Feyz Medical Sciences Journal
2025, Volume 29, Issue 6
Pages: 566-577
Doi: 10.48307/FMSJ.2025.29.6.3
Original Article

The effect of aerobic exercise combined with electrical stimulation on the expression of caspase-3 and caspase-9 genes in the muscle tissue of obese rats with caloric restriction

Hasan Sharifi [1], Mohammad Malekipooya [2*], Mehdi Roozbahani [3], Mehdi Moradi [2], Mojtaba Khansooz [2]

[1] Department of Exercise Physiology, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran
[2] Department of Exercise Physiology, Ar.C., Islamic Azad University, Arak, Iran
[3] Departement of Motor Behavior, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran

[*]**Corresponding author: Mohammad Malekipooya,** Department of Exercise Physiology, Ar.C., Islamic Azad University, Arak, Iran
Email: Mo.malekipooya@iau.ac

Received: 7 August 2025 **Revised:** 25 October 2025 **Accepted:** 25 October 2025

Abstract

Background and Aim: High-fat diets can lead to cellular dysfunction, mitochondrial damage, and activation of apoptotic pathways. Conversely, interventions such as aerobic exercise and muscle electrical stimulation may mitigate apoptosis by inducing cellular adaptations. This study investigated the separate and combined effects of a period of aerobic exercise and electrical stimulation on the expression of caspase-3 and caspase-9 genes in the skeletal muscle of obese rats under caloric restriction.

Methods: In this experimental study, 50 male Wistar rats were randomly divided into five groups of ten: 1) Aerobic exercise, 2) Electrical stimulation, 3) Aerobic exercise combined with electrical stimulation, 4) Obese control with caloric restriction, and 5) Obese control without caloric restriction. Obesity was induced using a high-calorie diet (consisting of peanuts, milk chocolate, and sweet biscuits in a 2:2:1:3 ratio). The aerobic exercise protocol was conducted for four weeks, five sessions per week, each lasting 60 minutes at 55–60% of VO_2max. Electrical stimulation was applied for 20 minutes daily. The expression of caspase-3 and caspase-9 genes was measured using real-time PCR. Data were analyzed using two-way analysis of variance (ANOVA).

Results: The combination of aerobic exercise and electrical stimulation resulted in a significant reduction in caspase-3 gene expression compared to the aerobic exercise, electrical stimulation, caloric-restricted control, and non-restricted control groups ($P < 0.0001$). Regarding caspase-9, a significant increase was observed in the combined group compared to the electrical stimulation, caloric-restricted control, and non-restricted control groups ($P < 0.0001$).

Conclusion: Aerobic exercise and electrical stimulation appear to exert distinct effects on the expression of caspase-3 and caspase-9 in the skeletal muscle of obese rats, both individually and in combination. These findings suggest that the combined intervention may have the most pronounced modulatory effect on key apoptotic markers, potentially providing a suitable framework for regulating caspase protease activity.

Keywords: Aerobic exercise, Electrical stimulation, Caspase-3, Caspase-9, Obesity

Copyright© 2025. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://feyz.kaums.ac.ir/

Extended Abstract

Background and Objective

Obesity is a global crisis and a significant public health concern, the prevalence of which is continuously increasing. Obesity is characterized by excess fat storage and a body mass index of 30 kg/m^2 or higher. Evidence suggests that the positive caloric balance in the body, which leads to obesity, in contrast to the negative caloric balance (caloric restriction), is associated with an increase in oxidative stress or a decrease in the body's antioxidant capacity [3,4]. The results of studies have shown that inflammation and cell stress cause the activation of inflammatory caspases on the other side of the main pathway to increase the mitochondrial-dependent apoptosis of caspases, which is done by the release of cytochrome C [6]. Caspase reactions in the internal pathway are activated by pro-caspase 9 and caspase 9, which initiates apoptosis [7,8]. Active caspase 9 activates executive caspases such as caspase 3 [9,10]. On the other hand, caspase 3 inhibition can reduce apoptosis and cell death [9]. It has been reported that high-fat diets increase caspase 3 and apoptosis [11]. Apoptosis is a type of reversible programmed cell death and a cellular protective process characterized by irreversible DNA fragmentation [9]. Today, various strategies have been proposed to overcome the increase in obesity and its related problems, such as performing regular sports activities and using calorie-restricted diets, or using both methods at the same time [14]. Recent evidence shows that sports training may influence some of the signaling pathways related to apoptosis [15]. However, results regarding the effect of exercise on apoptosis are contradictory, with some studies reporting an increase [16], a decrease [17], or no significant change [18]. Studies have shown that Electrical Stimulation (ES) is a non-invasive method that is easy to use and can be used similarly to voluntary exercise, improving muscle function and attenuating sarcopenia induced by inactivity [22]. In one study, it was demonstrated that four weeks of electrical stimulation applied for one hour to rat muscle decreased caspase 12 expression [23]. The combined effects of aerobic exercise and electrical stimulation under calorie restriction remain unclear and no study has specifically investigated apoptotic gene expression in obese subjects undergoing calorie restriction. Therefore, the present study aimed to examine the effects of an aerobic training course combined with electrical stimulation on the expression of caspase 3 and caspase 9 genes in the muscle tissue of obese rats with calorie restriction.

Methods

In this experimental study, 50 Neranjad Wistar rats, 8-10 weeks old, weighing 240±45 g, were kept in the laboratory for two weeks under controlled conditions of 22±2°C, 12 hours of light and 12 hours of darkness, and 50±5 humidity prior to the intervention. Then, the rats were randomly divided into five groups of 10 animals including a moderate intensity aerobic exercise group (MIT), an electrical stimulation group (ES), an aerobic exercise-electrical stimulation group (MIT.ES), a calorie-restricted control group (FA; fasting), and a control group without calorie restriction (CO). The groups (except the control groups) participated in the intervention protocol for 4 weeks. Animals were fed during fasting according to the natural diet of 10 g per 100 g of body weight for 30 days and based on weekly weighing (with a standard scale). From the beginning of the training program, the groups were

fasted from 6:00 AM to 6:00 PM [24,25]. Peanuts, milk chocolate and sweet biscuits were used in the ratio of 3:2:2:1 to fatten the animals [26]. The aerobic exercise protocol was of moderate intensity for 4 weeks with a speed of 20-29 m/min in the second week 20 m/min, in the third week 25 m/min, in the fourth week 27/min and in the fifth week 29/min, 5 days a week, for 60 minutes with an intensity of 55-60% Vo2max and a zero-degree slope according to Table 1 [27]. The electrical stimulation protocol (ES) was applied using a stimulator connected to the foot shock device with 0.5 mA. For four weeks, 5 sessions per week, 20 minutes of electrical stimulation were performed per session [28]. At the end of the intervention, all the studied rats were anesthetized and killed 24 hours after the last training session and electrical stimulation following a 12–14-hour fast using ketamine and xylozine. Then, muscle tissue samples were collected from the leg evaluate the expression levels of caspase 3 and caspase 9 genes and kept at -80°C temperature until data analysis.

Results

Changes in the expression of caspase 3 gene: The results of two-way analysis of variance showed that there was a significant difference between different research groups in the expression of the caspase 3 gene (P=0.0001). The results of Tukey's test showed that the expression of caspase 3 gene in the aerobic exercise-electrical stimulation group was significantly lower than that in the exercise group, electrical stimulation, and control group with and without caloric restriction (P=0.0001). Moreover, the results of this test showed that the aerobic training group had a significant decrease compared to the electrical stimulation group and the control group with and without calorie restriction (P=0.0001). There is a significant difference between the electrical stimulation group and the control group with and without caloric restriction (P=0.0001) (Figure 1).

Changes in the expression of caspase 9 gene: The results of two-way analysis of variance showed that there was a significant difference between different groups in the expression of the caspase 9 gene (P=0.0001). The results of Tukey's test showed that the group of aerobic exercise-electrical stimulation was significantly higher than the group of electrical stimulation, and control with and without calorie restriction (P=0.0001). Additionally, the results of this test showed that the aerobic exercise group had a significant increase in calories compared to the aerobic exercise group-electrical stimulation, electrical stimulation, and the control group with and without restriction (P=0.0001). The electrical stimulation group showed a significant decrease compared to the control group with and without calorie restriction (P=0.0001) (Figure 2).

