



The role of 3 months of regular aerobic training on some factors of mitochondrial apoptosis pathway in cardiac tissue of male Wistar rats

Aylar Imani¹, Marefat Siahkoughian², Poursan Karimi³, Masoud Asgharpour-Arshad⁴, Farnaz Seyfi-Asgshahr⁵

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.
2. Full Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, Neuroscience Research Center, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Basic Sciences, Amin Police University, Tehran, Iran.
5. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.

Abstract

Background and Aim: Apoptosis in post-mitotic tissue such as the heart is fatal due to the unable to proliferate and loss of cardiomyocytes is irreplaceable. However, exercise training could be effective in reducing apoptosis. The aim of this study was to investigate the role of 3 months of regular aerobic training on some factors of mitochondrial apoptosis pathway in cardiac tissue of male Wistar rats. **Materials and Methods:** The research was applied study that conducted in the form of an experimental project with a control group. Thirty one male Wistar rats with an average weight of 173.80 ± 9.21 grams were divided into three homogeneous groups including three-months control (n=10), six-months control (n=10) and aerobic training group (n=11). The aerobic training group participated in aerobic training with 75 to 80 percent of maximal oxygen consumption for 3 months. After the implementation of the training protocol, the surgical procedures and cardiac tissue extraction were performed and gene expression of Bax and Bcl-2 of cardiac tissue was assessed by RT-PCR. Results extracted by one-way of variance analysis and Bonferroni post hoc test at a significance level of $p < 0.05$. **Results:** The results showed the significant increase in Bcl-2 gene expression during aerobic training compared to the six-month control group ($p = 0.001$). However, the expression of Bax gene in the aerobic training group did not show any significant changes compared to the control group ($p = 0.21$). **Conclusion:** Regular aerobic exercise can play a significant role for controlling mitochondrial apoptosis of cardiac tissue.

Keywords: Aerobic training, Gene expression of Bcl-2, Gene expression of Bax, Myocard tissue, Rat.

Cite this article:

Imani, A., Siahkoughian, M., Karimi, P., Asgharpour-Arshad, M., & 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.

*Corresponding Author, Address: Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran;

Email: m_siahkoughian@uma.ac.ir



<https://doi.org/10.22077/jpsbs.2020.3375.1557>

تاثیر ۳ ماه تمرین هوازی منظم بر بعضی عوامل مسیر میتوکندریایی آپوپتوزیس در بافت قلبی موش‌های نر ویستار

آیلار ایمانی^۱، معرفت سیاه‌کوهیان^{۲*}، پوران کریمی^۳، مسعود اصغرپور ارشد^۴، فرناز سیفی اسگ‌شهر^۵

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲. استاد گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳. استادیار بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز، تبریز، ایران.
۴. استادیار گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم انتظامی امین، تهران، ایران.
۵. استادیار گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آپوپتوزیس در بافت پس‌میتوزی همچون قلب که قابلیت تکثیر سلولی ندارد، مهلك است؛ چرا که از دست رفتن کاردیومیوسیت‌ها جایگزین‌شدنی نیست. این در حالی است که تمرین ورزشی می‌تواند در کاهش آپوپتوزیس مؤثر باشد. هدف مطالعه حاضر تاثیر ۳ ماه تمرین هوازی منظم بر بعضی عوامل مسیر میتوکندریایی آپوپتوزیس در بافت قلبی موش‌های نر ویستار بود. **روش تحقیق:** این تحقیق از نوع مطالعات کاربردی است که در قالب یک طرح تجربی با گروه کنترل به اجرا درآمد. تعداد ۳۱ سر موش نر ویستار با میانگین وزنی $9/21 \pm$ گرم در سه گروه همگن کنترل سه ماهه (۱۰ سر)، کنترل شش ماهه (۱۰ سر) و تمرین هوازی (۱۱ سر) تقسیم شدند. گروه تمرین هوازی به مدت ۳ ماه در تمرینات ورزشی با شدت ۷۵ الی ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی شرکت کردند. پس از اجرای پروتکل تمرینی، مراحل جراحی و استخراج بافت قلبی انجام شد و بیان ژن‌های Bcl-2 و Bax با استفاده از روش RT-PCR ارزیابی گردید. نتایج با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ استخراج گردید. یافته‌ها: بیان ژن Bcl-2 در گروه تمرین هوازی افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل شش‌ماهه پیدا کرد ($p = 0/001$)؛ در حالی که بیان ژن Bax در گروه تمرین هوازی تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل شش‌ماهه نداشت ($p = 0/21$). نتیجه‌گیری: تمرینات هوازی منظم می‌توانند در کنترل آپوپتوزیس میتوکندریایی بافت قلبی نقش داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، بیان ژن Bcl-2، بیان ژن Bax، بافت میوکارد، رت.

مقدمه

است کاهش و یا افزایش در سلول‌ها و افزایش بیماری باشد (قراخانلو و ملانوری، ۲۰۱۶). نتایج مطالعات موجود حاکی است که میزان آپوپتوزیس اندک بافت قلبی (در حدود ۰/۰۰۱ الی ۰/۰۰۲ درصد)، ممکن است بر اثر عوامل درونی یا بیرونی مانند پرتوافکنی، ایسکمی/خون رسانی مجدد، داروهای مختلف، سالخورگی و فشارهای جسمانی (مکانیکی - متابولیکی) تشدید شود و از این طریق، مقدمات بروز انواع بیماری‌های قلبی - عروقی را فراهم سازد (برقه^{۱۶} و دیگران، ۲۰۱۵؛ روح^{۱۷} و دیگران، ۲۰۱۶). آپوپتوزیس پیش‌رونده در بافت پس‌میتوزی^{۱۸} همچون قلب که قابلیت تکثیر سلولی ندارد، مهلك است؛ چرا که از دست رفتن کاردیومیوسیت‌ها^{۱۹} جایگزین نشدنی است (روح و دیگران، ۲۰۱۶). شواهد نشان می‌دهند که آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها در نارسایی قلبی نقش دارد (کواک^{۲۰}، ۲۰۱۳؛ ساراست^{۲۱} و دیگران، ۱۹۹۹).

در دو دهه اخیر آپوپتوزیس در میان محققین علوم ورزشی توجه خاصی را به خود جلب کرده است؛ زیرا شواهدی مبنی بر نقش فعالیت‌های ورزشی، به ویژه ورزش‌های شدید، در مرگ برنامه ریزی شده^{۲۲} ارائه شده است (کواک، ۲۰۱۳). فعالیت ورزشی شدید، چندین عامل مربوط به فرآیند آپوپتوزیس را تحت تأثیر قرار می‌دهد. برای مثال، گلوکوکورتیکوئیدها^{۲۳}، گونه‌های فعال اکسیژن^{۲۴} (ROS) و استرس اکسایشی^{۲۵}، افزایش سطوح کلسیم داخل سلولی و عامل نکروز تومور آلفا^{۲۶} (TNF- α)؛ تعدادی از سیگنال‌هایی هستند که می‌توانند منجر به آپوپتوزیس گردند (کوادریلاترو^{۲۷} و دیگران، ۲۰۱۱). تعدادی از این عوامل از محیط خارج سلولی نشأت می‌گیرند (گلوکوکورتیکوئیدها و TNF- α) و با پروتئین‌های خارج و داخل سلولی واکنش می‌دهند و ممکن است مرگ سلول را هم تحریک کنند (بردسن^{۲۸} و دیگران، ۲۰۰۶). در رابطه با آپوپتوزیس و فعالیت ورزشی، کو و دیگران (۲۰۱۳) اشاره کرده‌اند که فعالیت ورزشی روی نوارگردان، آپوپتوزیس میوکاری را در موش‌ها از طریق افزایش پروتئین شوک گرمایی - ۷۰ (HSP۷۰)^{۲۹} و متعاقب آن، اثر کاهشی و افزایشی (به ترتیب) بر Bax و Bcl-2؛ کاهش می‌دهند (کو^{۳۰} و دیگران، ۲۰۱۳). لیو و دیگران (۲۰۱۳) مطالعه‌ای با عنوان تمرین وامانده‌ساز بیان

