JME
https://jme.guilan.ac.ir/
https://doi.org/10.22124/jme.2023.23954.252

دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی
سال سیزدهم، جلد سیزدهم، شماره ۱

مقاله پژوهشی

Open Access

اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف کوتاه‌مدت عصاره زعفران بر برخی پروتئین‌های آپوپتوزی و ضد آپوپتوزی بافت قلب موش‌های صحرایی جوان تمرین کرده متعاقب یک وهله فعالیت هوازی وامانده‌ساز

امیر خسروی*[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۲ تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۶/۰۱

چکیده

هدف: تمرینات هوازی و زعفران بر آپوپتوز ناشی از فعالیت‌های ورزشی وامانده ساز تاثیر کاهنده‌ای دارند. تحقیق حاضر به‌منظور تعیین اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف کوتاه‌مدت عصاره زعفران بر برخی پروتئین‌های آپوپتوزی و ضد آپوپتوزی بافت قلب موش‌های صحرایی جوان تمرین کرده متعاقب یک وهله فعالیت هوازی وامانده ساز انجام شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۴۸ سر رت جوان نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به چهار گروه مساوی: کنترل (C)، عصاره زعفران (SE)، تمرین هوازی (AT)، و تمرین هوازی + عصاره زعفران (AT+SE) تقسیم شدند. تمرین هوازی به مدت ۸ هفته (۲۵-۲۰ متر در دقیقه ،۶۰-۲۵ دقیقه در روز ،پنج جلسه در هفته) انجام شد. عصاره زعفران روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی (گاواژ) استفاده شد. در پایان تحقیق نیمی از موش‌ها بلافاصله پیش و نیمی دیگر بلافاصله پس از فعالیت وامانده ساز بر روی نوار گردان، قربانی شدند. میزان پروتئین‌های Bcl-2و BAX بافت قلب با استفاده از روش ELISA سنجیده شدند. داده‌ها با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس یک و دوراهه، در سطح معناداری ۰/۰۵ تجزیه‌وتحلیل شدند.

یافته‌ها: متعاقب وامانده‌سازی پروتئین‌های Bax و Bcl-2 بافت قلب تمامی گروه‌ها به‌جز گروه AT+SE به ترتیب به‌طور معنی‌داری افزایش و کاهش نشان داد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران، هرکدام به‌تنهایی و یا توام با همدیگر موجب تعدیل برخی عوامل مؤثر بر آپوپتوز بافت قلبی موش‌های صحرایی نر جوان متعاقب فعالیت هوازی وامانده ساز می‌شوند .

واژه‌های کلیدی: فعالیت ورزشی وامانده ساز، عصاره زعفران ،Bax ، Bcl-2.

۱. عضو هیئت‌علمی دانشگاه.
* نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: stu_khosravi1@yahoo.com

Publisher: University oF Guilan Copyright © The Authors

مقدمه

فعالیت‌های بدنی منظم نقش چشمگیری در جلوگیری از ابتلا افراد به انواع بیماری‌های قلبی-عروقی دارند (۱). بااین‌وجود، فعالیت‌های بدنی با شدت بالا و وامانده ساز، به‌ویژه در مواقعی که در مدت و یا شدت غیرمتعارف انجام شوند، اثرات نامطلوبی بر قلب ازجمله افزایش خطر آسیب به عملکرد بطن، سکته، ایست قلبی و افزایش ۴ تا ۵۶ برابری خطر وقوع حملات قلبی منجر به مرگ و غیر آن در مقایسه با وضعیت استراحت دارند (۲)، به‌طوری‌که در ایالات‌متحده سالانه حدود۷۵۰۰۰ مورد حمله قلبی بلافاصله پس از ورزش گزارش شده که ۲۵۰۰۰ مورد آن‌ها به مرگ منتهی می‌شود (۳). در خلال فعالیت‌های بدنی با شدت بالا سلول‌های عضلانی قلب به دلیل افزایش جریان خون قلب (بیش از ۴ برابر وضعیت استراحت)، افزایش استخراج اکسیژن سلول‌های قلبی از مویرگ‌ها، هایپوکسی، کاهش منابع گلیکوژن، تغییرات درجه حرارت و pH و در انتها برهم خوردن هومئوستاز[1] یون کلسیم سلول‌های قلبی مستعد آسیب می‌باشند (۴).

یکی از عوامل اصلی آسیب به سلول‌های قلبی در حین فعالیت‌های ورزشی وامانده ساز آپوپتوز سلول‌های قلبی می‌باشد. آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول، روشی فیزیولوژیک برای از بین بردن سلول‌های آسیب‌دیده یا پیر و هموستاز بافتی می‌باشد که به‌طورکلی از دو مسیر خارجی و داخلی سلول را تحت تأثیر قرار داده و از بین می‌برد. در مسیر خارجی پیام‌های مرگ نظیر IL-1β[2]، TNF-α[3]، FasL[4] به گیرنده‌های مرگ غشای سلول، TNFR2،TNFR1، Fas TRAIL متصل می‌شوند و موجب

1. Hemostasis
2. Interleukin 1 beta
3. Tumor necrosis factor alpha
4. Fas ligand

فعال‌سازی کاسپاز ۸[1] و درنهایت آپوپتوز سلولی می‌گردند (۵) در مسیر داخلی، میتوکندری و رتیکلوم اندوپلاسمیک محوریت فرایند را دارند که تحت تأثیر عوامل استرسی مثل گلوکوکورتیکوئیدها، سیتوکین‌ها، اکسید نیتریک و گونه‌های اکسیژن فعال[2] با فعال کردن کاسپازها، آپوپتوز را القا می‌کنند (۵). مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی سلول را به‌سوی مرگ برنامه‌ریزی‌شده یا آپوپتوز می‌برند که در این فرآیند پروتئین‌های ویژه‌ای به‌عنوان فاکتورهای آپوپتوزی نقش دارند (۵). این پروتئین‌ها عاملی هستند که درنهایت ترکیبات کلیدی سلول همچون پروتئین‌های ساختاری اسکلت سلولی و پروتئین‌های هسته‌ای را تخریب می‌کنند. پروتئین‌های خانواده Bcl2 مهم‌ترین این نوع پروتئین‌ها در تنظیم آپوپتوزیس هستند که به دو نوع پروتئین‌های جداگانه ضد آپوپتوزی (Bcl2-Bcl-XL) و پیش آپوپتوزی (Bax, Bid)تقسیم می‌شوند (۵). حساسیت سلول به آپوپتوز به تعادل و نسبت فاکتورهای پیش آپوپتوزی و ضد آپوپتوزی بستگی دارد و در حقیقت نسبت متوسط این پروتئین‌ها سرنوشت سلول را تعیین می‌کند. عنوان‌شده است که فعالیت ورزشی حاد می‌تواند از طریق تغییر و تعدیل فاکتورهای مختلف موجب تغییر روند آپوپتوزیس گردد (۶، ۷). به‌عنوان‌مثال افزایش سطوح گلوکوکورتیکوئیدها، سایتوکاین‌ها، فاکتور نکروز توموری (TNF،-α) اکسید نیتریک و ROS ناشی از ورزش حاد می‌توانند مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول را القا کند و از طرفی افزایش کنترل نشده سطوح کلسیم داخل سلولی یا تغییرات نفوذپذیری میتوکندری، تحت تأثیر فاکتورهای مهمی مثل Bax و p53 آپوپتوز را ایجاد کنند. در تحقیقات

1. Cysteine-dependent aspartate-directed protease 8

2. Reactive oxygen (species)

 Copyright © The Authors

مختلفی ثابت‌شده که تمرینات بدنی وامانده ساز منجر به آپوپتوز سلول‌های قلبی می‌شوند (۶، ۷). با توجه به نقش کلیدی گونه‌های اکسیژنی فعال و واکنش‌های التهابی در فرآیند آپوپتوز استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌تواند راه‌کار مؤثری جهت کاهش اثرات منفی آپوپتوز سلول‌های قلب باشد. اخیراً مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی با منشأ گیاهان دارویی موردتوجه محققین قرار گرفته استفاده است (۶).

