Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

Original Article

The effect of continued and interval training with crocin consumption on BDNF and NGF gene expression in heart tissue of diabetic rats

Razavi SH[1], Hosseini SA[2*], Nikbakht M[3]

1- Department of Sport Physiology, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, I. R. Iran.
2- Department of Sport Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, I. R. Iran.
3- Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Ahwaz, Ahwaz, I. R. Iran.

Received: 2018/12/10 | Accepted: 2019/01/13

Abstract:

Background: Diabetes in the long run causes damage to the heart tissue. The aim of the present study was to examine the effect of continued and interval training along with crocin consumption on BDNF and NGF gene expression in a heart tissue of diabetic rats.
Materials and Methods: In this experimental study, 49 diabetic rats were divided into 7 groups: interval training, continued training, interval training + crocin, continued training + crocin, crocin, sham and control. Continued training and interval training groups ran on a treadmill for eight weeks, three sessions per week, with intensity rates of 80%-85% and 50%-55% of the maximum running speed, respectively. The crocin groups received 25 mg/kg crocin daily for eight weeks.
Results: Interval training and continued training + crocin significantly increased BDNF levels (P=0.001). Continued training + crocin increased BDNF levels more than those of continued training, crocin, interval training, and interval training + crocin groups (P=0.001). Also, continued training + crocin significantly increased NGF (P=0.001) and continued training + crocin increased NGF more than continued training, crocin, interval training, and interval training + crocin group (P=0.001).
Conclusion: Continued training with crocin has a more significant effect on increase of neurotrophins expression compared to continued training, interval training, crocin and interval training + crocin groups in a heart tissue of diabetic rats.

Keywords: Interval Training, Continued Training, Crocin, BDNF, NGF, Diabetes

***Corresponding Author:**
Email: alihoseini_57@miau.ac.ir
Tel: 0098 917 302 7100
Fax: 0098 714 331 1172

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2019; Vol. 23, No 1, Pages 10-19

Please cite this article as: Razavi SH, Hosseini SA, Nikbakht M. The effect of continued and interval training with crocin consumption on BDNF and NGF gene expression in heart tissue of diabetic rats. ***Feyz*** 2019; 23(1): 10-9.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

اثر تمرین تداومی و تناوبی همراه با مصرف کروسین بر بیان ژن‌های BDNF و NGF در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی

سید هادی رضوی[۱]، سید علی حسینی[۲*]، مسعود نیک بخت[۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: دیابت در درازمدت موجب آسیب بافت قلب می‌گردد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین تداومی و تناوبی همراه با کروسین بر بیان ژن‌های BDNF و NGF در بافت قلب موش‌های دیابتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ٤٩ سر موش دیابتی در گروه‌های تمرین تناوبی، تمرین تداومی، تمرین تناوبی+کروسین، تمرین تداومی+کروسین، کروسین، شم و کنترل تقسیم شدند. گروه‌های تمرین تناوبی و تداومی به‌مدت ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته به‌ترتیب با شدت ۸۵-۸۰ و ۵۵-۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن روی نوارگردان دویدند و گروه‌های کروسین به‌مدت ۸ هفته روزانه ۲۵ mg/kg کروسین دریافت کردند.

نتایج: تمرین تناوبی و تمرین تداومی+کروسین اثر معنی‌داری بر افزایش BDNF داشت (P=۰/۰۰۱). تمرین تداومی+کروسین در مقایسه با تمرین تداومی، کروسین، تمرین تناوبی و تمرین تناوبی+کروسین اثر بیشتری بر افزایش BDNF داشت (P=۰/۰۰۱). همچنین، تمرین تداومی+کروسین اثر معنی‌داری بر افزایش NGF داشت (P=۰/۰۰۱) و تمرین تداومی+کروسین نسبت به تمرین تداومی، کروسین، تمرین تناوبی و تمرین تناوبی+کروسین اثر بیشتری بر افزایش NGF داشت (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: تمرین تداومی همراه با دریافت کروسین نسبت به تمرین تداومی، تمرین تناوبی، کروسین و تمرین تناوبی همراه با کروسین دارای اثرات بیشتری در افزایش بیان نوروتروفین‌ها در بافت قلب موش‌های دیابتی می‌باشد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی، تمرین تداومی، کروسین، BDNF، NGF، دیابت

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۱، فروردین- اردیبهشت ۹۸، صفحات ۱۹-۱۰

مقدمه

بیماری دیابت نوعی سندروم متابولیک است که با هیپر-گلیسمی، کاهش حساسیت به انسولین و افزایش مقاومت به انسولین مشخص می‌شود [۱]. بیماری‌های قلبی- عروقی یکی از عوامل مهم مرگ‌ومیر در افراد مبتلا به دیابت گزارش شده است [۲]. هم‌چنین، بیماری دیابت می‌تواند منجر به اختلالات نورونی شده و بخش‌های مختلف سیستم عصبی اعم از اعصاب محیطی و اتونوم را تحت تاثیر قرار دهد [۳]. انفارکتوس میوکارد به‌عنوان یکی از خطرات بیماری دیابت با بیش‌فعال کردن سیستم عصبی سمپاتیک، افزایش پاسخ‌های التهابی و فعال شدن آنژیوتانسین-۲ و افزایش بیان گیرنده نوع ۱ آنژیوتنسین-۲ در سلول‌های بطن چپ، به مرگ کاردیومیوسیت‌ها، فیبروز شدن پیش‌رونده و نقص در عملکرد بطن چپ منجر می‌شود [٤].

