



## اثر هشت هفته تمرین هوازی و امگا ۳ بر شاخص‌های آتروفی بافت قلب موش‌های سالمند

### تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب

قاسم ترابی پلت کله<sup>۱</sup>، احمد عبدی<sup>۲\*</sup>، آسیه عباس دلویی<sup>۲</sup>

تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۲/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۰

### چکیده

**هدف:** عملکرد قلب با افزایش سن و چاقی کاهش می‌یابد. چاقی عامل خطر اصلی در پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی (CVDs) است. قلب پیر دچار تغییرات متعددی در سطوح مولکولی، سلولی و فیزیولوژیکی می‌شود که عملکرد انقباضی آن را کاهش می‌دهد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین هوازی و امگا ۳ بر شاخص‌های آتروفی بافت قلب موش‌های سالمند تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب بود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (میانگین وزن  $148/82 \pm 18/24$  گرم، سن ۲۴ هفته) در پنج گروه رژیم غذایی نرمال (ND)، رژیم غذایی پرچرب (HFD)، رژیم غذایی پرچرب-تمرین (HFDT)، رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳ (HFD $\omega$ 3)، تمرین-رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳ (HFDT $\omega$ 3) قرار گرفتند. گروه‌های مکمل، طی دوره مداخله روزانه ۱ گرم امگا-۳ (به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را به صورت خوراکی دریافت کردند. برنامه تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با شدت ۶۰-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی (VO<sub>2</sub>max)، پنج روز هفته به مدت هشت هفته اجرا شد. داده‌ها به روش تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** بیان ژن FoxO3a، MAFbx و MuRF1 در گروه‌های HFDT (به ترتیب  $P = 0.039$ ،  $P = 0.016$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $p = 0.043$ ) (به ترتیب  $p = 0.035$ ،  $p = 0.044$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $p = 0.001$ ) (به ترتیب  $p = 0.001$ ) کاهش معنی‌داری داشت. همچنین کاهش معنی‌داری در بیان FoxO3a در گروه HFD $\omega$ 3 نسبت به HFDT ( $P = 0.040$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $P = 0.045$ ) مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی و امگا-۳ باعث محافظت در برابر آتروفی قلبی ناشی از HFD در موش‌های سالمند شد، باین وجود اثر هم‌زمان تمرین هوازی و امگا-۳ بهتر بود.

**واژگان کلیدی:** فعالیت ورزشی، امگا-۳، آتروفی، پیری و رژیم غذایی پرچرب

۱. دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. ۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

\* نشانی الکترونیک نویسنده مسئول a.abdi58@gmail.com

## مقدمه

نقش دارد. در این میان، زیرخانواده پروتئین جعبه سرچنگالی (FoxO<sup>۳</sup>) به دلیل نقش حیاتی آن‌ها در تنظیم فرآیندهای سلولی متنوعی که در افزایش طول عمر و پیری دخیل هستند، توجه فرآیندهای را به خود جلب کرده‌اند (۶). در فرآیند آتروژنز FoxO3a فعال شده و باعث فعال شدن دو پروتئین تخریب کننده عضلانی MAFbx<sup>۴</sup> و MuRF1<sup>۵</sup> می‌گردد و به دنبال آن تخریب سلولی شروع می‌شود (۷). جالب توجه است که فعال سازی FoxO بیان ژن لیگازهای یوبیکوئیتین مخصوص عضله Atrogin-1/MuRF1 را تنظیم کرده تا باعث تحلیل عضلات قلبی شود (۸). تنظیم افزایشی بیان ژن MAFbx در قلب باعث کاهش هیپرتروفی فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌شود (۹، ۱۰). همچنین تنظیم افزایشی بیان ژن MuRF1 در عضلات قلبی مانع از هیپرتروفی می‌شود (۱۱). فعالیت ورزشی به‌عنوان یک استرس فیزیولوژیک ابزار قدرتمندی در بهبود قلب طی پیری است. به نظر فعالیت ورزشی قادر است روند آتروفی قلبی را معکوس کند. در این راستا در پژوهشی نشان داده شده که تمرین هوازی باعث بهبود در شاخص‌های مؤثر بر اندازه عضله قلب در موش‌های صحرايي می‌شود (۱۲). همچنین اسمعیلی و همکاران (۱۳۹۸)

جمعیت جهان در حال پیر شدن و چاق شدن است در نتیجه شیوع بیماری‌های مزمن غیر واگیر مانند بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و دیابت در حال افزایش است که علت اصلی مرگومیر در جهان است. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، در سال ۲۰۱۶، ۳۹ درصد از جمعیت جهان دارای اضافه‌وزن و ۱۳ درصد چاق بودند (۱) و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۲۵، یک میلیارد بزرگسال چاق داشته باشیم (۲). ناهنجاری‌های متابولیکی ناشی از رژیم غذایی پرچرب (HFD<sup>۱</sup>) منشأ اصلی چندین اختلال فیزیولوژیکی از جمله دیابت نوع ۲، بیماری کبد چرب غیرالکلی، سرطان و بیماری قلبی عروقی می‌باشد (۳). نشان داده شده که عملکرد قلب انسان سالخورده کاهش یافته و با افزایش آسیب‌پذیری در برابر بیماری‌های قلبی عروقی همراه است (۴). کاهش هومئوستاز پروتئین به‌عنوان یکی از نشانه‌های بارز پیری با اختلال عملکرد سلولی به دلیل کاهش کنترل مسیر اتوفاژی-لیزوزومی از جمله فرآیندهایی که توسط سیستم یوبیکوئیتین-پروتازوم (UPS<sup>۲</sup>) واسطه می‌شود، مرتبط است (۵). در دهه‌های گذشته ژن‌ها و مسیرهای متعددی شناسایی شده که در پیری و ایجاد بیماری‌های مرتبط با پیری

