



## اثربخشی تمرین هوازی به همراه مصرف امگا ۳ بر بیان ژن‌های PLC و PKB در مردان مبتلا به CAD

صدیقه شیرخانی: دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران  
علیرضا براری: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران (\* نویسنده مسئول) alireza54.barari@gmail.com  
آسیه عباسی دلویی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران  
مهرداد ساروی: دانشیار، گروه قلب، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

ورزش، امگا،  
PKB  
PLC  
انسداد شریان کرونر

**زمینه و هدف:** تمرینات بدنی و مکمل‌های امگا ۳- با تأثیرات مطلوب هموستاتیک می‌تواند خطر ایجاد بیماری در شریان کرونری را کاهش دهد. لذا هدف از پژوهش حاضر تعیین اثربخشی تمرین هوازی به همراه مصرف امگا ۳ بر بیان ژن‌های PLC و PKB در مردان مبتلا به CAD بود.

**روش کار:** مطالعه حاضر یک مطالعه نیمه تجربی بود که در آن ۳۲ مرد مبتلا به بیماری عروق کرونر مراجعه کننده به بیمارستان‌های روحانی و شهید بهشتی بابل در محدوده ۵۵ تا ۶۵ سال به‌طور هدفمند انتخاب و به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل، تمرین، امگا و امگا+تمرین تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل هشت هفته تمرین دوییدن متناوب، سه جلسه در هفته با شدت بین ۵۵ تا ۶۵٪ از ذخیره ضربان قلب و با تأکید بر اضافه بار تدریجی به مدت ۵۰ تا ۷۰ دقیقه در هر جلسه بود. افراد روزانه ۱۰۰۰ میلی گرم امگا ۳ را مصرف می‌کردند.

**یافته‌ها:** میانگین بیان ژن PKB در گروه‌های تمرین، امگا و تمرین+امگا نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشته است ( $p < 0.001$ ). همچنین، میانگین نسبت تغییرات بیان ژن PLC در گروه‌های تمرین، امگا و ترکیبی از تمرین+امگا نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار داشته است ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج مطالعه حاضر، توانایی ورزش و مکمل امگا ۳ در افزایش کنترل هموستاز در نارسایی عروق کرونر، یک مکانیسم مهم مولکولی را نشان می‌دهد که زمینه ساز توجه بیشتر به مزایای این مداخلات است.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Shirkhani S, Barari A, Abbasi Dalooi A, Saravi M. The effectiveness of aerobic exercise with omega-3 intake on the expression of PLC and PKB genes in men with CAD. Razi J Med Sci. 2021;28(3):107-116.

\*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.



Original Article

## The effectiveness of aerobic exercise with omega-3 intake on the expression of PLC and PKB genes in men with CAD

**Sedigheh Shirkhani:** PhD Candidate, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

**Alireza Barari:** Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran (\* Corresponding author) [alireza54.barari@gmail.com](mailto:alireza54.barari@gmail.com)

**Asieh Abbasi Daloi:** Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

**Mehrdad Saravi:** Associate Professor, Department of Sports Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

### Abstract

**Background & Aims:** With increasing urbanization in the developing world, the prevalence of cardiovascular risk factors is observed worldwide and is likely to become the most common cause of death worldwide by 2020 (1). On the other hand, physical exercise can reduce the risk of coronary artery disease by increasing the maximum oxygen consumption and favorable hemostatic effects (2). Decreased elasticity of large arteries and impaired vascular endothelium are two important factors affecting vascular function (3). Studies show that aerobic exercise reduces arterial stiffness in healthy people of all ages and coronary artery disease patients (5). Therefore, many researchers have concluded that exercise programs by patients improve performance, physical and mental fitness, reduce the risk of recurrent myocardial infarction, reduce heart rate and systolic blood pressure and the amount of oxygen consumed by resting heart muscle. Increasing the capacity of aerobic activity leads to changes in cardiac risk factors, reducing anxiety and depression (4). One of the effective factors in cardiovascular signaling in these effects of exercise is protein kinase B (PKB). Protein kinase B, also known as Akt, is a serine / threonine-specific protein kinase protein. PKB activates a variety of proteins that generally help cells survive and grow. PKB is a key mediator of multiple signaling pathways in angiogenesis, cell proliferation, and apoptosis. Activation of protein kinase b (Akt) impairs mitochondrial function in cardiac hypertrophy (7). It has also been suggested that phospholipase, as an enzyme of the lipase group that breaks down phospholipids into fatty acids and other fatty compounds, is involved in signaling and messaging in the cardiovascular pathway (9, 10). On the other hand, it has been shown that dietary or pharmacological interventions can affect heart function. Among these, omega-3 supplements have been considered and recommended due to their beneficial compounds (11). Omega-3 fatty acids have anti-inflammatory, anti-arrhythmic, lipid-lowering and vasodilating effects. These effects of omega-3 fatty acids are secondary to the prevention of cardiovascular disease, type 2 diabetes, hypertension, hyperlipidemia, and depression (13). Due to the limited research and also the contradiction of previous research on the effect of exercise and omega-3 supplementation on patients with coronary artery disease, the question arises that how effective is aerobic exercise with omega-3 intake on the expression of PLC and PKB genes in men with CAD?

