

پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش

دوره ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰

ص ص: ۶۹-۵۵

## تأثیر استفاده همزمان از عصاره هسته انگور پوشش داده شده با نانوذره کیتوزان و یک دوره تمرین تناوبی بر میزان آپوپتوز کاردیومیوسیت‌های مدل انفراکتوس قلبی در موش صحرایی

حمید محمدی حسین آبادی<sup>۱</sup> - خسرو جلالی دهکردی<sup>۲\*</sup> - غلامرضا شریفی<sup>۳</sup> - زهره مظاهری تیرانی<sup>۴</sup>  
۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران ۲. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران ۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران ۴. مرکز تحقیقات فن‌آوران بافت و ژن‌پا سازگارد، شرکت هیستولوژیک، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۰۴، تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۰۷/۱۳)

### چکیده

ایسکمی موجب افزایش تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و تنش اکسایشی می‌شود که به‌طور مستقیم، با اثر بر غشا و پروتئین‌ها یا غیرمستقیم با تحریک مسیرهای آپوپتوز به آسیب سلولی منجر می‌شود. یکی از گیاهان دارای خاصیت ضد اکسایشی عصاره هسته انگور است که می‌تواند تولید رادیکال‌هایی آزاد را کاهش دهد. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر استفاده همزمان از عصاره هسته انگور پوشش داده شده با نانوذره کیتوزان و یک دوره تمرین تناوبی بر میزان آپوپتوز کاردیومیوسیت‌های مدل انفراکتوس قلبی در موش صحرایی بود. در این مطالعه تجربی ۲۵ سر رت نر نژاد ویستار که از طریق القای ایسکمی قلبی با تزریق زیرجلدی ایزوپروتونول (۸۵ mg/kg) دچار سکتة قلبی شده بودند، انتخاب شدند. رت‌های این مطالعه به‌طور تصادفی در ۵ گروه شامل گروه کنترل سالم، گروه کنترل سکتة قلبی، گروه سکتة قلبی+هسته انگور، گروه سکتة قلبی+تمرین تناوبی هوازی و گروه سکتة قلبی+هسته انگور+تمرین تناوبی هوازی قرار گرفتند. تمرین تناوبی هوازی با ۷ تناوب اینتروال هر تناوب شامل ۴ دقیقه با شدت ۸۰ تا ۹۰ %Vo<sub>2max</sub> و ۳ دقیقه با شدت ۶۵ تا ۷۵ %Vo<sub>2max</sub> انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری شاپیرو ویلک، تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha \leq 0.05$  تحلیل شد. نتایج نشان داد Casp3 و Casp9 در گروه القای سکتة قلبی افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل سالم دارد ( $P=0.001$ ). در مقایسه با گروه سکتة قلبی تنها گروه سکتة قلبی+تمرین+هسته انگور کاهش معناداری را در Casp3 و Casp9 و افزایش معناداری را در مقادیر SOD نشان داد ( $P=0.001$ ). بنابراین به‌نظر می‌رسد تمرین تناوبی هوازی و عصاره انگور با تنظیم منفی فاکتور انتهایی Casp3 و Casp9 بافت قلب می‌تواند موجب مهار آپوپتوز سلول‌های قلبی پس از وقوع سکتة قلبی و همچنین کاهش آسیب بافت قلبی شود.

واژه‌های کلیدی

انفراکتوس قلبی، تمرین هوازی، عصاره هسته انگور، Casp3، Casp9، SOD.

## مقدمه

مسیر میتوکندری یا مسیر داخلی آپوپتوز سیتوگروم C از فضای بین دو غشای میتوکندری به داخل سیتوپلاسم آزاد می‌شود. سیتوکروم C با Apaf-1، ATP و پروکاسپاز ۹<sup>۵</sup> تعامل کرده و آپوپتوزوم<sup>۶</sup> ایجاد می‌شود. آپوپتوزوم سبب فعال شدن کاسپاز ۹ می‌شود. کاسپاز ۹ فعال سبب فعال شدن کاسپازهای اجرایی مانند کاسپاز ۳، ۶ و ۷ می‌شود (۵). فعالیت ورزشی منظم به‌عنوان یک برنامه درمانی عمده در درمان و پیشگیری از بیماری قلبی-عروقی مطرح است و به کاهش عوارض این بیماری منجر می‌شود. همچنین نشان داده شده است که تمرین ورزشی آپوپتوز را همراه با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی مزمن کاهش می‌دهد (۶). همچنین تمرینات منظم هوازی عملکرد میتوکندری را با کاهش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش سنتز نیتریک اکساید و بیوژنز میتوکندری تقویت می‌کند. شواهد رو به رشدی نشان می‌دهد که تمرین تناوبی سازگاری‌های فیزیولوژیکی قابل مقایسه‌ای را نسبت به تمرین تداومی با زمان کم و شدت متوسط و کاهش حجم کل فعالیت، ایجاد می‌کند (۷). به‌منظور دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد تولیدشده، سیستم آنتی‌اکسیدان به‌ویژه آنزیم‌های کاتالاز<sup>۷</sup> سوپراکسید دیسموتاز (SOD)<sup>۸</sup> و گلووتاتیون پراکسیداز<sup>۹</sup> وارد عمل می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های به‌دست‌آمده از منابع غذایی اهمیت بسزایی در کنترل صدمه وارده از سوی رادیکال‌های آزاد دارند (۸). هسته انگور از فراورده‌های زائد کارخانه‌های آب‌میوه است که ترکیبی از چربی، پروتئین، کربوهیدرات و ۵ - ۸ درصد پلی‌فنل<sup>۱۰</sup> است که مقادیر آن به گونه و جنس انگور بستگی دارد (۹). پلی‌فنل‌های موجود در عصاره هسته

وخیم‌ترین و اغلب کشنده‌ترین نتیجه بیماری کرونری انفارکتوس حاد میوکارد است که به‌طور معمول به‌دنبال عدم تعادل بین خون‌رسانی عروق کرونری و نیاز قلب، به‌دلیل انسداد حاد یکی از شریان‌های بزرگ کرونری حادث می‌شود. در پی انسداد کرونری بافت قلبی دچار ایسکمی شده و آسیب ایسکمیک و انفارکتوس قلبی ایجاد می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که انفارکتوس قلبی از طریق تولید رادیکال‌های آزاد به آسیب رساندن به سلول‌های میوکارد منجر می‌شود (۱). آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده، از مهم‌ترین عوامل ایجاد بیماری قلبی - عروقی به‌ویژه ناتوانی قلبی است. این فرایند در تنظیم تعادل بین زایش و مرگ سلولی در بافت‌های مختلف به‌ویژه بافت‌های سوماتیک مانند میوکارد نقش اساسی دارد (۲). زمانی که این گیرنده‌ها توسط لیگاندهای مربوطه تحریک شوند، سبب فعال شدن کاسپازها و القای آپوپتوز می‌شوند و مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی آپوپتوز در داخل میتوکندری رخ می‌دهد. میتوکندری هم در حیات و هم در مرگ سلولی دخالت دارد (۳). میتوکندری نقشی مهم و حیاتی در کنترل فرایند فیزیولوژی سلول‌های عضلانی مثل تولید ژن و پروتئین میتوکندریایی، تنظیم پیام‌های سلولی و آپوپتوز دارد. همچنین، میتوکندری قابلیت زیادی در ایجاد پاتولوژی سلولی و بیماری‌هایی مثل دیابت و چاقی و بیماری قلبی عروقی دارد. گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد به‌عنوان واسطه ایجاد ضایعات روی ژن‌ها سبب ایجاد آپوپتوز می‌شود (۴). کاسپازها<sup>۱</sup> گروهی از آنزیم‌ها هستند که به خانواده پروتئازها<sup>۲</sup> تعلق دارند و نقش مهمی در مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول، آپوپتوز<sup>۳</sup> و التهاب ایفا می‌کنند. در