نوروتروفین‌ها به‌واسطه اعمال متعدد بیولوژیکی که دارند عامل مهمی در سلامت و بیماری شناخته می‌شوند [۵]. در حقیقت دیابت با آسیب به نورون‌ها و سلول‌های شوان موجب تغییراتی در سطوح بیان و سنتز عوامل رشدی در سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌شود [٦]. به‌طوری‌که گزارش شده است در موش‌های صحرایی دیابتی سطوح فاکتور رشد عصبی (NGF) در اندام‌های عصب رسانی شده با عصب سمپاتیک [۷] و سطوح سرمی عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) [٦] کاهش می‌یابد. نقش فعالیت بدنی و ورزش در بهبود فعالیت متابولیکی به‌خوبی شناخته شده است [۸]. در رابطه با تاثیر ورزش بر سطوح BDNF و NGF نتایج متناقضی گزارش شده است. به‌عنوان مثال، اسلامی و همکاران نشان داده‌اند ٦ هفته تمرین استقامتی موجب جبران کاهش بیان ژن BDNF در ریشه‌های حسی عصب سیاتیک موش‌های صحرایی دیابتی می‌گردد [۹]. هم‌چنین، Lee و همکاران بیان کرده‌اند تمرینات ورزشی موجب جلوگیری از کاهش بیان BDNF و کلسیم کالمودولین کیناز-۲ (CaMKII)، تیروزین کیناز B (TrkB) و پروتئین کیناز فعال شده توسط آدنوزین مونو-فسفات (AMPK) در بافت قلب متعاقب آنفارکتوس قلبی می‌گردد [۱۰]. تمرینات بلندمدت استقامتی موجب افزایش بیان BDNF در بافت‌های قلب و کبد موش‌های صحرایی جوان و

[۱] دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

[۲] دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

[۳] دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اهواز، اهواز، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**

مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، گروه فیزیولوژی ورزشی

تلفن: ۰۹۱۷۳۰۲۷۱۰۰ **دورنویس:** ۰۷۱۴۳۳۱۱۱۷۲

پست الکترونیک: alihoseini_57@miau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۱۹ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۷/۱۰/۲۳

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

سالمند می‌گردد؛ بااین‌وجود، تمرینات بلندمدت استقامتی در موش‌های صحرایی جوان تمرین کرده نسبت به موش‌های صحرایی سالمند اثر بیشتری بر افزایش بیان ژن BDNF دارد [۱۱]. هم‌چنین، ۸ هفته تمرین استقامتی اثر معنی‌داری بر افزایش سطوح BDNF در مردان چاق و سالم داشته و تغییری در سطوح NGF ایجاد نکرده است [۱۲]. باتوجه به نتایج متناقض در رابطه با تاثیر فعالیت‌های ورزشی بر سطوح نوروتروفین‌ها، به‌نظر می‌رسد جهت درمان و یا کنترل بیماری دیابت روش‌های درمانی مختلفی مانند استفاده از گیاهان دارویی در کنار اصلاح شیوه زندگی کم-تحرک بیماران دیابتی اهمیت ویژه‌ای دارد [۱۳]. امروزه در دنیا به-دلایل مختلف محبوبیت طب گیاهی افزایش یافته است [۱٤]. کروسین‌ها که گلیکوزیدهایی متشکل از کاروتنوییدها و قندها هستند، به‌عنوان مسئول رنگ زعفران محسوب می‌شوند [۱٦،۱۵]. محققین معتقدند زعفران و مواد تشکیل دهنده آن می‌توانند از طریق افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها اثرات ضددیابتی و تنظیم متابولیکی خود را القا کنند [۱۷،۱٤]. در این راستا فرشید و همکاران بیان نموده‌اند که دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش‌های صحرایی کروسین اثر معنی‌داری بر بهبود موج‌های قلبی و آنتی‌اکسیدان‌های سرمی در موش‌های صحرایی دیابتی دارد [۱۷]. هم‌چنین، نشان داده شده است که مصرف کروسین موجب افزایش بیان ژن BDNF و VGF در بافت مخچه موش‌های صحرایی سالم [۱۸] و مسموم شده با مالاتیون [۱۹] می-شود. با توجه به مطالب ذکر شده، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرینات تداومی و تناوبی همراه با مصرف کروسین بر بیان ژن-های BDNF و NGF در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تجربی ابتدا ٤۹ سر موش صحرایی نژاد اسپراگوداولی با سن ۸ هفته و محدوده وزنی۳۰±۱۵۰ گرم از مرکز تکثیر و خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت خریداری شد. پس از انتقال به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانات، در شرایطی استاندارد با دمای محیطی ۲۲ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ درصد و نور کنترل شده (چرخه ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی) نگهداری شده و دوره سازش‌پذیری ۷ روزه را طی کردند. دسترسی حیوانات به آب و غذا در طول دوره آزاد بود. در پژوهش حاضر برای القای دیابت نوع ۲ از ترکیب رژیم غذایی پرچرب و تزریق داروی استروپتوزتوسین (STZ) استفاده شد. برای این منظور تمامی موش‌های صحرایی به‌مدت ۸ هفته تحت رژیم غذایی در دسترس پرچرب (شامل ٤۵ درصد انرژی کل از چربی (مشتق از روغن حیوانی) حاوی ۲٤ گرم چربی، ۲٤ گرم پروتئین و ٤۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم) قرار گرفتند [۲۰]. پس از آن، القای دیابت با تزریق تک دوز STZ حل شده در بافر سدیم سیترات با pH=۵/٤ به مقدار ۳۰ mg/kg به روش درون‌صفاقی انجام شد [۲۰]. برای تایید دیابت ۹٦ ساعت پس از تزریق موش‌های صحرایی دارای سطوح گلوکز بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان نمونه تحقیق انتخاب شدند [۲۰]. موش‌های صحرایی به ۷ گروه ۷ سری شامل (۱) تمرین تناوبی، (۲) تمرین تداومی، (۳) تمرین تناوبی و مصرف کروسین، (٤) تمرین تداومی و مصرف کروسین، (۵) مصرف کروسین، (٦) شم و (۷) گروه کنترل تقسیم شدند. جهت برآورد حداکثر سرعت دویدن، آزمون عملکرد ورزشی مدرج با شیب صفر درجه اجرا شد. بدین‌منظور، ابتدا دویدن موش‌های صحرایی با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز شد و در ادامه، سرعت نوارگردان به‌ازای هر ۱ دقیقه یک متر بر دقیقه اضافه شد. این روند تا وقتی ادامه داشت که موش‌های صحرایی دیگر قادر به دویدن نباشند (واماندگی) [۲۰]. پس از برآورد سرعت گروه‌های ۱ و ۳ به‌مدت ۸ هفته، سه جلسه در هفته با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت به‌مدت ۲ دقیقه و دوره‌های استراحتی فعال یک دقیقه تمرین کردند. تمرینات تناوبی از ٦ وهله تمرینی در هفته اول به ۱۲ وهله تمرینی در هفته آخر رسید. گروه‌های ۲ و ٤ نیز به مدت ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته با شدت ۵۰ تا ۵۵ درصد حداکثر دویدن به تمرین پرداختند. تمرینات تداومی به‌گونه‌ای بود که مدت زمان تمرین در هفته اول از ۲۵ دقیقه شروع شده و در هفته آخر به ۵۰ دقیقه رسید. این نکته قابل ذکر است که حجم کل فعالیت ورزشی (شدت، مدت و تکرار) بین دو گروه تمرین تداومی و تمرین تناوبی هم‌سان شد [۲۰]. همچنین، گروه‌های ۳، ٤ و ۵ روزانه ۲۵ mg/kg کروسین (حل شده در نرمال سالین) به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند [۲۱]. جهت کنترل تاثیرات تزریق بر متغیرهای تحقیق، گروه شم حلال کروسین را روزانه به‌صورت درون صفاقی دریافت می-کردند. بیست‌وچهار ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در پایان هفته هشتم، موش‌ها جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه تحت جراحی قرار گرفتند. موش‌های صحرایی به‌وسیله کتامین ۱۰ درصد (با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلوزین ۲ درصد (با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) پس از حدود ۵ دقیقه بیهوش می‌شدند. سپس، بافت قلب آنها توسط متخصصین استخراج شده و پس از قرار دادن در کرایوتیوب در نیتروژن مایع قرار داده شدند و برای بررسی‌های بعدی در دمای ۷۰- درجه

