

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی همراه با مصرف کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذره بر تنظیم‌کننده‌های آپوپتوز JNK و ERK در موش‌های صحرایی نر مدل انفارکتوس قلبی

سجاد احمدی^{ID}، دکتر فرزانه تقیان^{ID}، دکتر خسرو جلالی دهکردی^{ID}

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: اصفهان، خیابان جی، ارغوانیه، بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشکده‌ی علوم ورزشی، صندوق پستی: ۱۵۸/۸۱۵۹۵، دکتر فرزانه تقیان؛ e-mail: f_taghian@yahoo.com

چکیده

مقدمه: برقراری مجدد جریان خون در عضله قلبی دچار ایسکمی؛ سبب گسترش انفارکتوس و مرگ میوسیت‌ها می‌گردد. کوئرستین، با دارا بودن اثر آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند در درمان بیماری‌های قلبی مؤثر باشد لیکن مصرف آن به سبب انحلال‌پذیری اندکی که در آب دارد محدود می‌باشد. محدودیت کوئرستین را می‌توان با درون پوشانی کردن در نانوذرات حامل مرتفع کرد. مطالعه حاضر برای تعیین تأثیر همراهی کوئرستین درون پوشانی شده در نانوذرات (QEN) با تمرین تناوبی بر بیان ژن‌های JNK و ERK، که محصولاتشان در راه اندازی آپوپتوز نقش دارد، طراحی شد. مواد و روش‌ها: سی سر موش صحرایی نر به طور تصادفی به پنج گروه (سالم، سکنه قلبی، سکنه قلبی و مکمل، سکنه قلبی و تمرین، سکنه قلبی و تمرین و مکمل) تقسیم شدند. سکنه قلبی با تزریق زیر پوستی ایزوپروپونالین؛ در ۲۴ سر موش صحرایی القا شد. در گروه‌های دریافت مکمل، گاوژ مکمل بعد از هر جلسه تمرینی انجام شد. جداسازی بافت قلبی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی صورت گرفت. بیان نسبی ژن‌های JNK و ERK با روش Real-Time PCR اندازه‌گیری گردید. تجزیه تحلیل داده‌ها با آزمون واریانس یک‌طرفه و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. یافته‌ها: بیان ژن‌های JNK و ERK در گروه تمرین و مصرف مکمل نسبت به گروه سکنه قلبی به طور قابل توجهی کاهش یافت. نتیجه‌گیری: مصرف QEN به همراه تمرینات ورزشی تناوبی هوازی می‌تواند با کاهش بیان ژن‌های JNK و ERK باعث کاهش فعال‌شدن کمپلکس JNK و ERK و در نتیجه کاهش مرگ سلولی از طریق آپوپتوز شود و بنابراین می‌تواند اثر محافظتی بر میوسیت‌های قلبی در پی آسیب ایسکمی داشته باشد.

واژگان کلیدی: QEN، تمرین تناوبی، میوسیت‌های قلبی، JNK، ERK، انفارکتوس، ایزوپروپونالین

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۸/۳۰ - دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۷

مقدمه

انفارکتوس میوکارد؛ شایع‌ترین بیماری قلبی است که در نتیجه‌ی یک ایسکمی اولیه و بازریزش خونⁱⁱ ایجاد می‌شود.^{۱-۴} برقراری مجدد جریان خون سبب افزایش ناحیه انفارکتوس و مرگ میوسیت‌ها می‌گردد.^۵ در این حالت ترکیبات زنجیره تنفسی کاهش یافته و موجی از گونه‌های

فعال اکسیژنⁱⁱⁱ، به ویژه در آغاز بازریزش خون، دیده می‌شود^۶ که در ناحیه آسیب دیده واکنش‌های التهابی به راه انداخته و باعث مرگ سلولی از راه آپوپتوز^{iv} می‌شود.^۷ کینازهای پروتئینی فعال شده با میتوژن^v (MAPK) مولکول‌های اصلی پیام‌دهی آپوپتوز هستند که در پاسخ‌دهی سلول به محرک‌های مختلف نقش دارند. مؤلفه‌های اصلی این

iii - Reactive Oxygen Species

iv - Apoptosis

v - Mitogen-activated protein kinase

i - Myocardial Infarction

ii - Ischemia Reperfusion

ارتباط بین فعال‌سازی مسیر آپوپتوزی MAPK و تمرین ورزشی را نشان داده‌اند.^{۳۱} اگرچه تعریفی واحد و جهانی وجود ندارد، تمرینات تناوبی عموماً به جلسات مکرر و متناوب نسبتاً کوتاه گفته می‌شود که اغلب با تلاش زیاد، یا با شدتی نزدیک به ۹۰-۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO2max) انجام می‌شود. بسته به شدت تمرین، یک تلاش ممکن است از چند ثانیه تا چند دقیقه به طول بیانجامد و تلاش‌های متناوب با چند دقیقه استراحت یا تمرین با شدت کم از هم جدا شوند.^{۳۲} مزایای تمرینات تناوبی شدید برای بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد در پژوهش‌های گذشته به خوبی مشخص شده است.^{۳۳-۳۵} آپوپتوز و استرس اکسیداتیو در ایجاد انواع بیماری‌های قلبی عروقی، از جمله انفارکتوس میوکارد، نقش دارند، و شواهد فزاینده نشان داده است که کاهش آسیب اکسیداتیو و آپوپتوز میوکارد ممکن است اثرات محافظتی قلبی داشته باشد و بهبود عملکرد قلب را به دنبال داشته باشد.^{۳۶،۳۷} گزارش‌های قلبی نشان داده‌اند که تمرینات تناوبی شدید ممکن است آپوپتوز قلبی و استرس اکسیداتیو را در قلب پس از انفارکتوس میوکارد کاهش دهد، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد در شرایط التهابی بعد از استرس اکسیداتیو؛ JNK و ERK افزایش یافته و منجر به ایجاد آپوپتوز سلولی می‌شود. تمرین تناوبی شدید می‌تواند سطح JNK/ERK را کاهش دهد و از ایجاد آپوپتوز جلوگیری نماید.^{۳۸،۳۹}

بنابراین، مسیر JNK/ERK در پیشرفت انفارکتوس میوکارد مؤثر است و کاهش فعالیت آن می‌تواند از آپوپتوز میوکارد جلوگیری کرده و باعث محافظت از قلب شود.^{۴۰-۴۴} سازوکار دقیق اثر تمرینات تناوبی شدید و همچنین تاثیر مصرف مکمل کوئرستین بر القای آپوپتوز و ژن‌های دخیل در مسیر پایین دستی JNK/ERK، بعد از القای ایسکمی، به طور کامل مشخص نیست. از این رو پژوهش حاضر جهت مطالعه اثر مصرف مکمل QEN و تمرینات تناوبی شدید بر ژن‌های کلیدی مسیر آپوپتوزی ERK/JNK، متعاقب ایسکمی قلبی، طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی - بنیادی بوده و به منظور انجام آن از ۳۰ سر موش صحرایی نر سالم ۶ تا ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 20 ± 20 که از انیستیتو پاستور تهیه شده