<sup>4</sup> Muscle atrophy F-box

<sup>5</sup> Muscle RING-finger protein 1

<sup>1</sup> High-Fat Diet

<sup>2</sup> Ubiquitin-Proteasome System

<sup>3</sup> FoxO box protein

و  $MuRF1$  مولکول‌های مهم در تنظیم مسیر آتروفی عضلانی هستند، بررسی این مولکول‌ها در بافت قلب مهم می‌باشد. با توجه به تناقض در یافته‌ها و همچنین مطالعات اندکی که مسیر آتروفی را در بافت قلب موش‌های سالمند HFD بررسی کرده‌اند و همچنین احتمال اثر بیشتر تمرین هوازی همراه با امگا-۳ بر قلب، این پژوهش در نظر دارد تا اثر هم‌زمان تمرین هوازی و امگا-۳ را بر شاخص‌های آتروفی ( $MuRF1$ ,  $FoxO3$ ,  $MAFbx$  و  $MuRF1$ ) بافت قلب موش‌های صحرایی سالمند HFD مورد مطالعه قرار دهد.

### روش پژوهش

این پژوهش از نوع تجربی بوده و همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای مؤسسه ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. همچنین این پژوهش با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی با کد IR.IAU.AMOL.REC.1401.115 به تصویب رسیده است. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر ۲۴ هفته‌ای با نژاد ویستار از مؤسسه پاستور تهیه شد و به آزمایشگاه حیوانی منتقل شدند. حیوانات مورد آزمایش به‌صورت جداگانه در قفس‌های پلی‌کربنات

بیان کردند که تمرین هوازی باعث کاهش بیان ژن  $FoxO3a$  و  $MuRF1$  بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود (۱۳). به نظر فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش در  $PGC-1\alpha$  در عضلات می‌شود (۱۴). مشخص شده که پروتئین تجزیه‌کننده بافت عضلانی  $FoxO$ ، با کوفاکتور حیاتی در بیوزنر میتوکندری یعنی  $PGC-1\alpha$  اثر متقابلی دارد و سطوح بالای  $PGC-1\alpha$  می‌تواند سبب مهار این فاکتور تخریب‌کننده پروتئین عضلانی شود (۱۴). با این وجود برخی مطالعات نشان دادند که فعالیت ورزشی بر شاخص‌های آتروفی تأثیر نداشته (۱۵) و یا باعث افزایش (۱۶) این شاخص‌ها شده است. علاوه بر فعالیت ورزشی، اسید چرب امگا-۳ نیز در تنظیم فرآیندهای بیولوژیکی بدن و نمو نقش دارد. غیر از نقش امگا-۳ به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، نشان داده شده که این مکمل دارای اثرات آنابولیک نیز می‌باشد (۱۷). همچنین مطالعات نشان داده که امگا-۳ قادر است اثر تمرین قدرتی را بر افزایش توده عضلانی (۱۸) و قدرت عضلانی (۱۹) بیشتر کند. بر همین اساس می‌توان تصور کرد، مصرف امگا-۳ در موش‌های مسن HFD می‌تواند اثرات تمرین هوازی را بر عوامل آتروفی در بافت قلب افزایش داده و در نتیجه ظرفیت عملکردی قلب را بهبود بخشد. از آنجایی که  $MAFbx$ ,  $FoxO3$

نگهداری شدند. دمای محیط  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت  $4 \pm 55/6$  درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش‌ها به پنج گروه هشت سری (شامل ۱) رژیم غذایی نرمال (ND)، ۲) رژیم غذایی پرچرب (HFD)، ۳) رژیم غذایی پرچرب-تمرین (HFDT)، ۴) رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳ (HFD $\omega$ 3)، ۵) رژیم غذایی پرچرب-تمرین-امگا-۳ (HFDT $\omega$ 3) قرار گرفتند. موش‌های گروه ND به مدت هشت هفته با غذایی استاندارد (۲۳ درصد پروتئین، ۶۵ درصد کربوهیدرات و ۱۲ درصد چربی) تغذیه شدند. در همین مدت موش‌های گروه HFD از رژیم غذایی پرچرب استفاده کردند. غذای پرچرب شامل ۱۷ درصد پروتئین، ۴۳ درصد کربوهیدرات و ۴۰ درصد چربی بود (۲۰). غذای استاندارد و غذای پرچرب با هماهنگی موسسه پاستور تهیه می‌شود. از شاخص لی برای ارزیابی میزان چاقی حیوانات استفاده شده و مقادیر بالای ۳۱۰ به‌عنوان موش چاق در نظر گرفته شد.

