که تمرینات تداومی کم شدت در مقایسه با تمرینات تناوبی شدید اثرات محافظتی بیشتری به واسطه کاهش بیان ژن AP-1 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر چاق ویستار داشته باشد. از اینرو به نظر می‌رسد ورزش‌های تداومی و احتمالاً پیوسته نسبت به ورزش‌های با شدت زیاد اثرات محافظتی بهتری بر روی سلامت و عملکرد سیستم قلبی عروقی خواهد داشت.

منابع

1. Shafer, K., Janssen, L., Carrick- Ranson, G., Rahmani, S., Palmer, D., Fujimoto, N., Brickner, B. J. T. J. o. P. Cardiovascular response to exercise training in the systemic right ventricle of adults with transposition of the great arteries.2015. 593(11):2447-2458.
2. Babuin, L., & Jaffe, A. S. J. C. (2005). Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. 2005. 173(10): 1191-1202..
3. Bezzerides, V., & Rosenzweig, A. Saying yes to exercise and NO to cardiac injury. In: Am Heart Assoc.2011.7(11): 1414-1416
4. Bowen, T. S., Eisenkolb, S., Drobner, J., Fischer, T., Werner, S., Linke, A., . . . Adams, V. J. T. F. J.. High- intensity interval training prevents oxidantmediated diaphragm muscle weakness in hypertensive mice.2017. 31(1): 60-71.
5. Lu, K., Wang, L., Wang, C., Yang, Y., Hu, D., & Ding, R. J. M. m. r. Effects of high intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model.2015. 12(2): 2374-2382.
6. ZARE, K. S., KASHEF, M., GAEINI, A. A., & NEJATIAN, M. The comparison of two protocol of interval and continues aerobic training on level of concentric pathologic hypertrophy and cardiac function in patients after coronary artery bypass grafting surgery. 2017.1(4):9-20
7. Ranjbar, K., Nazem, F., & Nazari, A. J. C. t. Effect of exercise training and L-arginine on oxidative stress and left ventricular function in the post-ischemic failing rat heart. 2016.16(2): 122-129.
8. Fattahi Bafghi, A., Homae, H. M., Azarbayjani, M. A. J. I. J. o. D., & Obesity. Effects of high intensity interval training and curcumin supplement on antioxidant enzyme in heart tissue of diabetic rats.2016. 8(3): 135-141
9. Elsherbiny, N. M., Salama, M. F., Said, E., El-Sherbiny, M., & Al-Gayyar, M. M. J. C.-b. i.. Crocin protects against doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats through down-regulation of inflammatory and apoptic pathways.2016. 247: 39-48.
10. Speliotes, E. K., Willer, C. J., Berndt, S. I., Monda, K. L., Thorleifsson, G., Jackson, A. U., . . . Randall, J. C. J. N. g. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index.2010. 42(11):937-948.
11. Khalafi, M., Shabkhiz, F., Azali Alamdari, K., & Bakhtiyari, A. J. J. o. A. U. o. M. S. irisin response to two types of exercise training in type 2 diabetic male rats.2016. 19(6), 37-45.
12. Azadbakht, MK., Mazloom, R., Shahabi, Sh., Mani, AR. Effect of endotoxemia on heart rate dynamics in rat isolated perfused hearts. *Physiology and Pharmacology*. 2013. 17(1): 15-26.
13. Azadbakht, MK., Hassanshahi, J., Nematbakhsh, M. The Role of Angiotensin II Infusion on the Baroreflex Sensitivity and Renal Function in Intact and Bilateral Renal Denervation Rats. *Adv Biomed Res*. 2018 Mar 27;7:52.
14. Azadbakht, MK., Nematbakhsh, M. Angiotensin 1-7 administration alters baroreflex sensitivity and renal function in sympathectomized rats. *J Nephropathol*. 2018;7(2): 79-82.
15. Razavi, M., Imenshahidi, M., Abnoos, K., & Hosseinzadeh, H.. A review of the cardiovascular effects of saffron and its active ingredients.2013. 1(2):6

16. parvizpour, F., ghazanfari, T., salimi, H., faghihzadeh, S., yaraee, R., sharifnia, Z., naghizadeh, M. M. NFκB gene expression survey in peripheral blood cell of Sardasht warfare agent victims 20 years after exposure to sulfur mustard. *J Iranian Journal of War and Public Health*.2011. 3(4):38-47.
17. Bathaie, S. Z., Mousavi, S. Z. J. C. r. i. f. s., & nutrition. (. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients.2010. 50(8):761-786.
18. Zhang, R., Zhi-Yu, Q., Xiao-Yuan, H., Zhen, C., Jun-Ling, Y., & Hamid, A. J. C. J. o. N. M. Comparison of the effects of crocetin and crocin on myocardial injury in rats. 2009. 7(3): 223-227.
19. Kordi, M. R.. The effects of aerobic training on NF-κB, Lin28B and let-7a microRNA expressions and levels of tumor tissue IL-6 in mice with breast cancer%*J Sport Physiology*.2015. 7(27): 119-134.
20. Alikhani, S., & sheikholeslami Vatani, D.. Effects of 12 weeks of resistance training on oxidation indices and antioxidant capacity of plasma of old and young women. *University of Kurdistan - Faculty of Literature and Humanities*, 2017. 23(4) :279-283.

The effect of continuous and interval exercise with Crocin on the expression of AP-1 and NF- κ B gene in the heart tissue of obese male Wistar rats

Zahra Kouhpayeh¹, Sirous Farsi^{2*}, Seyed Ali Hosseini², Iman Fathi³.

1 Department of Exercise Physiology, Larestan Branch, Islamic Azad University, Larestan, Iran

2 Department Exercise Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

3 Department of Sport Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran

* **Corresponding author:** sirus.farsi@gmail.com

Abstract

Background and Purpose: Regular exercise and physical activity not only improve the health but also can prevent many diseases. Regular exercise can somehow modulate gene expression. The aim of the present study was to evaluate the effect of low continuous and high interval intensity exercise with crocin treatment on the expression of AP-1 and NF- κ B gene in the heart tissue of obese male Wistar rats.

Methodology: In this study, 42 obese male Wistar rats were randomly divided to 7 groups: high-intensity interval exercise, low-intensity continuous exercise, high-intensity interval exercise with Crocin, low-intensity continuous exercise with Crocin, Crocin, sham and control. Crocin was injected intraperitoneally (25mg/kg). Two-way analysis of variance and t-test were used to analyze data ($p < 0.05$).

Results: The results showed that Crocin significantly reduced NF- κ B and AP-1 gene expression levels (respectively 0.301, 0.109) compared to the obese control group ($p = 0/001$). Continuous exercise with Crocin significantly reduced AP-1 gene expression level (0.049) compared to the obese control group ($p = 0/001$). The results also showed that the continuous exercise and Crocin had no significant effect on NF- κ B gene expression level.

Conclusion: Continuous exercise and Crocin decreased AP-1 gene expression in the heart tissue of obese male rats. According to the results, it seems that the significant decrease in the expression of AP-1 gene is due to the interactive effects between low-intensity continuous exercise and Crocin consumption. Also, low-intensity continuous exercise has more protective effects on the expression of AP-1 gene in heart tissue compared to high-intensity interval exercise.

Key words: Continuous Exercise, Interval Exercise, Crocin, NF- κ B, AP-1