

## The effect of endurance training and *Ziziphus jujube* extract consumption on apoptosis of cardiac tissue in male Wistar rats

Akbari M<sup>1</sup>, Moradi L<sup>2\*</sup>, Abbassi-Daloi A<sup>3</sup>

1- Department of Physical Education and Sports Science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I. R. Iran.

2- Department of Physical Education and Sports science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I. R. Iran.

3- Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, I. R. Iran.

Received: 2018/06/17 | Accepted: 2018/12/11

### Abstract:

**Background:** Apoptosis is a highly regulated process that ensures the tissue and cellular homeostasis. This study aimed at investigating the effect of endurance training and the *Ziziphus jujube* extract consumption on apoptosis of cardiac tissue in male Wistar rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 32 male Wistar rats aged 8-12 weeks (weighing 195 mg±7.94) were randomly divided into four groups: control, jujube extract, endurance training and endurance training-jujube extract. A moderate endurance training program was conducted for eight weeks and five sessions per week. Rats were received a daily dose of 600 mg/kg of the extract orally. The gene expression of annexin-5 and caspase-3 in cardiac tissue was measured by the real-time PCR.

**Results:** The results showed that there was a significant difference in the mean weight of the heart tissue of male Wistar rats among different groups ( $P<0.001$ ). Changes in annexin-5 expression of the cardiac tissue in training-supplementation group were significantly lower than those in the control group ( $P<0.012$ ). Also, the results showed that changes in caspase-3 expression of the cardiac tissue in supplementation ( $P<0.001$ ), training ( $P<0.013$ ) and training-supplementation ( $P<0.0001$ ) groups were significantly lower than the changes in the control group ( $P<0.012$ ).

**Conclusion:** According to the findings of this study, it seems that endurance training and *jujube* extract consumption can have an interactive effect in reducing apoptosis of the cardiac tissue.

**Keywords:** Exercise, Apoptosis, *Ziziphus Jujube* extract, Cardiac tissue, Rats

\* Corresponding Author.

Email: moradi.lida@gmail.com

Tel: 0098 217 700 9800

Fax: 0098 217 700 9808

Conflict of Interests: No

*Feyz*, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 22, No 6, Pages 547-554

Please cite this article as: Akbari M, Moradi L, Abbassi-Daloi A. The effect of endurance training and *Ziziphus jujube* extract consumption on apoptosis of cardiac tissue in male Wistar rats. *Feyz* 2019; 22(6): 547-54.

# تأثیر تمرین استقامتی و مصرف عصاره عناب بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرائی نر

مریم اکبری<sup>۱</sup>، لیدا مرادی<sup>۲\*</sup>، آسیه عباسی دلویی<sup>۳</sup>

خلاصه:

سابقه و هدف: آپوپتوز یک فرایند تنظیم شده است که هموستاز بافت و سلول را تضمین می‌کند. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی و مصرف عصاره عناب بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرائی نر بود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی تعداد ۳۲ سر موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار با سن ۱۲-۸ هفته و میانگین وزن  $195 \pm 7/94$  گرم به طور تصادفی به ۴ گروه کنترل، عصاره عناب، تمرین استقامتی و تمرین استقامتی-عصاره عناب تقسیم شدند. برنامه تمرین استقامتی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا شد. عصاره عناب (۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) روزانه به صورت خوراکی مصرف گردید. میزان بیان انکسین-۵ و کاسپاز-۳ بافت قلب به روش Real time PCR اندازه‌گیری شد. نتایج: بین میانگین وزن بافت قلب در گروه‌های مختلف تفاوت وجود داشت ( $P < 0/001$ ). تغییرات بیان ژن انکسین-۵ بافت قلبی در گروه تمرین-مکمل نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بوده ( $P < 0/012$ ) و نیز تغییرات بیان ژن کاسپاز-۳ در گروه‌های مکمل ( $P < 0/001$ )، تمرین ( $P < 0/013$ ) و تمرین-مکمل ( $P < 0/001$ ) نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود ( $P < 0/012$ ). نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که تمرین استقامتی با شدت متوسط و مکمل عناب می‌تواند اثر تعاملی در کاهش آپوپتوز قلب داشته باشد.