**Methods:** The method of the present study was quasi-experimental with pre-test and post-test design. The statistical population in this study were all men with cardiovascular disease referred to Rouhani and Shahid Beheshti hospitals in Babol (in the second half of 1997-98) from which 32 people were selected as a statistical sample and randomly selected in four Group: control, omega-3, exercise and omega-3 exercise. This study was approved by the ethics committee at the Islamic Azad University, Babol Branch (reference number: IR.IAU.ABOL.REC.1398.092). The training program consisted of eight weeks of intermittent running training, three sessions per week with an intensity between 55 and 65% of the subjects' reserve heart rate (HRR) and with emphasis on gradual overload. In these exercises, the beginning of each exercise session began with 10 minutes of general warm-up, including stretching, light and dynamic movements of the whole body, and at the end, 10 minutes of cooling was done (1, 4). 1000 mg of omega-3 daily in the morning in the

### Keywords

Exercise,  
Omega,  
PKB,  
PLC,  
Coronary artery  
occlusion

Received: 01/03/2021

Published: 01/06/2021

form of a capsule (EPA180 and DHA120) with the brand name fish oil viva omega3 made in Canada was consumed with the main meal. Because the supplement is a kind of oil and is better absorbed with food (12). Blood samples were collected from the subjects 24 hours before and 48 hours after the last training session, after a night fast, and the serum was separated by centrifugation. After performing real time PCR and collecting raw data, they were reviewed and analyzed. One-way analysis of variance and subsequent Tukey test were used to examine the group changes from pretest to posttest after delta. Significance level is considered in all cases ( $\alpha < 0.05$ ). All statistical operations were performed using GraphPad Prism 8 and Excel software at a significant level of  $p < 0.05$ .

**Results:** The results showed a significant difference in changes in PKB and PLC gene expression between different groups from pre-test to post-test ( $p < 0.0001$ ). The results of Tukey post hoc test also showed that there was a significant decrease between the mean expression of PKB gene in exercise, omega and exercise + omega groups compared to the control group ( $p < 0.0001$ ). Also, the results of Tukey post hoc test showed that the mean ratio of changes in PLC gene expression in the exercise, omega and combination omega + omega training groups compared to the control group increased significantly ( $p < 0.0001$ ).

**Conclusion:** The results of the present study showed that the mean expression of PLC gene in training groups, omega and a combination of training + omega from pre-test to post-test had a significant increase. The omega + exercise group had a greater and more significant increase than the omega and exercise groups. Also, the mean ratio of PKB gene expression changes (AKT) in training groups, omega and combination of training + omega from pre-test to post-test had a significant decrease. However, the omega + exercise group showed a further decrease. Myocyte growth and angiogenesis in the coronary artery are dependent on AKT-mTOR. During Akt-mediated physiological cardiac growth, the Akt-mTOR pathway is activated, promoting both myocyte growth and coronary angiogenesis, leading to the maintenance of capillary density (17). Excessive and prolonged expression of activated Akt causes heart failure, and Akt activation has also been observed in the immature myocardium (18). In contrast, endothelial cells have been shown to treat phospholipase (PLC) C inhibitors (18). Research shows that exercise has a beneficial effect on cardiovascular adaptation, which can vary according to the type, intensity and duration of exercise (19). People with higher levels of physical activity are less likely to die from cardiovascular disease (19). Zhao et al. (2017) investigated the effect of treadmill training on signaling pathways affecting angiogenic factors and showed that the possible mechanism of upregulation of angiogenic factors and stimulation of phosphorylation of their receptors as well as downstream signaling pathway through pathways such as PLC Takes (23). Avseh et al. (2018) also showed the facilitation of lipolysis of adipose tissue during exercise through PIPLC / IP3 pathways (24). Epidemiological studies also show the benefits of n-3 PUFA (omega-3 unsaturated fatty acids) on cardiovascular health. Interventional studies confirmed that the use of n-3PUFA provides benefits for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. Evidence from cellular and molecular research studies suggests that the protective effects of n-3 PUFA on the heart are due to synergies between complex and multiple mechanisms, including anti-inflammatory, lipid-mediated dissolution, modulation of cardiac ion channels, and reduction of triglycerides. , Effect on membrane micro-domains and downstream cell signaling pathways and anti-thrombotic and anti-arrhythmic effects (25). In this study, it was found that intermittent exercise combined with omega-3 by providing PLC expression and decreasing PKB expression (AKT) provides protective effects against pathological hypertrophy of the heart. Therefore, it seems that these interventions can be used to improve coronary heart disease. One of the limitations of the present study was that the different doses of omega-3 were not compared with exercise. Therefore, further research is needed to more accurately investigate the mechanisms of omega-3 effects on coronary heart disease. In summary, according to the results of the present study, which showed an increase in PLC gene expression and a decrease in PKB gene expression after the simultaneous effect of intermittent exercise and omega-3 supplementation, it can be said that, possibly, exercise ability and omega-3 supplementation increased control of homeostasis in coronary artery insufficiency suggests an important molecular mechanism underlying the benefits of these interventions.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Shirkhani S, Barari A, Abbasi Dalooi A, Saravi M. The effectiveness of aerobic exercise with omega-3 intake on the expression of PLC and PKB genes in men with CAD. *Razi J Med Sci.* 2021;28(3):107-116.