اصطلاح آپوپتوزیس^۱ به عنوان فرآیند ویژه مرگ یا تجزیه سلولی با یک روش به دقت کنترل‌شده، توصیف می‌شود. عموماً فرآیندهای آپوپتوتیک در حین رشد و حفظ همئوستاز بافتی، از طریق ایجاد تعادل بین تولید سلول‌های جدید و حذف سلول‌های آسیب‌دیده و یا پیر نقش مهمی دارند (آریاملو^۲ و دیگران، ۲۰۱۹؛ المور^۳، ۲۰۰۷). بنابراین، آپوپتوزیس شانس از بین‌بردن سلول‌ها را بدون هرگونه آسیب به سلول‌های بافت‌های مجاور، فراهم می‌کند. آپوپتوزیس علاوه بر نقش داشتن در تحول و نوسازی سلولی فیزیولوژیک، در بسیاری از شرایط پاتوفیزیولوژیک مانند پاسخ‌های التهابی و استرس و آسیب سلولی نیز مؤثر است (کورس میر^۴، ۱۹۹۹) و نقش این فرآیند در بافت‌های سوماتیک^۵ همچون قلب چشم‌گیرتر می‌باشد (کیل^۶، ۲۰۱۴). برحسب ماهیت محرک آپوپتوزی، دو مسیر القای آپوپتوزیس متمایز شده‌اند که شامل مسیر درونی (مسیر میتوکندریایی^۷) و مسیر بیرونی می‌باشد. مسیر میتوکندریایی، عمدتاً با ایجاد آسیب به سلول و یا برخی مؤلفه‌های آن آغاز می‌شود (ناگاتا و تاناکا^۸، ۲۰۱۷). محرک‌های استرس سلولی مانند شوک گرمایی، استرس اکسایشی، حذف عوامل رشدی و آسیب DNA، می‌توانند سبب فعال‌سازی مسیر میتوکندریایی آپوپتوزیس شوند (بلاندر^۹، ۲۰۱۴). این مسیر، با تغییراتی در نفوذپذیری^{۱۰} و رهایش عوامل آپوپتوزی همراه است. رخدادهای مولکولی آپوپتوزیس در مسیر میتوکندریایی، اساساً به واسطه تعادل بین پروتئین‌های ویژه تنظیمی پیش و ضد - آپوپتوزی مشخص می‌شود (گارسیا سائز^{۱۱}، ۲۰۱۲؛ اول^{۱۲} و دیگران، ۲۰۱۱، تاوور^{۱۳}، ۲۰۱۵). پروتئین‌های پیش-آپوپتوزی مانند Bax^{۱۴} با کاهش پایداری غشای بیرونی میتوکندری، می‌توانند منتج به رهایش عوامل آپوپتوزی از فضای بین غشایی شوند. این در حالی است که پروتئین‌های ضدآپوپتوزی از جمله Bcl-2^{۱۵}، با فعالیت پیش-آپوپتوزی پروتئین Bax مخالفت کرده و موجب حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری می‌شوند (گارسیا سائز، ۲۰۱۲؛ اول و دیگران، ۲۰۱۱؛ تاوور، ۲۰۱۵). اگر نقصی در برنامه آپوپتوتیک رخ دهد، نتیجه آن ممکن

1. Apoptosis
2. Aryamloo
3. Elmore
4. Korsmeyer
5. Somatic
6. Kile
7. Mitochondrial pathway
8. Nagata & Tanaka
9. Blander
10. Permeability

11. Garcia-Sáez
12. Ola
13. Tower
14. Bcl-2-associated X protein
15. B-cell lymphoma 2
16. Berghe
17. Roh
18. Post-mitotic
19. Cardiomycytes
20. Kwak

21. Saraste
22. Programmed death
23. Glucocorticoids
24. Reactive oxygen species
25. Oxidative stress
26. Tumor necrosis factor alpha
27. Quadrilatero
28. Bredesen
29. Heat shock protein 70
30. Ko

می نماید. میردار و دیگران (۲۰۱۹) تأثیر تمرینات تناوبی فزاینده ۶ هفته ای، با تکرار ۶ جلسه در هفته، هر جلسه ۳۰ دقیقه، با سرعت ۲۵ تا ۷۰ متر بر دقیقه، ۱۰ تکرار ۱ دقیقه ای و استراحت فعال ۲ دقیقه ای؛ را بر آپوتوزیس قلب رت های جوان بررسی کرده و افزایش معنی دار ۲۰۰ و ۳۲۰ درصدی آپوتوزیس گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل ۶ هفته و گروه پایه را نشان دادند. سانتوس^۱ و دیگران (۲۰۱۹) نشان داده اند که سیستم شبه افیونی قلبی ناشی از تمرین ورزشی، آپوتوزیس میتوکندریایی را در موش های چاق کاهش می دهد و هر دو نوع تمرین حجم ورزشی پایین (۱۵۰ دقیقه در هفته) و حجم ورزشی بالا (۳۰۰ دقیقه در هفته)، باعث هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی، بهبود فشارخون سیستولیک و شاخص های چاقی می شوند؛ اما فقط تمرین با حجم ورزشی بالا، افزایش توده بدنی را تعدیل می کند.

با توجه به مطالعات مختلف و نتایج ناهمسو در رابطه با تأثیر انواع فعالیت های ورزشی (از نظر شدت) و نقش عوامل تنظیم کننده آپوتوزیس (بخصوص در عضله قلبی) و همچنین با توجه به اهمیت تمرینات هوازی و فشارهای مکانیکی و اکسایشی و متابولیکی نسبتاً شدید و طولانی مدت آن؛ این مطالعه با هدف بررسی نقش ۳ ماه تمرین هوازی منظم بر برخی عوامل مسیر میتوکندریایی آپوتوزیس (بیان ژن Bcl-2 و بیان ژن Bax) در بافت قلبی رت های نر ویستار به اجرا درآمد.

