اثر یک دوره تمرین باز توانی ترکیبی بر مقادیر پلاسمایی و بیان ژن گرلین PBMNC در بیماران CABG

آرتمیس نقیب‌زاده[۱]، امیر رشید لمیر[۲*]، رامبد خواجه‌ای[۱]، مهدی زارعی[۳]، اکبر صفی‌پور افشار[٤]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه نیشابور، نیشابور، ایران

٤- گروه زیست شناسی، واحد نیشابور، نیشابور، ایران

*مسئول مکاتبات: rashidlamir@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۵ تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۹/۱۰

چکیده

تمرینات باز توانی در بیماران قلبی پس از عمل بای پس شریان کرونر (CABG) موجب بهبود ظرفیت‌های فیزیولوژیکی متعددی می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر هشت هفته تمرین ترکیبی بر مقادیر پلاسمایی و بیان ژن گرلین PBMNC در بیماران CABGبود. در این مطالعه نیمه تجربی، ۳۰ بیمار قلبی بیمارستان تخصصی قلب و عروق جوادالائمه مشهد که عمل جراحی CABG بر روی آن‌ها انجام‌شده بود، به روش نمونه‌گیری در دسترس و هدفمند انتخاب و به‌طور تصادفی در دو گروه مساوی ۱۵ نفری تمرین ترکیبی و کنترل تقسیم شدند. گروه تمرین ترکیبی به مدت هشت هفته و هفته‌ای سه جلسه پروتکل‌های منتخب تمرینی هوازی و مقاومتی را اجرا کردند. قبل و بعد از برنامه تمرینی ارزیابی‌های ترکیب بدنی و نمونه‌گیری خونی جهت سنجش متغیرها انجام شد. سپس، داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از آزمون‌های t وابسته و مستقل در سطح معناداری ۰/۰۵ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. تحلیل داده‌ها نشان داد تمرین ترکیبی باعث کاهش معنادار وزن و شاخص توده بدنی و افزایش معنادار مقادیر گرلین پلاسمایی و بیان نسبی ژن گرلین PBMNC می‌شود. همچنین، بین مقادیر گرلین پلاسمایی و بیان نسبی ژن گرلین PBMNC گروه تمرین با گروه کنترل اختلاف معناداری مشاهده شد. به نظر می‌رسد هشت هفته تمرین باز توانی ترکیبی باعث افزایش مقادیر پلاسمایی و بیان ژن گرلینPBMNC در بیماران CABG می‌شود و می‌تواند باعث ارتقاء سازگاری‌های فیزیولوژیکی مطلوبی در سلامت قلب و عروق شود.

کلمات کلیدی: تمرین ترکیبی، گرلین، بیماران CABG

مقدمه

یکی از پیامدهای سبک زندگی مدرنیسم و کم‌تحرک که در کشورهای درحال‌توسعه و پیشرفته رواج یافته است، افزایش شیوع بیماری‌های قلبی و عروقی است (۲۷). آتروسکلروز یکی از رایج‌ترین بیماری‌های قلبی عروقی است که درنتیجه افزایش رسوب کلسترول، تری گلیسیرید و کلسیم در سرخرگ‌های کرونری به وجود می آید و اگر به پیشروی خود ادامه دهد منجر به انسداد کامل سرخرگ شده و حمله قلبی را به دنبال دارد (۲۷). آترواسکلروز به‌عنوان شایع‌ترین علت ایسکمی میوکارد، همچنان علت قابل‌توجه مرگ‌ومیر

و ناتوانی در جوامع پیشرفته باقی‌مانده است و پیشگویی ها از این حاکی است که تا سال ۲۰۲۰ بیماری های قلبی عروقی و آترواسکلروز به بیشترین علت کل بیماری ها تبدیل خواهند شد (۳). امروزه به‌جز عوامل خطر شناخته‌شده تصلب شرایین عوامل دیگری نیز به‌عنوان عوامل خطر جدید این بیماری مطرح‌شده‌اند که می‌توان به تغییرات هورمونی نیز اشاره کرد (۲٦). در این زمینه تغییرات هورمون هایی مانند گرلین، موردتوجه پژوهشگران قرارگرفته است. گرلین پپتیدی ۲۸ اسیدآمینه‌ای است که به‌طور عمده توسط فوندوس معده ترشح می شود. همچنین، به مقادیر کمتری در مغز، هیپوتالاموس، هیپوفیز، قشر آدرنال، سلول‌های جزایر لانگرهانس پانکراس و بافت های متعدد دیگر نیز مشاهده‌شده است (۲٦). گرلین یک لیگاند درون زای محرک برای گیرنده هورمون رشد بوده که دارای اعمال مختلف شناسایی اندوکرینی، پاراکرینی و اشتها زایی می باشد. تغییرات سطوح گرلین در چند حالت بیماری رخ می‌دهد (٦). برخی مطالعات نشان دادند که گرلین اثرات قلبی- عروقی متفاوتی دارد. گرلین در آزمایشگاه (*in vitro*) آپوپتوز کاردیومیوسیت و سلول‌های اندوتلیال را مهار می‌کند. همچنین اشاره‌شده که گرلین ممکن است با التهاب سیستم قلبی- عروقی مقابله نماید (۲۵). گرلین اثرات وازودیلیشن را به‌وسیله مکانیسم وابسته به اندوتلیوم اعمال می‌کند. همچنین نشان داده‌شده که تزریق گرلین میانگین فشار سرخرگی را بدون تغییر در ضربان قلب کاهش می‌دهد و قابلیت انقباض کاردیاک و عملکرد بطن چپ را در بیماری‌های مزمن قلبی بهبود می‌بخشد و اندازه انفارکتوس را کاهش می‌دهد (٦،۲٦). گزارش‌ها حاکی از آن است که بین سطوح گرلین پلاسمایی و سلامت قلب و عروق، رابطه ی قابل‌ملاحظه‌ای وجود دارد (۲٦). بخش عمده گرلین خون گرلین بدون آسیل است و ارتباط منفی با شاخص توده بدنی دارد (۲٦). گرلین بدون‌آسیل فاقد اثرات اشتهاآوری گرلین آسیل‌دار می‌باشد. همچنین گرلین بدون آسیل موجب کاهش دریافت غذا و تخلیه معده می‌شود و اثرات مثبتی مانند تنظیم تکثیر سلولی، تحریک آدیپوژنز، اثرات قلبی- عروقی و جلوگیری ازآپپتوز (مرگ سلولی) در سلول‌های اندوتلیال و کاردیومیوسیت را دارا می‌باشد (۲٦،٦،۲۵). امروزه درمان بیماری‌های قلبی عروقی، درمان دارویی و رعایت رژیم غذایی می‌باشد ولی بااین‌حال در بسیاری از بیماران جهت برطرف نمودن مشکلات ناشی از این بیماری نیاز به استفاده از روش‌های غیر دارویی مانند جراحی پیوند کرونر عروق بای پس (*CABG*) می‌باشد (۳۰). در بسیاری موارد پیوند عروق کرونر قلب (*CABG*) تنها راه درمان و افزایش طول عمر بیماران می‌باشد. افزایش بیماران کاندید عمل جراحی پیوند عروق کرونر و کم شدن کیفیت زندگی آنان، اهمیت توجه ویژه به بررسی برآیند این‌گونه بیماران پس از جراحی را دوچندان می‌سازد (۳۰). بهروزی فر و همکارانش (۲۰۰۹) عنوان کرده‌اند که درصد مهمی از بیماران پس از جراحی، فعالیت های اجتماعی و تفریحی خود را بازنمی‌یابند و برای بازگشت به کار ناتوان هستند (٤). برایان و همکارانش (۲۰۱٦) در یک مقاله مروری به آثار گرلین در سیستم قلبی عروقی پرداختند (۵). این مقاله گزارش کرد که گرلین سبب تنظیم کلسیم داخل سلولی، مهار آبشار اپوپتوز و محافظت در مقابل استرس اکسیداتیو در سلول های میوکاردیوسیت و اندوتلیال عروق می-گردد. همچنین مشخص شد که گرلین با افزایش توانایی سلول‌های اندوتلیال و میوکاردیوسیت ها از طریق سیگنالینگ های آنابولیکی و بازسازی مانند *mTOR* و *PI3K* از آترواسکلروز و

