

The effect of water aerobic exercise on the expression of Apaf-1, cytochrome C and Caspase-9 genes of cardiomyocyte tissue in male rats poisoned with hydrogen peroxide

Sepideh Poursadeghi^{1*}, Majid Kashef², Fereshteh Shahidi³

1. MSc in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran.
2. Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran.
3. Associate Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Aim: The cardiovascular disease is due to the some disorders in the cell death as the form of abnormal increased or decreased. Exercise is a strong physiological stimulus that directly or indirectly affects the process of apoptosis by means of a number of extracellular and intracellular signaling pathways. The aim of this study was to examine the effect of aerobic exercise in water on the genes expression of Apaf-1, cytochrome C and caspase-9 in heart tissue of rats which were injected with hydrogen peroxide. **Materials and Methods:** Twenty four male Wistar rats with an approximate weight of 190 ± 10 grams were randomly divided into four groups including hydrogen peroxide, hydrogen peroxide+training, sham and control groups. The aerobic exercise protocol were performed with duration of 60 minutes in each session, six weeks and five days per week in water. All groups, except the control and sham groups, were injected intraperitoneally with one mill mole of hydrogen peroxide. Forty eight hours after the last training session with 10 to 12 hours of fasting, the rats were anesthetized with CO_2 gas and their tissues were dissected. In order to measure genes expression using the Real Time-PCR method, one-way analysis of variance and Scheffe's post hoc tests were applied for data analysis at significance level of $p \leq 0.05$. **Results:** The results indicated that intraperitoneal injection of hydrogen peroxide increased the genes expression of the internal apoptotic pathway compared to the sham and control groups ($p=0.0001$); while by adding six weeks of aerobic exercise in water, genes expression of Apaf-1, cytochrome C, and caspase-9 in the hydrogen peroxide+training group was significantly decreased compared to the hydrogen peroxide group ($p=0.001$). **Conclusion:** It appears that aerobic exercise in water reduces the undesirable effects of apoptosis of heart tissue, less cytopathic and ultimately, it causes health of the body.

Keywords: Water aerobic exercise, Apoptosis, Gene Expression.

Cite this article:

Poursadeghi, S., Kashef, M., & Shahidi, F. (2023). The effect of water aerobic exercise on the expression of Apaf-1, cytochrome C and Caspase-9 genes of cardiomyocyte tissue in male rats poisoned with hydrogen peroxide. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 11(25), 68-77.

*Corresponding Author, Address: Faculty of Sport Sciences, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran;

Email: sepideh198717@gmail.com

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4645.1666>

تأثیر تمرین هوازی در آب بر بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-۹ بافت قلب رت‌های مسموم شده با پراکسید هیدروژن

سپیده پورصادقی^{۱*}، مجید کاشف^۲، فرشته شهیدی^۳

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.
۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: اختلال در روند مرگ سلولی به شکل کاهش یا افزایش غیر طبیعی، منجر به بروز بیماری‌هایی از جمله، امراض قلبی - عروقی می‌شود. ورزش محرک فیزیولوژی قوی است که با تأثیر بر تعدادی از مسیرهای پیام دهی خارج و داخل سلولی، به طور مستقیم یا غیرمستقیم، بر روند آپوپتوزیس اثر می‌گذارد. هدف تحقیق حاضر بررسی اثر تمرین هوازی در آب بر بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-۹ بافت قلب در رت‌های تزریق شده با پراکسید هیدروژن بود. **روش تحقیق:** تعداد ۲۴ سر رت نژاد ویستار با وزن تقریبی 190 ± 10 گرم، به طور تصادفی ساده به چهار گروه شامل گروه‌های پراکسید هیدروژن، پراکسید هیدروژن + تمرین، شام و کنترل تقسیم شدند و طی شش هفته، هر هفته پنج روز، و به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه؛ به اجرای تمرین هوازی در آب وادار شدند. به همه گروه‌ها به غیر از گروه‌های کنترل و شام، به میزان یک میلی مول آب اکسیژنه به صورت درون صفاقی تزریق شد. زمان ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه و پس از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی، رت‌ها با گاز CO₂ بیهوش شدند و بافت‌برداری از آن‌ها انجام شد. به منظور اندازه‌گیری بیان ژن‌ها از روش Real Time PCR و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی شفه در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ استفاده شد. **یافته‌ها:** تزریق درون صفاقی پراکسید هیدروژن، بیان ژن‌های مسیر داخلی آپوپتوزی را نسبت به گروه شام و کنترل افزایش داد ($p=0.001$)؛ در حالی که مداخله شش هفته ای تمرین هوازی در آب باعث کاهش معنی‌دار ($p=0.001$) بیان ژن‌های Apaf-1 سیتوکروم C، و کاسپاز-۹ در گروه پراکسید هیدروژن + تمرین نسبت به گروه پراکسید هیدروژن گردید. **نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی در آب، کاهش تأثیرات نامطلوب آپوپتوزیس بافت قلب، آسیب کمتر سلولی و در نهایت، سلامتی بدن را به همراه دارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی در آب، آپوپتوزیس، بیان ژن.