### برنامه تمرین

قبل از شروع تمرین اصلی و به‌منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط نوارگردان، موش‌ها در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج

دقیقه با سرعت ۱۰-۸ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. تمرین هوازی با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، شیب صفر درجه، به مدت ۱۵ دقیقه در هر جلسه آغاز شد. سرعت و مدت‌زمان به‌تدریج به ۱۶ متر در دقیقه و ۵۰ دقیقه در آخرین جلسه افزایش یافت. این شدت تمرین معادل ۵۰ تا ۶۰  $VO_{2max}$  بود. تمرین ورزشی به مدت ۸ هفته و پنج‌روزه هفته اجرا شد (۲۱). جهت تعیین توان هوازی موش‌ها، بعد از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت  $0.3m/s$  (۰/۰۳  $m/min$ )، سرعت نوارگردان هر سه دقیقه یک‌بار به میزان  $1/8 m/min$  افزایش یافت. حداکثر سرعت بیشینه زمانی است که موش‌های صحرائی حداقل  $1/3$  دقیقه نتوانند با یک سرعت ثابت بدونند و بلافاصله پس‌از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نباشند (شیب تردمیل صفر درجه است) رسیدن به‌سرعت بیشینه با غلظت لاکتات بالاتر از ۶ میلی‌مول در لیتر و نسبت تنفسی  $VO_2/VCO_2$  معادل ۱.۵ است، ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و  $VO_{2max}$  موش‌ها وجود دارد از این رو می‌توان با توجه به‌سرعت بیشینه دویدن، میزان  $VO_{2max}$  موش‌ها را به دست آورد. شدت‌ها با توجه به این سرعت به‌دست‌آمده، تنظیم شد.

<sup>1</sup> Eicosapentaenoic acid

### مصرف امگا-۳

امگا-۳ از شرکت سیگما آلمان خریداری (شماره محصول: F8020) شد. امگا-۳ شامل ۱۳۶ میلی گرم بر میلی لیتر تری دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و ۱۳۹ میلی گرم بر میلی لیتر اپیکوزا پنتانوئیک اسید (EPA) بود. در پژوهش حاضر حیوانات روزانه ۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن امگا-۳ دریافت کردند (۲۲).

**روش بافت برداری و اندازه گیری متغیرها**  
 پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی، به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین و مکمل) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی هوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی، وزن کشی و شست و شو با سالین فورا در تیوب های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان اندازه گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه روزی، نمونه گیری از ساعت ۸ آغاز شده و در ساعت ۱۱:۳۰ دقیقه به پایان می رسید.

### طراحی و آماده سازی پرایمر: جدول ۲

الگوی پرایمر را نمایش می دهد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

**انجام Real time-PCR:** ۲۰ میلی گرم از بافت قلب (بطن چپ) با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوپ شده، سپس با استفاده از محلول تیازول، RNA کل سلول ها استخراج شد. cDNA سنتز شده و جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. cDNA سنتز شده با استفاده از SYBR Green master mix (Thermo Scientific, USA) و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۲ تکثیر شد. برای اندازه گیری mRNA، ۱ میکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم RQ1 RNase- free DNase-I (Promega) و retro-transcribed (RT) تیمار شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل: ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل ۲۰ ثانیه ای در حرارت ۹۵°، ۳۰ ثانیه در ۶۰° و ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲° بود. نسبت بیان ژن های مورد بررسی در

<sup>1</sup> Docosahexaenoic acid

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای تحقیق از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری در همه موارد  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم‌افزارهای SPSS با نسخه ۲۶ به اجرا درآمد.

این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای نرمال‌سازی بیان ژن از فرمول (کنترل)  $ct - ct = \Delta ct$  (هدف) استفاده گردید. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن‌ها با  $\Delta ct$ ، برای کمی‌کردن نتیجه حاصل از تغییرات  $ct$  نمونه‌ها، این عدد در فرمول  $2^{-\Delta ct}$  وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد.

## تجزیه و تحلیل آماری

### جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
سرعت (متر)	۱۰	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶
مدت (دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰

### جدول ۲. الگوی پرایمر

Genes	Forward primers	Reverse primers
<b>FoxO3</b>	5'-GCCTCATCTCAAAGCTGGGT-3'	5'-TGCTCTGGAGTAGGGATGCT-3'
<b>MAFbx</b>	5'-AGGGCAGGTGGATTGGAAGAAGA-3'	5'-GTTGGGGTGAAAGTGAGACGGAG-3'
<b>MuRF1</b>	5'-GGTGTGACGAAGGTGGAAGAGA-3'	5'-CAAGGCAGATGGGGCAGATGAG-3'
<b>GAPDH</b>	5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	5'-TCCACCACCTGTTGCTGTA-3'

اثر هشت هفته تمرین هوازی و ... دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی، بهار و تابستان ۱۴۰۱، جلد دوازدهم، شماره ۱ ۷۹

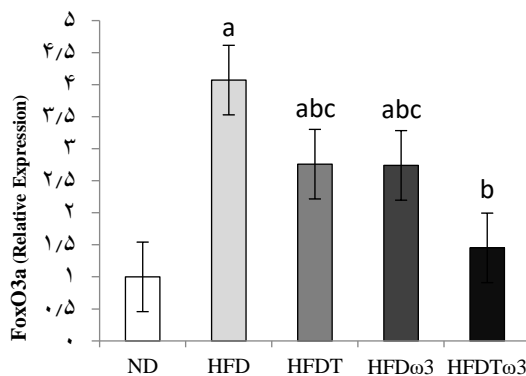
جدول ۳. میانگین بیان ژن FoxO3، MAFbx و MuRF1 گروه‌ها در جداول ۳ ارائه شده است.