فشارخون و بیماری‌های گوناگون قلبی و عروقی جلوگیری می‌کند (۵). عقیده بر آن است که از مهم‌ترین اقدامات جهت اثربخشی عمل جراحی قلب و کاهش عوارض آن، توانبخشی قلبی است. برنامه‌های باز توانی به‌منظور بهبود وضعیت روانی اجتماعی بیماران، محدود ساختن اثرات جسمی و روانی بیماری‌های قلبی عروقی، کاهش خطر مرگ ناگهانی یا حمله مجدد قلبی، کنترل علائم ناشی از بیماری عروق کرونر و تثبیت یا معکوس نمودن روند بیماری آترواسکلروز می‌باشد (۲۹). آثار مطلوب تمرینات ورزشی درزمینه کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی در تحقیقات زیادی نشان داده‌شده است (۳۰). در این راستا محققین به بررسی اثربخشی اجرای هم‌زمان تمرینات مقاومتی و استقامتی بر متابولیسم پایه، سازگاری‌های عضلانی و عملکرد قلبی- عروقی، حجم میتوکندری، قدرت، استقامت و همچنین به ارتباط بین کاهش وزن و شاخص توده بدن با تغییرات هورمونی مانند گرلین پرداخته‌اند (۲۹،۳۰). نشان داده‌شده که سطح گرلین با افزایش یا کاهش در شاخص توده بدن تغییر می‌کند (۲۶). همچنین نشان داده‌شده که کاهش وزن ناشی از تمرین و به دنبال آن کاهش شاخص توده بدنی می‌تواند سطح پلاسمایی گرلین را تغییر دهد (۲۸). درواقع تمرین ورزشی ممکن است موجب تعادل منفی انرژی و به دنبال آن ایجاد تغییر در سطح پلاسمایی و سطح بافتی گرلین شود (۲۸). پژوهش‌های انجام‌شده نشان داده‌اند هر دو برنامه تمرینی ترکیبی و هوازی ایمن بوده و موجب بهبود وضعیت عملکردی و کیفیت زندگی بیماران قلبی می‌شوند، اما هنوز اختلاف‌های زیادی در مورد شدت، مدت و نوع برنامه تمرینی بهینه جهت استفاده از مزایای حداکثری این قبیل برنامه‌ها وجود دارد (۸). در حال حاضر بهترین نوع برنامه تمرینی فعالیت ورزشی در جهت بهبود حداکثری ظرفیت‌های فیزیولوژیکی بیماران قلبی پس از عمل جراحی بای پس شریان کرونر نامشخص بوده و معلوم نیست که افزودن تمرین مقاومتی به تمرین هوازی می‌تواند موجب بهبود بیشتر این متغیرها در این بیماران شود یا خیر؟ با توجه به نتایج تحقیقات قبل، اطلاعات متقاعدکننده‌ای تاکنون از تاثیر تمرینات ورزشی بر گرلین چه در افراد سالم و چه در بیماران وجود ندارد. بیشتر متون تحقیقاتی پیشین در رابطه با ورزش به نقش متابولیکی گرلین توجه داشته‌اند، اما باوجود نقش‌های مهم گرلین در زمینه قلبی عروقی، جلوگیری از التهاب، بهبود وضعیت اندوتلیال در بیماران قلبی عروقی، هنوز مکانیسم‌های اثربخشی تمرینات مختلف ورزشی بر کاهش بیماری‌های قلبی- عروقی و تظاهر ژن‌های درگیر در مسیر بهبود بیماران CABG نامشخص است (۶،۲۵،۲۶). بی‌شک جراحی عروق کرونر و درمان آترواسکلروز بسیار هزینه‌بر بوده و باعث خسارت های جانی و مالی بسیاری می گردد، لذا اتخاذ استراتژی های پیشگیرانه در خصوص این بیماری ضروری بوده و نیاز به اطلاعات تحقیقاتی دارد. درمجموع، با توجه به نقش مهم تمرینات توانبخشی در مراحل باز توانی بیماران CABG، این پژوهش قصد دارد در سطح سلولی مولکولی و باهدف شناسایی بهتر و بیشتر مکانیسم های احتمالی ناشی از تمرینات ورزشی در بهبود بیماری و یا کاهش عوامل خطر ثانویه که درنهایت بتواند موجب تأخیر یا کاهش مرگ‌ومیر بیماران CABG شود، اطلاعاتی را عرضه کند. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه اثر یک دوره تمرین ترکیبی بر مقادیر پلاسمایی و بیان ژن گرلین در سلول‌های PBMNC بیماران CABG بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق از نوع کاربردی و نیمه تجربی و با طرح پیش‌آزمون و پس‌آزمون بود که در دو گروه آزمایش و کنترل انجام شد. نمونه آماری این پژوهش را بیماران بیمارستان تخصصی قلب و عروق جوادالائمه مشهد که تحت عمل جراحی بای پس قرارگرفته بودند تشکیل می‌دادند. از میان افراد واجد معیارهای ورود به پژوهش ۳۰ نفر به روش نمونه‌گیری در دسترس و هدف‌دار پس از ارزیابی بالینی توسط پزشک متخصص انتخاب و گزینش شدند. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: محدوده سنی ٤٠ تا ٦٠ سال، گذشتن یک ماه ازCABG، نداشتن فشار خون سیستولیک بیشتر از ١٦٠ میلی‌متر جیوه و دیاستولیک بالاتر از ١٠٠ میلی‌متر جیوه، عدم ابتلا به بیماری‌های حاد و پیشرفته که مانع انجام تمرینات شوند، عدم استفاده از داروهای اعصاب و تأثیرگذار بر روند پژوهش و عدم انجام فعالیت های ورزشی در زمان تحقیق. همچنین شرایط کنار گذاشته شدن از تحقیق عبارت بودند از: بروز آریتمی های بطنی، بالا رفتن یا افتادن قطعه ST درECG بیمار در حین جلسات تمرین، بروز اختلالات تنفسی در حین باز توانی و تمرین و آنژین صدری ناپایدار. پس از شناسایی و انتخاب آزمودنی‌ها با شرایط مدنظر، به‌تمامی افراد توضیحات کاملی در مورد اهداف پژوهش و نحوه انجام آن ارائه شد و پرسشنامه‌های مربوطه تکمیل و درنهایت فرم رضایت‌نامه آگاهانه به‌صورت کتبی توسط تمامی آزمودنی‌ها کامل شد. سپس ۳۰ آزمودنی به شکل تصادفی ساده به دو گروه ۱۵ نفرِ تمرین ترکیبی (استقامتی+ مقاومتی) و کنترل تقسیم شدند. مشخصات کلی آزمودنی‌ها به تفکیک گروه در جدول ۱ ارائه شده است. قبل از شروع پروتکل‌های پژوهش از تمامی آزمودنی‌ها سنجش‌های ترکیب بدنی و نمونه‌گیری خون انجام شد، سپس گروه ترکیبی پروتکل‌های تمرین هوازی و مقاومتی را به مدت هشت هفته انجام داده و گروه کنترل در این مدت تنها پیگیری شدند و درنهایت پس از هشت هفته مجدداً سنجش‌های ترکیب بدنی و نمونه‌گیری خون با شرایط یکسان نسبت به‌پیش آزمون انجام شد. جهت ارزیابی متغیرهای ترکیبی بدنی در این پژوهش، قد آزمودنی‌ها به‌وسیله قد سنج با مارک seca ساخت آلمان و با دقت ۰/۵ سانتی‌متر، وزن به‌وسیله ترازوی دیجیتالی کمپانی Beurer ساخت آلمان و شاخص توده بدنی آزمودنی‌ها از تقسیم وزن به مجذور قد محاسبه شد.

