

پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش

دوره ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱

ص ص : ۱۹۰-۱۸۱

تأثیر تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن GAP43 و درصد تخریب کلاژن میوکارد در رت‌های مسموم‌شده با کلروپیریفوس

علی بمانی رنجبر^۱ - حسن متین همایی*^۲ - صالح رحمتی احمدآباد^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، ۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، ۳. استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد پردیس، دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۰۳، تاریخ تصویب: ۱۴۰۱/۰۱/۲۷)

چکیده

کلروپیریفوس از سموم ارگانوفسفره است که برای کنترل آفات کشاورزی به کار می‌رود. این سموم موجب تغییر بیان ژن‌ها و آسیب سلولی در بدن می‌شود. با توجه به مصرف فراوان این ترکیبات در مزارع برنج و باغ‌های مرکبات ضرر احتمالی آنها، در این تحقیق سعی بر آن است که تأثیر تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن GAP43 و آسیب میوکارد رت‌های مسموم‌شده با کلروپیریفوس بررسی شود. در این پژوهش ۳۶ رت نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به شش گروه کنترل سالم، شم، کنترل مسموم، مسموم تمرین هوازی، مسموم اوژنول و مسموم + تمرین هوازی + اوژنول تقسیم شدند. مداخلات براساس نام گروه اعمال شد و ۴۸ ساعت پس از انجام آخرین مداخله بافت‌برداری انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه آنالیز شدند و P کوچک‌تر از ۰/۰۵ به‌عنوان تغییر معنادار در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد مسمومیت، به‌طور معناداری موجب کاهش بیان ژن مذکور و تخریب کلاژن بافت قلب شده است. تخریب کلاژن در رت‌های مسموم تمرین‌کرده و مصرف‌کننده اوژنول کمتر بود، درحالی‌که بیان ژن GAP43 در رت‌های مسموم تغییر معناداری به‌واسطه استفاده از تمرین و مکمل به‌تنهایی نداشت. تعامل تمرین و مکمل موجب افزایش بیان ژن GAP43 قلب رت‌های مسموم و کاهش تخریب کلاژن قلب آنها شد. در مجموع استفاده همزمان از تمرین و مکمل موجب تأثیرات مفید بیشتری بر بافت قلب رت‌های مسموم در مورد متغیرهای تحقیق حاضر شد.

واژه‌های کلیدی

اوژنول، بیان ژن، تخریب کلاژن، تمرین هوازی، قلب.

مقدمه

جمعیت در کشورهای در حال توسعه رو به افزایش است و متعاقباً تقاضا برای غذا بیشتر شده است. با توجه به اینکه کشاورزی عمده‌ترین مواد غذایی افراد جامعه را تأمین می‌کند، نیاز است که کشاورزان محصولات را به صورت غیرارگانیک تولید کنند. بدین منظور برای مقابله با آفات کشاورزی برای افزایش تولید محصول بیشتر، از سموم مختلفی استفاده می‌شود (۱، ۲). در حال حاضر بیش از ۶۵۰۰۰ نوع حشره‌کش استفاده و در محیط آزاد می‌شود (۳). ارگانوفسفورها جزء سموم کشاورزی محسوب می‌شوند که کلرپیریفوس یک حشره‌کش از این گروه است. کلرپیریفوس از طریق پوست، مجاری تنفسی و دستگاه گوارش وارد بدن شده و به سرعت در کبد و کلیه به متابولیت فعال تبدیل می‌شود (۲، ۴).

با توجه به مطالعات پیشین سیستم قلب و عروق از آسیب‌پذیرترین دستگاه‌های بدن در مواجهه با کلروپیریفوس است و تحت تأثیر سموم با مکانیسم افزایش آپوپتوز روبه‌رو می‌شود (۵، ۶). کلروپیریفوس می‌تواند موجب تاکی کاردی سینوسی، برادی کاردی، فشار خون و اختلال در ضربان قلب شود (۷). بافت قلب از بافت‌هایی است که در آن رادیکال آزاد بسیاری تولید می‌شود، بنابراین حساسیت آن به سمیت کلروپیروفوس بسیار زیاد است (۸). پروتئین وابسته به رشد ۴۳ (CAP-43)، در اوایل سال ۱۹۸۰ به عنوان فسفوپروتئین متصل‌شونده به کالمادولین وابسته به غشا شناسایی شد. CAP-43 یک پروتئین رشد درون سلولی است که نقش مهمی در فعال‌سازی انتقال سیگنال‌ها برای تنظیم سازمان سیتواسکلتون دارد. این پروتئین در بافت‌های مختلف بدن به خصوص مغز و قلب بیان می‌شود (۹).

