

The Effect of Eight Weeks of Intermittent Rehabilitation Training with Quercetin Nanoliposome on the Apoptotic Indices of P₃₈ and MK₂ in Male Rats with Isoproterenol Induced Myocardial Infarction Model

Ahmadi S¹, Taghian F², Jalali Dehkordi Kh², Kargarfard M³

- 1- PhD student, Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
- 3- Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Abstract

Received: 2023.12.27 Accepted: 2024.02.07

Purpose: Quercetin is effective in the rehabilitation and treatment of apoptosis caused by cardiac ischemia, however, due to its low solubility in water, it is not suitable for clinical application, which can be improved by turning it into nanoparticles. The present study was designed to determine the effect of liposome nanoparticles with quercetin on apoptotic indices P₃₈ and MK₂ and its mechanisms in the rehabilitation of ischemic heart damage in rats.

Methods: 30 rats weighing 250±20 grams (aged 6-8 weeks) were randomly divided into five groups (healthy, sick, sick+supplement, sick+exercise and sick+exercise+supplement). Myocardial infarction was performed with isopronalin as a subcutaneous injection. Supplemental gavage was performed after training (8 sessions of aerobic training including: 5 days of training per week, which includes 7 intervals) and it was performed with a dose of 10 mg/kg of body weight of mice in the supplement receiving groups for eight weeks in the supplement receiving groups 48 hours after the last training session. The expression level of P₃₈ and MK₂ genes was measured by Real-Time PCR method. Data analysis was done with one-way analysis of variance, ANOVA, and Tukey's test at a significance level of p<0.05.

Results: The expression of the MK₂ gene in the heart tissue in the exercise and supplement groups decreased significantly, and this decrease was greater in the exercise and supplement consumption group (P=0.0001). However, in the expression of the P₃₈ gene in the exercise and supplement groups, no significant decrease was found (P=0.0516).

Conclusion: The consumption of nanoliposomal quercetin along with intermittent exercises significantly increased the effect of quercetin in reducing the expression of MK₂ gene, which prevents the activation of the P₃₈-MK₂ complex, therefore it has a protective effect on cardiac tissue after ischemic damage.

Keywords: Quercetin, Interval Training, MK₂, P₃₈, Infarction

تاثیر هشت هفته تمرین بازتوانی تناوبی به همراه نانولیپوزوم کوئرتستین بر شاخص های آپوپتوزی P₃₈ و MK₂

موش های صحرائی نر مدل انفارکتوس قلبی القاء با ایزوپروترونول

سجاد احمدی^۱، فرزانه تقیان^۲، خسرو جلالی دهکردی^۲، مهدی کارگرفرد^۳

هدف: کوئرتستین در بازتوانی و درمان آپوپتوز ناشی از ایسکیمی قلب مؤثر است، اما به دلیل حلالیت کم در آب کاربرد بالینی مناسبی ندارد که می توان با تبدیل به نانو ذره اثر آن را بهبود بخشید، از این رو مطالعه حاضر برای تعیین اثر نانوذرات لیپوزوم با کوئرتستین بر شاخص های آپوپتوزی P₃₈ و MK₂ و مکانیسم های آن در بازتوانی آسیب ایسکمی قلبی در موش صحرائی طراحی شده است.



Copyright © 2023 Mashhad University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

► Please cite this article as: Ahmadi S, Taghian F, Jalali Dehkordi Kh, Kargarfard M. The Effect of Eight Weeks of Intermittent Rehabilitation Training with Quercetin Nanoliposome on the Apoptotic Indices of P₃₈ and MK₂ in Male Rats with Isoproterenol Induced Myocardial Infarction Model. JPSR 2023; 13(1): 42-55. DOI: 10.22038/JPSR.2024.77109.2593.

روش بررسی: ۳۰ سر موش صحرایی با وزن 20 ± 25 گرم و سن ۸-۶ هفته به طور تصادفی به پنج گروه (سالم، بیمار، بیمار+مکمل، بیمار+تمرین و بیمار+تمرین+مکمل) تقسیم شدند. سکنه قلبی با ایزوپروپرانولین به صورت تزریق زیرپوستی انجام شد. گاوژ مکمل بعد از تمرین (۸ جلسه تمرین هوازی شامل: ۵ روز تمرین در هفته، شامل: ۷ تناوب اینتروال) و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها در گروه‌های دریافت مکمل به مدت هشت هفته انجام شد. بافت قلب ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تحت شرایط استریل جدا شد. میزان بیان ژن های P38 و MK2 با روش ریل تایم (Real-Time PCR) اندازه‌گیری شد. تجزیه تحلیل داده‌ها با آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه، آنووا و توکی و در سطح معنی داری ($p < 0.05$) انجام شد.

یافته‌ها: بیان ژن MK2 در بافت قلب در گروه‌های تمرینی و مکمل به طور قابل توجهی کاهش یافت که این کاهش در گروه تمرین و مصرف مکمل همزمان، بیشتر بود ($p = 0.001$) اما در بیان ژن P38 در گروه‌های تمرینی و مکمل کاهش معنی داری یافت نشد ($p = 0.516$).

نتیجه‌گیری: مصرف نانولیپوزم کوئرستین به همراه تمرینات تناوبی به طور قابل توجهی اثر کوئرستین را در کاهش بیان ژن MK2 افزایش داده که از فعال شدن کمپلکس P38_MK2 جلوگیری می‌کند، بنابراین اثر محافظتی بر بافت قلبی در پی آسیب ایسکمی دارد.

کلمات کلیدی: کوئرستین، تمرین تناوبی، MK2، P38، انفارکتوس

نویسنده مسئول: فرزانه تقیان، ft.taghian@gmail.com ORCID: 0000-0001-9531-2952

آدرس: اصفهان، بلوار ارغوانیه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲- دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۳- استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

نامیده می‌شوند. مسیر P38 آپوپتوز را تنظیم می‌کند و فعال سازی آن نقش اساسی در مرگ سلول‌های قلبی در معرض آسیب ایسکمی ری‌پرفیوژن دارد. بنابراین، مهار این مسیر باعث کاهش آپوپتوز میوکارد شده و به طور موثر پیشرفت نارسایی قلبی را کاهش می‌دهد که این امر برای بازسازی پاتولوژیک قلب ضروری است. از این رو، درک نقش‌های خاص سلول در زیرگروه‌های P38 در تنظیم بازسازی قلب بسیار مهم است (۳، ۴). پس از فعال شدن P38، پیام به مؤلفه‌های سطح پایین‌تر منتقل می‌شود. بسترهای مهم پایین دست در مسیر پیام‌دهی P38 کینازهای MK2 و همچنین فاکتورهای مختلف رونویسی هستند.

پروتئین کیناز ۲ فعال شده با MAPK (MK2) یکی از اهداف پایین‌دستی مسیر P38 و عضوی از خانواده سرین/ترئونین-پروتئین کیناز می‌باشد که توسط P38 فسفوریله و فعال می‌شود، علاوه بر این، کمپلکس P38/MK2 می‌تواند یکدیگر را تثبیت کنند. به هر حال MK2 به عنوان یک عامل پیش التهابی به شمار می‌رود و فعالیت آن به نوبه خود می‌تواند بقای سلول، آپوپتوز،

آسیب ایسکمی ری‌پرفیوژن (گرفتگی/بازریزش مجدد خون) میوکارد (عضله قلب) نمادی از یک ناهنجاری شدید است که اغلب منجر به آسیب قلبی عروقی یا اختلال عملکردی آن شده و آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده) قلب را فعال می‌کند که به عنوان یک عامل مشخص در دوره بیماری ایسکمی قلب شناخته می‌شود. تحقیقات نشان داده است که آپوپتوز قلب بخشی اصلی پاتوژنز بیماری میوکارد را به خود اختصاص می‌دهد و مسیر پیام‌دهی پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (Mitogen-Activated Protein Kinase; MAPK) نقش مهمی در آسیب قلبی و نیز بازسازی آن دارد (۱). مسیر MAPK تقاطع یا نقطه مشترک اطلاعات سلولی بوده که از سلولی به سلولی دیگر منتقل می‌شود (۲) که مسیر P38 بخش اصلی آن می‌باشد. پیام‌دهی P38 به شدت توسط استرس‌های محیطی و سایتوکاین‌های التهابی فعال می‌شود و از آنجایی که کینازهای P38 توسط محرک‌های مختلف استرس‌زا از جمله گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن فعال می‌شوند کینازهای پروتئینی فعال شده توسط استرس

زیادی هستند، بارگذاری کوئرتستین با نانولیپوزم به بهبود جذب و آزاد شدن کوئرتستین در ارگانسیم‌ها کمک می‌کند (۱۴). بغیر از آنتی‌اکسیدان‌ها، تمرینات ورزشی نیز به نوبه خود می‌توانند بر شرایط بعد از آسیب قلبی اثرگذار باشند.