مقدمه

تنش اکسایشی^۱ که با افزایش سطوح گونه‌های اکسیژن واکنشی^۲ (ROS) همراه است، نقش مهمی در توسعه بیماری‌ها، از جمله فشارخون بالا، تصلب شرائین^۳ و سکت قلبی دارد (کریست^۴ و دیگران، ۲۰۰۹). در وضعیت اکسایشی قابل قبول، تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن و ضد اکسایش‌ها برقرار است؛ اما در حالتی که تعادل وجود نداشته باشد، آسیب‌های اکسایشی به بیومولکول‌های حیاتی (مانند ژنوم^۵) وارد آمده و تجمع این آسیب‌ها، منجر به برخی اثرات بیولوژیک مانند تغییر در انتقال پیام، تغییر در بیان ژن، جهش و مرگ سلولی می‌گردد (شیر و چندل^۶، ۲۰۱۴). مرگ سلولی، از طریق دو مسیر خارج سلول و داخل سلول نشات می‌گیرد. مسیر خارجی به وسیله گیرنده‌های مرگ^۷ که بر روی غشا قرار دارند؛ فعال می‌شود (خلعتبری، ۲۰۱۴)؛ در حالی که مسیر داخلی نقش مهم‌تری در ایجاد آپوپتوزیس دارد، تغییر در نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری را به همراه دارد و موجب آزادسازی عوامل آپوپتوزی می‌شود (سرلا^۸ و دیگران، ۲۰۱۵). در این مسیر، میتوکندری‌ها (که تنظیم مرگ سلولی را بر عهده دارند) نقش خود را از طریق پروتئین‌های پیش آپوپتوزی^۹ اعمال می‌کنند. سیتوکروم C یکی از این پروتئین‌ها می‌باشد که آبشار کاسپازی با رهایی آن از میتوکندری، کامل می‌شود. سیتوکروم C مسیر بعد از میتوکندری را تحریک می‌کند که به یک مولکول پروتئینی به نام عامل ۱ فعال‌کننده پروتئاز آپوپتوتیک^{۱۰} (Apaf-1) متصل می‌شود. این اتصال و ترکیب شدن، به Apaf-1 اجازه می‌دهد که ساختار آن تغییر یابد و چندین مولکول Apaf-1 به هم متصل شوند. در این صورت، حالت چرخ مانندی مشتمل بر هفت مولکول Apaf-1 پدید می‌آید که به همراه آدنوزین تری فسفات^{۱۱} (ATP) و پروکاسپاز-۹^{۱۲}، سبب فعال شدن کاسپاز-۹ می‌گردد. این عامل آغازگر آپوپتوزیس در مسیر میتوکندریایی می‌باشد و نهایتاً موجب فعال‌سازی کاسپاز-۳ به عنوان عامل اجرایی و مرحله مشترک همه مسیرهای آپوپتوزی می‌شود (برنتنال^{۱۳} و دیگران، ۲۰۱۳).

سطح گونه‌های اکسیژن و بهبود بیوژنز میتوکندریایی^{۱۴}، تقویت می‌کند و باعث افزایش ذخیره گلیکوژن و ساخت زنجیره انتقال الکترون می‌شوند (مالیکارجونا^{۱۵} و دیگران، ۲۰۱۰). در این راستا، هوانگ^{۱۶} و دیگران (۲۰۱۱) عنوان کرده‌اند که ۱۲ هفته تمرین هوازی، موجب کاهش معنی‌دار بیان کاسپاز-۹ در موش‌های تمرین کرده می‌شود. در این بین، فعالیت ورزشی شنا یکی از درمان‌های غیر دارویی برای تعدیل و بهبود مشکلاتی مانند فشار خون بالا، چاقی و بیماری‌های قلبی-عروقی در نظر گرفته می‌شود؛ چرا که بدون ایجاد فشار اکسایشی، سطح عوامل التهابی را کاهش داده (مردیت^{۱۷} و دیگران، ۲۰۱۱) و موجب کاهش تولید ROS و افزایش ظرفیت ضد اکسایشی می‌شوند (ناکاموتو^{۱۸} و دیگران، ۲۰۰۷). در همین راستا، حبیبی و دیگران (۲۰۱۶) گزارش کرده‌اند که هشت هفته فعالیت ورزشی شنا، موجب کاهش آپوپتوزیس در بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود. در تحقیقی دیگر مشاهده شده که ۱۲ هفته تمرین منظم شنا با شدت متوسط، باعث کاهش تنش اکسایشی و افزایش وضعیت ضد اکسایشی در رت‌های دیابتی چاق می‌شود (تکسیرال-نونس^{۱۹} و دیگران، ۲۰۱۱). از آنجا که نتایج مطالعات در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی در شرایط طبیعی و بیماری، بر سیستم‌های ضد اکسایش درون‌زا متفاوت است و گاهاً محققین نقش مخرب فعالیت ورزشی را بر سیستم ضد اکسایشی و افزایش رادیکال‌های آزاد گزارش کرده‌اند و از سوی دیگر، مطالعات اندکی به بررسی فعالیت ورزشی شنا بر آپوپتوزیس بافت قلب، به عنوان فعالیت ورزشی کم تنش نسبت به فعالیت ورزشی در محیط خشکی، پرداخته‌اند؛ پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرین هوازی در آب بر بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-۹ در بافت قلب رت‌های مسموم شده با پراکسید هیدروژن به اجرا درآمد.

