

اثرات هشت هفته تمرین هوازی بر کاینورین و بیان ژن و پروتئین گیرنده آریل هیدروکربن بافت قلب موش‌های صحرائی نر

پوریا نوری (M.Sc Student)، روح‌الله حق‌شناس* (Ph.D)

گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۱۲

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳۲۹۸۸۲۶ rhm@semnan.ac.ir

چکیده

هدف: شناخت سازوکارهای سلولی مولکولی قلب به منظور پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی ضروری به نظر می‌رسد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی بر کاینورین و بیان ژن و پروتئین گیرنده آریل هیدروکربن (AHR) بافت قلب موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع تجربی است که تعداد ۱۲ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار تهیه و بعد از سازگاری با محیط به ۲ گروه: کنترل و تمرین تقسیم شدند. سپس موش‌های صحرائی گروه تمرین به مدت هشت هفته، ۵ جلسه در هفته، با سرعت فزاینده بین ۱۰ تا ۲۶ متر بر دقیقه، تمرین دویدن بر روی تردمیل را اجرا کردند. پس از بافت برداری و استخراج RNA و تهیه Cdna، از روش پی‌سی‌آر جهت اندازه‌گیری بیان ژن آریل هیدروکربن و از روش الایزا برای اندازه‌گیری بیان پروتئین AHR و کاینورین استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج آزمون تی مستقل نشان داد که تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار بیان پروتئین AHR ($P=0/001$) و متابولیت کاینورین ($P=0/003$) شده است، اما در سطح بیان ژن Ahr تغییر معناداری مشاهده نشد. نتیجه‌گیری: با توجه به تأثیر مثبت تمرین هوازی بر عملکرد قلب و کاهش AHR کاینورین توسط این نوع تمرین، به نظر می‌رسد کاهش سطح فعالیت این مسیر پیام‌رسانی، برای بهبود عملکرد قلب در شرایط عادی، مناسب است.

واژه‌های کلیدی: ورزش، کاینورین، گیرنده آریل هیدروکربن، بیان ژن، موش‌های صحرائی

مقدمه

پیام‌رسانی گیرنده آریل هیدروکربن (AHR) Aryl hydrocarbon receptor یک مسیر مرکزی تنظیم‌کننده کاردیوژنز، متابولیسم سلولی و عملکرد قلب پستانداران است و نقش مهمی در چندین فرآیند بیولوژیکی، از جمله پاسخ‌های ایمنی و تنظیم رشد و آسیب‌شناسی، ایفا می‌کند و یکی از اهداف بالقوه عوامل محیطی مرتبط با بیماری‌های قلبی عروقی است [۱۱]. AHR یک عامل رونویسی فعال شده توسط لیگاند است، که تنظیم مناسب آن برای رشد طبیعی قلب و عروق مهره‌داران لازم است [۱۲]. در مقابله با عوامل بیگانه زیستی AHR نقش فعالی داشته و گزارش شده است که AHR از قلب محافظت می‌کند و نقش مهمی در متابولیسم داوکسو رویبیین (Doxorubicin) که یک ماده شیمیایی است دارد [۱۳]. مطالعات تجربی اخیر نشان داده است که تخریب AHR و هم‌چنین فعال شدن آن توسط لیگاندهای برون‌زا، شبکه‌های مولکولی مربوط به شکل‌گیری و عملکرد قلب را مختل می‌کند و منجر به بیماری قلبی می‌شود [۱۴]. از طرفی گزارش شده

بیماری‌های قلبی عروقی علت اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است. بینش پیشرفته در مورد ساز و کارهای بیماری و راه‌کارهای درمانی نیاز به درک عمیق‌تری از فرآیندهای مولکولی قلب سالم دارد. آگاهی از مجموعه کامل سلول‌های قلبی و مشخصات ژن آن‌ها اولین قدم اساسی در این تلاش است. از طرفی از جمله مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر سلامت قلب و عروق داشتن تحرک و انجام فعالیت‌های ورزشی هوازی است که به خوبی می‌تواند نقش مؤثری در تقویت سیستم قلبی عروقی داشته باشد [۲، ۱]. این نوع تمرینات با افزایش حجم ضربه‌ای به واسطه افزایش حجم بطن چپ و هم‌چنین تقویت سیستم عروقی نقش مؤثری در سلامت دستگاه قلبی عروقی داشته و می‌تواند هم در پیشگیری و هم در بهبود بیماری‌های قلبی عروقی نقش بسزایی ایفا نمایند [۳-۷]. کاردیومیوسیت‌ها بیان سطح بالایی از ژن‌هایی را نشان می‌دهند که پروتئین‌های سارکومر تولیدکننده نیروی انقباضی را رمزگذاری می‌کنند [۸-۱۰]. مسیر