مزایای تمرینات ورزشی هوازی برای بیماران مبتلا به انفارکتوس قلبی در پژوهش‌های گذشته به خوبی بیان شده است (۱۶، ۱۵). سازگاری قلبی با تمرینات هوازی دلیل اصلی بهبود عملکرد بیماران مبتلا به ایسکیمی میوکارد پس از توانبخشی قلبی است، اگرچه سایر عناصر نیز ممکن است در این امر نقش داشته باشند (۱۷). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مسیر P38 و متعاقب آن MK2 در طول شرایط التهابی ثانویه بعد از استرس اکسیداتیو، آپوپتوز سلولی و اختلالات متابولیک در عضله قلب تولید می‌شود و تمرینات ورزشی هوازی قادر به کاهش سطح آن‌ها می‌باشد (۱۸).

تمرینات ورزشی یک استراتژی غیر دارویی است که قادر به کاهش عوامل خطرزای قلبی عروقی و محافظت از قلب است (۱۹). از نظر سلولی و مولکولی، تمرینات ورزشی نه تنها عملکرد میتوکندری و کنترل کیفیت میتوکندری را تقویت می‌کند بلکه مانع آپوپتوز نیز می‌شود (۲۰). به همین دلیل، مطالعات در مورد اثرات ورزش عمدتاً در سطح سلولی و مولکولی در عضله قلبی و اسکلتی انجام شده است. چند مطالعه نشانگرهای مهم آپوپتوز در رابطه با یک دوره تمرین ورزشی را گزارش کرده اند. در واقع، تمرین ورزشی حاد منجر به افزایش پروتئین‌های پیش آپوپتوزی و شاخص‌ها آپوپتوزی می‌شود که این نتایج ممکن است به دلیل شدت تمرین ورزشی باشد (۲۱). مطالعات قبلی بیان نموده اند که بین فعال سازی مسیر آپوپتوزی MAPK و تمرین ورزشی ارتباط وجود دارد اما این که آیا مسیر MAPK مسئول ایجاد سرنوشت متابولیک عضله است، مشخص نیست (۲۲). در این راستا Chen و همکاران (۲۳) در پژوهش خود این طور بیان کردند که تمرین ورزشی در موش‌ها باعث ایجاد سطح بالایی از واسطه‌های ضدالتهابی می‌شود و می‌تواند از طریق تنظیم پیام‌دهی کمپلکس P38/MK2 از قلب در برابر التهاب به واسطه تأثیر مثبت بر میتوکندری در برابر آسیب ایسکمی-ری پرفیوژن محافظت کند (۲۳). تحقیقات نشان می‌دهد که مسیر P38/Mk2 واسطه کلیدی افزایش ظرفیت

تکثیر، تمایز و ثبات mRNA را تنظیم کند (۵). همچنین، MK2 در تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن از طریق مسیرهای پیام‌دهی P38 نقش اساسی دارد. ژن MK2 توسط P38 در پاسخ به محرک‌های استرس تحریک می‌شود، به این صورت که P38 پس از فعال شدن وارد هسته شده و به MK2 متصل می‌شود و در نقاط مختلف MK2 را فسفوریله می‌کند. شواهد نشان می‌دهد که اثرات التهابی P38 با واسطه MK2 انجام می‌شود (۶). هنگامی که ژن MK2 توسط P38 فعال شد سطح بیان و فعالیت آن به طور قابل توجهی بالاتر از سایر کینازهای پایین دست P38 می‌رود. از طرفی کاهش پروتئین کیناز MK2 و یا حذف هدفمند آن منجر به ایجاد یک فنوتیپ پیچیده می‌شود که با کاهش سطح P38 در اکثر بافت‌ها به ویژه در قلب همراه می‌شود (۷). بنابراین، مهار کمپلکس P38_MK2 در جلوگیری از بیماری‌های التهابی کارآمد است که نه تنها از نظر دارویی بلکه از طریق مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی نیز قابل دستیابی است (۸).

فلاونوئیدها (Flavonoid) ترکیبات طبیعی و دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی هستند که به طور گسترده در انواع گیاهان یافت می‌شوند و مصرف آن‌ها با کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است. کوئرتستین یک ترکیب فلاونوئیدی با ارزش در درمان بیماری‌های قلبی عروقی است (۹). این فلاونوئید با تنظیم التهاب، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز سلول‌های قلبی از خاصیت محافظتی بالایی در برابر آسیب ایسکمی‌ری پرفیوژن قلبی برخوردار است و می‌تواند از طریق مسیر MAPK در تنظیم آپوپتوز و سایر عملکردهای بیولوژیکی شرکت کند (۱۰). Sarhan و Firgany (۱۱) در پژوهش خود عنوان کردند کوئرتستین با سرکوب مسیر P38 و اهداف پایین دستی آن باعث کاهش آپوپتوز می‌شود اما به دلیل حلالیت کم در آب، نیمه عمر کوتاه و قابلیت انتقال و دسترسی زیستی ضعیف، کوئرتستین در کاربردهای بالینی درمان بیماری‌های قلبی عروقی دارای محدودیت می‌باشد (۱۲)، که برای غلبه بر این نقایص و بهبود اثرات آن در درمان بیماری‌های قلبی عروقی به نانوذره تبدیل می‌شود (۱۳). به دلیل اینکه نانوذرات لیپوزوم (Liposome) مواد متخلخل با مزایای ساختار پایدار، خواص شیمیایی بالا، سطح غنی و قابلیت پراکندگی

به چهار گروه بیمار (۶ سر)، بیمار + مکمل (۶ سر)، بیمار + تمرین (۶ سر) و بیمار + تمرین + مکمل (۶ سر) تقسیم شدند.

نحوه ایجاد مدل ایسکیمی

پس از سازگاری حیوانات مورد آزمایش با محیط، به منظور القاء مدل ایسکیمی در موش‌ها، بر اساس پژوهش انجام گرفته توسط Sharma و همکاران (۲۷)، ایزوپروترونول ساخت شرکت SIGMA-ALDRICH با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت محلول در حلال سدیم کلراید ۰/۹ درصد به صورت تزریق زیرپوستی انجام شد. سپس القاء سکتة قلبی طبق پروتکل‌های استاندارد تعیین شد (۲۸). به این منظور به صورت تصادفی تعدادی از موش‌ها ۴۸ ساعت بعد از القاء سکتة بی‌هوش شدند و نمونه‌های بافت قلب از بطن چپ آن‌ها با استفاده از تکنیک‌های هیستوشیمیایی رنگ آمیزی هوماتوکسیلین ائوزین مورد بررسی قرار گرفت که ظهور مناطق سفید رنگ نشان دهنده آسیب نکرولی ناشی از سکتة قلبی در بافت قلب تأیید شد.

پروتکل تمرینی

پیش از اجرای برنامه تمرینی، گروه‌های تمرین ترمیم با دویدن به مدت ۵ روز متوالی با سرعت ۱۰ متر در دقیقه با شیب صفر درصد و به مدت ۱۰ دقیقه با نوارگردان ۵ کاناله آشنا شدند و پس از آن تمرین هوازی ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته که شامل ۷ تناوب اینتروال (هر تناوب شامل ۴ دقیقه با شدت ۹۰-۸۰ درصد VO_2Max و ۳ دقیقه با شدت ۶۵-۷۵ درصد VO_2Max) انجام شد، در ابتدای هر جلسه تمرین ۱۰ دقیقه گرم کردن و در انتها هم ۵ دقیقه سرد کردن لحاظ شده بود (جدول ۱). لازم به ذکر است در طول برنامه تمرینی از هیچ‌گونه شوک تمرینی استفاده نشد و در صورت لزوم با استفاده از دست و یا ایجاد محرک صوتی بر روی درپوش ریل‌های نوارگردان، حیوانات مجبور به ادامه تمرین شدند (۲۹).