روش تحقیق

در مطالعه تجربی حاضر، ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار به شکل تصادفی (با سن هشت هفته و میانگین وزن 10 ± 190 گرم)، در چهار گروه شش تایی شامل پراکسید هیدروژن، پراکسید هیدروژن + تمرین، شام و کنترل تقسیم شدند. رت‌ها تحت شرایط کنترل شده در دمای 1 ± 23 درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد، بدون هیچ گونه

1. Oxidative stress
2. Reactive oxygen species
3. Atherosclerosis
4. Crist
5. Genome
6. Schieber & Chandel
7. Death receptor

8. Cerella
9. Pro-apoptotic
10. Apoptotic protease activating factor 1
11. Adenosine triphosphate
12. Procaspase 9
13. Brentnall
14. Mitochondrial biogenesis

15. Mallikarjuna
16. Huang
17. Meredith
18. Nakamoto
19. Teixeira-Nunes

بود که دو رت از گروه خارج گردیده و جهت بررسی تأثیر القا، به آزمایشگاه انتقال داده شدند (جیا^۱ و دیگران، ۲۰۲۰). به منظور حذف اثر حاد آخرین جلسه تمرین، برنامه تمرینی ۴۸ ساعت پیش از نمونه برداری رت‌ها پایان یافت و رت‌ها با استفاده از گاز CO₂ بی‌هوش شدند و بافت برداری انجام شد. بافت قلب بلافاصله در تانک ازت قرار داده شد و به فریزر -۸۰ درجه منتقل گردید. به منظور بررسی بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-۹ بافت قلب رت‌ها، از روش کمی Real Time-PCR استفاده شد. ابتدا طراحی آغازگرها بر اساس اطلاعات در بانک ژنی NBCI انجام شد. سپس RNA از بافت‌ها استخراج شده و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و به منظور بیان ژن‌های ذکر شده؛ مورد بررسی قرار گرفت. ضمن این که به عنوان ژن مرجع از Gapdh^۲ استفاده شد. چهل سیکل برای هر چرخه Real Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. برای بررسی صحت داده‌ها نمودار ذوب و به منظور بهینه سازی شرایط آزمایش، نمودار استاندارد رسم شد و بیان ژن‌ها توسط نسبت بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-۹ نسبت به ژن مرجع محاسبه شدند. میزان بیان ژن‌های مرجع نیز با روش $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ اندازه‌گیری شد.

محدودیت غذایی و آب نگهداری شدند. پژوهش حاضر دارای کد اخلاق به شماره IR.SSRI.REC. 1397, 254 از پژوهشگاه تربیت بدنی است. در این مطالعه، اصول و قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق اصول مصوب کمیته اخلاق در پژوهش رعایت شده است. برنامه تمرینی فعالیت شنا در دو مرحله آموزش و تمرین برگزار شد. مرحله آموزش شامل هفته اول بود که در روز اول رت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در یک مخزن استاندارد (۱۴۰×۶۰×۴۵ سانتی متر) با درجه حرارت آب ۳۳ تا ۳۶ درجه سانتی گراد در آزمایشگاه تربیت دبیر شهید رجایی در آب متلاطم فعالیت کردند. دوره فعالیت در آب متلاطم، روزانه ۱۰ دقیقه تمدید گردید تا رت‌ها قادر به فعالیت ۶۰ دقیقه ای در آب بشوند. سپس مرحله تمرین در آب به مدت ۶۰ دقیقه در روز و پنج روز در هفته (در مجموع به مدت شش هفته) اجرا شد (رفیعی و دیگران، ۲۰۱۸).

به منظور ایجاد آپوپتوزیس در رت‌ها، القای پراکسید هیدروژن ۳۰ دقیقه قبل از تمرین صورت گرفت؛ بدین صورت که یک میلی مول از آن به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به مدت سه هفته و یک روز در میان، به حالت درون صفاقی در پای راست رت‌های گروه پراکسید هیدروژن، تزریق گردید. به جهت بررسی تأثیر پراکسید هیدروژن و احتمال مرگ و میر رت‌ها، تعداد اولیه آن‌ها هشت سر

جدول ۱. توالی پرایمرهای بیان ژنی عضله قلبی موش‌های صحرایی

طول محصول (bp)	توالی آغازگر (5'-3')	ژن‌ها
۱۴۹	F: 5' TTTGGGGGCAAGGAAAGAGT 3' R: 5' ATACATGGCAGAAGTGGGAGA 3'	سیتوکروم C
۱۷۶	F: 5' GATGGAATGGTGAAGGTGTGGA 3' R: 5' TGATGAAGAGGGGAAGGGAG 3'	فاکتور ۱ فعال کننده پروتئاز آپوپتوتیک
۱۲۴	F: 5' AGCCAGATGCTGTCCCATAC 3' R: 5' CAGGAGACAAAACCTGGGAA 3'	کاسپاز-۹
۱۲۱	F: 5' AAGTTCAACGGCAGTCAAGG 3' R: 5' CATACTCAGCACCAGCATCAGC 3'	ژن مرجع (گپ)