مسیر پیام رسان سلولی؛ شامل کینازهای c-Jun با پایانه Nⁱ (JNK) و کینازهای تنظیم پیام خارج سلولی ۱/۲ (ERK) می‌باشند که پس از فسفوریلاسیون فعال شده و بر رویدادهای مهمی از جمله آپوپتوز تأثیر می‌گذارند.^{۴۵-۴۷} این کینازها توسط محرک‌های محیطی نیز فعال می‌شوند^{۴۸} و در انتقال پیام ناشی از آپوپتوز دخالت دارند.^{۴۹} یکی از عواملی که در القای آپوپتوز بعد از آسیب ایسکمی نقش دارد فعال‌سازی JNK می‌باشد، که مهار آن گسترش نارسایی قلبی را کاهش می‌دهد.^{۳۰،۴۱} در پژوهشی عنوان شده است که مسدود کردن مسیر JNK پس از ایسکمی، حجم انفارکتوس و آپوپتوز را کاهش می‌دهد.^{۴۰} همانند JNK، کینازهای ERK نیز بر روند بروز آپوپتوز تأثیرگذار هستند.

پیام‌دهی ERK نقش مهمی در ایجاد فیبروز قلبی و آپوپتوز در هنگام فشار بیش از حد دارد. شواهد نشان‌دهنده نقش حیاتی فعال‌سازی ERK در پاسخ‌های التهابی است. پیام‌دهی پایین دستی ERK منجر به فعال‌سازی رونویسی چندین ژن می‌شود که در نهایت منجر به بروز آپوپتوز می‌گردند.^{۱۶،۱۷}

از عواملی که می‌تواند از تشکیل مسیرهای آپوپتوزی جلوگیری کند فلاونوئیدها^{۳۳} هستند. کوئرستین^{۴۶} یکی از فراوانترین فلاونول‌های موجود در منابع گیاهی است و به دلیل وجود گروه هیدروکسی در ساختارش؛ قادر به اتصال به گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و افزایش زنده ماندن سلول است، که منجر به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای کوئرستین می‌شود.^{۱۸-۲۲} کوئرستین می‌تواند پتانسیل غشای میتوکندری را افزایش دهد و با تنظیم مسیرهای MAPK منجر به مهار آپوپتوز به دنبال آسیب ایسکمی قلبی شود.^{۳۳} کوئرستین انحلال‌پذیری کمی در آب دارد، از این رو حامل‌های مختلفی مانند نانوکیتوزان^{۴۷} یا نانولیپوزوم^{۴۸} می‌توانند در افزایش انحلال‌پذیری آن موثر واقع شوند و فعالیت زیستی آن را بهبود بخشند.^{۲۴-۲۶}

غیر از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی، تمرینات ورزشی نیز قادر به کاهش عوامل خطرزای قلبی عروقی هستند که مانع آپوپتوز سلول‌های قلبی نیز می‌شوند.^{۲۷-۳۰} مشاهدات پیشین

- i- c-Jun N-terminal Kinases
- ii -Extracellular Signal-Regulated Kinases 1/2
- iii- Flavonoid
- iv- Quercetin
- v -Reactive oxygen species
- vi -Nanochitosan
- vii- Nanoliposome

ساخت شرکت سیگما (آمریکا) با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن به صورت محلول در حلال سدیم کلراید ۰/۹ درصد، به صورت تزریق زیرپوستی، انجام شد. سپس القاء سکتة قلبی طبق پروتکل‌های استاندارد صورت پذیرفت.^{۴۵}

دستورالعمل تمرینی

پیش از اجرای برنامه تمرینی، گروه‌های تمرین تناوبی با دویدن به مدت ۵ روز متوالی با سرعت ۱۰ متر در دقیقه با شیب صفر درصد و به مدت ۱۰ دقیقه با تردمیل ۵ کاناله مدل ۲۰۱۶ ساخت شرکت تجهیز گستر امید ایرانیان آشنا شدند. سپس تمرین تناوبی هوایی ۵ روز در هفته، که هر جلسه شامل ۷ تناوب (هر تناوب شامل ۴ دقیقه با شدت ۸۰ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و ۳ دقیقه با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد VO_{2max}) بود، به مدت ۸ هفته اجرا شد، در ابتدای هر جلسه تمرین؛ ۱۰ دقیقه گرم کردن و در انتها هم ۵ دقیقه سرد کردن لحاظ شد (جدول ۱). لازم به ذکر است که در طول برنامه تمرینی از هیچ گونه شوک تمرینی استفاده نشد و در صورت لزوم با استفاده از دست و یا ایجاد محرک صوتی بر روی درپوش ریل‌های تردمیل، حیوانات مجبور به ادامه تمرین شدند.^{۴۶}

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 پلی اتیلنی ۶ تایی نگهداری شدند. طرح پژوهشی و دستورالعمل کار با حیوانات توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد خوراسگان (IR.IAU.KHUISF.REC/1400/091) تأیید شد. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید، ابتدا موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به دو گروه شاهد سالم (۶ سر) و القای سکتة (۲۴ سر) تقسیم شدند. پس از القای سکتة، موش‌های این گروه به طور تصادفی به چهار گروه ۶ تایی شامل: سکتة قلبی، سکتة قلبی + مکمل، سکتة قلبی + تمرین و سکتة قلبی + مکمل + تمرین تقسیم شدند. در این مطالعه از طریق تحلیل توان (G Power 3.1) با توان ۰/۸ و $\alpha = 0/05$ تعداد حجم نمونه مورد محاسبه قرار گرفت.