تحقیقات پیشین نشان می‌دهند استفاده از تمرین منظم و گیاهان دارویی بر تغییر بیان ژن بافتی تأثیرگذار

است (۱۳-۱۰) و موجب بهبود ساختار و عملکرد قلب می‌شود (۱۴). تأثیرات مثبت تمرین هوازی بر بهبود آثار سم کلروپیریفوس در برخی مطالعات بررسی شده است (۱۵، ۱۶). اوژنول (ماده مؤثره گیاه میخک) نیز امروزه بسیار مورد توجه است. در مطالعات متعددی تأثیرات ضدالتهابی، ضدسرطانی، ضدآپوپتوزی، آنتی‌اکسیدانی و فاکتورهای کاهش‌دهنده استرس اکسیداتیو در مکمل اوژنول مشاهده شده است (۱۷-۱۹). همچنین تحقیقاتی که نشان‌دهنده کاهش آثار زیانبار کلرپیریفوس با استفاده از مکمل اوژنول بوده‌اند نیز وجود دارد (۱۵، ۱۶).

تاکنون تحقیقی به بررسی اثر تعاملی تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن CAP-43 و میزان تخریب میوکارد در شرایط مسمومیت مزمن با کلروپیریفوس نپرداخته است؛ بنابراین در پژوهش حاضر به بررسی اثر مستقل و تعاملی تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن GAP43 و آسیب میوکارد در رت‌های مسموم‌شده با کلرپیریفوس پرداخته شده است.

روش‌شناسی

حیوانات

در یک کارآزمایی تجربی ۳۶ رت نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای در دامنه وزنی بین ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم به‌عنوان آزمودنی بررسی شدند. رت‌ها از انستیتو پاستور تهران خریداری شده و به پانسیون آزمایشگاه هیستوپاتولوژی انتقال داده شدند. حیوانات یک هفته پیش از شروع پروتکل تمرین، به‌منظور سازگاری با محیط جدید در محل اجرای طرح، در شرایط استاندارد آزمایشگاهی در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو به ابعاد ۲۶/۵×۴۲×۱۵ سانتی‌متر، (هر قفس ۶ رت) دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب (بطری ۳۰۰ میلی‌لیتری شفاف و مدرج با قابلیت اتوکلاو و

القای اوژنول

مکمل اوژنول از شرکت مرک^۳ آلمان تهیه شد (شماره کاتالوگ: ۸۱۸۴۵۵). اوژنول با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۵ روز در هفته و به مدت ۴ هفته با استفاده از گاوژ به رت‌های گروه‌های مکمل خورنده شد (۲۲).

بافت‌برداری

برای قربانی کردن و بافت‌برداری به‌منظور مطالعات سلولی و مولکولی از روش فرس استفاده شد. رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله با حداقل ۸ ساعت ناشتایی با محلول کلروفورم بی‌هوش شدند و پس از شکافتن قفسه سینه از بطن چپ قلب با استفاده از سرنگ، خون‌گیری انجام گرفت. سپس به‌سرعت بافت‌ها جدا شدند و به‌وسیله محلول بافر فسفات سالین (PBS) شست‌وشوی بافتی انجام گرفت. نمونه آپکس قلب برداشته شد و داخل میکروتیوب قرار گرفت. نمونه‌ها با استفاده از نیتروژن مایع فریز شده و تا زمان آنالیز بافتی در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

نحوه سنجش بیان ژن GAP43 و درصد تخریب کلاژن

میوکاردا

RNA با استفاده از نمونه آپکس قلب و کیت مخصوص^۴ استخراج شد. غلظت و خلوص مناسب RNA استخراج و توسط دستگاه اسپکتوفتومتر^۵ ارزیابی شد. سپس با استفاده از RNA، کیت مخصوص^۶ و پرایمر غیراختصاصی، cDNA ساخته شد. مقدار یک میکرولیتر از cDNA ساخته شده، پنج میکرولیتر آب مقطر، یک میکرولیتر پرایمر رفت اختصاصی، یک میکرولیتر پرایمر برگشت اختصاصی (جدول ۱) و یک میکرولیتر از کیت

همراه با کلاhek ۱ سانتی‌متری از جنس استنلس استیل بدون رزوه) و غذای کافی (محصول شرکت بهپرو، ایران) با سیکل ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی نگهداری شدند. تمام اصول کار روی حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت جمهوری اسلامی رعایت شد. حیوانات به‌طور تصادفی به شش گروه کنترل سالم، شم، کنترل مسموم، مسموم تمرین هوازی، مسموم اوژنول و مسموم + تمرین هوازی + اوژنول تقسیم شدند.

