Original Article

Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats

Sadighi A[1], Abdi A[2*], Azarbayjani MA[3], Barari AR[4]

1- Ph.D Candidate in Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, I.R. Iran.
2- Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, I.R. Iran.
3- Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Science, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.
4- Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, I.R. Iran.

Received: 2019/01/15 | Accepted: 2019/09/3

Abstract:

Background: Cardiac apoptosisplays an important role in myocardial diseases. Current evidence suggests that exercise training may modify some apoptosis-related signaling in myocardium. This study aimedto investigate the effect of aerobic training on cardiac Bax, Bcl2 and caspase-3 inmale rats.

Materials and Methods: In this experimental study, Sixteen Wistar male rats 10 weeks old with 299.74±19.32 g weight were randomly classified into control and training groups. Training groups have performed an aerobic running program (at 10-18 m/min, 10-40 min/day, and 5 days/week) on a motor-driven treadmill for six weeks.Forty eight hours after the last training session, rats were sacrificed; hearts were excised and immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C.Bax, Bcl2 and caspase3 protein expression were evaluated by ELISA and western blot. Data were analyzed using Independent t-test and ANCOVA at $P<0.05$.

Result: The results showed that six weeks aerobic training significantly decreased heart Bax in rats ($P=0.045$). Also heart Bcl2 ($P=0.003$) and caspase-3 ($P=0.040$) were significantly increased in comparison to the training group.

Conclusion: Moderate-intensity aerobic exercise seems to modify some factors affecting the apoptosis of the heart tissue of male rats.

Keywords: Exercise training, Cardiac disease, Caspase3, Bax, Bcl2

***Corresponding Author:**
Email: a.abdi58@gmail.com
Tel: 0098 911 3001 960
Fax: 0098 114 321 7009

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 23, No5, Pages 495-502

Please cite this article as:Sadighi A, Abdi A, Azarbayjani AA, Barari AR. Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats.***Feyz***2019; 23(5): 495-502.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]

اثر تمرین هوازی بر برخی شاخص‌های آپوپتوز بافت قلب موش‌های صحرایی نر

عقیل صدیقی [۱]، احمد عبدی [۲*]، محمّدعلی آذربایجانی [۳]، علیرضا براری [۴]

خلاصه:

سابقه و هدف: آپوپتوز قلبی نقش مهمّی در بیماری‌های قلبی دارد. شواهد اخیر حاکی از آن است که تمرینات ورزشی ممکن است برخی از مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به آپوپتوز را در میوکارد تحت‌تأثیر قرار دهد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین هوازی بر Bax، Bcl2 و کاسپاز-۳ عضله قلبی موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، شانزده سر موش صحرایی نر ویستار ده‌هفته‌ای با وزن ۱۹/۳۲±۲۹۹/۷۴ گرم به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل و تمرین تقسیم شدند. گروه‌های تمرین به‌مدت شش هفته برنامه تمرین هوازی (۱۸-۱۰ متر در دقیقه، ۴۰-۱۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته) را روی تردمیل انجام دادند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها کشتار شدند، بافت قلب برداشته و بلافاصله در محلول نیتروژن فریز و در دمای ۸۰- نگهداری شد. بیان پروتئین Bax، Bcl2 و اندازه‌گیری کاسپاز-۳ عضله قلبی با روش الایزا و وسترن‌بلات انجام شد. داده‌ها بااستفاده از آزمون t مستقل و ANCOVA در سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ آزمون شدند.

نتایج: یافته‌ها نشان داد تمرینات هوازی باعث کاهش معنی‌داری در سطوح Bax بافت قلبی شد ($P=۰/۰۴۵$). همچنین مقادیر Bcl2 ($P=۰/۰۰۳$) و کاسپاز-۳ ($P=۰/۰۰۴$) گروه تمرینی افزایش معنی‌داری نشان داد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی با شدت متوسط می‌تواند باعث تعدیل برخی عوامل مؤثر بر آپوپتوز بافت قلبی موش‌های صحرایی نر شود.

واژگان کلیدی: تمرین ورزشی، بیماری قلبی، کاسپاز-۳، Bax و Bcl2

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۵، آذر و دی ۹۸، صفحات ۵۰۲-۴۹۵

مقدمه

آپوپتوز، برنامه خودکشی فیزیولوژیکی سلولی است که ممکن است در بسیاری از اختلالات قلبی بالینی شرکت داشته باشد. این برنامه به‌طور مشخص از طریق گروهی از خانواده B- cell Lymphoma 2 (Bcl2) کنترل می‌شود که شامل پروتئین‌های خانواده ضدّآپوپتوز است و درمقابل خانواده پیش-آپوپتوز Bcl2 قرار می‌گیرند و می‌توانند تولید دایمر همسان Homodimerise یا غیرهمسان Hetrosideh نمایند و به‌نظر می‌رسد دارای اثرات پیش‌آپوپتیکی و یا ضدّآپوپتیکی مشخص هستند.