که حتماً می‌بایست بر روی نقاله نوارگردان حرکت دویدن را انجام دهد و آرام آرام بر سرعت نوارگردان افزوده می‌شد تا حیوان دویدن بر روی نوارگردان را فراگیرد. سپس موش‌ها به مدت هشت هفته پروتکل تمرین هوازی طراحی شده را که در ادامه شرح داده شده است، اجرا کردند و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در پایان هفته هشتم، موش‌های صحرایی جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه، تحت جراحی قرار گرفتند. در هر یک از گروه‌ها ۴۸ ساعت بعد از اجرای آخرین برنامه تمرینی و بعد از بی‌هوشی با گاز CO₂، خونگیری از قلب انجام شد و همچنین بافت قلب موش‌ها استخراج و بعد از شست‌وشو با سرم فیزیولوژی و جداکردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال یافته و سپس در دمای منفی ۸۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در روز آزمایش، بافت مورد نظر، توزین و با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین (phosphat salin) هموزنه (homogenates) شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی برای سنجش شاخص‌های مورد نظر مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری بیان ژن. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) برای mRNA ژن AHR و ژن شاهد (GAPDH) سنجش بیان ژن انجام شد. جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت قلب با استفاده از کیت استخراج RNA از بافت (RNA توتال پارس، کالازیست) بر اساس راهنمای شرکت سازنده استخراج شد. برای استخراج mRNA، مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت منجمد با روش هموزنیزه کردن مواد مورد استفاده قرار گرفت. بدین صورت که ابتدا RNA کل کیفیت و کمیت RNA استخراجی با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد و دستگاه Thermo Scientific™ NanoDrop™ One Spectrophotometer اندازه‌گیری شد. سپس RNA استخراجی با استفاده از کیت سنتز cDNA پارس و با توجه به راهنمای آن به cDNA تبدیل و در نهایت ریل تایم PCR با به کارگیری مسترمیکس سایبرگرین و برنامه تنظیم شده (95 °C for 15 min, 40 amplification cycles: 95 °C for 15 sec, 60 °C for 30 sec, and 72 °C for 60 sec) در دستگاه ۴۸ well Step One™ Real-Time PCR System انجام گرفت. سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی به دست آمد.

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d / 1000$$

منحنی‌های ذوب در بازه دمایی ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد تهیه گردید و هر واکنش ریل تایم PCR حداقل سه بار تکرار شد. برای تجزیه و تحلیل بیان ژن داده‌های آستانه چرخه (CT)

است که متابولیت کاینورین (Kynurenine) از طریق AHR سیگنال می‌دهد تا سطح گونه‌های اکسیژن فعال را تعدیل کند. متابولیت تریپتوفان کاینورین با افزایش سن و التهاب افزایش می‌یابد، و به نظر می‌رسد ارتباط مستقیمی با پیری و فرایند و رویدادهایی، که با بالا رفتن سن همراه است، دارد [۱۵]. کاینورین یکی از لیگاندهای AHR در ارتباط با چاقی است و افزایش کاینورین پلاسما همراه با افزایش سن در زنان چاق و نه لاغر گزارش شده است [۱۶]. افزایش کاینورین عضله و پلاسما یک ساعت پس از فعالیت‌های ورزشی کوتاه مدت استقامتی گزارش شده است اما یک دوره فعالیت ورزشی تناوبی شدید تغییری در این متابولیت ایجاد نکرد و به نظر می‌رسد این متابولیت تحت تاثیر نوع ورزش، شدت و مدت ورزش قرار دارد [۱۸، ۱۷]. از طرفی سرونکا و همکاران (۲۰۱۷)، کاهش کاینورین پس از فعالیت‌های ورزشی و اصلاح سبک زندگی را به عنوان راه‌کار درمانی مقابله با افسردگی پیشنهاد داده‌اند [۱۹]. در مجموع ضمن تاکید پیشینه بر انجام مطالعات بیشتر در رابطه با مسیر پیام‌رسانی کاینورین و AHR کم‌تر مطالعه‌ای تاکنون به بررسی تاثیر فعالیت‌های ورزشی بر AHR و کاینورین و تغییرات این گیرنده سیتوزولی در مواجهه با تمرینات ورزشی هوازی در بافت قلب پرداخته است و مشخص نیست چه تغییراتی در این متغیرها در بافت قلب اتفاق می‌افتد. از این رو هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین هوازی بر کاینورین و بیان ژن AHR بافت قلب موش‌های صحرایی نر ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی می‌باشد، که پس از تایید و تصویب طرح در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره JR.SEMUMS.REC.1399.158، ۱۲ سر، موش صحرایی نر ویستار با میانگین سنی ۸-۱۰ هفته و با میانگین وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم به روش نمونه‌گیری در دسترس از موسسه رازی تهران تهیه و پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، به دو گروه کنترل و مداخله تقسیم شدند. جهت آشناسازی با پروتکل تمرین موش‌های گروه تمرین به مدت یک هفته بر روی نوارگردان قرار گرفتند و آموزش‌های لازم به آن‌ها داده شد بدین صورت که حیوانات بر روی نقاله نوارگردان قرار می‌گرفتند و نوارگردان با سرعت کم شروع به حرکت می‌کرد و موش‌ها مجبور به راه رفتن بر روی نوارگردان می‌شدند و چنانچه در انتهای ثابت نوارگردان می‌ایستادند با استفاده از ایجاد صدا و ضربه زدن به انتهای شیشه‌ای نوارگردان، حیوان مجبور به ایستادن بر روی نقاله نوارگردان می‌شد تا یاد بگیرد