یکی از گیاهانی که دارای مصارف فراوانی در طب سنتی، طبخ غذا، صنایع غذایی و دارویی در دنیا، به دلیل ترکیبات مفید، رنگ، طعم و روش مصرف آسان است زعفران[1] می‌باشد. این گیاه منبعی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ازجمله فلاونوئیدها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، آمینواسیدها، مینرآل‌ها، صمغ‌ها و همچنین کاروتنوییدهای مثل سافرنال، کروستین و کروسین می‌باشد (۸). با توجه به ترکیبات این گیاه اثرات شناخته شده‌ای در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی، اثرات ضد درد، ضدالتهاب و ایسکمی در عضلات، کلیه‌ها، قلب، مغز و سایر بافت‌ها دارد (۹). در خصوص اثر زعفران و یا ترکیبات مؤثره آن بر آپوپتوزیس سلول‌های عضلانی قلب مطالعات بسیار محدودی انجام‌شده است. الشربینی و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیق عنوان کردند مصرف روزانه ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کروسین به مدت ۲۱ روز از آپوپتوز و استرس اکسیداتیو ناشی از دوکسی روبیسین را در سلول‌های قلبی از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضدالتهاب کاهش داد (۱۰). رضوی و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر زعفران و مواد مؤثره آن بر روی آپوپتوز بافت قلب مشخص‌شده است که مصرف ۴ هفته‌ای کروسین به‌صورت

1. Crocus satious L

۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز از راه داخل صفاقی سبب محافظت قلب رت در برابر آپوپتوز ایجادشده با دیازینون از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپید غشای بافت قلب، افزایش میزان گلوتاتیون، افزایش نسبت Bcl2/Bax شد (۱۱).

مطالعات اندک انجام‌شده در زمینه اثرات محافظتی مصرف عصاره زعفران بر آپوپتوز سلول‌های عضلانی قلب در شرایط القاء آپوپتوز با مواد شیمیایی انجام‌شده است، درحالی‌که مکانیسم‌های که ورزش‌های وامانده ساز منجر به آپوپتوز به سلول‌های مختلف ازجمله سلول‌های قلبی شده و منجر به آپوپتوز سلولی می‌شوند بسیار متنوع و متفاوت‌تر از این روش می‌باشند. با توجه به اینکه انجام فعالیت ورزشی با شدت بالا برای اغلب ورزشکاران در راستای رعایت اصل اضافه‌بار تمرینی و سازگاری‌های فیزیویوژیکی امری اجتناب‌ناپذیر است، و از سویی خطرات شناخته شده تمرینات بر سلول‌های مختلف ازجمله سلول‌های قلبی، ورزشکاران را مجبور به استفاده از مکمل‌های دارویی جهت کاهش عوارض ناشی از آپوپتوز سلولی کرده است. لذا با توجه به عوارض نامطلوب مصرف داروهای صناعی، معرفی مکمل‌های گیاهی شناخته شده برای عموم مثل زعفران، که دارای رنگ، طعم، بو، قابلیت استفاده در روش‌های مختلف، در دسترس، اثرات مثبت اثبات‌شده ضد آپوپتوزی، بدون عوارض جانبی در دزهای مجاز، برای کاهش اثرات مخرب ناشی از تمرینات وامانده ساز بر آپوپتوز سلولی، بسیار مفید و ضروری می‌باشد (۱۲). بنابراین معرفی زعفران برای کاهش اثرات مخرب تمرینات وامانده ساز برای ارائه به افراد درگیر در این‌گونه تمرینات می‌تواند در جلوگیری از بروز صدمات احتمالی ناشی از آپوپتوز سلولی و پیامدهای نامطلوب این‌گونه تمرینات به حفظ و ارتقای سلامتی افراد درگیر در

Copyright © The Authors

این‌گونه تمرینات، و احتمالاً جلوگیری و یا کاهش هزینه‌های درمانی احتمالاً مفید می‌باشد. همچنین افزایش دانش در زمینه اثر فعالیت ورزشی حاد شدید بر آپوپتوزیس بافت قلب و نقش مکمل زعفران بر آن به نظر مهم می‌رسد. لذا، به‌منظور پاسخ به ابهامات موجود، به بررسی اثر تعاملی هشت هفته تمرین هوازی و مصرف هم‌زمان عصاره آبی کلاله زعفران بر آپوپتوز سلول‌های قلبی موش‌های صحرایی نر متعاقب یک وهله فعالیت وامانده ساز هوازی پرداخته شد.

روش پژوهش

پژوهش حاضر، به روش مطالعه‌ی تجربی بر روی ۶۰ سر موش صحرایی نر هشت‌هفته‌ای با وزن تقریبی ۲۴۰ -۲۰۰ انجام شد. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی‌داری پنج درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵ درصد (خطای نوع دوم) و با استفاده از نسخه ۱۸/۲/۱ نرم‌افزار Medcalc (دوازده موش در هر گروه) تعیین شد. موش‌ها از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی لرستان تهیه شد. برای نگهداری موش‌های صحرایی از قفس‌های جنس پلی کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو استفاده شد. برای جذب ادرار و مدفوع حیوانات و راحتی آن‌ها از تراشه و بریده‌های چوب استریل استفاده شد. یک روز در میان شستشوی قفس‌ها انجام شد و تراشه‌های چوب نیز تعویض گردید. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد کنترل و ثبت شد. چرخه روشنایی تاریکی نیز هر ۱۲ساعت یک‌بار به‌طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. طی دوره پژوهش، موش‌ها به آب و غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی دسترسی آزادانه داشتند. یک هفته پس از انتقال موش‌ها به محیط آزمایشگاهی موش‌ها غربالگری شدند

و ۴۸ سر موش صحرایی با وزن تقریبی ۸±۲۱۲ گرم موش‌های که معیارهای ورود به تحقیق را که شامل: توانایی دویدن با سرعت ۱۶/۶ متر بر دقیقه و به مدت ۵ دقیقه بر روی تردمیل (تردمیل ۱۲ کاناله TURBO T310 ساخت کره) نر بودن ، سلامت کامل (از لحاظ آسیب‌دیدگی ظاهری و مشکل آناتومیکی) و عدم استفاده در تحقیقات گذشته بود انتخاب شدند .همچنین معیار خروج از مطالعه آسیب‌دیدگی و یا مرگ در خلال دوره تحقیق، عدم توانایی در اجرای کامل پروتکل تمرینی و عدم تحمل لوله گاواژ به دلیل مشکلات آناتومیکی و جنس مؤنث بود. تمامی موش‌ها پس از همسان‌سازی در وزن به‌صورت تصادفی به ۴ گروه (هر گروه ۱۲ سر موش) C : گروه کنترل (بدون تمرین+ ۲ میلی‌لیتر آب مقطر)، SE: گروه عصاره (بدون تمرین+ ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره آبی زعفران + ۲ میلی‌لیتر آب مقطر)، AT: گروه تمرین (۸ هفته تمرین استقامتی + ۲ میلی‌لیتر آب مقطر)، و AT+SE: گروه ترکیبی، تمرین + عصاره (۸ هفته تمرین استقامتی + ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره زعفران + ۲ میلی‌لیتر آب مقطر) تقسیم شدند.