6 . Apoptosyom  
7 . Catalase  
8 . Super Oxid Dismutas  
9 . Glutathione Peroxidase  
10 . Polyphenol

1 . Caspase  
2 . Protease  
3 . Apoptose  
4 . Apoptotic Protease-activiting factor-1  
5 . Procaspase

قرار گرفته است (۱۳). تبریزی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی ۱۲ هفته تمرین هوازی روی نوار گردان بر بیان ژن‌های سیتوکروم C و کاسپاز ۹ عضله قلبی موش‌های صحرایی نر پرداختند. در این تحقیق بیان ژن سیتوکروم C در گروه تمرین، به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل شد. بیان ژن کاسپاز ۹ گروه تمرین نیز به‌طور معناداری بیشتر از کنترل بود. به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد ۱۲ هفته تمرین هوازی روی نوار گردان در افزایش بیان ژن‌های کلیدی مسیر میتوکندریایی آپوپتوز قلبی، تأثیر زیادی دارد. با این حال سازوکارهای زمینه‌ساز این تأثیرات نامشخص بوده و نیازمند تحقیقات بیشتری است (۱۴). با توجه به شیوع روزافزون بیماری سکنه قلبی و آثار مضر آن بر سلامتی و بروز عوارض ناشی از آن و تأثیر مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و نوع خاص فعالیت بدنی بر کنترل آن و با توجه به اینکه تاکنون مطالعه کافی در زمینه اثر تمرین تناوبی و مصرف مکمل هسته انگور بر وضعیت آپوپتوز کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی بعد از انفارکتوس قلبی میوکاردی القاشده با ایزوپروترونول<sup>۲</sup> انجام نگرفته است، در تحقیق حاضر محقق بر آن است تا به ابهامات در این زمینه پاسخ دهد.

### مواد و روش‌ها

#### حیوانات و مکمل

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. ۲۵ سر رت نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. پس از انتقال رت‌ها به محیط جدید حیوانات در شرایط کنترل شده با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی

انگور شامل فلاوینوئیدها<sup>۱</sup>، اسید گالیک<sup>۲</sup> و دیمریک<sup>۳</sup>، مونومریک<sup>۴</sup> و پلی‌مریک پروآنتوسیانیدین<sup>۵</sup> هستند. پروآنتوسیانیدین دیمر موجود در هسته انگور مؤثرترین ترکیب آنتی‌اکسیدان است (۱۰). تحقیقات نشان می‌دهد که عصاره هسته انگور پتانسیل بالایی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مهار استرس اکسیداتیو دارد و در موارد انفارکتوس قلبی و ایسکمی برقرار مجدد گردش خون بافتی<sup>۶</sup> نقش مهمی آن در برابر استرس اکسیداتیو به اثبات رسیده است (۹). پاتاک<sup>۸</sup> و همکاران (۲۰۱۸) در تحقیقی به بررسی تأثیرات پروآنتوسیانیدین‌های عصاره انگور قرمز در بهبود عملکرد قلبی-عروقی در موش‌های مدل ایسکمی پرداختند. نتایج نشان داد که فیبریلاسیون بطنی<sup>۹</sup> ناشی از رپرفیوژن<sup>۱۰</sup> جریان خون مجدد از مقدار ۴۲ تا ۹۲ درصد کاهش یافت. ۲۵ درصد به‌طور معناداری از تاکی کاردی بطنی<sup>۱۱</sup> گاسته شد. در موش‌های با دوز مصرفی ۱۰۰ میلی‌گرم پس از ۶۰ دقیقه بهبود جریان کرونری و رپرفیوژن فشار آئورت ایجاد شد. اندازه‌گیری‌های اکسیژن رادیکال‌های آزاد تنفسی نشان داد که مصرف مکمل با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به‌طور چشمگیری تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن را مهار می‌کند (۱۱). علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته انگور، غنی‌سازی عصاره با مواد زیست تخریب پذیر از جمله کیتوزان، می‌تواند خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات فیزیکی - مکانیکی این ماده را افزایش بخشد (۱۲). کیتوزان به‌عنوان یک بیوپلیمر ایده‌آل برای تولید در نظر گرفته می‌شود. فیلم‌های خوراکی به‌دلیل غیرسمی بودن، سازگاری زیستی، تجزیه بیولوژیکی و قابلیت تشکیل فیلم مورد توجه صنایع مختلف و محققان

7 . Ischemic reperfusion

8 . Pataki

9 . Ventricular Fibrillation

10. Reperfusion

11. Vemttricular Tachycardia

12. Isoproterenol

1 . Flavinoids

2 . Gallicacid

3 . Dimmer

4 . Monomeric

5 . Polyacrylate Panthocyanidine

6 . Dimmer Panghocyanidine

رت‌های گروه سکنه+تمرین به مدت ۸ هفته و هفته‌ای ۵ جلسه پروتکل تمرین را انجام دادند و سایر گروه‌ها در مدت اجرای پروتکل در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. برای اجرای پروتکل تمرینی، حیوانات گروه تمرین و تمرین و مکمل به مدت دو هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوار گردان مخصوص حیوانات آشنا شدند. پس از آن به منظور تعیین شدت تمرینات ورزشی، تست تعیین حداکثر سرعت روی نوار گردان انجام گرفت؛ بدین‌گونه که پس از ۱۰ تا ۲۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد  $VO_{2max}$  سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یک‌بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه افزایش یافت تا هنگامی که حیوان قادر به دویدن بیشتر نباشد. سرعتی که در آن میزان لاکتات خون بالای ۶ میلی‌مول بر لیتر باشد، به‌عنوان سرعتی که حداکثر اکسیژن مصرف می‌شود، در نظر گرفته می‌شود (۱۵). برنامه اصلی تمرینی به‌صورت تناوبی هوازی (AIT) برای رت‌های گروه تمرین روی تردمیل مخصوص حیوانات (تجهیز گستر ایرانیان، ۲۰۱۶، تهران، ایران) انجام گرفت. پروتکل تناوبی هوازی شامل یک دوره گرم کردن ۱۰ دقیقه‌ای (۵۰-۵۵ درصد  $VO_{2max}$ ) و ۷ تناوب اینتروال (هر تناوب شامل ۴ دقیقه با شدت ۸۰ تا ۹۰ درصد  $VO_{2max}$  و ۳ دقیقه با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد  $VO_{2max}$ ) و یک دقیقه سرد کردن بود (۱۶). شایان ذکر است در طول برنامه تمرینی از هیچ‌گونه شوک تمرینی استفاده نشد و در صورت لزوم با استفاده از دست یا ایجاد محرک صوتی روی درپوش ریل‌های نوار گردان، حیوانات مجبور به ادامه تمرین شدند.