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج RNA براساس دستورالعمل کیت استخراج RNA ساخت شرکت یکتاتجهیز، با استفاده از محلول‌های کیت استخراج و پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده انجام شد. برای این منظور، پس از کوبیدن در آونگ استریل، ۳۰ میلی‌گرم بافت قلب درون تیوب ۱/۵ قرار داده شد. اولین مرحله برای استخراج RNA از سلول‌های حیوانی از بین بردن دیواره سلول‌ها با کمک یک بافر لیز کننده (RB Buffer) می‌باشد. ۳۵۰µl از RB Buffer به نمونه (رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه شد (از قبل به ازای هر ۱ میلی‌لیتر ۱۰ میکرولیتر mercaptoethanol به بافر اضافه شده بود) و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد Filter Column درون Collection Tube قرار گرفت و مخلوط نمونه به Filter Column انتقال داده شد و با دور RPM ۱٤۰۰۰ به‌مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ محلول روشن از Collection Tube به یک تیوب میکروسانتریفیوژ جدید انتقال یافت. سپس، هم‌حجم آن یعنی ۳۵۰µl اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه گردید و به‌خوبی ورتکس شد. RB Mini Column درون Collection Tube قرار گرفت و نمونه‌ای را که اتانول به آن اضافه شده بود به RB Mini Column انتقال یافت و با سرعت RPM ۱٤۰۰۰ به‌مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در مرحله بعد ۵۰۰µl از Wash Buffer1 به RB Mini Column اضافه گردید و با سرعت RPM ۱٤۰۰۰ به‌مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در ادامه RB Mini Column با ۷۵۰µl از Wash Buffer2 با سرعت RPM ۱٤۰۰۰ به‌مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. این مرحله دوبار تکرار شد و سپس به‌مدت ۳ دقیقه با سرعت RPM ۱٤۰۰۰ سانتریفیوژ انجام شد. سپس، RB Mini Column درون Elution Tube قرار داده شد و ۵۰µl از RNase-free ddH2O به RB Mini Column اضافه شد و ۱ دقیقه به آن زمان داده شد و بعد از ۱ دقیقه به‌مدت ۲ دقیقه با سرعت RPM ۱٤۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. محلول درون Elution Tube، RNA های استخراج شده بود که در ۷۰- نگهداری شدند. سنتز cDNA طبق دستورالعمل موجود در کیت فرمنتاز (K1622) انجام شد. واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid™M-MuLV Reverse trans-criptas صورت گرفت. هنگام تهیه cDNA از نمونه خالص شده، پس از مشاهده جذب، ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته شد و سپس ۰/۵ میکرولیتر Random Hexamers (الیگودئوکسی ریبو نوکلوتید که به‌عنوان یک پرایمر برای شروع سنتز cDNA استفاده می‌شود)، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر dT oligo و سپس تا حجم ۱۲ میکرولیتر آب موجود در کیت اضافه گردید و به دمای ٦۵ درجه به‌مدت ۵ دقیقه منتقل گردید و سپس به‌مدت ۲ دقیقه روی یخ قرار گرفت. در مرحله بعد ٤ µl از 5X Reaction Buffer و ۲ µl از dNTP Mix و ۱ µl از RiboLock RNase Inhibitor و۱ µl از RevertAid RT به ترکیب قبل که برای ۵ دقیقه در دمای ٦۵ قرار گرفته بود، اضافه شد. سپس، ترکیب به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از آن به‌مدت ٦۰ دقیقه در دمای ٤۲ درجه قرار گرفت. در آخر به‌منظور از کار افتادن آنزیم RT، تیوب‌های واکنش به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد قرار داده شد. cDNA آماده شده جهت انجام RT-PCR مورد استفاده قرار گرفت یا جهت نگهداری به فریزر ۲۰- درجه منتقل گردید. پس از بهینه‌سازی واکنش، cDNA مربوط به گروه-های مورد آزمایش تحت واکنش RT-PCR قرار گرفتند. اصول انجام RT-PCR مشابه PCR معمولی بود؛ با این تفاوت که به-جای MasterMix معمولی از MasterMix حاوی سایبرگرین (تاکارا) استفاده گردید. دمای اتصال برای همه پرایمرها ٦۰ C درجه بود. توالی پرایمرهای مورد استفاده نیز در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای NGF و BDNF