گروه‌های AT و AT+SE به مدت هشت هفته، پنج جلسه تمرین در هفته (روزهای پنج‌شنبه و جمعه تمرین انجام نمی‌شد)، بر روی نوارگردان (شیب صفر درجه) دویدند. در جدول شمارۀ ۱، جزئیات پروتکل تمرینی ارائه شده است. در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرین موش‌ها جهت گرم و سرد کردن در هر مرحله به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۶/۶۶ متر بر دقیقه می‌دویدند (۱۲). همچنین موش‌های گروه‌های C و SE هم‌زمان با برنامه تمرینی هفته هشتم دو گروه دیگر (یک هفته پیش از وامانده شدن) به مدت ۱ هفته، ۵ روز متوالی هفته و هرروز یک جلسه (بین ۵ تا ۱۵ دقیقه) با سرعت ۱۶/۶ تا ۲۰ متر بر دقیقه بر روی تردمیل با شیب صفر درصد دویدند (۱۲). در

 Copyright © The Authors

انتهای هفته هشتم تحقیق متعاقب ۷۲ ساعت استراحت پس از آخرین جلسه تمرین نیمی از موش‌های هر چهار گروه (هر گروه ۶ سر و درمجموع ۲۴ سر موش) به‌طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی جراحی شدند و نیم دیگر باقی‌مانده از موش‌های تمامی گروه‌ها وامانده شده (هر گروه ۶ سر و درمجموع۲۴ سر موش) و بلافاصله بی‌هوش سپس جراحی شدند. وامانده‌سازی بدین شکل بود که ابتدا موش‌ها به مدت ۳ تا ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه بر روی تردمیل دویدند، سپس سرعت نوار گردان در هر دقیقه ۲ متر (بر دقیقه) افزایش یافت تا سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه رسید. در این مرحله موش‌ها به مدت ۵ دقیقه دویده و سپس سرعت نوار گردان به ۲۵ متر در دقیقه افزایش یافت. در این مرحله نیز به مدت ۱۰ دقیقه دویدند در انتها سرعت نوار گردان به ۳۰ متر در دقیقه افزایش یافت و این سرعت تا زمان رسیدن رت‌ها به واماندگی حفظ شد. این پروتکل فزاینده وامانده ساز با توجه به هزینه انرژی طراحی‌شده و شدت آن در زمان واماده شدن تقریباً ۷۰ تا ۹۴ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۱۲). زمانی که موش‌ها در هر مرحله از وامانده‌سازی سه بار به شوک الکتریکی تعبیه‌شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی‌دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی می‌ماندند وامانده محسوب شده و بلافاصله بی‌هوش شده سپس جراحی می‌شدند (۱۲).

نحوه تهیه و خوراندن عصاره آبی زعفران بدین شکل بود که کلاله خشک زعفران[1] خوراکی معروف به زعفران پوشالی قائنات تهیه شد. سپس برای آماده کردن عصاره آبی زعفران از روش خیساندن[2] استفاده شد. به‌این‌ترتیب که پس از ریختن کلاله خشک‌شده زعفران در داخل ظرف شیشه‌ای استوانه‌ای (بشر) به ازای

1. Crocus sativus L

2. Maceration method

هر ۱ گرم کلاله زعفران ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ظروف اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر روی دستگاه چرخاننده به‌آرامی مخلوط گردیده تا استخراج به‌خوبی صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا تا عصاره اولیه به دست آید. عصارهٔ اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلأ گردیده و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حلال آن‌ها به‌آرامی تبخیر گردید و عصاره تغلیظ شده به دست آمد. محلول حاصل به مدت دو هفته در دستگاه بن‌ماری با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا حلال عصاره نیز به‌آرامی تبخیر شده و پودر عصاره به‌جا بماند (۱۳). پودر عصاره‌ها تا زمان استفاده در فریزر و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. موش‌های گروه عصاره و گروه ترکیبی تمرین + عصاره زعفران را به میزان ۱۰۰میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲ میلی‌لیتر آب مقطر حل‌شده، روزانه یک وهله رأس ساعت ۸ صبح و ۷ روز هفته به مدت ۸ هفته از طریق گاواژ دریافت کردند. هم‌زمان به موش‌های گروه دارونما و گروه تمرین نیز روزانه به همان میزان ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به‌عنوان حلال عصاره زعفران گاواژ شد (۱۳). در انتهای پروتکل هشت‌هفته‌ای پژوهش وزن حیوانات از طریق ترازوی دیجیتالی ۰/۰۱ (ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری شد. بدین شکل که وزن همه موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت قبل از جراحی از طریق این نوع ترازو اندازه‌گیری و ثبت شد.

Publisher: University oF Guilan Copyright © The Authors

جدول ۱. برنامه تمرینی گروه های مختلف در طی دوره ۸ هفته ای

گروه		تعداد جلسات تمرین در هفته	مدت هر جلسه تمرین بر حسب دقیقه	سرعت بر حسب متر بر دقیقه
گروه های C وSE	یک هفته آشنایی با دویدن بر روی تردمیل همزمان با هفته هشتم گروه های C وSE	۵ جلسه	۵ تا ۲۵	۱۶/۶ تا ۲۰
گروه های AT و AT+SE	هفته اول	۵ جلسه	۲۵	۲۰
	هفته دوم	۵ جلسه	۳۰	۲۰
	هفته سوم	۵ جلسه	۳۵	۲۱/۶۶
	هفته چهارم	۵ جلسه	۴۰	۲۱/۶۶
	هفته پنجم	۵ جلسه	۴۵	۲۳/۳۲
	هفته ششم	۵ جلسه	۵۰	۲۳/۳۲
	هفته هفتم	۵ جلسه	۵۵	۲۴/۹۸
	هفته هشتم	۵ جلسه	۶۰	۲۴/۹۸

جراحی و استخراج نمونه‌ها

جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین Bcl-2 و Bax تمامی موش‌ها در دو مرحله جراحی شدند. مرحله اول (بلافاصله پیش از وامانده‌سازی) ؛ در انتهای ۸ هفته تمرین متعاقب ۷۲ ساعت عدم فعالیت ورزشی نیمی از تمامی موش‌ها (هر گروه ۶ سر و درمجموع۲۴ سر موش) مرحله دوم؛ در انتهای ۸ هفته تمرین متعاقب ۷۲ ساعت عدم فعالیت ورزشی نیم باقی‌مانده دیگر پس از وامانده‌سازی با داروی دی اتیل اتر بی‌هوش شدند (بیهوشی با استفاده از محفظه شیشه‌ای درب دار محتوی پنبه آغشته به دی اتیل اتر انجام شد که پس از گذشت ۵-۳ دقیقه حیوان در بیهوشی مناسب قرار می‌گرفت). سپس توسط متخصصین کارآزموده ناحیه قفسه سینه شکافته و قلب از بدن حیوان با دقت جدا شد و بلافاصله پس از جداسازی و شستوشو با محلول سالین فوراً در تیوب‌ها قرار داده شد و به نیتروژن مایع انتقال داده شد و سپس در یخچال ۸۰ -درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد.

لیز کردن بافت‌ها

ابتدا نمونه‌ها از فریزر خارج و به روی یخ منتقل شد . ۲۰۰ میکرو لیتر بافر RIPA روی هر نمونه اضافه و در مدت ۱ ساعت سه بار نمونه‌ها با استفاده از هموژنایزر (مدل IKA.T10 Basicآلمان) کاملاً له شدند. RIPA به نسبت ۲۵۰/۱ با PMSF مخلوط شد. سپس سوسپانسیون با دور ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت به یک میکروتیوپ ۱ سی‌سی منتقل شد و ۰/۵ میکرولیتر ازآن‌جهت تعیین غلظت پروتئین در یک میکروتیوپ دیگر ریخته شد.