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 شاروما و همکاران، ایزوپروتینول^{۴۷}

جدول ۱- پروتکل تمرینی

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

نحوه مکمل‌دهی

پس از هر جلسه تمرینی و راس ساعت ۱۲ ظهر مکمل QEN ساخت شرکت سیگما با کد Q4951 در حلال نرمال سالین به نسبت ۱ به ۱ مخلوط و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها در گروه‌های دریافت مکمل گاوژ گردید. اولین روز دریافت مکمل QEN نیز ۲ روز پس از سازگاری با محیط تمرین بود.^{۴۷}

روش نمونه‌گیری بافت

چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، در ساعت ۸ صبح، موش‌های مورد

مطالعه با تزریق داخل صفاقی ۳۰۰ میکرولیتر از مخلوط ۱ به ۳ از کتامینⁱⁱ ۱۰ درصد (شرکت برمر فارما، کشور آلمان) و زایلازینⁱⁱⁱ (شرکت اینترشیمی، کشور هلند) بیهوش شدند و پس از بازکردن قفسه سینه، بافت قلب تحت شرایط استریل خارج شد. پس از پاکسازی قلب از بافت چربی و همبند، بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفت و به میکروتیوب‌های مخصوص منتقل و تا زمان انجام آزمایش؛ در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. همه نمونه‌گیری‌ها در یک روز انجام گردید.

i- Isoproterenol

ii- Ketamine

iii- Xylazine

استخراج RNA و سنتز cDNA

به منظور استخراج RNA، ۵۰ میلی‌گرم از بافت قلبی با اضافه کردن ۳۰۰ میکرولیتر تریزول^۱ (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 آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاکسازی شد. نسبت جذبی ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر به شیوه طیف سنجی نوری برای تمامی نمونه‌های 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 Strand cDNA Synthesis (ترموسایتیفیک آمریکا) و با استفاده از پرایمرهای سیناکلون به cDNA تبدیل گردید.

qPCR Time-Real

مرحله نگهداری شامل یک چرخه ۱۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، مرحله چرخش شامل ۳ چرخه 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 چرخه در دمای بین ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز توسط دستگاه استپ وان (ای بی آی، آمریکا) و رنگ سایبرگرین (آمپلیکون، دانمارک) و به صورت تکرار سه تایی انجام شد. کنترل‌های منفی فاقد cDNA و فاقد آنزیم جهت بررسی آلودگی و صحت کارآیی PCR در تمام آزمایشات لحاظ شد. پرایمرهای مورد نیاز توسط نرم‌افزار پرایمر ۳ (ای بی آی، آمریکا) طراحی گردیدند (جدول ۲).

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن	توالی پرایمر	دمای ذوب (°C)	اندازه‌ی محصول	شناسه Gene Bank
r-Erk-f	AATAGCCGCACGAGTCAG	۵۷/۲	۱۲۰ bp	XM_039101582.1
r-Erk1-r	AACGCCACCAACACCGAT	۵۹/۹		
r-Jnk-f	CCAGCTACCAGTGTCCAAACGAT	۶۲/۷	۱۷۶ bp	XM_006245958.3
r-Jnk-r	CTTTGTGACACTGCCATAGTCCC	۶۱/۴		
r-GAPDH-F	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	۶۰/۹	۱۲۳ bp	XM_039107008.1
r-GAPDH-R	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	۵۸/۶		

یافته‌ها

بیان ژن JNK

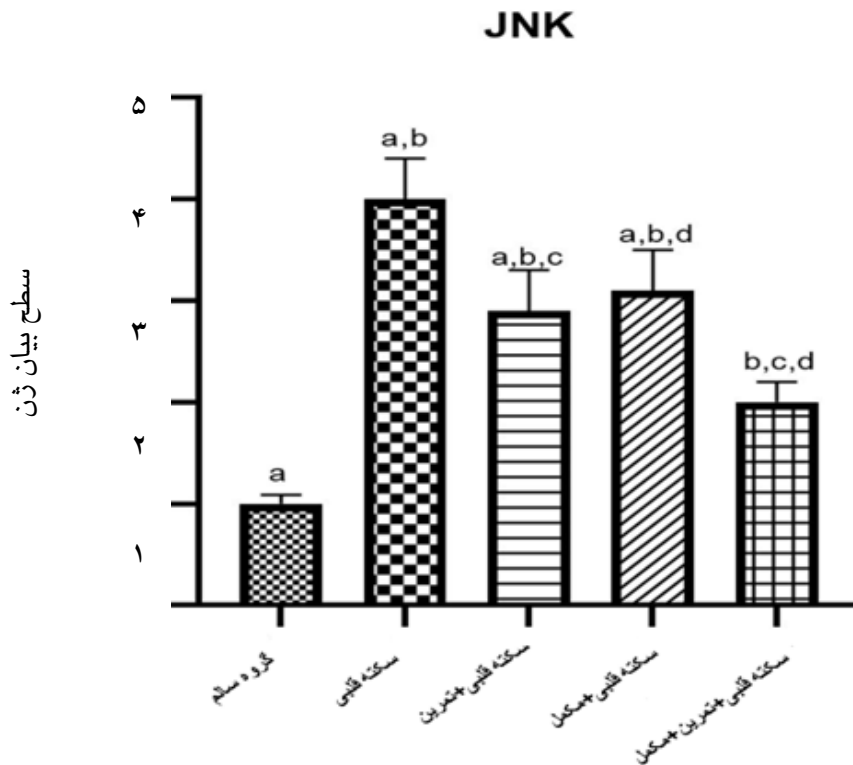
تغییرات در بیان ژن JNK، بافت قلبی در گروه‌های مختلف پژوهش در نمودار ۱ بیان شده است. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه‌های مختلف پژوهش در بیان ژن JNK در بافت قلب؛ تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($f=6/785$ ، $p=0/0066$). همچنین نتایج نشان داد که گروه سگته قلبی، ورزش و مکمل کاهش معناداری در بیان ژن JNK بافت قلب نسبت به گروه سگته قلبی نشان داد ($p=0/0066$). این در حالی است که اگرچه در دیگر گروه‌های تمرین و مکمل بیان ژن JNK کاهش پیدا کرده بود ولی این کاهش نسبت به گروه سگته قلبی معنی‌دار نبود ($p=0/16$ و $p=0/66$).

i- TRIzol

پس از اتمام واکنش PCR، منحنی‌های تکثیر و ذوب مورد ارزیابی قرار گرفتند و با استفاده از فرمول $\Delta\Delta Ct$ که اساس آن بر پایه بازده و اختلاف در CT می‌باشد. میزان بیان ژن‌های JNK و ERK در هر گروه نسبت به گروه کنترل محاسبه شد. ژن GAPDH به منظور کنترل داخلی لحاظ شد.