۱. دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۳. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**

استان مازندران، شهرستان آمل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، گروه فیزیولوژی ورزشی

تلفن: ۰۹۱۱۳۰۰۱۹۶۰ **دورنویس:** ۰۱۱۴۳۲۱۷۰۰۹

پست الکترونیک: a.abdi58@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۸/۶/۱۲

مطالعات نشان داده‌اند، افزایش تعداد اعضای خانواده Bcl2 پیش‌آپوپتوزی یا کاهش اعضای ضدّآپوپتیکی خانواده Bcl2، کنترل‌کننده‌های مسیر آپوپتوزی می‌باشند. علاوه‌بر Bcl2، Bax (Bcl-2-Like Protein4) نیز از پروتئین‌های اصلی و مهم در تنظیم آپوپتوز می‌باشد. Bcl2 پروتئین ضدّآپوپتوزی است که افزایش بیان این پروتئین، سلول قلبی را در مقابل مرگ سلولی محافظت می‌کند، در حالی‌که Bax یک پروتئین پیش‌آپوپتوزی بوده، به مقدار زیادی طی آپوپتوز بیان می‌شود. افزایش نسبت Bax به Bcl2 معمولاً برای تعیین القای آپوپتوز در بافت‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱]. Bax پروتئینی است که با خنثی‌کردن عمل Bcl2، آپوپتوز را فعال نموده، تغییراتی در بافت-ها ایجاد می‌نماید که شامل کاهش shrinkage یا مهار چسبندگی سلول آپوپتوزی به سلول‌های دیگر و ماتریکس خارج سلولی، ایجاد تاول‌های غشای پلاسمایی Blebbing و تراکم Condensation هسته‌ای، قطعه‌قطعه‌کردن DNA cleavage ژنومی، افزایش اندازه‌ی رتیکولوم آندوپلاسمیک، آزادسازی ریبوزوم‌ها و تجزیه سلول به اجسام آپوپتوزی سلول در حال مرگ می‌باشد. به‌طورکلی Bax، محرک بسیار قوی مرگ سلولی است در صورتی‌که عملکرد Bcl2 در راستای افزایش بقای سلولی است [۲]. بیشتر پژوهش‌ها نشان داده‌اند که جابه‌جایی پروتئین Bax به طرف میتوکندری و قرارگرفتن آن در داخل غشای بیرونی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]

سبب رهایش سایر عوامل آپوپتوزی (مانند سیتوکروم C) از فضای بین غشای میتوکندری می‌شود، این در حالی است که پروتئین Bcl2 با فعالیت پیش‌آپوپتوزی پروتئین Bax مخالفت می‌نماید و موجب حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری می‌شود [۴،۳]. در نهایت پیام‌های آپوپتوزی در فعال‌سازی کاسپازهایی Caspasese، مثل کاسپاز-۳ هم‌راستا شده، باعث تخریب احتمالی سلول می‌شوند [۶،۵]. بنابراین پژوهشگران همواره به‌دنبال روش‌های مناسب برای پیشگیری از آپوپتوز و بیماری‌های مختلف قلبی مرتبط با آن هستند. در دهه‌های اخیر، تأثیر فعالیت‌ها و تمرین ورزشی بر آپوپتوز مورد علاقه محققان حوزه ورزش قرار گرفته است [۷]. در این‌باره، بعضی از پژوهشگران عنوان نمودند که یک جلسه فعالیت ورزشی تا ۴۸ ساعت می‌تواند موجب افزایش سرعت آپوپتوز شود [۶،۵]. این در حالی است که برخی مطالعات نشان داده‌اند انجام تمرینات ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود. در این راستا، افشار جعفری و همکاران نشان دادند ۳ ماه تمرین هوازی در کاهش پروتئین پیش آپوپتوزی میتوکندری قلبی مؤثر بوده است [۸]. همچنین مک میلان و همکاران گزارش کردند که شش هفته تمرین استقامتی موجب کاهش قطعه‌قطعه شدن DNA، رهایش سیتوکروم C و پروتئین Bax می‌شود [۹]. کی واک، نیز بیان نمود که تمرین استقامتی، افزایش پیام‌رسانی آپوپتوزی و فرآیند آپوپتوز را معکوس می‌کند و پیشنهاد کرد که تمرین استقامتی از قلب در مقابل آپوپتوز محافظت می‌نماید [۱۰]. با این حال برخلاف نتایج پژوهش گفته‌شده، Siu و همکاران نشان دادند که تفاوت معنی‌داری بین بیان پروتئین عامل القاکننده (AIF) Apoptosis induction factor و کاسپاز-۹ در عضله نعلی و قلبی گروه‌های تمرین‌کرده و تمرین‌نکرده، پس از ۸ هفته تمرین هوازی روی نوار گردان وجود نداشت [۱۱]. باتوجه به نتایج متناقض یافته‌ها در آپوپتوز عضله قلبی، همچنین با توجه به اهمیت تمرینات هوازی و فشارهای مکانیکی و متابولیکی نسبتاً شدید و طولانی‌مدت حین تمرینات مذکور و نقش عضلات قلبی در سلامتی، این موضوع یکی از چالش‌های جدّی است که می‌تواند ذهن پژوهشگران را به خود جلب نماید. با توجه به مطالعات انجام‌شده تا به امروز، بیشتر مقالات بر روی بیان ژن تمرکز نموده‌اند، بنابراین در این پژوهش به بررسی بیان پروتئین عوامل درگیر در فرآیندهای آپوپتوز قلبی موش‌های نر ویستار پرداخته شده‌است. هدف این پژوهش بررسی اثر تمرین هوازی بر Bax، Bcl2 و کاسپاز-۳ عضله قلبی در موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی بوده، همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خطّ مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده‌است. از آن‌جایی‌که پژوهش حاضر روی بافت قلب انجام شده و بعد از نمونه‌گیری بافتی امکان زنده ماندن حیوان و اجرای پروتکل امکان‌پذیر نبود، از طرح آزمایشی پس‌آزمون با گروه کنترل استفاده شد. تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر ۱۰ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزن ۱۹/۳۲±۲۹۹/۷۴ گرم از انستیتو پاستور تهیه و به آزمایشگاه جانورشناسی پردیس بین‌الملل دانشگاه علوم پزشکی یزد منتقل شدند. حیوانات مورد آزمایش در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط ۱/۴±۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ۴±۵۵/۶ درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. آزمودنی‌ها پس از ۴ روز آشنایی با محیط آزمایشگاه به روش تصادفی به ۲ گروه کنترل (۸ سر) و تمرین (۸ سر) تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی

قبل از اجرای پروتکل تمرینی، تمامی حیوانات به مدت یک هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه آشنایی شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۸-۵ متر در دقیقه و شیب صفر درصد و به‌مدت ۱۰-۸ دقیقه بود. برنامه فعالیت‌بدنی استقامتی با افزایش تدریجی سرعت و زمان آغاز شد، به‌طوری‌که در هفته اوّل با سرعت m/min ۱۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه، در هفته دوم با سرعت m/min ۱۰ و به‌مدت ۲۰ دقیقه، در هفته سوم با سرعت m/min ۱۵-۱۴ به‌مدت ۲۰ دقیقه، در هفته چهارم با سرعت m/min ۱۵-۱۴ به‌مدت ۳۰ دقیقه، در هفته پنجم با سرعت m/min ۱۸-۱۷ به‌مدت ۳۰ دقیقه و در هفته ششم با سرعت m/min ۱۸-۱۷ و به‌مدت ۴۰ دقیقه بود. فعالیت‌بدنی به‌مدت ۵ روز در هفته بوده، در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرین، ۳ دقیقه گرم‌کردن و سردکردن با سرعت m/min ۵-۴ انجام گرفت. به‌منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد؛ بدین‌صورت که در جلسات اوّل، از محرّک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرّک صوتی استفاده شد و پس از شرطی‌نمودن موش‌ها به همراه بودن دو محرّک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرّک صوتی استفاده شد [۱۲].

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]

روش نمونه‌گیری بافت

بعد از بیهوشی و قطع نخاع کردن حیوان، ناحیه قفسه سینه شکافته و قلب از بدن حیوان با دقت جدا شد و بلافاصله پس از جداسازی و شست‌وشو با محلول سالین فوراً در تیوب‌ها قرار داده شد و به نیتروژن مایع انتقال داده شد و سپس در یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد.

لیزکردن بافت‌ها

نمونه‌ها از فریزر خارج و به روی یخ منتقل شدند. ۲۰۰ میکرولیتر بافر RIPA روی هر نمونه اضافه و در مدت ۱ ساعت سه‌بار نمونه‌ها بااستفاده از هموژنایزر (مدل IKA ،T 10 Basic آلمان) کاملاً له شدند. RIPA به نسبت ۲۵۰/۱ با PMSF مخلوط شد. سپس سوسپانسیون با دور rpm۱۲۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت به یک میکروتیوپ ۱ سی‌سی منتقل شد و ۰/۵ میکرولیتر از آن جهت تعیین غلظت پروتئین در یک میکروتیوپ دیگر ریخته شد.

سنجش Bcl2 و Bax

میزان بافتی Bcl2 و Bax به‌روش الایزا بااستفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی باتوجه به دستورالعمل کارخانه سازنده (ZellBio کشور آلمان) انجام شد. حساسیت روش اندازه‌گیری برای Bcl2 و Bax به‌ترتیب ۰/۳ و ۰/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر بود.