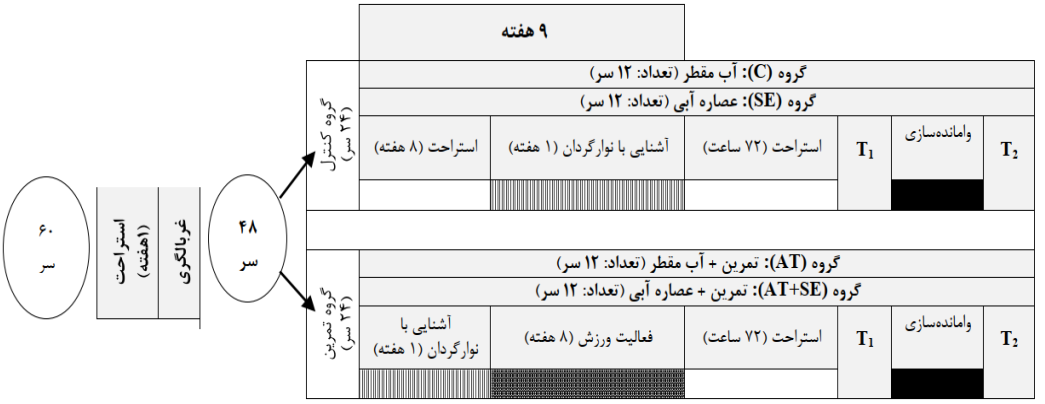
سنجش Bax و Bcl2

میزان بافتی Bax و Bcl2 به روش الایزا با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی

Copyright © The Authors

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23954.252

با توجه به دستورالعمل کارخانه سازنده (ZellBio کشور آلمان) انجام شد. حساسیت روش اندازه‌گیری برای Bax و Bcl2 به ترتیب ۰/۱ و ۰/۳ نانوگرم در میلی‌لیتر بود.



شکل۱. طرح شماتیک اجرای تحقیق

روش آماری

از آمار توصیفی برای تعیین شاخص‌های مرکزی (میانگین) و پراکندگی (انحراف استاندار) استفاده شد. پس از تائید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک[1] داده‌های خام توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶ و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک و دوراهه و آزمون تعقیبی توکی[2] در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ تجزیه‌وتحلیل شد.

یافته‌ها

جدول شماره ۲، میانگین±انحراف استاندارد، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و

1. Shapiro-Wilk
2. Tukey's Test

آزمون تعقیبی توکی وزن و زمان وامانده شدن گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج موجود در این جدول بین مقادیر وزن، آزمودنی‌ها، در پیش‌آزمون گروه‌های موردمطالعه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (p>۰/۰۵). بااین‌وجود، در پس‌آزمون (انتهای تحقیق) این اختلاف مشاهده شد (p<۰/۰۵). همچنین میانگین وزن تمامی گروه‌ها، در پس‌آزمون (انتهای تحقیق) نسبت به پیش آزمون (ابتدای تحقیق) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که با توجه به افزایش سن موش‌های جوان، طبیعی بود (p<۰/۰۵). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی که در جدول شماره ۲ ارائه شده است، میانگین وزنی گروه AT+SE در مقایسه با گروه SE (p=۰/۰۱۶) و گروه C (p=۰/۰۰۱) همچنین گروه AT در مقایسه با گروه SE (p=۰/۰۲۴) و گروه C (p=۰/۰۱۵) به‌طور معنی‌داری کمتر بود. بین میانگین وزنی سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). همچنین بر اساس نتایج موجود در جدول شماره ۲ اختلاف معنی‌داری بین زمان وامانده شدن گروه‌های مختلف وجود دارد (p<۰/۰۵). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی که در این جدول ارائه شده است میانگین زمان وامانده شدن گروه AT+SE در مقایسه با گروه C (p=۰/۰۰۱)، گروه SE (p=۰/۰۱۶)، گروه AT (p=۰/۰۲۵) و در گروه AT در مقایسه با گروه C (p=۰/۰۰۱) و گروه SE (p=۰/۰۰۱) به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. بین میانگین زمان وامانده شدن سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

 Copyright © The Authors

جدول۲. نتایج تحلیل آزمون آنوای تک راهه و آزمون تعقیبی توکی درون و بین گروهی وزن و زمان وامانده سازی آزمودنی ها

		میانگین ± انحراف معیار				
متغیر	گروه	پیش آزمون	پس آزمون	سطح معنی داری درون گروهی	سطح معنی داری بین گروهی پیش آزمون	سطح معنی داری بین گروهی پس آزمون
وزن (گرم)	C	۲۲۱/۲± ۷/۱	۲۸۱/۵±۲۰/۱	۰/۰۰۱*	۰/۹۴	۰/۰۰۱۶*
	SE	۲۱۹/۶ ± ۱۰/۳	۲۷۵/۴ ±۱۸/۳	۰/۰۰۱*		
	AT	۲۱۶/۳ ± ۶/۱	۲۴۱/۱±۱۰/۷	۰/۰۰۱*		
	AT+ SE	۲۱۰/۹ ± ۸/۳	۲۳۴/۲±۸/۱	۰/۰۰۱*		
زمان وامانده شدن (دقیقه)	C	-	۲۰/۱ ±۷/۳		-	۰/۰۱۸*
	SE	-	۲۵/۹ ± ۶/۱			
	AT	-	۶۸/۱ ±۱۱/۹			
	AT+ SE	-	۹۰/۱±۱۸/۶			

	گروه		سطح معنی داری بین گروهی پس آزمون		
وزن	AT+ SE	AT	۰/۷۱	-	-
		SE	۰/۰۱۶#		
		C	۰/۰۰۱#		
	AT	SE	۰/۰۲۴#		
		C	۰/۰۱۵#		
	SE	C	۰/۸۹		
زمان وامانده شدن	AT+ SE	AT	۰/۰۲۵#		
		SE	۰/۰۰۱#		
		C	۰/۰۰۱#		
	AT	SE	۰/۰۰۱#		
		C	۰/۰۰۱#		
	SE	C	۰/۰۱۵#		

* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به پیش آزمون P<۰/۰۵ .

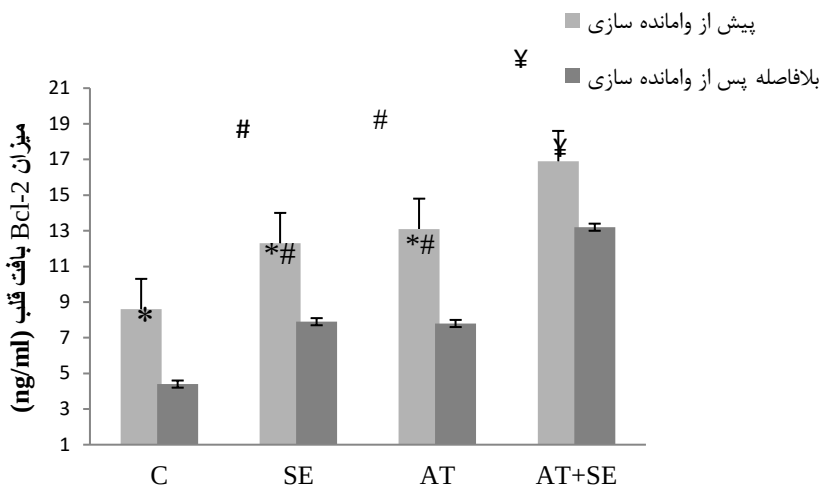
نشانه تفاوت معنی دار بین گروهی P<۰/۰۵ .

BAX و Bcl-2

در پایان دوره ۸ هفته‌ای تحقیق (پیش از وامانده‌سازی) میزان پروتئین‌هایBAX و Bcl-2های گروه AT+SE به‌طور معنی‌داری از گروهC (p Bcl-2=۰/۰۰۱ , p BAX=۰/۰۰۱) گروه SE(p Bcl-2=۰/۰۰۱ , p BAX=۰/۰۰۱)، و گروه AT (p Bcl-2 , p BAX=۰/۰۰۱) به ترتیب کمتر و بیشتر بود. همچنین میزان پروتئین‌های BAXوBcl-2 در گروه AT (p Bcl-=۰/۰۰۱ , p BAX=۰/۰۰۱) و گروه SE (p Bcl-2=۰/۰۰۱ , p BAX=۰/۰۰۱)، نسبت به گروه Cبه ترتیب کمتر و بیشتر بود. از سویی نسبت BAX به Bcl-2 گروه AT+SE به‌طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها [گروهC (p=۰/۰۰۱) گروه SE (p=۰/۰۰۱)، و گروه AT (p=۰/۰۰۱)] کمتر بود. همچنین نسبت BAX به Bcl-2 در گروه AT (p=۰/۰۰۱) و گروه SE (p=۰/۰۰۱)، نسبت به گروه Cبه‌طور معنی‌داری کمتر و تفاوت بین گروه SE با گروه AT معنی‌دار (p=۰/۰۶۳)، نبود.