هر واکنش استخراج و با روش $2^{-[\Delta\Delta C(t)]}$ بیان ژن‌های هدف در بافت‌ها محاسبه شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

AHR-F	TCACTGCGCAGAATCCCACATCC
AHR-R	TCGCGTCTTCTTCATCCGTTAGC
GAP-F	GCCAAGGTCATCCATGACAAC
GAP-R	GTCCACCACCCTGTTGCTGTA

برای اندازه‌گیری کاینورنین و بیان پروتئین AHR نیز از روش الیزا و کیت الیزا مخصوص اندازه‌گیری موش صحرائی و موش، ساخت شرکت ZellBio آلمان به ترتیب به شماره Cat. No: ZB-11203C-R9648 و No: ZB-16349C-R استفاده شد.

پروتکل تمرین. پروتکل تمرین هوازی شامل ۵ روز آشناسازی حیوان با محیط و دستگاه تردمیل بود که به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر درصد انجام شد. تمرین ورزشی به صوموش هوازی به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته انجام شد و شدت تمرین نیز در طول دوره تمرینی به صورت فزاینده از ۱۰ متر بر دقیقه در هفته اول به ۲۶ متر بر دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت [۲۰]. مدت تمرین در هفته اول با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن ۲۳ دقیقه و در هفته هشتم به ۵۹ دقیقه رسید. برای رعایت اصل اضافه بار به صورت هفتگی به طور میانگین ۶ دقیقه (هر روز یک دقیقه) به مدت تمرین و ۲ متر در دقیقه به شدت تمرین اضافه شد تا با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین در هفته هشتم به ۵۹ دقیقه و حداکثر سرعت

۲۶ متر بر دقیقه برسد. هر جلسه تمرین پس از گرم کردن (با سرعت ۵ الی ۱۰ متر بر دقیقه) ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع می‌شد و هر ۳ دقیقه، ۲ متر در دقیقه به سرعت دستگاه اضافه شد تا به سرعت مورد نظر تعیین شده هفتگی برسد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ استفاده گردید. پس از تایید نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک، از آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره و تک‌متغیره در سطح معناداری $P < 0.05$ جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه ۸.۰.۲، برای ترسیم نمودارها استفاده گردید.