واژگان کلیدی: تمرین، آپوپتوز، عناب، بافت قلب، موش صحرائی

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۹۷، صفحات ۵۵۴-۵۴۷

## مقدمه

انکسین-۵ نیز یک پروتئین سیتوزولی است که در بسیاری از اعمال فیزیولوژیکی از جمله تثبیت غشاء فسفولیپید، تنظیم انعقاد خون، و آپوپتوز سلول نقش دارد [۵]. انکسین-۵ دارای میل ترکیبی زیادی برای اتصال به فسفاتیدیل سرین است و در تشخیص آپوپتوز در شرایط آزمایشگاهی و در داخل بدن استفاده می‌شود [۶]. فعالیت ورزشی تأثیر مثبتی بر فیزیولوژی و مورفولوژی بافت قلب از جمله قدرت انقباض میوکارد، افزایش اندازه حفره بطن چپ، ضخامت دیواره و افزایش توده قلب دارد که به‌عنوان قلب ورزشکار شناخته شده است [۷]. Barauna و همکاران گزارش کرده‌اند که تمرین مقاومتی به مدت ۴ هفته موجب هیپرتروفی قلب بدون تغییر در عملکرد قلب می‌شود [۸]. Daustar و همکاران نیز مشاهده کرده‌اند که تمرینات مقاومتی (۱۲ تکرار، ۵ روز در هفته) روی موش‌های صحرائی به مدت ۴ هفته آسیب زیادی به قلب نمی‌رساند، زیرا سطح آپوپتوز در تحقیق آنها تغییر نمی‌کند [۹]. در مقابل، Kwak و همکاران گزارش کرده‌اند که ۱۲ هفته تمرین دویدن روی تردمیل (۱۵ متر در دقیقه، با شدت ۷۵ درصد  $VO_{2max}$  و ۵ روز در هفته) به طور معنی‌داری آپوپتوز در بطن چپ را افزایش می‌دهد. بنابراین، تمرین ممکن است افراد را به آسیب میوکارد مستعد کند [۱۰]. از طرف دیگر، سازگاری عضله قلبی به قرار گرفتن در معرض استفاده از مکمل‌های گیاهی و ارتباط آن با فعالیت‌های بدنی به طور ضعیفی درک شده است [۱۱].

شناسایی مکانیسم‌های مولکولی نیم‌رخ حفاظت قلبی در پی فعالیت ورزشی مورد توجه قرار گرفته است. در همین راستا، شواهد نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی با تعدیل مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) میوسیت‌های قلبی مرتبط می‌باشد [۱]. آپوپتوز نوعی مرگ سلولی است که موجب از بین رفتن سلول‌های غیر عملکردی، غیر طبیعی و یا آسیب دیده و همچنین سلول‌های مضر می‌شود. با این حال، هنگامی که آپوپتوز بیش از حد باشد، می‌تواند منجر به تغییرات غیر طبیعی در ساختار و عملکرد قلب شود [۲]. از طرف دیگر، نقش مؤثر کاسپاز-۳ و انکسین-۵ به‌عنوان عوامل پیش‌آپوپتوتیک در کاهش ناپایدار عملکرد قلب و آسیب تارهای عضله قلبی نشان داده شده است [۳]. فعال‌سازی کاسپاز-۳ طی آپوپتوز با بیان فسفاتیدیل سرین در آپوپتوز مرتبط است [۴].

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

\* نشانی نویسنده مسئول:

تهران، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی

تلفن: ۰۲۱۷۷۰۰۹۸۰۰ | دورنویس: ۰۲۱۷۷۰۰۹۸۰۸

پست الکترونیک: moradi.lida@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۷ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۹/۲۰

تأثیر تمرین استقامتی و عصاره عناب بر آپوتوز بافت قلب، ...

دسترس بودن آب و غذا نگهداری شدند. همه آزمایشات بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی مشهد با کد ۳/۱۹۷۵۳ بررسی و تأیید گردید.

#### پروتکل تمرین استقامتی

تمرینات گروه استقامتی به مدت ۸ هفته روی تردمیل جوندگان انجام شد. موش‌های گروه تمرینی ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته روی تردمیل تمرین کردند. پروتکل شامل ۱۰ روز آشنا-سازی حیوان با محیط و دستگاه تردمیل بود که به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر در دقیقه و شیب صفر درصد انجام گرفت. به صورت هفتگی به مدت و سرعت تمرین اضافه شد تا در هفته چهارم به مدت ۵۰ دقیقه و سرعت ۲۴ متر در دقیقه رسید. با احتساب ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین از هفته هشتم به بعد ۶۳ دقیقه شد. به منظور گرم کردن هر جلسه تمرین ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع شده و به آرامی به سرعت دستگاه اضافه شد؛ بدین صورت که هر ۲ دقیقه، ۳ متر در دقیقه به سرعت دستگاه اضافه گردید. از هفته چهارم به بعد، در دقیقه ۱۰ سرعت دستگاه به ۲۴ متر در دقیقه رسید و در هفته آخر در دقیقه ۱۰، سرعت به ۳۰ متر در دقیقه رسید. به منظور سرد کردن نیز، طی مدت ۳ دقیقه سرعت دستگاه به آرامی کاهش پیدا کرد (جدول شماره ۱) [۲۳]. در این مرحله به منظور رعایت موارد اخلاقی، برای وادار کردن حیوان به دویدن از شوک الکتریکی استفاده نشد، بلکه این عمل توسط میله‌ای پلاستیکی صورت گرفت.