القای مسمومیت

حیوانات با استفاده از سم کلروپیریفوس (ساخت شرکت سیگما آلدریچ آمریکا) مسموم شدند. سم کلروپیریفوس به مقدار سه میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۵ وهله در هفته و به مدت ۶ هفته به موش‌ها به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد (۲۰). برای رقیق کردن و تزریق سم، از نرمال سالین ۹٪ استفاده شد. سم و نرمال سالین با استفاده از دستگاه سونیکیتور^۲ کاملاً همگن شدند و تزریق به‌صورت درون‌صفاقی انجام گرفت. به‌منظور بررسی اثر اقدام به تزریق، به رت‌های گروه شم نرمال سالین تزریق شد.

دستورالعمل تمرین هوازی

در ابتدا رت‌ها به مدت دو هفته با تردمیل مخصوص جوندگان (شش لاین، ساخت ایران) آشنا شدند (۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۲۰ دقیقه و با سرعت ۹ متر بر دقیقه). پس از آشناسازی، تمرین هوازی با شدت متوسط شروع شد و به مدت ۴ هفته ادامه یافت. هر جلسه تمرینی شامل ۵ دقیقه گرم کردن، ۲۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین و ۵ دقیقه سرد کردن بود. جلسه اول با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه شروع شد و طبق پروتکل هر هفته افزایش یافت، به‌گونه‌ای که در جلسه آخر به ۲۶ متر بر دقیقه رسید (۲۱).

^۵. Absorbance at A260 /A280; Thermo Scientific, Waltham, MA, USA

^۶. AccuPower RT PreMix cDNA synthesis kit, Bioneer

1 .Sigma-Aldrich

2 .Sonicator

3 .Merck

4. Gt. No. k3090, Bioneer, Daejeon, Republic of Korea

سایبرگرین^۱ با هم پیپت شدند و در دستگاه ریل تایم پی سی آر^۲ قرار گرفتند (۱۰). روش استفاده از تمام کیت‌ها براساس دستورالعمل شرکت سازنده بود. میزان بیان ژن‌ها به صورت نسبی با توجه به بیان GAPDH با استفاده از فرمول^۳ محاسبه شد (۲۳). درصد تخریب کلاژن میوکارد با استفاده از روش تیر کروم ماسون سنجیده شد.

جدول ۱. آغازگرهای اختصاصی (رفت و برگشت) مربوط به هر ژن

نام ژن	رفت	برگشت
GAP43	CCACACAGAGAGAGGGCT	CCCGAGGCTGACCAAGAA
GAPDH	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	CATACTCAGCACCAGCATCACC

روش آماری

اوتونول اثر معناداری بر بیان این ژن نسبت به گروه کنترل مسموم نداشت ($P=0/37$). همزمانی تمرین هوازی و اوتونول توانست بیان این ژن را نسبت به گروه کنترل مسموم به طور معناداری افزایش دهد ($P=0/003$). تفاوت معناداری در بیان ژن GAP43 بین گروه تمرین هوازی - اوتونول با گروه اوتونول ($P=0/27$) و گروه تمرین هوازی ($P=0/39$) مشاهده نشد. تفاوت معناداری در بیان این ژن بین گروه تمرین هوازی و اوتونول مشاهده نشد ($P=0/99$) (شکل ۱).

در بخش توصیفی از شاخص‌های میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک^۴ نشان داد داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند. از تحلیل واریانس یک‌راهه جهت بررسی تفاوت بین گروه‌های تحقیق استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنادار، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. توان آماری با استفاده از نرم‌افزار جی پاور^۵ محاسبه شد. میزان توان آماری بالاتر از ۰/۸۰ بود. برای تمام محاسبات $P < 0/05$ به عنوان تغییر معنادار در نظر گرفته شد. تمام محاسبات با نرم‌افزار آنالیز آماری^۶ نسخه ۲۰ انجام گرفت.

نتایج

درصد تخریب کلاژن میوکارد بین گروه‌های مورد بررسی از تفاوت معناداری برخوردار بود ($P=0/001$) و ($F_{5,30}=166/17$). مقایسه‌های جفتی به دست آمده از آزمون پیگیری توکی نشان داد، در اثر مسمومیت با کلروپریفوس (مقایسه گروه کنترل سالم با گروه کنترل - مسموم) درصد تخریب کلاژن میوکارد به طور معناداری افزایش یافت ($P=0/001$). اقدام به تزریق (شم) اثر معناداری بر بیان این ژن نداشت ($P=0/34$). تمرین هوازی به تنهایی ($P=0/001$) و القای اوتونول به تنهایی ($P=0/001$) تخریب کلاژن بافت میوکارد را نسبت به گروه کنترل مسموم به طور معناداری کاهش داد. همزمانی تمرین هوازی و اوتونول میزان تخریب را نسبت به گروه کنترل مسموم به طور معناداری کاهش داد ($P=0/001$). درصد تخریب کلاژن در گروه تمرین