یافته‌ها

تزریق درون صفاقی پراکسید هیدروژن، بیان ژن‌های مسیر داخلی آپوپتوزی را نسبت به گروه شم و کنترل افزایش داد ($p < 0.001$). تغییرات بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-۹ در شکل‌های ۱ تا ۳ آورده شده است. با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه مشخص گردید که شش هفته تمرین هوازی در آب بر بیان ژن Apaf-1 ($p < 0.001$)، $(F_{(5, 28)} = 19.04)$ ، سیتوکروم C ($p < 0.001$)،

جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک^۳ و برای بررسی تجانس واریانس‌ها، از آزمون لون^۴ استفاده گردید. به علاوه، از آزمون تحلیل واریانس یک راهه^۵ و آزمون تعقیبی شفه^۶ به منظور مقایسه تغییرات بین گروهی، بهره برداری شد. سطح معنی‌داری برای رد فرض صفر در کلیه موارد $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد و نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۳ و Excel برای جهت تحلیل آماری و رسم نمودارها مورد استفاده قرار گرفتند.

1. Jia

2. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

3. Shapiro- Wilk

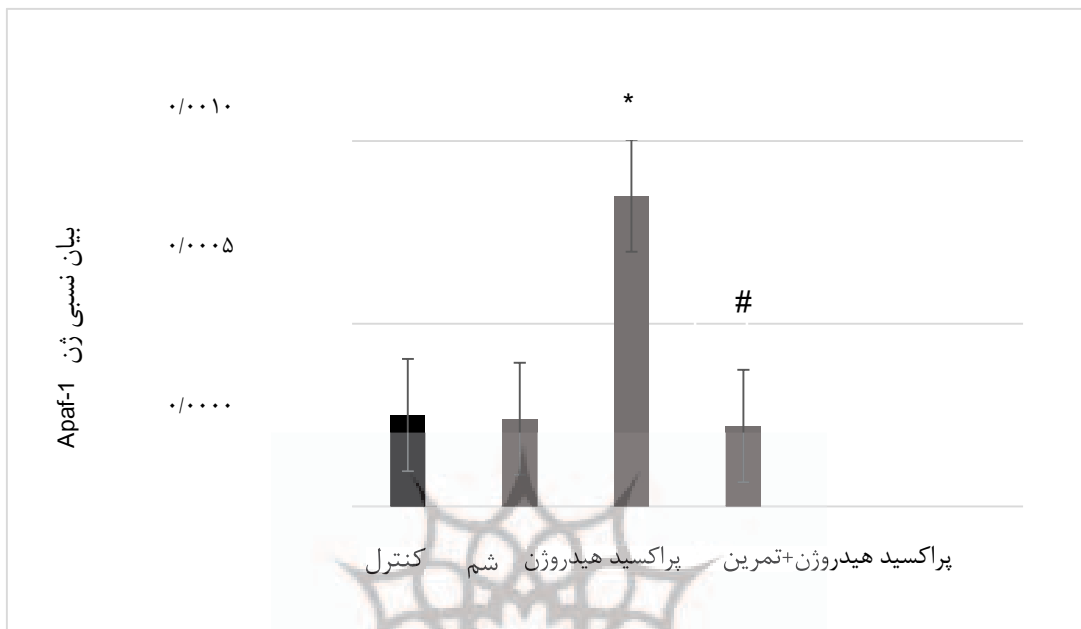
4. Levene

5. One-way analysis of variance

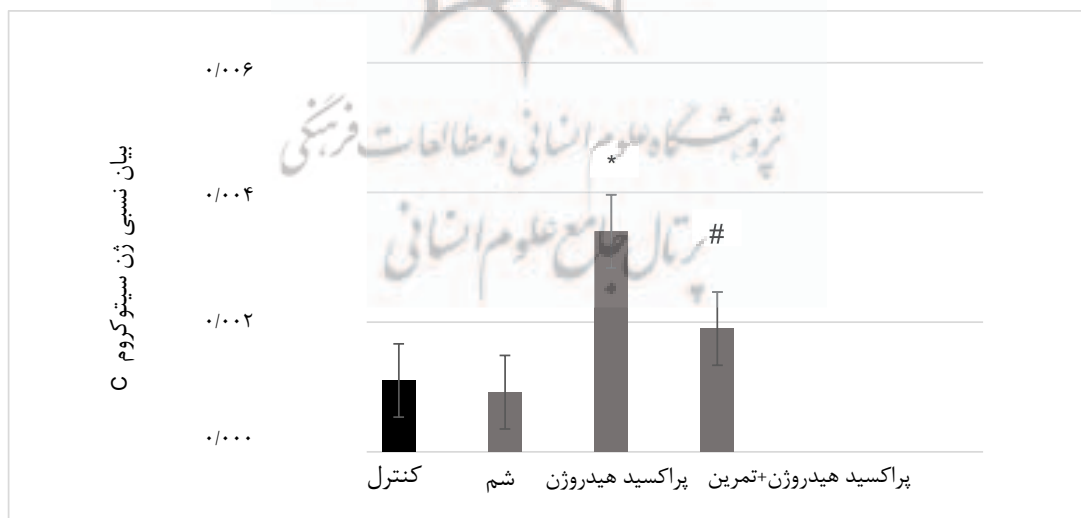
6. Scheffe

در گروه پراکسید هیدروژن + تمرین، کمتر از گروه پراکسید هیدروژن می باشد ($p < 0/0001$). به بیان دیگر، مداخله تمرینی توانست تأثیر افزایشی بیان ژن های پیش آپوپتوزی حاصل از تزریق آب اکسیژنه را تعدیل نماید.