گروه‌ها	FoxO3	MAFbx	MuRF1
ND (n=8)	1 ± 0/365	1 ± 0/228	1 ± 0/290
HFD (n=8)	4/071 ± 1/173	3/701 ± 1/108	3/016 ± 1/268
HFD $\omega$ 3 (n=8)	2/758 ± 1/094	2/470 ± 0/742	1/821 ± 0/724
HFD $\omega$ 3 (n=8)	2/740 ± 0/884	2/622 ± 0/728	1/761 ± 0/763
HFD $\omega$ 3 (n=8)	1/452 ± 0/623	1/718 ± 0/597	1/581 ± 0/715

### یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن FoxO3 بافت قلب بین گروه‌های مختلف وجود دارد ( $P=0/001$ ) ( $F=15/198$ ) (نمودار ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات FoxO3 در HFD ( $P=0/001$ )، HFD $\omega$ 3 ( $P=0/039$ )، HFD $\omega$ 3 ( $P=0/001$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $P=0/035$ ) نسبت به HFD؛ و HFD $\omega$ 3 نسبت به گروه HFD $\omega$ 3 ( $P=0/045$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $P=0/040$ ) مشاهده شد (نمودار ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن FoxO3 بافت قلب بین گروه‌های مختلف وجود دارد ( $P=0/001$ ) ( $F=15/198$ ) (نمودار ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات FoxO3 در HFD ( $P=0/001$ )، HFD $\omega$ 3 ( $P=0/039$ )، HFD $\omega$ 3 ( $P=0/001$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $P=0/035$ ) نسبت به HFD؛ و HFD $\omega$ 3 نسبت به گروه HFD $\omega$ 3 ( $P=0/045$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $P=0/040$ ) مشاهده شد (نمودار ۱).

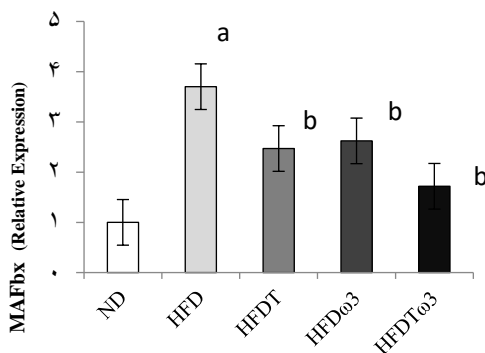


نمودار ۱. تغییرات بیان ژن FoxO3 عضله قلبی در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح  $P<0/05$ ).

a تفاوت با گروه ND، b تفاوت با گروه HFD، c تفاوت با HFD $\omega$ 3.



ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDT: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFD $\omega$ 3: رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳ و HFDT $\omega$ 3: تمرین-رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳.



نمودار ۲. تغییرات بیان ژن MAFbx عضله قلبی در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح  $P < 0.05$ ).

a تفاوت با گروه ND، b تفاوت با گروه HFD.

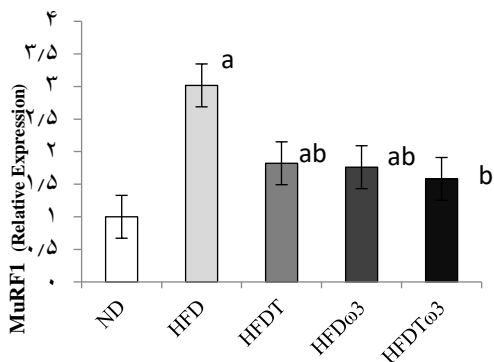
ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDT: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFD $\omega$ 3: رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳ و HFDT $\omega$ 3: تمرین-رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳.

۳. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات MuRF1 در گروه HFD نسبت به ND وجود دارد ( $P = 0.0001$ ). همچنین کاهش معنی‌داری در گروه‌های HFDT ( $P = 0.043$ )، HFD $\omega$ 3 ( $P = 0.030$ ) و HFDT $\omega$ 3 ( $P = 0.010$ ) نسبت به HFD مشاهده شد (نمودار ۳).

همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن MAFbx بافت قلب بین گروه‌های مختلف وجود دارد ( $F = 15/162$ ,  $P = 0.0001$ ) (نمودار ۲). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات MAFbx در گروه‌های HFD ( $P = 0.0001$ )، HFDT ( $P = 0.003$ ) و HFD $\omega$ 3 ( $P = 0.001$ ) نسبت به ND وجود دارد. همچنین کاهش معنی‌داری در گروه‌های HFDT ( $P = 0.016$ )، HFD $\omega$ 3 ( $P = 0.0001$ ) و HFDT $\omega$ 3 ( $P = 0.044$ ) نسبت به HFD مشاهده شد (نمودار ۲).

در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن MuRF1 بافت قلب بین گروه‌های مختلف وجود دارد ( $F = 6/526$ ,  $P = 0.0001$ ) (نمودار





نمودار ۳. تغییرات بیان ژن MuRF1 عضله قلبی در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح  $P < 0.05$ ).

a تفاوت با گروه ND، b تفاوت با گروه HFD.

ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDT: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFDt03: رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳ و HFDTt03: تمرین-رژیم غذایی پرچرب-امگا-۳.