پروتکل تمرین ترکیبی: بر اساس پیشینه پژوهشی، تمرینات مختلف ورزشی بر روی این بیماران موردمطالعه قرارگرفته است و قابل اجرا بودن آن‌ها توسط تیم‌های پزشکی و جراح مورد تائید بوده است (۸،۱۳،۱۸). در این پژوهش بیماران گروه ترکیبی، تمرینات ترکیبی (استقامتی + مقاومتی) را به‌طور هم‌زمان در محل بیمارستان جوادالائمه بخش باز توانی، انجام دادند. برنامه تمرین ترکیبی نیز سه جلسه در هفته به مدت هشت هفته بود که بیمار ابتدا پروتکل تمرین هوازی را انجام می‌داد، سپس به اجرای تمرین مقاومتی می‌پرداخت. برنامه هوازی در هر جلسه به مدت ٦٠ تا ٨٥ دقیقه و با شدت ٦٠ تا ٨٠ درصد ضربان قلب بیشینه با استفاده از سه دستگاه تردمیل، کارسنج دستی و پایی اجرا می‌شد. شدت و مدت‌زمان تمرینات به‌تدریج و بر اساس توانایی افزایش می‌یافت به‌نحوی‌که در ۷ الی ۱۰ جلسه آخر به ۸۰ درصد حداکثر ضربان قلب بیماران می‌رسید. پروتکل تمرین مقاومتی شامل هشت حرکت (اسکات با توپ فیزیوبال، فلکشن شانه، فلکشن هیپ، آبداکشن شانه، آبداکشن هیپ ، فلکشن آرنج ، پلانتار