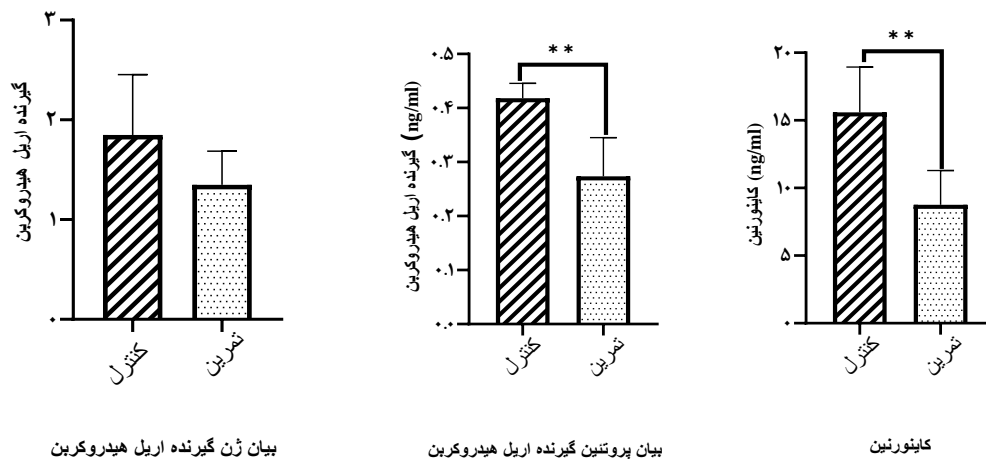
نتایج

پس از تایید مفروضات تحلیل واریانس چندمتغیره و تک‌متغیره، نتایج تحلیل واریانس چندمتغیره، تاثیر معنادار گروه بر متغیر پنهان که متشکل از متغیرهای Ahr، AHR و کاینورنین می‌باشد را نشان داد ($wilks\lambda = 0.13$ ، $Partial \eta^2 = 0.87$). با توجه به معناداری تحلیل واریانس چندمتغیره، اثر گروه با استفاده از تحلیل واریانس تک‌متغیره بر تک تک متغیرها بررسی شد و همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار بیان پروتئین AHR ($P = 0.001$) و متابولیت کاینورنین ($P = 0.003$) شده است اما در سطح بیان ژن Ahr تغییر معناداری مشاهده نشد. بررسی برآورد پارامتر، اندازه اثر و معناداری آماری مقایسه هر گروه با در نظر گرفتن گروه کنترل به عنوان رسته مرجع در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. مقایسه میانگین، اندازه اثر و برآورد پارامتر متغیرهای Ahr، AHR و کاینورنین در دو گروه (گروه کنترل به عنوان رسته مرجع در نظر گرفته شده است)

متغیر	گروه	میانگین (انحراف استاندارد)	ضریب F	درجه آزادی	معناداری	ضریب تاثیر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)
Ahr	تجربی	۱/۳۵ (۰/۳۴)	۳/۱۵	۱	۰/۱۰۶	-۰/۰۵ (-۱/۱۳، ۰/۱۳)
	کنترل	۱/۸۵ (۰/۶۰)				رسته مرجع
AHR	تجربی	۰/۲۷ (۰/۰۸)	۱۹/۱۹	۱	*۰/۰۰۱	-۰/۱۵ (-۰/۲۲، ۰/۰۷)
	کنترل	۰/۴۲ (۰/۰۳)				رسته مرجع
کاینورنین	تجربی	۸/۷۵ (۲/۵۴)	۱۵/۸۱	۱	*۰/۰۰۳	-۰/۸۳ (-۱۰/۶۶، ۳/۰۱)
	کنترل	۱۵/۵۸ (۳/۳۶)				رسته مرجع

* معنادار ($P < 0.05$)



شکل ۱. اثر ورزش بر کاینورین و بیان ژن و پروتئین گیرنده اریل هیدروکربن. ** معناداری ($P < 0.01$)

شکستگی استخوان ران به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد [۲۸] که همه این شواهد نشان می‌دهند سطح کاینورین در پاسخ به عوامل بیگانه و التهابی به منظور سرکوب آن‌ها، افزایش می‌یابد و بالا بودن آن می‌تواند در بلندمدت نشانه‌ای از التهاب مزمن باشد که این خود، یک زنگ خطر برای سلامتی و افزایش طول عمر است. یو و همکاران (۲۰۱۷) دریافتند که در مراحل اولیه غلظت پایین اسید کاینورینیک و غلظت بالای تریپتوفان با خطر کم‌تر سکتته قلبی در ارتباط است و اگر غلظت تریپتوفان افزایش یابد با خطر کم‌تر بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط خواهد بود [۲۹]. به نظر یکی از رویکردهای درمانی بالقوه برای این مسیر پیام‌رسانی، انجام فعالیت‌های ورزشی یا استفاده از موادی هم‌چون متفورمین یا رزوراترول است که با تغییر تولید کاینورین ممکن است فعالیت Ahr را سرکوب کند. شواهدی وجود دارد که شاید کاینورین در فرایند اتروپی عضلانی و سارکوپنیا نیز نقش داشته باشد که احتمالاً انجام تمرینات ورزشی با ایجاد تغییر در این مسیر پیام‌رسانی مانع از اتروپی عضلانی و سارکوپنیا می‌شود. لاستگارتن و فیلدینگ (۲۰۱۷)، نشان دادند که افزایش در نسبت کاینورین/تریپتوفان با کاهش چگالی عضلات و ترکیب عضلانی ضعیف، مرتبط است و یک ارتباط مثبت بین کاینورین و اینترلوکین-۶ وجود دارد [۳۰]. همان‌طور که در شکل ۱ و جدول ۲ مشاهده می‌شود تمرین هوازی در بافت قلب منجر به کاهش کاینورین و بیان پروتئین AHR در بافت قلب می‌شود. در واقع AHR یک فاکتور اصلی رونویسی ماریپچ حلقه- ماریپچ (bHLH) است و در پاسخ به TCDD، از طریق مکانیسم وابسته به پیام‌رسانی محلی‌سازی هسته‌ای در ترمینال آمینه پروتئین، از p23 جدا شده و به هسته انتقال می‌یابد [۳۱]. ناحیه پروموتور Ahr شامل چندین سایت

