

تأثیر تمرین استقامتی با مصرف گرده گل بر بیان ژن apoA1 و ABCA1 در عضله موش صحرایی: گزارش کوتاه

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۴ ویرایش: ۱۳۹۵/۰۹/۰۷ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۲۸ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۹/۲۹

زمینه و هدف: بیماری‌های قلبی-عروقی هم‌اکنون به‌عنوان اولین عامل مرگ‌ومیر در کشورهای صنعتی مطرح است. این پژوهش به بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین استقامتی شدید با مصرف گرده گل زنبور عسل بر انتقال معکوس کلسترول در موش‌های صحرایی نر پرداخته است.

روش بررسی: پژوهش کنونی از نوع آزمایشگاهی و نیمه‌تجربی می‌باشد. تعداد ۲۴ سر موش نر سفید نژاد ویستار هشت هفته‌ای با وزن 90 ± 20 از انستیتو پاستور آمل خریداری شد. موش‌ها در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت بدنی دانشگاه مازندران در شرایط کنترل شده نور، دما و رطوبت از آبان تا پایان بهمن ۱۳۹۲ نگهداری شدند. موش‌ها به گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. مقدار بیان ژن ABCA1 و APOA-1 در عضله دوقلو از روش Real-time-PCR استفاده شد.

یافته‌ها: اختلاف معناداری در بیان ژن ABCA1 عضله دوقلو (Gastrocnemius muscle) در گروه‌ها مشاهده شد ($P < 0.001$) در حالی که APOA-1 در دوقلو بیان نشد.

نتیجه‌گیری: تمرین شدید استقامتی باعث کاهش بیان ژن ABCA1 می‌شود. در حالی که مصرف گرده گل زنبور عسل باعث افزایش بیان ژن ABCA1 در عضله دوقلو موش‌های صحرایی نر شده است.

کلمات کلیدی: ABCA1، APOA-1، گرده گل.

امیر تقی‌پور اسرمی^۱

عباس قنبری نیایی^{۱*}

مهران نقی‌زاده قمی^۲

محمد مهدی مغنی باشی^۳

۱- گروه بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

۲- گروه آمار، دانشکده ریاضی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

۳- گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون، کازرون، ایران.

* نویسنده مسئول: بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، شاخه بیوشیمی ورزشی
تلفن: ۰۱۱-۳۵۳۰۲۲۰۱
E-mail: ghanbara@umz.ac.ir

مقدمه

منجر شود و موجب بهبود برخی مراحل کلیدی در فرایند انتقال معکوس کلسترول مانند افزایش مقدار و ترکیب HDL^۱، افزایش خروج کلسترول، افزایش تشکیل و اندازه APO-1^۲، افزایش Pre Beta HDL پلاسما و افزایش فعالیت آنزیم لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز (LCAT) شود.^۳ ABCA1 در تمام بافت‌های بدن بیان می‌شود و فقط روده کوچک و کبد می‌باشند که ژن APOA-1 را سنتز می‌کنند. بیشتر نتایج پژوهش‌های گذشته نشان دادند که بیان ژن ABCA1 بر اثر فعالیت‌های بدنی افزایش می‌یابد.^۴

افزون بر این، Ghanbari-Niaki در پژوهشی بیان کرد که تمرینات استقامتی بلندمدت باعث افزایش بیان ژن ABCA1 در قلب و عضله دوقلو (Gastrocnemius muscle) موش‌های صحرایی می‌شود.^۵ استفاده از مکمل‌ها به‌ویژه مکمل‌های غذا-دارو از قدیم جهت جلوگیری از