روش تحقیق

این تحقیق در چهارچوب یک طرح تجربی با گروه کنترل به اجرا درآمد. با توجه به شرایط مناسب مدل حیوانی برای تحقیق حاضر، ۳۱ رت نر دو ماهه ویستار^۹ ۱۴۸۴۸ از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و پس از آشنایی با شرایط آزمایشگاه، به سه گروه (کنترل پایه سه ماهه، کنترل شش ماهه و تمرین هوازی) تقسیم گردیدند. در مراحل مختلف تحقیق، ضمن رعایت مسائل اخلاقی، مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مستخرج از دستورالعمل هلسینکی^{۱۰}، از هرگونه آزار جسمی و روش های غیرضروری کار با حیوانات اجتناب گردید. هم چنین پروتکل این تحقیق در کمیته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، با شماره مرجع IR.ARUMS.REC.1397.205 به تأیید رسید. جهت جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیک، حیوانات مورد مطالعه به مدت ۲ هفته تحت

UCP2^۱ را افزایش و نسبت Bcl-2 به Bax را در عضله اسکلتی موش صحرایی کاهش می دهد را به اجرا درآوردند. یافته ها بیانگر این بود که بیان پروتئین UCP2 بین گروه تمرین و کنترل تفاوت معنی داری نداشت. بیان پروتئین Bax در گروه تمرین وامانده ساز و گروه تمرین به صورت معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. همچنین، بیان پروتئین Bcl-2 در گروه تمرین وامانده ساز و گروه تمرین پایین تر از گروه کنترل بود. نسبت Bcl-2/Bax نیز به طور معنی داری در گروه تمرین وامانده ساز و تمرین پایین تر از گروه کنترل بود (لیو^۲ و دیگران، ۲۰۱۳). لی^۳ و دیگران (۲۰۱۳) ضمن بررسی تأثیر تمرین ورزشی (۱۲ هفته تمرین هوازی؛ ۶۰ دقیقه در روز با سرعت ۲۷ متر/دقیقه) بر آپوتوزیس میوکارد موش های صحرایی چاق، گزارش کرده اند که میزان پروتئین های Bax، Bad و نسبت Bax به Bcl-2 و نیز فعالیت کاسپاز-۳ و ۹ در موش های چاق تمرین کرده به طور معنی داری کمتر از موش های چاق تمرین نکرده می باشد. سانتانا^۴ و دیگران (۲۰۱۴) نشان داده اند که فعالیت ورزشی هوازی (۱۳ هفته، هر هفته ۶ جلسه، هر جلسه ۱ ساعت دویدن روی نوارگردان با سرعت تدریجی ۱۸-۳ متر/دقیقه از روز اول تا آخر دوره تمرینی) بیان ژن و بیان پروتئین همه عوامل ضد آپوتوزی در عضله قلبی را افزایش می دهد. لیائو^۵ و دیگران (۲۰۱۵) اشاره کرده اند که تمرین ورزشی متوسط (تمرین ورزشی شش ۵ روز/هفته به مدت ۱۲ هفته) می تواند خطر التهاب، هایپرتروفی و فیبروزیس قلبی^۶ را در رت های با پیری القاشده کاهش دهد؛ تغییراتی که در نتیجه کاهش آپوتوزیس (با مسیرهای پیام دهی متفاوت) روی می دهد. تنورساز و دیگران (۲۰۱۹) با بررسی تأثیر تمرین هوازی میان مدت بر نشانگرهای آپوتوزیس در سلول های عضلانی قلب موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین^۷ و اعمال پروتکلی با سرعت ۱۸-۱۵ متر بر دقیقه، به مدت زمان ۴۴-۲۵ دقیقه که در طول ۴ هفته با تکرار ۵ جلسه در هفته، اجرا گردید؛ نتیجه گرفتند که احتمالاً می توان از تمرینات منظم هوازی به عنوان یک روش غیردارویی برای کاهش عوارض آپوتوزیس ناشی از دیابت استفاده کرد. سوری و دیگران (۲۰۱۹) ضمن بررسی تأثیر فعالیت ورزشی هوازی (مدت ۶ هفته و تکرار ۵ جلسه/ هفته) بر شاخص های آپوتوزیس و رشدی بافت قلب رت های پیر، گزارش کرده اند که تمرین شدید نسبت به تمرین کم شدت، افزایش معنی داری در بیان ژن Bax ایجاد

1. Uncoupling protein2-
2. Liu
3. Lee
4. Santana

5. Liao
6. Cardiac fibrosis
7. Streptozotocin
8. Santos

9. Wistar
10. Helsinki

و هر هفته ۵ جلسه در قالب تمرین هوازی با شدت ۸۰-۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام دادند. مدت زمان تمرین از ۱۰ دقیقه در روز در هفته اول شروع شد و به ۶۰ دقیقه در روز در هفته پنجم رسید و تا انتهای دوره حفظ شد. همچنین این گروه، در ابتدای جلسه تمرین، ۵ دقیقه با سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه، جهت گرم کردن دويدند و شیب سرعت نوارگردان به صورت تدریجی افزایش یافت تا به مقدار مورد نظر برسد. مدت مرحله سرد کردن در هفته‌های ابتدایی حدود ۵ دقیقه و در هفته‌های پایانی حدود ۱۰ دقیقه طول کشید. کل برنامه تمرینی در طی چرخه تاریکی به انجام رسید. پروتکل تمرینی تحقیق حاضر، براساس مطالعه نایتو^۱ و دیگران (۲۰۰۱) طراحی گردید. این محققین با توجه به دسترسی به امکانات لازم، پس از برآورد حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها، شدت فعالیت را بر اساس سرعت و شیب نوارگردان برای هر هفته تمرینی مشخص کرده‌اند. بر این اساس، سویه، جنس، سن و وزن تقریبی آزمودنی‌های تحقیق حاضر نیز با مطالعه مذکور مطابقت داده شد. پروتکل تمرینی ۳ ماه تمرین هوازی در (جدول ۱) گزارش شده است.

شرایط استاندارد جدید با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد، و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته در حیوان خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نگهداری شدند. در طی این دوره، تمامی حیوانات به صورت آزادانه از غذای استاندارد و آب استفاده کردند و میزان غذای مصرفی روزانه آن‌ها به صورت دقیق اندازه‌گیری و ثبت شد. پس از ۲ هفته نگهداری در شرایط جدید، تعدادی از نمونه‌ها به مدت ۲ هفته تحت برنامه آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی (مدل ST۰۰۸ ساخت دانشگاه تبریز) قرار گرفتند. این نوارگردان دارای ۵ کانال مجزا بود و همه موارد از قبیل میزان شیب (مثبت و منفی)، سرعت و زمان؛ توسط برنامه هوشمند کنترل شد. در این دوره، مقدار شوک الکتریکی به میزان ۰/۱ میلی‌ولت ثابت بود. در طی دوره آشنایی، شیب نوارگردان صفر درجه، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۰-۵ دقیقه در روز بود. در پایان این دوره، پس از مطابقت وزنی رت‌ها به طور تصادفی در سه گروه همگن کنترل پایه سه ماهه (۱۰ سر)، کنترل شش ماهه (۱۰ سر) و تمرین هوازی (۱۱ سر) تقسیم شدند. گروه تمرین هوازی، پروتکل تمرینی را به مدت ۱۲ هفته

جدول ۱. جزئیات برنامه ماه تمرین هوازی مورد استفاده در تحقیق حاضر

هفته‌های تمرین هوازی												
اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم	نهم	دهم	یازدهم	دوازدهم	
سرعت نوارگردان (متر/دقیقه)	۲۴	۲۴	۲۵	۲۵	۲۶	۲۷	۲۸	۲۹	۳۰	۳۱	۳۲	۳۳
شیب نوارگردان (درصد)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
مدت زمان تمرین (دقیقه/روز)	۱۰	۲۰	۳۵	۴۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰

برداشته و وزن‌کشی شد. سپس نمونه در کرایوتیوب^۲ در نیتروژن مایع قرار داده شده و برای بررسی‌های بعدی در دمای -70 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای استخراج RNA از نمونه‌ها، طبق روش پیشنهادی کیت Thermo K0731 ساخت کشور آمریکا و با اندکی تغییرات به شرح زیر عمل شد. حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت عضله قلبی در حضور ۱ میلی‌لیتر محلول RNXTM-PLUS هموزنه