فلکشن مچ پا، دورسی فلکشن مچ پا) و در سه نوبت انجام شد. حرکات در ابتدا با ۸ تکرار با استفاده از تراباند ضعیف (زردرنگ) شروع شد و در هر جلسه به هر حرکت، ۲ تکرار افزوده شد تا تعداد تکرارهای هر حرکت به ۱۵ تکرار برسد. سپس قدرت تراباند (صورتی‌رنگ) افزایش یافت و به همین خاطر مجدداً حرکات در ابتدا با ۸ تکرار و به‌مرور تا ۱۵ تکرار در جلسات بعدی افزایش یافت. در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرین، بیمار با انجام حرکات کششی و دویدن به گرم کردن و سرد کردن خود می‌پرداخت. در تمام جلسات تمرین، شدت برنامه تمرینی از طریق ضربان قلب و به‌وسیله پایش نوار قلب کنترل می‌شد. تمامی جلسات تمرینی تحت نظارت مستقیم محقق و دو پرستار متخصص باز توانی قلب و با پایش مداوم نوار قلب سه اشتقاقی صورت می‌گرفت و بروز هرگونه دیس آریتمی، فیبریلاسیون بطنی و دهلیزی در پرونده بیمار ثبت و به رؤیت پزشک متخصص می‌رسید.

روش‌های آزمایشگاهی و نمونه‌گیری: ۴۸ ساعت قبل از شروع برنامه و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی از تمامی آزمودنی‌های در حالت ناشتا به میزان ۱۰ سی‌سی از ورید بازویی نمونه‌گیری خونی انجام شد. نمونه‌های خونی و جداسازی مربوط به بیان ژن در لوله‌های آزمایشی با ماده ضدانعقاد EDTA جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. جداسازی منوسیت‌ها با استفاده از فایکول در این مرحله انجام گردید (۱۹). مقادیر پلاسمایی گرلین با روش الایزا و با استفاده از کیتHuman Ghrelin(GH) ELISA Kit اخت شرکت EASTBIOPHARM کشور چین و تحت لیسانس آمریکا سنجش شد. حساسیت کیت ۰/۰۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات درون‌سنجشی کمتر از ۱۰ درصد و ضریب تغییرات درون‌سنجشی کمتر از ۱۲ درصد بود. تخلیص mRNA منوسیت‌ها: منوسیت‌ها را در نیتروژن مایع قرار داده و به‌صورت کامل توسط mortal & pestle خرد گردید و سپس برای به دست آوردن mRNA، در بافر RLT هموژنیزه شد و سپس همراه با نیتروژن مایع، در تیوپ میکروسانتریفیوژ RNase free، 2 میلی‌لیتر ریخته و اجازه داده شد تا نیتروژن مایع تبخیر شود ولی منوسیت از حالت یخ‌زدگی خارج نشود. به میزان کافی بافر RLT اضافه شد. Lysate را مستقیماً به ستون QIAshredder که در تیوپ قرار داشت، منتقل و به مدت ۲ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ prm سانتریفیوژ شد. برای سنتز cDNA 200 نانوگرم mRNA با استفاده از پرایمر اولیگو (dT) و کیت (Fermentas GmbH, St. Leon-Rot) ساخت کشور آلمان مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی بیان نسبی ژن گرلین، mRNA از روش Real-Time-PCR استفاده شد. توالی پرایمرهایی که برای اندازه‌گیری گرلین (۲۰) و بتااکتین (۱۰) مورداستفاده قرار گرفت در جدول ۳ اشاره‌شده است. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با دستگاه BIO RAD(C1000 TM Thermal Cycler) و در پلیت های ۹۶ چاهکی انجام شد. برنامه‌ی زمانی- گرمایی مراحل PCR در جدول ٤ اشاره‌شده است (۹).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت سنجش تعداد کپی‌های ژن هدف و مرجع از روش Pfaffle استفاده شد (۱۷). پس از بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون کلموگروف اسمیرنوف (K-S)، یافته‌های پژوهش با استفاده از آزمون t وابسته و مستقل برای مقایسه پیش‌آزمون و پس‌آزمون درون‌گروهی و برون گروهی مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS در سطح معناداری معادل $p \leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

جدول ۱. مشخصات آزمودنی‌های گروه‌های موردمطالعه

گروه‌ها	سن (سال)	قد (سانتی‌متر)	وزن (کیلوگرم)	شاخص توده بدنی (کیلوگرم/مترمربع)
تمرین	٥٤/٥٨±٦/٤٧	١٧٣/١±٣/١٥	٧٤/٧٥±٦/٦	٢٤/٩٤±١/٨
کنترل	٥٦/١٦±٧/٥	١٧٣/٥±٣/٦٩	٧٦/١٦±٥/٢٣	٢٥/٢٨±١/٣٤

اعداد به‌صورت میانگین± انحراف معیار نوشته‌شده است

جدول ۲. توالی الیگو نوکلئوتیدی پرایمرها

نام ژن	نوع	توالی پرایمرها
Ghrelin	رفت	TTGAGCCCAGAGCACCAGAAA
	برگشت	AGTTGCAGAGGAGGCAGAAGCT
B-Actin	رفت	CCTATGTTCTCAGCAGCTTC
	برگشت	GAATTTCCTGGCTGTCCCTG

جدول ۳. برنامه زمانی گرمایی Real – Time PCR

گامه ها	زمان	دما
مرحله فعالیت آغازی PCR	٥ دقیقه	٩٥ درجه سانتی‌گراد
چرخه‌های گامه دوم		
واسرشت	١٠ ثانیه	٩٥ درجه سانتی گراد
٤٥ چرخه/ ترکیب اتصال و طویل شدن	٣٠ ثانیه	٦٠ درجه سانتیگراد
منحنی ذوب	٦/٥ دقیقه	٥٥ تا ٩٥ درجه سانتی‌گراد

نتایج

با توجه به جدول ٤ نتایج درون‌گروهی نشان داد پس از هشت هفته تمرین ترکیبی مقادیر وزن و شاخص توده بدنی کاهش و مقادیر گرلین پلاسما و بیان نسبی ژن گرلین PBMNC افزایش معناداری نسبت به‌پیش آزمون یافته است (p≤ ٠/٠٥). از طرفی در هیچ‌یک از متغیرها تغییرات معناداری در گروه کنترل مشاهده نشد. علاوه بر این نتایج بین گروهی نشان داد بین مقادیر گرلین پلاسما و بیان نسبی ژن گرلین PBMNC در دو گروه اختلاف معناداری وجود دارد (p≤ ٠/٠٥).