ژن	رفت (´۵ -´۳)	برگشت (´۵ -´۳)	سایز محصول (bp)
B2m	CGTGCTTGCCATTCAGAAA	ATATACATCGGTCTCGGTGG	۲٤٤
BDNF	CTGCAGAGGATGATTGCTGA	GATCAGCTCGGGCACTTTAG	۱۷٤
NGF	ATCGCTCTGTGGATGACTGAGTAC	AGAGACAGCCAGGAGAAATCAAAC	۱۳٤

پس از اتمام فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشر فلورسانس با محاسبه $\Delta\Delta C_t$ میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به B2m و حالت کنترل که فاقد محیط‌های تمایزی است، سنجیده شد. و سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان آن محاسبه گردید:

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

$$\Delta C_t = C_{t\ interets} - C_{t\ GAPDH}$$

$$\Delta\Delta C_t = \Delta C_{t\ Treat} - \Delta C_{t\ Un\ Treat}$$

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیروویلک و همچنین جهت تجزیه‌وتحلیل یافته‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک-طرفه همراه با مقایسه میانگین‌های بنفرونی در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد ($P\leq$۰/۰۵).

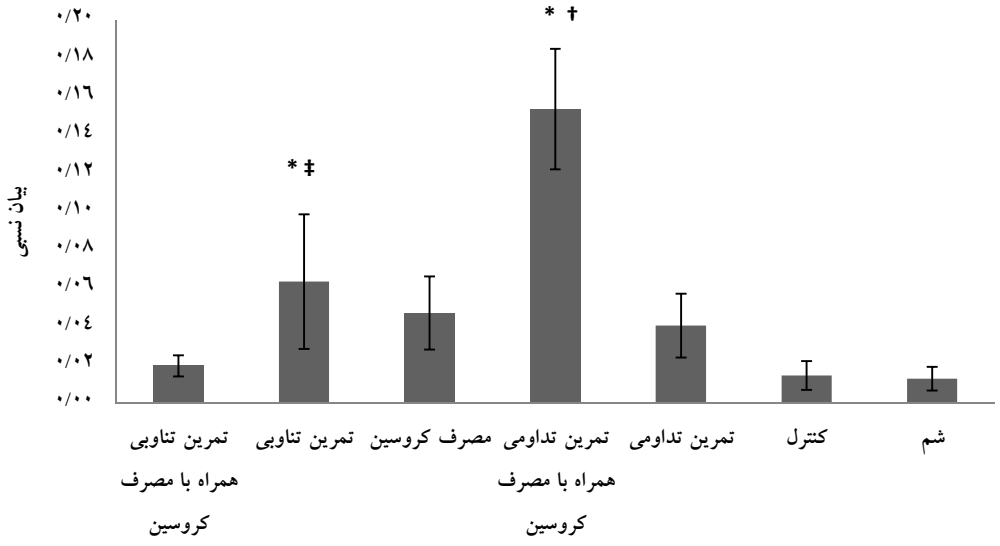
نتایج

سطوح پیش و پس‌آزمون وزن موش‌های صحرایی در جدول شماره ۲ و سطوح بیان ژنی BDNF و NGF موش‌های صحرایی در شکل‌های شماره ۱ و ۲ گزارش شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطوح بیان ژنی BDNF (P=۰/۰۰۱ و F=۳٦/۸۱۰)، بیان ژنی NGF (P=۰/۰۰۱ و F= ۷/۵۸۷) و وزن (P=۰/۰۰۱ و F=۱۹/۸۳٤) موش‌های صحرایی گروه‌های هفت‌گانه تحقیق وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد سطوح بیان ژنی BDNF در گروه شم به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۱) است؛ همچنین، سطوح بیان ژنی BDNF در گروه کنترل به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۱) بود؛ به‌علاوه، سطوح بیان ژنی BDNF در گروه تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه تمرین تداومی (P=۰/۰۰۱)، مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱)، تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) بود و سطوح بیان ژنی BDNF در گروه تمرین تناوبی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین بود (P=۰/۰۰۵). نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد سطوح بیان ژنی NGF در گروه شم به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین است (P=۰/۰۰۱)؛ همچنین، سطوح بیان ژنی NGF در گروه کنترل به-طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین بود (P=۰/۰۰۱) و سطوح بیان ژنی NGF در گروه تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه تمرین تداومی (P=۰/۰۰۱)، مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱)، تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) بود. نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد وزن در گروه‌های تمرین تداومی (P=۰/۰۰۱)، تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱)، تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شم کاهش یافت؛ همچنین، وزن در گروه‌های تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت؛ وزن در گروه تمرین تداومی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه مصرف کروسین کاهش یافت (P=۰/۰۲)؛ وزن در گروه تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین نسبت به گروه مصرف کروسین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P=۰/۰۰۱) و وزن در گروه تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه مصرف کروسین (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۱) کاهش یافت.