#### نحوه تهیه و مکمل دهی عصاره عناب

میوه عناب از شهرستان بیرجند تهیه شد. ابتدا میوه عناب شسته شده و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته خشک شد. سپس، هسته از میوه جدا گشته و پودر شد. عصاره از پودر به دست آمده به وسیله عصاره اتانول ۷۰ درصد استحصال شد. عصاره در داخل مواد نیمه جامد به وسیله بخار چرخشی در دمای حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گشت [۲۴]. عصاره با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و به صورت خوراکی با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گاوآژ شد.

نمونه‌گیری بافت و اندازه‌گیری تغییرات آپوتوزی در بافت قلب در پایان مطالعه حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگه داشته شدند. سپس، حیوانات توزین شده و بعد بیهوش شدند. بیهوشی با استفاده از دسیکاتور حاوی پنبه آغشته به کلروفورم محصول شرکت مرک آلمان انجام شد. پس از گذشت ۴۰ تا ۵۰

امروزه استفاده از عوامل گیاهی و طبیعی اثرگذار بر عملکرد ورزشی در مقایسه با مکمل‌های صناعی در کانون توجه قرار گرفته است. گونه خاصی از زیزیفوس با نام عناب در مناطق زیادی از ایران کشت می‌شود که در طب سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۲]. میوه عناب غنی از کربوهیدرات‌ها، فیبر، پروتئین، چربی، ویتامین‌های ضروری و مواد معدنی است [۱۳] و در مقایسه با ساقه، ریشه و برگ‌های آن دارای ویتامین C و A بیشتری است و غنی از لینولئیک اسید، فلاونوئیدها، تری‌نویید ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، استرول‌ها و نیز اسید لوریک می‌باشد [۱۴، ۱۵]. خواص درمانی متعددی برای عناب به اثبات رسیده است که از جمله آنها می‌توان به خواص ضد التهابی و ضد آپوتوزیس آن اشاره کرد [۱۸-۱۶]. همچنین، نشان داده شده است که تمرین به همراه عصاره عناب می‌تواند از بیماری‌های قلبی-عروقی جلوگیری نماید [۱۹]. با این حال، مطالعات محدودی اثرات عناب بر وضعیت آپوتوز در عضله قلبی در پاسخ به ورزش را مورد بررسی قرار داده‌اند [۲۰، ۲۱]. عوامل متعددی می‌توانند از شدت ضایعه عروق کرونری و سپس آپوتوز میوکارد بکاهد که مهم‌ترین آن‌ها، فعالیت بدنی و مصرف داروهای گیاهی می‌باشد. در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی جهت پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی-عروقی مورد توجه قرار گرفته است [۲۲]؛ به طوری که هم‌راستا با تمرینات ورزشی، استفاده از گیاهان دارویی با خواص بیولوژیکی مختلف به دلیل عوارض جانبی کمتر و تقلیل هزینه‌های درمان توصیه می‌شود. مطالعه در خصوص شیوه‌های غیردارویی اثرگذار در پیشگیری و یا درمان بیماری‌های قلبی-عروقی و درک مکانیسم‌های مداخله‌گر از جمله مسیر آپوتوتیک برای اهداف درمانی ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به موارد یاد شده، تحقیق حاضر قصد دارد به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره عناب بر آپوتوز بافت عضله قلب در موش‌های صحرایی نر بپردازد.

#### مواد و روش‌ها

جامعه آماری پژوهش تجربی حاضر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار پژوهشکده علمی کاربردی دامغان بودند که از میان آن‌ها تعداد ۳۲ سر موش با سن ۱۲-۸ هفته و وزن  $195 \pm 7/94$  گرم به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. سپس، به صورت تصادفی در چهار گروه ۸ تایی کنترل، عصاره عناب، تمرین استقامتی و تمرین استقامتی به همراه عصاره عناب تقسیم شدند. دمای اتاق نگهداری حیوانات  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد با رطوبت ۶۵ تا ۷۵ درصد بود. نمونه‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و در

طراحی پرایمرها، توالی‌های مربوطه از سایت NCBI گرفته شد. پرایمر ژن‌های مدنظر توسط نرم‌افزارهای Allele ID و MEGA6 طراحی و بررسی شد. اختصاصی بودن پرایمرها برای ژن‌های هدف به وسیله برنامه BLAST بررسی گردید.