تجزیه تحلیل آماری

تجزیه تحلیل داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (انووا) و سپس از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه اختلاف بین همه گروه‌ها استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین انحراف استاندارد بیان شده‌اند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



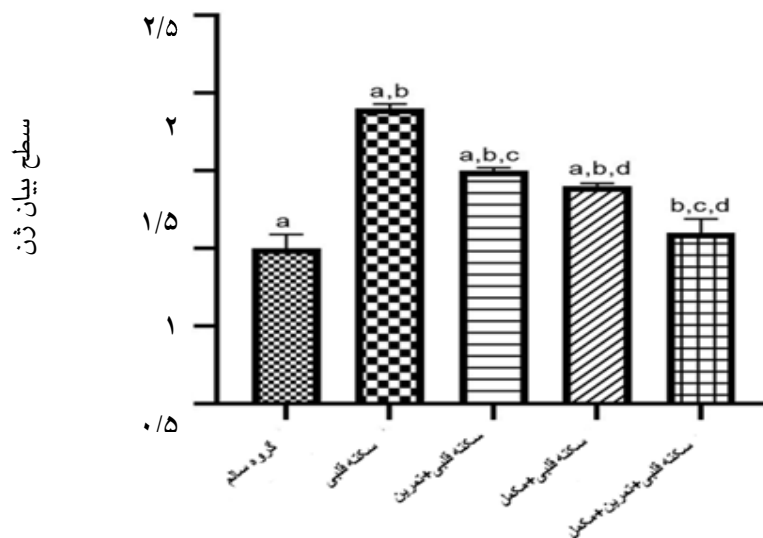
نمودار ۱- میزان بیان ژن JNK در بافت عضله قلبی موش در گروه سالم، سکنه قلبی، سکنه قلبی و مصرف مکمل QEN، سکنه قلبی و تمرین، سکنه قلبی و مصرف مکمل QEN و تمرین: a: مقایسه با گروه سالم، b: مقایسه با گروه سکنه قلبی، c: مقایسه با گروه سکنه قلبی+ورزش، d: مقایسه با گروه سکنه قلبی+مکمل. میزان معنی در سطح $P \leq 0.05$

بیان ژن ERK

ورزش و مکمل کاهش معنی‌داری در بیان ژن ERK بافت قلب نسبت به گروه سکنه قلبی نشان داد ($p=0.0004$). این در حالی است که گرچه در دیگر گروه‌های تمرین و مکمل بیان ژن ERK کاهش پیدا کرده بود ولی این کاهش نسبت به گروه سکنه قلبی معنی‌دار نبود ($p=0.05$ و $p=0.04$).

تغییرات در بیان ژن ERK بافت قلبی در گروه‌های مختلف پژوهش در نمودار ۲ بیان شده است. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه‌های مختلف پژوهش در بیان ژن ERK بافت قلب تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($f=14/3$ ، $p=0.0004$). همچنین نتایج نشان داد که گروه سکنه قلبی،

ERK



نمودار ۲- میزان بیان ژن ERK در بافت عضله قلبی موش در گروه سالم، سکنه قلبی، سکنه قلبی و مصرف مکمل QEN، سکنه قلبی و تمرین، سکنه قلبی و مصرف مکمل QEN و تمرین: a: مقایسه با گروه سالم، b: مقایسه با گروه سکنه قلبی، c: مقایسه با گروه سکنه قلبی+ورزش، d: مقایسه با گروه سکنه قلبی+مکمل. میزان معنی در سطح $p \leq 0.05$

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القاء سکنه میزان بیان ژن‌های JNK و ERK در گروه سکنه قلبی را به میزان قابل توجهی افزایش داد. بعد از هشت هفته تمرین هوازی و نیز مصرف مکمل QEN این میزان در گروه ترکیب تمرین هوازی و مصرف مکمل QEN کاهش معنی‌داری نشان داد.

در مطالعه حاضر با ایجاد مدل ایسکمی میوکارد در موش‌های صحرایی و سپس گواژ مکمل QEN به موش‌های مورد آزمایش، به مطالعه سازوکار تنظیمی این مکمل بر مسیر JNK/ERK پرداختیم. نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش پرزاⁱ و همکاران، آهنⁱⁱ و همکاران یوشیزومیⁱⁱⁱ و همکاران، هم‌راستا بود. در پژوهش‌های مذکور نیز عنوان شده است که کوئرستین با کاهش فسفوریلاسیون JNK باعث مهار فعالیت آن و کاهش القای آپوپتوز در سلول‌ها می‌شود.^{iv-v} همچنین لی و همکاران^{iv} نیز که نتایج آن‌ها با پژوهش حاضر همسو بود، عنوان کرده‌اند که تجویز کوئرستین (۱۶۰-۰ میکرومولار) با کاهش سلول‌های آپوپتوزی از طریق تنظیم منفی ژن JNK همراه است، که سازوکار احتمالی آن به اثر کاهشی JNK بر روی ژن‌های BCL2، BAX و کاسپازها مرتبط می‌باشد که در نهایت باعث کاهش آپوپتوز سلول‌ها می‌گردد.^{vi} ناهمسو با نتایج پژوهش حاضر، نتایج یک پژوهش نشان داد غلظت‌های بالای کوئرستین باعث افزایش فعال‌سازی JNK می‌شود، که این مشاهده می‌تواند به اثرات پرواکسیدانی آن مرتبط باشد.^{vii} از طرفی نام^{viii} و همکاران نشان دادند که کوئرستین از طریق مکانیسم وابسته به میتوکندری که شامل فعال‌سازی ERK است، آپوپتوز را القاء می‌کند. آن‌ها در قسمت بعدی آزمایش برای ارزیابی این که آیا زیر خانواده‌های MAPK در مرگ سلولی ناشی از کوئرستین نقش دارند یا خیر، سلول‌ها را در معرض غلظت ۲۰ میکرومولار کوئرستین قرار دادند و اثرات مهارکننده‌های MAPK را بر مرگ سلولی بررسی کردند. نتایج اینکه مرگ سلولی ناشی از کوئرستین به طور قابل توجهی توسط مهارکننده ERK مهار شد^{ix} هر چند که این نتیجه همسو با نتایج پژوهش حاضر است، اما در مطالعه‌ی

نام، خلاف نتایج مطالعه حاضر، مرگ سلولی تحت تأثیر مهارکننده JNK قرار نگرفت. گانگایو^x و همکاران نیز همسو با نتایج پژوهش حاضر بیان کردند که بعد از ۲۸ روز درمان با کوئرستین، سطوح فسفوریلاسیون پروتئین‌های مرتبط با ERK و JNK مهار شد. آنان این طور عنوان کردند که کوئرستین با فعال کردن مسیر AMPK و مهار مسیر MAPK باعث مهار اهداف پایین دست آن یعنی ERK و JNK می‌شود.^{xi} مطابق یافته‌های آنان، کوئرستین می‌تواند با تنظیم مسیر JNK/ERK، به طور قابل توجهی منطقه سکنه قلبی را کاهش دهند و بازسازی بطن و شاخص‌های بیوشیمیایی عملکرد قلب در موش‌های MI را بهبود بخشد که بر پتانسیل بالای کوئرستین در بهبود آسیب I/R میوکارد تأکید دارد. در پژوهشی دیگر، ۸۵ بیمار مبتلا به بیماری کرونر قلب به مدت ۲ ماه ۱۲۰ میلی‌گرم کوئرستین دریافت کردند. یافته‌های الکتروکاردیوگرام وجود ایسکمی میوکارد را در بیماران نشان داد. تجویز کوئرستین به مدت ۲ ماه به میزان قابل توجهی تعداد دوره‌های ایسکمی را کاهش داد، که نشان‌دهنده توانایی کوئرستین در درمان ایسکمی در آزمایش‌های بالینی است.^{xii} در همین راستا محققان گزارش دادند که کوئرستین درون پوشانی در نانو ذرات (QEN) باعث افزایش اثر آن در کاهش سطح ROS، بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان و مهار آپوپتوز از طریق تنظیم کاسپاز-۳ می‌شود.^{xiii} لازم است برخی از ویژگی‌ها؛ مانند اندازه کم آن‌ها، پایداری، سازگاری زیستی و کپسول‌سازی کوئرستین در طراحی نانوذرات برای تحویل کوئرستین؛ در نظر گرفته شود.^{xiv}

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که کوئرستین می‌تواند با تنظیم احتمالی مسیر JNK/ERK، از میزان آپوپتوز و سطح استرس اکسیداتیو سلول‌های میوکارد کاسته و منطقه انفارکتوس میوکارد را کاهش دهد. بنابراین QEN می‌تواند به طور موثر استفاده از کوئرستین توسط سلول‌ها را بهبود بخشد.