جدول شماره ۲- سطوح وزن پیش و پس‌آزمون موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق

متغیر گروه	وزن پیش‌آزمون (گرم)	وزن پس‌آزمون (گرم)
کنترل	۳۸٤/٦٤±٤۱/۱۵	٤۲۰/۸۸±۵۰/۷۳
شم	۳۹۰/۵۹±۳٤/۵٦	٤۰۹/٦۲±۳٦/۸۸
تمرین تداومی	۳۷۸/۱۲±۲۷/۰۹	۳۵۲/۱۱±۱٤/۰۲
تمرین تداومی و مصرف کروسین	۳۹٤/۸۸±۲۰/۹۵	۳۵٤/۲۲±۱٤/۷۹
مصرف کروسین	۳٤۵/۲۵±۳۵/۹۹	۳٦٤/۱۲±۱۰/٦۹
تمرین تناوبی	۳٦۰/٤٤±۱۰/۷۱	۳٤۲/۱۲±۳٦/۰۱
تمرین تناوبی و مصرف کروسین	٤۱۰/٤۷±۲۵/۲۰	۳۲۹/٤۱±۳۷/۹۳

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

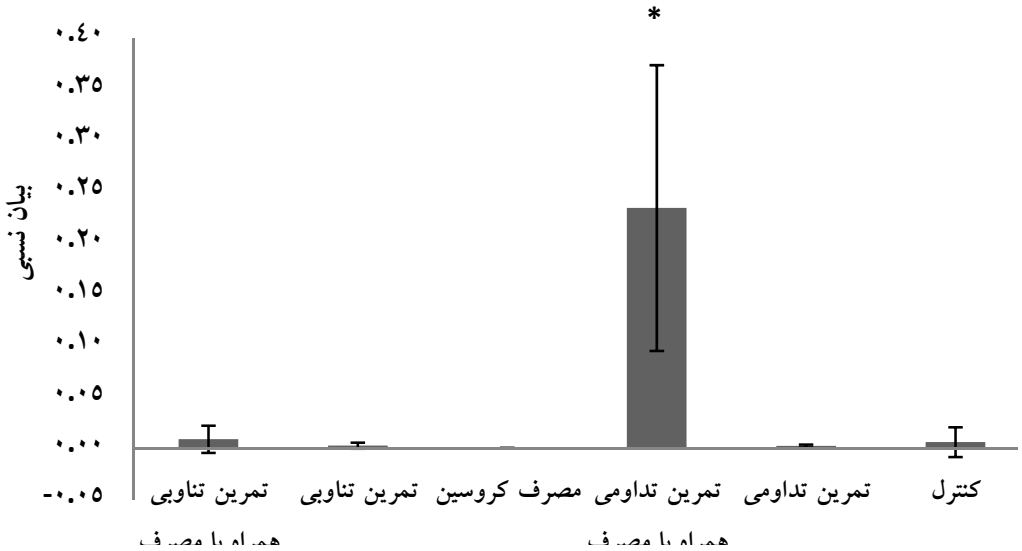


شکل شماره ۱- بیان ژن BDNF در گروه‌های هفت‌گانه تحقیق

* افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل و شم

† افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های تمرین تداومی، تمرین تناوبی، مصرف کروسین، و تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین

‡ افزایش معنی‌دار نسبت به گروه تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین



شکل شماره ۲- بیان ژن NGF در گروه‌های هفت‌گانه تحقیق

* افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های شم، کنترل، تمرین تداومی، تمرین تناوبی، مصرف کروسین، و تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمرین تناوبی اثر معنی‌داری بر افزایش بیان ژن BDNF موش‌های صحرایی دیابتی دارد و این در حالی است که اثر معنی‌داری بر NGF و وزن ندارد. همچنین، تمرین تداومی اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های BDNF و NGF و وزن موش‌های صحرایی دیابتی ندارد. احتمالا تخریب سلول‌های شوان متعاقب ابتلا به دیابت ارتباط معنی‌داری با کاهش NGF و پیش‌برد آسیب سیستم عصبی سمپاتیک دارد [۲۲]. اطلاعات جمع‌آوری شده از مدل‌های حیوانی دیابت نشان می‌دهد کمبود و نقص عوامل نروتروفیکی و گیرنده‌های آنها در پیشرفت نوروپاتی دیابت دخیل هستند [۲۳]. با پیشروی بیماری دیابت، بیان عامل پیش‌التهابی مانند عامل نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) توسط ماکروفاژها در سلول‌ها افزایش می‌یابد. در ادامه MAPK با فسفوریلاسیون گیرنده cAMP که یک عامل شناخته شده برای