ثانیه، حیوان در بیهوشی مناسب قرار می‌گرفت. پس از بیهوشی، با ثابت کردن حیوان روی تخته جراحی جوندگان، کالبد شکافی انجام شده و بلافاصله بافت قلب برداشته شد. نمونه‌ها پس از جدا سازی جهت اندازه‌گیری تغییرات آپوتوزی آماده شدند. به‌منظور

جدول شماره ۱- پروتکل تمرینات استقامتی

هفته (۵ جلسه در هر هفته)	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
مدت تمرین (دقیقه/روز)	۳۰	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۰	۶۰
سرعت تردمیل (متر/دقیقه)	۱۲	۱۸	۱۸	۲۴	۲۴	۲۸	۳۰	۳۰

شرکت سازنده انجام گرفت [۲۵]. پس از کسب اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌های وزنی با آزمون شاپیرو-ویلک، جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و برای تعیین تفاوت نوع تمرین از آزمون تعقیبی مقایسه زوج‌ها به روش بونفرونی استفاده شد. تمام عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شده و سطح معنی داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

در این مطالعه از ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شده است. توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول شماره ۲ آمده است. اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای مورد نظر از بافت قلب به‌وسیله تکنیک Real time-PCR سنجش و پس از کمی سازی، مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از Applied PCR master mix (Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Foster City, CA) طبق پروتکل

جدول شماره ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول
GAPDH	Forward	5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC3'	104 bp
	Reverse	5'-TCCACCACCTGTGTCTGTA3'	
Annexin	Forward	5'-CCTGATGGGTGTGTGATCTTGG-3'	123 bp
	Reverse	5'-TTTCTTCATCCGTCACCCAC-3'	
Caspase 3	Forward	5'-CGGGTGCCAGTCATTCATCT-3'	123 bp
	Reverse	5'-AACCGTCTTTGATTTCCACGC-3'	

یک طرفه تغییرات کاسپاز-۳ در گروه‌های نشان می‌دهد که میزان F با درجه آزادی ۳ و ۲۰ برابر با ۱۲/۴۹ و مقدار  $P < 0.0001$  است (نمودار شماره ۲). همچنین، در جدول شماره ۵ سطح تغییرات بیان ژن کاسپاز-۳ بافت قلبی در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که بین گروه‌های کنترل و مکمل ( $P < 0.001$ )، کنترل و تمرین ( $P < 0.013$ ) و کنترل و تمرین+مکمل ( $P < 0.0001$ ) تفاوت معنی دار وجود دارد.

جدول شماره ۳- میانگین و انحراف استاندارد وزن قلب گروه‌های

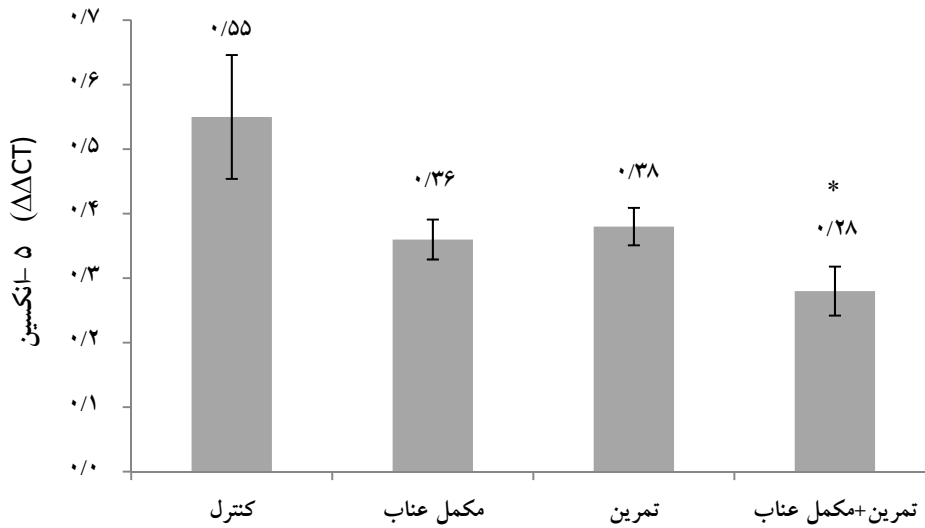
مختلف پژوهش	
گروه‌ها	وزن قلب
گروه کنترل	۱/۱۹±۰/۱۱
گروه مکمل	*۰/۹۷±۰/۰۷
گروه تمرین	*۱/۰۲±۰/۱۰
گروه تمرین+مکمل	*۰/۹۹±۰/۰۷

\* کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل ( $P \leq 0.05$ )

## نتایج

در جدول شماره ۳ میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. نتایج تحلیل واریانس یک طرفه تغییرات وزن قلب در گروه‌های مختلف مطالعه نشان داد که بین چهار گروه از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود دارد. همچنین، نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که بین گروه‌های کنترل و مکمل ( $P < 0.003$ )، کنترل و تمرین ( $P < 0.031$ ) و نیز کنترل و تمرین+مکمل ( $P < 0.008$ ) تفاوت معنی داری وجود دارد. نتایج حاصل از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه تغییرات آنکسین-۵ در گروه‌های مطالعه نشان می‌دهد که میزان F با درجه آزادی ۳ و ۲۰ برابر با ۴/۴۷ و مقدار  $P < 0.015$  است (نمودار شماره ۱). تفاوت سطح تغییرات بیان ژن آنکسین-۵ بافت قلبی در گروه‌های مختلف و مقایسه آنها در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که فقط بین گروه‌های کنترل و تمرین+مکمل تفاوت معنی دار وجود دارد ( $P < 0.012$ ). نتایج تحلیل واریانس