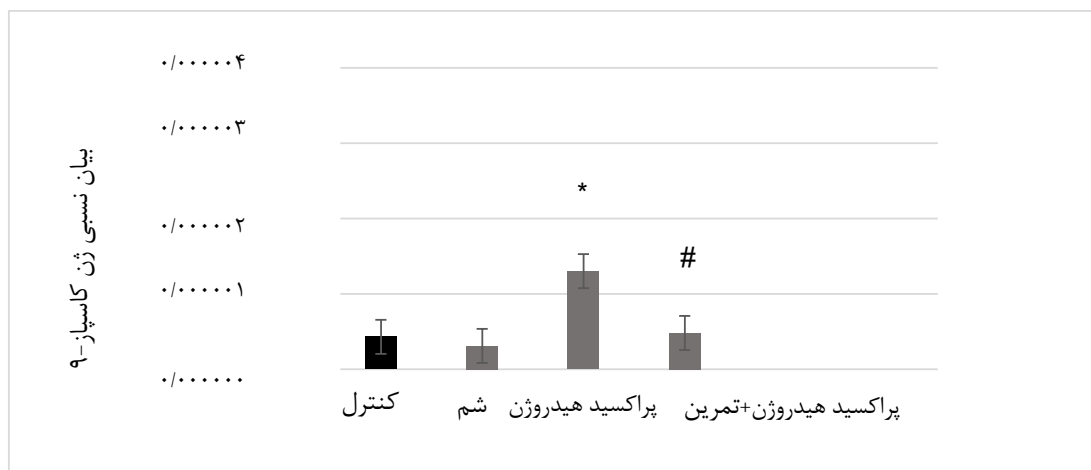
و کاسپاز-9 ($F_{(5, 28)} = 6/50, p < 0/001$) تأثیر معنی داری دارد. در ادامه، آزمون تعقیبی شفه نشان داد که بیان ژن Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-9 در گروه پراکسید هیدروژن بیشتر از گروه های شم و کنترل ($p < 0/0001$) و



شکل ۱. مقایسه میزان بیان ژن Apaf-1 در بافت قلب گروه های مورد مطالعه. * نشان دهنده افزایش معنی دار گروه پراکسید هیدروژن نسبت به گروه شم در سطح $p \leq 0/05$; # نشان دهنده کاهش معنی دار گروه پراکسید هیدروژن + تمرین نسبت به گروه پراکسید هیدروژن در سطح $p \leq 0/05$.



شکل ۲. مقایسه میزان بیان ژن سیتوکروم C در بافت قلب گروه های مورد مطالعه. * نشان دهنده افزایش معنی دار گروه پراکسید هیدروژن نسبت به گروه شم در سطح $p \leq 0/05$; # نشان دهنده کاهش معنی دار گروه پراکسید هیدروژن + تمرین نسبت به گروه پراکسید هیدروژن در سطح $p \leq 0/05$.



شکل ۳. مقایسه میزان بیان ژن کاسپاز-۹ در بافت قلب گروه‌های مورد مطالعه. * نشان دهنده افزایش معنی‌دار گروه پراکسید هیدروژن نسبت به گروه شم در سطح $p \leq 0.05$; # نشان دهنده کاهش معنی‌دار گروه پراکسید هیدروژن+تمرین نسبت به گروه پراکسید هیدروژن در سطح $p \leq 0.05$.

بحث

حیوانات آزمایشگاهی مشاهده نکردند. آن‌ها در مطالعه خود، افزایش بیان ژن آنزیم‌های ضد اکسایشی را به افزایش تنش اکسایشی نسبت دادند و علت عدم تغییر بیان ژن در رابطه با نشانگرهای بازسازی پاتولوژیک، آپوپتوزیس و پیش‌التهابی را تمرین ورزشی طولانی در هر جلسه و کاهش بیان کانال‌های پتاسیم دانستند؛ در حالی که هیچ پاسخ التهابی پسا سودآوری در بافت قلب رت‌ها مشاهده نکردند (اولا و دیگران، ۲۰۲۱). آبادی و دیگران (۲۰۱۷) نشان داده‌اند که سه ماه تمرین هوازی بر روی نوارگردان (با شدت ۸۰-۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، افزایش قابل توجهی در بیان ژن‌های عامل القاکننده آپوپتوزیس^۵ (AIF) و کاسپاز-۹ عضله نعلی موش‌های صحرایی ایجاد می‌کند و علت تشدید فرآیند آپوپتوزیس را به تمرین هوازی طولانی مدت بر روی نوارگردان نسبت داده و احتمال دادند این تغییرات ناشی از فعال شدن JNK^۶ سیتوزولی باشد که موجب مهار پروتئین Bcl-2 و نهایتاً موجب رهائش عوامل پیش آپوپتوزی مانند سیتوکروم C به داخل سیتوزول می‌شود. به اعتقاد آنان، تفاوت در نتایج را می‌توان به نوع فعالیت ورزشی و دوره طولانی مدت (سه ماهه) تمرین نسبت داد.