بیماری‌های قلبی-عروقی هم‌اکنون به‌عنوان اولین عامل مرگ‌ومیر در کشورهای صنعتی مطرح است.^۱ بیماری کرونر قلبی با افزایش میزان لیپوپروتئین کم‌چگال (LDL-C) رابطه مستقیم و با افزایش میزان لیپوپروتئین پرچگال (HDL-C) رابطه معکوس دارد.^۲ این عمل پیشگیرانه HDL، بر اثر نقش آن در فرایند انتقال معکوس کلسترول رخ می‌دهد. پروتئین ABCA1 در انتقال معکوس کلسترول با تسهیل خروج کلسترول از سلول‌ها به گیرنده ذرات آپولیپوپروتئین AI فقیر از لیپید، دخالت دارد.^۳ پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعالیت بدنی می‌تواند به تغییرات مفیدی در نیمرخ لیپوپروتئین‌های خون مانند کاهش تری‌گلیسیرید، LDL، VLDL و افزایش HDL با زیرمجموعه‌های آن

تصادفی ساده به چهار گروه همسان (۱- گروه شاهد/ سالین، ۲= گروه شاهد/ گرده، ۳- گروه تمرین/ سالین، ۴- گروه تمرین/ گرده) از لحاظ وزن تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی بر روی نوار گردان با شدت شدید ۳۰ متر در دقیقه برای پنج روز در هفته و به مدت ۱۲ هفته تمرین کردند.

گرده گل زنبور عسل جمع‌آوری شده در انتهای فصل تابستان از منطقه دیلمان نیاک پس از خشک کردن و عصاره‌گیری ۵۰۰ mg عصاره آبی به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۵۰ mg به‌ازای هر ۱۰۰ g) به‌صورت دهانی بلافاصله پس از تمرین به گروه‌های کنترل و تمرین گرده، خورانده شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها در حالتی که سه ساعت ناشتا بودند (آب در دسترس آن‌ها بود) از طریق تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین بیهوش شدند (به‌ترتیب ۸۰ و ۱۰ mg/kg). بافت عضله دوقلو به‌سرعت جدا و به داخل میکروتیوپ منتقل شد و در نیتروژن مایع قرار گرفت. ۵۰ mg بافت با روش اونکوبه پودر گردید و جهت استخراج کل RNA در ۸۰۰ µl TRIzol® (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA) هموزن شد.

سنتر cDNA با استفاده از کیت Revert Aid H Minus First Strand cDNA (کد کالا: K1631) براساس دستورکار شرکت سازنده، با استفاده از پرایمرهای تصادفی هگزامر در دستگاه ترموسایکلر Thermocycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., Richmond, CA, USA) صورت گرفت. محصول تولید شده بلافاصله در دمای ۲۰°C- نگهداری شد. برای ارزیابی بیان ژن از دستگاه Real-time PCR (Bio-Rad Laboratories, Inc., Richmond, CA, USA) استفاده شد. پس از انتقال داده‌ها به نرم‌افزار Excel بر اساس فرمول دلتا-دلتا CT میزان بیان ژن *ABCA1* و *APOA-1* محاسبه شد. در نرم‌افزار SPSS (software, version 20 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) اطمینان از طبیعی بودن داده‌ها، در ادامه برای تعیین اختلاف بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و از آزمون تعقیبی شفه استفاده شد. $P < 0.05$ در این مطالعه معنادار تلقی شد.

یافته‌ها

پس از ۱۲ هفته تمرین استقامتی شدید فقط در گروه کنترل گرده کاهش معناداری در وزن موش‌ها مشاهده شد (جدول ۱).

ضعف‌های جسمانی و تقویت بنیه استفاده شده است.^۹ گرده گل به‌صورت دانه‌های ریز و به رنگ زرد یا نارنجی است که توسط زنبور عسل و از درون گل‌ها جمع‌آوری می‌شود. ۲۰۰ ماده در گرده مانند پروتئین، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات، لیپیدها و اسیدهای چرب، ترکیبات فنلی، آنزیم‌ها، کوآنزیم‌ها و ویتامین‌ها وجود دارند.^{۱۰}