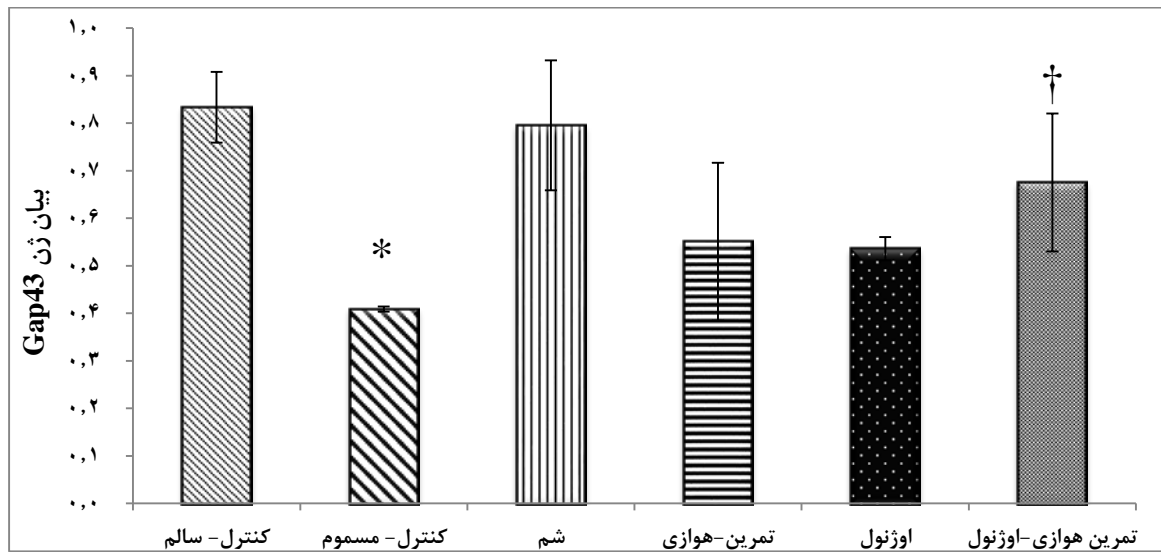
بیان ژن GAP43 بافت قلب بین گروه‌های مورد بررسی از تفاوت معناداری برخوردار بود ($P=0/001$) و $F_{5,30}=13/21$. مقایسه‌های جفتی به دست آمده از آزمون پیگیری توکی نشان داد، در اثر مسمومیت با کلروپریفوس (مقایسه گروه کنترل سالم با گروه کنترل - مسموم) بیان ژن GAP43 به طور معناداری کاهش یافت ($P=0/001$). اقدام به تزریق (شم) اثر معناداری بر بیان این ژن نداشت ($P=0/99$). تمرین هوازی اثر معناداری بر بیان این ژن نسبت به گروه کنترل مسموم نداشت ($P=0/25$). القای

4. Shapiro-Wilk Test
5. G*Power
6. SPSS

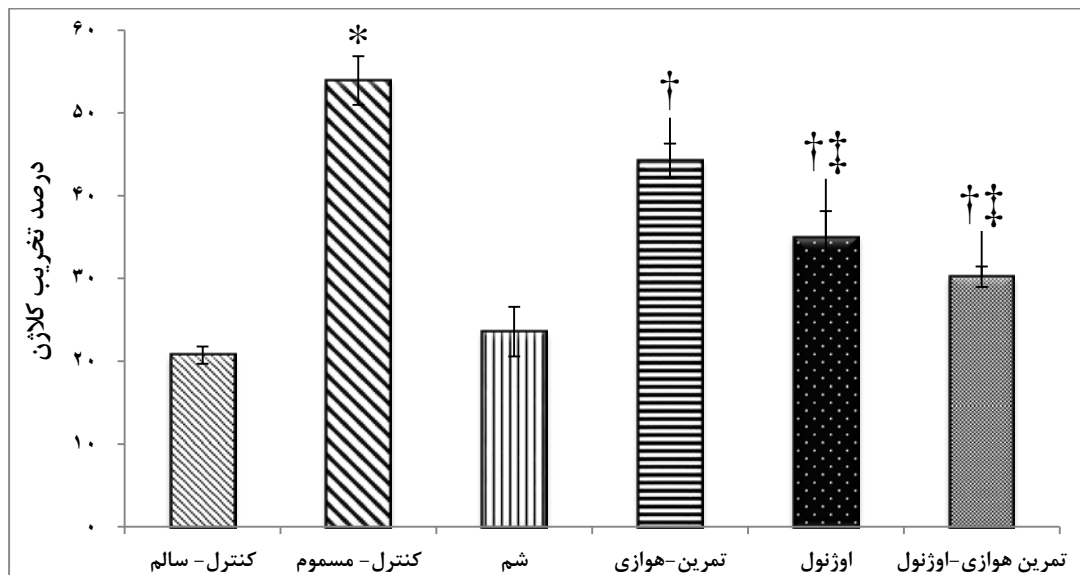
1. Cat. No. 204052, Qiagen GmbH, Hilden, Germany
2. Real-time PCR
3. $2^{-\Delta\Delta CT}$

تخریب کلاژن میوکارد در گروه اوژنول به‌طور معناداری کمتر از گروه تمرین هوازی بود ($P=0/001$) (شکل ۲).