انقباضی تارهای عضلانی همراه با بر هم خوردن تعادل اکسیدانی می‌شود (۲۳)، که با مشاهدات چوی<sup>۲</sup> و همکاران (۲۱۶) در افراد مسن چاق مطابقت دارد (۲۴). علاوه بر این اشیما<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که ۱۲ هفته HFD باعث تغییر در ساختار عضلات شده و در نهایت منجر به آتروفی عضلات می‌شود (۲۵). علاوه بر تحلیل عضلات اسکلتی، HFD باعث بروز بسیاری از بی‌نظمی‌ها از جمله اختلالات متابولیکی قلبی (۲۶)، افزایش التهاب و فعال شدن فشار اکسایشی (۲۷)، فعال شدن مسیر UPS (۲۷)،

## بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای چاقی در موش‌های مسن باعث افزایش بیان ژن شاخص‌های آتروفی (FoxO3، MAFbx و MuRF1) شد. اختلالات متابولیکی ناشی از HFD تاثیر زیادی روی اندام‌های قلبی عروقی به‌خصوص عضله قلب دارد. چندین مطالعه حیوانی و کلینیکی نشان داده که رژیم غذایی HFD باعث تحلیل عضلات و اختلال در عملکرد آن می‌شود. شورتد<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که رژیم‌های غذایی HFD باعث کاهش معنی‌دار در نیروی

<sup>3</sup> Eshima

<sup>1</sup> Shortreed

<sup>2</sup> Choi



یکی دیگر از مکانیزم‌های مؤثر فعالیت ورزشی در جلوگیری از آتروفی عضلات مهار مسیر تخریب پروتئین سیستم UPS می‌باشد. فعالیت ورزشی با فعال کردن AMPK باعث تنظیم رونویسی MAFbx شده و در نتیجه باعث کاهش تخریب پروتئین قلب از مسیر UPS می‌شود. همچنین MAFbx سنتز پروتئین را کاهش داده و نقش مهمی در کنترل توده قلب دارد (۳۳). باین وجود برخی مطالعات نشان دادند که فعالیت ورزشی بر شاخص‌های آتروفی تاثیر نداشته (۱۵) و یا باعث افزایش (۱۶) این شاخص‌ها شده است. به نظر می‌رسد تفاوت در شدت تمرینات ورزشی در پژوهش‌های ذکر شده باعث چنین نتایجی شده است. همچنین در پژوهش حاضر نشان داده شد که مصرف امگا-۳ باعث کاهش بیان ژن FoxO3، MAFbx و MuRF1 در عضله قلبی موش‌های مسن HFD شد. در این راستا لیو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند کاهش زنجیره سنگین میوزین (پروتئین رشته ضخیم عضلانی) و افزایش بیان پروتئین FoxO3 و Atrogin-1 (پروتئین‌های مرتبط با آتروفی عضلانی) در عضلات کف پای موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی HFD به دنبال مصرف امگا-۳ معکوس شد (۳۴). چندین مطالعه دیگر نیز نشان داده‌اند که EPA<sup>۲</sup> و DHA<sup>۳</sup> دارای اثرات

تنظیم کاهشی AMPK/PGC-1 و IGF/PI3K/Akt/mTOR (۲۸، ۲۹) و آتروفی و آپوپتوز قلبی می‌شود. باین وجود مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت ورزشی باعث معکوس شدن روند افزایش بیان ژن شاخص‌های آتروفی در قلب شد. مطالعات مختلفی کاهش بیان ژن و پروتئین MuRF1 و MAFbx را به دنبال تمرین ورزشی در انسان‌ها و حیوان‌ها گزارش کرده‌اند (۳۰، ۳۱). افشار و همکاران (۱۳۹۹) نشان دادند که شش هفته تمرینات هوازی باعث کاهش معنی‌داری مقادیر بیان ژن FOXO3، MAFbx و MuRF1 بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود (۱۲). همچنین در پژوهش که توسط اسمعیلی و همکاران (۱۳۹۸) بر روی بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد، بیان شد که تمرین هوازی بیان ژن FOXO3a و MuRF1 را کاهش می‌دهد (۱۳). مطالعات نشان می‌دهد که آتروفی عضلانی با مهار مسیر سیگنالینگ AMPK/PGC-1α و فعال شدن محور مقابل آن یعنی FoxO/MAFbx/MuRF1 رخ می‌دهد (۳۲). به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی با تنظیم افزایشی بیان ژن AMPK (۳۰) PGC-1α (۱۴) باعث مهار بیان ژن MAFbx در عضلات قلبی شده و از این طریق از آتروفی قلب جلوگیری می‌کند (۳۰).