وسترن بلات

برای انجام آزمون وسترن بلات، مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی اکریل آمید SDS- PAGE، ۱۲ درصد جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شد و کاغذ در محلول بلاتینگ به‌مدت یک‌ساعت قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اوّلیه (ab13847) شرکت Abcam در چهار درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و در روز دوم، سه‌بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه (ab97051) شرکت Abcam به‌مدت یک ساعت آنکوبه شد، بعد از این مرحله بلات‌ها با کیت ECL پوشانده شد و بااستفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شد. سپس بلات‌ها در بافر استریپینگ شستشو داده شد و آنتی‌بادی بتااکتین به روی کاغذ گذاشته شد و دوباره آنتی‌بادی ثانویه آنکوبه شد و بتااکتین کنترل نیز در فیلم رادیولوژی ظاهر شد و توسط برنامه IMAGE J به‌دست آمده، دانسیتومتری شد.

اندازه‌گیری کاسپاز-۳

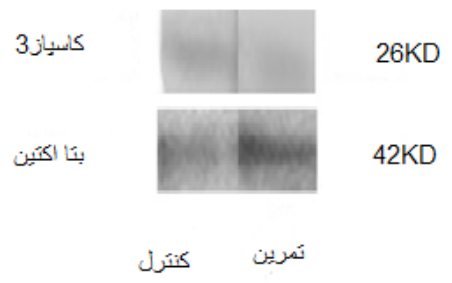
سنجش فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ بااستفاده از کیت شرکت Abcam براساس راهنمای شرکت سازنده انجام شد. کاسپاز ۳ با تأثیر بر سوبسترای موجود در کیت و تجزیه‌وتحلیل آن، یک محصول با فلورسانس بالا تولید کرده است که در طول موج ۴۸۵ نانومتر برانگیخته می‌شود و نوری با طول موج ۵۳۵ نانومتر از خود ساطع می‌کند که توسط دستگاه فلوریمتر خوانده می‌شود [۱۳].

تحلیل آماری

از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک برای نرمال‌بودن داده‌ها و از آزمون t مستقل برای تجزیه‌وتحلیل شاخص‌های آپوپتوز قلب استفاده شد. برای تجزیه-وتحلیل آماری قبل و پس‌آزمون شاخص‌های وزن، قد، BMI، VO2max و گلوکز از آزمون t زوجی و برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آزمون ANCOVA استفاده شد. لازم به ذکر است که داده‌ها به صورت انحراف معیار±میانگین بیان شده‌است. محاسبه بااستفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

تغییرات Bax، Bcl2 و کاسپاز-۳ در گروه تمرین و کنترل پس از شش هفته تمرین هوازی در جدول شماره ۱ ارائه شده‌است. نتایج تجزیه‌وتحلیل یافته‌ها نشان می‌دهد که میزان پروتئین BAX ($P=۰/۰۴۵$) و BCL2 ($P=۰/۰۰۳$) عضله قلبی رت‌ها به دنبال ۶ هفته تمرین به‌ترتیب، کاهش و افزایش معنی‌داری داشت (نمودار شماره ۱ و ۲). همچنین نتایج نشان داد که میزان بیان پروتئین کاسپاز-۳ عضله قلبی در گروه تجربی پس از شش هفته تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ($P=۰/۰۰۴$). وسترن بلات نشان داد که چگالی باند کاسپاز-۳ گروه تمرین نسبت به باند β-actin افزایش داشت (شکل شماره ۱ و نمودار شماره ۳).



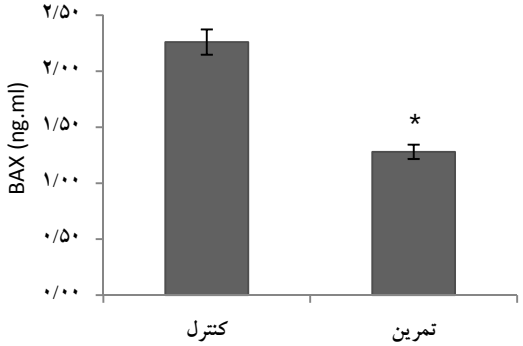
شکل شماره ۱- نتایج وسترن بلات کاسپاز-۳ عضله قلبی موش‌های گروه کنترل و تمرین

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]

جدول شماره ۱- نتایج آزمون درون‌گروهی و بین گروهی مربوط به متغیرهای پژوهش در گروه‌های آزمودنی