هوازی - اوژنول به‌طور معناداری کمتر از گروه اوژنول ($P=0/001$) و گروه تمرین هوازی ($P=0/001$) بود. میزان



شکل ۱. بیان ژن Gap43 در گروه‌های مورد مطالعه. *نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل سالم. †نشانه افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل - مسموم. اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است.



شکل ۲. درصد تخریب کلاژن میوکارد در گروه‌های مورد بررسی. *نشانه افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل سالم. †نشانه کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل - مسموم. اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است.

بحث

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد مسمومیت، به‌طور معناداری موجب کاهش بیان ژن GAP43 و تخریب کلاژن بافت قلب شده است. تخریب کلاژن در رت‌های مسموم تمرین‌کرده و مصرف‌کننده اوژنول کمتر بود، درحالی‌که بیان ژن GAP43 در رت‌های مسموم تغییر معناداری به‌واسطه استفاده از تمرین و مکمل به‌تنهایی نداشت. تعامل تمرین و مکمل موجب افزایش بیان ژن GAP43 قلب رت‌های مسموم و کاهش تخریب کلاژن قلب آنها شد.

کلروپیریفوس سمی است که سمیت آن بر همه بافت‌ها اثرگذار است. در مورد اثر سمیت کلروپیریفوس بر بافت پانکراس نشان داده شده است که کلروپیریفوس در مسیر سیگنالینگ هورمونی و سوخت‌وساز دخالت می‌کند (۲۴). پژوهشگران در تحقیقی دیگر که با هدف ارزیابی آسیب DNA و سمیت سلولی در رت‌های مسموم‌شده با حشره‌کش‌ها انجام گرفت، نشان دادند که تجویز حاد و مزمن حشره‌کش‌ها موجب آسیب معنادار در DNA در بافت‌های کبد، کلیه، مغز و طحال شده است (۲۵). کلروپیریفوس موجب القای تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو وابسته به دوز می‌شود. بیشترین تأثیر نامطلوب مسمومیت با کلروپیریفوس در کبد است که به افزایش آنزیم‌های کبدی و اکسیداتیو اعم از آسپارات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز منجر می‌شود (۲۶). سیستم قلب و عروق از آسیب‌پذیرترین دستگاه‌های بدن در مواجهه با کلروپیریفوس است و تحت تأثیر سموم با مکانیسم افزایش آپوپتوز روبه‌رو می‌شود (۵، ۶). کلروپیریفوس می‌تواند موجب تاکی کاردی سینوسی، برادی کاردی، فشار خون و اختلال در ضربان قلب شود (۷). بافت قلب از بافت‌هایی

است که در آن رادیکال آزاد بسیاری تولید می‌شود، بنابراین حساسیت آن به سمیت کلروپیریفوس بسیار زیاد است (۸). نشان داده شده است دوزهای سمی این ماده موجب تحریک مسیرهای آپوپتوزی می‌شود. برای مثال مطالعات نشان داده است دوزهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی، سم کلروپیریفوس بر بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹، BAX و BCL2 تأثیر معناداری داشته است (۲۷). این ماده سمی دارای ترکیبات آلی فسفره است که این ترکیبات قادرند با ماکرومولکول‌ها و میکرومولکول‌های سلول واکنش دهند و صدمات سلولی و ژنتیکی ایجاد کنند. برخی محققان افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از سوخت‌وساز سموم آلی فسفره را به‌عنوان مکانیسم اصلی تخریب در سلول و بافت‌های مختلف بدن پیشنهاد می‌کنند (۲۶). تحقیق حاضر اثر سمی این ماده را بر بیان ژن GAP43 و ساختار کلاژنی قلب نشان داد.

طبق جست‌وجوی ما، هیچ تحقیقی تأثیر تمرینات ورزشی و اوژنول را در شرایط سمی کلروپیریفوس در بافت قلب بررسی نکرده است. سازوکارهای بسیاری در خصوص تأثیرات مثبت تمرینات هوازی وجود دارد. تمرینات هوازی موجب دفع سموم از طریق افزایش جریان خون و متعاقباً افزایش دفع سم از بدن می‌شود. همچنین این کار را با افزایش تحریکات روده برای دفع مدفوع، افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و ترمیم DNA، افزایش رگ زایی و عصب‌زایی، کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش در تعداد و اندازه میتوکندری‌ها انجام می‌دهد (۳۰-۲۸). نشان داده شده است که انجام این تمرینات موجب کاهش آسیب‌های ناشی از سم کلروپیریفوس می‌شود (۳۱). در تحقیقی دیگر نشان داده شده است که ۶ هفته تمرین استقامتی موجب کاهش بیان پروتئین AIF^۱، رهایش سیتوکروم c و

تخریب کلاژن قلب آنها شد. در مجموع همزمانی استفاده از تمرین و مکمل تأثیرات مفید بیشتری بر بافت قلب رت‌های مسموم در مورد متغیرهای تحقیق حاضر داشت.