تمرینات ورزشی باعث سازگاری‌های پیچیده سیستم قلبی-عروقی می‌شوند و مطالعات اخیر فراوانی، تغییرات ناشی از ورزش در بافت قلب را وابسته به مدت زمان تمرین و همچنین شدت تمرینات اعمال شده توسط پژوهشگران نسبت می‌دهند؛ چرا که بنظر می‌رسد شدت و نوع تمرین از عوامل مهم اثرگذار بر آپوپتوزیس باشد. همچنین

بر اساس نتایج پژوهش، شش هفته فعالیت ورزشی هوازی در آب باعث کاهش بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-۹ در گروه پراکسید هیدروژن + تمرین شد. مدارک و شواهد نشان از آن دارد که فعالیت‌های ورزشی اثرات متفاوتی بر آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها می‌گذرانند (سزابوتار^۱ و دیگران، ۲۰۱۴؛ حبیبی و دیگران، ۲۰۱۶؛ اکبری و دیگران؛ ۲۰۱۸). در مطالعه‌ای که نو^۲ و دیگران (۲۰۲۰) انجام دادند، به بررسی تأثیر هشت هفته فعالیت ورزشی استقامتی در آب پرداختند و مشاهده کردند که کاهش نشانگرهای سیگنالینگ آپوپتوتیک، با کاهش کاسپاز-۳ در عضله قلب رت‌ها همراه است. همچنین حبیبی و دیگران (۲۰۱۶)، به بررسی فعالیت ورزشی شنا به عنوان عاملی پیشگیرانه در آپوپتوزیس بافت قلب پرداخته و به این نتیجه دست یافتند که هشت هفته فعالیت ورزشی شنا، موجب تنظیم بیان ژن Bcl-2 و Mir-133 می‌شود. از طرف دیگر، کوپین^۳ و دیگران (۲۰۱۶) تأثیر هفت هفته تمرین شنا (یک تا یک و نیم ساعت در روز، پنج جلسه در هفته) را بر کاسپاز-۳ بررسی کرده و گزارش کردند که تمرین شنا از طریق کاهش کاسپاز-۳، موجب تعدیل التهاب می‌شود. این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر همسو است. از طرف دیگر، اولاً^۴ و دیگران (۲۰۲۱) به بررسی تأثیر ۱۲ هفته فعالیت ورزشی شنا طولانی (به مدت ۲۰۰ دقیقه در روز/پنج روز در هفته) پرداخته و تغییر معنی‌داری در بیان ژن‌های نشانگر بازسازی پاتولوژیک، آپوپتوزیس و التهاب در

1. Czabotar

2. No

3. Qin

4. Oláh

5. Apoptosis inducing factor

6. C-Jun-N-terminal kinase

کاهش یا حداقل متعادل شدن بروز فرآیند مرگ سلولی در این بافت حساس، از طریق مسیر داخلی شود. عدم امکان کنترل دقیق اشتها رت‌ها از محدودیت‌های تحقیق حاضر بود و توجه به متفاوت بودن پاسخ‌های بیوشیمیایی رت‌ها برای کاهش اثرات اختلاف در این پاسخ‌ها، از رت‌های با نژاد ویستار (که سن آن‌ها برابر است) استفاده شد. همچنین از آنجا که فرآیند تزریق باعث ایجاد استرس در رت‌ها می‌شود، برای جلوگیری از تغییر در عملکرد ورزشی، سعی شد رت‌ها بعد از سازگاری با تزریق، وارد مراحل آزمون شوند. با توجه به این که قلب دارای سطوح نسبتاً پایین تری از فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی از قبیل سوپراکسید دیسمیوتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز می‌باشد؛ پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بعدی، آزمودنی‌های دارای انواع بیماری‌های قلبی - عروقی مانند انفارکتوس میوکارد، ایسکمی و ... مورد بررسی قرار گیرند و نتایج آن با نتایج تحقیق حاضر مقایسه شود. همچنین به دلیل تغییرات شاخص‌های آپوپتوزی در بافت‌های مختلف و آثار دوگانه ورزش بر عملکرد سیستم ایمنی، پیشنهاد می‌شود که تأثیر تمرین و مکمل‌ها، بر شاخص‌های آپوپتوتیکی در سلول‌های ایمنی نیز مطالعه شود.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر دال بر آن است که شش هفته تمرین هوازی در آب، می‌تواند نقش موثری در کاهش بیان ژن‌های Apaf-1، سیتوکروم C و کاسپاز-9 در گروه تمرینی نسبت به گروه پراکسید هیدروژن داشته باشد و نهایتاً، باعث کاهش آپوپتوزیس قلبی در موش‌های صحرایی جوان شود. با این حال، اظهار نظر قطعی در زمینه تأثیر تمرین ورزشی آپوپتوزیس عضله قلبی، منوط به انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر می‌باشد.