#### ارزیابی‌های بافتی

پس از ۸ هفته، تمامی رت‌ها با تزریق محلول کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلارین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و سپس کشته شدند. سپس ناحیه عضله قلب به طول دو سانتی‌متر قطع شد و بخشی از بافت در پارافرمالدهید ۴ درصد به مدت یک شبانه‌روز و بخشی

(شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر)، دما ( $32 \pm 2$ ) سانتی‌گراد) و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. سه تا پنج رت در ففس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با در توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به‌گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. القای ایسکمی قلبی با تزریق زیرجلدی ایزوپروترونول به مقدار ۸۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت محلول در نرمال سالین در دو روز متوالی به فاصله ۲۴ ساعت، به رت‌ها تزریق شد تا سکنه قلبی تجربی ایجاد شود. برای اطمینان از القای سکنه قلبی تجربی، به‌صورت تصادفی از هر گروه تعدادی از رت‌های گروه سکنه‌ای دو روز بعد از MI بی‌هوش شدند و نمونه‌های بافت قلب آنها با استفاده از تکنیک‌های هیستوشیمیایی رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین آئوزین بررسی و گروه‌های واجد شرایط ورود تحقیق شدند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار رت‌ها براساس ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی با کد (IR.IAU.KHUISF.REC.1399.045) انجام گرفت. حیوانات پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه به‌صورت تصادفی به ۵ گروه: گروه کنترل سالم (Control)، گروه کنترل سکنه قلبی (Stroke)، گروه قلبی+تمرین ورزشی تناوبی هوازی (Stroke+AIT)، گروه سکنه قلبی+ هسته انگور (Stroke+Nano-sup) و گروه سکنه قلبی+تمرین ورزشی تناوبی هوازی + هسته انگور (Stroke+Nano-sup+AIT) تقسیم شدند.

#### تهیه نانوذره هسته انگور

ماده مؤثره عصاره هسته انگور به‌صورت خالص‌شده از شرکت سیگما خریداری و در DMSO حل شد. پس از تهیه مکمل به‌صورت نانو، به مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم روزانه به گروه‌های مکمل گاوژ شد.

پروتکل تمرینی رت‌ها (AIT)

نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس مایع رویی دور ریخته شد و روی رسوب آن ۱ سی سی الکل ۷۰ درصد اضافه شد. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. مایع رویی تخلیه و پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد. میزان ۲۰ لاند آب مقطر ۶۰ درجه روی پلاک ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه روی صفحه ۶۰ درجه قرار داده شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده به منظور انجام واکنش رونویسی معکوس به کار رفت. اندازه‌گیری سطوح بیان کاسپاز ۳ و ۹ بافت قلب از روش کمی Real time-Pcr انجام گرفت. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ و GAPDH در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکروژن انجام گرفت. از ژن گلیسرآلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده شد و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است (جدول ۱).

دیگر در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از مرحله تثبیت اولیه، برش ۵ میکرومتری از ناحیه عضله قلب تهیه و با روش (H&E) بررسی شد. سلول‌های کاردیومیوسیت‌ها در هر گروه با روش (Image J (Image J Software, NIH) ارزیابی و در گروه‌های مختلف از نظر آماری تحلیل شد.

#### بررسی مولکولی بافت عضله قلب با روش Real Time

#### PCR

به منظور بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیازن، آلمان) انجام گرفت. برای این کار، میزان ۲۰۰ لاند کپازول به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- انکوبه شد. پلاک موجود در کرایوتیوب در حالت نیمه انجماد خرد شد و به منظور لیز نمونه‌ها میزان ۱۰۰ لاند کلروفرم به مدت ۱ دقیقه به آنها اضافه شد. محلول حاصل، با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود، به آرامی برداشته و در میکروتیوب DEPC شده قرار داده شد. ۱ سی سی ایزوپروپانول روی RNA شفاف ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه با دست به هم زده شد.

جدول ۱. توالی پرایمرها

Gene name	Oligo sequence 5'-3'	Accession Number
Casp3	F 5' AAGTGATGGAGATGAAGGAGT 3'	NM_012675.3
	R 5' CAGGCGTGAATGATGAAGAGT 3'	
Casp9	F 5' AGC CAG ATG CTG TCC CAT AC 3'	NM_031512.2
	R 5' CAG GAG ACA AAA CCT GGG AA3'	
GAPDH	F 5' AAG TTCAACGGCACAGTC AAGGCAC C 3'	XM_017593963.1
	R 5' CAT ACTCAGCACCAGCATCACCAAG G 3'	

## تجزیه و تحلیل آماری

از میانگین و انحراف استاندارد برای گزارش توصیفی داده‌ها استفاده شد. پس از تأیید نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک، به منظور تعیین معنادار بودن تفاوت میانگین متغیرهای گروه‌های تحقیق، از آزمون‌های آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و تست تعقیبی توکی استفاده شد. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، به وسیله نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ در سطح معناداری حداقل  $P \geq 0.05$  تجزیه و تحلیل شد.