گزارش شده است که دانه گرده زنبور عسل باعث افزایش لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و کاهش لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) می‌شود. مطالعات بالینی فعالیت کاهندگی چربی در سرم توسط گرده گل را تایید می‌کند و بیان می‌کند که باعث کاهش ۲۰ تا ۳۵ درصدی چربی خون، کلسترول و کاهش ۳۰ درصدی در تجمع پلاکت‌ها و بهبود تصلب شرایین می‌شود.^{۱۱} با این وجود داده‌های اندکی در مورد نقش گرده گل زنبور عسل بر بیان ژن‌های درگیر در انتقال معکوس چرخه کلسترول می‌باشد. بر اساس داده‌های پیشین نتایج ضد و نقیضی در مورد بیان ژن *APOA-1* در عضله اسکلتی وجود دارد. از طرفی رابطه نزدیک بین *APOA-1* و *ABCA1* در انتقال کلسترول وجود دارد.^۸ همچنین گرده گل زنبور عسل سبب تحریک فرایند متابولیسم و سبب افزایش سرعت سوخت‌وساز می‌شود^{۱۲} و به‌دلیل اینکه تاکنون پژوهشی در رابطه با نقش تمرین به‌همراه مصرف گرده گل زنبور عسل در مکانیزم انتقال معکوس کلسترول انجام نشده است بنابراین، این مطالعه به‌منظور تعیین تأثیر ۱۲ هفته تمرین استقامتی شدید با مصرف گرده گل زنبور عسل بر بیان ژن *ABCA1* و *APOA-1* عضله دوقلو موش‌های صحرایی نر انجام شد.

روش بررسی

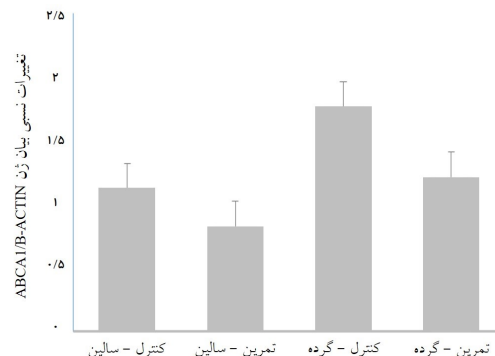
پژوهش کنونی از نوع آزمایشگاهی و نیمه‌تجربی می‌باشد. تعداد ۲۴ سر موش نر سفید نژاد ویستار هشت هفته‌ای با وزن 90 ± 20 از انستیتو پاستور آمل خریداری شد. موش‌ها در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت بدنی دانشگاه مازندران در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی شش صبح و شروع تاریکی شش عصر)، دما (22 ± 3 °C) و رطوبت حدود ۴۵٪ از آبان تا پایان بهمن ۱۳۹۲ نگهداری شدند. موش‌ها به‌گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. پس از یک هفته آشنایی با فضای آزمایشگاه، موش‌های مورد مطالعه به روش

جدول ۱: شاخص‌های توصیفی متغیرهای پژوهش (X±SE)

گروه‌ها	کنترل سالین	تمرین سالین	کنترل گرده	تمرین گرده
وزن نهایی موش‌ها (g)	۳۷۱/۷±۴۸/۹۶	۳۸۰/۱۱±۱۵/۹۴	۳۰۵/۱۱±۴۲/۶۰*	۳۷۷/۱۴±۳۳/۱۵
تغییرات نسبی بیان ژن ABCA1/B-ACTIN عضله دوقلو	۱/۱۲۳±۰/۲۳۲	۰/۸۲۴±۰/۱۶۰	۱/۷۳۸±۰/۲۱۱	۱/۲۱۳±۰/۲۳۸