تعارض منافع

در این تحقیق نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

قدردانی و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه ارشد فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. از تمام اساتید و دانشجویان همکار در تیم پژوهشی دانشگاه دبیری شهید رجایی که به گونه ای در اجرای این تحقیق یاری نمودند؛ تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

در مطالعه‌ای که رفیعی و دیگران (۲۰۱۹) انجام دادند، ضمن بررسی هشت هفته تمرین هوازی بر روی نوارگردان (با شدت ۵۵ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، در طول زمان ۱۴ تا ۲۰ دقیقه در هر جلسه)، افزایش فعالیت Apaf-1 و کاسپاز-۳ در بافت سرطانی را گزارش کردند. این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر همسو نیست و دلیل احتمالی آن، تفاوت در محل بافت برداری می‌باشد. اخیراً شواهدی بدست آمده که نشان می‌دهد ورزش موجب بروز آپوپتوزیس در عضله و لنفوسیت‌ها می‌شود. از جمله سیگنال‌های آپوپتوزی می‌توان به گلوکوکورتیکوئیدها، ROS، افزایش در سطوح Ca^{2+} درون سلولی، و عامل نکروز دهنده تومور آلفا اشاره کرد. اکسیداسیون بازهای پورین و پیریمیدین، به ویژه گوانین، موجب آسیب به DNA شده و مرگ سلول را موجب می‌شود و از این طریق، زمینه از بین رفتن سلول‌های عضلانی ضعیف شده فراهم می‌گردد (مورن و ولکرکلاوس^۱، ۲۰۱۲). به نظر می‌رسد که بالا بردن شدت تمرین و افزایش فشار سوخت و ساز، موجب افزایش فشار اکسایشی شده و همین امر، با افزایش رادیکال‌های آزاد، موجب پیش برد پیام‌رسانی آپوپتوتیک می‌گردد (سیدقمی و دیگران، ۲۰۱۷). وینشتین^۲ و دیگران (۲۰۱۱) بیان داشته‌اند که آپوپتوزیس میتوکندریایی اغلب با بالا رفتن بخش‌های فعال اکسیژن در عضله همراه است و ورزش می‌تواند با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و تقویت دفاع ضد اکسایشی، روند آپوپتوزیس را کاهش دهد. در میان ROS، پراکسید هیدروژن با افزایش بیان ژن‌های کاسپازی، باعث تحریک آپوپتوزیس می‌شود (اندرسون^۳ و دیگران، ۲۰۰۹) و به علت این که سیستم انرژی بافت میوکاردی به صورت کاملاً هوازی تأمین می‌شود؛ در زنجیره انتقال الکترونی، الکترون‌های بیشتری تولید می‌شوند (لو^۴ و دیگران، ۲۰۱۵). از این رو، تمرینات هوازی منظم می‌توانند در کنترل آپوپتوزیس میتوکندریایی بافت قلبی نقش داشته باشند (ایمانی و دیگران، ۲۰۲۱). فعالیت بدنی هوازی به دلیل کاهش پروتئین پیش آپوپتیک Bax، افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl-2، و کاهش ROS؛ باعث مهار آزادسازی سیتوکروم C و مانع فعال شدن کاسپازهای ۹ و ۳ شده و نتیجتاً، مهار روند آپوپتوزیس می‌گردند (لای^۵ و دیگران، ۲۰۱۴). بنابراین، به نظر می‌رسد که تمرین هوازی باعث

1. Mooren & Völker Klaus
2. Vainshtein
3. Anderson

4. Lu
5. Lai

منابع

- Abadi, N., & Bashiri, J. (2017). The effect of three-month aerobic training on the expression of AIF and caspase-9 gene in male rat soleus muscle. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 7(2), 257-264. [In Persian]
- Anderson, E.J., Lustig, M.E., Boyle K.E., Woodlief T.L., Kane D.A., Lin CH. T., ... & Neuffer, P.D. (2009). Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(3), 573-81.
- Akbari, M., Moradi, L., & Abbassi-Dalooi, A. (2018). The effect of endurance training and Ziziphus jujube extract consumption on apoptosis of cardiac tissue in male Wistar rats. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*, 22(6), 547-554. [In Persian]
- Brentnall, M., Rodriguez-Menocal, L., Guevara, R.L.D., & Boise L.H. (2013). Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. *BMC Cell Biology*, 14(1), 1-9.
- Cerella, C., Grandjenette, C., Dicato, M., & Diederich, M. (2015). Roles of apoptosis and cellular senescence in cancer and aging. *Current Drug Targets*, 17(4), 405-15.
- Crist, B.L., Alekel, D.L., Ritland, L., & Reddy, M.B. (2009). Association of oxidative stress, iron, and centralized fat mass in healthy postmenopausal women. *Journal of Womens Health (Larchmt)*, 18(6), 795-801.
- Czabotar, P.E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J.M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 49-63.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 35, 495-516.
- Favaloro, B., Allocati, N., Graziano, V., & Laurenzi, V.D. (2012). Role of Apoptosis in disease. *Aging*, 4(5), 330-349.
- Fernandes-Silva, M.M., Carvalho, V.O., Guimarães, G.V., & Bocchi, E.A. (2012). Physical exercise and microRNAs: new frontiers in heart failure *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 98(5), 459-466.
- Gharekhanlou, R., & Mollahnoori, M. (2014). *Molecular exercise physiology: An introduction*. 1th Edition. Hatmi Publication. [In Persian]
- Habibi, P., Alihemmati, A., NourAzar, A., & Ahmadiasi, N. (2016). Expression of the Mir-133 and Bcl-2 could be affected by swimming training in the heart of ovariectomized rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19(4), 381-393. [In Persian]
- Huang, CH.Y., Yang, A.L., Lin, Y.M., Wu, F.N., Lin, J.A., Chan, Y.SH., ... & Lee, SH. D. (2011). Anti-apoptotic and pro-survival effects of exercise training on hypertensive hearts. *Journal of Applied Physiology*, 112(5), 883-891.
- Imani, A., Siahkohian, M., Karimi, P., & Seyfi- Asgshahr, F. (2021) The role of 3 months of regular aerobic training on some factors of mitochondrial apoptosis pathway in cardiac tissue of male Wistar rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 9(19), 34-46. [In Persian]
- Jia, R., Du, J., Cao, L., Feng, W., He, Q., Xu, P., ... & Yin, G. (2020). Chronic exposure of hydrogen peroxide alters redox state, apoptosis and endoplasmic reticulum stress in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 229, 105657.
- Khalatbary, A.R. (2014). Apoptosis in neurodegenerative diseases. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 16(2), 1-11. [In Persian]