\*This work is published under [CC BY-NC-SA 3.0 licence](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

## مقدمه

با افزایش شهرنشینی در دنیای در حال توسعه، شیوع عوامل خطر ساز قلبی عروقی در کل جهان مشاهده می‌شود و احتمالاً در سال ۲۰۲۰ به شایع‌ترین علت مرگ در کل جهان تبدیل خواهد شد (۱). از طرفی تمرینات بدنی با افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی و تأثیرات مطلوب هموستاتیک می‌تواند خطر ایجاد بیماری در شریان کرونری را کاهش دهد. تأثیرات ضد ترومبوتیک تمرینات بدنی شامل افزایش حجم پلاسما، کاهش ویسکوزیته، کاهش چسبندگی پلاکت و افزایش میزان توانایی ترومبولیتیک می‌باشد تمرینات بدنی شدید موجب افزایش فعالیت فیبرینولیتیک به وسیله افزایش سنتز آندوتلیالی عامل فعال‌کننده بافتی پلاسمینوژن-۱ می‌گردد (۲). کاهش خاصیت الاستیکی شریان‌های بزرگ و اختلال در اندوتلیوم عروق دو عامل مهم و تأثیرگذار بر عملکرد عروقی می‌باشند که با افزایش سن ایجاد می‌شود، به نظر می‌رسد اختلال در عملکرد آندوتلیال، عامل مهمی در بروز آترواسکلروزیس، فشار خون بالا و ناراحتی‌های قلبی است (۳). تأثیرات سودمند فعالیت ورزشی استقامتی در پیشگیری و کاهش بیماری‌های قلبی-عروقی در پژوهش‌های زیادی نشان داده شده است (۲، ۳، ۴). با توجه به نقش التهاب در پاتوژنز بیماری‌های قلبی-عروقی ممکن است که یکی از سازوکارهای کاهش بیماری‌های قلبی-عروقی، کاهش شاخص‌های التهابی با انجام فعالیت ورزشی استقامتی باشد. ورزش فیزیکی با شدت متوسط و به مدت طولانی ممکن است منجر به بهبود عملکرد آندوتلیال عروق، کاهش مقاومت محیطی و تغییر در عملکرد اتونومیک شود که همه این موارد ممکن است باعث بهبود ظرفیت عملکردی شود (۴). مطالعات نشان می‌دهند که تمرینات هوازی موجب کاهش سفتی شریانی در افراد سالم در هر سنی و بیماران عروق کرونری می‌گردد (۵). از این رو بسیاری از محققان به این نتیجه رسیده‌اند که اجرای برنامه‌های ورزشی توسط بیماران باعث بهبود عملکرد، آمادگی بدنی و فکری، کاهش خطر سکت قلبی مجدد، کاهش ضربان قلب و فشار خون سیستولیک و مقدار مصرف اکسیژن عضله قلب در حال استراحت، افزایش ظرفیت فعالیت‌های هوازی تغییرات مربوط به عوامل خطرزای

قلبی، کاهش اضطراب و افسردگی می‌شود (۴). بعلاوه محققین و پزشکان قلبی-عروقی، ورزش منظم را برای اکثر بیماران بعد از ایسکیمی قلبی، مفید و بدون خطر می‌دانند. مطالعات پیشین نشان داده که اندوتلیوم سالم نقش مهمی در تنظیم میزان تنش شریانیچه‌ها دارد و افزایش در میزان جریان خون و ریزش خون به درون ماهیچه‌ها، محرک مناسبی برای تولید عوامل و مواد آندوتلیالی است (۵). این امر به‌طور ابتدایی از طریق کاهش مقاومت رگی در شریانیچه‌های ماهیچه‌ای اسکلتی به کار و فعالیت بدنی می‌پردازد، به تازگی مشخص شده است که چون لایه سلول‌های آندوتلیالی شریانیچه‌ها در حین فعالیت بدنی و ورزشی در معرض افزایش جریان خون قرار می‌گیرد، امکان دارد که عملکردهای این لایه از سلول‌ها هنگام انتقال از مرحله بی‌تمرینی به وضعیت تمرین کرده تحت تأثیر واقع شود (۶). از عوامل مؤثر در سیگنالینگ قلبی عروقی در این تأثیرات ناشی از ورزش، پروتئین کیناز بی (PKB) می‌باشد. پروتئین کیناز بی که با نام Akt هم شناخته می‌شود، یک پروتئین کیناز اختصاصی سرین/ترونین است. PKB انواع پروتئین‌هایی را که عموماً به ادامه حیات سلول و رشد آن کمک می‌کنند فعال می‌کند. PKB یک میانجی کلیدی از مسیرهای سیگنالینگ‌های متعدد در رگ زایی، تکثیر سلولی و آپوپتوز می‌باشد. فعال‌سازی پروتئین کیناز b (Akt) موجب اختلال در عملکرد میتوکندری در هایپرترفی قلبی می‌شود (۷). پروتئین کیناز B از طریق یک فرایند چندمرحله‌ای با انواع مختلف سیگنال فعال می‌شود. در مراحل اولیه این فرایند، فسفوئینوزیت‌های فسفریلیت شده D3 تولید شده توسط کیناز D3، دامنه AKT PH را به یکدیگر متصل می‌کنند و باعث انتقال کیناز به غشای پلاسما می‌شوند، در حالی که آن را با کیناز-۱ وابسته به فسفوئوزیتید وابسته می‌کند. به نظر می‌رسد با این اتصال به حوزه‌های PH هر دو AKT و وابسته به فسفوئینوزیتید و کیناز-۱ فسفوئینوزیت‌های فسفریلیت شده D3 باعث تغییرات سازمانی که اجازه می‌دهد کیناز-۱ وابسته به فسفوئینوزیتید وابسته به فسفوریلایون حلقه AKT فعال باشد. نتیجه این کشف این است که این کینازها و AKT توسط مسیرهای همپوشانی فعال می‌شوند (۸). همچنین بیان شده که فسفولیپاز به

اثر تمرینات بدنی و مکمل امگا ۳ بر بیماران مبتلا به انسداد عروق کرونری قلب این سوال مطرح می‌گردد که اثربخشی تمرین هوازی به همراه مصرف امگا ۳ بر بیان ژن‌های PLC و PKB در مردان مبتلا به CAD چه میزانی است؟