نحوه مکمل‌دهی

پس از هر جلسه تمرینی و راس ساعت ۱۲ ظهر مکمل نانوذره کوئرستین ساخت شرکت سیگما با کد ۴۹۵۱Q در حلال نرمال سالین به نسبت ۱ به ۱ مخلوط و با دوز ۱۰

اکسیدانی در پاسخ به تمرین تناوبی هوازی می‌باشد. اگرچه مسیره‌های پیام‌دهی دقیق درگیر در پاسخ تمرینات اینتروال شدید (High Intensity Interval Training; HIIT) مشخص نیست (۲۴). شواهد نشان می‌دهد که $P38/MK2$ در پایین دست CaMKII در یک مسیر پیام‌دهی است که از طریق آن افزایش کلسیم سیتوزولی منجر به افزایش PGC-1 می‌شود و مهار این مسیر از افزایش کلسیم در بیوژنز میتوکندری جلوگیری می‌کند (۲۵). بنابراین، پیام‌دهی از طریق مسیر $P38/MK2$ و به PGC-1a ممکن است تا حدودی منجر به بازسازی متابولیک ناشی از تمرینات ورزشی تناوبی شدید، از جمله بیوژنز میتوکندری و افزایش ظرفیت برای اکسیداسیون گلوکز و اسیدهای چرب شود (۲۶).

با توجه به اینکه اثرات فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی تمرینات ورزشی بر شاخص‌های آپوپتوزی به خوبی شناخته شده نیست این پژوهش برای ارائه راهکار پیشنهادی درخصوص پیشگیری از آسیب ایسکیمی‌ری-پرفیوژن به بررسی تاثیر تمرین ورزشی تناوبی و همچنین نانو ذره کوئرستین به عنوان یکی از قوی‌ترین آنتی-اکسیدان‌های موجود بر مسیرهای پیام‌دهی کمپلکس $P38/MK2$ به عنوان مهمترین مسیر درگیر در فعال‌سازی آپوپتوز سلول‌های قلبی طراحی گردید که این امر به نوبه خود می‌تواند برخی ابهامات در مورد آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها در افراد مبتلا به آسیب ایسکیمی قلبی را مشخص نماید.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی-کاربردی بوده و به منظور انجام آن از ۳۰ سر موش صحرایی نر سالم ۸-۶ هفته‌ای با میانگین وزنی 20 ± 25 گرم که از انیستیتو پاستور تهیه شده بودند استفاده شد. حیوانات در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای 23 ± 3 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 10 درصد و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی و با دسترسی آزاد به آب و غذا و در قفس‌های مخصوص پلی‌اتیلنی ۶ تایی نگهداری شدند. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید، ابتدا موش‌ها به صورت تصادفی به دو گروه شاهد سالم (۶ سر) و القای سکتة (۲۴ سر) تقسیم شدند. پس از القای سکتة مجدداً موش‌های این گروه به طور تصادفی

جدول ۱: پروتکل تمرینی

تکرار	مدت تمرین (دقیقه)	Vo ₂ max (%)	سرعت (متر بر دقیقه)	نوع فعالیت	هفته
	۱۰	۵۵-۵۰	۱۰	گرم کردن	۱-۸
۷ تکرار	۴	۹۰-۸۰	۲۵	تمرین اینتروال	
۴۹ دقیقه	۳	۷۵-۶۵	۱۵	استراحت بین هر ست	
	۵	۲۰	۵	سرد کردن	

آمریکا) و به وسیله پرایمرهای سیناکلون به cDNA تبدیل گردید.

مرحله Real-Time qPCR

مرحله نگهداری شامل یک سیکل ۱۵ دقیقه ای در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، مرحله چرخش شامل ۳ سیکل ۴۰ تایی به ترتیب با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، به مدت ۱۵ دقیقه، دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، به مدت ۳۰ دقیقه و مرحله Melt شامل یک سیکل در دمای بین ۹۵-۶۰ درجه سانتیگراد انجام شد. PCR توسط دستگاه ABI Stepone ساخت کشور آمریکا و مسترمیکس سایبرگرین Amplicon ساخت کشور دانمارک و به صورت سه بار تکرار (Triplicate) انجام شد. کنترل های منفی فاقد cDNA و فاقد آنزیم جهت بررسی آلودگی و صحت کارایی PCR در تمام آزمایشات لحاظ شد. پرایمرهای مورد نیاز توسط نرم افزار Primer3 طراحی گردید (جدول ۲).

پس از اتمام واکنش PCR، منحنی های تکثیر و ذوب مورد ارزیابی قرار گرفتند و با استفاده از فرمول مخصوص که اساس آن بر پایه بازده و اختلاف در CT می باشد. میزان بیان ژن های P38 و MK2 در هر گروه نسبت به گروه کنترل محاسبه شد. ژن GAPDH به منظور کنترل داخلی لحاظ شد و به منظور بررسی میکروسکوپی بافتی، از روش رنگ آمیزی بافتی استفاده گردید که بافت-ها توسط روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. تجزیه تحلیل داده ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس از آزمون تعقیبی (توکی) برای مقایسه اختلاف بین همه گروه ها استفاده شد. داده ها به صورت میانگین انحراف معیار بیان شده اند. سطح معنی-داری p کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($p < 0.05$)

میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش ها در گروه های دریافت مکمل به مدت هشت هفته گاوژ گردید. اولین روز دریافت مکمل نیز ۲ روز پس از سازگاری با محیط تمرین صورت گرفت (۳۰).

روش نمونه گیری بافت

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش های مورد مطالعه با تزریق داخل صفاقی ۳۰۰ لاندا از مخلوط کتامین ۱۰٪ ساخت شرکت Bremer Pharma کشور آلمان و زایلازین ساخت شرکت Interchemie کشور هلند به نسبت ۱ به ۳ بیهوش شدند و خون گیری از قلب انجام شد پس از باز کردن قفسه سینه، بافت قلب تحت شرایط استریل خارج شد و پس از پاکسازی از بافت چربی و همبند، بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفته و تا انجام آزمایشات در دمای منهای ۸۰ درجه سانتیگراد فیکس و فریز شد. همه نمونه گیری ها در یک روز انجام شد. همچنین نمونه خون ها به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سرم خون جدا شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

به منظور استخراج RNA، ۵۰ میلی گرم از بافت قلبی با اضافه کردن ۳۰۰ میکرولیتر تریزول (کیاژن، آمریکا) هموژن گردید. سپس مراحل مختلف طبق دستورالعمل کیت استخراج RNA تا مرحله نهایی و تهیه RNA خالص انجام شد. محلول RNA استخراج شده با آنزیم DNase I از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم های تخریب کننده RNA پاکسازی شد. نسبت جذبی ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر به شیوه اسپکتروفوتومتری برای تمامی نمونه های استخراج شده بین ۱.۸ تا ۲ بود. به منظور سنتز cDNA، ۵ میکروگرم از RNA استخراج شده با استفاده از دستورالعمل کیت RevertAid First (Thermo scientific) Strand cDNA Synthesis

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن ها	توالی پرایمرها	درجه حرارت(°C)	اندازه محصول	بانک ژن
r-P38-f	GCTTACCGATGACCACGATC	۵۸/۵۱	۱۱۸ bp	NM_031020.3
r-P38-r	TTCATTACAGCGAGGTTGC	۵۹/۱۳		
r-MK2-f	CTGTATGCCGGGAGGAAGTG	۶۰/۱۸	۱۷۸ bp	NM_178102.2
r-MK2-r	CCCGGTGAGCGATGTTGATA	۵۹/۹		
r-GAPDH-F	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	۶۰/۸۸	۱۲۳ bp	XM_039107008.1
r-GAPDH-R	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	۵۸/۵۹		

یافته ها

طریق اینترکالیتد دیسک ها به هم متصل شده بودند. قطر فیبرهای عضلانی در این گروه به صورت محسوسی نسبت به گروه های دیگر بیشتر بود. در گروه مدل سکتة قلبی میزان پارگی الیاف کاردیومیوسیت نسبت به گروه های دیگر بیشتر بوده و در برخی از الیاف حضور سلول های لنفوسیتی مشاهده شد. رشته های عضلانی به صورت انشعاب نامنظم و در برخی از رشته ها با ساختار مشخصی از طریق اینترکالیتد دیسک ها به هم متصل شده بودند. قطر فیبرهای عضلانی در این گروه به صورت محسوسی نسبت به گروه های دیگر کمتر بود. تصویر ۱ میزان پارگی کاردیومیوسیت ها در گروه سالم و گروه سکتة قلبی را نشان می دهد.