<sup>3</sup> Docosahexaenoic acid

<sup>1</sup> Liu

<sup>2</sup> Eicosapentaenoic acid

آتروفی محافظت می‌کند (۴۱). در پژوهش حاضر اثر هم‌زمان تمرین هوازی همراه بر امگا-۳ بر FoxO3 بیشتر از اثر هر کدام به‌تنهایی بود، با این وجود تفاوت معنی‌داری بین تغییرات MAFbx و MuRF1 در گروه‌های تجربی مشاهده نشد. چاقی و سالمندی با افزایش التهاب و فشار اکسایشی همراه بوده و FoxO3 نیز تحت تاثیر التهاب و فشار اکسایشی قرار می‌گیرد (۴۲). نشان داده شده که هم تمرین هوازی (۴۳) و هم مصرف امگا-۳ (۴۴) قادر به مهار التهاب و فشار اکسایشی در بافت قلب می‌باشند. بنابراین ترکیب تمرین هوازی دارای اثر هم‌افزایی داشته و باعث کاهش FoxO3 در گروه ترکیبی شده است. از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم بررسی مسیر سیگنالینگ AMPK/PGC-1 $\alpha$  اشاره کرد که نقش مهمی در مسیرهای آتروفی و هیپرتروفی عضلات دارد. بنابراین توصیه می‌شود در پژوهش‌های بعدی به این مسیر توجه شود.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، این داده‌ها نشان داد که تمرین هوازی و مکمل امگا-۳ در موش‌های پیر دارای اثرات محافظتی در برابر آتروفی قلبی ناشی از HFD دارد، با این وجود فقط کاهش بیان ژن FoxO3 در گروه ترکیب تمرین هوازی و

محافظتی در برابر آتروفی عضلانی ناشی از رژیم HFD، از جمله از دست دادن ظرفیت میوزنیک و آتروفی از طریق فعال‌سازی AMPK دارند (۳۵-۳۷). علاوه بر این اخیراً لی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۷) (۳۸) و اوه<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۷) (۳۹) شواهدی ارائه دادند که مصرف اسیدهای لینولئیک کونژوگه و PUFAهای امگا-۳ می‌توانند تخریب پروتئین عضلانی را کاهش داده و قدرت عضلانی را در موش‌های چاق ناشی از رژیم HFD بهبود بخشند. به نظر می‌رسد HFD از مسیرهای سیگنالینگ وابسته به ژن‌های FoxO3، MAFbx و MuRF1 باعث آتروفی عضلانی می‌شود. همان‌طور که در بالا اشاره شد، رژیم غذایی HFD باعث افزایش بیان پروتئین FoxO3 و MAFbx/Atrogin-1 در موش‌های صحرایی شده که با مصرف روغن ماهی این روند معکوس می‌شود. به نظر می‌رسد مصرف امگا-۳ با فعال کردن مسیر سیگنالینگ AMPK/PGC-1 $\alpha$  باعث جلوگیری از آتروفی عضلانی ناشی از HFD و کاهش ژن‌های آتروفی در قلب شده است. PGC-1 $\alpha$  به‌عنوان سیگنال مهم پایین‌دستی AMPK در عضلات شناخته شده است (۴۰). نشان داده شده که PGC-1 $\alpha$  از طریق مهار سیگنال رونویسی ژن اختصاصی FOXO3/آتروفی از عضلات اسکلتی در برابر

<sup>2</sup> Oh<sup>1</sup> Lee

شد. بدین وسیله، نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحدهای دانشگاهی اعلام می‌دارند.

### تضاد منافع

مؤلفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تألیف و یا انتشار این مقاله ندارند.

مکمل امگا-۳ نسبت به دیگر گروه‌های تجربی معنی‌دار شد. ارزیابی این شاخص‌ها می‌تواند درک بهتری از اثر تمرین هوازی و امگا-۳ را بر تنظیم مسیر آتروفی قلب ارائه دهد، بنابراین پژوهش‌های بیشتری در این زمینه لازم است.

### سپاسگزاری

این پژوهش در قالب رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی انجام

### منابع

1. WHO—World Health Organization Noncommunicable Diseases. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
2. WHO—World Health Organization Obesity and Overweight. [(accessed on 26 May 2020)]. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
3. Xu J, Ni B, Ma C, Rong S, Gao H, Zhang L, et al. Docosahexaenoic acid enhances hippocampal insulin sensitivity to promote cognitive function of aged rats on a high-fat diet. *Journal of Advanced Research*. 2023;45:31-42.
4. Dai D-F, Chen T, Johnson SC, Szeto H, Rabinovitch PS. Cardiac aging: from molecular mechanisms to significance in human health and disease. *Antioxidants & redox signaling*. 2012;16(12):1492-526.
5. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-217.
6. Webb AE, Brunet A. FOXO transcription factors: key regulators of cellular quality control. *Trends in biochemical sciences*. 2014;39(4):159-69.
7. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell*. 2004;117(3):399-412.
8. Ronnebaum SM, Patterson C. The FoxO family in cardiac function and dysfunction. *Annual review of physiology*. 2010;72:81-94.
9. Li H-H, Kedar V, Zhang C, McDonough H, Arya R, Wang D-Z, et al. Atrogin-1/muscle atrophy F-box inhibits calcineurin-dependent cardiac hypertrophy by participating in an SCF ubiquitin ligase complex. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(8):1058-71.