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار بیان پروتئین AHR و متابولیت کاینورین در بافت قلب موش‌های صحرایی نر ویستار شده است اما در سطح بیان ژن Ahr تغییر معناداری مشاهده نشد. همسو با پژوهش حاضر کاهش سیتوپلاسمیک AHR بلافاصله پس از تمرین استقامتی و هم‌چنین تمرین مقاومتی در آزمودنی‌های انسانی گزارش شده است، و اگر چه کاینورین اندازه‌گیری نشده بود، ولی به عنوان یکی از عوامل اثرگذار در این مسیر پیشنهاد شده است [۲۱] و همان‌طور که نتایج پژوهش حاضر نیز نشان می‌دهد تمرین استقامتی منجر به کاهش کاینورین در بافت قلب شده است. اما ناهمسو با نتایج پژوهش حاضر چندین مطالعه افزایش کاینورین را پس از فعالیت ورزشی کوتاه‌مدت گزارش کرده‌اند [۲۳، ۲۲، ۱۸]. مطالعه‌ای نشان داده است که سطح کاینورین در بیماران مبتلا به سرطان سینه افزایش و فعالیت ورزشی مقاومتی، سطح کاینورین در این بیماران را کاهش می‌دهد [۲۴] و به نظر می‌رسد این کاهش با برخی از عوامل میانجی سیستم ایمنی بدن مرتبط باشد. اثر سمی سلول NK در بیماران مبتلا به سرطان پستان پس از شرکت در یک برنامه تمرینی استقامتی افزایش می‌یابد که این اثر با افزایش سطح کاینورین، سرکوب می‌شود [۲۵، ۲۶]. کاینورین با رشد بدن، افزایش می‌یابد که منجر به افزایش AHR شده و مانع از افزایش طول عمر می‌شود. از طرفی، افزایش کاینورین در گردش خون و افزایش در نسبت کاینورین/تریپتوفان، در بزرگسالان با علل مرگ و میر در ارتباط است [۲۷]. کیم و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که کاینورین با افزایش سن در سرم افزایش می‌یابد و سطح کاینورین پلاسما در بیماران با

تفسیر نتایج، نگارش مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی را تایید نمودند.