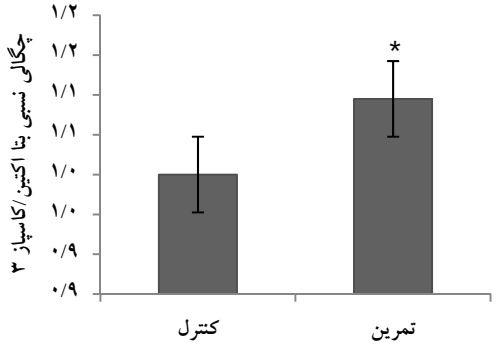
متغیر اندازه‌گیری شده		گروه کنترل (n=۸)	گروه تجربی (n=۸)	P بین‌گروهی
وزن (گرم)	پیش‌آزمون	۲۹۱/±۲۱/۱۸	۳۰۸/۴۷±۱۳/۷۹	۰/۳۱۴
	پس‌آزمون	۳۴۵/۵۰±۲۳/۴۳	۳۶۸/۳۲±۱۶/۵۹	
	P درون‌گروهی	۰/۰۰۱ *	۰/۰۰۱ *	
قد (سانتی‌متر)	پیش‌آزمون	۲۱۳/۳۳±۶۰/۵۵	۲۲۰/۸۳±۹۱/۷۴	۰/۱۷۳
	پس‌آزمون	۲۴۰±۷۰/۷۱	۲۳۶/۶۶±۲۵/۸۲	
	P درون‌گروهی	۰/۰۰۱ *	۰/۰۰۵ *	
* BMI (Kg/m2)	پیش‌آزمون	۶۳/۸۷±۲/۳۵	۵۹/۵۸±۲/۷۱	۰/۰۰۴
	پس‌آزمون	۶۳/۴۷±۵۱/۴	۶۵/۷۳±۲/۴۸	
	P درون‌گروهی	۰/۰۴۴ *	۰/۴۰۷	
VO2max	پیش‌آزمون	۲۰±۳۲/۸۶	۲۲/۳۳±۱/۰۳	۰/۰۰۰
	پس‌آزمون	۲۱/۳۳±۱/۹۶	۳۱/۳۳±۱/۵۰	
	P درون‌گروهی	۰/۷۶۹	۰/۰۰۳ *	
گلوکز (mg.dl)	پیش‌آزمون	۱۰۰/۳۳±۱۳/۸۰	۱۰۳/۶۶±۹/۰۲	۰/۰۰۰
	پس‌آزمون	۹۹±۵/۲۱	۸۶±۲/۳۶	
	P درون‌گروهی	۰/۲۸۶	۰/۰۰۱ *	
BCL2 (ng/ml) (پس‌آزمون)		۱۰/۸۴±۳/۲۵	۱۲/۴±۱/۴۸	۰/۰۰۳
BAX (ng/ml) (پس‌آزمون)		۲/۲۶±۰/۸۹	۱/۲۸±۰/۶۹	۰/۰۴۵
BAX/ BCL2 (پس‌آزمون)		۰/۲۰۷±۰/۰۴۹	۰/۰۸۶±۰/۰۳۸	۰/۰۰۳
کاسپاز-۳ (دانسیته نسبی کاسپاز-۳/ بتا اکتین)		۱	۱/۰۹۵±۰/۱۳	۰/۰۰۴

BMI (Body Mass Index) شاخص توده بدنی، * تفاوت درون‌گروهی



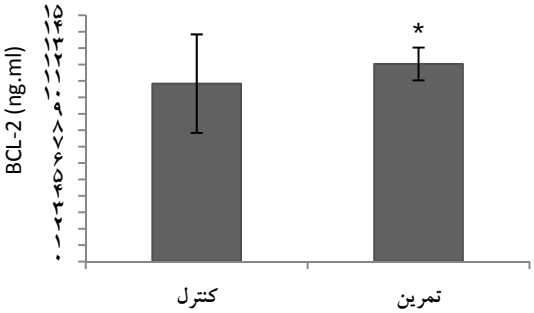
نمودار شماره ۱- تغییرات سطوح پروتئین BAX عضله قلبی موش‌های گروه کنترل و تمرین

* تفاوت با گروه کنترل



نمودار شماره ۳- تغییرات سطوح کاسپاز-۳ عضله قلبی موش‌های گروه کنترل و تمرین

* تفاوت با گروه کنترل



نمودارشماره ۲- تغییرات سطوح پروتئین BCL2 عضله قلبی موش‌های گروه کنترل و تمرین

* تفاوت با گروه کنترل

بحث

نتایج پژوهش نشان داد که شش هفته تمرین هوازی فزاینده باعث افزایش معنی‌دار پروتئین ضدّآپوپتوزی Bcl2 شده و همچنین پروتئین Bax و نسبت Bax/ BcL2 نیز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. هم‌راستا با پژوهش حاضر، قجری و همکاران نشان دادند که هشت هفته تمرین استقامتی باعث افزایش معنی‌دار BcL2 قلبی موش‌ها شده، بیان Bax کاهش یافت [۱۳]. همچنین Ham O و همکاران بیان کردند که تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری بیان ژن ضدّآپوپتوزی (Bcl2) را افزایش داده، سبب کاهش بیان پروتئین آپوپتوزی (Bax) می‌شود [۱۴]. گزارش Li و

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]