آنالیز بین مداخله‌گرها (تمرین، عصاره زعفران، تمرین+عصاره) در وضعیت پیش از وامانده‌سازی نیز انجام شد. برای این تحلیل از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد. نتایج نشان داد که اثر مداخله‌گر تمرین هوازی (p Bcl-2=۰/۰۲۰ p BAX/ Bcl-2=۰/۰۱۷ , p =۰/۰۲۷) عصاره زعفران (p BAX=۰/۰۱۱ p =۰/۰۲۱ , p Bcl-2=۰/۰۳ p BAX/ Bcl-2 BAX) و تمرین+عصاره (p BAX/ Bcl-2=۰/۰۰۱ p Bcl-2=۰/۰۰۱ , p BAX=۰/۰۰۱) بر شاخص‌های BAX و Bcl-2 و نسبت این شاخص‌ها معنادار شد.

Copyright © The Authors

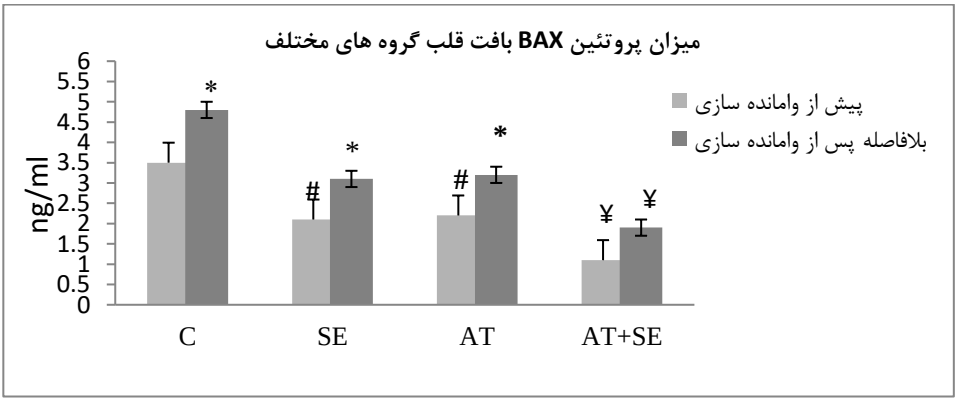


نمودار ۱. تغییرات غلظت پروتئین Bcl-2 بافت قلب گروه های مختلف ؛ C:کنترل ،SE: گروه عصاره آبی ، AT: گروه تمرین ، AT+SE: گروه ترکیبی تمرین +عصاره آبی زعفران در خلال دو مرحله اندازه گیری پیش و بلافاصله پس از وامانده سازی .

* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به پیش از وامانده سازی P<۰/۰۵ .

نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه های یک P<۰/۰۵ .

¥ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به سایر گروه ها P<۰/۰۵ .



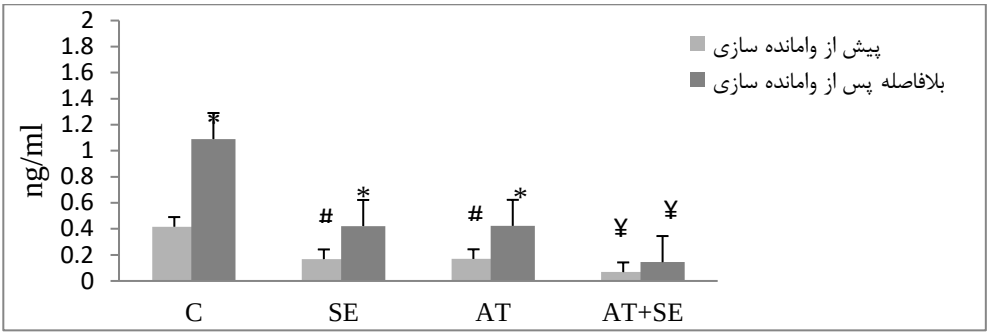
نمودار ۲. تغییرات پروتئین Bax بافت قلب گروه های مختلف ؛ C:کنترل ،SE: گروه عصاره آبی ، AT: گروه تمرین ، AT+SE: گروه ترکیبی تمرین +عصاره آبی زعفران در خلال دو مرحله اندازه گیری پیش و بلافاصله پس از وامانده سازی .

* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به پیش از وامانده سازی P<۰/۰۵ .

نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه یک P<۰/۰۵ .

¥ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به سایر گروه ها P<۰/۰۵ .

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23954.252



نمودار ۳. تغییرات نسبت BAX به Bcl-2 بافت قلب گروه های مختلف ؛ C:کنترل ،SE: گروه عصاره آبی ، AT: گروه تمرین ، AT+SE: گروه ترکیبی تمرین +عصاره آبی زعفران در خلال دو مرحله اندازه گیری پیش و بلافاصله پس از وامانده سازی .

* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به پیش از وامانده سازی P<۰/۰۵ .

نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه یک P<۰/۰۵ .

¥ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به سایر گروه ها P<۰/۰۵ .

همچنین بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راه متعاقب وامانده‌سازی پروتئین‌های Bax و Bcl-2 بافت قلب تمامی گروه‌ها [گروهC (p_{Bcl-2}=۰/۰۰۱) , p_{BAX}=۰/۰۰۱) گروه SE(p_{Bcl-2}=۰/۰۰۱) , p_{BAX}=۰/۰۰۱) ، و گروه AT (p_{Bcl-2}=۰/۰۰۱) , p_{BAX}=۰/۰۰۱)] به‌جز گروه AT+SE (p_{Bcl-2}=۰/۰۵۳) , p_{BAX}=۰/۰۱۳) به ترتیب به‌طور معنی‌داری افزایش و کاهش نشان داد. همچنین این شاخص‌ها در گروه AT (p_{Bcl-2}=۰/۰۰۱) , p_{BAX}=۰/۰۰۱) و گروه SE (p_{Bcl-2}=۰/۰۴۱) , p_{BAX}=۰/۰۱۶)، نسبت به گروهC به ترتیب به‌طور معنی‌داری کمتر و بیشتر تغییر داشته و تفاوت بین گروه SE با گروه AT (۰/۹۴= p_{Bcl-2} , p_{BAX}=۰/۹۳)معنی‌دار نبود.

از سویی به دلیل تغییرات معنی‌دار پروتئین‌های Bax (افزایش) وBcl- 2

(کاهش) بافت قلب متعاقب وامانده‌سازی نسبت BAX به Bcl-2 تمامی گروه‌ها [گروهC (p=۰/۰۰۱) گروه SE (p=۰/۰۰۱)، و گروه AT (p=۰/۰۰۱)] به‌جز گروه AT+SE(p=۰/۰۷۱) به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. همچنین نسبت BAX به Bcl-2 در گروه AT (p=۰/۰۰۱) و گروه SE (p=۰/۰۰۱)، نسبت به گروه Cبه‌طور معنی‌داری کمتر افزایش نشان داد و تفاوت بین گروه SE با گروه AT معنی‌دار نبود (p=۰/۰۸۳).نمودار شماره ۱ تا ۳ نتایج آزمون توکی در بررسی اختلاف BAX و Bcl-2 همچنین نسبت BAX به Bcl-2 تمامی گروه‌ها را در پیش و پس‌آزمون نشان می‌دهد.