### روش کار

روش تحقیق حاضر بصورت نیمه تجربی با طرح پیش‌آزمون و پس‌آزمون بود. جامعه آماری در این مطالعه کلیه مردان مبتلا به بیماری قلبی عروقی مراجعه کننده به بیمارستان های روحانی و شهید بهشتی بابل (در نیمه دوم سال ۹۸-۹۷) بودند که از بین آنها ۳۲ نفر به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. معیار های ورود به پژوهش برای آزمودنی ها محدوده سنس ۵۵ تا ۶۵ سال، بدون سابقه فعالیت ورزشی منظم و نیز بدون سابقه مصرف امگا ۳ (حداقل تا شش ماه قبل) بود و افرادی که دارای این شرایط نبودند از پژوهش خارج شدند. این افراد بعد از معاینات پزشکی و تکمیل پرسشنامه و رضایت نامه در این پژوهش شرکت نمودند و به‌طور تصادفی در چهار گروه: کنترل، امگا ۳، تمرین و تمرین-امگا ۳ تقسیم شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل تایید شد (شماره مرجع: IR.IAU.ABOL.REC.1398.092).

**برنامه تمرینی:** برنامه تمرینی شامل هشت هفته تمرین تناوبی دویدن، سه جلسه در هفته با شدتی بین ۵۵ تا ۶۵ درصد ضربان قلب ذخیره (HRR) آزمودنی‌ها و با تاکید بر اضافه بار تدریجی بود. پروتکل تمرینی به صورت دویدن در سالن سرپوشیده بود. در این تمرینات، شروع هر جلسه تمرین با ۱۰ دقیقه گرم کردن عمومی شامل حرکات کششی وسبک و پویای کل بدن آغاز و در پایان نیز ۱۰ دقیقه سرد کردن انجام شد. تمرین اصلی که رسیدن به شدت تعیین شده بود با استفاده از ساعت پولار شدت تمرین به صورت نمایش ضربان قلب کنترل شد. برنامه تمرینی در جدول یک آورده شده است (۱، ۴).

**شیوه مصرف مکمل امگا ۳:** ۱۰۰۰ میلی گرم امگا ۳ روزانه در نوبت صبح به صورت یک کپسول (EPA180 و DHA120) با مارک تجاری fish oil viva omega3 ساخت کشور کانادا را همراه با غذای اصلی

عنوان آنزیمی از گروه لیپازها که فسفولیپیدها را به اسیدهای چرب و ترکیبات چربی دیگر تجزیه می‌کند در سیگنالینگ و پیام‌رسانی متعددی در مسیر قلب و عروقی نقش دارد (۹، ۱۰). از سوی دیگر نشان داده شده که مداخلات غذایی و یا دارویی می‌تواند بر عملکرد قلب تأثیرگذار باشد. در این میان مکمل‌های امگا ۳ به علت ترکیبات مفیدشان مورد توجه و توصیه قرار گرفته است (۱۱). بدن انسان توانایی ساخت نوسنتز اسیدهای چرب N-3 از مولکول‌های دیگر را ندارد، اما می‌تواند زنجیره بلند ۲۰ و ۲۲ کربنی اسیدهای چرب N-3 سیر نشده مانند EPA و DHA را از زنجیره کوتاه هشت کربنی ALA تشکیل دهد. اسیدهای چرب زنجیره بلند (N-3) تأثیرات مثبتی در تعدادی از بیماری‌های التهابی از جمله آرتریت روماتوئید و قلبی-عروقی دارند. اثرات مفیدی از مکمل‌گیری با اسیدچرب بلندزنجیره غیراشباع با چندین باند مضاعف در درمان اختلالات خودایمنی، آلرژیک و التهابی نشان داده شده است (۱۲). اسیدهای چرب امگا ۳ دارای اثرات ضد التهابی، ضد آریتمیک، کاهش دهنده چربی خون و گشاد کنندگی عروق هستند. این اثرات اسیدهای چرب امگا ۳ به‌طور ثانویه از بیماری‌های قلبی عروق، دیابت نوع دو، فشار خون، هایپرلیپیدمی و افسردگی جلوگیری می‌کند (۱۳). مطالعات اولیه روی اسکیموهای گرینلند که رژیم های غذایی آنها حاوی مقادیر زیادی از امگا ۳- اسیدهای چرب اشباع نشده (n-3 PUFA) بود نشان داد که مصرف بیشتر N-3 PUFA با کاهش خطر ابتلا به بیماری قلبی عروقی همراه است (۱۴). در مطالعات حیوانی نیز نشان داده شد که زنجیره بلند PUFA N-3 باعث کاهش سطوح TG، فیبرینوژن و مهار بیان مولکول چسبندگی عروق، افزایش عملکرد اندوتلیال و انطباق شریانی و مهار از برخی از سیتوکین هایپیش التهابی می‌شود (۱۵). میکی و همکاران گزارش کردند که استفاده از N-3 PUFA باعث کاهش ۸ درصدی مرگ و میر ناشی از CHD، آریتمی قلبی و نارسایی قلبی می‌شود (۱۴). در یک پژوهشی که به صورت متاآنالیز انجام شد نشان داده شد که زنجیره بلند N-3 PUFA هیچ تأثیر معنی داری بر پیامد های CHD ندارد (۱۶). با توجه به محدود بودن پژوهش ها و همچنین ضد و نقیض بودن تحقیقات گذشته در زمینه