Conclusion

The results of this study showed that exercise and electrical stimulation, both individually and in combination, have significant and distinct effects on the expression of caspase 3 caspase 9 genes in leg muscles, in obese rats. These interventions may modulate apoptotic regulatory pathways, which can potentially be used to regulate caspase expression in the muscles of obese subjects.

مجله علوم پزشکی فیض
دوره ۲۹، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۴۰۴
صفحات: ۵۷۷-۵۶۶
Doi: 10.48307/FMSJ.2025.29.6.3
اصیل پژوهشی

تاثیر تمرین هوازی به همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ بافت عضلانی موش های صحرایی چاق با محدودیت کالری

حسن شریفی[۱]، محمد ملکی پویا[۲*]، مهدی روزبهانی[۳]، مهدی مرادی[۲]، مجتبی خانسوز[۲]

[۱] گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
[۲] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
[۳] گروه رفتار حرکتی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۵/۱۶ **اصلاح مقاله:** ۱۴۰۴/۰۸/۳ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۴/۰۸/۳

چکیده

زمینه و هدف: رژیم‌های غذایی پرچرب می‌توانند منجر به اختلال عملکرد سلولی، آسیب میتوکندریایی و فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوز شوند. در مقابل، مداخلاتی مانند تمرین هوازی و تحریک الکتریکی عضله ممکن است با ایجاد سازگاری‌های سلولی، از آپوپتوز جلوگیری کنند. این مطالعه به بررسی تأثیر جداگانه و ترکیبی یک دوره تمرین هوازی و تحریک الکتریکی بر بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی چاق تحت محدودیت کالری پرداخت.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در پنج گروه ده‌تایی قرار گرفتند: ۱) تمرین هوازی، ۲) تحریک الکتریکی، ۳) تمرین هوازی توأم با تحریک الکتریکی، ۴) کنترل چاق با محدودیت کالری، و ۵) کنترل چاق بدون محدودیت کالری. چاقی با رژیم پرکالری (بادام زمینی، شکلات شیری و بیسکویت‌های شیرین به نسبت ۳:۲:۲:۱) القا شد. پروتکل تمرین هوازی به مدت ۴ هفته، ۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۶۰ دقیقه با شدت ۵۵ تا ۶۰ درصد Vo_2max اجرا گردید. تحریک الکتریکی نیز به مدت ۲۰ دقیقه در روز اعمال شد. بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ با استفاده از روش Real-Time PCR سنجیده شد. داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس دوطرفه تجزیه و تحلیل شدند

یافته‌ها: ترکیب تمرین هوازی و تحریک الکتریکی در مقایسه با گروه‌های تمرین هوازی، تحریک الکتریکی، کنترل با محدودیت کالری و کنترل بدون محدودیت کالری، منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز ۳ شد ($P<۰/۰۰۰۱$). در مورد کاسپاز ۹، افزایش معنی‌داری در گروه ترکیبی نسبت به گروه‌های تحریک الکتریکی، کنترل با محدودیت کالری و کنترل بدون محدودیت کالری مشاهده گردید ($P<۰/۰۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین هوازی و تحریک الکتریکی، هم به صورت مجزا و هم در ترکیب با یکدیگر، اثرات متفاوتی بر بیان کاسپاز-۳ و کاسپاز-۹ در عضله اسکلتی موش‌های چاق دارند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که مداخله ترکیبی می‌تواند بیشترین اثر تعدیل‌کننده را بر شاخص‌های کلیدی آپوپتوز داشته باشد و احتمالاً بستر مناسبی برای تنظیم فعالیت پروتئازهای کاسپازی فراهم کند.

کلیدواژه‌ها: تمرین هوازی، تحریک الکتریکی، کاسپاز ۳، کاسپاز۹ ، چاقی

*نویسنده مسئول: **محمد ملکی پویا** پست الکترونیک: Mo.malekipooya@iau.ac
آدرس: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

مقدمه

چاقی یک بحران جهانی و یک نگرانی قابل توجه در حوزه سلامت عمومی است که شیوع آن به طور مداوم در حال افزایش است. چاقی با ذخیره بیش از حد چربی و شاخص توده بدنی۳۰ کیلوگرم/مترمربع یا بالاتر مشخص می‌شود که منجر به افزایش خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌های مزمن می‌گردد [۱]. پیش‌بینی می‌شود شیوع اضافه وزن و چاقی در جهان از ۳۸ درصد در سال۲۰۲۰ به ۵۰ درصد تا سال ۲۰۳۵ برسد [۲]. شواهد بیانگر این است که تعادل مثبت کالری در بدن که منجر به چاقی می‌شود برخلاف تعادل منفی کالری (محدودیت کالری) با افزایش استرس اکسایشی و کاهش توانایی آنتی‌اکسیدانی بدن همراه است. چاقی میزان استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی را بالا می‌برد. از عواقب جدی استرس اکسیداتیو در سطح سلولی و مولکولی اختلال در عملکرد میتوکندری، تخریب DNA و ایجاد جهش و مرگ سلول است [۳،۴]. نتایج مطالعات نشان داده که مصرف بیش از حد رژیم های غذایی پرچرب با اختلال در عملکرد سلول‌های قلبی، التهاب، آسیب به میتوکندری و تنظیم افزایش پروتئین‌های آپوپتوزی همراه است [۵]. التهاب و استرس سلولی باعث فعال شدن کاسپازهای التهابی شده، که مسیر اصلی برای افزایش آپوپتوز وابسته به میتوکندری بوده، و با انتشار سیتوکرومC انجام می شود [۶]. پیام‌های آپوپتوزی به طور عمده توسط دو مسیر (داخلی و خارجی) کنترل می‌شوند. پیام رسانی از طریق مسیر داخلی باعث آزاد سازی عوامل آپوپتوزی مانند سیتوکروم C از میتوکندری می‌شود و متعاقب آن سیتوکروم C موجب راه‌اندازی واکنش‌های کاسپازی در مسیر داخلی با فعال کردن پرو کاسپاز ۹ و سپس کاسپاز ۹ که شروع کننده آپوپتوز است، می‌شود [۷،۸]. کاسپاز ۹ فعال باعث فعالسازی کاسپازهای مجری همچون کاسپاز ۳ می‌شود. کاسپاز ۳ یکی از مهمترین پروتئازهای اجرا کننده در مسیر آپوپتوز است که تا قبل از فعال‌سازی به صورت خاموش باقی می‌ماند. کاسپاز۳ فعال شده، مهارکننده DNase، را می‌شکند و موجب قطعه قطعه شدن DNA و آپوپتوز سلولی می‌شود [۹،۱۰]. از سویی مهار کاسپاز ۳، می‌تواند آپوپتوز و مرگ سلولی را کاهش دهد [۹]. گزارش شده که رژیم‌های غذایی پرچرب باعث افزایش کاسپاز ۳ و آپوپتوز می‌شود [۱۱]. آپوپتوز نوعی از مرگ سلولی برنامه ریزی شده و یک فرآیند محافظت کننده سلولی است که با قطعه قطعه شدن برگشت ناپذیر DNA مشخص می‌شود. آپوپتوز نقش مهمی در توسعه و هومئوستاز طبیعی بافت و پیدایش بیماری‌ها دارد. این فرآیند در شرایط طبیعی باعث می‌شود که سلول‌های پیر، آسیب‌دیده، اضافی و مضر حذف شود که برای تکامل و ترمیم بافت ضروری است و هرگونه اختلال در روند آپوپتوز، کاهش یا افزایش نامتعارف آن، مرگ سلولی و در نهایت بیماری را موجب می‌شود [۹]. مطالعات نشان داده میزان آپوپتوز در اثر عواملی مانند ایسکمی، سالخوردگی، تخریب عضلانی و چاقی، تشدید می‌شود [۱۲،۱۳]. امروزه راهکارهای مختلفی برای غلبه بر افزایش چاقی و مشکلات مرتبط با آن پیشنهاد شده است، نظیر انجام فعالیت‌های منظم ورزشی و به‌کارگیری رژیم‌های غذایی با محدودیت کالری یا استفاده همزمان از هر دو روش [۱۴]. شواهد اخیر نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی ممکن است برخی از مسیرهای پیام رسانی مربوط به آپوپتوز را تحت تأثیر قرار دهد [۱۵]. نتایج مطالعات در مورد تاثیر تمرین بر آپوپتوز متناقض بوده است، به طوری که پس از تمرین افزایش [۱۶]، کاهش [۱۷] یا عدم تغییر معنی‌دار [۱۸] در آپوپتوز را گزارش کرده‌اند. در پژوهشی نشان داده شده که ورزش هوازی به مدت۱۲هفته باعث بهبود نشانگرهای آپوپتوزی در بافت قلبی موش‌های چاق شده است [۱۹]. همچنین ۹ هفته ورزش هوازی با شدت متوسط باکاهش فعالیت کاسپازها و کاهش قطعه قطعه شدن DNA باعث محافظت عضلات قلبی در موش‌های چاق شده است [۲۰]. در یک مطالعه نشان داده که تمرین با شدت متوسط با و بدون محدودیت کالری می‌تواند سازگاری‌های لازم را جهت مهار و توقف آپوپتوز فراهم کند [۲۱]. در مطالعه‌ای یگانه‌هاشمی و همکاران بیان کردند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی به همراه دریافت سماق موجب کاهش بیان کاسپاز ۳ و شاخص‌های التهابی در موش‌های نر آلزایمری شده است [۶]. مطالعات نشان داده که تحریک الکتریکی (Electrical Stimulation) یک روش غیرتهاجمی است که به آسانی قابل استفاده است و می‌تواند مشابه ورزش اختیاری استفاده گردد، عملکرد عضلانی را بهبود بخشد و سارکوپنی ناشی از بی‌تحرکی را تعدیل کند [۲۲]. Hasegawa و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که تحریک الکتریکی موجب بهبود نسبی قدرت عضلانی می‌شود [۲۲]. در یک مطالعه نشان داده شد که ۴ هفته تحریک الکتریکی به مدت یک ساعت بر روی عضله موش-های صحرایی، موجب کاهش کاسپاز ۱۲ شد [۲۳]. با توجه به اینکه تاثیر ترکیب دو روش مداخله ای مذکور تحت محدودیت کالری دارای ابهام و نیازمند انجام پژوهشی مجزا است و چون تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه بر بیان ژن‌های آپوپتوزی آزمودنی های چاق با محدودیت کالری انجام نشده، لذا هدف از تحقیق حاضر تعیین تاثیر یک دوره تمرین هوازی به همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن کاسپاز ۳ و ۹ بافت عضلانی موش‌های صحرایی چاق با محدودیت کالری می‌باشد.

