مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v13i3.2056

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین هوازی و بی‌هوازی با مصرف ملاتونین بر بیان ژن VEGFA و VEGFR2 میوکارد رت پس از ایسکمی ریپرفیوژن

کامبیز مرادی دهباغی*[۱]، محمدرضا دهخدا[۲]، پژمان معتمدی[۲]، حمید رجبی[۳]، محمد نبیونی[۳]

۱- دانش آموخته مقطع دکتری، فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
۲- دانشیار، فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
۳- استاد تمام، فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۳۰، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۹/۱۳

چکیده

مقدمه: *یکی از دلایل بیماری‌های قلبی عروقی بی‌تحرکی و مصرف غذاهای دارای اکسیدان است. بدین منظور هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی و بی‌هوازی با مصرف ملاتونین بر بیان ژن VEGFA و VEGFR2 میوکارد رت پس از ایسکمی ریپرفیوژن می‌باشد.*

مواد و روش‌ها: *۳۸ رت صحرایی نر ویستار دو تا سه ماهه با وزن تقریبی ۲۰۰-۲۶۰ گرم به هفت گروه، پایلوت (n=۱۴)، کنترل (n=۴)، ملاتونین (n=۴)، تمرین هوازی (n=۴)، تمرین بی‌هوازی (n=۴)، تمرین هوازی ملاتونین (n=۴) و تمرین بی‌هوازی ملاتونین (n=۴) تقسیم شدند. گروه پایلوت برای تأیید فیبروز در میوکارد به دو گروه ایسکمی و سالم تقسیم شد. گروه‌های ملاتونین به مدت یک ماه هر روز با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن گاواژ شدند؛ و سپس گروه‌های تمرین هوازی، تمرین بی‌هوازی، تمرین هوازی ملاتونین و تمرین بی‌هوازی ملاتونین تحت دوره تمرین یک ماهه با تواتر تمرین سه جلسه در هفته روی تردمیل قرار گرفتند. در انتهای یک ماه، تمام رت‌ها در دو روز متوالی با فاصله ۲۴ ساعت تحت تزریق داروی ایزوپرنالین برای القای ایسکمی قرار گرفتند. درنهایت، بیان ژن VEGFA و VEGFR2 به روش ریل تایم انجام شد. نتایج تحقیق با فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ و آزمون‌های تحلیل واریانس یک طرفه آنووا، لون و توکی تحلیل شد.*

نتایج: *تیمار تمرین هوازی و تمرین بی‌هوازی به طور جداگانه بر بیان ژن VEGFA و VEGFR2 تأثیر افزایشی داشتند اما تأثیر آنها از نظر آماری معنی دار نشد. سایر گروه‌ها غیر از ملاتونین نیز باعث افزایش بیان ژن‌های فوق شدند. ملاتونین توانست بیان ژن VEGFA و VEGFR2 را کاهش دهد.*

نتیجه‌گیری: *تمرین هوازی و بی‌هوازی در دراز مدت در صورت سازگاری می‌توانند از میزان حجم سکته میوکارد احتمالی بکاهند.*

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، تمرین بی‌هوازی، ملاتونین، ژن **VEGFA**و **VEGFR2**، ایسکمی

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه خوارزمی، فیزیولوژی ورزشی. **تلفن:** ۰۹۱۰۶۳۹۴۲۰۲، **نمابر:** ۰۲۶۳۴۴۵۲۵۹۱، **Email:** kmoradi2013@gmail.com

ارجاع: مرادی دهباغی کامبیز، دهخدا محمدرضا، معتمدی پژمان، رجبی حمید، نبیونی محمد. تأثیر تمرین هوازی و بی‌هوازی با مصرف ملاتونین بر بیان ژن VEGFA و VEGFR2 میوکارد رت پس از ایسکمی ریپرفیوژن. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی۱۳۹۷؛۱۳(۳):۵۰-۵۹.

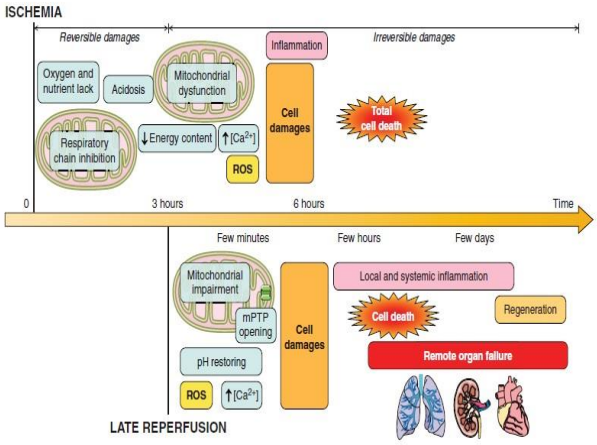
قبل از سال ۱۹۰۰ بیماری‌های عفونی و سوء تغذیه شایعترین علل مرگ در جهان محسوب می‌شد؛ اما در حال حاضر بیماری‌های قلبی عروقی (CVD) شایعترین علت مرگ در بسیاری از نقاط جهان هستند. این تغییر که به آن گذار اپیدمیولوژیک اطلاق می‌شود ناشی از صنعتی شدن، شهرنشینی و تغییر سبک زندگی است که در همه نقاط جهان و در میان همه نژادها، گروه‌های قومی و فرهنگها در حال رخ دادن است. اگر چنین وضعیتی به همین طریق ادامه یابد، میزان مرگ و میر با توجه به سن در سال‌های آینده می‌تواند افزایش یابد (۱).

توسعه بیماری شریان کرونری، سرآغازی است که منجر به ایسکمی میوکارد می‌شود. بیماری ایسکمی میوکارد به نبود اکسیژن ناشی از خونرسانی ناکافی اطلاق می‌گردد که این خود از عدم تعادل بین عرضه و تقاضای اکسیژن میوکارد ناشی می‌شود (۱). در عین حال، یکی از اختلالات ایسکمی یا اختلال در شریان خون کرونری، شکل‌گیری بافت مرده در میوکارد است که انفارکتوس میوکارد یا سکته قلبی نام دارد. میزان وخامت ضایعهٔ وارد شده به میوکارد، بستگی به محل انسداد جریان خون، مقدار و میزان عروق جانبی گردش خون و میزان نیاز عضله قلب به اکسیژن و تحمل میوکارد به کمبود اکسیژن دارد. به هر حال بعد از یک انفارکتوس حاد، برقراری جریان خون مجدد یا ریپرفیوژن میوکاردی به موقع و موفقیت‌آمیز، مؤثرترین راهکار برای کاهش اندازه آسیب انفارکتوس و بهبود عوارض بالینی است. به هر حال پروسه برقراری جریان خون مجدد (ریپرفیوژن) به میوکارد ایسکمی شده می‌تواند آسیب را افزایش دهد. این پدیده که آسیب ریپرفیوژن میوکارد نامیده می‌شود؛ می‌تواند به طور متناقضی اثرات سودمند ریپرفیوژن میوکارد را کاهش دهد، و منجر به آسیب کشنده میوکارد شود. در طی آسیب ایسکمی ریپرفیوژن قلبی، تولید بیش از حد ROS، افزایش کلسیم درون سلولی، نشت H در سطوح میتوکندری و التهاب تحمیل می‌شود (شکل ۱)؛ که منجر به بازشدن منافذ نفوذپذیر میتوکندری می‌گردد. این موضوع می تواند منجر به کاهش ATP، اکسیداسیون غیرقابل برگشت پروتئین، چربی و DNA در کاردیومیوسیت‌ها گردد؛ و فرآیند آپوپتوز را شروع کنند (۱۴). چرا که اکسیداسیون در نهایت منجر به جابجایی بازها در DNA مانند تبدیل جفت باز AT به CG و GC به TA می‌گردد و سبب ایجاد جهش ترانس ورژن می‌شود (۲).