می‌شود.^{۱۴} در نتیجه سنتز پروتئین در سلول‌های عضلانی توسط لوسین و انسولین تحریک می‌شود. افزون بر این گرده گل زنبور عسل باعث افزایش عملکرد میتوکندریایی عضلات اسکلتی از طریق افزایش آنزیم سیترات سنتاز (CS) و افزایش آنزیم‌های دوم و چهارم از زنجیره انتقال الکترون می‌شود.^{۱۲} از طرفی با توجه به اینکه APOA-1 در عضله اسکلتی بیان نمی‌شود ولی ورود آن از دیگر بافت‌ها به عضله اسکلتی انجام می‌شود. نسبت APOA-1 به HDL باعث جذب گلوکز به عضله اسکلتی می‌شود و این فرآیند به واسطه ABCA1 انجام می‌شود. بنابراین ABCA1 علاوه بر اینکه ناقل مهم در چرخه انتقال معکوس کلسترول از دیگر بافت‌ها به کبد است، نقش فعال‌کنندگی AMPK در عضله اسکلتی را ایفا می‌کند که اهمیت زیادی برای هموستاز گلوکز و کاهش قند خون و همچنین افزایش اکسیداسیون چربی‌ها دارد.^{۱۵} که این دلایل می‌تواند علت بیان شدن بیشتر ABCA1 در عضله دوقلو پس از مصرف گرده گل زنبور عسل باشند.

همچنین یافته‌ها نشان داد که تمرین استقامتی شدید باعث کاهش غیر معنادار ABCA1 در عضله دوقلو شده است. در سال‌های اخیر مطالعاتی بر روی تاثیر ورزش بر بیان ژن ABCA1 انجام شده است. آن‌ها نشان دادند تمرین استقامتی باعث افزایش بیان ژن ABCA1 در عضله دوقلو شده است.^۸ عدم همخوانی نتایج پژوهش کنونی با پژوهش Ghanbari ممکن است ناشی از نوع تمرین و روش اندازه‌گیری ژن ABCA1 (Semi Quantitative) باشد. همچنین احتمال دارد که انتقال‌دهنده دیگری مانند ABCG1 (گزارش نشده) فعالیت بیشتری نسبت به ABCA1 در عضله دوقلو پس از تمرینات استقامتی داشته باشد. با توجه به نتایج پژوهش کنونی APOA-1 در عضله اسکلتی بیان نمی‌شود. غلظت پلاسمایی HDL و اصلی‌ترین پروتئین آن یعنی APOA-1 رابطه معکوسی با عوارض بیماری‌های قلبی-عروقی دارند. گزارش‌ها گویای آن است که کاهش APOA-1



نمودار ۱: تغییرات نسبی بیان ABCA1/B-ACTIN عضله دوقلو موش‌های صحرایی نر

نتایج پژوهش کنونی نشان داد بیان ژن ABCA1 عضله دوقلو در گروه تمرین کاهش معنادار و در گروه گرده نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار داشت (نمودار ۱). از طرفی تمرین استقامتی شدید و مصرف گرده گل زنبور عسل هیچ تاثیری در بیان ژن APOA-1 در عضله دوقلو نداشت و این ژن در عضله اسکلتی بیان نشد.

بحث

بر اساس یافته‌های پژوهش کنونی گرده گل زنبور عسل باعث افزایش معنادار در بیان ژن ABCA1 در عضله دوقلو موش‌های صحرایی نر شده است. مطالعات پیشین نشان می‌دهد که گرده گل زنبور عسل اثر مفید بر روی سوخت‌وساز پروتئین‌های عضلات اسکلتی از طریق اثر هم‌افزایی مواد مغذی مختلف مانند لوسین و آنتی‌اکسیدان‌ها دارد.^{۱۳} علاوه بر این برخی از ترکیبات گرده مانند فلاون‌ها در سلول‌های ماهیچه‌ای باعث افزایش بیان ژن و افزایش پروتئین Akt که یک واسطه کلیدی در مسیر سیگنالینگ انسولین است،