روش‌ها

در این مطالعه تجربی۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰-۸ هفته ای با وزن ۴۵ ۲۴۰± گرم از دانشگاه بقیه الله تهران تهیه گردید و سپس در محیط آزمایشگاه کار با حیوانات دانشگاه آزاد واحد اراک به منظور سازگاری با محیط و کاهش استرس، به مدت دو هفته انتقال داده شدند. موش‌ها بصورت گروهی در

قفس‌های پلی‌کربنات شفاف (شرکت رازی) در شرایط محیطی دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، دوره روشنایی ۱۲ ساعت و تاریکی ۱۲ ساعت، رطوبت ۵±۵۰ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا و جریان مناسب هوا تا زمان انجام مداخلات نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش ها بر اساس وزن همسان سازی و به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰تایی شامل گروه تمرین هوازی با شدت متوسط (MIT)، گروه تحریک الکتریکی (ES)، گروه تمرین هوازی-تحریک الکتریکی (MIT.ES)، گروه کنترل با محدودیت کالری (Fasting(FA و کنترل بدون محدودیت کالری (Control (CO تقسیم شدند. گروه ها (به جز گروه‌های کنترل) به مدت ۴ هفته در پروتکل مداخله شرکت کردند. همه موش‌های مورد مطالعه ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین و تحریک الکتریکی به‌مدت ۱۴- ۱۲ساعت ناشتایی با استفاده از کتامین و زایلوزین بی‌هوش و کشته شدند. سپس عمل نمونه‌برداری بافتی انجام و نمونه‌ها جهت بررسی بیان ژن‌ها تا جمع آوری و آنالیز داده‌ها در دمای۸۰- نگه داری شد.

تغذیه حیوانات در زمان روزه‌داری: موش‌های صحرایی در مدت زمان روزه داری با غذای تولیدی مرکز تولید خوراک دام به‌صورت آماده (خوراک) که حاوی ترکیب مشخصی از انواع مواد غذایی است، تغذیه شدند. غذای آزمودنی‌ها در طی دوره مطالعه با توجه به جیره طبیعی۱۰ گرم به ازای هر۱۰۰ گرم وزن بدن به‌مدت ۳۰ روز و بر اساس وزن کشی هفتگی (با ترازوی استاندارد) در هر قفس قرار داده شد. آب موردنیاز هر حیوان به‌صورت آزاد و در بطری‌های ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آن‌ها قرار گرفت همچنین بعد از شروع برنامه تمرینی از ساعت ۶ صبح تا ساعت ۱۸، گروه‌های روزه دار هیچ گونه غذا و آبی برای خوردن و آشامیدن در اختیار نداشتند [۲۴،۲۵].

پروتکل القا چاقی: برای چاق کردن حیوانات از رژیم غذایی استاندارد با برنامه غذایی پرچرب موش‌های صحرایی که از بادام زمینی، شکلات شیری و بیسکویت‌های شیرین به‌نسبت ۳:۲:۲:۱ تشکیل شده بود استفاده شد. این رژیم حاوی۲۰ گرم پروتئین، ۲۰گرم چربی، ۴۸ گرم کربوهیدرات، ۴ گرم فیبر بود که در هر ۱۰۰ گرم رژیم غذایی مخلوط شد و سپس آسیاب گردید و در دوره القا چاقی در اختیار آن‌ها قرار گرفت تا برحسب شاخص لی Lee's index (شاخص بیومتریک برای ارزیابی ترکیب بدنی در جوندگان) وزن موش‌های صحرایی بر اساس محاسبه با فرمول زیر ۱۰۳×[(mm) طول دماغ تا مقعد÷۰/۳۳(g) وزن] = شاخص لی، در محدود ۳۱۰ گرم قرار گیرد [۲۶].

آشناسازی با نوار گردان و پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط: پس از اطمینان از القای چاقی، موش‌های گروه MIT و گروه MIT.ES برای آشنایی با نحوه فعالیت بر روی نوار گردان (دانش سالار ایرانیان مدل ۵۸۰) به مدت یک هفته، هر روز ۱۰ دقیقه با سرعت ۸ متربردقیقه بدون شیب (شیب صفر درجه) به فعالیت پرداختند. به این صورت که برای تحریک دویدن در مرحله آشناسازی، رت‌ها روی نوارگردان از طریق شرطی‌سازی به صدا و تحریک آموزش داده شد، تا از نزدیک شدن و استراحت یا برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهای دستگاه خودداری شود. سپس در هفته دوم، تمرین هوازی به مدت ۴ هفته با سرعت ۲۹-۲۰ متر در دقیقه بود، به این صورت که در هفته دوم ۲۰ متر/دقیقه، در هفته سوم ۲۵ متر/دقیقه، هفته چهارم ۲۷/دقیقه و هفته پنجم ۲۹/دقیقه، ۵ روز در هفته، به مدت ۶۰ دقیقه با شدت ۶۰-۵۵٪ Vo2max و شیب صفر درجه و مطابق جدول-۱ انجام شد [۲۷]

پروتکل تحریک الکتریکی: تحریک الکتریکی (ES) به وسیله دستگاه استیمولیتور (ست آپ تنظیمی موسسه پرتو دانش با ۰/۵ میلی آمپر) که به دستگاه فوت شوک وصل بود، انجام شد. به این صورت که موش‌های گروه ES و MIT.ES به صورت تک تک در داخل دستگاه فوت شوک قرارگرفتند و به مدت ۴ هفته، هر هفته ۵ جلسه به مدت۲۰ دقیقه تحریک الکتریکی برای آنها انجام گرفت [۲۸].