تمامی رت‌ها ۲ روز پس از آخرین جلسه تمرین، توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش و پس از آن بخش اعظم خون (حدود ۵-۴ سی‌سی) آن‌ها از قسمت سینوس چشمی و به وسیله لوله‌های موئینه هیپارینه جمع‌آوری شد. با توجه به هدف تحقیق حاضر، پس از جراحی، بافت قلب آزمودنی‌ها

1. Naito
2. Cryoteube

مهارکننده بیان ریبونوکلاز ریبولاک^۷ به تیوب افزوده شد و پس از سانتریفیوژ مختصر، به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه انکوبه گردید. ۱ میکرولیتر آنزیم RverertAID TM H Minus M-MuLV Reverse به تیوب قبل افزوده شد. در ادامه، در صورت استفاده از پرایمر الیگو^۸ (dt)، ۶ دقیقه در ۴۲ درجه و در صورت استفاده از Random hexamer primer، ابتدا ۵ دقیقه در ۲۵ درجه و به دنبال آن، ۹۰ دقیقه در ۴۲ درجه انکوبه گردید. واکنش با قرار دادن تیوب به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰ درجه پایان پذیرفت و نمونه در فریزر -۷۰ درجه نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری میزان بیان ژنی پروتئین‌های مورد نظر، از دستگاه روتور ژن ۶۰۰۰ ساخت شرکت کوربت آمریکا^۹ استفاده شد. جفت پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم‌افزار ۳ Primer طراحی و توسط بایونر آلمان^{۱۰} سنتز شده و برای کار با غلظت نهایی ۱۰۰ نانومول مورد استفاده قرار گرفت. واکنش‌ها بر مبنای استفاده از رنگ سایبر سبز^{۱۱} انجام شد. در این روش، رنگ سایبر سبز طی واکنش Real-time PCR به DNA دو رشته‌ای متصل شده و نور فلورسنت ساطع می‌کند. به عنوان بلانکاز تیوبی که حاوی همه مواد موجود در واکنش به جز cDNA بود، استفاده شد و به جای cDNA به تیوب مربوطه آب تیمار شده با دی‌اتیل‌پیروکربنات اضافه گردید. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش یک نمودار ترسیم شد و بر این اساس، CT تعیین گردید. در پایان، قبل از آنالیز داده‌ها، منحنی ذوب^{۱۲} بدست آمده از هر واکنش Real-time PCR بررسی شد تا پیک مربوط به ژن مورد نظر و فقدان پرایمر دایمر تایید شود. برای آنالیز داده‌ها ابتدا ΔCt ژن در هر نمونه از افتراق Ct ژن مربوطه و Ct ژن بتا-اکتین به عنوان رفرنس محاسبه شد (جدول ۲). فرمول‌ها برای محاسبه به ترتیب زیر می‌باشند:

$$\Delta Ct = Ct \text{ target} - Ct \text{ reference}$$

$$\Delta \Delta Ct = \Delta Ct \text{ test sample} - \Delta Ct \text{ control sample}$$

در رابطه با روش‌های تجزیه و تحلیل آماری، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک^{۱۳} مورد ارزیابی قرار گرفت. برابری واریانس‌های گروه‌های مختلف

شده و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. سپس به هر میکروتیوب، ۰/۲ میلی‌لیتر کلروفورم افزوده شد و میکروتیوب به شدت با دست به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده شد و ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه انکوبه گردید. در ادامه به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۳۷۰۰ برابر شتاب جاذبه، سانتریفیوژ شد. سپس به دقت و بدون تکان دادن تیوب، فاز روئی که حاوی RNA بود، جداسازی گردید و به میکروتیوب دیگر منتقل شده و به محلول جداشده حجم مساوی از ایزوپروپانول^۱ سرد اضافه گردید و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه انکوبه شد. بعد از آن، میکروتیوب به مدت ۱۰ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۳۷۰۰ برابر شتاب جاذبه، سانتریفیوژ گردید و مایع روئی بیرون ریخته شده و سپس ۱ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به میکروتیوب اضافه گردید. بلافاصله میکروتیوب به مدت ۵ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۳۷۰۰ برابر شتاب جاذبه، سانتریفیوژ شد، مایع روئی بیرون ریخته شد و به دقت اتانول خالی شد و حدود ۲۰ دقیقه اجازه داده شد تا الکل تبخیر گردد. سپس مجدداً به هر میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتر آب تیمار شده با دی‌اتیل‌پیروکربنات^۲ افزوده شد. RNA استخراج شده برای استفاده بعدی در دمای ۷۰- درجه نگهداری گردید. در رابطه با ساخت cDNA^۳، از کیت سنتز DNA ساخت شرکت فرمنتاس کانادا^۴ و طبق دستورالعمل شرکت سازنده بصورت زیر استفاده شد. ۱ میکرولیتر RNA و ۱ میکرولیتر از بافر DNase I reaction 10X^۵ در یک تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و توسط DEPC-treated eater به حجم ۹ میکرولیتر رسید. ۱ میکرولیتر DNase به تیوب اضافه گردید (برای از بین بردن آلودگی احتمالی با DNA) و پس از افزودن ۱ میلی‌لیتر از اتانول مطلق، تیوب مربوطه به مدت ۳۰ دقیقه در فریزر -۷۰ درجه قرار گرفت. تیوب مربوطه به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۴۰۰۰ برابر شتاب جاذبه، سانتریفیوژ شد و پس از آن، در زیر هود به دقت اتانول تخلیه گردید و حدود ۱۰ دقیقه اجازه داده شد تا الکل تبخیر گردد. به تیوب مربوطه ۱۱ میکرولیتر DEPC-treated water و ۱ میکرولیتر Primer (dt) oligo یا Ran-^۶ Primer dom hexamer افزوده شد و ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه بر روی Dry block انکوبه گردید. ۴ میکرولیتر بافر reaction ۵X^۷ و ۲ میکرولیتر ۱۰mM mix dNTP^۸ و ۱ میکرولیتر

1. Isopropanol
2. Diethyl pyrocarbonate (DEPC)
3. Complementary DNA
4. RevertAID TM first standard cDNA synthesis
5. DNase I reaction buffer 10X

6. Reaction buffer 5X
7. Ribolock ribonuclease transcription inhibitor
8. Oligo dt
9. Rotor gene6000-, Corbett company, USA
10. Bioneer, Germany

11. Syber green
12. Melting curve
13. Shapiro-Wilk test

جدول ۲. توالی پرایمرها

Genes	Primer sequence Product	length (bp)
Bcl2	F: 5'TATATGGCCCCAGCATGCGA3' R: 5'GGGCAGGTTTGTGACCTCA3	136
Bax	F: 5'ATCCAAGACCAGGGTGGCTG3' R: 5'CACAGTCCAAGGCAGTGGGA3'	150
β -actin	F: 5'CTCTGTGTGGATCGGTGGCT3' R: 5'GCAGCTCAGTAACAGTCCGC3	138

یافته‌ها میانگین و انحراف استاندارد ویژگی‌های فیزیکی رت‌های نر و بیستار شامل وزن بدن، وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن و همچنین شاخص‌های مربوط به مسیر میتوکندریایی آپوتوزیس عضله قلبی شامل بیان ژن Bcl-2 و Bax در جدول ۳ گزارش شده است.