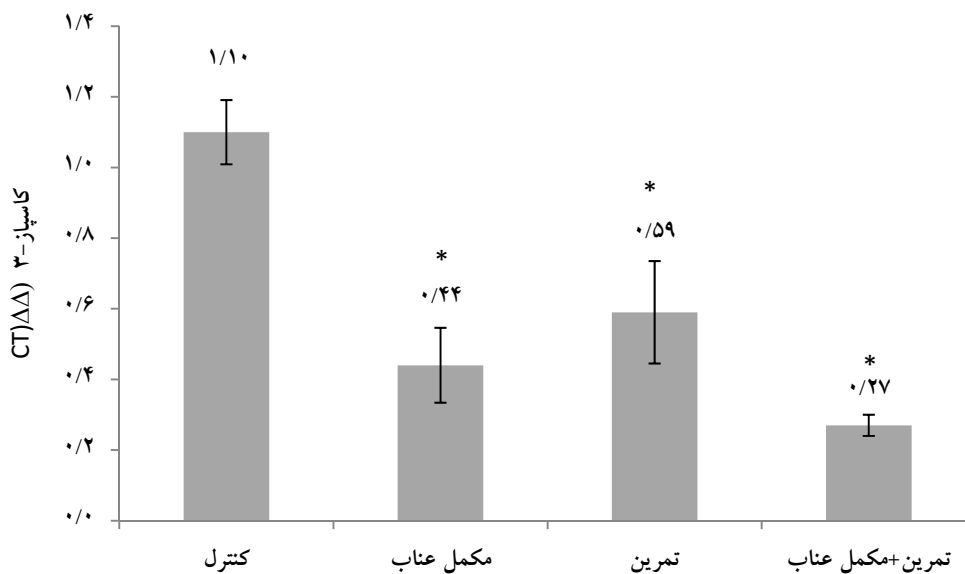
تأثیر تمرین استقامتی و عصاره عناب بر آپوتوز بافت قلب، ...



نمودار شماره ۱- نتایج تحلیل واریانس یک طرفه میانگین بیان ژن انکسین-۵ بافت قلبی در گروه‌های مختلف  
\*کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ( $P < 0.05$ )

جدول شماره ۴- مقایسه تغییرات بیان ژن انکسین-۵ بافت قلبی در گروه‌های مختلف

گروه	گروه	اختلاف میانگین	سطح معنی‌داری
کنترل	مکمل	۰/۱۹۸	۰/۱۲۶
	تمرین	۰/۱۷۵	۰/۲۳۳
مکمل	تمرین+مکمل	۰/۲۸	*۰/۰۱۲
	تمرین	۰/۰۲۳	۱
	تمرین+مکمل	۰/۰۸۳	۱
تمرین	تمرین+مکمل	۰/۱۰	۱



نمودار شماره ۲- نتایج تحلیل واریانس یک طرفه میانگین بیان ژن کاسپاز-۳ بافت قلبی در گروه‌های مختلف  
\*کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ( $P < 0.05$ )

جدول شماره ۵- مقایسه تغییرات بیان ژن کاسپاز-۳ بافت قلبی در گروه‌های مختلف

گروه	گروه	اختلاف میانگین	سطح معنی‌داری
مکمل	۰/۶۷	۰/۰۰۱*	
تمرین	۰/۵۱	۰/۰۱۳*	
تمرین+مکمل	۰/۸۳	۰/۰۰۰۱*	
تمرین	۰/۱۶	۱	بیان ژن کاسپاز-۳ بافت قلبی
تمرین+مکمل	۰/۱۶۶	۱	مکمل
تمرین+مکمل	۰/۳۲۶	۰/۲۱۲	تمرین