بافت برداری و استخراج و نگهداری نمونه: تمامی موش‌های صحرایی، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و تحریک الکتریکی، با تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش گردیدند. پس از جراحی و تشریح موش‌های صحرایی و کنار زدن بافت‌های سطحی، به میزان ۳۰ میلی گرم بافت عضله ساق پا به عنوان نمونه بافتی از هر موش در گروه های مختلف، برای ۳ تکرار جهت کاهش خطا، برای بررسی میزان بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ با روش RealTime-PCR برداشته شد. بلافاصله بافت برداشته شده در نیتروژن مایع فریز و در دمای۸۰- درجه نگهداری گردید.

سنجش بیان ژن ها: برای اندازه‌گیری ژن های مورد نظر در سطح رونویسی از تکنیک PCR–time Real استفاده شد و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن، تجزیه و تحلیل آماری و بیان کمی نتایج ژن‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام شد

نحوه استخراج RNA و ساخت cDNA: فرایندها طبق دستورالعمل کیت (Thermo K0731, USA) با اندکی تغییرات به شرح زیر عمل شد. ۳۰ میلی‌گرم از بافت عضله ساق پا را در حضور یک میکرولیتر RNXTM-PLUS هموژنه شده و سپس به‌مدت ۵ دقیقه در اتاق انکوبه گردید. سپس به هر میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتر کلروفروم افزوده شد و میکروتیوب به شدت با دست به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده شده و ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه انکوبه گردید و در ادامه با g ۱۳۷۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتریفیوژ شد. سپس به دقت و بدون تکان دادن تیوب، فاز روئی که حاوی RNA بود، جداسازی گردید و به میکروتیوب دیگر منتقل شد و به محلول جدا شده حجم مساوی از ایزوپروپانول سرد اضافه گردید و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه انکوبه شد. بعد از آن میکروتیوب به‌مدت ۱۰ دقیقه در شرایط ۴ درجه و g ۱۳۷۰۰ سانتریفیوژ شد، مایع روئی بیرون ریخته شد و سپس ۱

میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به میکروتیوب اضافه گردید. بلافاصله میکروتیوب به‌مدت ۵ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۳۷۰۰ g سانتریفیوژ شد، مایع رویی بیرون ریخته شد و به دقت اتانول تخلیه گردید و حدود ۲۰ دقیقه اجازه داده شد تا الکل تبخیر گردد. سپس مجدداً به هر میکروتیوب، ۰/۰۲ میلی‌لیتر آب تیمار شده با دی‌اتیل‌پیروکربنات افزوده شد. RNA استخراج‌شده برای استفاده بعدی در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد.

از کیت RevertAID TM First Standard Synthesis cDNA، (Fermentas., Canada)، یک میکرولیتر از آنزیم واکنش DNase I در یک تیوب ۱/۵ میلی لیتری ریخته و توسط آب دپس به ۹ میکرولیتر حجم رسید. برای از بین بردن آلودگی احتمالی با DNA یک میکرولیتر DNase به تیوب اضافه و پس از افزودن یک میلی لیتر اتانول مطلق، تیوب مربوطه به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه و ۱۴۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس در زیر هود به دقت اتانول آن تخلیه شد و حدود ۱۰ دقیقه اجازه داده شد تا اتانول تبخیر گردد. به تیوب، ۱۱ میکرولیتر آب دپس و یک میکرولیتر پرایمر الیگو oligi (dt) یا RandomHexamer Primer افزوده شد و ۵ دقیقه در دمای۷۰ درجه روی هیتر خشک انکوبه شد. ۴ میکرولیتر بافر واکنش Reaction Buffer 5X و ۲ میکرولیتر dNTP 10mM mix و ۱ میکرولیتر مهارگر رونویسی Ribo Inhibitor lock Ribo nuclease Transcription به تیوب افزوده شد و پس از سانتریفیوژ مختصر به مدت۵ دقیقه در ۳۷ درجه انکوبه شد. یک میکرولیتر آنزیم ترانس کریپتاز معکوس (Rverert AidTM H Minus M-MuLV. Reverse) به تیوب قبل اضافه شد، سپس از پرایمر الیگو (dt) استفاده و ۶دقیقه در ۴۲ درجه و در صورت استفاده از Random Hexamer Primer، ابتدا ۵ دقیقه در ۲۵ درجه و به دنبال آن ۹۰دقیقه در ۴۲ درجه انکوبه شد. واکنش به مدت ۱۰دقیقه در۷۰ درجه پایان پذیرفت و نمونه در فریزر۸۰- درجه نگهداری شد.

Real-time PCR: اندازه‌گیری میزان بیان ژنی پروتئین های موردنظر، با روش کمی q-RT PCR با استفاده از دستگاه روتور ژن-۶۰۰۰ (کوربت آمریکا) انجام شد. جفت پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم افزار پرایمر ۳ طراحی و توسط بایونیر (بایونیر، آلمان) سنتز شد و برای کار با غلظت نهایی ۱۰۰nm (غلظت مناسب برای واکنش PCR با طراحی پرایمر۳ و سنتز توسط بایونیر) مورد استفاده قرار گرفتند. طراحی پرایمرها واکنش‌ها بر مبنای استفاده از رنگ سایبرگرین انجام شد. رنگ سایبرگرین طی واکنش Real-time PCr به DNA دورشته ای متصل شده و نور فلورسنت ساطع می‌کند. به‌عنوان بلانک از تیوبی که حاوی مواد موجود در واکنش به جز cDNA بود استفاده شد و به جای cDNA به تیوپ مربوطه آب دپس اضافه شد. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس بر این اساس CT تعیین شد. تا پیک مربوط به ژن موردنظر و فقدان پرایمر دایمر تایید شود. در پایان قبل از آنالیز داده ها، منحنی ذوب بدست آمده از هر واکنش Real-time PCRبررسی شد. از ژن HKG (Housekeeping Gene) به عنوان رفرنس (در روش آماری این ژن کنترلی، در بیان ژن با استخراج داده های کمی در روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ از مقدار عددی برابر ۱ در فرمول برای مقایسه‌ها استفاده می شود) برای سنجش بیان نسبی ژن‌ها استفاده گردید. توالی پرایمرها در جدول-۲ آمده است.

محاسبات آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار گراف پد پریزم (نسخه ۹) انجام شد. از میانگین، انحراف استاندارد، جداول و نمودارها برای توصیف داده ها استفاده شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگراف- اسمیرنوف و برای مقایسه داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ استفاده شد.

جدول-۱. پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط (MIT)

هفته	سرعت (متر/دقیقه)	مدت (دقیقه)	تعداد جلسه (روز)	شدت (Vo2max)	شیب
هفته ۱ (آشنا سازی)	۸	۱۰	۵	۶۰- ۵۵٪	۰
هفته۲	۲۰	۶۰	۵	۶۰- ۵۵٪	۰
هفته ۳	۲۵	۶۰	۵	۶۰- ۵۵٪	۰
هفته ۴	۲۷	۶۰	۵	۶۰- ۵۵٪	۰
هفته ۵	۲۹	۶۰	۵	۶۰- ۵۵٪	۰

جدول-۲. توالی آغازگرهای (پرایمرها) کاسپاز۳، کاسپاز ۹ به همراه ژن کنترل

ژن	محصول توالی پرایمر
Casp3	R: GAAGAAATTGGAAAGTCACACT F: GCTTAACGAAAACTAAAGTGAC
Casp9	R: ATCAACAACGTGAACTTCTG F: GTGACCATTTTCTTAGCAGT
HKG	CAAGCCGCATTTTT CC R: RP| 13a-F (باز ۱۶)

RP| 13a-R(باز ۱۸)	TCCGCTTTTTCTTGTCAT F:

ملاحظات اخلاقی: در مطالعه حاضر مسائل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس معاهده هلسینکی رعایت گردید. پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک با کد IR.IAU.ARAK.REC.1403.291 تایید شده است.

نتایج

میانگین و انحراف معیار وزن، شاخص لی و همچنین مقادیر نسبی بیان ژن کاسپاز ۳ و ۹ مربوط به گروه های مورد مطالعه در جداول ۳ و۴ ارائه شده است.