- Lai, CH. H., Ho, T.J., Kuo, W.W., Day, C.H., Pai, P.Y., Chung, L.CH., ... & Huang, CH.Y. (2014). Exercise training enhanced SIRT1 longevity signaling replaces the IGF1 survival pathway to attenuate ageing-induced rat heart apoptosis. *Age*, 36(5), 970.
- Lu, K., Wang, L., Wang, CH., & Ding, R. (2015). Effects of high-intensity interval versus continuous moderate intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular Medicine Reports*, 12(2), 2374-82.
- Mallikarjuna, K., Shanmugam, K.R., Nishanth, K., Wu, M.CH., Huo, CH.W., Kuo, CH.H., ... & Reddy, K.S. (2010). Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats. *Alcohol*, 44(6), 523-9.
- Meredith-Jones, K., Waters, D., Legge, M., & Jones, L. (2011). Upright water-based exercise to improve cardiovascular and metabolic health. a qualitative review. *Complementary Therapies in Medicine*, 19(2), 93-103.
- Mooren, F., & Völker Klaus, C. (2012). *Molecular and cellular exercise Physiology*. 1th Edition. Translated by: Tartibian Bakhtiar and colleagues: Academic Jihad of Urmia University.
- Nakamoto, H., Kaneko, T., Tahara, SH., Hayashi, E., Naito, H., Radak, Z., ... & Goto, S. (2007). Regular exercise reduces 8-oxodG in the nuclear and mitochondrial DNA and modulates the DNA repair activity in the liver of old rats. *Experimental Gerontology*, 42, 287-95.
- No, M.H., Heo, J.W., Yoo, S.Z., Kim, CH. J., Park D.H., Kang, J.H., ... & Kwak, H.B. (2020). Effects of aging and exercise training on mitochondrial function and apoptosis in the rat heart. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 472(2), 179-93.
- Oláh, A., Barta, B.A., Sayour, A.A., Ruppert, M., Virág-Tulassay, E., Novák, J., ... & Radovits, T. (2021). Balanced intense exercise training induces atrial oxidative stress counterbalanced by the antioxidant system and atrial hypertrophy that is not associated with pathological remodeling or arrhythmogenicity. *Antioxidants*, 10(3), 452.
- Peterson, J.M., Bryner, R.W., Sindler, A., & Alway, S.E. (2008). Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. *Journal of Applied Physiology*, 105, 1934-19.
- Pietrangelo, T., Di Filippo, E.S., Mancinelli, R., Doria, CH., Rotini, A., Fanò-Illic, G., ... & Fulle, S. (2015). Low intensity exercise training improves skeletal muscle regeneration potential. *Frontiers in Physiology*, 6, 399.
- Qin, L., Yao, Z. Q., Chang, Q., Zhao Y.L., Lui, N.N., Zhu, X.SH., ... & Li, J.T. (2017). Swimming attenuates inflammation, oxidative stress, and apoptosis in a rat model of dextran sulfate sodium-induced chronic colitis. *Research Paper: Immunology*, 8(5), 7391-7404.
- Rafiei, M.M., Gaeini, A.A., Kordi, M.R., & Nuri, R. (2018). The effect of eight weeks of aerobic exercise on gene expression of cytochrome C, caspase 9 and tumor volume in mice with breast cancer. *Report of Health Care Journal*, 4(4), 55-60. [In Persian]
- Rafiei, M.M., Gaeini, A.A., Kordi, M.R., & Nuri, R. (2021). The effect of 8 weeks of aerobic training on Apaf-1 and Caspase 3 gene expression in mice with breast cancer. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 9(18), 36-46. [In Persian]
- Schieber, M., & Chandel, N.S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24(10), 453-462.

Seyedghomi, F., Bashiri, J., & Gholami, F. (2017). Effect of high intensity endurance training on p53 and Cytochrome-C gene expression in male rat soleus muscle. *Armaghane-danesh Yasuj University of Original Article Medical Sciences Journal*, 22(5), 608-622. [In Persian]

Teixeira-Lemos, Nunes, S., Teixeira, F., & Reis, R. (2011). Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development. focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovascular Diabetology*, 10(1), 1-5.

Vainshtein, A., Kazak, L., & Hood, D.A. (2011). Effects of endurance training on apoptotic susceptibility in striated muscle. *Journal of Applied Physiology*, 110(6), 1638-45.