جدول ٤- نتایج آزمون t وابسته و مستقل برای متغیرهای پژوهش در دو گروه

متغیر	گروه	قبل از مداخله (انحراف معیار ± میانگین)	بعد از مداخله (انحراف معیار ± میانگین)	آزمون t وابسته		آزمون t مستقل	
				آماره t	p	آماره t	p
وزن	تمرین	٧٤/٧٥±٦/٦	٧٣/٤٨±٦/٤٤	٤/٥٦	*٠/٠٠١		
(کیلوگرم)	کنترل	٧٦/١٦±٥/٢٣	٧٥/٦٣±٤/٨٥	١/٤٥	٠/١٧٥	١/٥٣	٠/١٢٦
شاخص توده بدنی	تمرین	٢٤/٩٤±١/٨	٢٤/٥٢±١/٨	٤/٥٤	*٠/٠٠١		
(کیلوگرم/مترمربع)	کنترل	٢٥/٢٨±١/٣٤	٢٥/١١±١/٢٧	١/٤٢	٠/١٨٢	١/٦١	٠/١٢٠
گرلین پلاسما	تمرین	٢/٧٧±٠/٩٣	٣/٣٣±٠/٧٧	-٤/٥٨	*٠/٠٠١		
(نانوگرم بر میلی‌لیتر)	کنترل	٢/١٨±١/٠٥	٢/١٦±٠/٨٣	٠/١٥٦	٠/٨٧٩	-٣/٢١	¥٠/٠٠٤
بیان نسبی ژن	تمرین	١±/٠٠	٢/٧٥±١/٠٥	-٥/٧٥	*٠/٠٠١	-٥/٢٧	¥٠/٠٠١
گرلین	کنترل	١±/٠٠	١/٠٩±٠/٢٦	-١/٢٢	٠/٢٤٧		

(*): نشانه اختلاف معناداری درون‌گروهی (¥): نشانه اختلاف معناداری بین گروهی

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد هشت هفته تمرین ترکیبی باعث افزایش مقادیر پلاسمایی گرلین و بیان نسبی ژن گرلین PBMNC در بیماران CABG می‌شود. این نخستین پژوهشی است که تأثیر تمرینات ترکیبی را به‌عنوان بخشی از مراحل باز توانی قلبی بر مقادیر پلاسمایی گرلین و بیان این ژن در مردان میان‌سال CABG ارزیابی کرده است.

اکثر پژوهش‌های انجام‌شده در این حوزه تنها یک شیوه تمرینی (استقامتی یا مقاومتی) را در آزمودنی‌ها و متغیرهای متفاوت از این پژوهش مورد بررسی قرار داده‌اند. در این خصوص احمدی و همکارانش (٢٠١٩) نشان داده‌اند هشت هفته برنامه تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار درصد چربی بدن و نمایه توده بدن و افزایش معنادار بیان ژن گرلین لنفوسیت می‌شود، اما باعث تغییر معناداری در سطح گرلین پلاسما نمی‌شود (٢). این پژوهشگران گزارش کرده‌اند که فعالیت بدنی هوازی منظم می‌تواند به‌عنوان یک درمان غیر دارویی در تنظیم تعادل هورمون‌های پپتیدی مؤثر در شیوع چاقی، استفاده شود. یافته‌های ارائه‌شده توسط فتحی و همکارانش (٢٠٠٩) و نوری و همکارانش (٢٠١٦) در خصوص افزایش مقادیر گرلین پلاسمایی و بیان ژن گرلین پیرو فعالیت ورزشی، هم سو با یافته‌های پژوهش فوق است (٧،١٥)، اما با یافته‌های کیخسروی و همکارانش (٢٠١١) و پرویزی و همکارانش (٢٠١٦) ناهم‌سو است (١٢، ١٦).

فتحی و همکارانش با بررسی تأثیر ١٢ هفته تمرین استقامتی شدید با شدت ٣٤ متر در دقیقه (معادل ٨٥ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، به شکل هر جلسه ٦٠ دقیقه و پنج روز در هفته، بر بیان ژن گرلین عضله و تغییر سطح سرمی آن در موش‌های صحرایی نر به این نتیجه رسیدند که تمرین طولانی‌مدت با شدت بالا موجب افزایش بیان ژن گرلین در عضله دوقلو و افزایش سطح سرمی گرلین می‌شود (٧).

نوری و همکارانش با بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی، به شکل سه جلسه در هر هفته به مدت ٤٥ دقیقه و در هر جلسه با شدتی معادل ٥٠ تا ٦٠ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی در٣٠ مرد به این نتیجه

رسیدند که درصد چربی بدن کاهش، میزان حداکثر اکسیژن مصرفی افزایش و غلظت گرلین به‌طور معناداری افزایش می‌یابد (۱۵).

کیخسروی و همکارانش با بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط به مدت ۵۰ دقیقه با سرعتی معادل ۱۸ الی ۲۰ متر بر دقیقه که روی ۲٤ سر موش انجام دادند به این نتیجه رسیدند که مقادیر گرلین در پایان دوره تغییر معناداری نیافت (۱۲).

قاسمیان و همکارانش با بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین هوازی همراه با مصرف مکمل اسیدفولیک بر سطح هورمون گرلین، میزان غذای مصرفی و تغییرات وزن موش‌های صحرایی ماده ویستار به این نتیجه رسیدند که ۱۲ هفته تمرین هوازی همراه با مصرف اسید فولیک، تأثیری بر میزان گرلین اسیل دار بافت معده ندارد (۱٦). ز دلایل ناهمخوانی دو پژوهش اشاره شده با پژوهش فوق می‌توان به نوع برنامه تمرینی و مؤلفه‌های تمرینی و آزمودنی‌های متفاوت اشاره کرد. به‌طوری‌که در پژوهش‌های اشاره‌شده نوع برنامه تمرینی تنها از نوع هوازی بوده اما در پژوهش فوق ترکیبی از دو نوع تمرین هوازی و مقاومتی اثرگذار بوده است. گزارش‌های پژوهشی مرتبط با بیان ژن گرلین حاکی از آن است که این پپتید در گونه‌های مختلف جانوران در بافت‌هایی مانند آدرنال، کبد، بیضه و عضله بیان می‌شود (۲٦).