در شاخص‌های اندازه‌گیری شده، توسط آزمون لون^۱ بررسی شد. سپس داده‌های حاصله توسط آزمون تحلیل واریانس یک راهه^۲ و آزمون تعقیبی بونفرونی^۳ برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های مورد نظر بین گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی محاسبات آماری در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۲ انجام شد.

جدول ۳. توصیف ویژگی‌های فیزیکی رت‌های نر و بیستار

متغیرها	گروه‌ها	تعداد	میانگین \pm انحراف استاندارد
وزن بدن (گرم)	کنترل سه ماهه	۱۰	$173/80 \pm 9/21$
	کنترل شش ماهه	۱۰	$401/118 \pm 14/20$
	تمرین هوازی	۱۱	$339/56 \pm 11/48$
وزن قلب (گرم)	کنترل سه ماهه	۱۰	$0/55 \pm 0/05$
	کنترل شش ماهه	۱۰	$1/06 \pm 0/07$
	تمرین هوازی	۱۱	$1/08 \pm 0/07$
نسبت وزن قلب به وزن بدن	کنترل سه ماهه	۱۰	$3/19 \pm 0/25$
	کنترل شش ماهه	۱۰	$2/64 \pm 0/17$
	تمرین هوازی	۱۱	$3/18 \pm 0/24$

معنی‌داری نسبت به گروه کنترل پایه سه‌ماهه و کنترل شش‌ماهه دارد ($p=0/001$). همچنین، بیان ژن Bax در بافت قلبی رت‌های گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل پایه ($p=0/006$)، کاهش معنی‌داری داشت؛ اما در مقایسه با گروه کنترل شش‌ماهه، کاهش معنی‌داری ($p=0/21$) مشاهده نشد (جدول ۵).

با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها در این مطالعه ($p > 0.05$)؛ از آزمون تحلیل واریانس یک راهه استفاده شد و مشخص گردید که اختلاف معنی‌داری بین بیان ژن Bcl-2 و Bax گروه‌های مختلف وجود دارد (جدول ۴). در ادامه، با آزمون تعقیبی بونفرونی مشخص گردید که بیان ژن در بافت قلبی رت‌های گروه تمرین هوازی، افزایش

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مورد مقایسه بیان ژن Bcl-2 و Bax بین گروه‌های تحقیق

متغیر	گروه‌ها	تعداد	میانگین \pm انحراف استاندارد	مقدار F	سطح معنی‌داری (p)
بیان ژن Bcl-2	کنترل سه ماهه	۱۰	$1/22 \pm 0/22$	۲۵۸/۹۲۲	* $0/001$
	کنترل شش ماهه	۱۰	$1/30 \pm 0/23$		
	تمرین هوازی	۱۱	$3/90 \pm 0/35$		
بیان ژن Bax	کنترل سه ماهه	۱۰	$1/15 \pm 0/41$	۱۲/۴۱۱	* $0/001$
	کنترل شش ماهه	۱۰	$1/01 \pm 0/33$		
	تمرین هوازی	۱۱	$0/74 \pm 0/16$		

*نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p < 0.05$.

1. Levene test

2. One way-analysis of variance (ANOVA)

3. Bonferroni post hoc test

جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در مورد مقایسه زوجی بیان ژن Bcl-2 و Bax در گروه های شرکت کننده در مطالعه

متغیرها	گروه ها	اختلاف میانگین	سطح معنی داری
بیان ژن Bcl-2	تمرین هوازی	کنترل سه ماهه	۰/۰۰۱*
	تمرین هوازی	کنترل شش ماهه	۰/۰۰۱*
بیان ژن Bax	تمرین هوازی	کنترل سه ماهه	۰/۰۰۶*
	تمرین هوازی	کنترل شش ماهه	۰/۲۱

*نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در سطح $p < 0.05$.

بحث

عضله قلبی افزایش می دهد (سانتانا و دیگران، ۲۰۱۴). احتمال بر این است که تمرین هوازی باعث ایجاد سازگاری های آپوپتوتیکی در عضلات اسکلتی و قلبی شده و از طریق تأثیر بر نفوذپذیری غشای میتوکندری، کاهش آپوپتوزیس را به دنبال داشته باشد همچنین احتمالاً تمرینات هوازی بتوانند از طریق کنترل و بهبود فرآیند آپوپتوزیس، مانع از بین رفتن کاردیومیوسیت ها و نهایتاً مرگ سلولی سلول های قلبی شوند. در تحقیقی دیگر، تأثیر فعالیت ورزشی هوازی بر شاخص های آپوپتوزی و رشدی در قلب رت های پیر بررسی و نتایج نشان داده شد که مقادیر بیان ژن Bax در گروه تمرین کم شدت نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی دار، اما در گروه تمرین شدید افزایش معنی داری پیدا می کند. به علاوه، مقادیر بیان ژن Bcl-2 در گروه تمرین کم شدت و شدید نسبت به گروه کنترل، افزایش غیرمعنی داری نشان داد (سوری و دیگران، ۲۰۱۹). دیگر محققین با هدف تعیین اثر دو شیوه تمرینی تداومی و تناوبی هوازی بر آپوپتوزیس عضله نعلی موش های صحرایی نر، نشان داده اند که بیان ژن Bcl-2 گروه های تمرین به طور معنی دار بیشتر از گروه کنترل است، اما نسبت Bax به Bcl-2 در هر دو گروه تمرینی به صورت معنی دار کمتر از گروه کنترل بود. بین گروه ها در بیان ژن Bax تفاوت معنی داری مشاهده نشد و به نظر می رسد ۱۲ هفته تمرین هوازی مخصوصاً از نوع تداومی، تأثیر قابل توجهی بر افزایش پروتئین ضد-آپوپتوزی میتوکندریایی عصله نعلی دارد. در عین حال، این محققین به دلیل پایین بودن سطح معنی داری نسبت Bax به Bcl-2 در گروه های تمرین نسبت به گروه کنترل، اظهار نظر قطعی در مورد تأیید تمرینات ورزشی بر شاخص های مربوط به آپوپتوزیس عضله اسکلتی را منوط به انجام مطالعات بیشتر دانسته اند (سیاه کوهیان و دیگران، ۲۰۱۸). اثر تمرین منظم تناوبی پرشدت بر سطوح مغزی Bax و Bcl-2 نیز بررسی شده و نتایج نشان داده که ۸ هفته