تضاد منافع

نویسندگان اظهار می‌دارند هیچ‌گونه تضاد منافی در مورد پژوهش حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش نتایج بخشی از رساله دکتری است. نویسندگان از تمام افرادی که در این کار مشارکت کردند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

قطعه‌قطعه شدن DNA در عضله نعلی موش‌های صحرایی تمرین کرده شده است. همچنین نشان داده شده است که یک دوره تمرین استقامتی موجب کاهش معنادار بیان کاسپاز ۹ در موش‌های تمرین کرده شده است (۳۲). در مورد اثر مثبت تمرین بر بیان ژن GAP43 و ساختار کلاژن مطالعاتی انجام گرفته است. نشان داده شده است تمرین منظم موجب تنظیم ژن موردنظر و کاهش تخریب کلاژن می‌شود (۳۳، ۳۴) که متعاقباً به بهبود کارکرد قلب می‌انجامد. اوژنول (ماده مؤثره گیاه میخک) نیز امروزه بسیار مورد توجه است. در تحقیقات متعدد تأثیرات ضدالتهایی، ضدسرطانی، ضدآپوپتوزی، آنتی‌اکسیدانی و فاکتورهای کاهش‌دهنده استرس اکسیداتیو در مکمل اوژنول مشاهده شده است (۱۷-۱۹). تحقیقاتی که نشان‌دهنده کاهش آثار زیانبار کلرپیریفوس با استفاده از مکمل اوژنول بوده‌اند نیز وجود دارد (۱۹، ۳۵). به هر حال تحقیق حاضر تغییر معناداری را به‌واسطه استفاده تنها از اوژنول بر بیان ژن GAP43 در قلب رت‌های مسموم نشان نداد، ولی تخریب کلاژن میوکارد را کاهش داده است. ممکن است بیان این ژن (با توجه به الگوی افزایشی که در گروه‌های مکمل وجود داشته است) با دوز بیشتر مکمل اوژنول تغییر کند که نیاز به انجام مطالعه در آینده دارد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد مسمومیت به‌طور معناداری موجب کاهش بیان ژن GAP43 و تخریب کلاژن بافت قلب شده است. تخریب کلاژن در رت‌های مسموم تمرین کرده و مصرف‌کننده اوژنول کمتر از گروه کنترل مسموم بود، درحالی‌که بیان ژن GAP43 در رت‌های مسموم تغییر معناداری به‌واسطه استفاده از تمرین و مکمل به‌تنهایی نداشت. تعامل تمرین و مکمل موجب افزایش بیان ژن GAP43 قلب رت‌های مسموم و کاهش

منابع و مأخذ

1. Joko T, Dewanti NAY, Dangiran HL. Pesticide Poisoning and the Use of Personal Protective Equipment (PPE) in Indonesian Farmers. *Journal of Environmental and Public Health*. 2020;2020:5379619.
2. Sidhu GK, Singh S, Kumar V, Dhanjal DS, Datta S, Singh J. Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2019;49(13):1135-87.
3. Nurulain SM, Shafiullah M, Yasin J, Adem A, Kaabi JA, Tariq S, Adeghate E, Ojha S. Terbufos-sulfone exacerbates cardiac lesions in diabetic rats: a sub-acute toxicity study. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. 2016;67(2):126-35.
4. González-Alzaga B, Romero-Molina D, López-Flores I, Giménez-Asensio MJ, Hernández AF, Lacasaña M. Urinary levels of organophosphate pesticides and predictors of exposure in pre-school and school children living in agricultural and urban communities from south Spain. *Environmental Research*. 2020;186:109459.
5. Reddy BS, Skaria TG, Polepalli S, Vidyasagar S, Rao M, Kunhikatta V, Nair S, Thunga G. Factors associated with outcomes in organophosphate and carbamate poisoning: a retrospective study. *Toxicological Research*. 2020;36(3):257-66.
6. Roth A, Zellinger I, Arad M, Atsmon J. Organophosphates and the Heart. *CHEST*. 1993;103(2):576-82.
7. Smith EG, Gordon CJ. The effects of chlorpyrifos on blood pressure and temperature regulation in spontaneously hypertensive rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2005;96(6):503-11.
8. Hatice B, Kalender YJGUJoS. Chlorpyrifos induced cardiotoxicity in rats and the protective role of quercetin and catechin. 2011;24(3):387-95.
9. Xie N, Liu L, Li Y, Yu C, Lam S, Shynlova O, Gleave M, Challis JR, Lye S, Dong X. Expression and function of myometrial PSF suggest a role in progesterone withdrawal and the initiation of labor. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2012;26(8):1370-9.
10. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani MA, Farzanegi P, Moradi L. High-intensity interval training has a greater effect on reverse cholesterol transport elements compared with moderate-intensity continuous training in obese male rats. *European journal of preventive cardiology*. 2019:2047487319887828.
11. Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S. Effects of a fixed-intensity of endurance training and pistacia atlantica supplementation on ATP-binding cassette G4 expression. *Chinese medicine*. 2013;8(1):23.
12. Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S, Zare-Kookandeh N. ABCG8 Gene Responses to 8 Weeks Treadmill Running With or Without Pistachia atlantica (Baneh) Extraction in Female Rats. *International journal of endocrinology and metabolism*. 2012;10(4):604-10.
13. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani M-A, Broom DR, Nasehi M. Effects of high-intensity interval training and flaxseed oil supplement on learning, memory and immobility: relationship with BDNF and TrkB genes. *Comparative Exercise Physiology*. 1-12.