جدول-۳. میانگین و انحراف معیار وزن، شاخص لی، ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ در گروه‌های مورد مطالعه

گروه ها/ نماد	وزن اولیه (گرم)	وزن بعد چاقی (گرم)	وزن نهایی (گرم)	شاخص لی (گرم/ سانتی متر)	کاسپاز۳	کاسپاز۹
تمرین هوازی (MIT)	۲۱۸ ±۵	۳۴۰ ±۵	۳۳۸ ±۴	۳۱۲	۰/۰±۹۱۲۴/۰۱۰	۳/۰±۱۷۴۳/۷۵۹
تحریک الکتریکی (ES)	۲۱۷ ±۵	۳۳۹ ±۵	۳۴۱ ±۴	۳۰۹	۰/۰±۶۳۹۶/۰۱۸	۱/۰±۱۵۱۶/۰۴۷
تمرین هوازی- تحریک الکتریکی (MIT.ES)	۲۲۰ ±۵	۳۲۰ ±۵	۳۲۳ ±۴	۳۱۰	۱/۰±۳۰۳۱/۰۵۵	۰/۰±۳۷۶۷/۰۱۱
کنترل با محدودیت کالری (FA)	۲۱۵ ±۵	۳۱۰ ±۵	۳۱۱ ±۵	۳۱۴	۱/۰±۰۲۶۳/۰۱۶	۰/۰±۸۲۶۶/۰۱۷
کنترل بدون محدودیت کالری (CO)	۲۱۰ ± ۵	۳۵۶ ±۵	۳۶۵ ±۵	۳۰۹	۱/۰±۰۰۰۰/۰۰۰	۱/۰±۰۰۰۰/۰۰۰

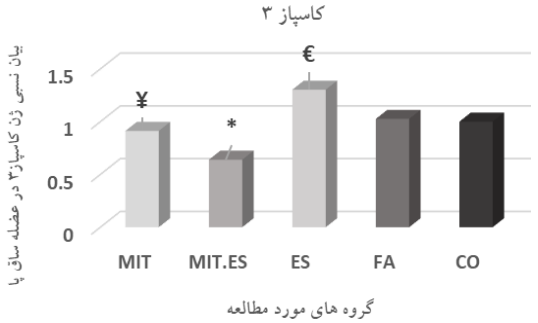
جدول-۴. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای وزن و ژن های کاسپاز ۳ و ۹ در گروه های مورد مطالعه

گروه (I)	گروه (J)	وزن (ارزش P)	کاسپاز ۳(ارزش P)	کاسپاز۹(ارزش P)
تمرین هوازی (MIT)	تمرین هوازی- تحریک الکتریکی (MIT.ES)	۰/۰۰۱*	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
	تحریک الکتریکی (ES)	۰/۶۹۶	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
	کنترل با محدودیت کالری (FA)	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
	کنترل بدون محدودیت کالری(CO)	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
تمرین هوازی- تحریک الکتریکی (MIT.ES)	تحریک الکتریکی (ES)	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
	کنترل با محدودیت کالری (FA)	*۰/۰۰۵	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
	کنترل بدون محدودیت کالری(CO)	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
تحریک الکتریکی (ES)	کنترل با محدودیت کالری (FA)	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
	کنترل بدون محدودیت کالری(CO)	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۰۱	*۰/۰۰۰۱
کنترل با محدودیت کالری (FA)	کنترل بدون محدودیت کالری(CO)	*۰/۰۰۱	۰/۴۰۲۱	*۰/۰۰۰۱

تغییرات وزنی و شاخص لی: نتایج آزمون تحلیل واریانس دوراهه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در وزن (P=۰/۰۷۱) و شاخص لی (P=۱/۰۰۰) قبل از پروتکل تحقیق بین گروه ها وجود ندارد. اما در انتهای پژوهش، وزن بین گروه‌ها از نظر آماری معنی‌دار است (P=۰/۰۰۱). نتایج آزمون توکی نشان داد که مقادیر وزن در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل چاق با محدویت کالری و بدون محدودیت کالری تفاوت معناداری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). اما نسبت به گروه تحریک الکتریکی تفاوت معنی‌دار نیست (P=۰/۶۹۶) همچنین گروه تمرین هوازی- تحریک الکتریکی نسبت به گروه تمرین هوازی (P=۰/۰۰۱)، گروه تحریک الکتریکی (P=۰/۰۰۱)، کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۵) و کنترل بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی‌دار داشت. گروه تحریک الکتریکی نسبت به کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۱) و بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۱) معنی‌دار است. همچنین مقادیر وزن در گروه کنترل با محدودیت کالری نسبت به گروه کنترل بدون محدودیت کالری از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را داشت (P=۰/۰۰۱) (جدول-۴).

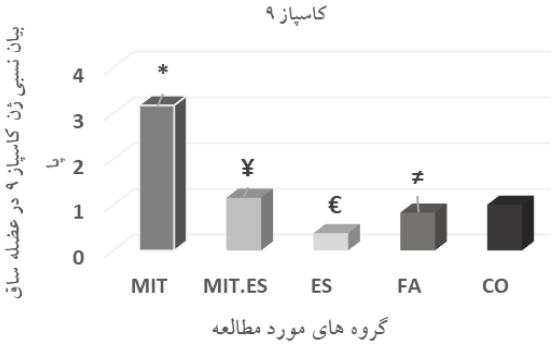
تغییرات بیان ژن کاسپاز ۳: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف تحقیق در بیان ژن کاسپاز۳ وجود دارد (P=۰/۰۰۰۱). نتایج آزمون توکی نشان داد که بیان ژن کاسپاز۳ در گروه تمرین هوازی- تحریک الکتریکی نسبت به گروه تمرین (P=۰/۰۰۰۱)، تحریک الکتریک (P=۰/۰۰۰۱)، گروه کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) و کنترل بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) به‌طور معنی‌داری کمتر است. همچنین نتایج این آزمون نشان داد که گروه تمرین هوازی نسبت به گروه تحریک الکتریکی (P=۰/۰۰۰۱) و گروه کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) و بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) به طور معنی‌داری کاهش دارد. نتایج آزمون توکی نشان داد که گروه تحریک الکتریکی نسبت به گروه کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) و کنترل بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. اما بین گروه کنترل با

محدودیت کالری و گروه کنترل بدون محدودیت کالری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۴۰۲) (جدول-۴) (نمودار-۱).



نمودار-۱. تغییرات نسبی بیان ژن کاسپاز ۳ در گروه‌های مورد مطالعه. * معنی داری نسبت به گروه تمرین هوازی، تحریک الکتریکی، گروه های کنترل با و بدون محدودیت کالری. ¥ معنی‌داری نسبت به گروه تحریک الکتریکی، گروه‌های کنترل با و بدون محدودیت کالری. € معنی‌داری نسبت به گروه کنترل با و بدون محدودیت کالری

تغییرات بیان ژن کاسپاز ۹: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه های مختلف در بیان ژن کاسپاز ۹ وجود دارد (P=۰/۰۰۰۱). نتایج آزمون توکی نشان داد که گروه تمرین هوازی- تحریک الکتریکی نسبت به گروه تحریک الکتریکی (P=۰/۰۰۰۱)، کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) و کنترل بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) به-طور معنی‌داری بیشتر است. همچنین نتایج این آزمون نشان داد گروه تمرین هوازی نسبت به گروه تمرین هوازی- تحریک الکتریکی (P=۰/۰۰۰۱)، تحریک الکتریکی (P=۰/۰۰۰۱)، گروه کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) و کنترل بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) افزایش معنی‌دار دارد. نتایج آزمون توکی نشان داد که گروه تحریک الکتریکی نسبت به گروه کنترل با محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) و کنترل بدون محدودیت کالری (P=۰/۰۰۰۱) به‌طور معنی‌داری کاهش دارد. بین گروه کنترل با محدودیت کالری و گروه کنترل بدون محدودیت کالری تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱) (جدول-۴) (نمودار-۲).