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیان ژن Bcl-2 در بافت قلبی رت های نر ویستار به دنبال سه ماه تمرین هوازی، افزایش می یابد. این در حالی بود که بیان ژن Bax در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل پایه دچار کاهش شد، اما با گروه کنترل شش ماهه، تفاوت معنی داری نداشت. در تأیید نتایج تحقیق حاضر، در تحقیقی در سال ۲۰۱۲، ضمن بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین ورزشی نوارگردان بر قطعه قطعه شدن DNA و پیام دهی آپوپتوزیس در عضله نعلی رت های پرفشارخون، نشان داده شد که تمرین استقامتی منظم (سرعت ۲۱ متر/دقیقه با شیب ۴/۵ درصد، ۴۵ دقیقه/روز، ۵ روز/هفته، با شدت ۶۰-۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) شاخص های پیش آپوپتوزی (Bax و سیتوکروم c) را کاهش و برعکس، عوامل ضد-آپوپتوزی (Bcl-2 و XIAP^۱) را افزایش می دهد (مک میلان^۲ و دیگران، ۲۰۱۲). پروتئین های پیش آپوپتوزی مانند Bax با کاهش پایداری غشای بیرونی میتوکندری، می توانند منتج به رهايش عوامل آپوپتوزی از فضای بین غشایی شوند. این در حالی است، پروتئین های ضد-آپوپتوزی خانواده Bcl-2 با فعالیت پیش آپوپتوزی پروتئین Bax مخالفت کرده و موجب حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری می شوند. پروتئین Bcl-2، بر روی غشای داخلی میتوکندری واقع شده و فعالیت کاسپاز-۳ را مهار می کند. یکی از راه های توقف کاسپاز-۳ توسط Bcl-2، مهار رهاسازی سیتوکروم c توسط میتوکندری است، که کوفاکتوری ضروری جهت فعال سازی آن محسوب می شود. آپوپتوزیس نیازمند سنتز پروتئین تازه و RNA بوده و مهار سنتز آن توسط عواملی نظیر داکتینومايسين^۳ انجام می شود. در تحقیقی نشان داده شد که فعالیت ورزشی هوازی در طول ۱۳ هفته، هر هفته ۶ جلسه، هر جلسه ۱ ساعت دویدن روی نوارگردان با سرعت تدریجی ۳-۱۸ متر/دقیقه از روز اول تا آخر دوره تمرینی، بیان ژن و بیان پروتئین همه عوامل ضد-آپوپتوزی را در

علیرغم این‌ها، یافته‌های ناهمسویی نیز وجود دارد. در سال ۲۰۰۸، تأثیر فعالیت ورزشی تناوبی بر Bax و Bcl-2 در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی بررسی گردید و فعالیت ورزشی تناوبی به‌صورت معنی‌داری نسبت Bax/Bcl-2 را در عضله اسکلتی تند انقباض افزایش داد. همچنین، بیان Bcl-2 در گروه فعالیت ورزشی، به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه تمرین تناوبی بود (چن^۵ و دیگران، ۲۰۰۸). احتمالاً علت کاهش بیان ژن Bcl-2 و ناهمسو بودن این نتایج مطالعه با تحقیق حاضر، مربوط به متفاوت بودن پروتکل تمرینی باشد. فعالیت‌های حاد و کوتاه‌مدت باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی و در نتیجه، افزایش آپوپتوزیس می‌شوند. در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شده که ۶ ماه تمرین استقامتی موجب کاهش بیان پروتئین Bcl-2 در میوکارد موش‌های صحرایی می‌شود. محققان اشاره داشته‌اند که تمرین استقامتی طولانی‌مدت به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو، می‌تواند موجب بروز آپوپتوزیس در عضله قلبی شود (لی^۶ و دیگران، ۲۰۰۹). ناهمسو بودن نتایج احتمالاً مربوط به سیستم آنتی‌اکسیدانی آزمودنی‌های باشد؛ زیرا سیستم‌های آنزیمی نظیر آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز^۷، گلوکاتایون پراکسیداز^۸ و کاتالاز^۹ نقش مهمی در مهار گونه‌های فعال اکسیژنی دارند. عوامل بسیاری وجود دارند که ممکن است تعیین کنند، آیا فعالیت ورزشی موجب افزایش اثر تخریبی گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود یا خیر؟ مهم‌ترین این عوامل، شدت مطلق فعالیت ورزشی است. از دیگر عوامل تعیین‌کننده، درجه استرس اکسیداتیو (اثر تخریبی ROS)، درجه آمادگی آزمودنی‌ها، خستگی آزمودنی‌هایی که تمرین ورزشی را اجراء می‌کنند، و در نهایت، برنامه غذایی آزمودنی‌ها می‌باشد. احتمال دیگر در رابطه با افزایش آپوپتوزیس، برخی از پروتئین‌های اسکلت سلولی می‌باشند که به‌نگام افزایش استرس اکسیداتیو، به داخل میتوکندری رفته و نفوذپذیری غشایی را افزایش می‌دهند. بررسی این عوامل در تحقیق حاضر مقدور نبود، ولی شواهد موجود نشان‌دهنده این است که سطوح این پروتئین‌ها با تمرین ورزشی تغییر محسوسی نمی‌کند. اگرچه سازوکارهای متعددی مانند تغییر مستقیم در وضعیت ROS و بیان ژن‌های مربوط به آپوپتوزیس، کاهش آزادسازی عوامل آپوپتوتیک میتوکندری، و تغییر در تولید آنتی‌اکسیدان‌ها برای اثرات محافظتی تمرینات ورزشی در مقابل آپوپتوزیس مطرح شده است، ولی هنوز ابهامات بسیاری در این زمینه وجود دارد. به نظر می‌رسد،

تمرین تناوبی پرشدت، موجب کاهش سطوح مغزی Bax در موش‌های صحرایی و افزایش معنی‌دار سطوح مغزی Bcl-2 در موش‌های گروه تمرین می‌شود (حسنی و حبیبیان، ۲۰۱۸). به نظر می‌رسد تمرینات تناوبی پرشدت، بخشی از اثرات حفاظتی خود را در مقابل با آپوپتوزیس ناشی از پیری، به واسطه افزایش پروتئین ضد - آپوپتوتیک Bcl-2 و سرکوب پروتئین پیش - آپوپتوتیک Bax در مغز میانجی‌گری می‌نمایند. با استناد به یافته‌های موجود در تحقیق حاضر، احتمالاً تمرینات هوازی منظم می‌توانند میزان آپوپتوزیس سلولی را از طریق افزایش بیان ژن Bcl-2؛ کاهش داده و روند ضعف عضلات بدن را بهبود بخشند. در تحقیقی دیگر، تأثیر تمرین استقامتی بر ایجاد آپوپتوزیس در عضله مخطط مورد بررسی قرار گرفته و مشخص گردیده که شاخص‌های عامل القاکننده آپوپتوزیس^۱ و Bax/Bcl-2 در هر دو عضله نعلی و قلبی حیوانات تمرین‌کرده، کاهش می‌یابند. میزان پروتئین Bax میتوکندریایی و سیتوکروم C سیتوزولی تحت شرایط استرس اکسیداتیو تنها در عضله قلبی افزایش یافت. همچنین افزایش ناشی از هیدروژن پراکسید^۲ در Bax و P-JNK^۳ میتوکندریایی و عامل القاکننده آپوپتوزیس سیتوزولی نیز در عضله قلبی حیوانات تمرین‌کرده مشاهده شد. محققین اشاره کرده‌اند که استرس اکسیداتیو کوتاه‌مدت در شرایط آزمایشگاهی، می‌تواند موجب القای پیام‌های آپوپتوزی در عضلات مخطط شود؛ ضمن آن که استرس اکسیداتیو ناشی از آپوپتوزیس را در بافت‌های ویژه‌ای از جمله عضله قلبی، کاهش می‌دهد (وینشتین^۴ و دیگران، ۲۰۱۱). همزمان با افزایش استرس اکسیداتیو، جابه‌جا شدن و قرارگیری پروتئین Bax در غشای بیرونی میتوکندری زیاد می‌شود. این بحث، تا حدودی می‌تواند به فعال شدن JNK سیتوزولی بستگی داشته باشد؛ زیرا JNK با فسفریله شدن توسط محرک‌های استرس سلولی، پروتئین Bcl-2 را مهار می‌نماید. JNK در داخل میتوکندری، نفوذپذیری غشای میتوکندری را افزایش داده و لذا رهايش عوامل پیش - آپوپتوزی همچون AIF و سیتوکروم C را باعث می‌شود و از این طریق، آبشار کاسپازی راه‌اندازی می‌شود. در رابطه با تمرین ورزشی تحقیق حاضر و با توجه به پیشینه نظری تحقیق و بر اساس اطلاعات موجود از سایر مطالعات، به نظر می‌رسد در سطوح مشابهی از درجه اکسیداتیو، JNK کمتری فسفریله شده است که متعاقب آن، بیان ژن Bcl-2 افزایش یافته است؛ این یک فرضیه بوده و نیازمند بررسی دقیق آزمایشگاهی می‌باشد.