14. Gielen S, Schuler G, Adams V. Cardiovascular Effects of Exercise Training. 2010;122(12):1221-38.
15. Nikbin S, Derakhshideh A, Hozouri Tarighe M, Khojasteh Z, Kanozi F, Mousavi N, Afshar T, Karami M, Zolfaghari FS, Azarbayjani MA. Synergic effects of aerobic exercise and eugenol supplement on germ cell development and testicular tissue structure in chlorpyrifos-treated animal model. *Environmental science and pollution research international*. 2020;27(14):17229-42.
16. Nikbin S, Tajik A, Allahyari P, Matin G, Hoseini Roote SS, Barati E, Ayazi M, Karimi L, Dayani Yazdi F, Javadinejad N, Azarbayjani MA. Aerobic exercise and eugenol supplementation ameliorated liver injury induced by chlorpyrifos via modulation acetylcholinesterase activation and antioxidant defense. *Environmental Toxicology*. 2020;35(7):783-93.
17. Jaganathan SK, Mazumdar A, Mondhe D, Mandal M. Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines. *Cell biology international*. 2011;35(6):607-15.
18. Júnior PL, Câmara DA, Costa AS, Ruiz JL, Levy D, Azevedo RA, Pasqualoto KF, de Oliveira CF, de Melo TC, Pessoa ND, Fonseca PM, Pereira A, Araldi RP, Ferreira AK. Apoptotic effect of eugenol involves G2/M phase abrogation accompanied by mitochondrial damage and clastogenic effect on cancer cell in vitro. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2016;23(7):725-35.
19. Al-Sharif I, Remmal A, Aboussekhra A. Eugenol triggers apoptosis in breast cancer cells through E2F1/survivin down-regulation. *BMC Cancer*. 2013;13(1):600.
20. Nikbin S, Derakhshideh A, Karimi Jafari S, Mirzahamedani A, Moslehi A, Ourzamani S, Barati E, Amini F, Zolfaghari FS, Azarbayjani MA. Investigating the protective effect of aerobic exercise on oxidative stress and histological damages of testicular tissue associated with chlorpyrifos in male rats. 2020;52(2):e13468.
21. Nikbin S, Tajik A, Allahyari P, Matin G, Hoseini Roote SS, Barati E, Ayazi M, Karimi L, Dayani Yazdi F, Javadinejad N, Azarbayjani MA. Aerobic exercise and eugenol supplementation ameliorated liver injury induced by chlorpyrifos via modulation acetylcholinesterase activation and antioxidant defense. 2020;35(7):783-93.
22. Singh P, Jayaramaiah RH, Agawane SB, Vannuruswamy G, Korwar AM, Anand A, Dhaygude VS, Shaikh ML, Joshi RS, Boppana R, Kulkarni MJ, Thulasiram HV, Giri AP. Potential Dual Role of Eugenol in Inhibiting Advanced Glycation End Products in Diabetes: Proteomic and Mechanistic Insights. *Scientific Reports*. 2016;6(1):18798.
23. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif)*. 2001;25(4):402-8.
24. Fang B, Li JW, Zhang M, Ren FZ, Pang GF. Chronic chlorpyrifos exposure elicits diet-specific effects on metabolism and the gut microbiome in rats. *Food Chem Toxicol*. 2018;111:144-52.