جدول ۱- پروتکل تمیزی

هفته	شدت فعالیت/درصد	شدت TEST/درصد	زمان کل فعالیت/دقیقه
اول	۵۵	۳۵	۵۰
دوم	۵۵	۳۵	۵۰
سوم	۶۰	۳۵	۶۰
چهارم	۶۰	۴۰	۶۰
پنجم	۶۵	۴۵	۶۵
ششم	۶۵	۴۵	۶۵
هفتم	۶۵	۴۵	۶۵
هشتم	۶۵	۴۵	۷۰

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده

Genes	Primer sequence
PLC	F: ACCATCTTGCCCCGTGATCAA R: CTGTCAGTGTTCCCCAGGAT
PKB	F: CGACGTGGCTATTGTGAAGG R: GATGATGAAGGTGTTGGGCC

دو پرایمرهای طراحی شده را نشان می‌دهد. پس از انجام واکنش رونویسی معکوس، به منظور تکثیر قطعه مورد نظر و ارزیابی کمی بیان ژنها، بر روی cDNA ساخته شده، واکنش Real-time PCR به روش SYBR Green انجام گرفت. به منظور تعیین efficiency پرایمرها از نرم افزار LinReg PCR استفاده شد که در این نرم افزار برای نمونه های کار شده با یک جفت پرایمر یک گروه تعیین میگردد و برای هر گروه (هر جفت پرایمر)، یک efficiency به دست می آید. پس از بررسی تمامی Real-time PCR ها، efficiency های به دست آمده از تمامی آنها میانگین گرفته شد و efficiency های نهایی تعیین شد. پس از انجام Real-time PCR و جمع آوری داده های خام بررسی و آنالیز آن ها انجام گرفت.

**روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها:** از روش های آمار توصیفی برای توصیف داده ها استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروهی از پیش آزمون تا پس آزمون پس از گرفتن دلتا از تحلیل واریانس یکراهه و متعاقب آن از آزمون توکی استفاده شد. سطح معنی داری در همه موارد ( $\alpha \leq 0.05$ ) در نظر گرفته می شود. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism 8 و Excel در سطح معناداری  $P < 0.05$  انجام شد.

مصرف می کردند؛ زیرا مکمل نوعی روغن است و همراه غذا بهتر جذب می شود (۱۲).

**نمونه گیری خونی:** نمونه های خونی ۲۴ ساعت قبل و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمیزی، بعد از یک ناشتای شبانه، از آزمودنی ها جمع آوری و جداسازی سرم با سانتریفیوژ کردن انجام شد.

**نحوه بررسی بیان ژن:** برای استخراج RNA حدود ۱۰۰ میکرو لیتر از بافی کوت در یک میکروتیوب عاری از آنزیم RNase قرار داده شد و مقدار یک سی سی محلول تراپزول به آن اضافه شد. میکروتیوب در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه در دور 12000 سانتریفیوژ شد. در آخر رسوب در آب تیمار شده با DEPC حل گردید و در فریزر -۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. به جز مرحله اول که به علت سمیت تریزول در زیر هود معمولی انجام شد، کلیه مراحل در زیر هود لامینار انجام گرفت. RNA استخراج شده از نظر کمی با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفت. ساخت cDNA بر اساس کیت Fermentas انجام گرفت. جهت طراحی پرایمر ها با در نظر گرفتن محدودیتهای موجود از نرم افزار Genrunner و Oligo استفاده شد و پس از طراحی، اختصاصی بودن آنها در نرم افزار BLAST در سایت NCBI کنترل شد تا کاملاً اختصاصی و منحصر به ژن های مورد نظر باشند. جدول

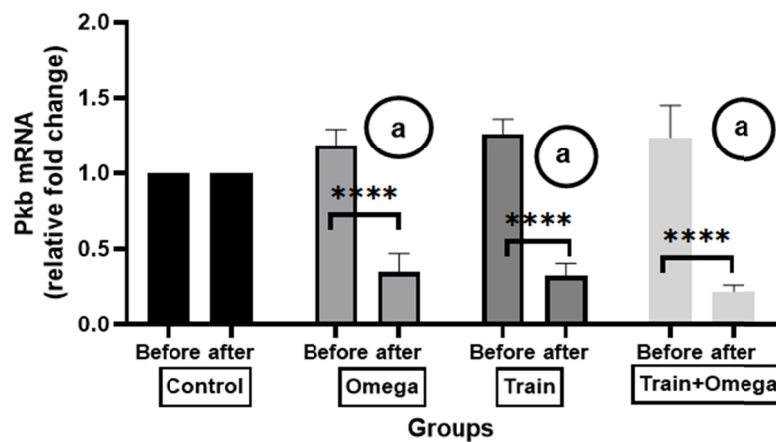
## یافته‌ها

در PLC در گروه‌های تمرین، امگا و ترکیبی از تمرین+امگا نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار داشته است ( $p < 0.0001$ ، نمودار ۲).

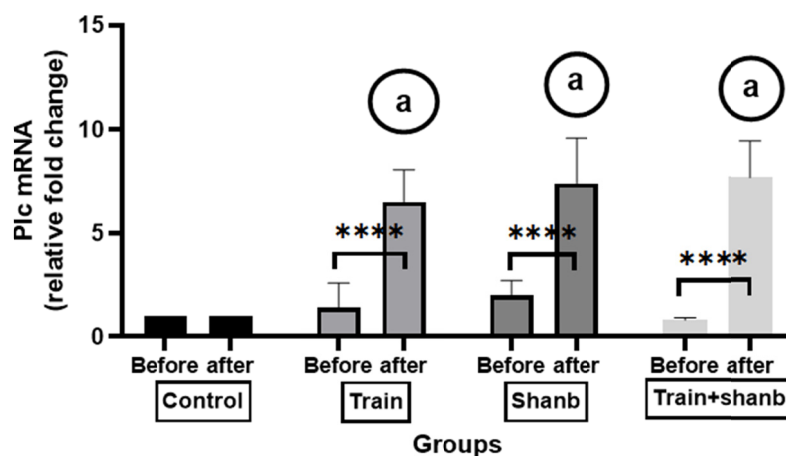
## بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میانگین بیان ژن PLC در گروه‌های تمرین، امگا و ترکیبی از تمرین+امگا از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون افزایش معنادار داشته است. گروه تمرین+امگا نسبت به گروه‌های امگا و تمرین