1. Apoptosis inducing factor
2. Hydrogen peroxide (H2O2)
3. Phosphorylated-c-Jun-N-terminal kinase
4. Vainshtein

5. Chen
6. Li
7. Superoxide dismutase
8. Glutathione peroxidase

9. Catalase

ورزشی به طور دقیق شناخته نشده است، فرضیه‌های احتمالی زیادی وجود دارند که نیازمند بررسی‌های بیشتر می‌باشند. در تحقیق حاضر، میزان بیان ژن Bax در گروه کنترل شش‌ماهه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به مطالعات قبلی در رابطه با آپوپتوزیس و تمرین ورزشی هوازی، انتظار بر این بود که بیان ژن Bax در این گروه تغییر معنی‌داری را نشان دهد، اما چنین نشد. زمان برداشت بافت در تحقیق حاضر، عدم ارزیابی شاخص‌های التهابی درگیر در فعالیت کاسپازی همچون TNF- α و اینترلوکین-6^۶، عدم ارزیابی شاخص‌های مسیر خارجی آپوپتوزیس و مسیر آزادسازی کلسیم و سایر عوامل دخیل در فرآیند آپوپتوزیس؛ از جمله عواملی هستند که احتمالاً در عدم دست‌یابی به نتایج مورد انتظار و عدم امکان جمع‌بندی دقیق یافته‌ها، نقش داشته‌اند. از طرفی، در مطالعه حاضر میزان بیان ژن Bax در گروه کنترل شش‌ماهه افزایش زیادی را نسبت به گروه کنترل سه‌ماهه نشان داد؛ نتیجه‌ای که ممکن است بر اثر افزایش سن رت‌ها باشد. **نتیجه‌گیری:** با استناد به یافته‌های تحقیق حاضر، تمرینات هوازی منظم اجرا شده به مدت ۱۲ هفته و هر هفته ۵ جلسه با مدت زمان ۱۰ الی ۶۰ دقیقه و با شدت ۸۰-۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، می‌تواند در کنترل آپوپتوزیس عضله قلبی نقش مهمی ایفا کنند. با این حال، اظهار نظر قطعی در مورد اثربخشی تمرینات ورزشی مختلف بر شاخص‌های مرتبط با آپوپتوزیس بافت قلبی، نیازمند اجرای تحقیقات مختلف بخصوص در حیطه بافت قلبی می‌باشد. پیشنهاد می‌شود در رابطه با تاثیر تمرینات هوازی بر آپوپتوزیس بافت قلبی، تحقیقاتی انجام شوند که در آنها امکان اندازه‌گیری تمامی شاخص‌های مرتبط با آپوپتوزیس، وجود داشته باشد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

قدردانی و تشکر

بدین وسیله از همکاری صمیمانه مسئولین محترم دانشگاه محقق اردبیلی و دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز تشکر می‌شود.

میتوکندری نقش مهمی در تنظیم آپوپتوزیس سلول‌های عضله قلبی بازی می‌کند. در این راستا، اعضای خانواده Bcl-2 شامل پروتئین‌های Bax و Bcl-2 به عنوان پروتئین‌های اصلی، در شکل‌گیری کانال‌های آپوپتوزی، تنظیم نفوذپذیری میتوکندری و پیام‌های آپوپتوزی میتوکندریایی درگیر می‌شوند. متعاقب تمرین ورزشی - مشابه با اثر تمرین استقامتی تحقیق حاضر - علی‌رغم وجود فشار استرس اکسیداتیو مشابه با زمان بدون تمرین ورزشی، فسفوریلاسیون JNK کمتر اتفاق می‌افتد؛ وضعیتی که افزایش بیان ژن پروتئین Bcl-2 را به دنبال دارد. علاوه بر این، جابه‌جایی و انتقال عامل القاکننده آپوپتوزیس که خود در شرایط استرس اکسیداتیو زیاد می‌شود، در عضله قلبی تمرین‌کرده کاهش یافته و دال بر مهار سیگنال آپوپتوزی است. در رابطه با نفوذپذیری غشای میتوکندری، موارد دیگری نیز مورد بحث و بررسی قرار گرفته است؛ در برخی مطالعات گزارش شده است که پروتئین‌های اسکلت سلولی از جمله کافیلین-2^۱ با رخداد آپوپتوزیس در نتیجه استرس اکسیداتیو در ارتباط است. کافیلین-2 در سیتوزول قرار دارد، اما به محض اکسید شده، به داخل میتوکندری جابه‌جا شده و احتمالاً باعث تسهیل در امر نفوذپذیری غشای میتوکندری می‌شود. با همه شواهد موجود، اگرچه بررسی تغییرات این شاخص در این تحقیق مقدور نبود، اما مشهود است که مقادیر این پروتئین با تمرین تغییر چندانی نمی‌کند و این خود بیانگر سازگار نشدن آن با تمرین ورزشی است (کلامت^۲ و دیگران، ۲۰۰۹). روش دیگر مهار آپوپتوزیس و افزایش طول عمر سلول، رابطه فعالیت ورزشی و پروتئین‌های سیرتوئین-1^۳ است که حین فعالیت ورزشی افزایش پیدا می‌کند. این پروتئین‌ها، موجب فعال شدن پروتئین‌های پایین‌دست از جمله هم‌فعال کننده آلفای گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی زوم گاما^۴ (PGC-1 α) می‌شود؛ تغییری که متعاقب آن، عملکرد میتوکندری بهبود یافته و از ایجاد آپوپتوزیس ممانعت به عمل می‌آید (لای^۵ و دیگران، ۲۰۱۴). با این حال، با توجه به محدودیت‌های تحقیق حاضر، بررسی تغییرات این شاخص و ارزیابی ارتباط بین آن‌ها با فرآیند آپوپتوزیس، مقدور نبود.