25. Ojha A, Yaduvanshi SK, Srivastava N. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011;99(2):148-56.
26. Tuzmen N, Candan N, Kaya E, Demiryas N. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell biochemistry and function*. 2008;26(1):119-24.
27. Zhang Y, Chang Y, Cao H, Xu W, Li Z, Tao L. Potential threat of Chlorpyrifos to human liver cells via the caspase-dependent mitochondrial pathways. *Food and Agricultural Immunology*. 2018;29(1):294-305.
28. Bersaoui M, Baldew SM, Cornelis N, Toelsie J, Cornelissen VA. The effect of exercise training on blood pressure in African and Asian populations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Prev Cardiol*. 2020;27(5):457-72.
29. Herring MP, Puetz TW, O'Connor PJ, Dishman RK. Effect of exercise training on depressive symptoms among patients with a chronic illness: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Archives of internal medicine*. 2012;172(2):101-11.
30. Luk TH, Dai YL, Siu CW, Yiu KH, Chan HT, Lee SW, Li SW, Fong B, Wong WK, Tam S, Lau CP, Tse HF. Effect of exercise training on vascular endothelial function in patients with stable coronary artery disease: a randomized controlled trial. *Eur J Prev Cardiol*. 2012;19(4):830-9.
31. Nikbin S, Tajik A, Allahyari P, Matin G, Hoseini Roote SS, Barati E, Ayazi M, Karimi L, Dayani Yazdi F, Javadinejad N, Azarbayjani MA. Aerobic exercise and eugenol supplementation ameliorated liver injury induced by chlorpyrifos via modulation acetylcholinesterase activation and antioxidant defense. *Environ Toxicol*. 2020;35(7):783-93.
32. Andreotti DZ, Silva JdN, Matumoto AM, Orellana AM, de Mello PS, Kawamoto EM. Effects of Physical Exercise on Autophagy and Apoptosis in Aged Brain: Human and Animal Studies. *Front Nutr*. 2020;7(94).
33. Jalilian Hamed N, Gharakhanlou R, Peeri M. The Effect of Aerobic Exercise on Collagen Type I and IV Gene Expression and Collagen Type I Protein Changes in the Sciatic Nerve of Diabetic Rats. *Novelty in Biomedicine*. 2020;8(4):164-70.
34. Li S, Liang M, Gao D, Su Q, Laher I. Changes in Titin and Collagen Modulate Effects of Aerobic and Resistance Exercise on Diabetic Cardiac Function. *Journal of cardiovascular translational research*. 2019;12(5):404-14.
35. Singh P, Jayaramaiah RH, Agawane SB, Vannuruswamy G, Korwar AM, Anand A, Dhaygude VS, Shaikh ML, Joshi RS, Boppana R, Kulkarni MJ, Thulasiram HV, Giri AP. Potential Dual Role of Eugenol in Inhibiting Advanced Glycation End Products in Diabetes: Proteomic and Mechanistic Insights. *Scientific reports*. 2016;6:18798.

The effects of aerobic training and eugenol supplementation on GAP43 gene expression and myocardial degradation in rats poisoned with chlorpyrifos

Alibemani Ranjbar¹- Hasan Matinhomaeae ^{*2}- Saleh Rahmati-Ahmadabad³

1.Ph.D. Student, Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran 2. Assosiated Professor, Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran 3. Assistant Professor, Department of Physical Education, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, Iran.

(Received:2021/3/23;Accepted:2022/4/16)

Abstract

Chlorpyrifos is an organophosphate toxin used to control agricultural pests. These toxins alter the expression of genes and cause cell damage in the body. Due to the high consumption of these compounds in rice fields and citrus orchards and their potential harm, the present study investigated the effect of aerobic exercise and eugenol supplementation on GAP43 gene expression and myocardial damage in rats poisoned with chlorpyrifos. In this study, 36 male Wistar rats were randomly divided into six groups: healthy control, sham, poisoned control, aerobic training poisoning, eugenol poisoning, and toxic + aerobic training+ eugenol. The interventions were performed based on the name of the group and 48 hours after the last intervention, a biopsy was performed. Data were analyzed using one-way analysis of variance and P less than 0.05 was considered as a significant change. The results of the present study showed that poisoning significantly reduced the expression of this gene and the destruction of collagen in heart tissue. Collagen degradation was trained in poisoned rats and consumed less eugenol, while GAP43 gene expression in poisoned rats did not change significantly due to exercise and supplementation alone. The interaction of exercise and supplementation increased the expression of the GAP43 gene in the hearts of poisoned rats and decreased the collagen degradation of their hearts. In general, the simultaneous use of exercise and supplementation caused more beneficial effects on the heart tissue of poisoned rats in the variables of the present study.

Keywords

Aerobic exercise, Collagen degradation, Eugenol, Gene expression, Heart.

* Corresponding author: Email: hasanmatinhomaeae@gmail.com ; Tel: +98-21- 22481622