افزایش بیان ژن ABCA1 در عضله دوقلو و کاهش وزن در موش‌های صحرایی نر شده است که می‌تواند نقش مهمی در انتقال معکوس کلسترول داشته باشد و از بیماری‌های قلبی-عروقی جلوگیری کند. بنابراین مصرف گرده گل زنبور عسل تاثیر بهتری نسبت به تمرینات استقامتی در بیان ژن ABCA1 در عضله دوقلو و پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی دارد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه با عنوان "اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی و مصرف گرده گل زنبور عسل بر بیان ژن‌های منتخب در بافت‌های کبد، روده کوچک و عضله دوقلو و اسفنگوزین-۱ فسفات بافتی موش‌های صحرایی" در مقطع دکتری فیزیولوژی ورزشی گرایش بیوشیمی و متابولیسم ورزشی در سال ۱۳۹۵ و کد ۱۱۷۶۹۵۳ می‌باشد که با حمایت دانشگاه مازندران اجرا شده است.

در انسان و موش‌ها باعث کاهش سنتز HDL و در نتیجه کاهش انتقال کلسترول از بافت‌ها به کبد و به دنبال آن افزایش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی است.^۷ مطالعات اخیر نشان می‌دهد که APOA-1 علاوه بر نقش آن در انتقال معکوس کلسترول دارای خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. با توجه به اینکه APOA-1 در کبد و روده کوچک بیان می‌شود و در دیگر بافت‌ها بیان نمی‌شود، بنابراین انتشار APOA-1 به عضلات اسکلتی و همکاری آن با ABCA1 باعث بهبود انتقال گلوکز به عضلات اسکلتی و افزایش اکسیداسیون چربی‌ها می‌شود.^{۱۰} به دلیل اینکه عضلات اسکلتی حدود ۴۰٪ از وزن بدن را تشکیل می‌دهند بنابراین جایگاه مناسبی برای اکسیداسیون چربی‌ها و پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد. بر اساس یافته‌های پژوهش استفاده از گرده گل زنبور عسل باعث

References

- Hattori H, Kujiraoka T, Egashira T, Saito E, Fujioka T, Takahashi S, et al. Association of coronary heart disease with pre- β -HDL concentrations in Japanese men. *Clin Chem* 2004;50(3):589-95.
- Drobnik W, Lindenthal B, Lieser B, Ritter M, Weber TC, Liebisch G, et al. ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) affects total body sterol metabolism. *Gastroenterology* 2001;120(5):1203-11.
- Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res* 2005;96(12):1221-32.
- Durstine JL, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, DuBose KD. Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise. *Sports Med* 2001;31(15):1033-62.
- Olchawa B, Kingwell BA, Hoang A, Schneider L, Miyazaki O, Nestel P, et al. Physical fitness and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(6):1087-91.
- Kiliç C, Yagmur Z, Yilmaz K, Kisa Ü. The Effects of exercise and smoking on serum lecithin: cholesterol acyltransferase activity in young men. *Turk J Med Sci* 2000;30(2):161-6.
- Khabazian BM, Ghanbari-Niaki A, Safarzadeh-Golpordesari Ar, Ebrahimi M, Rahbarzadeh F, Abednazari H. Endurance training enhances ABCA1 expression in rat small intestine. *Eur J Appl Physiol* 2009;107(3):351-8.
- Ghanbari-Niaki A. Treadmill exercise training enhances ATP-binding cassette protein-A1 (ABCA1) expression in male rats' heart and gastrocnemius muscles. *Int J Endocrinol Metab* 2010;8(4):206-10.
- Abdullaev F. Plant-Derived Agents Against Cancer: Pharmacology and Therapeutics in the New Millennium. New Delhi: Narosa Publishing House. 2001. P. 345-54.
- Yildiz O, Karahalil F, Can Z, Sahin H, Kolayli S. Total monoamine oxidase (MAO) inhibition by chestnut honey, pollen and propolis. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2014;29(5):690-4.
- Selmanoglu G, Hayretdag S, Kolankaya D, Tüylü ÖA, Sorkun K. The effects of pollen on serum parameters, and liver and kidney tissues of rats. *Pestic Fitomed* 2007;22(1):59-64.
- Salles J, Cardinault N, Patrac V, Berry A, Giraudet C, Collin ML, et al. Bee pollen improves muscle protein and energy metabolism in malnourished old rats through interfering with the Mtor signaling pathway and mitochondrial activity. *Nutrients* 2014;6(12):5500-16.
- Feng XT, Wang TZ, Chen Y, Liu JB, Liu Y, Wang WJ. Pollen Typhae total flavone improves insulin-induced glucose uptake through the β -arrestin-2-mediated signaling in C2C12 myotubes. *Int J Mol Med* 2012;30(4):914-22.
- Biolo G, Fleming RD, Wolfe R. Physiologic hyperinsulinemia stimulates protein synthesis and enhances transport of selected amino acids in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 1995;95(2):811-9.
- Lehti M, Donelan E, Abplanalp W, Al-Massadi O, Habegger K, Weber J, et al. High-density lipoprotein maintains skeletal muscle function by modulating cellular respiration in mice. *Circulation* 2013;128(22):2364-71.