در مطالعه حاضر مشخص شد که ۸ هفته تمرین تناوبی هوازی باعث کاهش سطح ژن‌های JNK و ERK شده در نهایت باعث تنظیم کاهشی فعالیت مسیر آپوپتوزی JNK/ERK می‌شود، لیکن این کاهش زمانی معنی‌دار بود که تمرین تناوبی با مصرف مکمل QEN همراه بود.

i- perez
ii- Ahen
iii- Yoshizumi late
iv -Li
v- Nam

مطالعه‌های اندکی تاثیر استفاده‌ی همزمان تمرین ورزشی و مصرف مکمل کوئرستین را بر میوسیت‌های قلبی بررسی کرده اند. در یکی از این پژوهش‌ها کاشف و همکاران به بررسی اثر هشت هفته تمرین ورزشی شدید به تنهایی و همراه با مصرف مکمل کوئرستین بر عملکرد قلب پرداختند نتایج آن‌ها نشان داد که ۸ هفته تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف مکمل کوئرستین (ترکیبی و جداگانه) باعث بهبود عملکرد بطن چپ در مردان مبتلا به فشار خون بالا می‌شود.^{۶۸} در پژوهش دیگری طزرچی و همکاران به بررسی اثر تمرین ورزشی تناوبی به تنهایی و یا در ترکیب با مکمل کوئرستین بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و التهابی قلب پرداختند. آنان این طور بیان کردند که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط به همراه مصرف مکمل کوئرستین سبب بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلبی موش شد؛ که نشان‌دهنده نقش مثبت تمرینات ورزشی با شدت متوسط بر بهبود عملکرد قلبی می‌باشد.^{۶۹} اگرچه سازوکار واقعی تأثیر مثبت تمرین ورزشی بر کاهش سطح استرس اکسیداتیو و التهاب هنوز به خوبی روشن نشده است، اما به نظر می‌رسد یکی از سازوکارهای اثر تمرین ورزشی بر بهبود استرس اکسیداتیو و التهاب؛ از طریق تغییر در بیان برخی ژن‌ها، از جمله افزایش ژن‌های کدکننده‌ی آنتی‌اکسیدان‌ها و عوامل بروز التهاب باشد.^{۷۰}

از طرفی، نتایج پژوهش‌های مختلف نشانگرهای مهم آپوپتوز در رابطه با ورزش به تنهایی را گزارش کرده‌اند. در واقع، ورزش شدید منجر به افزایش پروتئین‌های پیش آپوپتوزی شده و منجر به فعال‌سازی مسیره‌های آپوپتوزی می‌شود که این نتایج ممکن است به دلیل شدت ورزش باشد.^{۷۱-۷۰} در مطالعه‌ای محققان به بررسی اثر دو نوع تمرین ورزشی بر روی فعال‌سازی JNK در قلب موش‌ها پرداختند. در یک دستورالعمل تمرینی موش‌ها به یکی از چهار گروه شدت کم، شدت متوسط، شدت بالا و مدت زمان طولانی تقسیم شدند و تنها یک جلسه تمرین کردند و در دستورالعمل دیگر، موش‌ها به مدت ۶ هفته و با شدت بالا تمرین کردند. نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که ۶ هفته تمرین منظم روی تردمیل منجر به فعال‌سازی مسیره‌ی JNK در عضله قلب موش‌ها می‌شود. علاوه بر این، مشخص شد میزان فعال - شدن JNK در قلب به شدت تمرینی بستگی دارد. به این صورت که هر چه شدت تمرین بیشتر شود، با افزایش

آنژیوتانسینⁱ و با هیپرتروفی اضافه بار فشاری، JNK در سطحی متناسب فعال می‌شود.^{۷۲} در بخش دیگری از پژوهش آن‌ها مشخص شد، پاسخ JNK قلبی به یک دوره تمرین ورزشی شدید در موش‌های تمرین کرده کاهش می‌یابد که این داده‌ها نشان می‌دهند مسیر JNK ممکن است یک نقطه تنظیمی مهم در آبشار محافظت قلبی توسط تمرین ورزشی شدید و همچنین در پاسخ تطبیقی قلب به تمرین ورزشی منظم باشد.^{۷۳} از دیگر سو، در پژوهش دیگری مشخص شد یک دوره تمرین ورزشی شدید باعث ایجاد اثرات محافظتی قلبی در برابر آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن می‌شود که تا حدی با فعال‌شدن پروتئین‌های شوک حرارتی ایجاد می‌شود.^{۷۴} فعال‌سازی JNK ممکن است از طریق فسفوریلاسیون فاکتور شوک حرارتی در پاسخ محافظتی قلبی نقش داشته باشد.^{۷۵} در واقع، به نظر می‌رسد که اثرات محافظتی فاکتور شوک حرارتی در پاسخ محافظتی JNK دارد.^{۷۶} فعال‌سازی JNK در موش‌هایی که تحت فشار بیش از حد تمرینی قرار می‌گیرند برای محافظت در برابر ایجاد التهاب و آپوپتوز لازم است.^{۷۷} تعیین اینکه آیا فعال-سازی JNK برای پاسخ محافظتی قلبی به یک دوره تمرین ورزشی شدید ضروری است یا خیر، مهم است. مشاهدات نشان می‌دهد فعال‌سازی JNK بعد از ایسکمی-خون‌رسانی مجدد پاسخی وابسته به شدت به تمرین ورزشی ایجاد می‌کند که با اثر محافظتی بر قلب در ارتباط است.^{۷۸}