نتایج حاکی از وجود تفاوت معنادار در تغییرات بیان ژن‌های PKB و PLC بین گروه‌های مختلف از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون بود ( $p < 0.0001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که بین میانگین بیان ژن PKB در گروه‌های تمرین، امگا و تمرین+امگا نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشته است ( $p < 0.0001$ ، نمودار ۱). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که میانگین نسبت تغییرات بیان ژن



نمودار ۱- تغییرات بیان PKB در گروه‌های مختلف تحقیق  
\*: تفاوت با پیش‌آزمون، a: تفاوت نسبت به گروه کنترل



نمودار ۲- تغییرات بیان PLC در گروه‌های مختلف تحقیق  
\*: تفاوت با پیش‌آزمون، a: تفاوت نسبت به گروه کنترل

(۱۸). در مقابل، بیان شده که درمان سلول‌های اندوتلیال با مهارکننده فسفولیپاز C (PLC) انجام می‌پذیرد. برخی پیام‌هایی که از طریق فسفولیپاز C و IP3 عمل می‌کنند، شامل: استیل کولین، آگونیست‌های آلفا-آدرنرژیک، آنژیوتنژین، آنژیوتانسین II، اوکسین، پپتید آزادکننده گنادوتروپین، گلوتامات، هورمون آزادکننده گنادوتروپین، هیستامین، اکسی توسین، فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، سروتونین، هورمون آزادکننده تیروتروپین، وازوپرسین (۱۸). تحقیقات نشان می‌دهند که فعالیت‌های ورزشی تأثیر مفید بر سازگاری‌های قلبی عروقی داشته که می‌تواند با توجه به نوع، شدت و مدت زمان تمرین متفاوت باشد (۱۹). افرادی که سطح بالاتری از فعالیت‌های بدنی دارند کمتر دچار مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند (۱۹). به نظر تمرینات ورزشی نه تنها به عنوان ابزاری برای حفظ یک شیوه زندگی سالم، بلکه همچنین به عنوان یک نسخه بی‌خطر برای پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد. هایپرتروفی پاتولوژیک به عنوان یکی از نشانه‌های نارسایی قلبی بوده که با ضعف عملکرد و ساختار قلب همراه است (۲۰). در مقابل هایپرتروفی فیزیولوژیک در نتیجه فعالیت‌های ورزشی حاصل شده و دارای اثرات محافظتی بر قلب بوده و با نارسایی قلبی ارتباطی ندارد (۲۱). فعالیت‌های ورزشی می‌تواند در بیماران قلبی عروقی ساختار و عملکرد پاتولوژیک قلبی را به هایپرتروفی فیزیولوژیک تغییر دهند (۲۲). ژااو و همکاران (۲۰۱۷) اثر تمرین روی نوارگردان را بر مسیرهای سیگنالینگ مژثر بر عوامل رگ‌زا بررسی کردند و نشان دادند که مکانیسم احتمالی تنظیم افزایشی عوامل رگ‌زا و تحریک فسفوریلاسیون گیرنده‌های آنها و نیز مسیر سیگنالینگ پایین دست از طریق مسیرهایی مانند PLC انجام می‌گیرد (۲۳). آوسه و همکاران (۲۰۱۸) نیز تسهیل لیپولیز بافت چربی در حین ورزش را از طریق مسیرهای IP3 / PIPLC نشان دادند (۲۴). همچنین مطالعات اپیدمیولوژیک مزایای n-3 PUFA (اسیدهای چرب اشباع نشده امگا ۳) بر سلامت قلب و عروق را نشان می‌دهد. مطالعات مداخله‌ای تأیید کرد که مصرف n-3PUFA مزایایی را برای پیشگیری اولیه و ثانویه از بیماری‌های قلبی عروقی