10. Li H-H, Willis MS, Lockyer P, Miller N, McDonough H, Glass DJ, et al. Atrogin-1 inhibits Akt-dependent cardiac hypertrophy in mice via ubiquitin-dependent coactivation of Forkhead proteins. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(11):3211-23.
11. Arya R, Kedar V, Hwang JR, McDonough H, Li H-H, Taylor J, et al. Muscle ring finger protein-1 inhibits PKC $\epsilon$  activation and prevents cardiomyocyte hypertrophy. *J Cell Biol*. 2004;167(6):1147-59.
12. Afshar H, Abdi A, Barari A, Azarbayjani M. The Effect of Aerobic Training on Expression of Indices of Myocardial Hypertrophy and Atrophy in Rats. *Armaghane Danesh*. 2021;26(1):45-58.
13. Esmalee B, Abdi A, farzanegi p, Abbassi Dalooi A. Protective Effect of Aerobic Training along with Resveratrol on the Expression of some Atrophic Biomarkers of Cardiomyocytes in Diabetic rats. *Journal Of Neyshabur University Of Medical Sciences*. 2019;7(3):27-37.
14. Hood DA, Irrcher I, Ljubicic V, Joseph A-M. Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *Journal of experimental biology*. 2006;209(12):2265-75.
15. Kazemi A, dehesh T. The Effect of 4 Weeks of High Intensity Training on Gene Expression of MST1 and MAFbx in EDL Muscle of Aged Mice. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2019;11(3):47-58.
16. sheibani s, daryanoosh f, salesi m, koushie jahromi m, tanideh n. The effect of high-intensity training and detraining on FOXO3a/MuRF1 and MAFbx levels in soleus muscle of male rats. *EBNESINA*. 2018;20(1):31-9.
17. Gingras AA, White PJ, Chouinard PY, Julien P, Davis TA, Dombrowski L, et al. Long-chain omega-3 fatty acids regulate bovine whole-body protein metabolism by promoting muscle insulin signalling to the Akt-mTOR-S6K1 pathway and insulin sensitivity. *The Journal of physiology*. 2007;579(1):269-84.
18. Pinkoski C, Chilibeck PD, Candow DG, Esliger D, Ewaschuk JB, Facci M, et al. The effects of conjugated linoleic acid supplementation during resistance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2006;38(2):339-48.
19. Da Boit M, Sibson R, Sivasubramaniam S, Meakin JR, Greig CA, Aspden RM, et al. Sex differences in the effect of fish-oil supplementation on the adaptive response to resistance exercise training in older people: a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2017;105(1):151-8.
20. Mostafavian M, Abdi A, Mehrabani J, Barari A. Effect of Eight Weeks of Aerobic Progressive Training with Capsaicin on changes in PGC-1 $\alpha$  and UPC-1 Expression in Visceral Adipose Tissue of Obese Rats With Diet. *Complementary Medicine Journal*. 2020;10(2):106-17.
21. Ji N, Luan J, Hu F, Zhao Y, Lv B, Wang W, et al. Aerobic exercise-stimulated Klotho upregulation extends life span by attenuating the excess production of reactive oxygen species in the brain and kidney. *Experimental and therapeutic medicine*. 2018;16(4):3511-7.

22. de Andrade AM, Fernandes MdC, de Fraga LS, Porawski M, Giovenardi M, Guedes RP. Omega-3 fatty acids revert high-fat diet-induced neuroinflammation but not recognition memory impairment in rats. *Metabolic Brain Disease*. 2017;32(6):1871-81.
23. Shortreed KE, Krause MP, Huang JH, Dhanani D, Moradi J, Ceddia RB, et al. Muscle-specific adaptations, impaired oxidative capacity and maintenance of contractile function characterize diet-induced obese mouse skeletal muscle. *PloS one*. 2009;4(10):e7293.
24. Choi SJ, Files DC, Zhang T, Wang Z-M, Messi ML, Gregory H, et al. Intramyocellular lipid and impaired myofiber contraction in normal weight and obese older adults. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2016;71(4):557-64.
25. Eshima H, Tamura Y, Kakehi S, Kurebayashi N, Murayama T, Nakamura K, et al. Long-term, but not short-term high-fat diet induces fiber composition changes and impaired contractile force in mouse fast-twitch skeletal muscle. *Physiological reports*. 2017;5(7):e13250.
26. Ma J, Hwang SJ, McMahon GM, Curhan GC, Mclean RR, Murabito JM, et al. Mid-adulthood cardiometabolic risk factor profiles of sarcopenic obesity. *Obesity*. 2016;24(2):526-34.
27. Abrigo J, Rivera JC, Aravena J, Cabrera D, Simon F, Ezquer F, et al. High fat diet-induced skeletal muscle wasting is decreased by mesenchymal stem cells administration: implications on oxidative stress, ubiquitin proteasome pathway activation, and myonuclear apoptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016 :9047821.
28. Roy B, Curtis ME, Fears LS, Nahashon SN, Fentress HM. Molecular mechanisms of obesity-induced osteoporosis and muscle atrophy. *Frontiers in physiology*. 2016;7:439.
29. Ferretti R, Moura EG, Dos Santos VC, Caldeira EJ, Conte M, Matsumura CY, et al. High-fat diet suppresses the positive effect of creatine supplementation on skeletal muscle function by reducing protein expression of IGF-PI3K-AKT-mTOR pathway. *PloS one*. 2018;13(10):e0199728.
30. Zanchi NE, de Siqueira Filho MA, Lira FS, Rosa JC, Yamashita AS, de Oliveira Carvalho CR, et al. Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3 $\beta$  and p70S6K levels in rats. *European journal of applied physiology*. 2009;106(3):415-23.
31. Murton A, Constantin D, Greenhaff P. The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2008;1782(12):730-43.
32. Foletta VC, White LJ, Larsen AE, Léger B, Russell AP. The role and regulation of MAFbx/atrogin-1 and MuRF1 in skeletal muscle atrophy. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2011;461(3):325-35.
33. Baskin KK, Rodriguez MR, Kansara S, Chen W, Carranza S, Frazier OH, et al. MAFbx/Atrogin-1 is required for atrophic remodeling of the unloaded heart. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2014;72:168-76.