در پژوهش حاضر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف مکمل QEN باعث کاهش بیان ژن ERK و کاهش فعالیت مسیر آپوپتوزی JNK/ERK شد. پژوهشی که اثر همزمان این دو متغیر را بررسی کند یافت نشد اما لی و همکارانⁱⁱⁱ در مطالعه‌ای اثر تمرین ورزشی را بر مسیر پیام-دهی ERK بررسی کردند. در پژوهش آن‌ها، موش‌ها ۳۰ دقیقه در روز به مدت ۲ هفته روی تردمیل دویدند. نتایج آن‌ها نشان داد تمرین ورزشی از طریق افزایش فسفوریلاسیون مسیر ERK منجر به سرکوب آپوپتوز در موش‌های ایسکمی می‌شود.^{۷۹} این نتایج با نتایج کاردوسو و همکارانⁱⁱⁱ مشابه بود. آن‌ها نیز بیان کرده بودند که ۱۰ روز تمرین روی تردمیل باعث کاهش مسیره‌های پیام‌دهی درون سلولی مرتبط با التهاب و مرگ سلول از جمله کاهش فعالیت ERK در

i - Angiotensin II

ii- Li et al

iii -Cardoso et al

از جمله محدودیت‌های پژوهش می‌توان به عدم مقایسه دوزهای مختلف مکمل QEN و تعداد پایین گروه‌ها اشاره کرد.

به طور خلاصه، نتایج پژوهش حاضر عنوان می‌کند که درون پوشانی کوئرسستین در نانوذررات (QEN) فراهمی زیستی و اثر درمانی کورستین را بهبود می‌بخشد. از این رو QEN می‌تواند بعد از ایجاد آسیب ایسکمی/باز ریزش خون، با تنظیم مسیر JNK/ERK از آپوپتوز سلول‌های عضله قلبی جلوگیری کند.

سپاسگزاری: این پژوهش برگرفته از رساله دکترای فیزیولوژی ورزشی، گرایش قلب و عروق و تنفس می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان از مسئولین محترم دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد واحد اصفهان (خوراسگان) صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

- Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2019; 139: 56-528.
- Kostin S, Pool L, Elsasser A, Hein S, Drexler HC, Arnon E, et al. Myocytes die by multiple mechanisms in failing human hearts. *Circ Res* 2003; 92: 715-24.
- Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death and Differentiation* 2009; 16: 3-11.
- Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, et al. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med* 1997; 336: 1131-41.
- Gottlieb RA, Burlison KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 1994; 94: 1621-8.
- Neri M, Fineschi V, Di Paolo M, Pomara C, Riezzo I, Turillazzi E, et al. Cardiac oxidative stress and inflammatory cytokines response after myocardial infarction. *Curr Vasc Pharmacol* 2015; 13: 26-36.
- Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest* 2013; 123: 92-100.
- Neil A, Nicola M. Cardiac Fibroblast p38 MAPK: A Critical Regulator of Myocardial Remodeling. *J Cardiovasc Dev Dis* 2019; 6: 27.
- Czazasta K, Koperski L, Segiet A, Janiszewski M, Kuch M, Barbara Gornicka, et al. The role of high fat diet in the regulation of MAP kinases activity in left ventricular fibrosis. *Acta Histochemica* 2019; 121: 303-10.
- Liua X, Chena K, Zhuangb Y, Huangb Y, Sui Y, Zhang Y, et al. Paeoniflorin improves pressure overload-induced cardiac remodeling by modulating the MAPK signaling pathway in spontaneously hypertensive rats. *Biomed Pharmacother* 2019; 111: 695-704.

موش‌ها و در نتیجه کاهش آپوپتوز سلول‌ها می‌شود.^{۷۰} فعال-سازی ERK به ویژه در شرایط استرس اکسیداتیو در نهایت توسط مولکول‌های درون سلولی مرتبط با مرگ و التهاب، مانند کاسپاز-۳، سیتوکروم C میتوکندریایی و TNF- α منجر به آپوپتوز سلول می‌شود.^{۷۱} ما در این پژوهش به این نتیجه رسیدیم که پس از هشت هفته تمرین هوازی تناوبی به همراه مصرف مکمل QEN، به دلیل اینکه درون پوشانی کردن آن در نانوذررات اثرات این مکمل را افزایش می‌دهد، می‌تواند به طور قابل توجهی بیان ژن‌های JNK و ERK را پس از آسیب ایسکمی میوکارد کاهش دهد. این امر احتمالاً منجر به تنظیم کاهش فعال-سازی کمپلکس JNK/ERK و فاکتورهای پایین دست آن می‌شود، که ضمن جلوگیری از آپوپتوز سلول‌های میوکارد، اثر محافظتی بر میوسیت‌های قلبی در پی آسیب ایسکمی/بازریزش مجدد خون دارد.

محدودیت‌های پژوهش

- Ravingerová T, Strnisková M. Mitogen-activated protein kinases: a new therapeutic target in cardiac pathology. *Mol Cell Biochem* 2003; 247: 127-38.
- Ding H, Huang Y, Chen Z, Tang Y, Wang D, Fan D, 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: 143-9.
- Luo F, Shi J, Shi Q, Xu X, Xia Y, He X. Mitogen-activated protein kinases and hypoxic/ischemic nephropathy. *Cell Physiol Biochem* 2016; 39: 1051-67.
- Rose B A, Force T, Wang Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale. *Physiol Rev* 2010; 90: 150-4.
- Ferrandi C, Ballerio R, Gaillard P, Giachetti C, Carboni S, Vitte PA, et al. Inhibition of c-Jun N-terminal kinase decreases cardiomyocyte apoptosis and infarct size after myocardial ischemia and reperfusion in anaesthetized rats. *Br J Pharmacol* 2004; 142: 953-60.
- Jochmann S, Elkenani M, Mohamed B, Buchholz E, Lbik D, Binder L, et al. Assessing the role of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 in volume overload-induced cardiac remodelling. *ESC Heart Failure* 2019; 6: 1015-26.
- Mebratu Y, Tesfaigzi Y. How ERK1/2 activation controls cell proliferation and cell death: Is subcellular localization the answer? *Cell Cycle* 2009; 8: 68-75.
- Yeung A, Tzvetkov NT, El-Tawil OS, Bungău SG, Abdel-Daim MM, Atanasov AG. Antioxidants: scientific literature landscape analysis. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 8278454.
- Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry M T, Wang S, et al. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients* 2016; 8: 167.
- Patel R V, Mistry B M, Shinde S K, Syed R, Singh V, Shin H S. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *Eur J Med Chem* 2018; 155: 889-904.
- Wu X J, Zhou X B, Chen C, Mao W. Systematic investigation of quercetin for treating cardiovascular disease