## بحث

مصرف عناب موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن انکسین-۵ بافت قلب می‌شود. حبیبی و همکاران نشان دادند ۸ هفته شنا موجب کاهش آپوپتوز در بافت قلب موش‌های صحرائی می‌شود [۲۸]. Cai و همکاران نیز به مقایسه دو روش تمرینی اینتروال با شدت بالا و تمرینات تداومی با شدت متوسط بر فرایند آپوپتوز موش‌های مبتلا به انفارکتوس قلبی پرداختند. نشان داده شد که هر دو روش تمرینی موجب افزایش معنی‌دار پروتئین‌های ضد آپوپتوز میوکارد در مقایسه با گروه کنترل می‌شود [۲۹]. قابل ذکر است که در پژوهش حاضر از پروتکل ۸ هفته‌ای استفاده شد و احتمال دارد سازگاری‌های ناشی از تمرین سبب فعال‌سازی مسیرهای ضد آپوپتوزی شده باشد. لذا، این مسیرها می‌تواند زمینه‌ساز تنظیم کلسیم و در نتیجه تعدیل بیان ژن انکسین-۵ در تحقیق حاضر باشد؛ به طوری که تجمع این پروتئین به شدت در حضور منیزیم، باریم یا استرانسیم انجام نمی‌گیرد، اما توسط کلسیم فعال می‌شود [۳۰]. اگرچه عملکرد انکسین-۵ قلبی شناخته شده نیست، اما نشان داده شده است بنزودیازپین مشتق از K201 که فعالیت کانال‌های کلسیمی انکسین را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند، از قلب در برابر اثرات سمی کلسیم مرتبط با آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد محافظت می‌کند [۳۱]. همان‌طور که ذکر شد، کاهش اثر ROS ایمنی سلول را بالا می‌برد و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند. لذا، این احتمال وجود دارد که عناب موجب بهبود در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تعدیل انکسین شود. همچنین، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل عناب موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز-۳ بافت قلب می‌شود. در همین راستا، نشان داده شده است که فعالیت کاسپاز-۳ عضله قلبی متعاقب ۵ هفته تمرین شنا در موش‌های صحرائی کاهش می‌یابد [۳۲]. نتایج شکرری و همکاران نیز نشان داد که تمرینات شنا (یک ساعت در روز، ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته) با کاهش معنی‌دار کاسپاز-۳ در موش‌های صحرائی همراه است [۳۳]. Seo و همکاران نیز کاهش معنی‌دار کاسپاز-۳ در موش‌های صحرائی متعاقب ۴ هفته تمرین دویدن اختیاری را

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف مکمل عناب موجب تغییر معنی‌دار در وزن بافت قلب می‌شود. ورزش و تمرین باتوجه به نوع و شدت آن می‌تواند موجب تاثیر مثبت بر فیزیولوژی و مورفولوژی بافت قلب از جمله قدرت انقباض میوکارد، افزایش اندازه حفره بطن چپ، ضخامت دیواره و افزایش توده قلب شود که به عنوان قلب ورزش‌کار شناخته شده است [۷]. اثرات مفید عناب بر قلب مورد تایید قرار گرفته و نشان داده شده است که عناب به کاهش وزن کمک می‌کند [۲۶]. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که وزن بافت قلب در گروه‌های تجربی کمتر از گروه کنترل می‌باشد که موید این مطلب است. هم‌خوان با یافته‌های تحقیق حاضر، Ganachari و همکاران در تحقیقی نشان دادند دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عناب طی ۱۲۵ روز موجب کاهش وزن موش‌های چاق می‌شود [۲۶]. مکانیسم تاثیر عناب و ورزش بر کاهش وزن بافت قلب مشخص نشده و احتمال دارد که تمرین به همراه مکمل عناب از طریق تغییر متابولیسم قلب موجب کاهش وزن بافت شود. برخلاف نتایج ما، El-Sayed و همکاران در مطالعه‌ای با استفاده از دوزهای مختلف (۵، ۱۵ و ۳۰ گرم در روز) پودر عناب و تاثیر آن بر عملکرد کبدی ۸۳ نفر (۴۱ مرد و ۴۲ زن) در سنین ۲۰ تا ۵۷ سال پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد فقط دوز ۳۰ گرم در روز موجب کاهش وزن شده و دوزهای ۵ و ۱۵ گرم تاثیر چندانی بر کاهش وزن نداشتند [۲۷]. همچنین، Ebrahimi و همکاران پس از تجویز عصاره عناب با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، بعد از ۴۵ روز تفاوت معنی‌داری در میانگین درصد وزن کبد به وزن بدن در گروه‌های تجربی مشاهده نکردند [۲۴]. تناقض موجود در تحقیقات گزارش شده را می‌توان به میزان دوز مصرفی عناب، نوع بافت و نوع آزمودنی‌ها نسبت داد. با این حال، تاثیر عناب بر بافت قلب تاکنون گزارش نشده که نیازمند تحقیقات بیشتری برای روشن‌تر شدن نتایج می‌باشد. همچنین، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی به همراه

تأثیر تمرین استقامتی و عصاره عناب بر آپوپتوز بافت قلب، ...

آپوپتوز توسط عصاره عناب می‌باشد [۱۷، ۱۸]. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که عناب به روش وابسته به دوز بر عوامل تخریب بافتی اثر می‌گذارد [۲۴]. بنابراین، احتمالاً پاسخ آپوپتوزی و تغییرات بافتی به مصرف عناب وابسته به دوز می‌باشد. همچنین، مقایسه نتایج به‌دست آمده از تحقیقات مختلف اغلب به دلیل ترکیبات عصاره که تا حد زیادی به منطقه جغرافیایی، نوع، سن گیاه، روش خشک کردن و روش استخراج عصاره وابسته است [۲۲]، دشوار می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی به‌همراه مصرف مکمل عناب موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های انکسین-۵ و کاسپاز-۳ بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود. به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی و عناب می‌تواند اثر تعاملی در کاهش آپوپتوز قلب داشته باشد.

#### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال می‌باشد. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

#### References:

- [1] Santana ET, Serra AJ, Silva Junior JA, Bocalini DS, Barauna VG, Krieger JE, et al. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Motriz Rev Educ Fis* 2014; 20(2): 233-8.
- [2] Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267(5203): 1456-62.
- [3] Condorelli G, Roncarati R, Ross J Jr, Pisani A, Stassi G, Todaro M, et al. Heart-targeted overexpression of caspase3 in mice increases infarct size and depresses cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(17): 9977-82.
- [4] Narula J, Haider N, Arbustini E, Chandrashekar Y. Mechanisms of disease: apoptosis in heart failure-seeing hope in death. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3(12): 681-8.
- [5] Laohavisit A, Davies JM. Multifunctional annexins. *Plant Science* 2009; 177(6): 532-9.
- [6] Van Genderen H, Kenis H, Lux P, Ungeth L, Maassen C, Deckers N, et al. In vitro measurement of cell death with the annexin A5 affinity assay. *Nat Protoc* 2006; 1(1): 363-7.

گزارش کرده‌اند [۳۴]. مکانیسم‌های حفاظت در برابر آپوپتوز به-علت پیشگیری ممکن است توسط NF-kB متاثر شود که مانع از حساسیت به آپوپتوز شده و می‌تواند تنظیم افزایش سلول‌های ضد آپوپتوتیک را تقویت کند [۳۵]. در تحقیقات قبلی مشاهده شد که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوتوتیک Bax و افزایش پروتئین ضد آپوتوتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C مانع فعال شدن کاسپاز-۹ شود. کاسپاز-۹ نیز با فعال‌سازی کاسپاز-۳ می‌تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود [۳۶]. نشان داده شده است که ورزش در کاهش آپوپتوز و سیگنال‌دهی آپوپتوتیک در پاسخ‌دهی به اختلالات حاد میوکارد موثر است [۳۷]. این یک دیدگاه مهم است که اهمیت ورزش را برای بهبود سیگنال‌دهی آنتی‌اکسیدان به‌عنوان وسیله‌ای برای جلوگیری از آپوپتوز در میوکارد برجسته می‌کند. باین‌حال، مخالف با یافته‌های تحقیق حاضر، Li و همکاران نشان دادند که فعالیت ورزشی میزان آپوپتوز را با افزایش بیان پروتئین‌های کاسپاز-۳ در یک مدل موش‌های صحرایی دچار سکتة مغزی افزایش می‌دهد. این پژوهشگران بر تأثیر زمان تمرین در توانبخشی پس از سکتة مغزی تأکید کردند [۳۸]. علت تناقض تحقیق حاضر با یافته فوق نیز احتمالاً نوع آزمودنی‌ها، شرایط آزمودنی‌ها و نوع پروتکل تمرینی می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد در گروه عصاره عناب بیان ژن‌های انکسین-۵ و کاسپاز-۳ به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. مطالعات قبلی حاکی از اثرات آپوپتوزی و مهار کننده

- [7] Haykowsky MJ. Left ventricular remodelling and the athlete's heart: time to revisit the Morganroth hypothesis. *J Physiol* 2011; 589(Pt 24): 5915-8.
- [8] Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, de Oliveira EM. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. *Clin Med Res* 2007; 5(2): 114-20.
- [9] Doustar Y, Soufi FG, Jafary A, Saber MM, Ghiasse R. Role of four-week resistance exercise in preserving the heart against ischaemia-reperfusion-induced injury: cardiovascular topic. *Cardiovasc J Afr* 2012; 23(8): 451-5.
- [10] Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J* 2006; 20(6): 791-3.
- [11] Gao QH, Wu CS, Wang M. The Jujube (Ziziphus Jujuba Mill.) Fruit: A Review of Current Knowledge of Fruit Composition and Health Benefits. *J Agric Food Chem* 2013; 61(14): 3351-63.
- [12] Riezzo I, Di Paolo M, Neri M, Bello S, Cantatore S, D'Errico S, et al. Anabolic steroid-and exercise-induced cardio-depressant cytokines and myo-