آنالیز بین مداخله‌گرها (تمرین، عصاره زعفران، تمرین+عصاره) در وضعیت پس از وامانده‌سازی نیز انجام شد. برای این تحلیل از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد. نتایج نشان داد که اثر مداخله‌گر تمرین هوازی (p BAX/ Bcl-2=۰/۰۳۲ p Bcl-2=۰/۰۲۸ , p BAX=۰/۰۳۰) عصاره زعفران (p =۰/۰۳۹ p =۰/۰۴۱ , p Bcl-2=۰/۰۳۲ p BAX/ Bcl-2 BAX) و تمرین+عصاره (BAX/ Bcl-2=۰/۰۰۱ p Bcl-2=۰/۰۰۱ , p BAX=۰/۰۰۱) بر شاخص‌های BAX و Bcl-2 و نسبت این شاخص‌ها معنادار شد .

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد وامانده‌سازی به ترتیب موجب افزایش و کاهش معنی‌دار میزان پروتئین‌های Bax و Bcl-2 همچنین، افزایش نسبت Bax به Bcl-2 بافت قلب تمامی گروه‌ها به‌جز گروه تعاملی تمرین + مصرف زعفران نسبت به سطوح استراحتی شد. همسو با نتایج حاصل از گروه‌های کنترل تحقیق، لی[1] و همکاران (۲۰۱۷)، یانگ[2] و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که متعاقب وامانده‌سازی میزان BAX افزایش و Bcl-2 کاهش و نسبت Bax به Bcl-2 افزایش نشان می‌دهد (۱۴، ۱۵).

1. Li,
2. Yang

گرچه مکانیسم دقیق اینکه چرا و چگونه آپوپتوز درنتیجه ورزش رخ می‌دهد شناخته شده نیست. اما به‌طورکلی آپوپتوز سلولی از دو مسیر خارجی و داخلی سلول را تحت تأثیر قرار داده و از بین می‌برد. در مسیر خارجی اعمال فشار مکانیکی- متابولیکی، تجمع کلسیم درون‌سلولی (تشدید فرآیند پروتئولیز) و حتی با افزایش فشار اکسایشی ناشی از انفجار نوتروفیلی (افزایش پراکسیداسیون فسفولیپیدهای غشایی) باعث فعال‌سازی عامل هسته‌ای کاپا - بی[1] (NF-kB) و پیامدهای بعدی آن یعنی بروز التهاب (شروع آبشار واسطه‌های التهابی) می‌شود (۱۶، ۱۷). همچنین ماکروفاژهای فعال‌شده باعث ایجاد سیتوکین های پیش التهابی (همچون اینترلوکین- یک بتا، اینترلوکین –شش و عامل نکروز دهنده تومور آلفا) می‌گردند (۱۸). از سویی فعالیت‌های ورزشی شدید، از طریق فرآیند تحریک دستگاه عصبی سمپاتیکی و به دنبال آن کاهش ذخایر گلیکوژن عضلانی، باعث افزایش چشمگیری در سطح تومور آلفا (TNF-α) و پروتئین واکنش‌گر C و سایر سیتوکین ها می‌شوند (۱۸). در تحقیق حاضر، آزمودنی‌ها، فعالیت شدید و فزاینده هوازی را اجرا نمودند که به نظر می‌رسد شدت فعالیت از طریق سازوکار پارگی و آسیب عضلانی در سطح سارکومری و تغییرات هورمونی ازجمله افزایش آدرنالین و کورتیزول باعث تولید عامل نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) و پروتئین واکنش‌گر C سرمی شده است (۱۹). بنابراین IL-1β ، TNF-α ، FasL افزایش یافته از طریق سیتوکین های پیش التهابی به گیرنده‌های مرگ غشای سلول، TNFR1،TNFR2، Fas TRAIL متصل می‌شوند و موجب فعال‌سازی کاسپاز ۸ و درنهایت آپوپتوز سلولی شده‌اند (۲۰). در مسیر داخلی، میتوکندری و رتیکلوم اندوپلاسمیک محوریت فرایند آپوپتوز را دارند که تحت تأثیر عوامل استرسی که مهم‌ترین آن‌ها

1. Nuclear Factor-kappa B

Copyright © The Authors

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23954.252

اکسید نیتریک و ROS هستند. بدین شکل که در خلال تمرینات ورزشی وامانده ساز، سلول‌های عضلانی قلب به دلیل افزایش جریان خون (بیش از ۴ برابر وضعیت استراحت)، افزایش استخراج اکسیژن سلول‌های قلبی از مویرگ‌ها، هایپوکسی، کاهش منابع گلیکوژن، تغییرات درجه حرارت و pH و در انتها برهم خوردن هومئوستاز[1] یون کلسیم سلول‌های قلبی مستعد آسیب از طریق وقوع استرس اکسیداتیو و در نتیجه آپوپتوز می‌باشند (۴). چراکه در این حالت، تولید گونه‌های فعال اکسیژن میتوکندریایی و در نتیجه، نشت الکترون‌ها از میتوکندری به درون سیتوزول سلول، به طرز چشمگیری افزایش می‌یابد در این شرایط ROS با فعال کردن کاسپازها، آپوپتوز را القا می‌کنند (۲۱). همچنین گونه‌های اکسیژنی فعال با آسیب‌رسانی به DNA مستقیماً موجب آپوپتوز می‌شود. سایر عواملی که در مسیر داخلی که با فعال کردن کاسپازها، آپوپتوز را القا می‌کنند گلوکوکورتیکوئیدها، سیتوکین ها، افزایش کنترل نشده سطوح کلسیم داخل سلولی یا تغییرات نفوذپذیری میتوکندری، تحت تأثیر فاکتورهای مهمی مثل Bax و p53 آپوپتوز را ایجاد می‌کنند (۲۱).

از سویی به‌عنوان مهم‌ترین یافته پژوهش حاضر مشخص شد میزان پروتئین Bax و Bcl-2 همچنین نسبت پروتئین Bax به Bcl-2عضله قلبی موش‌های گروه تعاملی تمرین + مصرف زعفران متعاقب وامانده‌سازی نسبت به سطوح استراحتی تغییر معنی‌داری نکرد. با توجه به تغییر شاخص‌های ذکرشده در سایر گروه‌ها به نظر می‌رسد انجام ۸ هفته تمرین و مصرف هم‌زمان عصاره زعفران از تغییرات معنی‌دار پروتئین Bax که باعث تسریع روند آپوپتوز می‌شود جلوگیری کرده است. نتایج این بخش از پژوهش حاضر با نتایج تحقیقات الشربینی[2] و همکاران (۲۰۱۶)، رضوی و همکاران (۲۰۱۳) که عنوان کردند عصاره زعفران اثرات ضد

1. Hemostasis
2. Elsherbiny

آپوپتوزی در بافت قلب دارد همسو می‌باشد (۱۰، ۱۱). الشربینی و همکاران (۲۰۱۶) عنوان کردند مصرف ۲۱ روزه کروسین (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی بافت قلب، آپوپتوز و استرس اکسیداتیو ناشی دوکسی روبیسین را تقلیل می‌دهد (۱۰). رضوی و همکاران (۲۰۱۳) نیز عنوان کردند که مصرف ۴ هفته‌ای کروسین (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) سبب محافظت قلب رت در برابر آپوپتوز ایجادشده با دیازینون از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپید غشای بافت قلب، افزایش میزان گلوتاتیون و افزایش نسبت Bax/ Bcl2 شد (۱۱). همان‌طوری که در بخش قبلی عنوان شد دلیل افزایش پروتئین پیش آپوپتوزی Bax متعاقب فعالیت‌های وامانده ساز، افزایش فاکتورهای تسریع‌کننده آپوپتوز مثل سایتوکین ها، فاکتورهای التهابی و افزایش ROS، گلوکوکورتیکوئیدها، همچنین افزایش کنترل نشده‌ی کلسیم سیتوزولی بوده که سلول‌ها را به سمت آپوپتوز سوق می‌دهد (۱۸). بنابراین هر عامل که بتواند اثری کاهنده بر این شاخص‌های تسریع‌کننده آپوپتوزی داشته باشد می‌تواند بر آپوپتوز نیز اثر کاهنده داشته باشد. در تحقیقات مختلفی اثبات‌شده که کروسین و کروستین موجود در زعفران فعال‌سازی عامل هسته‌ای کاپایی (NF-kB) و سطوح عامل نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) را که از مهم‌ترین عوامل ایجاد آپوپتوز از مسیر خارجی هستند را مهار می‌کند (۲۲). همچنین عصاره زعفران مسیر خارجی القاء آپوپتوز را نیز از طریق بلوکه کردن مسیرهای تولید ROS همچنین اکسید نیتریک و خنثی‌سازی ROS از طریق تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی مسدود می‌کند (۲۳). بنابراین عدم افزایش پروتئین Bax و کاهش پروتئین Bcl2 در عضله قلبی موش‌ها و در نتیجه عدم کاهش نسبت Bax/Bcl2 در گروه تعاملی تمرین + مصرف زعفران که موجب تسریع آپوپتوز می‌شود به دلیل بلوکه شدن مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز در عضله قلبی موش‌های این گروه می‌باشد.