در کل درباره آثار تمرین بر بیان ژن گرلین می‌توان گفت شاید پس از فعالیت بدنی، گرلین شروع به افزایش می‌کند تا با سرکوب هزینه‌های انرژی آن، روند کاتابولیسم متعاقب تمرین را متوقف کند و شرایط را برای آنابولیسم فراهم کند. با این کار ذخایر انرژی ازدست‌رفته در فعالیت دوباره کسب می‌شوند و به بازسازی ذخایر کربوهیدرات کمک خواهد شد (۲).

افزایش بیان ژن گرلین را می‌توان با تعادل انرژی منفی ایجادشده مرتبط دانست، زیرا کاهش وزن بدن افراد در گروه تمرین معنادار بوده است و این حاکی از تعادل انرژی منفی تحمیل‌شده براثر ورزش است، چراکه در گروه کنترل چنین تغییری مشاهده نشده است؛ بنابراین، این مطالعه برای اولین بار نشان داد تمرین ترکیبی سبب افزایش تظاهر ژن گرلین PBMNC در بیماران CABG می‌شود. یکی از سازوکارهایی که درباره گرلین می‌توان به آن اشاره کرد، بحث درباره تنظیم متابولیسم انرژی است. بر اساس پژوهش‌های انجام‌شده شرکت در فعالیت بدنی طولانی‌مدت منجر به کاهش مقادیر آدنوزین تری فسفات و گلیکوژن عضله و کبد می‌شود؛ بنابراین، تمرین و فعالیت بدنی، هموستئاز انرژی را در داخل سلول عضلانی بر هم می‌زند و تقاضای انرژی سلول را افزایش می‌دهد. بروز حالت تعادل منفی انرژی می‌تواند ناشی از کاهش مقادیر آدنوزین تری فسفات عضلانی به علت ازدست دادن مداوم پورین‌ها از عضلات آن‌ها باشد که این کاهش احتمالی منابع انرژی سلولی همراه با ناشتایی می‌تواند عاملی مهم برای افزایش گرلین پلاسما در آزمودنی‌ها باشد (۲). مطالعات پیشنهاد می‌نماید که بیشتر بیماران قلبی و بالأخص بیماران تحت جراحی پیوند عروق کرونر به‌منظور افزایش بازده قلبی، پیشگیری از عوارض ناشی از کاهش خون‌رسانی به عضله قلب و تشویق به شروع فعالیت های اجتماعی نیازمند مداخلات باز توانی هستند (۸،۳۰).

باز توانی ورزشی بخش مستمر و جدانشدنی باز توانی قلبی است که هدف اصلی آن بهبود شرایط جسمانی بیمار از طریق افزایش ظرفیت عملکردی است (۱۱). همچنین سازمان بهداشت جهانی، رهایی از علائم

بیماری و بهبود کیفیت زندگی بیماران را هدف باز توانی مدرن عنوان کرده است. (١٤).

رونا و همکارانش(۲۰۱۰)، گزارش کرده‌اند ظرفیت فعالیت ورزشی یا عملکردی، قوی‌ترین پیش‌بینی کننده مرگ‌ومیر ناشی از رویدادهای قلبی است (۲۱). مطالعات گوناگون قلبی- عروقی، ایمنی و اثربخشی تمرین ورزشی هوازی که معمولاً با شدت سبک تا متوسط اجرا می‌شود را ثابت کرده‌اند (۸، ۱۳، ۱۸).

در مطالعه سواسا (۲۰۱۳) کاهش درصد چربی بدن و افزایش قدرت و استقامت عضلانی سالمندان پس از نه ماه تمرین ترکیبی زیادتر از تمرین هوازی مشاهده شد (٢٤).

گائینی و همکارانش با مقایسه هشت هفته تمرین ترکیبی و هوازی بر ظرفیت عملکردی، ترکیب بدن و قدرت بیماران قلبی پس از عمل بای پس شریان کرونر گزارش کرده‌اند که هر دو برنامه تمرینی ترکیبی (هوازی + مقاومتی) و تمرین هوازی به‌تنهایی می‌توانند موجب بهبود ظرفیت عملکردی بیماران قلبی پس از عمل بای پس شریان کرونر شوند. بااین‌حال، تمرین ترکیبی نسبت به تمرین هوازی در بهبود ظرفیت عملکردی (آمادگی قلبی عروقی) و قدرت مؤثرتر است (۸).

طی مطالعه‌ای که شعبانی و همکارانش (۱۳۹۱) بر روی بیماران قلبی انجام دادند، پس از هشت هفته برنامه نوتوانی قلب، افزایش معناداری در میزان حداکثر اکسیژن مصرفی به همراه افزایش در میزان قدم زدن در آزمون شش دقیقه مشاهده شد و برنامه باز توانی موجب تأثیرات متنوعی در بهبود وضعیت جسمانی و روانی-اجتماعی بیماران گردید (۲۲). نظر رایج و متداول این است که احتمالاً تمرینات ورزشی مقاومتی به همراه تمرینات هوازی تأثیرات بیشتری بر بیماران داشته و می توان از آن به‌عنوان درمان مکمل و یا حتی جایگزین در افرادی که قادر به انجام تمرینات سخت هوازی نیستند، استفاده کرد (۸).