تغییرات در بیان ژن P38 بافت قلبی در گروه های مختلف پژوهش در نمودار ۱ بیان شده است. نتایج آزمون آماری آنوا نشان می دهد که بین گروه سکتة قلبی و گروه سالم در بیان ژن P38 بافت قلب تفاوت معنی داری وجود دارد (جدول ۳).

نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که در بیان ژن P38 بافت قلب گروه سکتة قلبی، ورزش و مکمل نسبت به گروه سکتة قلبی کاهش وجود دارد ولی این کاهش معنی دار نیست ($p > 0.05$). نمودار ۱، میزان بیان نسبی ژن P38 را در گروه های پژوهش نشان می دهد.

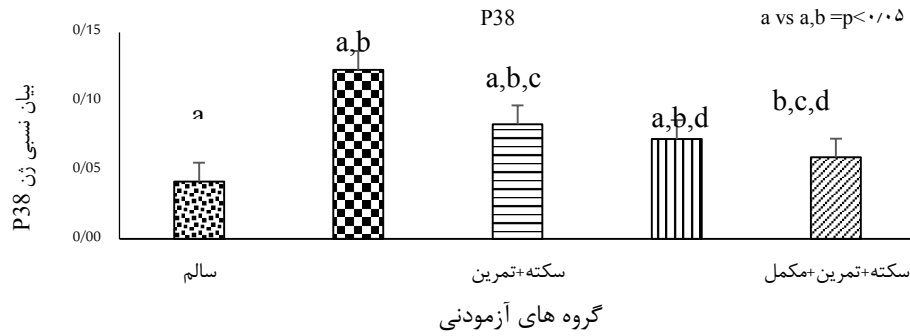
بیان ژن MK2

در گروه مکمل تعداد کمی از الیاف کاردیومیوسیت، دچار پارگی شده و در برخی از الیاف حضور سلول های لنفوسیتی مشاهده شد که نسبت به گروه مدل کمتر است. رشته های عضلانی به صورت انشعاب منظم و با ساختار مشخصی از طریق اینترکالیتد دیسک ها به هم متصل شده اند. قطر فیبرهای عضلانی در این گروه نسبت به گروه کنترل سالم کمتر می باشد. بین این گروه و گروه ورزش اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p = 0.0516$). در گروه ورزش تعداد کمی از الیاف کاردیومیوسیت، دچار پارگی شده و در برخی از الیاف حضور سلول های لنفوسیتی مشاهده می شود که نسبت به گروه سکتة قلبی کمتر است. رشته های عضلانی به صورت انشعاب منظم و با ساختار مشخصی از طریق اینترکالیتد دیسک ها به هم متصل شده اند. قطر فیبرهای عضلانی در این گروه نسبت به گروه کنترل سالم کمتر است. بین این گروه و گروه مکمل اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p = 0.0511$). در گروه ورزش و مکمل تعداد کمتری از الیاف کاردیومیوسیت

تغییرات در بیان ژن MK2 بافت قلبی در گروه های مختلف پژوهش در نمودار ۲ بیان شده است. نتایج آزمون آماری آنوا نشان می دهد که بین گروه های مختلف پژوهش در بیان ژن MK2 بافت قلب تفاوت معناداری وجود دارد (جدول ۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که گروه سکتة قلبی، ورزش و مکمل کاهش معنی داری در بیان ژن MK2 بافت قلب نسبت به گروه سکتة قلبی دارد ($p < 0.05$). نمودار ۲، میزان بیان نسبی ژن MK2 را در گروه های پژوهش نشان می دهد.

بررسی های پاتولوژیک سلول های قلبی

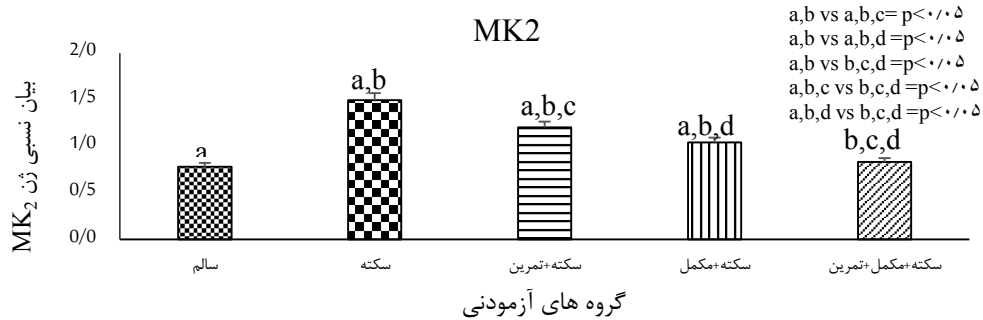
براساس نتایج به دست آمده از تصاویر مشاهده شد که در گروه سالم الیاف کاردیومیوسیت به صورت نرمال مشاهده شد. سلول های خونی و لنفوسیتی نیز به میزان بسیار کمی در بین الیاف عضلانی مشاهده شدند. رشته های عضلانی به صورت انشعاب منظم و با ساختار مشخصی از



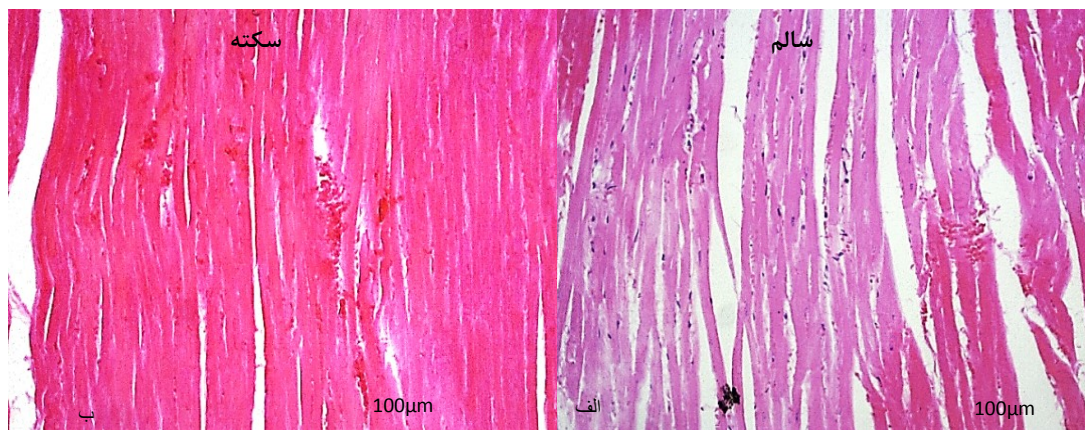
نمودار ۱: میزان بیان ژن P38 در بافت عضله قلبی موش در گروه سالم، گروه سکته قلبی، گروه سکته قلبی+مصرف مکمل نانولیپوزوم کوئرستین، گروه سکته قلبی+تمرین + و گروه سکته قلبی+مصرف مکمل نانولیپوزوم کوئرستین+ تمرین.

جدول ۳: نتایج آزمون آماری آنووا مربوط به بیان ژن های مورد مطالعه

تفاوت بین گروهی متغیرها	مقدار آماره آزمون	p - مقدار
بین گروهی ژن P38	۳/۴۳۶	۰/۰۵۱۶
بین گروهی ژن MK2	۴۷/۴۵	۰/۰۰۰۱



نمودار ۲: میزان بیان ژن MK2 در بافت عضله قلبی موش در گروه سالم، گروه سکته قلبی، گروه سکته قلبی+مصرف مکمل نانولیپوزوم کوئرستین، گروه سکته قلبی+تمرین و گروه سکته قلبی+مصرف مکمل نانولیپوزوم کوئرستین+تمرین



تصویر ۱: بررسی پاتولوژیک گروه سالم و گروه سکته قلبی: الف) گروه سالم ب) گروه سکته قلبی در گروه مدل سکته قلبی میزان پارگی الیاف کاردیومیوسیت نسبت به گروه سالم بیشتر است و در برخی از الیاف و در زیر سطح داخلی قلب (اندوکاردیوم)، حضور سلول های لنفوسیتی قابل مشاهده هستند. رشته های عضلانی به صورت انشعاب نامنظم و در برخی از رشته ها با ساختار مشخصی از طریق اینترکالیتد دیسک ها به هم متصل شده اند.