The effect of running with bee pollen on muscle ABCA1 and APOA-1 mRNA expression in rats: *brief report*

Amir Taghipoor Asramy Ph.D.
Student¹

Abbas Ghanbari-Niaki Ph.D.^{1*}

Mehran Naghizadeh Qomi
Ph.D.²

Mohammad Mehdi Moghanny
Bashi Ph.D.³

1- Department of Exercise
Biochemistry, Faculty of Physical
Education and Sport Sciences,
University of Mazandaran,
Babolsar, Iran.

2- Department of Statistics, Faculty
of Mathematics, University of
Mazandaran, Babolsar, Iran.

3- Department of Genetics, Faculty
of Medicine, Kazeroon Branch,
Islamic Azad University, Kazeroon,
Iran.

* Corresponding author: Department of
Exercise Biochemistry, Faculty of Physi-
cal Education and Sport Sciences, Uni-
versity of Mazandaran, Babolsar, Iran.
Tel: +98 11 35302201
E-mail: ghanbara@umz.ac.ir

Abstract

Received: 15 Oct. 2016 Revised: 27 Nov. 2016 Accepted: 18 Dec. 2016 Available online: 19 Dec. 2016

Background: The purpose of the current study was to investigate the effect of a high-intensity running (12 weeks) with bee pollen on gastrocnemius muscle ABCA1 and apoA1 mRNA expression in male rats.

Methods: In the present semi-experimental study, 24 white male Wistar rats aged 8 weeks with an average weight of 90 ± 20 were prepared from the Pasteur Institute of Amol, Iran. The rats were kept in a room with dimensions of 6×5 meters under controlled conditions of light (12 hours light, 12 hours darkness, light began at 6 am, and the darkness began 6 pm), temperature (22 ± 3 °C) and moisture content (about 45%) from November to the end of February 2013. After a week of familiarity with laboratory space and manipulation by human, the rats were divided with simple random sampling into four groups matched by weight: saline-control, bee pollen-control, saline-training and bee pollen-training. Rats were sacrificed 48 h after the last training session. Data were analyzed statistically using two-way ANOVA and a significance level of 0.05.

Results: The results of the present study showed that intense endurance training decreased non-significantly in the gastrocnemius muscle. In addition, the bee pollen caused a significant increase in ABCA1 gene expression in the gastrocnemius muscle of male rats ($P < 0.0001$). while apoA1 not expressed in the gastrocnemius muscle.

Conclusion: The results of this study showed that high-intensity running reduces ABCA1 gene expression is severe. In addition, consumption of bee pollen can increase ABCA1 gene expression in the gastrocnemius muscle. According to the results of the present research, the bee pollen intake is more effective than intense endurance training on ABCA1 gene expression in gastrocnemius muscle of male rats and plays an important role in reverse cholesterol transport.

Keywords: ABCA1, APOA-1, pollen.