در مطالعه‌ای که توسط شکراله نیا روشن و همکارانش (۱۳۹۲) بر روی بیمارانی که یک تا دو ماه از انجام عمل عروق کرونری آن‌ها گذشته بود انجام شد، نتایج نشان داد تمرینات قدرتی و برنامه باز توانی قلبی می‌تواند در بهبود رفتار هومورئولوژی خون و وضعیت عروق محیطی این بیماران مؤثر باشد (۲۳). همچنین آدامز و همکارانش (۲۰۰۸)، نشان داده‌اند که تمرین ورزشی در برنامه های باز توانی قلبی، منجر به پیشرفت معناداری در حجم ورزش و میزان ارزشیابی پیش آگهی خطرات در بیماران با بیماری قلبی می شود (۱).

با حفظ این خط سیر فکری، برایان و همکارانش در پژوهشی به بررسی میزان ارتباط گرلین و سیستم قلب و عروق پرداختند و عنوان کرده‌اند که گرلین پپتیدی است که به‌طور عمده از معده ترشح می‌گردد. این هورمون یک محرک قوی ترشح هورمون رشد از غده هیپوفیز است و به‌عنوان یک تنظیم‌کننده متابولیسم و اشتها شناخته‌شده است (۵). همچنین یک ارتباط قوی بین گرلین و سیستم قلبی و عروقی وجود دارد. رسپتورهای گرلین در تمام سلول‌های قلبی و عروق مشاهده شده است و با سیگنالینگ‌های مولکولی متعددی مرتبط است؛ مانند تنظیم غلظت کلسیم داخل سلولی، مهار آبشارهای آپوپتوزی و در مقابل آسیب‌های سلولی محافظت سلولی را بر عهده دارد. نشان داده‌شده است که گرلین اثرات نیرومندی بر سیستم قلبی عروقی مانند افزایش عملکرد عروق و اندوتلیال، ممانعت از آترواسکلروز، مهار تضعیف سیستم عصبی و کاهش فشارخون دارد. بعد از انفارکتوس قلبی، تزریق اگزوژن (تزریق بیرونی) گرلین، عملکرد قلب را حفظ می‌کند، آریتمی کشنده

را کاهش داده، آپوپتوز را تضعیف کرده و بازسازی بطنی را افزایش می‌دهد که منجر به بهبود مشکلات قلبی می‌گردد (۵).

گرلین سبب بهبود کاشکسی (بی‌اشتهایی و کاهش وزن شدید) در بیماران قلبی شده و اثرات مفیدی در فشارخون ریوی را نشان می‌دهد. بااین‌وجود، از انجایی که کشف گرلین نسبتاً جدید می‌باشد، تحقیقات زیادی نیاز است تا اثرات کلینیکی آن به‌طور کامل در بیماری قلبی عروقی مشخص گردد (٦، ٢٥، ٢٦).

با توجه به اینکه اغلب پژوهش‌های صورت پذیرفته در ارتباط با تغییرات گرلین و بروز آن در افراد چاق یا لاغر بوده و کمتر در بیماران CABG به بررسی آن پرداخته‌شده است، محقق به منظور تعیین تأثیر گرلین بر سیستم قلبی و عروقی و تغییرات آن پیرو فعالیت ورزشی در این بیماران، بر آن شد تا به بررسی تأثیر تمرین ترکیبی بر مقادیر پلاسمایی و بیان ژن گرلین در سطح سولی بپردازد و نتیجه اینکه انجام فعالیت‌های ورزشی ترکیبی به سبب تغییرات فیزیولوژیکی می‌تواند از عوامل مؤثر بر تغییرات گرلین پلاسمایی و بیان ژن گرلین در سلول‌های PBMN در بیماران CABG باشد. نظر به اینکه تغییر این‌گونه متغیرها به‌شدت، مدت تمرین و وضعیت آمادگی جسمانی و سلامتی افراد بستگی دارد، به مربیان و پزشکان ورزشی پیشنهاد می‌شود به هنگام طراحی تمرینات ورزشی تدابیر لازم را اتخاذ کرده و عوامل فوق را در نظر بگیرند. با این یافته‌ها و نتایج مطالعات پیشین، شناخت مکانیسم‌های اصلی عهده‌دار ارتباط متقابل گرلین و سیستم قلبی عروقی در بیماران CABG و نقش فعالیت بدنی بر آن‌ها به انجام مطالعات بیشتری در این زمینه نیازمند است تا اطاعات بیشتری نمایان شود.

نتیجه‌گیری

درمجموع نتایج این مطالعه نشان داد هشت هفته تمرین باز توانی ترکیبی با افزایش مقادیر پلاسمایی و بیان ژن گرلین PBMNC در بیماران CABG می‌تواند باعث ارتقاء سازگاری‌های فیزیولوژیکی مطلوبی در سلامت قلب و عروق شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تمامی آزمودنی‌ها و کلیه کارکنان بیمارستان تخصصی قلب و عروق جوادالائمه مشهد و همه عوامل اجرایی مطالعه حاضر به دلیل همکاری مؤثر در طول این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Adams B.J., carr J.G., Ozonoff A., Lauer M.S., Balady G.j., 2008. Effect of exercise training in supervised cardiac rehabilitation programs on prognostic variables from the exercise tolerance test. *AMcardiol*, 101(10):1403-1407.

2. Ahmadi S.M., Fathi M., RashidLamir A., Aminian F., 2019. Effects of 8 Weeks Aerobic Training on Plasma Ghrelin Level and Ghrelin Lymphocyte Gene Expression in Elderly Men. *Iranian Journal of Ageing*, 13(4):494-505.

3. Barrington W.T., Lusis A.J., 2017. Atherosclerosis: Association between the gut microbiome and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*, 14(12):699-700.

4. Behrouzifar S., Zenouzi S., Nezafati M., Esmaili H.F., 2009. Actors affecting the Patients quality of life after coronary artery bypass graft. *Iran J Nurs*, 22(57):31-41.

5. Brian M., Lilleness, M.D., William H., Frishman, M.D., 2016. Gherlin and the Cardiovascular System.Cardiology in review, 228-279.

ghrelin of obese male rats. *Researcher in Sport Science Quarterly*, 2(1):18-25.