(۳۲) به تأثیر تمرین ورزشی هوازی کم شدت بر مسیرهای پیام‌رسان درون سلولی مرتبط با التهاب و مرگ سلولی از جمله مسیر P38 پرداختند. آن‌ها نیز بیان کردند که تمرین ورزشی هوازی کم شدت باعث کاهش بیان P38 می‌شود، که با توجه به این یافته‌ها، ممکن است این کاهش به اثر ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی ناشی از تمرین ورزشی کم شدت مرتبط باشد (۳۲). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد P38 در طول شرایط التهابی ثانویه به استرس اکسیداتیو، آپوپتوز سلولی و اختلالات متابولیک تولید می‌شود، از این رو تمرین ورزشی هوازی کم شدت می‌تواند به کاهش سطح P38 و در نهایت کاهش آپوپتوز کمک کند (۳۳).

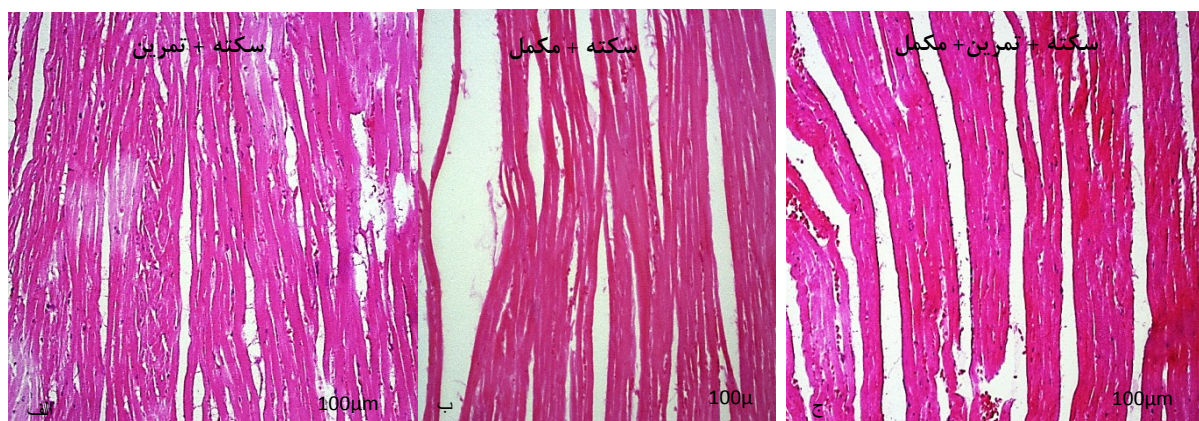
از دیگر سو نتایج متناقضی با نتایج پژوهش حاضر وجود داشت که می‌توان به نتایج پژوهش Gui و همکاران (۳۴) اشاره کرد، نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که تمرین ورزشی باعث افزایش فسفوریلاسیون P38 می‌شود (۳۴). در پژوهش‌های دیگری نیز Parker و همکاران (۳۵) و Combes و همکاران (۳۶) عنوان کردند تمرین ورزشی تناوبی شدید باعث فعال سازی P38 پس از ورزش می‌شود (۳۶، ۳۵). استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش می‌تواند مسیرهای پیام‌دهی پروتئین حساس به ردوکس را فعال کند، یکی از این مسیرها شامل پیام‌دهی P38/MK2 است که پس از ورزش تناوبی شدید افزایش می‌یابد (۳۵). در پژوهش دیگری Ludlow و همکاران (۳۷) بیان کردند پس از یک دوره تمرین ورزشی حاد افزایش قابل توجهی در فسفوریلاسیون P38 ایجاد می‌شود. به نظر می‌رسد فعال شدن این مسیر با بیماری‌های قلبی و هیپرتروفی پاتوفیزیولوژیک قلب مرتبط باشد (۳۷). پاسخ P38 احتمالاً به افزایش گذرا در غلظت کلسیم، استرس اکسیداتیو و غلظت فاکتورهای تغذیه‌ای (هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین-۱) در بافت و سلول‌های قلبی نسبت داده می‌شود (۳۸). اگرچه فعال سازی MAPK ها مرتبط با بازسازی پاتوفیزیولوژیک قلب می‌باشد، به نظر می‌رسد فعال-سازی مسیر P38 به تنهایی ممکن است یک پاسخ تطبیقی اولیه را برای افزایش بیان ژن تثبیت‌کننده ژنوم ایجاد کند (۳۹). استرس اکسیداتیو باعث ایجاد طیف گسترده‌ای از پیام‌های فعالیت‌کیناز هیپرتروفیک و

نسبت به دو گروه ورزش و گروه مکمل، دچار پارگی شده و در برخی از ایلاف حضور سلول‌های لنفوسیتی مشاهده شد که نسبت به دو گروه دیگر درمان کمتر است. رشته‌های عضلانی به صورت انشعاب منظم و با ساختار مشخصی از طریق اینترکالینت دیسک‌ها به هم متصل شده بودند. قطر فیبرهای عضلانی در این گروه نسبت به گروه سالم کمتر است. تصویر ۲ میزان پارگی کاردیومیوسیت‌ها در گروه سکتی قلبی و تمرین، گروه سکتی قلبی و مصرف مکمل و همچنین گروه سکتی قلبی، تمرین و مصرف مکمل را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بعد از القاء سکتی میزان بیان ژن‌های P38 و MK2 در گروه سکتی قلبی افزایش قابل توجهی پیدا کرد. اما بعد از هشت هفته تمرین هوازی و نیز مصرف مکمل نانوذره کوئرستین میزان بیان ژن MK2 به شکل قابل توجه و معنی‌داری کاهش پیدا کرد و این کاهش زمانی بیشتر بود که تمرین هوازی با مصرف مکمل کوئرستین همراه بود اما کاهش معنی‌داری در بیان ژن P38 بعد از تمرین و مصرف مکمل ایجاد نشد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش Lu و همکاران (۳۰) همسو بود، آن‌ها در مطالعه خود به بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر مسیر پیام‌دهی P38 پرداختند و این طور بیان کردند که در مقایسه با گروه سکتی قلبی، بیان ژن‌های پیام‌دهی P38 به طور قابل توجهی در گروه تمرین ورزشی کاهش یافت و از این رو تمرین ورزشی را در بهبود عملکرد قلب موثر دانستند، علت این امر نیز احتمالاً به دلیل شدت پایین تمرینات ورزشی مورد استفاده در پژوهش آن‌ها بوده است. تغییرات ناشی از تمرینات هوازی کم شدت در بافت قلب ممکن است تا حدی ناشی از کاهش پیام‌دهی MAPK ها باشد که تحت تأثیر کاهش ROS قرار گرفته است. بنابراین، این احتمال وجود دارد که تمرین ورزشی، از طریق افزایش آنتی-اکسیدان‌ها منجر به کاهش P38 شود (۳۰).

Vichaiwong و همکاران (۳۱) نیز بیان کردند که تمرین ورزشی کم شدت باعث کاهش پاسخ P38 می‌شود، آن‌ها نیز این اثرات را به کاهش استرس اکسیداتیو مرتبط دانستند (۳۱) در پژوهش دیگری Cardoso و همکاران



تصویر ۲: بررسی پاتولوژیک گروه های درمان

الف) گروه سکتی قلبی و تمرین ب) گروه سکتی قلبی و مصرف مکمل ج) گروه سکتی قلبی، تمرین و مصرف مکمل در گروه تمرین و مکمل تعداد کمتری از الیاف کاردیومیوسیت نسبت به دو گروه تمرین و گروه مکمل، دچار پارگی شده و در برخی از الیاف و در زیر سطح داخلی قلب (اندوکاردیوم)، حضور سلول های لنفوسیتی مشاهده شد که نسبت به ۲ گروه دیگر کمتر است. رشته های عضلانی به صورت انشعاب منظم و با ساختار مشخصی از طریق اینترکالیته دیسکها به هم متصل شده بودند. قطر فیبرهای عضلانی در این گروه نسبت به گروه کنترل سالم کمتر بود.