بیان VEGF به عوامل گسترده‌ای همچون هورمون‌ها، فاکتورهای رشدی و غلظت اکسیژن بستگی دارد. در اثر شرایط کمبود اکسیژن، فاکتور القایی هایپوکسی (HIFα1 و HIFα2) به عنصر پاسخ هایپوکسی در قسمت پروموتور ژن vegf-a متصل و بیان ژن VEGF-A را افزایش می‌دهد. در شرایط ایسکمی نیز HIF-1α در پایین دست باعث افزایش مولکول‌های بسیاری از جمله VEGF و گیرنده آن می‌گردد که موجب تنظیم مثبت VEGF-A و افزایش اثر نوروتروفیک بر سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های قلبی در پی شرایط هایپوکسی می‌گردد. در این راستا به نظر می‌رسد جلوگیری از التهاب، کاهش استرس اکسیداتیو، مهار آپوپتوزیس، ترمیم سلول‌های آسیب دیده، آنژیوژنز و برقراری جریان خون عواملی هستند که می‌توانند به ترمیم بافت قلبی پس از ایسکمی کمک کنند و عوارض ناشی از آن را کاهش دهند.

در زمینه پیش آماده‌سازی برای محافظت از قلب، تا به امروز رویکردهای متعددی شناسایی شده‌اند. این راهبردها شامل فعالیت ورزشی، استرس گرمایی، پیش آماده‌سازی ایسکمی، استرس اکسیداتیو و مداخلات دارویی هستند. با این حال مطالعات متعددی نتیجه‌گیری کرده‌اند که تنها راهبرد عملی و قابل تحمل برای دستیابی به محافظت قلبی، فعالیت منظم ورزشی می‌باشد (۳).

از طرف دیگر درمان دارویی بلند مدت شامل داروهای مسدود کننده بتا، ملاتونین، ممانعت از عمل آنزیم مبدل آنژیوتانسین، آسپرین، پلاویکس، وارفارین و کنترل چربی خون با استاتین مورد توجه قرار گرفته اند (۴). مصرف این مواد بیشتر به دلیل نقش گشادکنندگی عروق توسط آنها می‌باشد. چون که یکی از دلایل وقوع سکته در ابتدای صبح کاهش ترشح ملاتونین در بدن گزارش شده است. در این راستا انسان‌ها با دریافت خوراکی ملاتونین سبب کاهش فشار خون در نمونه‌های دارای فشار طبیعی خون می‌شوند. همچنین گزارش شده است سطوح ملاتونین در افراد مبتلا به سکته و بیماری‌های قلبی و عروقی کاهش می‌یابد. در نهایت این یافته که گیرنده‌های ملاتونین در شریان انسان‌ها وجود دارد، بیانگر نقش مستقیم این هورمون در کنترل موضعی قطر عروق خونی است (۵).



شکل ۱- مراحل پیامد ایسکمی و ریپرفیوژن تأخیری در اندام‌هایی مانند قلب، کلیه و ریه (۶)

مطالعات جدید به ویژگی‌های آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدآپوپتوزی ملاتونین اشاره کرده‌اند. در این راستا مطالعات نشان داده اند ملاتونین مصرف اکسیژن میتوکندری، فعالیت کمپلکس I و II

میتوکندری، تولید پراکسید هیدروژن، سطح لیپید پراکسیداز، مقدار کاردیولیپین و اکسیداسیون کاردیولیپین را کاهش می‌دهد (۷). تحقیق دیگر ذکر کرده است که ملاتونین دارای ویژگی محافظتی قلب از طریق پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم و از طریق فعالیت آنتی اکسیدانی خود به طور غیرمستقیم است. این تحقیق نشان داد ملاتونین نشانگرها نظیر VEGFA& VEGFR2 را کاهش می‌دهد (۸).

از طرفی منابع ورزشی ذکر کرده‌اند برنامه ورزشی منظم و از پیش طراحی شده که به طور مرتب دنبال می‌شود، باعث کاهش شیوع بیماری کرونری قلبی و افزایش کیفیت زندگی می‌شود و احتمالاً در بیمارانی که عمل جراحی کرونری داشته‌اند، منجر به کاهش سکته‌های قلبی بعدی می‌گردد. در عین حال فعالیت ورزشی نسبت به حالت طبیعی تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) نظیر سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و هایپرکلریت و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS)، نیتریک اکساید و پراکسی نیتریت که بسیار مخرب و واکنش‌پذیر هستند؛ را افزایش می‌دهد؛ اما در مقابل یک سیستم حمایتی–حفاظتی به نام سیستم آنتی اکسیدان نظیر سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید ردوکتاز، گلوتاتیون، اسید لیپولئیک و اسید اوریک، بیلی‌روبین و یوبیکینون برای به حداقل رساندن اثرات مخرب گونه‌های فعال، بیشتر افزایش می‌یابند (۹).

در ورزش نیز اثرات حاد و مزمن ورزش و تمرینات ورزشی بر VEGF به عنوان یک عامل قوی در رگ‌زایی بررسی شده است. نتایج این تحقیقات نشان داده که تمرینات استقامتی باعث افزایش فاکتورهای در گیر در رگ‌زایی در ارگان‌های مختلف می‌گردد. در قلب نیز مشخص گردیده که دویدن بر روی تردمیل به مدت ۳۰ دقیقه در روز و به مدت سه هفته باعث افزایش فاکتورهای رگ‌زایی و VEGF در عروق قلبی موش‌های صحرایی می‌گردد. همچنین مشخص گردیده که ورزش با القای استرس کششی به دیواره عروقی از مسیر وابسته به NO باعث افزایش رگ‌زایی می‌گردد. همچنین ورزش استقامتی در موش‌های صحرایی سالمند باعث افزایش معنی‌دار درصد رگ‌زایی (CV درصد)، مقادیر VEGF و eNOS در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل گردید. اگرچه تمرینات استقامتی می‌تواند باعث رشد عروق خونی جدید گردد، اما این امر به شدت و نوع تمرین بستگی دارد. مطالعات تمرینی نشان داده‌اند که افزایش رگ زایی در آستانه ۸۰–۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2MAX) در عضله اسکلتی انجام می‌پذیرد. در حالی که تمرین استقامتی با حجم بالا در آستانه ۴۵ درصد VO_2MAX اثری بر رگ‌زایی عضله اسکتی نداشته است. اگرچه اثرات تمرینات استقامتی بر افزایش مقادیر VEGF مشخص گردیده است.