نمودار-۲. تغییرات نسبی بیان ژن کاسپاز ۹در گروه های مورد مطالعه. *معنی داری نسبت به گروه تمرین- تحریک الکتریکی، تحریک الکتریکی، گروه کنترل با و بدون محدودیت کالری. ¥معنی‌داری نسبت به گروه تحریک الکتریکی، کنترل با و بدون محدودیت کالری. € معنی‌داری نسبت به گروه کنترل با و بدون محدودیت کالری. ≠ معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بدون محدودیت کالری

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد پس از ۴ هفته تمرین هوازی و تحریک الکتریکی بر روی موش‌های صحرایی، میزان بیان ژن کاسپاز۳ عضله ساق پا در گروه تمرین هوازی- تحریک الکتریکی نسبت به گروه تمرین، تحریک الکتریکی، گروه های کنترل با و بدون محدودیت کالری به طور معنی‌داری کمتر است. همچنین این شاخص در گروه تمرین نسبت به گروه تحریک الکتریکی و گروه های کنترل با و بدون محدودیت کالری به طور معنی‌داری کاهش داشت. این یافته‌ها با نتایج مطالعه دهقانی زاده و همکاران با بررسی اثر تمرین هوازی به مدت ۸ هفته بر بیان پروتئین کاسپاز ۳ در هیپوکامپ موش‌های صحرایی، نتایج مطالعه نوروزی کمره‌ای و همکاران با انجام ۱۲هفته تمرین هوازی با شدت متوسط و مصرف مکمل چای سبز در رت‌های نر مسن و همچنین با نتایج مطالعه Huang و همکاران با بررسی تاثیر۱۰ هفته فعالیت هوازی با شدت متوسط ۵ روز در هفته و هر جلسه یک ساعت بر مسیرهای داخل و خارج سلولی آپوپتوز بافت قلب رت‌ها که بیان کردند فعالیت هوازی سبب کاهش کاسپاز۳ در بافت قلب رت‌های مسن شد همسو است [۹،۲۹،۳۰]. نوع فعالیت ورزشی، تعداد جلسات و مدت زمان تمرین و شیب تمرین در هر دو مطالعه می تواند از دلایل این همسویی باشد. مطالعه Lee و همکاران تأثیر سه ماه فعالیت هوازی با شدت متوسط را بر فاکتورهای آپوپتوز در بافت قلب رت‌های چاق مسن را بررسی کردند و گزارش کردند که فعالیت هوازی سبب کاهش فعالیت کاسپاز-۳ شد [۱۹]. نتایج مطالعهٔ لی با نتایج مطالعهٔ حاضر همخوانی دارد که دلیل تشابه آن در هر دو مطالعه مدت دورهٔ فعالیت هوازی می تواند باشد. همچنین یگانه هاشمی و همکاران در مطالعه خود گزارش کردند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی به همراه مصرف سماق موجب کاهش کاسپاز ۳ در موش های نر آلزایمری شد [۶].

از نتایج دیگر این مطالعه ۴ هفته تحریک الکتریکی بود که سبب افزایش معنی‌دار کاسپاز ۳ نسبت به گروه های کنترل با و بدون محدودیت کالری شد. همسو با این نتایج، کاظمی و همکاران دریافتند تمرین هوازی موجب افزایش در سطح کاسپاز-۳ در موش‌های مبتلا به سرطان پستان می‌شود [۳۱]. در همین زمینه اکبری و همکاران گزارش‌کردند سطح بیان ژن کاسپاز-۳ پس از ۶ هفته تمرین هوازی در موش‌های نر مسموم شده با پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد [۳۲]. همچنین Li و همکاران نشان دادند که فعالیت ورزشی میزان آپوپتوز را با بیان پروتئین‌های کاسپاز-۳ در موش‌های صحرایی دچار سکتهٔ مغزی افزایش می‌دهد [۳۳]. اما در پژوهشی غیرهمسو، هوشمندمقدم و همکاران بیان کردند که ۱۲هفته تمرین مقاومتی موجب کاهش کاسپاز۳ در مردان سالمند می‌شود. همچنین نتایج مطالعه خانسوز و همکاران نشان داد که تحریک الکتریکی با تغییرات غیرمعنی دار کاسپاز ۳ در موش های انفارکتوسی همراه است. این تفاوت در نتایج ممکن

است مربوط به پارامترهای تمرینی مثل شدت، مدت، نوع تمرین و همچنین نوع، سن آزمودنی و بافت مورد بررسی باشد [۳۴، ۳۵].

از دیگر نتایج این مطالعه بررسی بیان ژن کاسپاز ۹ بود که نشان داد در گروه تمرین- تحریک الکتریکی نسبت به گروه تحریک الکتریکی، کنترل با و بدون محدودیت کالری افزایش معنی داری داشت. همچنین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل با و بدون محدودیت کالری، گروه تحریک الکتریکی و گروه تمرین- تحریک الکتریکی در میزان بیان کاسپاز ۹ افزایش معنی‌داری را نشان داد. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های جاوید تبریزی و همکاران با افزایش کاسپاز ۹ بر روی عضله قلبی موش‌های صحرایی نر۳ ماهه و Koçtürk و همکاران با فعالیت شدید ورزشی بر روی تردمیل که باعث افزایش کاسپاز ۹ در عضله نعلی و دوقلو شد همسو است [۳۶،۳۷]. اما با نتایج Huang و همکاران، Lee و همکاران، زارعلی و همکاران همسو نیست [۳۸،۱۹،۲۱]. Huang و همکاران بیان کردند با توجه به اینکه پرفشارخونی موجب افزایش آپوپتوزیس قلبی در موش‌ها می‌شود، اما در مطالعه خود نشان دادند که ۱۲ هفته فعالیت ورزشی به مدت یک ساعت بر روی تردمیل باعث کاهش سطوح کاسپاز ۹ در گروه موش‌های گروه تمرین شده است [۳۸]. Lee و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی اثر تمرین ورزشی بر شاخص‌های آپوپتوزیس بر روی موش‌های لاغر و چاق که به مدت۳ ماه هر روز یک ساعت بر روی تردمیل بود پرداختند، نتایج مطالعه آنها بیانگر پایین بودن سطوح کاسپاز ۹ در عضلات قلب گروه تمرین نسبت به دو گروه دیگر بود [۱۹]. همچنین زارعلی و همکاران در مطالعه شان با بررسی اثر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا با و بدون محدویت کالری بیان کردند که کاسپاز ۹ در گروه‌های تمرین و تمرین با محدودیت کالری کاهش داشته است [۲۱]. از سویی میزان بیان کاسپاز ۹ در گروه تحریک الکتریکی نسبت به گروه کنترل با و بدون محدودیت کالری کاهش قابل توجهی داشته است که با نتایج Huang و همکاران، زارعلی و همکاران، کاظمی و همکاران، Lee و همکاران همسو است [۳۸،۳۱،۲۱]. ولی با نتایج Ho و همکاران و Koçtürk و همکاران ناهمسو بود [۳۷،۳۹]. تناقض در نتایج ممکن است مربوط به مدت تمرین، نوع تمرین (تحریک الکتریکی و تمرین هوازی با شدت متوسط)، نوع تغذیه و بافت مورد بررسی باشد که می‌تواند بر نتایج تاثیر بگذارد.