انفارکتوس میوکارد به خوبی شناخته شده است (۴۴). تمرینات مداوم متوسط (Continuous Moderate- Intensity Training; CMT) و HIT شکلی از تمرینات هوازی هستند و شواهد نشان داده اند که HIT از نظر تقویت قابلیت تمرین برتر از CMT است (۴۵). بازیابی عملکردی قلب یکی از رویکردهای تمرینات اینتروال در روند توانبخشی قلبی برای بیماران مبتلا بهسکته قلبی است (Myocardial Infarction; MI) (۴۶). بهبود عملکرد عضله اسکلتی و انطباق قلبی ریوی با تمرینات هوازی دلایل اصلی بهبود ظرفیت ورزش در بیماران MI پس از توانبخشی قلبی است، اگرچه سایر عناصر نیز ممکن است در این امر نقش داشته باشند (۴۷). Moreira و همکاران (۴۸) گزارش کردند که سازگاری عضلات اسکلتی با تمرینات ورزشی به طور قابل توجهی بین CMT و HIT مشابه است (۴۸). علاوه بر این، آپوپتوز و استرس اکسیداتیو در ایجاد بیماری های قلبی عروقی متعدد، از جمله سکته قلبی نقش دارند، و شواهد نشان داده است که کاهش آسیب اکسیداتیو و آپوپتوز میوکارد ممکن است اثرات محافظتی قلبی داشته باشد و بهبود عملکرد قلب را بهبود بخشد (۴۹). متابولیسم انرژی با کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب یا افزایش اکسیداسیون گلوکز ممکن است ریکاوری قلب را پس از یک حمله ایسکمیک بهبود بخشد (۵۰). متابولیسم غیرطبیعی گلوکز نیز با کاهش ذخیره انقباضی بطن چپ و

فاکتورهای رونویسی از جمله *APK* می شود (۴۰)، به همین دلیل است که یکی از مکانیسم های مهم برای دخالت استرس اکسیداتیو در قلب را می توان به *MAPK* -ها نسبت داد. تحقیقات دیگر همچنین فعالیت *MAPK* -ها و افزایش استرس اکسیداتیو و به دنبال آن استرس مکانیکی در قلب موش های صحرائی نوزاد را نشان داده است. از این رو استرس اکسیداتیو احتمالاً می تواند به عنوان یک تنظیم کننده مستقیم یا غیر مستقیم بالادستی و مکانیزم احتمالی در نظر گرفته شود که به طور بالقوه می تواند بر فیبروز قلب تأثیر بگذارد (۴۱).

Widegren و همکاران (۴۲) نیز نشان دادند یک دوره ورزش ۳۰ دقیقه ای باعث افزایش دو برابری در فسفوریلاسیون *P38* می شود که نشان دهنده حساسیت آن به عوامل سیستمیک است. طبق گزارش آن ها در مرحله اولیه پس از تمرین، *P38* و *MK2* فسفریله شده القا می شود، اما فعالیت پیامدهی *P38* پس از هفته ها تمرین تناوبی هوازی در مقایسه با افراد سالم تمرین نکرده کاهش می یابد (۴۲). به نظر می رسد نوسانات افزایش یافته حالت ردوکس سیتوزولی و نیز افزایش گونه های واکنش پذیر اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS) ناشی از ورزش تناوبی ممکن است نقش بیشتری در پیامدهی *P38* در مقایسه با دستکاری حجم یا شدت تمرین داشته باشد (۴۳).

مزایای تمرینات ورزشی هوازی برای بیماران مبتلا به

که مهار پیام‌دهی مسیر P38 به طور قابل توجهی آسیب ناشی از استرس را از طریق کاهش سطوح ROS داخل سلولی و آپوپتوز کاهش می‌دهد (۶۰). یافته‌های ما مطابق با گزارش‌های قبلی است که سرکوب آبشار پیام‌دهی MAPK توسط کوئرستین در موش‌های صحرایی را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که کوئرستین و همچنین گلیکوزیدها و متابولیت‌های آن به روش‌های مختلف مانع آپوپتوز می‌شوند (۶۱). Guangyao و همکاران (۶۱) بیان کردند مصرف کوئرستین با مهار مسیر MAPK و اهداف پایین دست آن مانند P38 و MK2 آپوپتوز را در موش‌ها کاهش می‌دهد. آن‌ها این‌طور بیان کردند که کوئرستین باعث محافظت قلبی در برابر مرگ سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو از طریق تضعیف فعال-سازی ناشی از P38 می‌شود (۶۱). متناقض با نتایج پژوهش حاضر Nam و همکاران (۶۲) بیان کردند که مصرف کوئرستین آپوپتوز را القاء می‌کند و مهاجرت را از طریق مکانیسم وابسته به MAPK مهار می‌کند. نتایج آن‌ها نشان داد که کوئرستین باعث فعال‌شدن مسیر P38 می‌شود (۶۲). همچنین نتایج تحقیقات Yoshizumi و همکاران (۶۳) حاکی از این بود که فعال‌سازی P38 تحت تأثیر کوئرستین قرار نمی‌گیرد. که آن را می‌توان به مقدار دز مصرفی کوئرستین مرتبط دانست (۶۳). در نهایت و به عنوان یک نتیجه می‌توان این‌طور بیان کرد که مصرف کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذره به همراه تمرینات تناوبی می‌تواند به طور قابل توجهی اثر کوئرستین را در کاهش بیان ژن MK2 افزایش دهد که این افزایش اثر، باعث کاهش فعال‌شدن کمپلکس P38_MK2 می‌شود و بنابراین اثر محافظتی بر کاردیومیوسیت‌ها در پی آسیب ایسکیمی‌ری‌پرفیوژن دارد.

از جمله محدودیت‌های پژوهش می‌توان به عدم مقایسه دوزهای مختلف مکمل کوئرستین درون پوشانی شده با نانوذره و همچنین تعداد پایین گروه‌ها اشاره کرد که می‌توان در پژوهش‌های بعدی برای دستیابی به نتایج بهتر از تعداد گروه‌های بیشتری استفاده کرد. همچنین با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر کاهش بیان ژن MK2 پیشنهاد می‌گردد برای دستیابی به نتایج بهتر و سریع‌تر جهت کاهش عوارض ناشی از سکته قلبی و آپوپتوز از فواید همزمانی تمرین تناوبی هوازی و مصرف مکمل کوئرستین درون پوشانی شده با نانوذره لیپوزوم

عدم تحمل ورزش در بیماران قلبی مرتبط است (۵۱). تایید شده است که HIT قادر به کاهش حساسیت به انسولین و افزایش جذب گلوکز از عضلات اسکلتی حیوانات و انسان است (۵۲). علاوه بر این، گزارش شده که تمرین اینتروال ورزشی می‌تواند به طور موثری از تنزل در متابولیسم گلوکز میوکارد در موش صحرایی جلوگیری کند (۵۰). بر اساس این نتایج، این فرضیه مطرح است که ورزش اینتروال هوازی ممکن است بر متابولیسم گلوکز و اسیدهای چرب در میوکارد انفارکتوس تأثیر بگذارد و به بازیابی عملکرد قلب بعد از سکته کمک کند (۵۳).

در مطالعه حاضر مشخص شد که مصرف مکمل کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذره باعث کاهش سطوح ژن MK2 می‌شود و در نهایت باعث تنظیم کاهشی فعالیت مسیر آپوپتوزی P38/MK2 می‌شود. این نتایج با نتایج مطالعه Firgany و Sarhan (۵۴)، Li و همکاران (۵۵)، Alcocer و همکاران (۵۶) همسو بود. نتایج آن‌ها نشان داد که کوئرستین از طریق هدف قراردادن مسیر P38، آپوپتوز را مهار کرد (۵۶-۵۴). مطالعات مختلفی نشانگرهای مهم آپوپتوز در رابطه با مصرف کوئرستین را گزارش کرده‌اند. در بسیاری از مطالعات استفاده از کوئرستین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به دلیل اینکه با کاهش فاکتورهای رشد، فیبروز میوکارد را کاهش می‌دهد برای محافظت از قلب در برابر صدمات مختلف قلبی، مانند ایسکیمی/بازریزش مجدد جریان خون که در نهایت می‌تواند منجر به اختلال عملکرد قلب شود، توصیه شده است (۵۷). به نظر می‌رسد کوئرستین از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد آپوپتوتیک در تغییرات سلولی دخیل در بازسازی قلب، از جمله فیبروز، هیپرتروفی، استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز دخالت می‌کند.