منابع

- [1] Santos LP, Umpierre D. Exercise, cardiovascular health, and risk factors for atherosclerosis: a narrative review on these complex relationships and caveats of literature. *Front Physiol* 2020; 11: 840. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00840> PMID:32848823 PMCID:PMC7411151
- [2] Seyedreza Zadeh E, Faramarzi E, Bakhtiyari N, Ansarin A, Gilani N, Amiri-Sadeghan A, et al. Association of NOS3-c.894G>T transversion with susceptibility to metabolic syndrome in Azar-cohort population: A case-control study and in silico analysis of the SNP molecular effects. *Iran J Basic Med Sci* 2021; 24: 408-419.
- [3] Koutroumpi M, Pitsavos C, Stefanadis C. The role of exercise in cardiovascular rehabilitation: a review. *Acta Cardiol* 2008; 63: 73-79. <https://doi.org/10.2143/AC.63.1.2025335> PMID:18372584
- [4] Bouaziz W, Vogel T, Schmitt E, Kaltenbach G, Geny B, Lang PO. Bénéfices de l'activité physique en endurance chez les seniors âgés de 70 ans ou plus: une revue systématique [Health benefits of aerobic training programs in adults aged 70 or over: A systematic review]. *Presse Med* 2017; 46: 794-807. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2017.05.028> PMID:28668364
- [5] Gilani N, Kazemnejad A, Zayeri F, Yazdani J. Comparison of marginal logistic model with repeated measures and conditional logistic model in risk factors affecting hypertension. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2011; 21: 27-35. (Persian).
- [6] Haghshenas R. The effect of rope training on the plasma level of angiotensin-4, interleukin-6, and lipid profile of overweight boys. *Iran J Endocrinol Metab* 2020; 22: 162-168.
- [7] Sobhani F, Haghshenas R, Rahimi M. Effect of eight weeks aerobic training and supplementation of green tea on apelin plasma levels and insulin resistance in elderly women with type 2 diabetes. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 28: 84-93. (Persian).
- [8] Litviňuková M, Talavera-López C, Maatz H, Reichart D, Worth CL, Lindberg EL, et al. Cells of the adult human heart. *Nature* 2020; 588: 466-472. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2797-4> PMID:32971526 PMCID:PMC7681775
- [9] Gilani N, Kazemnejad A, Zayeri F, Hadaegh F, Azizi F, Khalili D. Anthropometric indices as predictors of coronary heart disease risk: joint modeling of longitudinal measurements and time to event. *Iran J Public Health* 2017; 46: 1546-1554.
- [10] Hassankhani H, Soheili A, Vahdati SS, Mozaffari FA, Fraser JF, Gilani N. Treatment delays for patients with acute ischemic stroke in an Iranian emergency department: a retrospective chart review. *Ann Emerg Med* 2019; 73: 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2018.08.435> PMID:30318375
- [11] Carreira VS. The aryl hydrocarbon receptor contributions to cardiovascular development and health. 2015; (Doctoral dissertation, University of Cincinnati).
- [12] Shankar P, Dasgupta S, Hahn ME, Tanguay RL. A review of the functional roles of the zebrafish aryl hydrocarbon receptors. *Toxicol Sci* 2020; 178: 215-238. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfaa143> PMID:32976604 PMCID:PMC7706399
- [13] Volkova M, Palmeri M, Russell KS, Russell RR. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by doxorubicin mediates cytoprotective effects in the heart. *Cardiovasc Res* 2011; 90: 305-314. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr007> PMID:21233252 PMCID:PMC3078799
- [14] Pulignani S, Borghini A, Vecoli C, Foffa I, Ait-Ali L, Andreassi MG. A functional aryl hydrocarbon receptor genetic variant, alone and in combination with parental exposure, is a risk factor for congenital heart disease. *Cardiovasc Toxicol* 2018; 18: 261-267. <https://doi.org/10.1007/s12012-017-9436-9> PMID:29185192

برای اتصال NF-kB است که نشان می‌دهد التهاب یک عامل کلیدی است که بیان Ahr را میانجیگری می‌کند. بعلاوه، مشاهده می‌شود که فعال شدن کاینورین از Ahr برای تحریک بیان آنزیم IDO1 - که با تخریب تریپتوفان باعث تولید کاینورین می‌شود - یک حلقه بازخورد مثبت است که از این طریق ممکن است تولید ROS با التهاب مرتبط باشد. از طرف دیگر، فاکتور رونویسی Nrf2 ناشی از سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌تواند با Ahr تحریک و Nrf2 موجب فعال شدن بیان Ahr شود. بنابراین تعادل بین عملکردهای پیش و آنتی‌اکسیدانی Ahr با واسطه کاینورین ممکن است پیری سالم در مقابل ناسالم را در بافت‌ها و سیستم‌های مختلف ارگان‌ها تنظیم کند [۱۵]. این‌که در سایر بافت‌ها و همچنین خون چه تغییری در این مسیر پیام‌رسانی با ورزش رخ می‌دهد می‌تواند حائز اهمیت و قابل بررسی باشد تا به دانش ما در این زمینه بی‌افزاید. تأثیر ورزش بر بهبود عملکرد قلبی عروقی افراد سالم و بیمار در تمام سنین به اثبات رسیده است [۳۲-۳۶] و آنچه نتایج این پژوهش نشان می‌دهد تمرین هوازی باعث کاهش کاینورین و AHR در بافت قلب می‌شود و احتمالاً سرکوب این مسیر می‌تواند در بهبود عملکرد قلب و عروق تأثیرگذار باشد. فعالیت این مسیر با ورود مواد سمی به بدن فعال می‌شود. همچنین بیماری‌ها و شرایط التهاب و یا افزایش رادیکال‌های آزاد، احتمال فعال شدن این مسیر پیام‌رسانی را افزایش می‌دهند که بررسی تأثیر ورزش با توجه به شرایط بیماری یا وجود آلاینده‌ها و مواد سمی می‌تواند برای تحقیقات آینده حائز اهمیت باشد.