همکاران نیز نشان داد که شش هفته تمرین هوازی روی نوارگردان باعث کاهش مقادیر Bax بافت قلبی در موش‌های صحرایی می‌شود [۸]. براساس پژوهش‌های موجود، دو پروتئین Bax وBcl2 نقش مؤثری در تعدیل فرآیندهای مرگ سلولی، بازی می‌کنند. اعضای خانواده‌ی Bcl2 مسیرهای درگیر در تحریک فرآیندهای آپوپتوز را کنترل می‌کنند [۹،۴]. بنابراین، هر عاملی که سبب تغییر نسبت Bax به Bcl2 و یا بالعکس شود، محیط را به سمت آپوپتوز و یا ضدّآپوپتوز سوق می‌دهد [۱۶،۱۵]. در حالت طبیعی، بین عوامل مهاری و محرک‌های آپوپتوز تعادل برقرار است، اما همواره در موقعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی این تعادل بر هم می‌خورد که یکی از این موقعیت‌ها، فعالیت بدنی می‌باشد. احتمال می‌رود فعالیت‌های ورزشی با تأثیر بر مهم‌ترین عوامل مؤثر بر فرآیند آپوپتوز بتواند باعث جلوگیری از مرگ سلولی شود [۱۷]. فعالیت ورزشی منظم، باعث افزایش پروتئین Bcl2 عضله قلبی شده و نسبت Bax به Bcl2 را به سوی یک محیط ضدّآپوپتوزی تغییر می‌دهد [۵-۱]. چندین سازوکار برای اثرات محافظتی تمرینات استقامتی بر آپوپتوز عضله قلبی مطرح شده‌است، مانند: افزایش گردش خون شریان کرونری، بیان پروتئین‌های استرس شبکه آندوپلاسمی، افزایش فعالیت سیکلواکسیژناز۲، القای پروتئین‌های شوک گرمایی (Hsp70، Hsp72، Hsp9o)، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیتوزولی میوکارد، افزایش پیام‌رسانی نیتریک اکساید، تغییر فنوتیپ میتوکندریایی، تغییر و افزایش کانال‌های پتاسیم حساس به ATP سارکولمایی و غشای میتوکندریایی. علاوه‌بر این، فعال‌سازی پروتئین Bax سبب افزایش قابلیت نفوذ غشای میتوکندریایی می‌شود. یکی از جنبه‌های مهمّ زیستی میتوکندری، نقشی است که این ارگان در آپوپتوز ایفا می‌کند. میتوکندری جزء لاینفک مسیر داخلی آپوپتوز و محلّ استقرار بسیاری از پروتئین‌های درگیر در مراحل اوّلیه این فرآیند از جمله اعضای خانواده Bcl2 می‌باشد [۱۸]. به‌نظر می‌رسد در این پژوهش عملکرد میتوکندری با افزایش مقادیر Bcl2 به‌عنوان مهم‌ترین عامل مهاری آپوپتوز بهبود یافته است. عمده‌ترین نقش میتوکندری در مسیر آپوپتوز، مهار رهاسازی سیتوکروم c به درون سیتوزول می‌باشد که منجر به افزایش پتانسیل غشای میتوکندری شده‌است. این پتانسیل برای تولید انرژی ATP و حفظ هومئوستاز سلولی ضروری است [۱۹]. علاوه‌بر مهار رهاسازی سیتوکروم c، فعالیت‌های بدنی با کاهش ROS در میتوکندری‌ها در کاهش آپوپتوز قلب نقش دارند [۲۰]. نسبت پروتئین‌های پرو و ضدّآپوپتوزی (نسبت Bax به Bcl2)، کنترل یکپارچگی سلول‌های چند هسته‌ای Myonuclei و بقای سلول را با کنترل نفوذپذیری غشای میتوکندری و فعال‌سازی کاسپازها تنظیم می‌کند [۱۰]. نسبت Bax به Bcl2 شاخصی برای نشان دادن پتانسیل آپوپتوز میتوکندریایی می‌باشد که Bcl2 با فعالیت پیش‌آپوپتوزی Bax به‌وسیله‌ی جلوگیری از جابه‌جایی آن در میتوکندری مخالفت می‌کند. ورود Bax به میتوکندری و رهایش سیتوکروم c باعث شروع پیام‌رسانی آپوپتوتیک آبشارهای کاسپاز پایین‌دستی می‌شود [۵]. هم‌راستا با این نتایج Kwak و همکاران در پژوهشی نشان دادند که تمرینات ورزشی باعث کاهش نسبت Bax به Bcl2 در بطن چپ می‌شود [۱۰]. بااین‌وجود Liu و همکاران نشان دادند که نُه هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار نسبت Bax به Bcl2 در عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی می‌شود [۲۱]. شاید تفاوت در پارامترهای تمرینی مثل شدت، مدت، نوع تمرین و همچنین بافت مورد بررسی باعث مغایرت در نتایج شود. از دیگر نتایج پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار در بیان کاسپاز-۳ بود. کاظمی و همکاران در پژوهشی نشان دادند که یک دوره تمرین استقامتی باعث افزایش معنی‌دار بیان کاسپاز-۳ در موش‌های مبتلا به سرطان سینه می‌شود [۲۲]. همچنین Li و همکاران نیز نشان دادند که فعالیت ورزشی میزان آپوپتوز را با افزایش فعالیت کاسپاز-۳ در مدل موش‌های سکته مغزی افزایش می‌دهد [۲۳]. بااین‌وجود اکثر مطالعات نشان می‌دهد که میزان کاسپاز-۳ به‌دنبال فعالیت‌های ورزشی دارای کاهش [۱۱، ۲۵،۲۴،۱۲] و یا بدون تغییر [۲۶] می‌باشد. Seo و همکاران نشان دادند که سطح پروتئین کاسپاز-۳ عضله‌ی نعلی پس از هشت هفته تمرین در آزمودنی‌های گروه تمرین و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت [۱۱]. همچنین، Kim و همکاران گزارش کردند که بین گروه‌های تمرین و کنترل در بیان پروتئین کاسپاز-۳ پس از هشت هفته تمرین روی نوارگردان تفاوت معنی‌داری وجود ندارد [۲۶]. کنترل کاسپاز-۳ فرآیند پیچیده‌ای است و چندین مسیر پیام‌رسانی آپوپتوز را درگیر می‌کند. نشان داده شده که کاسپاز-۳ به‌وسیله‌ی فعال‌شدن کاسپاز-۱۲ از طریق مسیر آزادسازی کلسیم یا به وسیله‌ی فعال‌شدن کاسپاز-۹ در مسیر داخلی و یا افزایش TNF-α سرم در مسیر خارجی فعال می‌شود [۵]. همچنین کاسپاز-۳ نقش مهمّی در تغییر حالت عضله‌ی اسکلتی بازی می‌کند و برای تفکیک سلولی عضله‌ی اسکلتی ضروری است. بنابراین، حفظ شدن فعالیت کاسپاز-۳ پس از تمرینات ورزشی ممکن است برای سایر اعمال سلولی از قبیل تغییر حالت ناشی از فعالیت ورزشی و تفکیک سلول‌های ماهواره‌ای موردنیاز باشد [۹] که هنوز مورد بررسی قرار نگرفته‌اند. عدم وجود کاهش در فعالیت و بیان کاسپاز-۳ در نتیجه تمرین ورزشی ممکن است نتیجه‌ی کاهش چشمگیر سطوح