- based on network pharmacology. *Comb Chem High Throughput Screen* 2019; 22: 411-20.
22. Nam JS, Sharma AR, Nguyen LT, Chakraborty C, Sharma G, Lee SS. Application of bioactive quercetin in oncotherapy: from nutrition to nanomedicine. *Molecules* 2016; 21: 108.
 23. Liu H, Zhou M. Antitumor effect of Quercetin on Y79 retinoblastoma cells via activation of JNK and p38 MAPK pathways. *BMC Complement Alter Med* 2017; 17: 531.
 24. Ahmad N, Ahmad R, Alam MA, Samim M, Iqbal Z, Ahmad FJ. Quantification and evaluation of thymoquinone loaded mucoadhesive nanoemulsion for treatment of cerebral ischemia. *Int J Biol Macromol* 2016; 88: 320-32.
 25. Ahmad N, Alam MA, Ahmad R, Umar S, Ahmad FJ. Improvement of oral efficacy of irinotecan through biodegradable polymeric nanoparticles through invitro and in vivo investigations. *J Microencapsul* 2018; 35: 327-43.
 26. Ahmad N, Ahmad R, Ahmad F J, Ahmad W, Aftab Alam Md, Amir M, et al. Poloxamer-Chitosan-based Naringenin nanoformulation used in brain targeting for the treatment of Cerebral Ischemia. *Saudi J Biol Sci* 2020; 27: 500-17.
 27. Ringseis R, Eder K, Mooren F, Kruger K. Metabolic signals and innate immune activation in obesity and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2015; 21: 58-68.
 28. Gram M, Vigelso A, Yokota T, Helge JW, Dela F, Hey-Mogensen M. Skeletal muscle mitochondrial H₂O₂ emission increases with immobilization and decreases after aerobic training in young and older men. *J Physiol* 2015; 593: 4011-27.
 29. Tarpey MD, Davy KP, McMillan RP, Bowser SM, Halliday TM, Boutagy NE, et al. Skeletal muscle autophagy and mitophagy in endurance-trained runners before and after a high-fat meal. *Mol Metab* 2017; 6: 1597-609.
 30. Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. *J Appl Physiol* 2008; 105: 1934-43.
 31. Boyer J, Song T, Lee D, Fu X, Sadayappan S, Molkentin J. Mitogen-Activated Protein Kinase-Dependent Fiber-Type Regulation in Skeletal Muscle. *J.D.M* 2019; 45229.
 32. Akimoto T, Pohnert S.C, Li P, Zhang M, Gumbs C, Rosenberg P.B, et al. Exercise stimulates Pgc-1alpha transcription in skeletal muscle through activation of the p38 MAPK pathway. *J Biol Chem* 2005; 280: 19587-93.
 33. Nagayama M, Itoh H, Maeda T. Cardiac rehabilitation for patients with acute myocardial infarction. *Nihon Rinsho* 2011; 69 (Suppl 9): S203-9.
 34. Achttien RJ, Staal JB, van der Voort S, et al; Practice Recommendations Development Group: Exercise-based cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease: a practice guideline. *Neth Heart J* 2013; 21: 429-38.
 35. Oldridge N. Exercise-based cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease: meta-analysis outcomes revisited. *Future Cardiol* 2012; 8: 729-51.
 36. Lee Y, Gustafsson AB. Role of apoptosis in cardiovascular disease. *Apoptosis* 2009; 14: 536-48.
 37. Tullio F, Angotti C, Perrelli MG, Penna C, Pagliaro P. Redox balance and cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2013; 108: 392.
 38. Quindry JC, Hamilton KL, French JP, et al. Exercise-induced HSP-72 elevation and cardioprotection against infarct and apoptosis. *J Appl Physiol* (1985) 2007; 103: 1056-62.
 39. 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: 1939-50.
 40. Chen F, Zhao ER, Hableel G. Increasing the efficacy of stem cell therapy via triple-function inorganic nanoparticles. *ACS Nano* 2019; 13: 6605-17.
 41. Lemaster J E, Chen F, Kim T, Hariri A, Jokerst J V. The development of a trimodal contrast agent for acoustic and magnetic particle imaging of stem cells. *ACS Appl Nano Mater* 2018; 1: 1321-31.
 42. Sulaiman D, Li J, Devarajan A. Paraoxonase 2 protects against acute myocardial ischemia-reperfusion injury by modulating mitochondrial function and oxidative stress via the PI3K/Akt/GSK-3beta RISK pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2019; 129: 154-64.
 43. Li P, Lin N, Guo M, Huang H, Yu T, Zhang L. REDD1 knockdown protects H9c2 cells against myocardial ischemia/reperfusion injury through Akt/mTORC1/Nrf2 pathway-ameliorated oxidative stress: an in vitro study. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 519: 179-85.
 44. Ding S, Liu D, Wang L, Wang G, Zhu Y. Inhibiting microRNA-29a protects myocardial ischemia-reperfusion injury by targeting SIRT1 and suppressing oxidative stress and NLRP3-mediated pyroptosis pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2020; 372: 128-35.
 45. Sharma M, Kishore K, Gupta SK, Joshi S, Arya DS. Cardioprotective potential of *Ocimum sanctum* in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem* 2001; 225: 75-83.
 46. 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. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 5304-22.
 47. Cui W, Hu G, Peng J, Mu L, Liu J, Qiao L. Quercetin Exerts Protective Effects in a Rat Model of Sepsis via Inhibition of Reactive Oxygen Species(ROS) and Downregulation of High Mobility Group Box 1(HMGB1) Protein Expression. *Med Sci Monit* 2019; 25: 5795-800.
 48. Perez-Vizcaino F, Bishop-Bailley D, Lodi F, Duarte J, Cogolludo A, Moreno L, et al. The flavonoid quercetin induces apoptosis and inhibits JNK activation in intimal vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 919-25.
 49. Ahn J, Lee H, Kim S, Park J, Ha T. The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373: 545-549.
 50. Yoshizumi M, Tsuchiya K, Suzaki Y, Kirima K, Kyaw M, Moon JH, 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: 1458-65.
 51. Li C, Wang T, Zhang C, Xuan J, Su C, Wang Y. Quercetin attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Gene* 2016; 577: 275-80.
 52. Shih C M, Lin H, Liang Y C, Lee W S, Bi W F, Juan S H. Concentration-dependent differential effects of quercetin on rat aortic smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 2004; 496: 41-8.
 53. Nam T W, Yoo Ch, Kim H T, Kwon C H, Park J Y, Kim Y K. The flavonoid quercetin induces apoptosis