در عین حال یک مسئله در حال مطالعه، تعیین دقیق میزان فعالیت ورزشی برای تحریک محافظت قلب در برابر آسیب ایسکمی ریپرفیوژن است. اکثر مطالعات محرک‌های تمرینی برای موش‌های صحرایی (رت) به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه و با سرعت ۲۷ تا ۳۳ متر بر دقیقه اعمال کرده اند؛ به طوری که در این تحقیقات شدت فعالیت در حدود ۷۰–۷۵ درصد VO_2MAX گزارش شده است؛ سپس نتایج این تحقیقات نشان داده‌اند چنین پروتکل‌های تمرینی باعث القاء محافظت در برابر آسیب انفارکتوس میوکارد می‌شوند. اما در مقابل، تأثیر دویدن با شدت‌های پایین‌تر از ۶۰ درصد VO_2MAX یا بالاتر از ۷۵ درصد VO2MAX برای جلوگیری از انفارکتوس میوکارد مشخص نیست. از آنجا که برخی افراد مایل به فعالیت ورزشی هوازی طولانی مدت هستند و برخی افراد به دلیل کمبود وقت تمایل به فعالیت ورزشی با شدت بالا در زمان کوتاه دارند؛ بنابراین به نظر می‌رسد زمان و شدت فعالیت ورزشی نیز عامل مهمی در القاء محافظت قلبی می‌باشد. البته برخی تحقیقات حیوانی نشان داده‌اند فعالیت با ۵۵ و ۶۰ درصد VO_2MAX در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری دارای درصد بالاتری از برون‌ده قلبی قبل از ایسکمی و ریپرفیوژن است؛ و همچنین تحقیقات دیگر نشان داده‌اند تمرین‌های منظم و طولانی مدت هوازی (۵۵ تا ۸۵ درصد VO_2MAX) کاهش معنی‌داری در نشانگرهای حوادث قلبی و عروقی دارند؛ به طوری که پس از ورزش بی‌هوازی میزان hsp70 در ورزشکاران افزایش می‌یابد (۱۰)؛ و پس از فعالیت‌های ورزشی بی‌هوازی شدید (برای مثال ۱۰۰ و فراتر از ۱۰۰ درصد VO_2MAX) منجر به افزایش معنی‌دار نشانگرهای آسیب های التهابی قلبی می‌شود (۱۱)؛ بنابراین زمان، حجم و شدت تمرین فعالیت ورزشی اهمیت زیادی دارد.

در مجموع با توجه به اینکه فعالیت ورزشی و ملاتونین با کاهش التهاب، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز رابطه دارند؛ و سبب بهبود اثرات محافظتی مهمی در قلب می‌شوند؛ و همچنین تمرینات ورزشی و ملاتونین قبل از ایسکمی می‌توانند حجم ضایعه ایجاد شده را کاهش دهند؛ و از طرفی پیش–آماده‌سازی به عنوان یک مکانیسم مفید برای کاهش ضایعه و بهبود عملکرد قلب پس از ایسکمی– ریپرفیوژن است؛ فرض بر این است که ورزش هوازی و بی‌هوازی با مصرف مکمل ملاتونین می‌توانند نقش کلیدی جهت کاهش ضایعه و بهبود عملکرد قلب پس از سکته در افراد ایفا کنند.

به هر حال مطالعات بسیار اندکی در خصوص اثر پیش‌آماده‌سازی تمرینات ورزشی هوازی و بی‌هوازی روی آسیب ایسکمی ریپرفیوژن با محوریت نقش VEGFA و VEGFR2 و مصرف ملاتونین صورت گرفته است. لذا مطالعه حاضر سعی بر آن دارد که اثر پیش‌آماده‌سازی تمرین هوازی و بی‌هوازی با و بدون مصرف ملاتونین بر بیان پروتئین های VEGFA و VEGFR2 در قلب به دنبال ایسکمی–ریپرفیوژن در موش صحرایی نر مورد بررسی قرار دهد. در صورت مثبت بودن نتایج تحقیق، می‌توان پیشنهاد کرد که افرادی که در معرض سکته قلبی قرار دارند؛ می‌توانند با انجام تمرینات ورزشی منظم و با شدت و مدت مناسب،

همراه با مصرف مکمل ملاتونین از میزان آسیب‌ها و اختلالات قلبی خود در صورت بروز سکته قلبی بکاهند.

پیش‌آماده‌سازی: مفهومی است که در آن فرد در معرض برخی استرس‌ها یا محرک‌ها قرار می‌گیرد تا برای مقابله با برخی تحریکات که احتمالاً در آینده با آنها مواجه می‌شود، آمادگی لازم را کسب نماید (۱۲). در پژوهش حاضر آمادگی بافت قلب در برابر عوامل آپوپتوزی حاصل از ایسکمی ریپرفیوژن پس از تمرین هوازی و بی‌هوازی و مصرف ملاتونین مطالعه شد.

تمرین هوازی: فعالیت ورزشی با شدت نسبتاً کم و مداوم طولانی مدت که مسیر تأمین انرژی آن سیستم هوازی می‌باشد؛ و منجر به سازگاری‌های هوازی می‌شود (۱۳). در پژوهش حاضر منظور از برنامه تمرینی هوازی برنامه یک ماهه با ۳ جلسه تمرین در هفته می‌باشد؛ که مدت زمان کل دویدن موش‌ها بر روی تردمیل ۴۲ دقیقه و متشکل از دو نوبت ۶ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه معادل ۵۰–۶۰ درصد VO_2max، و همچنین ۳۰ دقیقه تمرین هوازی با سرعت ۲۳ تا ۲۵ متر بر دقیقه معادل ۷۰–۷۵ درصد VO_2max بود. شیب تردمیل تمرین در ابتدا ۵ درجه بود و در هر هفته به میزان ۵ درجه افزایش یافت.

تمرین بی‌هوازی: فعالیت ورزشی شدید که مسیر تأمین انرژی آن سیستم بی‌هوازی می‌باشد؛ و سازگاری‌های بی‌هوازی را به دنبال خواهد داشت (۱۳). در پژوهش حاضر منظور از برنامه تمرینی بی‌هوازی مدت زمان ۴ هفته و هر هفته ۳ جلسه تمرین بود، که شامل ۶ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه معادل ۵۰–۶۰ درصد VO_2max و دویدن بی‌هوازی با سرعت ۳۰ تا ۵۰ متر بر دقیقه معادل ۸۰ تا تقریباً ۱۰۰ درصد VO_2max به مدت ۱۵ تا ۲۳ دقیقه و ۶ دقیقه سرد کردن (۵۰–۶۰ درصد VO_2max) بود. شیب تردمیل تمرین در ابتدا ۵ درجه بود و در هر هفته به میزان ۵ درجه افزایش یافت. تمرینات هوازی و بی هوازی از گرم کردن تا سرد کردن بر اساس مقیاس مسافت از حداقل تا حداکثر به مقدار ۸۷۰ تا ۹۹۰ متر همگن شدند.

ملاتونین: هورمون مترشحه از غده صنوبری و تنظیم‌کننده ساعت بیولوژیکی بدن که موجب خواب شب می‌شود (۵)؛ و به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدانی نیز محسوب می‌شود (۱۴). در پژوهش حاضر منظور پودر ۱۰ میلی‌گرمی ملاتونین است که با مقدار بسیار کمی الکل حل شد و در ادامه با آب رقیق شد و با عمل گاواژ به گروه مصرف کننده رت‌ها خورانده شد.