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]

XIAP (مهارکننده قوی کاسپاز-۳) و افزایش سطوح Smac (مهارکننده XIAP) داشته باشد [۹]. همچنین این احتمال وجود دارد که افزایش TNF-α و IL-6 پلاسما با فعال‌کردن مستقیم کاسپاز-۳ از طریق مسیرهای خارجی میانجی‌گری کرده، باعث حفظ و افزایش کاسپاز-۳ شود [۲۷]. از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم اندازه‌گیری عوامل مؤثر بر تغییر میزان کاسپاز-۳ از قبیل XIAP، Smac، TNF-α و IL-6 به‌دلیل هزینه مالی بالا می‌باشد. شاید اندازه‌گیری این عوامل درک بهتری از افزایش میزان کاسپاز-۳ در این پژوهش ارائه دهد. همچنین طول دوره تمرینی از دیگر محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌باشد. دوره‌های طولانی‌تر تمرین برای بررسی سازگاری ناشی از فعالیت ورزشی بر مسیرهای آپوپتوز قلبی دقیق‌تر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که شش هفته تمرین هوازی فزاینده باعث افزایش معنی‌دار پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl2 شده و پروتئین آپوپتوزی Bax کاهش معنی داری داشت. همچنین در گروه‌های تمرینی نسبت Bax/ BcL2 نیز کاهش یافت که تأیید دیگری بر کاهش میزان آپوپتوز و افزایش بقای سلول‌های سالم در بافت قلب موش‌ها به دنبال تمرین هوازی می‌باشد. بااین‌وجود بیان کاسپاز-۳ افزایش نشان داده که نیاز به بررسی بیشتری در این زمینه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه پیام نور با کد IR.PNU.REC.1397.033 و در قالب رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی انجام شد. بدین‌وسیله، نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی اعلام می‌دارند.