13.Khajei R., Haghighi A. H., Hamedinia M., Rashid Lamir A., 2017. Effects of Eight Week Aerobic Training on Monocytes ABCG5 Gene Expression in Middle-Aged Men after Heart Bypass Surgery. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 24(1):79-88.

14.Lie I., Arnesen H., Sandvik L., 2010. Predictors for physical and mental health 6 months after coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiovasc Nurs*, 9(4): 238-43.

15.Nuri R., Moghaddasi M., Darvishi H., Izadpanah A., 2016. Effect of aerobic exercise on leptin and ghrelin in patients with colorectal cancer.*Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(1):169-74.

16.Parvizi A., Ghasemnian A., Rahmani A., 2016. Effect of 12 weeks aerobic exercise for along with folic acid supplementation on the levels of the ghrelin hormone amount of food intake and weight changes of female Wistar rats. *Armaghan-e Danesh*, 21(8):746-56.

17.Pfaffl M.W., 2001. A new mathematic model for relative quantification in real-time RT- PCR. *Nucleic Acids Research*, 29(900): 2003-2007.

18.Polock M.L., Franklin B.A., Balady G.J., chaitman B.L., fleg J.L., Fletcher B., 2000. Resistance Exercise in Individuals with and without cardio vascular Disease.*Circulation*, 101:828-833.

19.Rashidlamir A., Ghanbari-Niaki A., Saadatnia A., 2011. The Effect of Eight Weeks of Wrestling and Wrestling Technique Based Circuit Training on Lymphocyte ABCA1 Gene Expression and Plasma Apolipoprotein A-I. *World Journal of Sport Sciences*, 4(2): 144-150.

20.Rashidlamir A., 2012. Investigation of the Effect of Aerobic and Resistance Exercises on Peripheral Blood

6. Ezquerro S., Frühbeck G., Rodríguez A., 2017. Ghrelin and autophagy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 20(5):402-408.

7. Fathi R., Ghanbari-Niaki A., Rahbarizadeh F., Hedayati MA., Ghahramanloo E., 2009. The effect of exercise on plasma acylated ghrelin concentrations and gastrocnemius muscle mRNA expression in male rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(5):519-26.

8. Gaeini A.A., Sattarifard S., CafiZadeh S., Nejatian M.,.2013. The comparison of eight weeks of combined and aerobic training on functional capacity, body composition and strength in post-coronary artery bypass graft cardiac patients. *Cardiovascular Nursing Journal*, 2(1):34-41.

9. Ghanbari-Niaki A., Ghanbari-Abarghooi S., Gholizadeh M., 2015. Heart ATP-Binding Cassette protein A1and G1, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-α and Liver X Receptors Genes Expression in Response to intensive Treadmill Running and Red Crataegus pentaegyna (Sorkh valik) in Male Rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 7(2):29-33.

10.Heimerl S., Langmann T., Moehle C., Mauerer R., Dean M., Beil F-U,. 2002. Mutations in the Human ATP-Binding Cassette Transporters ABCG5and ABCG8 in Sitosterolemia. *Human Mutation Mutation in Brief*, 8(2):21-34.

11.Karapolat H., Demir E., Bozkaya T., 2009.Comparison of hospital-based versus home- based exercise training in patients with heart failure: Effects on functional capacity, quality of life, psychological symptoms, and hemodynamic parameters. *Clin Res Cardiol*, 98(10): 635-642.

12.Keikhosravi F., Shah H.M., Daryanoush F., Hosseini S.A., Noura M., Hasanpour G., 2011. The effect of eight weeks moderate Intensity aerobic training on obestatin and

Mononuclear Cells ABCG1 Gene Expression in Female Athletes. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 20 (1) :1-9

21.Rona R., 2010. Exercise Capacity Is the Most Powerful Predictor of 2-Year Mortality in Patients with Left Ventricular Systolic Dysfunction. *Herz*, 35(2):104-110.

22.Shabani R., Mozaffari M., Heidari Moghadam R., Shirmohamadi T., Vafaee R., 2013. Effect of cardiac rehabilitation program on quality of life in patients with myocardial infarction in Hamadan. *Research in Medicine*, 36 (5) :117-122

23.Shokrallahnia-Roshan A., Sadeghi H., Shirani S., Nejatian M., 2013. Effects of Strength Training and Cardiac Rehabilitation Programs on the Biomechanical Parameters of Blood Flow Velocity and Blood Flow Rate and Its Relation With Arterial Stiffness Index in Brachial and Femoral Arteries with Coronary Artery Bypass Grafting Patients (CABG). *jrehab*., 14 (2) :38-45

24.Sousa F.N., Mendes R., 2013. A randomized 9-month study of blood pressure and body fat responses to aerobic training versus combined aerobic and resistance training in older men. *Exp Gerontol*, 48(8):727-33.

25.Stoyanova I.I., 2014. Ghrelin: a link between ageing, metabolism and neurodegenerative disorders. *Neurobiol Dis*, 72:72-83.

26.Tokudome T., Otani K., Miyazato M., Kangawa K., 2019. Ghrelin and the heart. Peptides, 111:42-46.

27.Torres N., Guevara-Cruz M., Velázquez-Villegas L.A., Tovar A.R., 2015. Nutrition and Atherosclerosis. Arch Med Res, 46(5):408-26.

28.Virdis A., Lerman L.O., Regoli F., Ghiadoni L., Lerman A., Taddei S., 2016. Human Ghrelin: A Gastric Hormone with Cardiovascular Properties. *Curr Pharm Des*, 22(1):52-8.

29.Yang X., Li Y., Ren X., Xiong X., Wu L., Li J., Wang J., Gao Y., Shang H., Xing Y., 2017. Effects of exercise-based cardiac rehabilitation in patients after percutaneous coronary intervention: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep*, 7:44789.

30.Zhang H., Chang R., 2019. Effects of Exercise after Percutaneous Coronary Intervention on Cardiac Function and Cardiovascular Adverse Events in Patients with Coronary Heart Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Sports Sci Med*, 18(2):213-22.