اگرچه مکانیسم‌های دقیق آپوپتوزیس ناشی از فعالیت

1. Cofilin- 2

2. Klamt

3. Silent information regulator 1

4. Peroxisome proliferator-activated receptor

gamma coactivator -1alpha

5. Lai

6. Interleukin-6

- Alexandra, K., Adams, M. D., Thomas, M., & Best, M. D. (2002). The role of antioxidants in exercise and disease prevention. *The Physician and Sports Medicine*, 30(5), 37-44.
- Aryamloo, P., Asgarian-Omran, H., Aslani, N., Hossein-Nataj, H., Shokohi, T., Badali, H., & Moazeni, M. (2019). Cellular apoptosis: An alternative mechanism of action for caspofungin against *Candida glabrata*. *Current Medical Mycology*, 5(2), 9.
- Berghe, T. V., Hulpiau, P., Martens, L., Vandenbroucke, R. E., Van Wonterghem, E., & Perry, S. W. (2015). Passenger mutations confound interpretation of all genetically modified congenic mice. *Immunity*, 43(1), 200-9.
- Blander, J. M. (2014). A long-awaited merger of the pathways mediating host defence and programmed cell death. *Nature Reviews Immunology*, 14(9), 601-18.
- Bredesen, D. E., Rao, R. V., & Mehlen, P. (2006). Cell death in the nervous system. *Nature*, (443), 796-802.
- Chen, D. Q., Deng, S. X., & Peng, F. L. (2008). Effects of interval exercise on Bax, Bcl-2 and correlated factors in rats' skeletal muscles. *Journal of Beijing Sport University*, 7-19.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516.
- Garcia-Saez, A. J. (2012). The secrets of the Bcl-2 family. *Cell Death & Differentiation*, 19(11), 1733-40.
- Gharakhanlou, R., & Mollanouri, M. (2016). *A look at cellular and molecular adaptations to exercise*. Hatmi Publications. [Persian]
- Ghased, F., & Bashiri, J. (2020). The effect of twelve weeks aerobic training with Rose damascene supplementation on expression of Caspase 3 and 9 genes of soleus muscle in male rats. *Pars Medical Sciences Magazine*, 17(1), 42-51. [Persian]
- Hasani, S., & Habibian, M. (2018). The effect of regular intermittent exercise on some apoptotic indicators in the brain tissue of old female rats. *Faze Publisher*, 22(3), 128-33. [Persian]
- Kile, B. T. (2014). The role of apoptosis in megakaryocytes and platelets. *British Journal of Haematology*, 165(2), 217-26.
- Klamt, F., Zdanov, S., Levine, R. L., Pariser, A., Zhang, Y., Zhang, B., ... & Shacter, E. (2009). Oxidant-induced apoptosis is mediated by oxidation of the actin-regulatory protein cofilin. *Nature Cell Biology*, 11(10), 1241-1246.
- Ko, I. G., Kim, S. E., Kim, C. J., & Jee, Y. S. (2013). Treadmill exercise alleviates aging-induced apoptosis in rat cardiac myocytes. *International Journal of Gerontology*, 7(3), 152-7.
- Konstantinidis, K., Whelan, R. S., & Kitsis, R. N. (2012). Mechanisms of cell death in heart disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(7), 1553-62.
- Korsmeyer, S. J. (1999). Programmed cell death and the regulation of homeostasis. *Harvey Lectures*, 95, 21-40.
- Kwak, H. B. (2013). Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *Journal of Rehabilitation*, 9(2), 209-12.
- Lai, C. H., Ho, T. J., Kuo, W. W., Day, C. H., Pai, P. Y., Chung, L. C., ... & Huang, C. Y. (2014). Exercise training enhanced SIRT1 longevity signaling replaces the IGF1 survival pathway to attenuate aging-induced rat heart apoptosis. *Age*, 36(5), 1-13.
- Li, Q., Zhou, L. Y., Gao, G. F., Jiao, J. Q., & Li P. F. (2012). Mitochondrial network in the heart. *Protein & Cell*, 3(6), 408-10.
- Li, X., Lu, J., & Wu, W. (2009). Effect of long-term endurance exercise on cardiac apoptosis. *Journal of Mainyang Normal University*, 71(11), 031.
- Liao, P. H., Hsieh, D. J. Y., Kuo, C. H., Day, C. H., Shen, C. Y., Lai, C. H., ... & Huang, C. Y. (2015). Moderate exercise training attenuates aging-induced cardiac inflammation, hypertrophy and fibrosis injuries of rat hearts. *Oncotarget*, 6(34), 35383.

- Liu, M., Zhang, P., Chen, M., Zhang, W., Yu, L., Yang, X. C., & Fan, Q. (2012). Aging might increase myocardial ischemia/reperfusion-induced apoptosis in humans and rats. *Age*, 34(3), 621-632.
- McMillan, E.M., Graham, D.A., Rush, J.W., & Quadrilatero, J. (2012). Decreased DNA fragmentation and apoptotic signaling in soleus muscle of hypertensive rats following 6 weeks of treadmill training. *Journal of Applied Physiology*, 113(7), 1048-57.
- Mirdar, S., Moghadasi, N., & Hamidian, Gh. (2020). The effect of increasing interval exercise on cardiac apoptosis in young rats. *Journal of Sport Biological Sciences*, 11(1), 49-61. [Persian]
- Morton, J. P., Kayani, A. C., McArdlr, A., & Drust, B. (2009). The exercise-induced stress response of skeletal muscle, with specific emphasis on humans. *Sports Medicine*, 39(8), 643-62.
- Nagata, S., & Tanaka, M. (2017). Programmed cell death and the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 17(5), 333-40.
- Naito, H., Powers, S. K., Demirel, H. A., & Aoki, J. (2001). Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(5), 729-34.
- Ola, M. S., Nawaz, M., & Ahsan, H. (2011). Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 351(1-2), 41-58.
- Peterson, J. M., Bryner, R. W., Sindler, A., Frisbee, J. C., & Always, 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(6), 1934-43.
- Quadrilatero, J., Alway, S. E., & Dupont-Versteegden, E. E. (2011). Skeletal muscle apoptotic response to physical activity: potential mechanisms for protection. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 36(5), 608-617.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603-16.
- Roh, J., Rhee, J., Chaudhari, V., & Rosenzweig, A. (2016). The role of exercise in cardiac aging. *Circulation Research*, 118(2), 279-95.
- Santana, E. T., Serra, A. J., Silva Junior, J. A., Bocalini, D. S., Barauna, V. G., Krieger, J. E., & Tucci, P. J. F. (2014). Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Motriz: Revista de Educação Física*, 20(2), 233-38.
- Santos, B. A., Machado, M. V., Menezes, A. C., Velasco, L. L., Fragoso, V. S., & Vieira, A. B. (2019). Exercise-induced cardiac opioid system activation attenuates apoptosis pathway in obese rats. *Life Sciences*, 231(6), 116542.
- Saraste, A., Pulkki, K., Kallajoki, M., Heikkila, P., Laine, P., & Mattila, S. (1999). Cardiomyocyte apoptosis and progression of heart failure to transplantation. *European Journal of Clinical Investigation*, 29(5), 380-6.
- Sari-Sarraf, V. (2016). Effect of creatine supplementation on the factors involved in apoptosis-related process (Bax, Bcl-2) and their ratio (Bcl-2/Bax) during acute resistance exercise in middle-aged men. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 21(4), 17-28. [Persian]
- Scott, I. (2010). The role of mitochondria in the mammalian antiviral defense system. *Mitochondrion*, 10(4), 316-20.
- Siahkohian, M., Asgharpour-Arshad, M., Bolboli, L., Jafari, A., & Sheikhzadeh-Hesari, F. (2018). Effect of 12-week aerobic training on some indices of skeletal muscle apoptosis in male rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*, 39(6), 35-43. [Persian]
- Souri, R., Yar, A., Shabkhiz, F., & Eskandari, A. (2019). The effect of aerobic exercise on apoptosis and growth indices in the heart of old rats. *University of Tehran Biological Sciences Journal*, 10(4), 435-47. [Persian]
- Tanoursaz, S., Behpour, N., & Tadibi, V. (2019). The effect of mid-term aerobic training on apoptotic markers in the muscle cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 7(4), 488-97. [Persian]

Tower, J. (2015). Programmed cell death in aging. *Ageing Research Reviews*, 23, 90-100.

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.

Ziaaldini, M. M., Koltai, E., Csende, Z., Goto, S., Boldogh, I., & Taylor, A. W. (2015). Exercise training increases anabolic and attenuates catabolic and apoptotic processes in aged skeletal muscle of male rats. *Experimental Gerontology*, 67(3), 9-14.