34. Liu S-H, Chiu C-Y, Wang L-P, Chiang M-T. Omega-3 fatty acids-enriched fish oil activates AMPK/PGC-1 $\alpha$  signaling and prevents obesity-related skeletal muscle wasting. *Marine drugs*. 2019;17(6):380.
35. Hsueh T-Y, Baum JI, Huang Y. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on myogenesis and mitochondrial biosynthesis during murine skeletal muscle cell differentiation. *Frontiers in nutrition*. 2018;5:15.
36. Saini A, Sharples AP, Al-Shanti N, Stewart CE. Omega-3 fatty acid EPA improves regenerative capacity of mouse skeletal muscle cells exposed to saturated fat and inflammation. *Biogerontology*. 2017;18:109-29.
37. Soni NK, Ross AB, Scheers N, Savolainen OI, Nookaew I, Gabrielsson BG, et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid-enriched high fat diet delays skeletal muscle degradation in mice. *Nutrients*. 2016;8(9):543.
38. Lee SR, Khamoui AV, Jo E, Zourdos MC, Panton LB, Ormsbee MJ, et al. Effect of conjugated linoleic acids and omega-3 fatty acids with or without resistance training on muscle mass in high-fat diet-fed middle-aged mice. *Experimental Physiology*. 2017;102(11):1500-12.
39. Oh S-L, Lee S-R, Kim J-S. Effects of conjugated linoleic acid/n-3 and resistance training on muscle quality and expression of atrophy-related ubiquitin ligases in middle-aged mice with high-fat diet-induced obesity. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2017(3):11.
40. Frier BC, Wan Z, Williams DB, Stefanson AL, Wright DC. Epinephrine and AICAR-induced PGC-1 $\alpha$  mRNA expression is intact in skeletal muscle from rats fed a high-fat diet. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2012;302(12):C1772-C9.
41. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 $\alpha$  protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(44):16260-5.
42. Wang Y, Zhou Y, Graves DT. FOXO transcription factors: their clinical significance and regulation. *BioMed research international*. 2014;2014.
43. Chen W-K, Tsai Y-L, Shibu MA, Shen C-Y, Chang-Lee SN, Chen R-J, et al. Exercise training augments Sirt1-signaling and attenuates cardiac inflammation in D-galactose induced-aging rats. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(12):4166.
44. Lennon-Edwards S, Schellhardt TA, Kuczmarski JM. Antioxidant defense is increased in aged hearts following omega-3 supplementation in the absence of changes in inflammation. *Physiological Research*. 2015;64(3):433.



## Metabolism and Exercise A bioannual journal

Vol 12, Number 1, 2022



### The Effect of Eight Weeks Aerobic Exercise and Omega-3 on Atrophy Indices in the Cardiomyocytes of Elderly HFD Rats

Torabi palat kaleh Gh<sup>1</sup>, Abdi A<sup>2\*</sup>, Abbassi Dalooi A<sup>2</sup>

Received: 11/12/2021

Accepted: 22/5/2022

Published: 21/04/2023

#### Abstract

**Aim:** Heart performance declines with age and obesity. Aging and obesity a major risk factor toward the development of cardiovascular diseases (CVDs). The aging heart undergoes several changes at the molecular, cellular and physiological levels, which diminishes its contractile function. The aim of the present study was to investigate the effect of aerobic training and omega-3 on atrophy indices in the cardiomyocytes of elderly HFD rats.

**Methods:** In this experimental study, 40 male Wistar rats (mean weight  $148.82 \pm 18.24$  g, age 24 week) were divided into 5 groups: Normal Diet (ND), High-Fat Diet (HFD), High-Fat Diet-Training (HFDT), High-Fat Diet-Omega3 (HFD $\omega$ 3) and High-Fat Diet-Training-Omega3 (HFDT $\omega$ 3). The supplement groups received 1 g of Omega3 (per kg of body weight) orally during the intervention period. Aerobic exercise program including running on treadmill with an intensity of 50-60% oxygen consumption (VO<sub>2</sub>max), was performed 5 days a week for eight weeks. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc test at the  $P < 0.05$ .

**Results:** Significant decrease were seen in FoxO3a, MAFbx, and MuRF1 gene expression levels in HFDT ( $p=0.039$ ,  $p=0.016$ , and  $p=0.043$ , respectively), HFD $\omega$ 3 ( $p=0.035$ ,  $p=0.044$ ,  $p=0.030$ , respectively), and HFDT $\omega$ 3 ( $p=0.0001$ ,  $p=0.0001$  and  $p=0.0001$  respectively). Also, a significant decrease in FoxO3a expression was observed in the HFDT $\omega$ 3 group compared to HFDT ( $P=0.040$ ) and HFD $\omega$ 3 ( $P=0.045$ ).

**Conclusion:** Aerobic training and omega-3 protected against HFD-induced cardiac atrophy in elderly rats, however, the combined effect of aerobic exercise and omega-3 was better.

**Keywords:** Exercise, Omega 3, Atrophy, Aging and High-Fat Diet

1. Ph.D Candidate in Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, I. R. Iran. 2. Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, I. R. Iran.

\*Email: a.abdi58@gmail.com