References:

[1] Lee SD, Kuo WW, Wu CH, Lin YM, Lin JA, Lu MC, et al. Effects of short-and long-term hypobaric hypoxia on Bcl2 family in rat heart. ***Int J Cardiol*** 2006; 108(3): 376-84.
[2] Mooren F, Völker K. Molecular and cellular exercise physiology: ***Human Kinetics*** IL; 2005.
[3] 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.
[4] Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. ***Aging (Albany NY)*** 2012; 4(5): 330.
[5] Koçtürk S, Kayatekin B, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer 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.
[6] Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. ***Med Sci Sports Exerc*** 2001; 33(3): 393-6.
[7] Cury-Boaventura MF, Levada-Pires AC, Folador A, Gorjão R, Alba-Loureiro TC, Hirabara SM, et al. Effects of exercise on leukocyte death: prevention by hydrolyzed whey protein enriched with glutamine dipeptide. ***Eur J Appl Physiol*** 2008; 103(3): 289.
[8] Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. Effect of exercise training on Bcl-2 and bax gene expression in the rat heart. ***Gene Cell Tissue*** 2015; 2(4).
[9] McMillan EM, Graham DA, Rush JW, Quadrilatero J. Decreased DNA fragmentation and apoptotic signaling in soleus muscle of hypertensive rats following 6 weeks of treadmill training. ***J Appl Physiol*** 2012; 113(7): 1048-57.
[10] Kwak H-B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. ***J Exerc Rehabil*** 2013; 9(2): 212.
[11] Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. ***FASEB J*** 2004; 18(10): 1150-2.
[12] 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.
[13] Ghajari H, Hosseini SA, Farsi S. The Effect of Endurance Training Along with Cadmium Consumption on Bcl-2 and Bax Gene Expressions in Heart Tissue of Rats. ***Ann Mil Health Sci Res*** 2019; 17(1).
[14] Ham O, Lee SY, Lee CY, Park JH, Lee J, Seo H-H, et al. let-7b suppresses apoptosis and autophagy of human mesenchymal stem cells transplanted into ischemia/reperfusion injured heart 7by targeting caspase-3. ***Stem Cell Res Ther*** 2015; 6(1): 147.
[15] Kazior Z, Willis SJ, Moberg M, Apró W, Calbet JA, Holmberg HC, et al. Endurance exercise enhances the effect of strength training on muscle fiber size and protein expression of Akt and mTOR. ***PLoS One*** 2016; 11(2): e0149082.
[16] Marzetti E, Calvani R, Bernabei R, Leeuwenburgh C. Apoptosis in skeletal myocytes: a potential target for interventions against sarcopenia and physical frailty–a mini-review. ***Gerontology*** 2012; 58(2): 99-106.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]

[17] Fagard R. Exercise is good for your blood pressure: effects of endurance training and resistance training. ***Clin Exp Pharmacol Physiol*** 2006; 33(9): 853-6.
[18] Soberanes S, Panduri V, Mutlu GM, Ghio A, Bundinger GS, Kamp DW. p53 mediates particulate matter–induced alveolar epithelial cell mitochondria-regulated apoptosis. ***Am J Respir Crit Care Med*** 2006; 174(11): 1229-38.
[19] Oh YS, Kwon HY, Jeong SJ, Park KY, Kim SY, Lee HJ, et al. Sojucktang induces apoptosis via loss of mitochondrial membrane potential and caspase-3 activation in KLE human endometrial cancer cells. ***Chinese Sci Bull*** 2009; 54(23): 4387-92.
[20] Razavi Majd Z, Matin Homaee H, Azarbayjani M, Farzanegi P. Effects of Concurrent Regular Aerobic Training and Garlic Extract on Cardiac Tissue Apoptosis Markers in Aged Rats with Chronic Kidney Disease. ***JMP*** 2017; 2(62): 46-54. [in Persian]
[21] Liu W, He W, Li H. Exhaustive training increases uncoupling protein 2 expression and decreases Bcl-2/Bax ratio in rat skeletal muscle. ***Oxid Med Cell Longev*** 2013; 2013.
[22] Kazemi A, Mirzazadeh E. The Effect of Endurance Training on Tumor Tissue Levels of Caspase-3 and Caspase-9 in Mice with Breast Cancer. ***IJBD*** 2018; 11(3): 32. [in Persian]
[23] 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.
[24] Akbari M, Moradi L, Abbassi Daloii A. The effect of endurance training and Ziziphus jujube extract consumption on apoptosis of cardiac tissue in male Wistar rats. ***Feyz*** 2018; 22(6): 547-54. [in Persian]
[25] Shokri S, Aitken RJ, Abdolvahhabi M, Abolhasani F, Ghasemi FM, Kashani I, et al. Exercise and supraphysiological dose of nandrolone deconoate increase apoptosis in spermatogenic cells. ***Basic Clin Pharmacol Toxicol*** 2010; 106(4): 324-30.
[26] Kim KB, Kim YA, Park JJ. Effects of 8-week Exercise on Bcl-2, Bax, Caspase-8, Caspase-3 and HSP70 in Mouse Gastrocnemius Muscle. ***J Life Sci*** 2010; 20(9): 1409-14.
[27] Alway SE, Siu PM. Nuclear apoptosis contributes to sarcopenia. ***Exerc Sport Sci Rev*** 2008; 36(2): 51.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-12]