در مطالعه ای Rivera-Carvantes و همکاران (۵۸) گزارش کردند که مهار P38 از آپوپتوز جلوگیری می‌کند (۵۸) علاوه بر این، مطالعات مختلف گزارش کردند که مهار مسیر P38 از آپوپتوز سلول‌های قلبی محافظت می‌کند و التهاب و درد را در مدل‌های حیوانی کاهش می‌دهد. در همین ارتباط مشخص شد کوئرستین به طور قابل توجهی رنگ‌آمیزی و بیان پروتئین کاسپاز-۳ را کاهش می‌دهد که نشان دهنده سرکوب آپوپتوز است. علاوه بر این، در پژوهش آن‌ها کوئرستین باعث کاهش فعالیت P38 شد (۵۹). در پژوهشی Tang و همکاران (۶۰) گزارش کردند

منابع

- Mackay K, Mochly-Rosen D. An inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase protects neonatal cardiac myocytes from ischemia. *J Biol Chem* 1999; 274(10): 6272-6279.
- Ding H, Huang Y, Chen Z, Tang Y, et al. Regulator of G-protein signalling 5 deficiency impairs ventricular remodelling after myocardial infarction by promoting NF- κ B and MAPK signalling in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 499(2): 143-149.
- Mittelstadt PR, Salvador JM, Fornace AJ, Ashwell JD. Activating P38 MAPK: new tricks for an old kinase. *Cell Cycle* 2005; 4(9): 1189-1192.
- Cuadrado A, Nebreda AR. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling[J]. *Biochem J*. 2010; 429(3): 403-417.
- Zhang T, Jiang J, Liu J, Xu L, et al. MK₂ Is Required for Neutrophil-Derived ROS Production and Inflammatory Bowel Disease. *Front Med (Lausanne)* 2020; 7: 207.
- Ben Levy R, Hooper S, Wilson R, Paterson H, Marshall CJ. Nuclear export of the stress-activated protein kinase P₃₈ mediated by its substrate MAPKAP kinase-2. *Curr Biol* 1998; 8(19): 1049-1057.
- Yokota T, Wang Y. P₃₈ MAP Kinases in Heart. *Gene* 2016; 575(2): 369-376.
- Singh RK, Diwan M, Dastidar SG, Najmi AK. Differential effect of p38 and MK2 kinase inhibitors on the inflammatory and toxicity biomarkers in vitro. *Hum Exp Toxicol* 2018; 37(5): 521-531
- Wu X, Zhou X, Chen C, Mao W. Systematic investigation of quercetin for treating cardiovascular disease based on network pharmacology, Comb Chem High Throughput Screen 2019; 22 (6): 411-420.
- Tang J, Lu L, Liu Y, Ma J, et al. Quercetin improve ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis in vitro and in vivo study via SIRT1/PGC-1 α signaling. *J Cell Biochem* 2019; 120(6): 9747-9757.
- Firgany A, Reda Sarhan N. Quercetin mitigates monosodium glutamate-induced excitotoxicity of the spinal cord motoneurons in aged rats via p38 MAPK inhibition.; *Acta Histochem* 2020; 12(2): 551-554

استفاده گردد.

به نظر می رسد که پس از هشت هفته تمرین هوازی تناوبی به همراه مصرف مکمل کوئرستین، احتمالاً به دلیل اینکه درون پوشانی کردن آن در نانوذرات اثرات این مکمل را افزایش می دهد، می تواند به طور قابل توجهی بیان ژن MK₂ را پس از آسیب ایسکیمی قلبی کاهش دهد ولی تاثیر معنی داری بر کاهش بیان ژن P₃₈ ندارد. این امر احتمالاً منجر به تنظیم کاهشی فعال سازی کمپلکس P₃₈_MK₂ می شود، که ضمن جلوگیری از آپوپتوز، اثر محافظتی بر میوسیت های قلبی در پی آسیب ایسکیمی/ری پرفیوژن دارد. با این حال تأیید هرچه بهتر این امر نیاز به پژوهش های بیشتری در آینده دارد.

سپاسگزاری

این پژوهش برگرفته از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی قلب و عروق و تنفس دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1400.091 می باشد. بدین وسیله نویسندگان از مسئولین محترم دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد واحد اصفهان (خوراسگان) صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایند.

نقش نویسندگان

سجاد احمدی: طراحی و ایده پردازی، جذب منابع مالی برای انجام مطالعه، فراهم کردن تجهیزات و نمونه های مطالعه، جمع آوری داده ها، تمرین ورزشی
فرازنه تقیان: طراحی و ایده پردازی، تحلیل و تفسیر نتایج، خدمات تخصصی آمار، تنظیم دست نوشته، ارزیابی تخصصی دست نوشته از نظر مفاهیم علمی، تأیید دست نوشته نهایی جهت ارسال به دفتر مجله
خسرو جلالی دهکردی و مهدی کارگرفرد: مسئولیت حفظ یکپارچگی فرایند انجام مطالعه از آغاز تا انتشار و کمک به پاسخگویی به نظرات داوران

منابع مالی

این پژوهش از طرف هیچ سازمانی حمایت نشده است.

تعارض منافع

نویسندگان دارای تعارض منافع نمی باشند.

12. Vinayak M, Maurya A. Quercetin loaded nanoparticles in targeting cancer: recent development. *Anticancer Agents Med Chem* 2019; 19 (13): 1560-1576.
13. Ugazio E, Gastaldi L, Brunella V, Scalarone D, et al. Thermoresponsive mesoporous silica nanoparticles as a carrier for skin delivery of quercetin. *Int J Pharm* 2016; 511(1): 446-454.
14. Wang G, Wang J, Chen X, Du SM, et al. The JAK2/STAT3 and mitochondrial pathways are essential for quercetin nanoliposome-induced C6 glioma cell death. *Cell Death Dis* 2013; 4(8): e746.
15. Tarpey MD, Davy KP, McMillan RP, Bowser SM, et al. Skeletal muscle autophagy and mitophagy in endurance-trained runners before and after a high-fat meal. *Mol Metab* 2017; (6): 1597-609.
16. Achttien R, Staal J, van der Voort S, Kemps HM, et al. Practice Recommendations Development Group: Exercise-based cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease: a practice guideline. *Neth Heart J* 2013; 2(1): 429-438.
17. Garza MA, Wason EA, Zhang JQ. Cardiac remodeling and physical training post myocardial infarction. *World J Cardiol* 2015; 7(2): 52-64.
18. Bijland S, Mancini S, Salt I. Role of AMP-activated protein kinase in adipose tissue metabolism and inflammation. *Clin Sci (Lond)* 2013; 12(4): 491-507.
19. Ringseis R, Eder K, Mooren FC, Kruger K. Metabolic signals and innate immune activation in obesity and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2015; (21): 58-68.
20. Tarpey MD, Davy KP, McMillan RP, Bowser SM, et al. Skeletal muscle autophagy and mitophagy in endurance-trained runners before and after a high-fat meal. *Mol Metab* 2017; (6): 1597-1609.
21. Park KS, Sedlock DA, Navalta JW, Lee MG, et al. Leukocyte apoptosis and pro-/anti-apoptotic proteins following downhill running. *Eur J Appl Physiol* 2011; (111): 2349-2357.
22. Boyer J, Song T, Lee D, Fu X, et al. Mitogen-Activated Protein Kinase-Dependent Fiber-Type Regulation in Skeletal Muscle 2019; 45229.
23. Chen TI, Shen YJ, Wang IC, Yang KT. Short-term exercise provides left ventricular myocardial protection against intermittent hypoxia-induced apoptosis in rats. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111(8): 1939-1950.
24. Martin J. Gibala, and Sean L. McGee. Metabolic Adaptations to Short-term High-Intensity Interval Training: A Little Pain for a Lot of Gain? *Exerc Sport Sci Rev* 2008; 36(2): 58-63.
25. Wright DC, Han DH, Garcia-Roves PM, Geiger PC, et al. Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1alpha expression. *J Biol Chem* 2007; 282(1): 194-199.
26. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, et al. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1a in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2009; 106(3): 929-934
27. Sharma M, Kishore K, Gupta S, Joshi S, Arya DS. Cardioprotective potential of Ocimum sanctum in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem* 2001; 225(1): 75-83.
28. Jiang H, Wang Y, Sun L, He X, et al. Aerobic Interval Training Attenuates Mitochondrial Dysfunction in Rats Post-Myocardial Infarction: Roles of Mitochondrial Network Dynamics. *Int J Mol Sci* 2014; 15(4): 5304-5322.
29. Cui W, Hu G, Peng J, Mu L, et al. Quercetin Exerted Protective Effects in a Rat Model of Sepsis via Inhibition of Reactive Oxygen Species(ROS) and Down-regulation of High Mobility Group Box 1(HMGB1) Protein Expression. *Med Sci Monit* 2019; 25: 5795-5800.
30. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, et al. 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. *Mol Med Rep* 2015; 12(2): 2374-2382.
31. Vichaiwong K, Henriksen E, Toskulkao C, Prasannarong M, et al. Attenuation of oxidant-induced muscle insulin resistance and p38 MAPK by exercise training. *Free Radic Biol Med* 2009; 47(5): 593-599.
32. Cardoso F, França E, Serra F, Victorino A, et al. Aerobic exercise reduces hippocampal ERK and p38 activation and improves memory of middle-aged rats. *Hippocampus* 2017; 27(8): 899-905.
33. Shareghi Boroujeni A, Jalali Dehkordi Kh, Sharifi Gh, Taghian F, et al. Effect of Nano-eugenol and Aerobic Exercise against the Streptozotocin Toxicity and Inflammatory Mediators P38-MAPK, NPY, and A-Rα2A in the Dorsal Root Ganglia of Diabetic Rats. *IJT* 2021; 15(3): 205-214. [Persian].