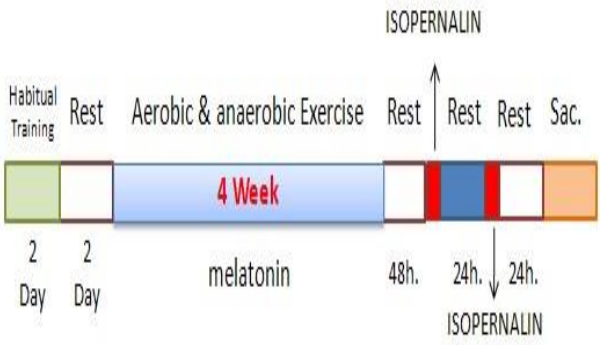
عامل رشد اندوتلیالی عروقی (VEGF): عامل رشد اندوتلیالی عروقی (VEGF) یک پروتئین رشدی می‌باشد که علاوه بر خاصیت رگ زایی توانایی حمایت عصبی، تقویت نورون زایی و دارای اثرات درمانی در ضایعات ناشی از ایسکمی از قبیل سکته قلبی است. منظور از VEGFدر این تحقیق VEGF-A با وزن ۴۵ کیلو دالتون می‌باشد (۱۵).

گیرنده ۲ عامل رشد اندوتلیالی (VEGFR2): گیرنده ۲ عامل رشد اندوتلیالی VEGFR2 به عنوان یک گیرنده تیروزین کینازی اصلی ترین عامل انتقال اثرات نوروتروفیکVEGF-A است. که باعث تنظیم، تکثیر، مهاجرت، افزایش حیات و افزایش نفوذپذیری عروق و شروع تکثیر و حذف آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های عصبی و تکثیر، مهاجرت و تمایز نورونی سلول‌های بنیادی عصبی می‌شود (۱۵).

ایسکمی–ریپرفیوژن: قطع یا کاهش شدید جریان خون به قلب و سپس برقراری مجدد آن (۳). در پژوهش حاضر منظور قطع یا کاهش شدید جریان خون به قلب از طریق تزریق ایزوپرنالین (۱۵۰MG/KG) به روش زیرجلدی در دو روز متوالی است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نظر طراحی تجربی و از نظر هدف بنیادی می‌باشد. طرح تحقیق در شکل شماره ۲ ارائه شده است. در این طرح ابتدا رت‌ها به مدت یک هفته آشناسازی با تردمیل را داشتند؛ سپس پروتکل تمرین هوازی و بی‌هوازی به مدت یک ماه اجرا شد؛ در عین حال مکمل ملاتونین به گروهای ملاتونین، گروهای تمرین هوازی با ملاتونین و گروهای تمرین بی‌هوازی با ملاتونین نیز گاواژ می‌شد. در پایان یک ماه تمرین، رت‌ها به مدت ۴۸ ساعت استراحت کردند و در روز بعد تحت تزریق ایزوپرنالین با دوز ۱۵۰ میلی گرم برحسب کیلوگرم قرار گرفتند. و بعد از یک روز استراحت تزریق دوم ایزوپرنالین با دوز ۱۲۵ میلی‌گرم بر حسب کیلوگرم انجام شد. در نهایت رت‌ها یک روز استراحت کردند و سپس تحت جراحی برای برداشت بطن چپ قرار گرفتند.



شکل ۲- دیاگرام طرح تجربی

جامعه این پژوهش شامل کلیه موش‌های نر ویستار دانشگاه تهران بود؛ که از این میان ۳۸ رت صحرایی نر ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰–۲۰۰ گرم و سن ۲ تا ۳ ماهه خریداری شد؛ با توجه به اهداف پژوهش حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- **گروه کنترل (n=٤):** نمونه‌ها بدون هیچ فعالیت ورزشی و مصرف مکمل ملاتونین در پایان پروتکل یک ماهه تحت ایسکمی ریپرفیوژن قرار گرفتند.

۲- **گروه ملاتونین (n=٤):** نمونه‌ها به مدت یک ماه فقط تحت مصرف مکمل ملاتونین قرار گرفتند و سپس بر روی آنها ایسکمی ریپرفیوژن انجام شد.

۳- **گروه ورزش هوازی (n=٤):** نمونه‌ها به مدت یک ماه ورزش هوازی انجام دادند و سپس تحت ایسکمی ریپرفیوژن قرار گرفتند.

۴- **گروه ورزش بی‌هوازی (n=٤):** نمونه‌ها به مدت یک ماه ورزش بی‌هوازی انجام دادند و سپس تحت ایسکمی ریپرفیوژن قرار گرفتند.

۵- **گروه ورزش هوازی و ملاتونین (n=٤):** نمونه‌ها به مدت یک ماه ورزش هوازی همراه با مصرف ملاتونین انجام دادند و سپس تحت ایسکمی ریپرفیوژن قرار گرفتند.

۶- **گروه ورزش بی‌هوازی و ملاتونین (n=٤):** نمونه‌ها به مدت یک ماه ورزش بی‌هوازی همراه با مصرف ملاتونین انجام دادند و سپس تحت ایسکمی ریپرفیوژن قرار گرفتند.

۷- **گروه پایلوت (N=١٤)** که شامل گروه رت های سالم (N=۷) و گروه رت‌های تحت ایسکمی ریپرفیوژن (N=۷) بودند.

رت‌ها تحت شرایط کنترل شده تاریکی و روشنایی (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی)، دمای ۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت ۴۵ درصد با دسترسی آزاد به آب و غذا در قفس‌های استاندارد (۳ تا ۴ رت در هر قفس) نگهداری شدند. پس از ۷۲ ساعت رت‌ها به طور تصادفی به گروه های تجربی تحقیق و پایلوت تقسیم شدند. در تحقیق حاضر در روز اول رت‌ها تحت تزریق ایزوپرنالین با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفتند که یک رت در روز اول به دلیل تزریق ایزوپرنالین مُرد و به دلیل کاهش تلفات تزریق دوم با دوز ۱۲۵ میلی‌گرم برحسب کیلوگرم انجام گرفت؛ سپس رت‌های گروه پایلوت بعد از تزریق دوم ایزوپرنالین به مدت ۲۴ ساعت استراحت کردند و سپس به منظور بررسی ایجاد ایسکمی ریپرفیوژن در قلب کشته شدند؛ و با روش رنگ‌آمیزی تری کروماسون میزان آپوپتوز و نکروز بطن چپ آنها اندازگیری شد. این روش هیستوتکنیک نشان دادکه تزریق ایزوپرنالین با دوز ۱۵۰ و ۱۲۵ میلی گرم برحسب کیلوگرم در روز اول و دوم باعث آپوپتوز و نکروز در بطن چپ رت‌ها می‌شود؛ بدین منظور این دوز به عنوان دوز پایه برای تحقیق حاضر در نظر گرفته شد.

گروه‌های تجربی تحقیق به مدت یک هفته به منظور آشناسازی با پروتکل تمرین بر روی تردمیل عمل دویدن را با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه به صورت یک روز در میان انجام دادند. بعد از وزن کشی، پروتکل اصلی تمرین هوازی و بی‌هوازی با مصرف مکمل ملاتونین به مدت یک ماه به شرح زیر انجام شد. تمرینات هوازی و بی‌هوازی شامل دویدن بر روی تردمیل مخصوص حیوانات با افزایش سرعت و شدت در طول یک ماه تمرین بود.