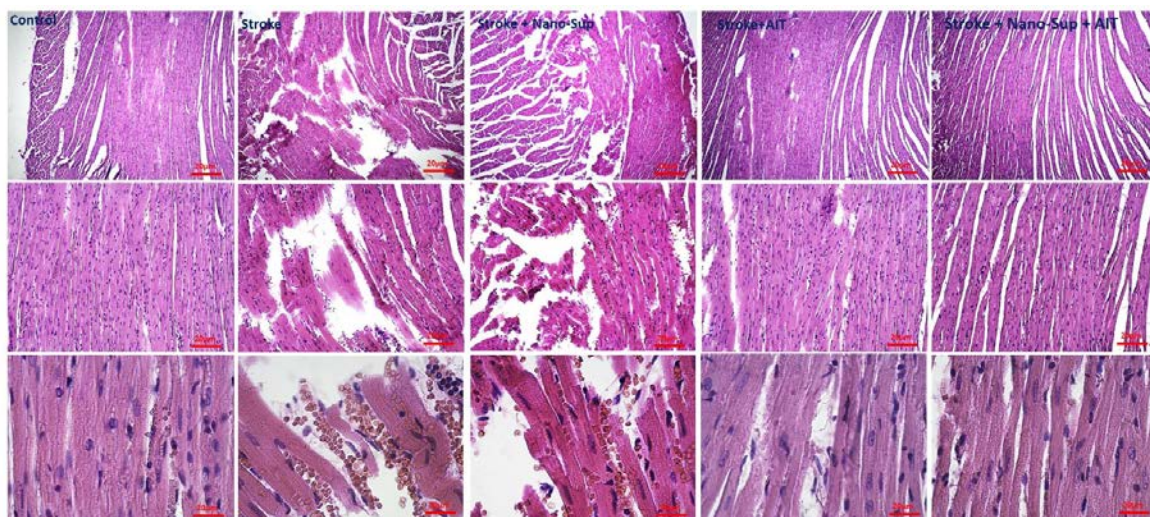
## یافته‌های تحقیق

## تغییرات بافتی

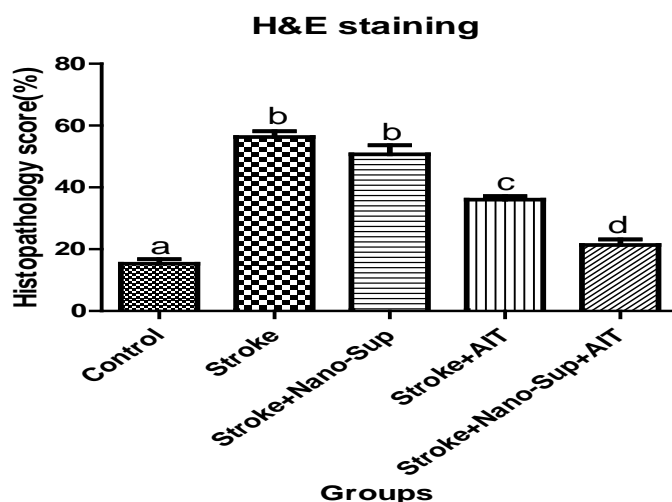
تغییراتی بافتی عضله قلب در گروه‌های مختلف پژوهش در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به تصاویر H&E

القای سکته قلبی سبب تخریب و اختلال در نظم سلول‌های عضله قلبی شده است. این در حالی بود که انجام تمرین ورزش تناوبی به‌تنهایی و همچنین مصرف مکمل هسته انگور با نانوذره کتوزان به‌تنهایی قادر به کنترل این شرایط تخریبی بوده‌اند. گروه درمان ترکیبی نیز بهتر از گروه‌های تمرین و مکمل هسته انگور با نانوذره کتوزان به‌تنهایی در انسجام بافتی مؤثر بوده است. در بررسی تعداد سلول‌های (شمارش سلولی از تصاویر بافتی) نیز مشخص شد که گروه سکته قلبی افزایش بیش از حد و معناداری در تعداد این سلول‌ها ایجاد کرده است (نسبت به گروه کنترل  $P=0.001$ )، این در حالی بود که تمرین ورزشی و مکمل هسته انگور با نانوذره کتوزان به‌تنهایی ( $P=0.001$ ) و  $P=0.01$  یا در ترکیب با هم ( $P=0.001$ )، بیشترین کنترل را بر جمعیت کاردیومیوسیت‌ها داشت (شکل ۱ الف و ب).

(الف)



(ب)



شکل ۱. تغییرات هیستولوژیک بافت قلبی (الف و ب). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. حروف غیرمشابه بالای هر نمودار نشانه تغییرات معنادار بین گروه‌های مختلف پژوهش است ( $p \leq 0.05$ ). حروف مشابه بالای هر ستون نیز نشانه تغییر غیرمعنادار است. Control: گروه کنترل سالم، Stroke: گروه کنترل سکته قلبی، Stroke+Nano-Sup: گروه سکته قلبی+هسته انگور، Stroke+AIT: گروه سکته+تمرین تناوبی هوازی، Stroke+Nano-Sup+AIT: گروه سکته قلبی+هسته انگور+تمرین تناوبی هوازی

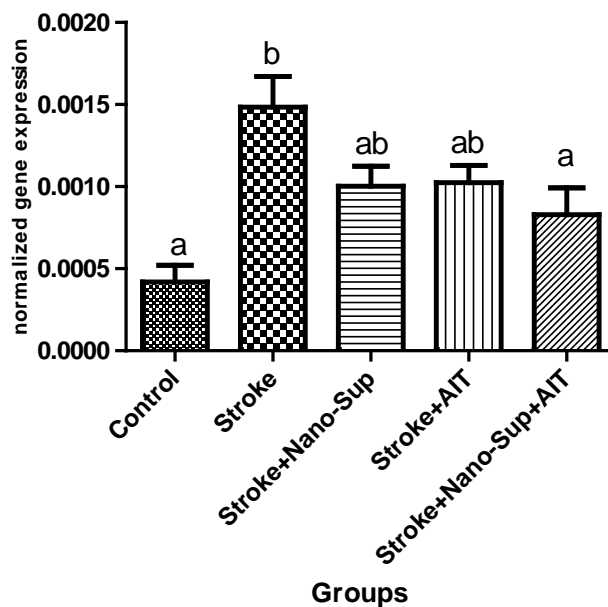
در بررسی mRNA Casp9 نیز مشخص شد که سکته، سبب افزایش معنادار کاسپاز ۹ در بافت قلبی نسبت به گروه کنترل سالم می‌شود ( $P=0.001$ )، این در حالی بود که سایر گروه‌های سکته‌ای با مداخله ورزش و نانو هسته انگور (به صورت جداگانه) تغییرات معناداری را نسبت به گروه کنترل سکته نشان ندادند ( $P>0.05$ ). در مقایسه با گروه سکته قلبی نیز تنها گروه سکته+تمرین+هسته انگور کاهش معناداری را در Casp9 نشان داد ( $P=0.001$ ) (شکل ۲ب).

#### تغییرات بیان ژنی در گروه‌های مختلف پژوهش

تغییرات ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ بافت قلبی در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که mRNA Casp3 در گروه سکته قلبی افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل سالم دارد ( $P=0.001$ )، این در حالی بود که سایر گروه‌های سکته‌ای با مداخله ورزش و نانو هسته انگور (به صورت جداگانه) تغییرات معناداری را نسبت به گروه کنترل سکته نشان ندادند ( $P>0.05$ ). در مقایسه با گروه سکته قلبی نیز تنها گروه سکته+تمرین+هسته انگور کاهش معناداری را در Casp3 نشان داد ( $P=0.001$ ) (شکل ۲الف).