افزایش بیشتر و معناداری داشته است. همچنین، میانگین نسبت تغییرات بیان ژن PKB(AKT) در گروه‌های تمرین، امگا و ترکیبی از تمرین+امگا از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون کاهش معنادار داشته است. با این وجود گروه تمرین+امگا کاهش بیشتری نشان داد. رشد میوسیت و رگ‌زایی در کرومر وابسته به-AKT mTOR است. در طی رشد قلبی فیزیولوژیک با واسطه Akt، مسیر Akt - mTOR فعال شده و باعث پیشرفت در هر دوی رشد میوسیت و رگ‌زایی در کرومر می‌شود که منجر به حفظ تراکم مویرگی می‌شود. با این حال، نتایج فعال‌سازی طولانی مدت Akt در عدم تعادل بین رشد میوسیت و رگ‌زایی کرومر به دلیل تنظیم کاهشی انتخابی پاسخ‌های آنژیوتیک واسطه با mTOR می‌شود که منجر به توسعه هایپرتروفی پاتولوژیک می‌شود. انسداد سیگنال VEGF در فاز اولیه پس از فعال‌سازی Akt نیز منجر به اختلال در رگ‌زایی عروق کرومر و انتقال زود هنگام از هایپرتروفی فیزیولوژیک به پاتولوژیک می‌شود؛ بنابراین، تعادل نسبی بین رشد قلب و آنژیوژنز کرومر، به جای میزان هایپرتروفی آن، یک تعیین‌کننده مهم از نظر هایپرتروفی فیزیولوژیک در مقابل هایپرتروفی پاتولوژیک قلب است (۱۷). بیان بیش از حد و طولانی مدت Akt فعال شده باعث نارسایی قلبی می‌شود و فعال‌سازی Akt نیز در میوکارد نارس مشاهده شده است (۱۸). فعال‌سازی بلند مدت Akt، منجر به عدم تعادل در سیگنالینگ سلولی می‌شود که مسیرهای رشد را به سمت مسیرهایی می‌برد که هزینه انرژی میتوکندری را افزایش می‌دهد و ممکن است به اختلال عملکرد قلب شود. مسیرهای فعال‌سازی واسطه شده با Akt ممکن است وابسته به شرایطی مانند ایسکمی هنگامی که اکسیژن یا متابولیسم محدود است، باشد. در این شرایط، افزایش گلیکولیز و کاهش FAO میتوکندری ممکن است عملکرد قلبی را حفظ کرده و از یکپارچگی میتوکندری محافظت کند. با این وجود، اگر این ادامه یابد، سیگنالینگ Akt ناسازگار می‌شود، زیرا این تغییرات متابولیکی در مواجهه با ادامه نارسایی قلبی ناشی از AKT، نمی‌توانند نیازهای انرژی قلبی را حفظ کنند؛ بنابراین، سیگنالینگ Akt باید به سرعت غیرفعال شود. هنگامی که استرس زمینه‌ای برداشته شود و یا بهبود یابد این امر ایجاد می‌شود



نشان می‌دهد که اساس مزایای این مداخلات است.

### تقدیر و تشکر

دین وسیله نویسندگان مقاله از شرکت کنندگان در این کار پژوهشی به دلیل همکاری‌های لازم سپاسگزاری می‌نمایند.

**تأییدیه اخلاقی:** این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل تأیید شده است (شماره مجوز تصویب: IR.IAU.ABOL.REC.1398.092).

### References

1. Naghibi S, Maleki J. The effect of exercise training on anaerobic threshold and exercise tolerance in patients with coronary artery disease. *Med Soc.* 2011;17-33.
2. Mehrabi A, Salesi M, Pasavand P. Comparison of the effect of the exercise time (morning or evening) and the amount of Troponin T in men with *Cardiovasc Dis.* 2015;107-114.
3. Farahati S, Atarzadeh Hosseini SR, Bijeh N, Mahjoob O. The effect of aerobic exercising on plasma nitric oxide level and vessel endothelium function in postmenopausal women. *Razi J Med Sci.* 2014 Jan 10;20(115):78-88.
4. Spruit MA, Gosselink R, Troosters T, De Paepe K, Decramer M. Resistance versus endurance training in patients with COPD and peripheral muscle weakness. *Eur Respir J.* 2002 Jun 1;19(6):1072-8.
5. Fang J, Nakamura H, Maeda H. The EPR effect: unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011 Mar 18;63(3):136-51.
6. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, Lamendola C, Saad M, Waters D, et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? *Am J Cardiol.* 2005 Aug 1;96(3):399-404.
7. Wende AR, O'Neill BT, Bugger H, Riehle C, Tuinei J, Buchanan J, et al. Enhanced cardiac Akt/protein kinase B signaling contributes to pathological cardiac hypertrophy in part by impairing mitochondrial function via transcriptional repression of mitochondrion-targeted nuclear genes. *Mol Cell Biol.* 2015 Mar 1;35(5):831-46.
8. Chan TO, Rittenhouse SE, Tsichlis PhN. AKT/PKB and other D3 phosphoinositide-regulated kinases: Kinase Activation by Phosphoinositide-Dependent Phosphorylation. *Annu Rev Biochem.*

فراهم می‌کند. شواهد حاصل از مطالعات تحقیقات سلولی و مولکولی نشان می‌دهد که اثرات محافظتی قلب از n-3 PUFA ناشی از هم افزایی بین مکانیسم‌های پیچیده و متعدد است که شامل ضد التهاب، حل واسطه‌های چربی، تعدیل کانال‌های یونی قلبی، کاهش تری گلیسیریدها، تأثیر بر میکرو دامنه‌های غشایی و مسیرهای سیگنالینگ سلول پایین دست و اثرات ضد ترومبوتیک و ضد آریتمی است. n-3 PUFAs. مسیرهای سیگنالینگ التهابی را مهار می‌کند (۲۵). اکسیژن فعال و گونه‌های نیتروژن مجموعه وسیعی از مسیرهای سیگنالینگ را تنظیم می‌کند که بر فیزیولوژی قلب و عروق حاکم است. با این حال، استرس اکسیدان حاصل از اختلال در سیگنالینگ اکسیداسیون، تأثیر سو بر پاتوژنز و پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی دارد (۲۶). این یافته‌ها نشان می‌دهد که بین حفاظت عضله قلبی ناشی از فعالیت ورزشی و دیگر انواع پیش آماده سازی تأخیری از جمله فشار گرمایی و پیش آماده سازی ایسکمیک، تفاوت مهمی وجود دارد. اندوتلیوم نقش مهمی در آثار حفاظتی ناشی از فعالیت ورزشی دارد، به ویژه اینکه افزایش تنش برشی دیواره عروق ناشی از فعالیت ورزشی، بیان و فعالیت عوامل عروقی را افزایش می‌دهد (۲۷). در این پژوهش دیده شد که فعالیت ورزشی تناوبی به همراه امگا ۳ با افزایش بیان PLC و کاهش بیان PKB(AKT) اثرات حفاظتی بر ضد هایپر تروفی پاتولوژیک قلب را فراهم می‌کند؛ بنابراین به نظر می‌رسد می‌توان از این مداخلات برای بهبود بیماران کرونری استفاده کرد. از محدودیت‌های پژوهش حاضر مقایسه نشدن دوزهای مختلف امگا ۳ در کنار تمرین بود. لذا انجام پژوهش‌های بیشتر برای بررسی دقیق تر مکانیزم‌های تأثیر گذاری امگا ۳ بر بیماران کرونری لازم به نظر می‌رسد.