جدول ۱- پروتکل تمرین هوازی

مراحل تمرین / مؤلفه تمرین	گرم کردن	بدنه اصلی تمرین هوازی	سرد کردن
زمان تمرین (دقیقه)	۶ دقیقه	۳۰ دقیقه	۶ دقیقه
شدت‌تمرین (VO_{2max})	۵۰ تا ۶۰ ٪	۷۰ تا ۷۵ ٪	۵۰ تا ۶۰ ٪
سرعت (m/ min)	۱۵ تا ۲۰	۲۳ تا ۲۵	۱۵ تا ۲۰
مسافت	۹۰ تا ۱۲۰ متر	۶۹۰ تا ۷۵۰ متر	۹۰ تا ۱۲۰ متر
شیب تردمیل (درجه)	صفر	۵ تا ۲۰ درجه	صفر

جدول ۲- پروتکل تمرین بی‌هوازی

مراحل تمرین / مؤلفه تمرین	گرم کردن	بدنه اصلی تمرین بی‌هوازی	سرد کردن
زمان تمرین (دقیقه)	۶ دقیقه	۲۳ تا ۱۵ دقیقه	۶ دقیقه
شدت تمرین (VO_{2max})	۵۰ تا ۶۰ ٪	۸۰ تا تقریباً ۱۰۰ ٪	۵۰ تا ۶۰ ٪
سرعت دویدن (m/ min)	۱۵ تا ۲۰	۳۰ تا تقریباً ۵۰	۲۰-۱۵
مسافت کل بی‌هوازی	۹۰ تا ۱۲۰ متر	۶۹۰ تا ۷۵۰	۹۰ تا ۱۲۰ متر
شیب تردمیل (درجه)	صفر	۵ تا ۲۰ درجه	صفر

پودر ملاتونین با توجه به وزن رت‌ها به میزان ۱۰ میلی‌گرم برحسب کیلوگرم با ترازوی دیجیتال وزن شد؛ و سپس با اتانول در میکروتیوب حل شد؛ و سپس با محلول سالین رقیق گردید و با سرنگ و نیدل گاواژ تزریق ملاتونین انجام گرفت. گاواژ ملاتونین هر روز به مدت ۳۰ روز به گروه‌های ملاتونین تحقیق به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر حسب کیلوگرم در بعد از ظهرها با توجه به چرخه خواب و بیداری رت‌ها و جمع جبری ساعت گاواژ مطالعات پیشین خورانده شد. بعد از پایان یک ماه، رت‌های گروه تجربی تحقیق به مدت ۴۸ ساعت استراحت کردند و تحت اولین تزریق ایزوپرنالین با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفتند. در روز بعد به فاصله ۲۴ ساعت تزریق دوم با دوز ۱۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام شد. سپس ۲۴ ساعت بعد، عمل خارج کردن بطن چپ رت‌ها با عمل جراحی انجام شد.

به منظور مطالعه تغییرات بیان ژن پروتئین VEGFR2, VEGFA، از روش PCR Real-Time استفاده شد.

به منظور مطالعه تغییرات بیان ژن پروتئین VEGFR2, VEGFA، از روش PCR Real-Time استفاده شد. بدین منظور نمونه‌های بطن چپ که در میکروتیوب در درون کپسول ازت مایع بودند؛ برای هموژنیزه کردن از کپسول بیرون آورده شدند؛ سپس بوسیله ازت مایع و هاون سنگی در ظرفی به صورت ذرات بسیار ریز تبدیل شدند؛ و سپس با محلول ترایزول در میکروتیوب ریخته شدند. به طوری که به ازای هر ۳۰ تا ۶۰ میلی‌گرم بافت، یک میلی‌لیتر محلول ترایزول به میکروتیوب

حاوی بافت اضافه شد. سپس به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس انجام شد و در ادامه با سمپلر عمل پیپتاژ انجام گردید؛ در عین حال کلیه این مراحل بر روی رک‌های یخ زده انجام گرفت. سپس این مراحل ادامه یافت تا اینکه محلول بوجود آمده بتواند از سرنگ ۵ سیسی عبور کند؛ و نمونه‌های حل شده به مدت یک یا چند روز در فریز منفی ۸۰ نگهداری شدند. در ادامه نمونه‌ها از فریز خارج شدند و به اندازه ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به محلول مایع اضافه گردید؛ و با استفاده از تکان‌های دست محلول‌های موجود در میکروتیوب ترکیب شدند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. در ادامه محلول رویی پس از سانتریفیوژ برداشته شد و به همان اندازه ایزوپروپانول به آن اضافه گردید. سپس نمونه‌ها بعد از ماندن در فریزر منفی ۸۰ به مدت یک شب نگهداری و در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی دور ریخته شد و رسوب ایجاد شده در ته میکروتیوب بوسیله الکل ۷۵ درصد (تهیه شده با آب دیس) به مقدار یک میلی‌لیتر به مدت ۵ دقیقه با دور ۷۵۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. در ادامه این مرحله برای بار دوم تکرار گردید و سپس الکل رویی دور ریخته شد و میکروتیوب در زیر هود در دمای محیط قرار داده شد تا الکل مانده در میکروتیوب از رسوب جدا گردد. در نهایت ۳۳ میکرولیتر آب تثبیت کننده RNA به رسوب اضافه شد و به مدت ۵ تا ۷ دقیقه در انکوباتور با دمای ۵۵–۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا RNA در آب حل شود. سپس محلول ایجاد شده به میکروتیوب‌های ۵ میکرولیتری تقسیم و در نهایت در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان سنتز cDNA نگهداری شد.

برای سنتز cDNA پس از اینکه مقدار ۳ میکرولیتر از RNA استخراج شده بوسیله دستگاه نانودراپ تعیین غلظت شد؛ در صورتی که OD (نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰) RNAهای استخراج شده در بازه ۱٫۸ تا ۲٫۲ گزارش می‌شد که آلودگی DNA را نشان می‌داد یک مرحله DNAase I انجام می‌شد. بدین منظور RNAهای نمونه‌ها به نسبت همسان همراه با مواد جدول ۳–۱۶ به یک میکروتیوب ریخته شدند؛ و با آب به حجم ۱۰ ماکرولیتر رسیدند. در صورتی که مقدار RNA بیشتری برای سنتز cDNA در نظر گرفته میشد به همان نسبت آنزیم DNase I بیشتر ریخته می‌شد. مثلاً اگر به جای ۱ میکروگرم RNA در هر میکرولیتر نیز ۸ میکروگرم RNA در هر میکرولیتر در نظر گرفته می‌شد مقدار آنزیم DNAase I نیز هم ۸ برابر می‌شد. قابل ذکر است که بیان گردد آنزیم DNase I در مرحله آخر ریخته شد.

در ادامه، محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس مقدار یک ماکرولیتر EDTA با غلظت ۵۰ میلی مولار به آن اضافه گردید؛ و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. در ادامه سنتز cDNA با استفاده از کیت شرکت ویوانتیس انجام شد؛ به طوری که به ۸ میکروگرم محلول RNA، نیز مقادیر ۱ ماکرولیتر پرایمر Oligo (dT) 18 یا رندوم هگزامر و ۱ ماکرولیتر dNTP mix اضافه گردید و با استفاده از آب فاقد نوکلئاز به حجم ۱۰ ماکرولیتر رسید. محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و سپس برای آماده‌سازی مرحله بعد به مدت ۲ دقیقه بر روی یخ قرار داده شد. در ادامه میزان ۱۰ ماکرولیتر از ترکیب محلول cDNA synthesis mix به آن اضافه شد؛ سپس در صورت استفاده از پرایمر رندوم هگزامر یک مرحله انکوباسیون با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه اعمال گردید در غیر این صورت از این مرحله چشم‌پوشی شد و سپس محلول حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد.

سپس محلول cDNA حاصل به مقدار ۲۰ میکرولیتر به نسبت ۱ به ۵ رقیق شد سپس به فریزر منفی ۸۰ یا ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

به‌منظور بررسی سطح معنی‌داری بیان ژن‌هایVEGFA ,VEGFR2 از نرم افزار SPSS18 با استفاده از آمار توصیفی (میانگین، میانه، مد، انحراف معیار و ...) و آمار استنباطی به وسیله آزمون‌های تحلیل واریانس آنووا، لون و توکی استفاده شد.