- and inhibits migration through a MAPK-dependent mechanism in osteoblasts. *J Bone Miner Metab* 2008; 26: 551-60.
54. Guangyao Ye, Chunyan Lin, Yu Zhang, Zihan Ma, Yuebo Chen, Lingsi Kong. Quercetin Alleviates Neuropathic Pain in the Rat CCI Model by Mediating AMPK/MAPK Pathway. *J Pain Res* 2021; 14: 1289-301.
 55. Chekalina N I, Shut S V, Trybrat T A, Burmak Y H, Petrov Y Y, Manusha Y I, et al. Effect of quercetin on parameters of central hemodynamics and myocardial ischemia in patients with stable coronary heart disease. *Wiad Lek* 2017; 70: 707-11.
 56. Ghosh A, Sarkar S, Mandal A K, Das N. Neuroprotective role of nanoencapsulated quercetin in combating ischemia-reperfusion induced neuronal damage in young and aged rats. *PLoS One* 2013; 8: 57735.
 57. Ahmad N, Ahmad R, Naqvi A A, Alam M A, Abdur Rub R, Ahmad F J. Enhancement of Quercetin Oral Bioavailability by Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System and their Quantification through Ultra High Performance Liquid Chromatography and Mass Spectrometry in Cerebral Ischemia. *Drug Res Stuttg* 2017; 67: 564-75.
 58. Kashef M, Mahmoodi KH, Salehpoor M, Monikh KH. The effect of eight weeks of intense intermittent exercise and quercetin supplementation (combined and separate) on dimensional and functional adaptations of the left ventricle in men with hypertension and cad after pca. *Bi-monthly scientific-research journal of Shahed University* 2019; 144: 35-49. [Farsi]
 59. Tazarchi S, Ekhlaspour P, Nazari Robati F, Tallei B. The combined effect of quercetin and exercise on oxidative stress induced by colon cancer in the heart tissue of male rat. *Journal of Jiroft University of Medical Sciences* 2020; 2: 384-93. [Farsi]
 60. Hajjighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Arch Physiol Biochem* 2019; 125: 9-142. [Farsi]
 61. Quadrilatero J, Hoffman-Goetz L. N-acetyl-l-cysteine protects intestinal lymphocytes from apoptotic death after acute exercise in adrenalectomized mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: 1664-72.
 62. Lagranha CJ, Senna SM, de Lima TM, Silva E, Doi SQ, Curi R, et al. Beneficial effect of glutamine on exercise-induced apoptosis of rat neutrophils. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: 210-7.
 63. Sharafi H, Rahimi R. The effect of resistance exercise on p53, caspase-9, and caspase-3 in trained and untrained men. *J Strength Cond Res* 2012; 26: 1142-8. [Farsi]
 64. Park KS, Sedlock DA, Navalta JW, Lee MG, Kim SH. Leukocyte apoptosis and pro-/anti-apoptotic proteins following downhill running. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111:2349-57.
 65. Yoo S Z, No M H, Heo J W, Chang E, Park D H, Kang J H, et al. Effects of a single bout of exercise on mitochondria-mediated apoptotic signaling in rat cardiac and skeletal muscles. *Journal of Exercise Rehabilitation* 2019; 15: 512-7.
 66. Yano M, Kim S, Izumi Y, Yamanaka S, Iwao H. Differential activation of cardiac c-jun amino-terminal kinase and extracellular signal-regulated kinase in angiotensin II-mediated hypertension. *Circ Res* 1998; 83: 752-60.
 67. Fischer TA, Ludwig S, Flory E, Gambaryan S, Singh K, Finn P, et al. Activation of cardiac c-Jun NH2-terminal kinases and p38-mitogen-activated protein kinases with abrupt changes in hemodynamic load. *Hypertension* 2001; 37: 1222-8.
 68. Boluyt MO, Loyd AM, Roth MH, Randall MJ, Song EY. Activation of JNK in rat heart by exercise: effect of training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 2639-47.
 69. Milne KJ, Noble EG. Exercise-induced elevation of HS-P70 is intensity dependent. *J Appl Physiol* 2002; 93: 561-8.
 70. Park J, Liu AY. JNK phosphorylates the HSF1 transcriptional activation domain: role of JNK in the regulation of the heat shock response. *J Cell Biochem* 2001; 82: 326-38.
 71. Tekin D, Xi L, Zhao T, Tejero-Taldo MI, Atluri S, Kukreja RC. Mitogen-activated protein kinases mediate heat shock-induced delayed protection in mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: 523-32.
 72. Sadoshima J, Montagne O, Wang Q, Yang G, Warden J, Liu J, et al. The MEKK1-JNK pathway plays a protective role in pressure overload but does not mediate cardiac hypertrophy. *J Clin Invest* 2002; 110: 271-9.
 73. Fryer RM, Patel HH, Hsu AK, Gross GJ. Stress-activated protein kinase phosphorylation during cardioprotection in the ischemic myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: 1184-92.
 74. Lee Su, Kim Ch, Shin M, Lim B. Treadmill exercise ameliorates memory impairment through ERK-Akt-CREB-BDNF signaling pathway in cerebral ischemia gerbils. *Journal of Exercise Rehabilitation* 2020; 16: 49-57.
 75. Cardoso F, França E, Serra F, Victorino A, de Almeida A, Fernandes J, et al. Aerobic exercise reduces hippocampal ERK and p38 activation and improves memory of middle-aged rats. *Hippocampus* 2017; 27: 899-905.
 76. Zhuang S, Schnellmann A. death-promoting role for extracellular signal-regulated kinase. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2006; 319: 991-7.

Original Article

The Effect of Eight Weeks of Intermittent Training with Quercetin Encapsulated Nanoparticles on JNK and ERK Apoptosis Regulators in the Rat Model of Myocardial Infarction

Ahmadi S , Taghian F , Jalali dehkordi Kh 

Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I.R. Iran

e-mail: f_taghian@yahoo.com

Received: 21/11/2021 Accepted: 26/02/2022

Abstract

Introduction: Restoration of blood flow to the ischemic heart muscle causes infarction and myocyte death. Quercetin can be effective in treating heart disease due to its antioxidant effect, but its use is limited due to its low solubility in water. Quercetin restriction can be removed by embedding it in carrier nanoparticles. The present study was designed to determine the effect of quercetin encapsulated nanoparticles(QEN) with intermittent exercise on the expression of JNK and ERK genes. **Materials and Methods:** Thirty rats were randomly divided into five groups (healthy, myocardial infarction, myocardial infarction and supplement, myocardial infarction and exercise, myocardial infarction and exercise and supplement). Myocardial infarction was performed with isoprenaline in 24 rats by subcutaneous injection. In the supplement groups, supplemental gavage was performed after each training session. Cardiac tissue isolation was performed 48 hours after the last training session. Real-Time PCR measured the relative expression of JNK and ERK genes. Data analysis was performed by one-way analysis of variance at a significant level of 0.05. **Results:** The expression of JNK and ERK genes was significantly reduced in the exercise and supplementation group compared to the myocardial infarction group. **Conclusion:** Taking QEN with periodic aerobic exercise can reduce the expression of JNK and ERK genes, which reducing the expression of JNK and ERK genes, it can reduce the activation of the JNK and ERK complex and thus reduce cell death through apoptosis and therefore have a protective effect on cardiac myocytes following ischemic injury.

Keywords: QEN, Interval exercise, Cardiomyocyt, JNK, ERK, Infarction, Isoproterenol