به‌طور کلی چاقی و دریافت کالری بالا می‌تواند موجب افزایش شاخص‌های التهابی و بیان شاخص‌های آپوپتوز شود [۱۲]. این احتمال نیز وجود دارد که افزایش TNF-α و IL-6 پلاسما با فعال کردن مستقیم کاسپاز ۳ از طریق مسیر خارجی میانجی‌گری شده باشد. چرا که افزایش سطوح TNF-α در گردش خون، منجر به افزایش لیگاند متصل شونده به گیرنده TNF-α در سارکولما شده و باعث افزایش آپوپتوز از طریق مسیر خارجی می‌شود. این اثرات ممکن است باعث فعال شدن کاسپاز ۸ و کاسپاز ۳ از طریق مسیر خارجی شود. در کل، کنترل کاسپاز۳ فرآیند پیچیده ای است و چندین مسیر پیام رسانی آپوپتوز را درگیر می‌کند. شاید با کاهش احتمالی این سایتوکین‌ها متعاقب۴ هفته تمرین هوازی به همراه تحریک الکتریکی توانسته در کاهش مقادیر کاسپاز۳ موثر باشد. علاوه براین در شرایط استرس، عواملی مثل گلوکوکورتیکوئیدها و سایتوکین‌ها با ایجاد استرس در میتوکندری، موجب تغییراتی در نفوذپذیری در میتوکندری شده و سیتوکروم C که در غشای داخلی میتوکندری قرار دارد، به داخل سیتوزول آزاد و به فاکتور۱پروتئاز فعال‌کننده آپوپتوزیس (Apaf-1) متصل و ترکیبی به نامdATP را تشکیل می‌دهد که موجب قطعه قطعه شدن DNA به‌طور غیرمستقیم یا از طریق فعال‌سازی پروکاسپاز ۹، کاسپاز ۹ و کاسپاز ۳ موجب آپوپتوزیس می‌شود [۱۵]. محققان اعلام کرده‌اند که سازوکارهای آپوپتوز بسته به نوع سلول و بافت مورد مطالعه متفاوت است. طبق تحقیقات، فعالیت ورزشی منظم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود [۴۰]. اگرچه مکانیسم‌های دقیق آپوپتوزیس ناشی از فعالیت ورزشی و تحریک الکتریکی به‌طور دقیق مشخص نیست. اما فرضیه‌های احتمالی زیادی وجود دارد که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. یکی از فرضیه‌ها این است که در حین فعالیت ورزشی و تحریک الکتریکی، ممکن است متابولیسم عضلانی منجر به تولید ROS بیشتری شود. مقادیر زیاد ROS می‌تواند آسیب اکسیداتیو ایجاد کرده و بدین گونه منجر به آپوپتوزیس از طریق مسیر داخلی شود [۴۱]. فرضیه احتمالی دیگر در این زمینه، تمرین ورزشی از طریق افزایش پروتئین‌های محافظتی حساس به استرس، از قبیل عامل NF-Kb و پروتئین های شوک گرمایی است که باعث پتانسیل کاهش آپوپتوزیس می‌شود [۴۲]. البته به نظرمی‌رسد تمرینات هوازی با شدت متوسط تا حدودی توانسته موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسایشی سلول شود و سازگاری‌های لازم برای مهار یا توقف آپوپتوز ناشی از تمرینات هوازی را فراهم کند [۴۳].

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین و تحریک الکتریکی هر کدام به تنهایی و با هم دیگر اثرات متفاوتی بر بیان کاسپاز ۳ و ۹ عضله ساق پا دارند که قابل توجه است. این نوع مداخلات می‌تواند عوامل درگیر در آپوپتوز را فعال نمایند که احتمالا می‌توان از آن برای تغییر در کاسپاز عضلات آزمودنی‌های چاق استفاده کرد. با این حال، با توجه محدودیت‌های مطالعه حاضر مانند عدم اندازه‌گیری تغییرات مورفولوژیکی، ارزیابی بیان سایر پروتئین‌های درگیر در مسیر میتوکندریایی آپوپتوز، اظهارنظر قطعی در مورد نحوه تأثیرپذیری شاخص‌های مربوط به آپوپتوز عضله ساق پا از تمرینات ورزشی و تحریک الکتریکی، مستلزم انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر است که پیشنهاد میشود پژوهشگران آینده این موارد را مدنظر قرار دهند.

تشکر و قدردانی: این پژوهش برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد است. بدینوسیله از تمامی اساتید که در مراحل مختلف این پژوهش با راهنمایی‌های ارزشمند خود یاری رسان بوده اند تشکر و قدردانی می‌شود.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Subramaniyan V, Hanim YU. Role of pancreatic lipase inhibition in obesity treatment: mechanisms and challenges towards current insights and future directions. Int J Obes. 2025; 49(3): 1-5. doi.10.1038/s41366-025-01729-1.
2. Sørensen TI. Forecasting the global obesity epidemic through 2050. Lancet. 2025; 405(10481): 756-7. doi.10.1016/S0140-6736(25)00260-0 PMid:40049184
3. Bosch-Sierra N, Grau-del Valle C, Hermenejildo J, Hermo-Argibay A, Salazar JD, Garrido M, Navajas-Porras B, Sáez G, Morillas C, Bañuls C. The impact of weight loss on inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function in subjects with obesity. Antioxidants. 2024;13(7):870. doi.10.3390/antiox13070870 PMid:39061938 PMCid:PMC11273387
4. Cenini G, Lloret A, Cascella R. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from a mitochondrial point of view. Oxidative Med Cell Longev. 2019; 2019(1): 2105607. doi.10.1155/2019/2105607 PMid:31210837 PMCid:PMC6532273
5. Kazemi M, Hosseini SF, Torabi Palat Kaleh G. Effect of aerobic training and royal jelly on some factors of cardiac apoptosis in obese rats. Daneshvar Med. 2022; 30(5):49-61. doi.10.22070/daneshmed.2022.16345.1226.
6. Yeganeh Hashemi A, Sarmi A, Afarinesh MR. Studying the Effect of 12 Weeks of Resistance Training with Sumac Supplementation on Inflammatory and Apoptotic Indices in Male Alzheimer's Mice. JSSU. 2025; 32(12):8523-33. doi.10.18502/ssu.v32i12.17945
7. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. Effect of Exercise Training on Bcl-2 and Bax Gene Expression in the Rat Heart. GCT. 2015; 2(4): 1-6. doi.10.17795/gct-32833
8. Behaein B, Abednatanzi H, Gholami M, Ghazalian F. Apoptotic changes of cardiac tissue after HIIT and thyme honey in type 2 diabetic rats. JAHSSP. 2022; 9(2):23-36. doi.10.22049/jahssp.2022.27879.1480.
9. Dehghanizadeh B, Fallahmohammadi Z, Taheri Kalani A, Mirghani SJ. Effects of Aerobic Training on Caspase-3 Expression and Apoptosis in Hippocampus of Rats after Brain Ischemic Stroke. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2022;30(1):4431-40. doi.10.18502/ssu.v30i1.9098
10. Sbierski-Kind J, Mai K, Kath J, Jurisch A, Streitz M, Kuchenbecker L, et al. Association between subcutaneous adipose tissue inflammation, insulin resistance, and calorie restriction in obese females. J Immunol. 2020; 205(1):45-55. doi.10.4049/jimmunol.2000108 PMid:32482712
11. Kazemipour M, Matin Homaie H, Farzanegi P. The effect of aerobic exercise with pistachio skin extract on the expression of Bax, caspase-3 and Bcl-2 in heart tissue of fat-fed rats. Feyz Med Sci J. 2022; 27(5): 521-9. doi. 10.48307/FMSJ.2022.26.5.521.
12. Siahkohian M, Asgharpour-Arshad M, Bolboli L, Jafari A, Hesari FS. Effect of 12-weeks aerobic training on some indices of skeletal muscle apoptosis in male rats. Medical J Tabriz Univ Med Sci. 2017; 39(6):35-43.
13. Ahmadabadi F, Saghebjoo M, Hedayati M, Hoshyar R, Huang C-J. Treatment-induced tumor cell apoptosis following high-intensity interval training and saffron aqueous extract in mice with breast cancer. Physiol Int. 2021; 108(1):19-26. doi.10.1556/2060.2021.00009
14. Sari-Sarraf V, Amirsasan R, Iraqi SF. The effect of continuous training and intermittent calorie restriction (ICR) on miR-146a gene expression and TNF-α and IL-6 levels in obese women. Daneshvar Med. 2020; 27(6): 33-42.
5. Rouzbehani AR, Rahmati S. The effect of high-intensity interval training along with curcumin consumption on mitochondrial caspase 3 and 9 gene expression of cardiomyocyte in male rat of the stroke model. Feyz Med Sci J. 2023; 27(3):254-61. doi.10.48307/FMSJ.2023.27.3.254.
16. Siagian M, Lousiana M, Santoso DIS, Endardjo S. Effects of anaerobic exercise and detraining on the caspase-3 expression of rat ventricular cardiomyocyte. Med J Indonesia. 2015; 24(2):84-90. doi.10.13181/mji.v24i2.1220
17. Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. Evid Based Complement Alternative Med. 2013;2013:368450. doi.10.1155/2013/368450 PMid:24106522 PMCid:PMC3782870
18. Seo H, Park CH, Choi S, Kim W, Jeon BD, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. J Exercise Nutr Biochem. 2016; 20(3):16-23. doi.10.20463/jenb.2016.09.20.3.3 PMid:27757383 PMCid:PMC5067423
19. Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, Kuo CH, Chan YS, Lin YM, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. Nutrition, Metab Cardiovasc Dis. 2013; 23(6):566-73. doi.10.1016/j.numecd.2011.11.002 PMid:22402061
20. Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. J Appl Physiol. 2008; 105(6):1934-43. doi.10.1152/japplphysiol.00037.2008 PMid:18832755 PMCid:PMC2612474
21. Zarali M, Etemad Z, Azizbeigi K, Karimi P. Effect of 8 Weeks of High Intensity Interval Training (HIIT) With and Without Calorie Restriction on Gene Expression of Caspase-3 and Caspase-9 Proteins in Male Rats. J Arak University of Medical Sciences