نتایج

در ابتدا میانگین وزن گروه‌های تحقیق از طریق آزمون تحلیل واریانس یک راهه (ANOVA) بررسی شد؛ بدین منظور ابتدا واریانس داده‌ها از طریق آزمون لون بررسی شد سپس با تأیید برابر بودن واریانس‌ها مقدار میانگین، انحراف استاندارد، مقدار F و سطح معنی‌داری گزارش شد. نتایج داده‌ها نشان داد که واریانس داده‌ها برابر است و اختلاف معنی‌داری در میان وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف وجود ندارد (جدول ۳).

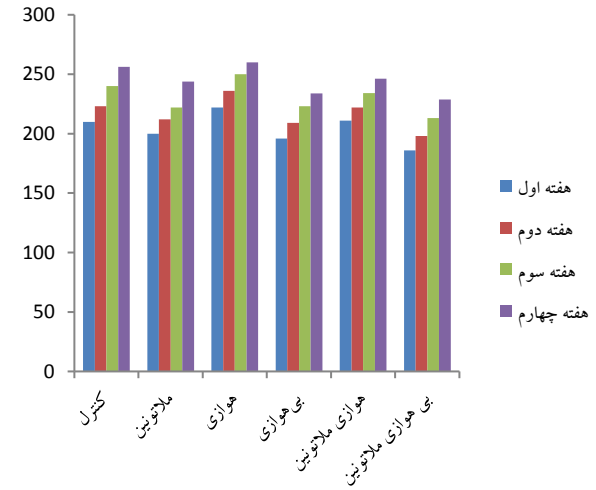
همچنین در گروه پایلوت میزان فیبروز (پیکسل) به‌دست آمده از نرم افزار j در گروه تحت القای ایزوپرنالین و سالم بررسی شد؛ که این نتایج نشان داد میزان فیبروز در گروه ایسکمی ریپرفیوژن با گروه سالم تفاوت معنی‌داری دارد؛ به‌طوری که میزان فیبروز در گروه ایسکمی ریپرفیوژن نسبت به گروه سالم از میانگین فیبروز بیشتری برخوردار است (جدول ۴). این نتایج نشان می‌دهند که تزریق ایزوپرنالین با دوز ۱۵۰ و ۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن در دو روز متوالی توانایی ایجاد فیبروز در قلب رت‌ها را دارد که نشان دهنده سکته قلبی است.

نتایج fold change ژن VEGFA نشان داد که میزان بیان این ژن در گروه هوازی بیشترین افزایش را داشته است (۱٫۳۶ برابر)؛ همچنین بیان این ژن در سایر گروه‌ها غیر از گروه ملاتونین افزایش داشته است. همانطور که در نمودار (۲) نیز مشاهده می‌شود به ترتیب مقادیر گروه هوازی، بی‌هوازی، هوازی ملاتونین و بی‌هوازی ملاتونین از گروه کنترل

بیشتر بوده و تنها مقدار گروه ملاتونین از گروه کنترل کمتر بوده است. نمودار fold change ژن‌های VEGFAدر نمودار ۲ نمایش داده شده اند.

جدول ۳- تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین وزن رت‌ها برحسب گرم در گروه‌های تحقیق

گروه‌های تحقیق	میانگین (g)	انحراف استاندارد	لون	F	Sig
کنترل	۲۵۶,۲۵	۱۷,۹۶	۰,۵۵	۰,۷۲	۰,۶۱۷
ملاتونین	۲۴۳,۷۵	۴۴,۶۰			
هوازی	۲۶۰	۲۴,۴۹			
بی‌هوازی	۲۳۳,۷۵	۲۸,۶۸			
هوازی ملاتونین	۲۴۶,۲۵	۱۷,۹۶			
بی‌هوازی ملاتونین	۲۲۸,۷۵	۳۰,۱۰			

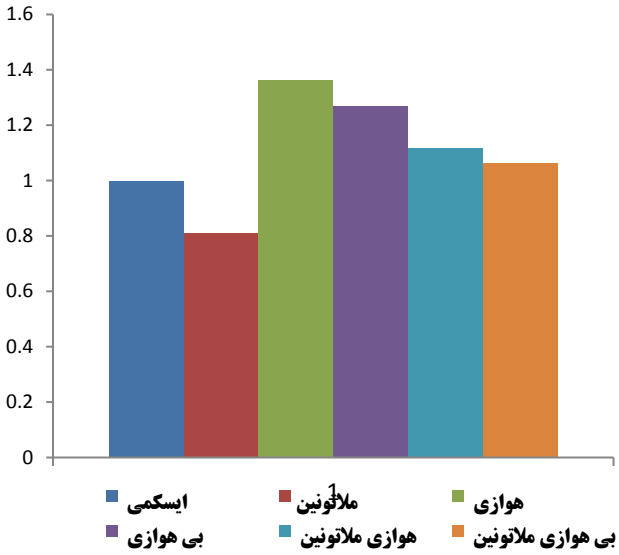


نمودار ۱- وزن رت‌ها بر حسب گرم درگروه‌های تحقیق در طول یک ماه

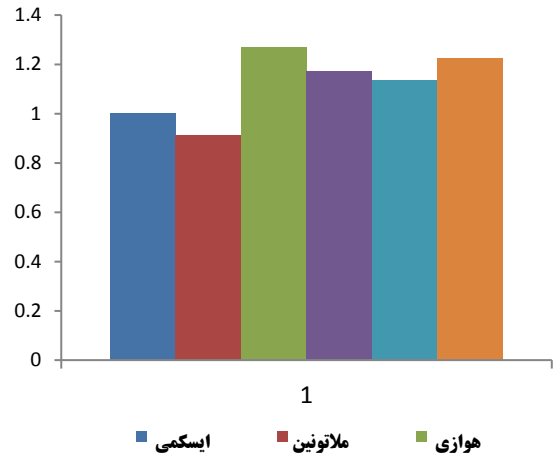
جدول ٤) آزمون تی مستقل برای تفاوت میانگین فیبروز (پیکسل) در گروه ایسکمی ریپرفیوژن و سالم

شاخص آماری / گروه	تعداد	میانگین فیبروز	انحراف معیار	لون	Sig
ایسکمی ریپرفیوژن	۷	۱۰۷,۸۵	۱۱,۹۵	۰,۰۹۸	۰,۰۰
سالم	۷	۲۴,۵۷	۱۷,۱۷		

نتایج fold change ژن VEGFR2 نشان داد که میزان بیان این ژن در گروه هوازی بیشترین افزایش را داشته است (۱,۲۷ برابر)؛ در بقیه گروه‌ها غیر از گروه ملاتونین شاهد افزایش fold change ژن VEGFR2 بودیم. به طوری که این افزایش به ترتیب در گروه تمرین هوازی، بی‌هوازی ملاتونین، بی‌هوازی و هوازی ملاتونین از بیشتر به کمتر جریان داشته است و تنها fold change این ژن در گروه ملاتونین پایینتر از گروه ایسکمی گزارش شده است. نمودار fold change ژن‌هایVEGFR2 در نمودار۳ نمایش داده شده‌اند.