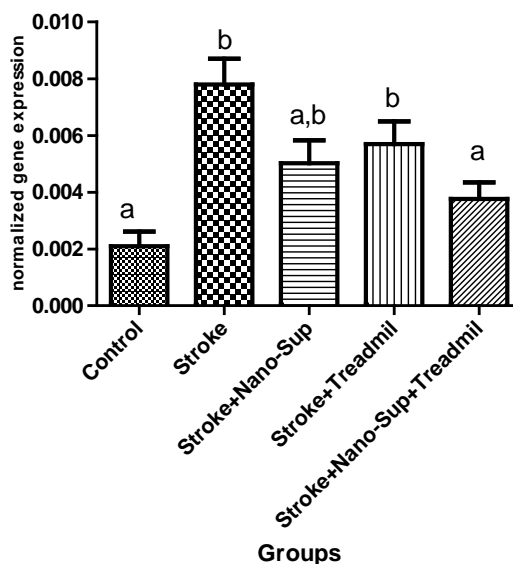
## Caspase3

(الف)



## Caspase9

(ب)



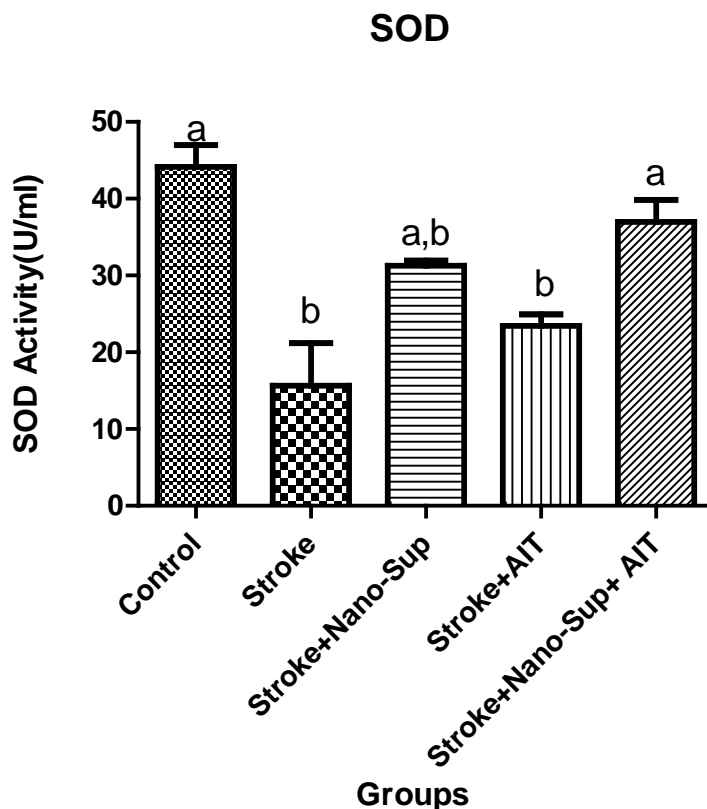
شکل ۲. تغییرات ژن‌های Casp3 و Casp9 در گروه‌های مختلف پژوهش (الف و ب). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. حروف غیرمشابه بالای هر نمودار نشانه تغییرات معنادار بین گروه‌های مختلف پژوهش است ( $P \leq 0.05$ ). حروف مشابه بالای هر ستون نیز نشانه تغییر غیرمعنادار است. Control: گروه کنترل سالم، Stroke: گروه کنترل قلبی، Stroke+Nano-Sup: گروه سکنه قلبی+هسته انگور، Stroke+AIT: گروه سکنه+تمرین تناوبی هوازی، Stroke+Nano-Sup+AIT: گروه سکنه قلبی+هسته انگور+تمرین تناوبی هوازی

SOD در بافت قلبی رت‌های گروه سکنه کاهش معناداری را نسبت به گروه کنترل سالم نشان داد ( $P=0.001$ ). در مقابل در بررسی گروه‌های درمانی مشخص شد که

تغییرات سرمی SOD در گروه‌های مختلف پژوهش تغییرات شاخص اکسایشی SOD نیز در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود مقادیر سرمی



گروه‌های سخته و مکمل نانو و همچنین گروه درمان ترکیبی افزایش معناداری را در مقادیر SOD نسبت به کنترل سخته نشان دادند ( $P=0/01$ ). (شکل ۳).



شکل ۳. تغییرات شاخص اکسایشی SOD در گروه‌های مختلف پژوهش. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. حروف غیرمشابه بالای هر نمودار نشانه تغییرات معنادار بین گروه‌های مختلف پژوهش است ( $P \leq 0/05$ ). حروف مشابه بالای هر ستون نیز نشانه تغییر غیرمعنادار است. Control: گروه کنترل سالم، Stroke: گروه کنترل سخته قلبی، Stroke+Nano-Sup: گروه سخته قلبی+هسته انگور، Stroke+AIT: گروه سخته+تمرین تناوبی هوازی، Stroke+Nano-Sup+AIT: گروه سخته قلبی+هسته انگور+تمرین تناوبی هوازی

پوشش داده شده با نانوذره کیتوزان و یک دوره تمرین تناوبی بر میزان آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها مدل انفارکتوس قلبی در موش صحرایی بود. نتایج تحقیق حاضر بیان‌کننده تخریب بافتی و به هم‌ریختگی انسجام سلول‌های کاردیومیوسیت همراه با افزایش ژن‌های کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در ناحیه قلب در پی القای سخته با ایزوپروتنول در نمونه حیوانی بود. همسو با نتایج تحقیق حاضر بیان شده که فرایند آپوپتوز توسط

#### بحث و بررسی

فعالیت بدنی گسترده وسیعی از مزایا را ارائه می‌دهد که برای کنترل بسیاری از بیماری‌ها مؤثر است. با وجود این سازوکارهایی که ورزش سبب بهبود بسیاری از مسیرهای مولکولی تخریب‌شده در اثر بیماری می‌شود، به‌خوبی درک نشده است. از جمله این بیماری و آسیب‌ها تخریب عضله قلب ناشی از سخته قلبی است. از این‌رو هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر استفاده همزمان از عصاره هسته انگور

بیان ژن‌های مربوط به آپوپتوز، آزادسازی عوامل آپوپتوتیک میتوکندری، تغییرات تولید ROS<sup>۱</sup> و وضعیت ضداکسایشی مطرح شده است، هنوز ابهامات بسیاری در این زمینه وجود دارد (۲۳). در این خصوص وانشتین و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند آپوپتوز میتوکندریی اغلب با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن آزاد همراه است (۲۴). همچنین این احتمال وجود دارد که در پاسخ به فشار اکسایشی، جابه‌جایی و استقرار پروتئین Bax<sup>۳</sup> در غشای بیرونی میتوکندری افزایش یابد. این موضوع تا اندازه‌ای می‌تواند ناشی از فعال شدن JNK<sup>۱</sup> سیتوزولی باشد، به طوری که JNK در حضور محرک استرس سلولی فسفوریله شده و موجب مهار پروتئین Bcl-2 می‌شود، از این رو پروتئین Bax اجازه جابه‌جایی به سمت میتوکندری را می‌یابد (۲۵). پروتئین JNK در داخل میتوکندری، در باز شدن mtPTP<sup>۵</sup> دخالت می‌کند و موجب رهایش عوامل پیش آپوپتوزی AIF<sup>۶</sup> و سیتوکروم C به داخل سیتوزول می‌شود، به محض رهایش و ورود به سیتوزول، AIF و سیتوکروم C موجب قطعه‌قطعه شدن DNA به طور مستقیم یا از طریق آبشار کاسپازی شامل کاسپاز ۹ و در نهایت، کاسپاز ۳ می‌شوند (۲۳). البته عوامل دیگری نیز در برخی تحقیقات در خصوص نفوذپذیری غشای میتوکندری بررسی شده‌اند، به طوری که اشاره شده برخی پروتئین‌های اسکلت سلولی مانند کافلین-۲ (یک پروتئین اسکلت سلولی متصل به اکتین)، با آپوپتوز ناشی از فشار اکسایشی ارتباط دارد. کافلین-۲ در سیتوزول قرار دارد، ولی به محض اکسایش در درون میتوکندری جابه‌جا و احتمالاً موجب تسهیل باز شدن mtPTP می‌شود (۲۶). لی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند ۱۲ هفته تمرین هوازی به مدت ۶۰ دقیقه در روز و با سرعت ۲۷ متر