34. Gui Y, Chen J, Hu J, Liao C, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibitors improve angiogenic function of endothelial progenitor cells via ERK/p38-mediated miR-126 upregulation in myocardial infarction mice after exercise. *Exp Cell Res* 2020; 397(2): 112360.
35. Parker L, Trewin A, Levinger I, Shaw C, et al. The effect of exercise-intensity on skeletal muscle stress kinase and insulin protein signaling. *PLoS One* 2017; 12(2): e0171613.
36. Combes A, Dekerle J, Webborn N, Watt P, et al. Exercise-induced metabolic fluctuations influence AMPK, p38-MAPK and CaMKII phosphorylation in human skeletal muscle. *Physiol Rep* 2015; 3(9): e12462.
37. Ludlow A, Gratidao L, Ludlow L, Spangenburg E, Roth SM. Acute exercise activates p38 MAPK and increases the expression of telomere-protective genes in cardiac muscle. *Exp Physiol* 2017; 102(4): 397-410
38. Rose B, Force T, Wang Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale. *Physiol Rev* 2010; 90(4): 1507-1546.
39. Asrih M, Mach F, Nencioni A, Dallegri F, et al. Role of mitogen-activated protein kinase pathways in multifactorial adverse cardiac remodeling associated with metabolic syndrome. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 367245.
40. Moens A, Takimoto E, Tocchetti C, Chakir K, et al. Reversal of cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by tetrahydrobiopterin efficacy of recoupling nitric oxide synthase as a therapeutic strategy. *Circulation* 2008; 117(20): 2626-2636.
41. Aikawa R, Nagai T, Tanaka M, Zou Y, et al. Reactive oxygen species in mechanical stress-induced cardiac hypertrophy. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289(4): 901-907.
42. Widegren U, Wretman C, Lionikas A, Hedin G, Henriksson J. Influence of exercise intensity on ERK/MAP kinase signalling in human skeletal muscle. *Pflugers Arch* 2000; 441(2-3): 317-22.
43. Li Y, Dash R, Kim J, Saidel G, Caberera ME. Role of NADH/NAD(+) transport activity and glycogen store on skeletal muscle energy metabolism during exercise: in silico studies. *Am J Physiol-Cell Physiol* 2009; 296(1): C25-C46.
44. Achttien RJ, Staal JB, van der Voort S. Practice Recommendations Development Group: Exercise-based cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease: a practice guideline. *Neth Heart J* 2013; (21): 429-438.
45. Maiorana A: Interval training confers greater gains than continuous training in people with heart failure. *J Physiother* 2012; 58(3): 199.
46. Kemi OJ, Wisløff U: Mechanisms of exercise-induced improvements in the contractile apparatus of the mammalian myocardium. *Acta Physiol (Oxf)* 2010; 199(4): 425-439.
47. Garza MA, Wason EA, Zhang JQ. Cardiac remodeling and physical training post myocardial infarction. *World J Cardiol* 2015; 7(2): 52-64.
48. Moreira JB, Bechara LR, Bozi LH. High-versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. *J Appl Physiol* 2013; 114(8): 1029-1041.
49. Tullio F, Angotti C, Perrelli MG, Penna C, Pagliaro P. Redox balance and cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2013; 108(6): 392.
50. Wambolt RB, Lopaschuk GD, Brownsey RW, Allard MF: Dichloroacetate improves postischemic function of hypertrophied rat hearts. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(4): 1378-1385.
51. Egstrup M, Kistorp CN, Schou M, et al: Abnormal glucose metabolism is associated with reduced left ventricular contractile reserve and exercise intolerance in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013; 14(4): 349-357.
52. Bourlier V, Saint-Laurent C, Louche K, Badin PM, et al: Enhanced glucose metabolism is preserved in cultured primary myotubes from obese donors in response to exercise training. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(9): 3739-3747.
53. Castorena CM, Arias EB, Sharma N, Cartee GD: Postexercise improvement in insulin-stimulated glucose uptake occurs concomitant with greater AS160 phosphorylation in muscle from normal and insulin-resistant rats. *Diabetes* 2014; 63(7): 2297-2308.
54. Firgany A, Sarhan N. Quercetin mitigates monosodium glutamate-induced excitotoxicity of the spinal cord motoneurons in aged rats via p38 MAPK inhibition. *Acta Histochemica* 2020; 122(5):151554.
55. Li C, Wang T, Zhang C, Xuan J, et al. Quercetin attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated

- protein kinase signaling pathways. *Gene* 2016; 577(2): 275-280.
56. Alcocer F, Whitley D, Salazar-Gonzalez J, Jordan W, et al. Quercetin inhibits human vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Surgery* 2002; 131(2): 198-204.
57. Siti H, Jalil J, Asmadi A, Kamisah Y. Effects of Quercetin on Cardiac Function in Pressure Overload and Postischemic Cardiac Injury in Rodents: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Cardiovasc Drugs Ther* 2020; 36(1): 15-29
58. Rivera-Carvantes M, Jarero-Basulto J, Feria-Velasco A, Beas-Zarate C, et al. Changes in the expression level of MAPK pathway components induced by monosodium glutamate-administration produce neuronal death in the hippocampus from neonatal rats. *Neuroscience* 2017; 365: 57-69.
59. Zhao B, Long Q, Wang C, Che L, et al. Protective Effects of Liu Wei Di Huang Wan on the liver, orbitofrontal cortex nissl bodies, and neurites in mscph induced liver regeneration rat model. *Evid Based Complement Altern Med* 2018; 2018:9090128
60. Tang Y, Jacobi A, Vater C, Zou X, Stiehler M. Salvianolic acid B protects human endothelial progenitor cells against oxidative stress-mediated dysfunction by modulating Akt/mTOR/4EBP1, p38 MAPK/ATF2, and ERK1/2 signaling pathways. *Biochem Pharmacol* 2014; 90(1):34-49.
61. Guangyao Y, Chunyan L, Zhang Y, Zihan M, et al. Quercetin Alleviates Neu-ropathic Pain in the Rat CCI Model by Mediating AMPK/MAPK Pathway. *J Pain Res* 2021; 14: 1289-1301.
62. Nam T, Yoo C, Kim H, Kwon C, et al. The flavonoid quercetin induces apoptosis and inhibits migration through a MAPK-dependent mechanism in osteoblasts. *J Bone Miner Metab* 2008; 26(6): 551-560.
63. Yoshizumi M, Tsuchiya K, Suzaki Y, Kirima K, et al. Quercetin glucuronide prevents VSMC hypertrophy by angiotensin II via the inhibition of JNK and AP-1 signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293(5): 1458-1465.