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

تنظیم بیان ژنی BDNF است، موجب فعال سازی اگزون IV (متوقف کننده سنتز پروتئین BDNF) می‌گردد [۲٤]. Hang و همکاران عنوان کرده‌اند که BDNF موجب جلوگیری از آپوپتوز و بهبود آنزیوژنز در سلول‌های میوکارد مدل‌های حیوانی ایسکمی قلبی می‌گردد [۲۵]. مطالعات زیادی برای بررسی تاثیر ورزش بر BDNF و NGF انجام شده است؛ علی‌رغم تلاش‌های بسیار محقق در مطالعه حاضر موفق به یافتن مطالعه‌ای که به بررسی تاثیر ورزش بر NGF در بافت قلب نگردید، ولی معدود مطالعاتی به بررسی BDNF در بافت قلب و عضله اسکلتی موش‌های صحرایی پرداخته بودند. به‌عنوان مثال، حسینی و همکاران نشان دادند شش هفته، پنج جلسه در هفته تمرین شنا موجب افزایش سطوح NGF در بافت مغز موش‌های صحرایی مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس می‌گردد [۲٦]. از دلایل ناهم‌سو بودن یافته‌های مطالعه حسینی و همکاران با مطالعه حاضر را می‌توان تفاوت در شدت و نوع تمرینات و همچنین تفاوت در نمونه آماری و نوع بافت مورد ارزیابی بیان نمود. صالحی و حسینی نشان دادند هشت هفته، سه جلسه در هفته تمرین استقامتی با شدت‌های متوسط و بالا اثر معنی‌داری بر افزایش BDNF موش‌های صحرایی دیابتی دارد [٦]. Lee و همکاران نیز بیان کردند ۱۲ هفته، سه جلسه در هفته تمرین استقامتی با شدت ۵۰ تا ٦۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و هر جلسه ٤۰ تا ٦۰ دقیقه موجب افزایش معنی‌دار BDNF نوجوانان چاق دیابتی می‌گردد [۲۷]. اوصالی و مصطفوی نیز گزارش نمودند هشت هفته، سه جلسه در هفته تمرین تناوبی با شدت ٦۵ تا ۷۵ درصد ضربان قلب ذخیره‌ای موجب افزایش سطوح سرمی BDNF در مردان مبتلا به سندروم متابولیک می‌گردد [۲۸]. با این وجود، در پژوهش وسدی و همکاران و زر و همکاران نشان داده شد فعالیت‌های ورزشی با مدت زمان‌های ٤، ٦ و ۸ هفته اثر معنی‌داری بر BDNF ندارد [۳۰،۲۹] و یا اینکه در پژوهش پرنو و همکاران و بابایی و همکاران نشان داده شد فعالیت‌های ورزشی منجر به کاهش BDNF می‌گردد [۳۲،۳۱]. به نظر می‌رسد افزایش گیرنده‌های BDNF و NGF (Trk-B و Trk-A) توسط مسیر سیگنالی MAPK و Ras می‌گردد [٦]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد مصرف کروسین اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های BDNF و NGF و وزن موش‌های صحرایی دیابتی ندارد. مطالعه‌ای یافت نشد که به بررسی اثر مصرف کروسین بر BDNF و NGF به‌ویژه به‌طور اختصاصی در بافت قلب پرداخته باشد. با این وجود، درّی و همکاران نشان دادند که ١٤ روز مصرف ۱۰، ۲۰ و ٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کروسین موجب افزایش معنی‌دار بیان میکرو-RNAهای BDNF و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدان موش‌های صحرایی در معرض مالاتیون می‌گردد [۳۳]. رضایی و همکاران گزارش نمودند دریافت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کروسین اثر معنی‌داری بر افزایش بیان BDNF و CREB در سیستم عصبی مرکزی موش‌های صحرایی تیمار شده با مورفین دارد [۳٤]. و Lei و همکاران بیان کردند دریافت ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کروسین موجب بهبود بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش بیان NF-Kb، اینترلوکین- ٦، TNF-α، افزایش سیترات سنتاز و افزایش بیان میوزین با زنجیره سنگین در موش‌های صحرایی مبتلا به استئوآرتریت می‌گردد [۳۵]. مواد تشکیل دهنده زعفران مانند کروسین و کروستین می‌توانند موجب مهار کلسترول تام، لیپو-پروتئین‌های کم‌چگال، مالون دی آلدئید، افزایش ضخامت لایه اینتمال آئورت و سطح نیتریک اکساید گردند [۳٦]. همچنین، کروسین می‌تواند منجر به افزایش در سطوح mRNA پروتئین متصل به گیرنده آدنوزین مونو فسفات حلقوی (CREB) و متعاقبا افزایش BDNF، VGF و NGF گردد [۳۷]. به‌نظر می‌رسد کروسین می‌تواند بیشتر این اثرات را از طریق مسیرهای آنتی-اکسیدانی پایه‌ریزی کند [۳٦]. با این وجود، مصرف کروسین در مطالعه حاضر اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های BDNF و NGF در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نداشت. به‌نظر می‌رسد مکانیسم اثرات نوروتروفیک کروسین در بافت قلب هنوز به‌طور کامل شناخته نشده باشد. در مطالعه حاضر تمرین تداومی هم‌زمان با مصرف کروسین اثر معنی‌داری بر افزایش بیان ژن‌های BDNF و NGF و کاهش وزن موش‌های صحرایی دیابتی داشت. این احتمال وجود دارد که در این تحقیق تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین توانسته‌اند از مسیر کاهش التهاب، کاهش ماکرو-فاژها، فسفوریلاسیون گیرنده‌های cAMP [۲٤]، MAPK و Ras [٦] و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی [۳۵] اثر تعاملی در افزایش بیان ژن‌های BDNF و NGF در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی داشته باشند. مطالعاتی در رابطه با اثر مصرف هم‌زمان زعفران و مواد تشکیل دهنده آن با فعالیت‌های ورزشی انجام شده است؛ به-عنوان مثال خسروی و همکاران نشان دادند مصرف زعفران و هشت هفته تمرین هوازی نسبت به هشت هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره زعفران به طور مجزا اثر بیشتر و معنی‌داری بر تعدیل افزایش تروپونین T قلبی، به‌عنوان یکی از نشان‌گرهای آسیب قلبی، و کراتین کیناز سرم در موش‌های صحرایی متعاقب یک جلسه فعالیت ورزشی وامانده‌ساز دارد [۳۸] همچنین، فاضل و شیبک نشان دادند تمرینات هوازی و مصرف عصاره آبی زعفران دارای اثر بیشتری بر افزایش سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش مالون دی آلدئید نسبت به تمرین هوازی و

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

مصرف عصاره زعفران به‌تنهایی در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت دارد [۳۹]. عدم وجود اطلاعات کافی در مورد تاثیر تمرین استقامتی و مصرف زعفران و مواد تشکیل‌دهنده آن بر خانواده نوروتروفین‌ها در بافت قلب یکی از محدودیت‌های تحقیقات حاضر به‌نظر می‌رسد. همچنین، عدم اندازه‌گیری عملکرد سیستم عصبی-قلبی و یا بررسی موج‌های قلبی در موش‌های صحرایی یکی دیگر از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشد. همچنین، پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی در کنار اندازه‌گیری BDNF و NGF، به‌طور مجزا مسیر سیگنالی هریک نیز مورد ارزیابی قرار گرفته تا اطلاعاتی در این زمینه به‌دست آیند. با توجه به افزایش NGF متعاقب تمرین تداومی و مصرف کروسین به‌نظر می‌رسد شدت تمرین، مدت زمان و دوز مصرفی کروسین عاملی اثرگذار بر تغییرات این عامل در بافت قلب باشد. بنابراین، پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی شدت تمرین تداومی و دوز مصرفی کروسین تغییر کند تا اطلاعات بیشتری در این زمینه حاصل شود.