- cardial  $\beta$ 1 receptor expression in CD1 mice. *Curr Pharm Biotechnol* 2011; 12(2): 275-84.
- [13] Li JW, Fan LP, Ding SD, Ding XL. Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Foodchem* 2007; 103(2): 454-60.
- [14] Benammar C, Hichami A, Yessoufou A, Simonin AM, Belarbi M, Allali H, et al. Zizyphus lotus L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC Complement Altern Med* 2010; 10: 54.
- [15] Mesulam MM, Guillozet A, Shaw P, Levey A, Duysen EG, Lockridge O. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* 2002; 110(4): 627-39.
- [16] Abedini MR, Erfanian N, Nazem H, Jamali S, Hoshyar R. Anti-proliferative and apoptotic effects of Zizyphus Jujube on cervical and breast cancer cells. *Avicenna J Phytomed* 2016; 6(2): 142-8.
- [17] Sun YF, Song CK, Viernstein H, Unger F, Liang ZS. Apoptosis of human breast cancer cells induced by microencapsulated betulinic acid from sour jujube fruits through the mitochondria transduction pathway. *Food Chem* 2013; 138(2-3): 1998-2007.
- [18] Plastina P, Bonofiglio D, Vizza D, Fazio A, Rovito D, Giordano C, et al. Identification of bioactive constituents of Zizyphus jujube fruit extracts exerting antiproliferative and apoptotic effects in human breast cancer cells. *J Ethnopharmacol* 2012; 140(2): 325-32.
- [19] Ghanbari Niaki A, Hosseini F, Rooadbari F, Rahmati Ahmadabad S, Rooadbari M. Effects of aerobic training, with or without Zizyphus Jujuba water extraction, on fundus nesfatin-1, ATP, HDL-C, and LDL concentrations in female rats. *J Phys Activ Health* 2013; 4(1): 9-16.
- [20] Liang S, Juan J. Effect of jujube extract on oxidative injury in heart muscles of exhausted training rats. *Afr J Microb Res* 2011; 5(14): 1896-9.
- [21] Tayebi SM, Agha-Alinejad H, Shafae S, Gharakhanlou R, Asouri M. Short-term effects of oral feeding jujube Zizyphus solution before a single session of circuit resistance exercise on apoptosis of human neutrophil. *Ann Appl Sport Sci* 2014; 2(1): 53-68.
- [22] Al-Reza SM, Bajpai VK, Kang SC. Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from Zizyphus jujuba. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(9): 2374-80.
- [23] Haghshenas R RA, Kordi MR, Hedayati M, Shabkhiz F, Shariatzade M. Effects of twelve weeks' endurance training on weight, food intake, and plasma levels of nesfatin-1 in obese male rats. *J Basic Med Sci* 2011; 3(5):77-85.
- [24] Ebrahimi S, Sadeghi H, Pourmahmoudi A, Askariyan SH, Askari S. Protective effect of Zizyphus vulgaris extract, on liver toxicity in laboratory Rats. *Armaghane Danesh* 2011; 16(2): 172-80.
- [25] Saunders NA, Lee MA. Real time PCR: Advanced Technologies and Applications *Caister Academic Press* 2013.
- [26] Ganachari MS, Kumar S. Anti-Ulcer Properties of Zizyphus jujuba Lam Leaves Extract in Rats. *J Natural Remedies* 2004; 4(2): 103-8.
- [27] Mostafa UE, Labban L. Effect of Zizyphus jujuba on serum lipid profile and some anthropometric measurements. *Adv Med Plant Res* 2013; 1(3): 49-55.
- [28] Habibi P, Alihemmati A, NourAzar A, Yousefi H, Mortazavi S, Ahmadiasl N. Expression of the Mir-133 and Bcl-2 could be affected by swimming training in the heart of ovariectomized rats. *Iran J Basic Med Sci* 2016; 19(4): 381.
- [29] Cai MX, Shi XC, Chen T, Tan ZN, Lin QQ, Du SJ, et al. Exercise training activates neuregulin 1/ErbB signaling and promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model. *Life Sci* 2016; 149: 1-9.
- [30] Creutz CE, Pazoles CJ, Pollard HB. Identification and purification of an adrenal medullary protein (synexin) that causes calcium-dependent aggregation of isolated chromaffin granules. *J Biol Chem* 1978; 253(8): 2858-66.
- [31] Hachida M, Kihara S, Nonoyama M, Koyanagi H. Protective effect of JTV519, a new 1, 4-benzothiazepine derivative, on prolonged myocardial preservation. *J Card Surg* 1985; 2(3): 187-93.
- [32] Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *Int J Health Sci* 2013; 7(1): 47.
- [33] Shokri S, Aitken RJ, Abdolvahabi M, Abolhasani F, Ghasemi FM, Kashani I, et al. Exercise and supraphysiological dose of nandrolone deconate increase apoptosis in spermatogenic cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010; 106(4): 324-30.
- [34] 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 Exerc Nutrition Biochem* 2016; 20(3):16.
- [35] Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das D. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. *FEBS Lett* 2000; 485 (1): 7-12.
- [36] 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 Alternat Med* 2013; 1-12.
- [37] Kavazis AN, McClung JM, Hood DA, Powers SK. Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(2): H 928-35.
- [38] Li F, Shi W, 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.