در کل نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی منجر به کاهش کاینورین و AHR در بافت قلب موش‌های صحرای نر و بیستار شد و احتمالاً تمرکز بر مسیر پیام‌رسانی کاینورین و AHR در سایر ارگان‌های بدن و مطالعات عمیق‌تر و موشکافانه‌تر در این زمینه می‌تواند دانش ما را در شناخت و روش‌های پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها افزایش دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه سمنان، شرکت بافت و ژن پاسارگارد و مرکز تحقیقات سل و ریه دانشگاه علوم پزشکی تبریز جهت حمایت و همکاری در این پژوهش کمال سپاس و قدردانی را دارند.

مشارکت و نقش نویسندگان

پوریا نوری: جمع‌آوری داده‌ها و نگارش مقاله، روح‌الله حق‌شناس: ایده و طراحی مطالعه، جمع‌آوری داده‌ها، آنالیز و

- [26] Fakhari A, Gharepagh E, Dabiri S, Gilani N. Correlation of cancer antigen 15-3 (CA15-3) serum level and bony metastases in breast cancer patients. *Med J Islam Repub Iran* 2019; 33: 142. <https://doi.org/10.47176/mjiri.33.142> PMID:32280648 PMCID:PMC7137849
- [27] Pertovaara M, Raitala A, Lehtimäki T, Karhunen PJ, Oja SS, Jylhä M, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase activity in nonagenarians is markedly increased and predicts mortality. *Mech Ageing Dev* 2006; 127: 497-499. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.01.020> PMID:16513157
- [28] Kim BJ, Hamrick MW, Yoo HJ, Lee SH, Kim SJ, Koh JM, et al. The detrimental effects of kynurenine, a tryptophan metabolite, on human bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2019; 104: 2334-2342. <https://doi.org/10.1210/je.2018-02481> PMID:30715395 PMCID:PMC6497841
- [29] Yu E, Ruiz-Canela M, Guasch-Ferré M, Zheng Y, Toledo E, Clish CB, et al. Increases in plasma tryptophan are inversely associated with incident cardiovascular disease in the prevención con dieta mediterránea (PREDIMED) study. *J Nutr* 2017; 147: 314-322. <https://doi.org/10.3945/jn.116.241711> PMID:28179491 PMCID:PMC5320398
- [30] Lustgarten MS, Fielding RA. Metabolites related to renal function, immune activation, and carbamylation are associated with muscle composition in older adults. *Exp Gerontol* 2017; 100: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.10.003> PMID:29030163 PMCID:PMC6556217
- [31] Ikuta T, Eguchi H, Tachibana T, Yoneda Y, Kawajiri K. Nuclear localization and export signals of the human aryl hydrocarbon receptor. *J Biol Chem* 1998; 30: 273: 2895-2904. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.5.2895> PMID:9446600
- [32] Pearson MJ, Smart NA. Effect of exercise training on endothelial function in heart failure patients: A systematic review meta-analysis. *Int J Cardiol* 2017; 231: 234-243. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.12.145> PMID:28089145
- [33] Gilani N, Haghshenas R, Esmaili M. Application of multivariate longitudinal models in SIRT6, FBS, and BMI analysis of the elderly. *Aging Male* 2019; 22: 260-265. <https://doi.org/10.1080/13685538.2018.1477933> PMID:29901417
- [34] Soori R, Mosayebi Z, Pournemati P, Akbarneghad A. Effect of high-intensity interval training on tissue changes of collagen type I and fibrosis percent in male rats with myocardial infarction. *Koomesh* 2021; 23: 267-274. (Persian). <https://doi.org/10.52547/koomesh.23.2.267>
- [35] Avazah A, Fetrat MK, Bashar FR. Effect of progressive muscle relaxation on the vital signs and oxygenation indexes in patients under coronary artery bypass graft surgery: A triple blinded randomized clinical trial. *Koomesh* 2019; 21: 423-436. (Persian).
- [36] Gilani N, Esmaili A, Haghshenas R. The effect of eight weeks concurrent training and supplementation of L-Arginine on plasma level of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), malondialdehyde and total antioxidant capacity in elderly men (Multivariate Longitudinal Modeling). *Iran J Endocrinol Metab* 2018; 20: 195-202.
- [15] Kaiser H, Parker E, Hamrick MW. Kynurenine signaling through the aryl hydrocarbon receptor: Implications for aging and healthspan. *Exp Gerontol* 2020; 130: 110797. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110797> PMID:31786316 PMCID:PMC7899131
- [16] Rojas IY, Moyer BJ, Ringelberg CS, Wilkins OM, Pooler DB, Ness DB, et al. Kynurenine-induced aryl hydrocarbon receptor signaling in mice causes body mass gain, liver steatosis, and hyperglycemia. *Obesity (Silver Spring)* 2021; 29: 337-349. <https://doi.org/10.1002/oby.23065> PMID:33491319
- [17] Schlittler M, Goiny M, Agudelo LZ, Venckunas T, Brazaitis M, Skurvydas A, et al. Endurance exercise increases skeletal muscle kynurenine aminotransferases and plasma kynurenic acid in humans. *Am J Physiol Cell Physiol* 2016; 310: C836-840. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00053.2016> PMID:27030575
- [18] Joisten N, Kummerhoff F, Koliymitra C, Schenk A, Walzik D, Hardt L, et al. Exercise and the kynurenine pathway: current state of knowledge and results from a randomized cross-over study comparing acute effects of endurance and resistance training. *Exerc Immunol Rev* 2020; 26: 24-42.
- [19] Cervenka I, Agudelo LZ, Ruas JL. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. *Science* 2017; 357: eaaf9794. <https://doi.org/10.1126/science.aaf9794> PMID:28751584
- [20] Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M, et al. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17: 237-243.
- [21] Schenk A, Joisten N, Walzik D, Koliymitra C, Schoser D, Bloch W, et al. Acute exercise impacts AhR and PD-1 levels of CD8+ T-cells-Exploratory results from a randomized cross-over trial comparing endurance versus resistance exercise. *Eur J Appl Physiol* 2021; 121: 637-644. <https://doi.org/10.1007/s00421-020-04552-w> PMID:33211154 PMCID:PMC7862188
- [22] Koliymitra C, Javelle F, Joisten N, Shimabukuro-Vornhagen A, Bloch W, et al. Do acute exercise-induced activations of the kynurenine pathway induce regulatory T-cells on the long-term? - a theoretical frame work supported by pilot data. *J Sports Sci Med* 2019; 18: 669-673.
- [23] Strasser B, Geiger D, Schauer M, Gatterer H, Burtscher M, Fuchs D. Effects of exhaustive aerobic exercise on tryptophan-kynurenine metabolism in trained athletes. *PLoS One* 2016; 11: e0153617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153617> PMID:27124720 PMCID:PMC4849644
- [24] Zimmer P, Schmidt ME, Prentzell MT, Berdel B, Wiskemann J, Kellner KH, et al. Resistance exercise reduces kynurenine pathway metabolites in breast cancer patients undergoing radiotherapy. *Front Oncol* 2019; 9: 962. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00962> PMID:31612110 PMCID:PMC6773833
- [25] Fairey AS, Courneya KS, Field CJ, Bell GJ, Jones LW, Mackey JR. Randomized controlled trial of exercise and blood immune function in postmenopausal breast cancer survivors. *J Appl Physiol* 2005; 98: 1534-1540. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00566.2004> PMID:15772062