نتیجه‌گیری

اگرچه در مطالعه حاضر مصرف کروسین اثر معنی‌داری بر افزایش بیان ژن‌های BDNF و NGF موش‌های صحرایی دیابتی نداشت، با این وجود، تمرین تناوبی منجر به افزایش بیان ژن BDNF گردید و تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین منجر به افزایش بیان ژن‌های BDNF و NGF موش‌های صحرایی دیابتی شد. لذا، به‌نظر می‌رسد تمرین تداومی همراه با مصرف کروسین نسبت به تمرین تداومی، تمرین تناوبی، مصرف کروسین و تمرین تناوبی همراه با مصرف کروسین دارای اثرات بیشتری در بهبود خانواده نوروتروفین‌ها در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل پایان‌نامه مقطع دکتری مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر می‌باشد. بدین‌وسیله، از کمک‌های معنوی معاونت پژوهشی این واحد تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

[1] Chawla A, Chawla R, Jaggi S. Microvasular and macrovascular complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum?. ***Indian J Endocrinol Metab*** 2016; 20(4): 546-51.

[2] Papadaki M, Holewinski RJ, Previs SB, Martin TG, Stachowski MJ, Li A, at al. Diabetes with heart failure increases methylglyoxal modifications in the sarcomere, which inhibit function. ***JCI Insight*** 2018; 3(20): e121264.

[3] Dabagh Nikookheslat S, Sarisarraf V, Salekzamani Y, Abdollahpour Alni M, Fathollahi SA. Effect of 12 weeks resistance training on neural conduction in type 2 diabetes men with peripheral neuropathy. ***Urmia Med J*** 2017; 28(5): 353-62.

[4] Lee HW, Ahmad M, Wang HW, Leenen FH. Effects of exercise training on brain-derived neurotrophic factor in skeletal muscle and heart of rats post myocardial infarction. ***Experiment Physiol*** 2017; 102(3): 314-28.

[5] Yanev S, Aloe L, Fiore M, Chaldakov GN. Neurotrophic and metabotrophic potential of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor: Linking cardiometabolic and neuropsychiatric diseases. ***World J Pharm*** 2013; 2 (4): 92-9.

[6] Salehi OR, Hoseini A. The effects of endurance trainings on serum BDNF and insulin levels in streptozotocin- induced diabetic rats. ***Shefaye Khatam*** 2017; 5(2): 52-61. [in Persian]

[7] Eslami R, Sorkhkamanzadeh G, Kazemi A, Gharakhanlou R, Banaifar A. Effect of 6-week endurance training on bdnf expression in motor root of spinal cord in rats with diabetic neuropathy. ***Mazandaran Med Sci Univ J*** 2015; 25(124): 94-110.

[8] Hosseini S, Zar A, Ghasemi A, Khoradmehr O, Farkhaie F. Hypoglycemic interactional effects of Coriandrum Sativum extract and endurance training in diabetic rats. ***Iran J Nutr Sci Food Tech*** 2018; 13(2): 21-30. [in Persian]

[9] Eslami R, Sorkhkamanzadeh G, Gharakhanlou R, Kazemi A, Banaifar A. Effect of 6-weeks endurance training on BDNF expression in sensory spinal cord of rats with diabetic neuropathy. ***J Mazandaran Univ Med Sci*** 2016; 7(28): 131-46. [in Persian]

[10] Lee HW, Ahmad M, Weldrick JJ, Wang HW, Burgon PG, Leenen FH. Effects of exercise training and TrkB blockade on cardiac function and BDNF-TrkB signaling post myocardial infarction in rats. ***Am J Physiol Heart Circul Physiol*** 2018; 10: 1152.

[11] Belviranl M, Okudan N. Exercise training increases cardiac, hepatic and circulating levels of brain-derived neurotrophic factor and irisin in young and aged rats. ***Horm Mol Biol Clin Investig*** 2018; 36(3).

[12] Roh HT, So WY. The effects of aerobic exercise training on oxidant-antioxidant balance, neurotrophic factor levels, and blood–brain barrier function in obese and non-obese men. ***J Sport Health Sci*** 2016; 6(4): 447-53.

[13] Hoseini A, Zar A, Mansouri A. Effect of Aloe vera with swimming training on the alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase levels of

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019

diabetic rats. ***Iran J Nutr Sci Food Technol*** 2016; 11(4): 29-38.

[14] Hosseini SA, Nikbakht H, Azarbayjani MA. The effect of aqua extract of saffron with resistance training on glycemic indexes of streptozotocin induced diabetic tats. ***Armaghane-danesh*** 2014; 18(4): 284-94. [in Persian]

[15] Mohajeri D, Mousavi G, Doustar Y. Anti-hyperglycemic and pancreas-protective effects of crocus sativus L. (Saffron) stigma ethanolic extract on rat with alloxan-induced diabetes. ***J Biol Sci*** 2009; 9(4): 302-10.

[16] Adibfar E, Hoseini S, Salehi O, Farkhaie F, Shah Hosseini P. Lipid lowering effects of aqueous saffron extract in diabetic rats. ***Rep Health Care*** 2016; 2(3): 9-14.

[17] Farshid AA, Tamaddonfard E, Moradi-Arzeloo M, Mirzakhani N. The effects of crocin, insulin and their co-administration on the heart function and pathology in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Avicenna J Phytomed*** 2016; 6(6): 658-70.