Copyright © The Authors

از سویی در دیگر یافته پژوهش حاضر مشخص شد که در حالت استراحت پیش از وامانده‌سازی میزان پروتئین Bcl2 و Bax عضله قلبی گروه‌های تعاملی تمرین + مصرف زعفران، تمرین هوازی و گروه مصرف‌کننده زعفران نسبت به گروه کنترل (دارونما) به‌طور معنی‌داری به ترتیب بیشتر و کمتر بود. در نتیجه نسبت Bax به Bcl2 در این گروه‌ها نسبت به گروه کنترل (دارونما) در حالت استراحت پیش از وامانده‌سازی به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها کمتر بود. لازم به ذکر می‌باشد تغییرات ذکرشده در گروه تعاملی تمرین + مصرف زعفران به‌طور معنی‌داری نسبت به‌تمامی گروه‌ها بیشتر بود. در خصوص تغییرات شاخص‌های آپوپتوزی به دلیل مصرف عصاره زعفران در بخش قبلی به‌تفصیل بحث شد اما در خصوص تغییرات این شاخص در نتیجه فعالیت‌های بدنی باید عنوان کرد که در چندین مطالعه نشان داده‌شده است که فعالیت ورزشی منظم میزان پروتئین Bcl2 را افزایش وBAX را کاهش داده و نسبت Bax به Bcl2 را به سمت یک محیط ضد آپوپتوزی تغییر می‌دهد (۱۴، ۱۵). برای نمونه لی و همکاران (۲۰۱۷)، گزارش کردند که ۵ هفته تمرین روی نوار گردان باعث کاهش معنی‌دار نسبت bax به bcl-2 بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود (۱۵). همچنین یانگ و همکاران (۲۰۲۰) نیز در مطالعه‌ای خود اشاره کردند که پس از ۲ هفته تمرین هوازی نسبت bax به bcl-2 در آزمودنی‌های گروه تمرین کمتر از گروه کنترل بود (۱۴). چندین سازوکار برای اثرات محافظتی تمرینات ورزشی روی آپوپتوز مطرح‌شده است که شامل افزایش گردش خون شریان کرونری، بیان پروتئین‌های استرس شبکه آندوپلاسمی، افزایش فعالیت سیکلواکسیژناز۲ ، القای پروتئین‌های شوک گرمایی (HSP70 ، HSP72،HSP90)، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیتوزولی میوکارد، افزایش پیام‌رسانی نیتریک اکساید، تغییر فنوتیپ میتوکندریایی، تغییر و افزایش کانال‌های پتاسیم حساس به ATP سارکولمایی و غشای میتوکندریایی، تغییر مستقیم در بیان پروتئین‌های مربوط به آپوپتوز، کاهش آزادسازی عوامل آپوپتوزی

میتوکندری و تغییرات تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد (۲۱). به نظر می‌رسد میتوکندری نقش مهمی در تنظیم آپوپتوز سلول‌های مختلف دارد. نسبت Bax به Bcl2 شاخصی برای نشان دادن پتانسیل آپوپتوز میتوکندریایی می‌باشد که Bcl2 با فعالیت پیش آپوپتوزی Bax به‌وسیله‌ی جلوگیری از جابه‌جایی آن در میتوکندری مخالفت می‌کند. هنگامی‌که BAX به میتوکندری وارد می‌شود منافذی را در غشای میتوکندری شکل می‌دهد که در نتیجه پروتئین‌هایی ازجمله سیتوکروم C آزادشده و وارد سیتوزول می‌شود و باعث شروع پیام‌رسانی آپوپتوتیک آبشارهای کاسپاز پایین‌دستی می‌شود (۲۱). اهمیت نفوذپذیری میتوکندری در مطالعه الکساندر[1] و همکاران (۲۰۱۹) نشان داده‌شده است. آن‌ها بیان کردند که مسدود کردن منافذ نفوذپذیری میتوکندری میزان آپوپتوز را کاهش می‌دهد (۲۴). این نتایج هم‌راستا با ایده‌ای است که کاهش نسبت BAX به BCL-2 در اثر تمرینات ورزشی می‌تواند آپوپتوز را به‌وسیله‌ی به حداقل رساندن نفوذپذیری میتوکندری کاهش دهد (۲۵). اعتقاد بر این است که ROS نیز یک محرک قوی برای فعال کردن آپوپتوز در انواع مدل‌های آزمایشی و سلول‌های و آپوپتوز را به‌طور عمده از طریق تعدیل مسیر مربوط به میتوکندری تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۵). احتمالاً استرس اکسایش بالا هومئوستاز غشای میتوکندری را بی‌ثبات کرده و بنابراین تشکیل منافذ نفوذپذیری غشای میتوکندری را تحریک می‌کند و باعث آزادسازی فاکتورهای پیش آپوپتوزی مثل سیتوکروم C می‌شود (۲۱). از سویی تمرینات ورزشی با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تعدیل استرس اکسایشی باعث کاهش ژن‌های پیش آپوپتوزی می‌شوند (۲۱). بااین‌حال نتایج پژوهش حاضر و مطالعات مذکور با برخی از تحقیقات انجام‌شده همسو نمی‌باشد. هین[2] و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که ۹ هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار نسبت

1. Alexandre-

2. Hyun

Copyright © The Authors

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23954.252

BAX به BCL-2 در عضله قلب می‌شود (۲۶). علت این تناقض ممکن است ناشی از زمان برداشت بافت باشد (۲۱). چون اندازه‌گیری‌ها در مطالعه کنونی روی بافت‌هایی انجام شد که ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین استخراج‌شده بودند اما در پژوهش هین و همکاران (۲۰۲۰) استخراج بافت ۳۶ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین انجام‌شده بود (۲۶).

نتیجه‌گیری

بر اساس مطالعه حاضر مشخص شد که تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران هرکدام به‌طور مستقل و تمرین هوازی در تعامل با مصرف عصاره زعفران اثرات ضد آپوپتوزی داشته به‌نحوی‌که میزان پروتئین BAX در بافت قلب را کاهش و از سویی منجر به افزایش پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 می‌شوند. همچنین تعامل تمرین و مصرف عصاره بهترین راه‌کار جهت جلوگیری از آپوپتوز بافت قلب موش‌ها متعاقب تمرینات وامانده ساز می‌باشد. گرچه تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران هرکدام به شکل مستقل از آپوپتوز بافت قلب متعاقب وامانده‌سازی می‌کاهند اما نمی‌تواند از آپوپتوز بافت قلب جلوگیری کنند.

تائید کمیته اخلاق

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی تحت شماره گرنت ۱۳۶۷۹۵-۱۵۶۶۴ از طرف دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی (ره) می‌باشد. که توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی با شماره IR.IAU.B.REC. 1401.02تائید و در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی لرستان اجرا گردید.