Effects of eight weeks aerobic training on kynurenine and gene and protein expression of aryl hydrocarbon receptor in the heart of male rats

Pouria Nori (M.Sc Student), Rouhollah haghshenas (Ph.D)*
Dept. of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 9133298826 rhm@semnan.ac.ir

Received: 3 Apr 2021; Accepted: 3 Aug 2021

Introduction: Understanding the molecular cellular mechanisms of the heart is essential for the prevention and treatment of cardiovascular disease. This study aimed was to investigate the effect of aerobic exercise on the kynurenine and gene and protein expression of aryl hydrocarbon receptor (AHR) in the heart tissue of healthy male Wistar rats.

Materials and Methods: The present study is an experimental study design that twelve male Wistar rats were prepared and after adaptation to the environment were divided into 2 groups: control and training. Then, rats in the exercise group performed running on the treadmill for eight weeks, 5 sessions per week, speed between 10 and 26 meters per minute increasingly. After tissue resection and RNA extraction and cDNA preparation, the Real-Time PCR method was used to measure the gene expression of Ahr, and the ELIZA method was used to measure the expression of AHR protein and kynurenine.

Results: The results showed that aerobic exercise led to a significant decrease in the protein expression of AHR ($P=0.001$) and metabolite of kynurenine ($P=0.003$), but no significant changes were observed in the level of Ahr gene expression.

Conclusion: Considering the positive effect of aerobic exercise on heart function and the reduction of AHR and kynurenine by this type of exercise, it seems that reducing the activity level of this cell signaling pathway is suitable for improving heart function under normal conditions.

Keywords: Exercise, Kynurenine, Aryl Hydrocarbon Receptors, Gene Expression, Rats