(JAMS). 2020; 23(3):300-313. doi.10.32598/jams.23.3.5960.1
22. Hasegawa S, Kobayashi M, Arai R, Tamaki A, Nakamura T, Moritani T. Effect of early implementation of electrical muscle stimulation to prevent muscle atrophy and weakness in patients after anterior cruciate ligament reconstruction. J Electromyography Kinesiol. 2011;21(4):622-30. doi.10.1016/j.jelekin.2011.01.005 PMid:21334221
23. Arakawa T, Katada A, Shigyo H, Kishibe K, Adachi M, Nonaka S, et al. Electrical stimulation prevents apoptosis in denervated skeletal muscle. NeuroRehabilitation. 2010; 27(2):147-54. doi.10.3233/NRE-2010-0591 PMid:20871144
24. Malekipooy M, Khansooz M, Morady M, Sayyah M. Acute response of exercise rehabilitation with electrical stimulation on serum levels antigen, carbohydrate 125 (CA-125) and cystatin (Cys-C) in myocardial infarction rats. Feyz Med Sci J. 2022; 26(2):147-155. doi.10.48307/FMSJ.2022.26.2.147.
25. Sayyah M, MalekiPooya M, Khansooz M, Pourabbasi MS, Irandoust K, Taheri M, H'mida C, Halouani J, Trabelsi K, Chtourou H, Bragazzi NL, Clark CCT. Responses of some matrix metalloproteinases activities to an acute session of endurance exercise and electrical stimulation in induced myocardial infarction in Wistar rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2022; 26(13):4755-4761. doi.10.26355/eurrev_202207_29200.
26. Tabe H, Abbassi Daloii A, Ziaolhagh SJ, Barari A. The effect of aerobic training and garlic supplementation on expression of metabolic markers in heart tissue of obese rats. Razi J M Sci. 2021;28(5):80-9. https://rjms.iums.ac.ir/article-1-6848-en.html.
27. Koch LG, Meredith TA, Fraker TD, Metting PJ, Britton SL. Heritability of treadmill running endurance in rats. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 1998; 275(5):R1455-60. doi.10.1152/ajpregu.1998.275.5.R1455 PMid:9791061
28. Zheng ZT, Dong XL, Li YD, Gao WW, Zhou Y, Jiang RC, et al. Electrical stimulation improved cognitive deficits associated with traumatic brain injury in rats. Brain Behav. 2017;7(11):e00667. doi.10.1002/brb3.667 PMid:29201537 PMCid:PMC5698854
29. Norouzi Kamareh MH, Zolfaghari MR, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. Effect of 12 weeks aerobic training and oral green tea extract on cardiac caspase-3 expression in aged male rats. J Sport Biosci. 2018; 10(2):221-35. doi.10.22059/jsb.2018.245693.1220.
30. Huang CY, Lin YY, Hsu CC, Cheng SM, Shyu WC, Ting H, Yang AL, Ho TJ, Lee SD. Antiapoptotic effect of exercise training on ovariectomized rat hearts. J Appl Physiol. 2016; 121(2): 457-65. doi.10.1152/japplphysiol.01042.2015 PMid:27339185
31. Kazemi ME. The Effect of Endurance Training on Tumor Tissue Levels of Caspase-3 and Caspase-9 in Mice with Breast Cancer. Iran Quarterly J Breast Dis. 2018; 11(3):32-43. doi.10.30699/acadpub.ijbd..11.3.32
32. Akbari M, Rajabi H, Kashef M, Mazaheri Z. The effect of six weeks forced swimming and crocin supplementation on the expression of cardiomyocyte gene caspase 3 in male rats infected with hydrogen peroxide. Razi J Med Sci. 2018;25(9):26-37. http://rjms.iums.ac.ir/article-1-5371-en.html.
33. Li F, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, et al. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. J Neurosci Res. 2017; 95(4):1017-24.doi.10.1002/jnr.23890 PMid:27571707
34. Hooshmand Moghadam B, Gaeini AA, Eskandari M, Parseh S, Hojjati Marvast M. Twelve weeks of resistance training intervention on serum levels of some apoptosis markers in elderly men. J Torbat Heydariyeh Univ Med Sci. 2021; 8(4):10-19.
35. Khansooz M, Malekipooya M. The Response of Some Apoptotic Markers to Exercise Rehabilitation and Electrical Stimulation in Infarcted Rats. Hormozgan Med J. 2024; 28(3):167-176. doi.10.34172/hmj.8274
36. Javid Tabrizi N, Bashiri J, Narimani Rad M. Effect of 12 weeks of treadmill aerobic training on cytochrome C and Caspase-9 gene expression in cardiac muscle of male rats. Qom Univ Med Sci J. 2017; 11(6):1-9.
37. Koçtürk S, Kayatekin BM, Resmi H, Açikgöz O, Kaynak C, Ozer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. Eur J Appl Physiol. 2008; 102(5):515-24. doi.10.1007/s00421-007-0612-7 PMid:18030491
38. Huang C, Lin TJ, Chen CC, Lin WT. Endurance training accelerates exhaustive exercise-induced mitochondrial DNA deletion and apoptosis of left ventricle myocardium in rats. Eur J Appl Physiol. 2009; 107(6):697-706. doi.10.1007/s00421-009-1177-4 PMid:19730878
39. Ho TJ, Huang CC, Huang CY, Lin WT. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, protects against excessive endurance exercise training-induced cardiac hypertrophy, apoptosis and fibrosis in rats. Eur J Appl Physiol. 2012; 112(8):2943-55. doi.10.1007/s00421-011-2270-z PMid:22160250
40. Montazery-Taleghani H, Shakeri N, Ebrahim KH, Souri R, Gholami M. The effect of endurance and resistance training on apoptosis activity and collagen deposition in heart tissue of diabetic rats. J Ardabil Univ Med Sci. 2022; 22(2):186-203. doi.10.52547/jarums.22.2.186
41. Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, Kuo CH, Chan YS, Lin YM, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. Nutr, Metab Cardiovasc Dis. 2013; 23(6): 566-73.doi.10.1016/j.numecd.2011.11.002 PMid:22402061
42. Rezaee N, Rahmani-Nia F, Delfan M, Ghahremani R. The effect of aerobic training and probiotic supplementation on blood glucose levels and caspase-3 gene expression in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport. 2022; 10(23):8-18. doi. 10.22077/jpsbs.2021.4589.1662.
43. Ansari H, Eftekhari E, Banaie J, Keshavarz S. Effect of 8-week swimming exercise and zinc supplementation on renal function markers following unilateral ureteral obstruction in rats. Feyz Med Sci J. 2024;28(5):463-70.doi.10.48307/FMSJ.2024.28.5.463.

How to Cite this Article:
Sharifi H, malekipooya M, Roozbahani M, Morady M, khansooz M. The effect of aerobic exercise combined with electrical stimulation on the expression of caspase-3 and caspase-9 genes in the muscle tissue of obese rats with caloric restriction. Feyz Med Sci J 2025; 29(6):566-577. doi: 10.48307/FMSJ.2025.29.6.3