[18] Razavi BM, Sadeghi M, Abnous K, Vahdati Hasani F, Hosseinzadeh H. Study of the role of CREB, BDNF, and VGF neuropeptide in long term antidepressant activity of crocin in the rat cerebellum. ***Iran J Pharm Res*** 2017; 16(4): 1452-62.

[19] Dorri SA, Hosseinzadeh H, Abnous K, Hasani FV, Robati RY, Razavi BM. Involvement of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on malathion induced depressive-like behavior in subacute exposure and protective effects of crocin. ***Iran J Basic Med Sci*** 2015; 18(10): 958-66.

[20] Khalafi M, Shabkhiz F, Azali Alamdari K, Bakhtiyari A. Irisin response to two types of exercise training in type 2 diabetic male rats. ***AMUJ*** 2016; 19(6): 37- 45.

[21] Salahshoor MR, Khashiadeh M, Roshankhah S, Kakabaraei S, Jalili C. Protective effect of crocin on liver toxicity induced by morphine. ***Res Pharm Sci*** 2016; 11(2): 120-29.

[22] Eslami R, Sorkhkamanzadeh G, Gharakhanlou R, Kazemi A, Banaifar A. The effect of 6 weeks endurance training on BDNF expression in sensory spinal cord of rats with diabetic neuropathy. ***Sport Physiol*** 2016; 7(28): 131-46. [in Persian]

[23] Dakhili A, Gharakhanlou R, Movaheddin M, Khazani A, Keshavarz M. The effect of 6 weeks endurance training on gene expression of nerve growth factor in sensory spinal cord of rats with diabetic neuropathy. ***Iran J Diabetes Metab*** 2014; 13(3): 263-71.

[24] Bałkowiec-Iskra E, Vermehren-Schmaedick A, Balkowiec A. Tumor necrosis factor-α increases brain-derived neurotrophic factor expression in trigeminal ganglion neurons in an activity-dependent manner. ***Neuroscience*** 2011; 180(28): 322- 33.

[25] Hang P, Zhao J, Cai B, Tian S, Huang W, Guo J, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates TRPC3/6 channels and protects against myocardial infarction in rodents. ***Int J Biol Sci*** 2015; 11(5): 536- 45.

[26] Hosseini H, Fallahmohammadi Z, Valizadegan F. The effect of swimming exercise with injection of vitamin D supplementation on the levels of nerve growth factor (NGF) in the brain tissue of female rats with experimental autoimmune encephalitis. ***J Urmia Univ Med Sci*** 2017; 28(1): 64-73. [in Persian]

[27] Lee SS, Yoo JH, Kang S, Woo JH, Shin KO, Kim KB, et al. The effects of 12 weeks regular aerobic exercise on brain-derived neurotrophic factor and inflammatory factors in juvenile obesity and type 2 diabetes mellitus. ***J Phys Ther Sci*** 2014; 26(8): 1199-204 .

[28] Osali A, Mostafavi H. The effect of six months aerobic exercise with moderate intensity on BDNF, IL-6, and short-term memory in 50-65 years old women with syndrome metabolic. ***Yafte*** 2017; 19(4): 88-101.

[29] Vosadi E, Barzegar H, Borjianfard M. The effect of endurance training and high-fat diet in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the male adult rat hippocampus. ***Arak Med Sci Univ J*** 2014; 16(10): 84-92. [in Persian]

[30] Zar A, Hosseini SA, Amir Hosseini SA, Siavashi N. The effects of eight weeks of endurance training on BDNF, insulin and insulin resistance in rats. ***Armaghane danesh*** 2016; 21(3): 238-48. [in Persian]

[31] Parno A, Karimi A, Hosseini A. The effect of resistance training on plasma levels of brain derived neurotrophic factor levels in rats. ***J Knowledge Health*** 2015; 10(3): 9- 15. [in Persian]

[32] Babaei P, Damirchi A, Azali Alamdari K. Effects of endurance training and detraining on serum BDNF and memory performance in middle aged males with metabolic syndrome. ***Iran J Endocrin Metab*** 2013; 15(2): 132-42. [in Persian]

[33] Dorri SA, Hosseinzadeh H, Abnous K, Hasani FV, Robati RY, Razavi BM. Involvement of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on malathion induced depressive-like behavior in subacute exposure and protective effects of crocin. ***Iran J Basic Med Sci*** 2015; 18(10): 958.

[34] Rezai M, Mahmoodi M, Kaeidi A, Karimabad MN, Khoshdel A, Hajizadeh MR. Effect of crocin carotenoid on BDNF and CREB gene expression in brain ventral tegmental area of morphine treated rats. ***Asian Pac J Trop Biomed*** 2018; 8(8): 387-93.

[35] Lei M, Guo C, Hua L, Xue S, Yu D, Zhang C, et al. Crocin attenuates joint pain and muscle dysfunction in osteoarthritis rat. ***Inflammation*** 2017; 40(6): 2086-93.

[36] Milajerdi A, Mahmoudi M. Review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to nervous system, cardiovascular and gastrointestinal diseases. ***Clin Exc*** 2014; 3(1): 108- 27.

[37] Razavi BM, Sadeghi M, Abnous K, Vahdati Hasani F, Hosseinzadeh H. Study of the role of CREB, BDNF, and VGF neuropeptide in long term antidepressant activity of crocin in the rat cerebellum. ***Iran J Pharm Res*** 2017; 16(4): 1452-62.
[38] Khosravi A, Omid Ali F. The effect of saffron stigmas aqueous extracts on serum cardiac troponin T and Creatine kinase MB Isoenzyme of male rats following an exhaustive exercise. ***J Arak Uni Med Sci*** 2018; 21(2): 43-54. [in Persian]
[39] Fazel Kalkhoran J, Shibak A. Effect of four weeks HIT on the levels of GH, IGFBP-3, IGF-1 and serum cortisol and some performance indicators in iran women national basketball team. ***J Sport Biosci*** 2013; 5(4): 1-19.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 21:29 +0430 on Tuesday September 17th 2019