یک خانواده از سیستمین پروتئین‌ها به نام کاسپازها انجام می‌گیرد. در مسیر داخلی میتوکندری رتیکلوم اندوپلاسمیک محوریت فرایند را دارند که در این مسیر محوریت میتوکندری در ایجاد آپوپتوز بیشترین اهمیت را دارد و عواملی همچون Bax، Bcl2، کاسپاز ۳، کاسپاز ۹، شرایط انفارکتوس قلبی فعال می‌شوند و عوامل آنتی‌اکسیدانی همچون MAD و SOD کاهش پیدا می‌کنند (۱۷). مطالعات نشان داده‌اند که انفارکتوس قلبی از طریق تولید رادیکال‌های آزاد به آسیب رساندن به سلول‌ها سلول‌های میوکارد منجر می‌شود (۱۸). رادیکال‌های آزاد می‌توانند از طریق آسیب رساندن به لیزوزوم‌ها و دیواره‌شان به فعال‌سازی آنزیم‌های غیرفعال و تخریب سلول و در نهایت سستی و شکستن پیوندهای هیدروژنی در غشای سلول منجر شوند. با شکستن پیوند بین مولکول‌های غشا، آنزیم‌های متصل به آن نیز متعاقباً از کار می‌افتند و فعالیت سلول دچار اختلال می‌شود (۱۹). همچنین آسیب به DNA<sup>۱</sup> سبب مرگ سلولی هم از طریق آپوپتوزیس و هم از طریق نکروز می‌شود. در این زمینه گزارش شده است که در پاسخ به انفارکتوس قلبی شاخص‌های مربوط به استرس اکسیداتیو افزایش و میزان آنتی‌اکسیدان کاهش می‌یابد (۲۰). در تأیید نتایج حاضر هو و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای نشان دادند بیان پروتئین سیتوکروم C و پروتئین کاسپاز ۳ در میوکارد گروه تمرین (۱۲ هفته تمرین استقامتی) به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود (۲۱). همچنین لی ژین و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند شش ماه تمرین استقامتی موجب تسریع فواید آپوپتوز در میوکارد موش‌های صحرایی می‌شود (۲۲). در این زمینه اگرچه سازوکار متعددی مانند تغییر مستقیم در

5. Mitochondrial permeability transition pore  
6. Apoptosis Inducing Factor  
7. Cofline 2

1. Deoxyribonucleic acid  
2. Reactive oxygen species  
3. Bcl2-associated X protein  
4. c-Jun-terminal Kinase

(۳۲). در تحقیق حاضر از تمرینات استقامتی و مکمل هسته انگور با نانوذره کیتوزان به عنوان یک تکنیک توانبخشی استفاده شد تا تأثیرات سلولی آنها را بررسی شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مصرف مکمل هسته انگور با نانوذره کیتوزان همراه با تمرین ورزشی قادر به کنترل کاسپاز ۳، کاسپاز ۹ و تخریب بافتی ناشی از سکنه قلبی و بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی بود. این در حالی بود که مدالیته‌های درمانی پژوهش حاضر قادر به کنترل معنادار در کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ نبودند. هسته انگور از فرآورده‌های زائد کارخانه‌های آبمیوه و ترکیبی از چربی، پروتئین، کربوهیدرات و ۵ تا ۸ درصد پلی فنل است که مقادیر آن به گونه و جنس انگور بستگی دارد (۳۳). پلی فنل‌های موجود در عصاره هسته انگور شامل فلاوینوئیدها، اسید گالیک<sup>۴</sup> و دیمریک<sup>۵</sup> مونومریک<sup>۶</sup> و پلی مریک پروآنتوسیانیدین<sup>۷</sup> هستند. پروآنتوسیانیدین دیمرفوجود در هسته انگور مؤثرترین ترکیب آنتی اکسیدان است (۳۴). تحقیقات نشان می‌دهد که عصاره هسته انگور پتانسیل بالایی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مهار استرس اکسیداتیو دارد و در موارد انفارکتوس قلبی و ایسکمی برقراری مجدد گردش خون بافتی، نقش مهمی آن در برابر استرس اکسیداتیو به اثبات رسیده است (۳۵). توانایی پروسیانیدین در القای آپوپتوز از طریق افزایش بیان فاکتور پروآپوپتوزی Bax و مهارکننده‌های پروتئین دخیل در چرخه سلولی و همچنین کاهش بیان فاکتورهای ضدآپوپتوزی Bcl2 و Bcl-xl در آپوپتوز تأیید شده است (۳۶). دوستار و همکاران (۱۳۹۰) تأثیر عصاره دانه انگور بر آپوپتوز سلول‌های قلبی در موش‌های صحرایی دیابتی شده

در دقیقه موجب کاهش میزان کاسپاز ۹ عضله قلبی در موش‌های تمرین کرده در مقایسه با موش‌های تمرین نکرده شد (۲۷). به نظر می‌رسد تمرینات هوازی تناوبی موجب بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش استرس اکسایشی سلولی می‌شود و سازگاری‌های لازم برای مهار یا توقف آپوپتوز ناشی از تمرینات هوازی را فراهم می‌کند (۲۵). نتایج شکر و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان داد که تمرینات شنا (یک ساعت در روز، ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته) با کاهش معنادار کاسپاز ۳ در موش صحرایی همراه است (۲۸). سو و همکاران (۲۰۱۶) نیز کاهش معنادار کاسپاز-۳ در موش‌های صحرایی متعاقب ۴ هفته تمرین اختیاری را گزارش کردند. سازوکار حفاظتی در برابر آپوپتوز به علت پیشگیری ممکن است توسط NF-KB متأثر می‌شود که مانع از حساسیت به آپوپتوز می‌شود و می‌تواند تنظیم افزایشی سلول‌های ضد آپوپتوز را تقویت کند (۲۹). در تحقیقات قبلی مشاهده شد که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک BAX و افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C، مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود. کاسپاز ۹ نیز با فعال سازی کاسپاز ۳ می‌تواند به تنظیم مثبت روند آپوپتوز منجر شود (۳۰). نشان داده شده است که ورزش در کاهش آپوپتوز و سیگنال‌دهی آنتی اکسیدان به عنوان وسیله‌ای برای جلوگیری از آپوپتوز در میوکارد برجسته است (۳۱). با این حال مخالف با یافته‌های تحقیق، لی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که فعالیت ورزشی میزان آپوپتوز را با افزایش بیان پروتئین کاسپاز ۳ در یک مدل موش‌های صحرایی دچار سکنه مغزی افزایش می‌دهد

- 5 . Dimmer
6. Monomeric
7. Polyacrylate Panthocyanidine
- 8 . Dimmer Panthocyanidine
- 9 . Ischemic Reperfusion

- 1 . Nuclear Factor kappa kappa-light- chanin-enhancer of activated B cells.
- 2 . Polyphenol
- 3 . Flavinoids
- 4 . Gallicacid

کاهش آسیب به بافت قلب و حفظ بهتر عملکرد سلول‌های قلبی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است (۳۵). با توجه به نتایج این پژوهش به بیماران مبتلا به انفارکتوس قلبی پیشنهاد می‌شود که پس از دوره نقاهت از تمرین‌های تناوبی و همراه با مکمل عصاره انگور پوشش داده شده با نانوذره کیتوزان برای ارتقای سطح زندگی و بهبود عملکرد سیستم قلب و عروق خود بهره گیرند.