نمودار ۲- نمودار fold change ژن VEGFA



نمودار ۳) نمودار fold change ژن VEGFR2

الف) بررسی تأثیر پیش‌آماده‌سازی تمرین هوازی و بی‌هوازی با مکمل ملاتونین بر بیان ژن VEGFA میوکارد رت نر پس از ایسکمی- ریپرفیوژن.

با توجه به نتایج جدول ۵ مقدار سطح معنی‌داری آزمون برابر۰/۹۳۳ از میزان خطای مجاز ۰,۰۵ بیشتر است بنابراین بدان معنی است که میزان بیان ژن VEGFA در گروه‌های تحقیق تغییرات معنی‌داری نداشته است؛ اما با مشاهده اختلاف میانگین‌ها می‌توان عنوان نمود که تمرینات هوازی بیشترین تأثیر را بر بیان ژن VEGFA میوکارد رت نر پس از ایسکمی- ریپرفیوژن داشته است و همچنین با توجه به اینکه میانگین گروه ملاتونین از گروه کنترل کمتر بوده است بنابراین تأثیر ملاتونین بر

بیان ژن VEGFA میوکارد رت نر پس از ایسکمی–ریپرفیوژن نتیجه معکوس داشته است.

جدول ۵- آزمون تحلیل واریانس مقادیر بیان ژن VEGFA در گروه‌های تحقیق

متغیر تحقیق	گروه‌های تحقیق	میانگین	انحراف استاندارد	F	Sig
2-ΔΔCTVEGFA	کنترل	۱	۰,۷۵۶۹	۰,۰۸۸	۰,۹۳۳
	ملاتونین	۰,۸۱۰۱۹۳	۰,۳۱۲۷		
	هوازی	۱,۳۶۱۷۵۲	۱,۲۶۸۳		
	بی‌هوازی	۱,۲۶۸۹۷۱	۱,۱۲۷۷		
	هوازی ملاتونین	۱,۱۱۷۶۱۶	۰,۸۰۱۴		
	بی‌هوازی ملاتونین	۱,۰۶۴۸۸۶	۰,۸۲۰۵		

ب) بررسی تاثیر پیش‌آماده‌سازی تمرین هوازی و بی‌هوازی با مکمل ملاتونین بر بیان ژن پروتئین VEGFR2 میوکارد رت نر پس از ایسکمی– ریپرفیوژن

با توجه به نتایج جدول ۶ مقدار سطح معنی‌داری آزمون برابر ۰/۹۹۴ از میزان خطای مجاز ۰/۰۵ بیشتر است بنابر این می‌توان گفت که که میزان بیان ژن VEGFR2 در گروه‌های تحقیق تغییرات معنی‌داری نداشته است؛ اما با مشاهده اختلاف میانگین‌ها می‌توان عنوان نمود که تمرینات هوازی بیشترین تأثیر را بر بیان ژن VEGFR2 میوکارد رت نر پس از ایسکمی– ریپرفیوژن داشته است و تأثیر ملاتونین بر بیان ژن VEGFR2 میوکارد رت نر پس از ایسکمی– ریپرفیوژن نتیجه معکوس داشته است.

جدول ٦) آزمون تحلیل واریانس مقادیر بیان ژن VEGFR2 در گروه‌های تحقیق

متغیر تحقیق	گروه‌های تحقیق	میانگین	انحراف استاندارد	F	Sig
2-ΔΔCTVEGFA	کنترل	۱	۰,۶۱۷۸	۰,۰۸۳	۰,۹۹۴
	ملاتونین	۰,۹۱۰۵۶۶	۰,۷۲۰۹		
	هوازی	۱,۲۶۸۶۸۱	۰,۶۶۶۳		
	بی‌هوازی	۱,۱۷۰۱۴۳	۱,۱۸۹۴		
	هوازی ملاتونین	۱,۱۳۶۱۵۱	۰,۷۲۱۵		
	بی‌هوازی ملاتونین	۱,۲۲۵۳۰۸	۰,۷۱۰۷		

بحث

نتایج گروه پایلوت نشان داد میزان وقوع فیبروز در گروه ایسکمی ریپرفیوژن نسبت به گروه سالم بیشتر است. به عبارت دیگر تزریق داروی ایزوپرنالین با دوز ۱۵۰ و ۱۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دو روز متوالی توانایی ایجاد فیبروز در میوکارد رت‌ها را دارد. زیرا مکانیزم ایجاد ایسکمی میوکارد با القای ایزوپرنالین شامل مواردی نظیر افزایش پراکسیداسیون لیپید، افزایش رادیکال‌های آزاد، کاهش آنتی اکسیدان‌ها، افزایش تجمع لیپید، تحریک زیاد گیرنده β1 میوکارد، افزایش کلسیم درون سلولی و نکروز همراه با انتشار التهاب می‌شود؛ که همه این عوامل به آسیب غشای سلول منجر می‌گردند. در نهایت آسیب غشای سلول منجر به رهایش آنزیم‌های درون سلولی و آسیب میوکارد می‌شود (۱۶). بنابراین می‌توان تزریق ایزوپرنالین را با دوز ۱۵۰ و ۱۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را برای گروه‌های دیگر تحقیق برای القای ایجاد ایسکمی ریپرفیوژن بکار برد.

سایر گروه‌های تحقیق به مدت یک هفته با دویدن بر روی تردمیل آشنا شدند؛ سپس پروتکل تمرین هوازی و بی‌هوازی اجرا شد؛ ضمناً گروه‌های هوازی ملاتونین و بی‌هوازی ملاتونین در مدت یک ماه تمرین نیز تحت عمل گاواژ ملاتونین قرار داشتند. در پایان یک ماه رت‌ها به مدت دو روز استراحت کردند سپس تحت تزریق داروی ایزوپرنالین برای ایجاد ایسکمی ریپرفیوژن قرار گرفتند و بعد از دو روز بطن چپ رت‌ها خارج گردید. سپس میزان بیان ژن VEGFA و VEGFR2 رت‌ها با استخراج RNA و با تکنیک ریل تایم اندازه‌گیری شد. نتایج تحقیق نشان داد که میزان بیان ژن VEGFAدر گروه هوازی (۱/۳۶ برابر) افزایش داشته است. همچنین این میزان در گروه‌های بی‌هوازی، هوازی ملاتونین و بی‌هوازی ملاتونین افزایش داشته و تنها در گروه ملاتونین کاهش نسبت به گروه ایسکمی مشاهده شد. در ادامه نتایج تحلیل واریانس نشان داد از نظر آماری افزایش و کاهش بیان ژن VEGFA معنی‌دار نیست (سطح معنی‌داری ۰/۹۳۳). دیگر یافته‌های پژوهشی نشان داد میزان بیان ژن VEGFR2در گروه‌های هوازی، بی‌هوازی، هوازی ملاتونین و بی‌هوازی ملاتونین افزایش داشته است و در گروه ملاتونین دچار کاهش شده است، اما این اختلاف داده‌ها معنی‌دار نبودند.

به عبارت دیگر اصلی‌ترین یافته پژوهش حاضر این است که تمرینات هوازی و بی‌هوازی موجب کاهش حجم آپوپتوز میوکارد پس از ایسکمی ریپرفیوژن ناشی از تزریق ایزوپرنالین می‌شود. زیرا ایسکمی موجب سلسله رویدادهایی مانند کاهش اکسیژن و مواد غذایی سلول و متعاقباً افزایش کلسیم، لاکتات.