R.IAU.M.REC.1399.014

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق همکاری داشته‌اند صمیمانه تقدیر و تشکر می‌کنم.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

منابع مالی

دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی (ره) حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی تحت شماره گرنت ۱۳۶۷۹۵-۱۵۶۶۴ از طرف صورت پذیرفته است.

منابع

1. Recchioni R, Marcheselli F, Antonicelli R, Lazzarini R, Mensa E, Testa R, et al. Physical activity and progenitor cell-mediated endothelial repair in chronic heart failure: Is there a role for epigenetics? Mechanisms of ageing and development. 2016;159:71-80.
2. Bohm P, Scharhag J, Meyer T. Data from a nationwide registry on sports-related sudden cardiac deaths in Germany. European journal of preventive cardiology. 2016;23(6):649-56.
3. Schmied C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes. Journal of internal medicine. 2014;275(2):93-103.
4. Binayi F, Joukar S, Najafipour H, Karimi A, Abdollahi F, Masumi Y. The effects of nandrolone decanoate along with prolonged low-intensity exercise on susceptibility to ventricular arrhythmias. Cardiovascular toxicology. 2016;16(1):23-33.
5. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. Cell biology international. 2019;43(6):582-92.
6. Akbari M, Moradi L, Abbassi Daloii A. The effect of endurance training and Ziziphus jujube extract consumption on apoptosis of cardiac tissue in male Wistar rats. Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences. 2018;22(6):547-54.
7. Oláh A, Németh BT, Mátyás C, Horváth EM, Hidi L, Birtalan E, et al. Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model. International journal of cardiology. 2015;182:258-66.
8. Rezaee R, Hosseinzadeh H. Safranal: from an aromatic natural product to a rewarding pharmacological agent. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):12.
9. Fotoohi A, Moloudi MR, Hosseini S, Hassanzadeh K, Feligioni M, Izadpanah E. A novel pharmacological protective role for safranal in an animal model of Huntington's disease. Neurochemical Research. 2021;46(6):1372-9.
10. Elsherbiny 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. Chemico-biological interactions. 2016;247:39-48.
11. Razavi M, Hosseinzadeh H, Abnous K, Motamedshariaty VS, Imenshahidi M. Crocin restores hypotensive effect of subchronic administration of diazinon in rats. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):64.
12. Dianat M, Esmaeilizadeh M, Badavi M, Samarbaf-zadeh AR, Naghizadeh B. Protective effects of crocin on ischemia-reperfusion induced oxidative stress in comparison with vitamin E in isolated rat hearts. Jundishapur journal of natural pharmaceutical products. 2014;9(2).

Publisher: University oF Guilan Copyright © The Authors

13. Rameshrad M, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Saffron and its derivatives, crocin, crocetin and safranal: a patent review. Expert opinion on therapeutic patents. 2018;28(2):147-65.
14. Yang M-T, Lee X-X, Huang B-H, Chien L-H, Wang C-C, Chan K-H. Effects of two-week betaine supplementation on apoptosis, oxidative stress, and aerobic capacity after exhaustive endurance exercise. Antioxidants. 2020;9(12):1189.
15. Li X, Han X, Zhang H, Tan H, Han S. SIRT1 signaling pathway mediated the protective effects on myocardium of rats after endurance training and acute exhaustive exercise. Zhonghua xin xue guan bing za zhi. 2017;45(6):501-6.
16. Christiansen T, Bruun JM, Paulsen SK, Ølholm J, Overgaard K, Pedersen SB, et al. Acute exercise increases circulating inflammatory markers in overweight and obese compared with lean subjects. European journal of applied physiology. 2013;113(6):1635-42.
17. Landers-Ramos RQ, Jenkins NT, Spangenburg EE, Hagberg JM, Prior SJ. Circulating angiogenic and inflammatory cytokine responses to acute aerobic exercise in trained and sedentary young men. European journal of applied physiology. 2014;114(7):1377-84.
18. Barari AR, Alavi SH, Shirali S, Ghazalian F. Effect of short-term endurance training and silymarin consumption on some of preinflammatory cytokines, growth mediators and immune system performance. Annals of Biological Research. 2012;3(6):2933-7.
19. Bijeh N, Hosseini SA, Hejazi K. The effect of aerobic exercise on serum C-reactive protein and leptin levels in untrained middle-aged women. Iranian journal of public health. 2012;41(9):36.
20. Won S-H, Lee H-J, Jeong S-J, Lee H-J, Lee E-O, Jung D-B, et al. Tanshinone IIA induces mitochondria dependent apoptosis in prostate cancer cells in association with an inhibition of phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2010;33(11):1828-34.
21. Andreotti DZ, Silva JdN, Matumoto AM, Orellana AM, De Mello PS, Kawamoto EM. Effects of physical exercise on autophagy and apoptosis in aged brain: Human and animal studies. Frontiers in Nutrition. 2020;7:94.
22. Milajerdi A, Bitarafan V, Mahmoudi M. A review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to neurologic, cardiovascular and gastrointestinal diseases. 2015.
23. Samarghandian S, Borji A. Anticarcinogenic effect of saffron (Crocus sativus L.) and its ingredients. Pharmacognosy research. 2014;6(2):99.
24. Alexandre-Santos B, Machado MV, Menezes AC, Velasco LL, Sepúlveda-Fragoso V, Vieira AB, et al. Exercise-induced cardiac opioid system activation attenuates apoptosis pathway in obese rats. Life sciences. 2019;231:116542.
25. Jin X, Xu Z, Zhao X, Chen M, Xu S. The antagonistic effect of selenium on lead-induced apoptosis via mitochondrial dynamics pathway in the chicken kidney. Chemosphere. 2017;180:259-66.
26. No M-H, Heo J-W, Yoo S-Z, Kim C-J, Park D-H, Kang J-H, et al. Effects of aging and exercise training on mitochondrial function and apoptosis in the rat heart. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2020;472(2):179-93.

https://doi.org/10.22124/jme.2023.23954.252

Metabolism and Exercise
A biannual journal

Vol 13, Number 1, 2023

University Of Guilan

Interaction effect of aerobic training with Saffron extract on some factors of apoptosis and antiapoptosis proteins of cardiac tissue in trained young rats following an Exhaustive aerobic exercise

Khosravi A*[1]

Received: 27/02/2023 Accepted: 02/06/2023 Published: 23/08/2023

Abstract

Objective: Aerobic training and Saffron has decreasing effects on apoptosis induced by exercise to exhaustion. The present study aims to investigate the Interaction effect of aerobic training with Saffron extract on some factors of apoptosis and antiapoptosis proteins of cardiac tissue in trained young rats following an Exhaustive aerobic exercise .

Methods: This is a clinical trial, 48 Wistar male rats were assigned into following four groups (N=12): control) C), Saffron extract (SE), Aerobic training (AT), Aerobic training + Saffron extract (AT+SE). Aerobic training was done for five times a week for 8 weeks (at 20-25 m/min, 25-60 min/day, and 5 days/week). Saffron extract was administrated through oral gavage 100 mg.kg-1.day-1 .The end of experiment, half of the rats was killed immediately before exhaustive training; on the other hand, remaining rats were killed immediately after performing an acute bout of exhaustive exercise on the treadmill. BAX and Bcl2 proteins levels were measured by ELISA method. The data were analyzed using a one and two -way ANOVA, with the significance level of $P < 0.05$.

Results: following an exhausting BAX and Bcl2 proteins of cardiac tissue in the all groups Except in the AT+SE group were significantly increased and decreased respectively ($P < 0.05$).

Conclusion: It seems that aerobic training and use of saffron extract Each one alone or in combination with each other modify some factors affecting the apoptosis of the heart tissue of male young rats following an Exhaustive aerobic exercise.

Keywords: Exhaustive aerobic exercise**,** Saffron extract, Bcl-2, Bax.

1. University faculty member
*Corresponding Aothur: stu_khosravi1@yahoo.com

Publisher: University oF Guilan Copyright © The Authors