### نتیجه‌گیری

در نهایت می‌توان گفت که استفاده از مکمل هسته انگور با نانوذره کتوزان در کنار تمرین ورزشی به‌ویژه از نوع هوازی تناوبی (به‌صورت منظم) در کنترل تخریب عضله قلب و با تنظیم منفی فاکتور کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ به‌ویژه در ناحیه بافت قلب مؤثر باشد. با وجود این بررسی اثر تمرین تناوبی و مصرف مکمل هسته انگور بر وضعیت آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها با تمرین ورزشی و مکمل هسته انگور با نانوذره کتوزان به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

### تقدیر و تشکر

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش گرایش قلب-عروق و تنفس است. این پژوهش، توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی با کد (IR.IAU.KHUISF.REC.1399.045) به تصویب رسید.

توسط استرپتوزیس را بررسی کردند. ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار با عصاره (۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۱۲ هفته بررسی شدند. نتایج نشان داد که عصاره دانه انگور تأثیرات آنتی‌آپوپتوزی دارد (۳۷). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده همزمان از عصاره هسته انگور پوشش داده شده با نانوذره کیتوزان و یک دوره تمرین تناوبی موجب افزایش SOD در موش صحرایی مدل انفارکتوس قلبی شد. این بیانگر تأثیر مثبت فعالیت ورزش همراه با مصرف عصاره هسته انگور بر تقویت دفاع آنتی‌اکسیدان است. ساعد موحشی (۱۳۹۴) اثر تمرین منظم همراه با مصرف عصاره انگور بر عوامل خطرزای قلبی عروقی در زنان سالمند را بررسی کرد و نتایج نشان داد مصرف عصاره دانه انگور و تمرین هوازی کمک شایانی در جلوگیری از بروز بیماری‌های قلبی-عروقی و ارتقای سلامت افراد جامعه و پیشگیری و کاهش آترواسکلروز در افراد چاق می‌کند (۳۸). دهقان منشادی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی ۸ هفته فعالیت هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن‌های سوپراکسید دسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز بافت قلب موش‌های صحرایی نر ویستار پرداختند. نتایج نشان داد تمرینات تناوبی پرشدت تأثیرات مطلوب‌تری بر دفاع آنتی‌اکسیدانی در رت‌های ویستار داشت (۳۹). در سطح سلولی برای بروز بیماری‌های قلبی - عروقی عوامل متعددی بررسی شده‌اند که از جمله آنها می‌توان به مسیرهای پیام‌رسانی استرس اکسایشی و اختلالات میتوکندریایی، عوامل التهابی - ایمنی و آپوپتوز اشاره کرد (۳۴). با این حال سازوکارهای زمینه‌ساز این تأثیرات نامشخص بوده و نیازمند تحقیقات بیشتری است. بهبود عملکرد میتوکندری در اثر سازگاری با تمرین تناوبی و مصرف عصاره هسته انگور سبب القای عوامل بالادستی در افزایش تولید Bcl-2 شده که در نتیجه آن کاهش بیان ژن محرک آپوپتوز از جمله Bax، کاسپاز ۹ و ۳ در نتیجه

## منابع و مآخذ

1. Takahashi M. Role of the SDF-1/CXCR4 system in myocardial infarction. *Circulation Journal*. 2010;74(3):418-23.
2. Rabiei MA, Mogharnesi M, Sarir H, Kharashizadeh M. The effect of periodic aerobic exercise and jujube extract on apoptotic factors in rats with stroke Heart. (In Persian). *Sports Management Physiology Research*. 2018;11(1):1-13.
3. Takemura G, Kanoh M, Minatoguchi S, Fujiwara H. Cardiomyocyte apoptosis in the failing heart—a critical review from definition and classification of cell death. *International journal of cardiology*. 2013;167(6):2373-86.
4. Li M, Tian Z. PO-163 Aerobic exercise activates myocardial FGF21/FGFR1/PI3K-AKT signaling pathway and inhibits cardiomyocyte apoptosis in post-myocardial infarction rats. *Exercise Biochemistry Review*. 2018;1(4).
5. Kamareh MHN, Zolfaghari MR, Pakdel FG, Azar JT. Effect of 12 weeks aerobic training and oral green tea extract on cardiac caspase-3 expression in aged male rats. *Sports science*. 2017;10(2):221=5.
6. Hsieh S-F, Hu G-C, Chuang Y-C, Chen C-Y, Hu Y-N. The effects and safety of exercise training in subjects with chronic heart failure—do elder subjects gain similar benefits? *International Journal of Gerontology*. 2010;4(4):165-70.
7. Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, Torella D. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. *Heart*. 2012;98(1):5-10.
8. Darband SG, Sadighparvar S, Yousefi B, Kaviani M, Mobaraki K, Majidinia M. Combination of exercise training and L-arginine reverses aging process through suppression of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in the rat heart. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2020;472(2):169-78.
9. Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2003;523:87-97.
10. Cerbaro AF, Rodrigues VSB, Rigotti M, Branco CS, Rech G, de Oliveira DL, et al. Grape seed proanthocyanidins improves mitochondrial function and reduces oxidative stress through an increase in sirtuin 3 expression in EA. hy926 cells in high glucose condition. *Molecular Biology Reports*. 2020:1-12.
11. Pataki T, Bak I, Kovacs P, Bagchi D, Das DK, Tosaki A. Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts. *The American journal of clinical nutrition*. 2002;75(5):894-9.
12. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR, Malekinejad H, Aliakbarlu J, et al. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. *Lebensm Wiss Technol*. 2012;46(2):477-84.