تشکر و قدردانی

مقاله حاصل منتج از رساله دکتری اینجانب در سال ۱۳۹۶ بوده است. بدینوسیله از استادان راهنمای خود آقایان دکتر دهخدا، دکتر معتمدی و دکتر رجبی کمال تشکر را دارم.

References

1. Luongo, Fosi, Casper, Husser, Jamison, Loscalos (2012), Principles of Harrison's Internal Medicine - Cardiovascular Diseases. Translators: Goodarzin Nezhad, Hamid Reza, Khodaei, Masoud, Razaghi, Sarah (2012). Tehran, Arjomand, Eighteenth Edition.

2. Marcus, S. Cooke, mark D. evans, miral dizdaroglu, joseph lunec. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. The FASEB Journal. Vol. 17 July. PP. 1195-1214.

3. Rahimi Mostafa, Asgari Alireza, Khoshbatan Ali (1393). The role of pre-preparation with exercise activity in cardiovascular protection against ischemic-reperfusional hemorrhage. Physiology and Pharmacology, No. 18, May 2014, 122-143.

4. Ehrman, Jonathan K, Clinical exercise physiology, 2nd ed, c2009, translate by: Hojati , Arazi, Rahmani- First edition- Research Institute for Physical Education and Sport Sciences, Publications, 2012.

5. Farhrod Dariush, Tahurgar Atefeh (2013) Melatonin hormone, metabolism and its clinical effects. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, 2010, Vol. 22, No. 223 -211 July 2013.

6. Paradis, P. Charles, Meyer, A. Lejay, A. Scholey, J. Chakfé, N. Zoll, J. and Geny, B. (2016). Chronology of mitochondrial and cellular events during skeletal muscle ischemia-reperfusion. Am J Physiol Cell Physiol. 310(11): PP. 968-82.

7. Petrosillo, G. Venosa, N. Pistolese, M. Casanova, G. Tiravanti, E. Colantuono, G. Federici, A. Paradies, G. Ruggiero, F. (2006).

8. Forman, K. Vara, E. Garcıa, C. Kireev, R. Cuesta, S. Acuna-Castroviejo, D. Tresguerres J. A. F. (2010). Beneficial effects of melatonin on cardiological alterations in a murine model of accelerated aging. J Pineal Res. 49(3): PP. 312-20.

9. Taheri, Chadorneshin. Hossein, Abtahi Evi, Hossein, Mottaghi, Urban, Mohammad Reza (2012). Oxidants and antioxidants in exercise. Marandiz Publishing, First Printing.

10. Khajeh Landi Ali. Jafari Hossein Mohammadi Damieh Amin. Parvin Brzydh. (1392). The Effect of Two Types of Aerobic Exercise Exercise Testing on the Effects of Thermal Shock Protein Levels in Young Women. Journal of Arak University of Medical Sciences. Year 16, Issue 5 (Serial No. 74), August 2013.

11. Mogharnasi, Mehdi, Ga'ini, Abbas Ali, Sheikholeslami Vatani, Dariush (2009). Comparison of the effect of two methods of aerobic and aerobic exercise on some of the pre-inflammatory cytokines in adult male rats. Journal of Endocrine and Metabolism of Iran. Shaheed Beheshti University of Medical Sciences & Health Services, Vol. 11, No. 2, pp. 191-198.

12. Porkhaleili Khalil, Hajizadeh Sohrab, Khoshbakhtan Ali, Tarihighi, Esmaeili Dadeh Mansour, Bigdeli Mohammad Reza (2008) The role of pre-preparation with hyperactivity in cardiac arrhythmias and arrhythmias following ischemic-recurrent injury. Kowsar Medical Journal ,2008 No. 3.

13. Sagittarius Michael S.Exercise cardiopulmonary function in cardiac patients, c2012 Translators: Darynaush, Farhad, Maheshab, Mahshid, Nadarian, Ishaq, Shahi, Shirin, Hosseini, Mehran, Kamali, Maliheh. Tehran Publishing Hatami, First edition.

14. Rodriguez, C. Mayo, JC. Sainz, RM. Antolín, I. Herrera, Martín V. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. J Pineal Res; 36: PP. 1-9.

15. Rezaei, Nourzahi, Bigdeli, Khodagoli, Ghorbast, (1394) The effect of eight weeks of continuous and periodic aerobic exercise on VEGF-A and VEGFR-2 levels of male brain Wistar rats,no.14 1394 Scientific-Research Ministry of Science (ISC) (10 pages - from 1213 to 1222).

16. Vibha, L. Asdaq, S.M.B. Nagpal, S. Rawri, R.K. (2011). Protective Effect of Medicinal Garlic Against Isoprenaline Induced Myocardial Infarction in Rats. International Journal of Pharmacology, 7: 510-515.

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2018; Vol 13, No 3

DOI: 10.22100/jkh.v13i3.2056

Original Article

The Effect of Aerobic and Anaerobic Exercise along with Melatonin consumption on VEGFA and VEGFR2 Gene expression of rats Myocardialafter Ischemiareperfusion

Kambiz Moradidehbaghi (Ph.D.)[1], MohammadReza Dehkhoda (Ph.D.)[1], Pezhman Motamedi (Ph.D.)[1], Hamid Rajabi (Ph.D.)[1], Mohammad Nabioni (Ph.D.)[1]

1. Excersice Physiology, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Received: 22 October 2018**, Accepted:** 4 December 2018

Abstract:

Introduction: *One of the causes of cardiovascular disease is physical inactivity and consuming oxidant foods. Therefore, the purpose of present study is evaluating the effect of aerobic and anaerobic exercise with the using melatonin on VEGFA and VEGFA2 gene expression of rats after reperfusion ischemia.*

Methods: *38 Wistar male rats aged between 2 to 3 month and weighing from 200 to 260 grams, were divided into seven groups including, pilot (n=14), control (n=4), Melatonin (n=4), aerobic exercise (n=4), anaerobic exercise (n=4), melatonin aerobic exercise (n=4) and melatonin anaerobic exercise (n=4). The pilot group was divided into two groups of ischemia and healthy for confirmation of myocardial fibrosis. Melatonin groups were gavaged by 10 mg per kg of body weight for one month. And then aerobic exercise group, anaerobic exercise, melatonin aerobic exercise, and melatonin anaerobic exercise were placed under the one-month training period such that the exercise was three times a week on the treadmill. At the end of one month, all rats were injected with isoprenaline for two consecutive days with an interval of 24 hours for induction of ischemia. Finally, the VEGFA and VEGFA2 gene expression was done using Real-time method. Results of the research were analyzed using 2^(-ΔΔct) formula, and one way variance Analysis test of ANOVA, Loon and Tuky.*

Result: *Aerobic exercise and anaerobic exercise treatment separately, had an increasing effect on VEGFA and VEGFR2 gene expression, separatelybut their impact was not statistically significant. Other groups, except melatonin, also increased the expression of these genes. Melatonin could reduce the expression of the VEGFA and VEGFR2 gene.*

Conclusion: *Long-term aerobic and anaerobic exercise, if fitted, can reduce the amount of myocardial infarction.*

Keywords: Aerobic exercise, Anaerobic exercise, Melatonin, VEGFA and VEGFR2 gene, Ischemia

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** K. Moradidehbagh**, Email:** kmoradi2013@gmail.com.

Citation: Moradidehbaghi K, Dehkhoda M, Motamedi P, Rajabi H, Nabioni M. The effect of aerobic and anaerobic exercise along with melatonin consumption on VEGFA and VEGFR2 gene expression of rats myocardialafter ischemiareperfusion. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2018;13(3):50-59.