### نتیجه گیری

به‌طور خلاصه، با توجه به نتایج پژوهش حاضر که افزایش بیان ژن PLC و کاهش بیان ژن PKB پس از اثر همزمان تمرین تناوبی و مکمل امگا-۳ دیده شد، می‌توان گفت که احتمالاً، توانایی تمرینات ورزشی و مصرف مکمل امگا-۳ برای افزایش کنترل هموستاز در نارسایی عروق کرونری، یک مکانیسم مهم مولکولی را

- July 1999;68:965-1014.
9. Lee BA, Oh DJ. The effects of long-term aerobic exercise on cardiac structure, stroke volume of the left ventricle, and cardiac output. *J Exerc Rehabil.* 2016;12(1):37.
  10. Mansouri S, Mokhtari-Hesari P, Naghavi-al-Hosseini F, Majidzadeh-A K, Farahmand L. The prognostic value of circulating tumor cells in primary breast cancer prior to any systematic therapy: a systematic review. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2019 Aug 1;14(6):519-29.
  11. Iraz M, Erdogan H, Ozyurt B, Ozugurlu F, Ozgocmen S, Fadillioglu E. Omega-3 essential fatty acid supplementation and erythrocyte oxidant/antioxidant status in rats. *Ann Clin Lab Sci.* 2005;35(2):169-173.
  12. Friedman A, Moe S. Review of the effects of omega-3 supplementation in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006;1(2):182-192.
  13. Shapiro H, Tehilla M, Attal-Singer J, Bruck R, Luzzatti R, Singer P. The therapeutic potential of long-chain omega-3 fatty acids in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Nutr.* 2011;30(1):6-19.
  14. Maki K, Dicklin M. Omega-3 Fatty Acid Supplementation and Cardiovascular Disease Risk: Glass Half Full or Time to Nail the Coffin Shut? *Nutrients.* 2018;10(7):864.
  15. Mozaffarian D, Wu JH. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am College Cardiol.* 2011;58(20):2047-2067.
  16. Adams V, Reich B, Uhlemann M, Niebauer J. Molecular effects of exercise training in patients with cardiovascular disease: focus on skeletal muscle, endothelium, and myocardium. *Am J Physiol Heart Circul Physiol.* 2017 Jul 1;313(1):H72-88.
  17. Brar BK, Stephanou A, Knight R, Latchman DS. Activation of protein kinase B/Akt by urocortin is essential for its ability to protect cardiac cells against hypoxia/reoxygenation-induced cell death. *J Mol Cell Cardiol.* 2002 Apr 1;34(4):483-92.
  18. Turovsky EA, Turovskaya MV, Zinchenko VP, Dynnuk VV, Dolgacheva LP. Insulin induces Ca<sup>2+</sup> oscillations in white fat adipocytes via PI3K and PLC. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane Cell Biol.* 2016 Jan 1;10(1):53-9.
  19. Golbidi S, Li H, Laher I. Oxidative stress: a unifying mechanism for cell damage induced by noise,(water-pipe) smoking, and emotional stress—therapeutic strategies targeting redox imbalance. *Antioxid Redox Signal.* 2018 Mar 20;28(9):741-59.
  20. Zill OA, Banks KC, Fairclough SR, Mortimer SA, Vowles JV, Mokhtari R, et al. The landscape of actionable genomic alterations in cell-free circulating tumor DNA from 21,807 advanced cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2018 Aug 1;24(15):3528-38.
  21. Ooi JY, Bernardo BC, McMullen JR. The therapeutic potential of miRNAs regulated in settings of physiological cardiac hypertrophy. *Futuremed Chem.* 2014;6(2):205-222.
  22. Melo SF, Fernandes T, Barauna VG, Matos KC, Santos AA, Tucci PJ, et al. Expression of microRNA-29 and collagen in cardiac muscle after swimming training in myocardial-infarcted rats. *Cell Physiol Biochem.* 2014;33(3):657-669.
  23. Zhao Y, Pang Q, Liu M, Pan J, Xiang B, Huang T, et al. Treadmill exercise promotes neurogenesis in ischemic rat brains via caveolin-1/VEGF signaling pathways. *Neurochem Res.* 2017 Feb 1;42(2):389-97.
  24. Aveseh M, Koushkie-Jahromi M, Nemati J, Esmaeili-Mahani S. Serum calcitonin gene-related peptide facilitates adipose tissue lipolysis during exercise via PIPLC/IP3 pathways. *Endocrine.* 2018 Sep 1;61(3):462-72.
  25. Adkins Y, Kelley DS. Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem.* 2010 Sep 1;21(9):781-92.
  26. Campos JC, Gomes KM, Ferreira JC. Impact of exercise training on redox signaling in cardiovascular diseases. *Food Chem Toxicol.* 2013 Dec 1; 62:107-19.
  27. Ren J, Yang L, Tian W, Zhu M, Liu J, Lu P, et al. Nitric oxide synthase inhibition abolishes exercise-mediated protection against isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in female mice. *Cardiology.* 2015;130(3):175-84.