13. Dutta PK, Tripathi S, Mehrotra GK, Dutta J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chem.* 2009;114(4):1173-82.
14. Javid Tabrizi N, Bashiri J, Narimani Rad M. Effect of 12 Weeks of Treadmill Aerobic Training on Cytochrome c and Caspase-9 gene Expression in Cardiac Muscle of Male Rats. *Qom University of Medical Sciences Journal.* 2017;11(6):1-9.
15. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation.* 2007;14(6):753-60.
16. Jiang H-K, Wang Y-H, Sun L, He X, Zhao M, Feng Z-H, et al. Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats post-myocardial infarction: roles of mitochondrial network dynamics. *International journal of molecular sciences.* 2014;15(4):5304-22.
17. Dadaei M, Nazarali P, Alizadeh R. Effect of an 8-week endurance rehabilitation exercise on apoptosis in cardiac patients. *Research in Cardiovascular Medicine.* 2020;9(1):10.
18. Tofighi A, Ebrahimi Kalan A, Jamali Qarakhanlou B. The effect of resveratrol supplementation and aerobic training on cardiac tissue alteration of rats with acute myocardial infarction. *Iranian Journal of Physiology and Pharmacology.* 2018;1(4):221-11.
19. 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.
20. Liao Y, Li Z, Shu Z, Zhong X, Su Y, Ma Z, et al. Change of short-chain acyl-CoA dehydrogenase in heart failure after myocardial infarction in rats and the intervention of aerobic exercise. *Zhonghua wei zhong bing ji jiu yi xue.* 2019;31(2):172-7.
21. Ho T-J, Huang C-C, Huang C-Y, Lin W-T. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, protects against excessive endurance exercise training-induced cardiac hypertrophy, apoptosis and fibrosis in rats. *European journal of applied physiology.* 2012;112(8):2943-55.
22. LI X, LU J, WU W. Effect of long-term endurance exercise on cardiac apoptosis. *Journal of Mianyang Normal University.* 2009;11:031.
23. Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *The FASEB Journal.* 2006;20(6):791-3.
24. Vainshtein A, Kazak L, Hood DA. Effects of endurance training on apoptotic susceptibility in striated muscle. *Journal of applied physiology.* 2011;110(6):1638-45.
25. Sozen E, Yazgan B, Tok OE, Demirel T, Ercan F, Proto JD, et al. Cholesterol induced autophagy via IRE1/JNK pathway promotes autophagic cell death in heart tissue. *Metabolism.* 2020:154205.
26. Klamt F, Zdanov S, Levine RL, Pariser A, Zhang Y, Zhang B, et al. Oxidant-induced apoptosis is mediated by oxidation of the actin-regulatory protein cofilin. *Nature cell biology.* 2009;11(10):1241-6.

27. Lee S-D, Shyu W-C, Cheng I-S, Kuo C-H, Chan Y-S, Lin Y-M, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2013;23(6):566-73.
28. Shokri S, Aitken RJ, Abdolvahabi M, Abolhasani F, Ghasemi FM, Kashani I, et al. Exercise and supraphysiological dose of nandrolone deconoate increase apoptosis in spermatogenic cells. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2010;106(4):324-30.
29. Seo H, Park C-H, Choi S, Kim W, Jeon B-D, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2016;20(3):16.
30. Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das D. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. *FEBS letters*. 2000;485(1):7-12.
31. Huang P-H, Huang C-Y, Chen M-C, Lee Y-T, Yue C-H, Wang H-Y, et al. Emodin and aloe-emodin suppress breast cancer cell proliferation through ER $\alpha$  inhibition. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013.
32. Li F, Shi W, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, et al. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. *Journal of neuroscience research*. 2017;95(4):1017-24.
33. Sano A, Uchida R, Saito M, Shioya N, Komori Y, Tho Y, et al. Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2007;53(2):174-82.
34. Kiran TR, Otlu O, Karabulut E, Pakdemirli A, Ozcan N. Antioxidant effect of grape molasses in rat heart tissues. *Medicine*. 2019;8(4):814-9.
35. Belviranlı M, Gökbel H, Okudan N, Başaralı K. Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. *British journal of nutrition*. 2012;108(2):249-56.
36. Badavi M, Abedi HA, Dianat M, Sarkaki AR. Exercise training and grape seed extract co-administration improves lipid profile, weight loss, bradycardia, and hypotension of stz-induced diabetic rats. *International cardiovascular research journal*. 2013;7(4):111.
37. Dostar y, Mahajeri D, Rezaei A. Effects of grape seed extract on cardiac cell apoptosis in diabetic rats Streptozotocin *Journal of Medical Sciences of Azd university*. *Journal of Medical Sciences of Azd university*. 2010;21(3):168-74.
38. Mocheshi SS, Lotfolah SM, Almori MR, Gjafari G. The effect of regular aerobic exercise with consumption of grape seed extract on cardiac risk factors *Vascular in obese elderly women*. *Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2014;20(60):69-78.
39. Dehghan Menshadi M, Asad MR, Naghibi S. The effect of regular aerobic exercise with grape seed extract on cardiovascular risk factors in elderly women. *Journal of sport Bioscience*. 2016;9(4):571-7.

## The Effect of Concomitant Use of Grape Seed Extract Coated with Chitosan Nanoparticles and One Period of HIIT on The Rate of Cardiomyocyte Apoptosis of The Myocardial Infarction Model in Rats

Hamid Mohammadi Hosseinabadi<sup>1</sup> - Khosro Jalali Dehkordi<sup>\*2</sup>-  
Gholamreza Sharifi<sup>3</sup>- Zohreh Mazaheri Tirani<sup>4</sup>

1.PhD student, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran2.Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran3. Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran4. Basic Medical Science Research Center, Histogenotech Company, Tehran, Iran

(Received:2020/07/25;Accepted:2020/10/04)

### Abstract

Ischemia increases the production of reactive oxygen species and oxidative stress, which leads to cell damage directly by acting on membranes and proteins or indirectly by stimulating apoptotic pathways. One of the plants has antioxidant properties of grape seed extract that can reduce the production of free radicals. The aim of this study was to investigate the effect of concomitant use of grape seed extract coated with chitosan nanoparticles and one period of HIIT on the rate of cardiomyocyte apoptosis of the myocardial infarction model in rats. In this experimental study, 25 male Wistar rats who developed myocardial infarction by subcutaneous injection of isoprenaline(85mg/kg) were selected, Rats in this study were randomly divided into 5 groups:Control, Strok, Strok+Nano-Sup, Strok+AIT and Strok+Nano-Sup+AIT. AIT was performed with 7 intervals of each interval, including 4 minutes with intensity of 80 to 90%  $VO_{2max}$  and 3 minutes with intensity of 65 to 75%  $VO_{2max}$ . Data were analyzed using Shapiro-Wilk statistical tests, one-way analysis of variance and tokey post hoc test at  $\alpha =0/05$ . The results showed that Casp9 and Casp3 in the myocardial induction group had a significant increase compared to the healthy control group ( $P = 0.001$ ). compared with the myocardial infarction group, only the stroke + exercise + grape seed group showed a significant decrease in Casp3 and Casps9 and a significant increase in SOD values ( $P = 0.001$ ). Therefore, it seems that HIIT and grape extract negatively regulate the inflammatory factor Casp3 and Casps9 of heart tissue can inhibit cardiac cell apoptosis after myocardial infarction and also reduce heart tissue damage.

### Key words

Myocardial Infarction, HIIT, Casp3, Casps9, grape seed extract, SOD .

\* Corresponding Author: Email: khosrojalali@gmail.com ;Tel: +989131854997