

تأثیر تمرین تناوبی و تداومی بر برخی از نشانگران آپوپتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی

حدیث قجری شلمزاری^۱ - سید علی حسینی^{۲*} - سیروس فارسی^۳ - محمدعلی آذربایجانی^۴

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد لارستان، دانشگاه آزاد اسلامی، لارستان، ایران ۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران ۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد لارستان، دانشگاه آزاد اسلامی، لارستان، ایران ۴. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۰۹ / ۰۸ / ۱۳۹۷، تاریخ تصویب: ۱۱ / ۰۳ / ۱۳۹۸)

چکیده

آپوپتوز فرایندی بسیار سازمان‌یافته و برنامه‌ریزی شده است که نقش حیاتی در نظارت بر انواع رویدادهای سلولی غیرپاتولوژیک دارد، با وجود این تأثیر فعالیت‌های ورزشی با شدت‌های مختلف بر آپوپتوز هنوز به‌طور کامل شناخته شده نیست. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی و تداومی بر برخی از نشانگران آپوپتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی بود. ۲۰ سر موش صحرایی به‌طور تصادفی در چهار گروه کنترل هفته اول، کنترل هفته آخر، تمرین تناوبی و تمرین تداومی تقسیم شدند. تمرینات تناوبی به مدت ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته و هر جلسه ۸-۲ اینتروال با شدت ۸۵-۱۱۰ درصد حداکثر سرعت دویدن و تمرینات تداومی به مدت ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته ۴۰-۱۶ دقیقه معادل ۶۰-۵۵ درصد حداکثر سرعت دویدن انجام گرفت. به‌منظور تجزیه و تحلیل یافته‌های تحقیق از آزمون‌های آماری t مستقل و MANOVA در نرم‌افزار SPSS استفاده شد ($P \leq 0/05$). سطوح بیان ژنی Bax، کاسپاز ۹ و نسبت Bax به Bcl-2 در گروه‌های تمرین تداومی و تمرین تناوبی به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه کنترل هفته آخر بود ($P \leq 0/05$)؛ سطوح بیان ژنی Bcl-2 در گروه تمرین تناوبی به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل هفته آخر بود ($P \leq 0/05$) تفاوت معناداری در سطوح بیان ژنی Bcl-2، کاهش Bax، کاسپاز ۹ و نسبت Bax به Bcl-2 در گروه‌های تمرین تناوبی و تمرین تداومی وجود نداشت ($P \geq 0/05$). به‌نظر می‌رسد تمرین تناوبی و تداومی تأثیرات یکسانی بر سازگاری‌های ضد آپوپتوز سلول در بافت قلب موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگ‌دوالی دارد.

واژه‌های کلیدی

تمرین تداومی، تمرین تناوبی، قلب، کاسپاز ۹، Bax، Bcl-2

مقدمه

تحرک کم و ناکافی بودن میزان فعالیت بدنی، امروزه یکی از عوامل ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی در جهان است (۱) که با توجه به روند رو به رشد سن جمعیت در جوامع انسانی و سبک زندگی این افراد موجب شیوع بیماری‌های قلبی عروقی شده است (۲). اگرچه براساس نتایج مطالعات انجام فعالیت‌های بدنی تأثیرات شایان توجهی بر سیستم‌های مختلف بدن، طول عمر، سایر عوامل زیستی و بقای سلولی در بافت‌های مختلف بدن دارند (۳،۴)، با وجود این به نظر می‌رسد ظرفیت هوازی به عنوان عاملی مؤثر در سلامت قلبی - عروقی به نوع و شدت تمرینات ورزشی وابسته است (۵). به عقیده بسیاری از محققان تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف تأثیرات متفاوتی بر سلامت و توانبخشی قلب دارد (۵). از این رو برای تحریک سازگاری منظم به منظور رسیدن به اهداف اختصاصی تمرینی، اجرای فعالیت ورزشی به صورت اضافه بار تدریجی ضروری است (۶). با وجود این نتایج متفاوتی در زمینه اثر فعالیت‌های ورزشی بر قلب گزارش شده است برای مثال هنان^۱ و همکاران در مطالعه‌ای متاآنالیز عنوان کردند که تمرینات ورزشی با شدت بالا تأثیرات مطلوب‌تری بر توانبخشی قلب نسبت به تمرینات با شدت متوسط دارند (۵)، ولی در مطالعه‌ای دیگر عنوان شد که فعالیت شدید ورزشی می‌تواند سبب ایجاد واکنش‌های استرسی و تغییرات پاتولوژیکی شامل واکنش‌های التهابی و آپوپتوزی، نه تنها در عضلات اسکلتی، بلکه در بافت‌های دیگری نظیر قلب شود (۶). از دیدگاه فیزیولوژیکی قلب، مرگ سلولی در این بافت به عنوان مسیر مهمی در نظارت بر انواع رویدادهای سلولی غیر پاتولوژیک دارد معرفی شده است (۷، ۸) و از دو مسیر داخلی (وابسته به اعضای خانواده

لنفوم B^۲ (Bcl-2) و Bax^۳ و مسیر خارجی (یا رستپور های مرگ) اتفاق می‌افتند (۹، ۱۰). به عبارتی رهاش عوامل آپوپتوزی از میتوکندری به سیتوزول، موجب فعال‌سازی پروکاسپاز ۹ و سپس کاسپاز ۹ و در نهایت، فعال‌سازی کاسپاز ۳ به عنوان کاسپاز اجرایی و فصل مشترک همه مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز می‌شود (۱۰). اگرچه مطالعات زیادی در خصوص تأثیر شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی بر آپوپتوز سلول‌های عضلات اسکلتی و قلبی انجام گرفته است، هنوز ابهاماتی در این زمینه وجود دارد. برای مثال محققان عنوان کردند که تمرینات هوازی بلندمدت با شدت ۷۵-۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی موجب افزایش بیان ژن AIF و کاسپاز - ۹ در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر شد (۱۰)؛ تمرینات منظم شنای اجباری به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته اثر بیشتری بر بهبود عوامل آپوپتوز نسبت به تمرین دو جلسه در هفته و مدت زمان مشابه دارد (۱۱). همچنین یک جلسه تمرین مقاومتی شدید اثر معناداری بر افزایش عوامل آپوپتوزی در مردان میانسال دارد (۶). ولی تمرین شنا موجب کاهش آپوپتوزیس کبد شد (۱۲).

تمرینات استقامتی به مدت ۱۰ هفته و بیشتر، موجب بهبود سطوح Bcl-2 و کاهش Bax و کاسپاز ۳ شد (۱۵-۱۳، ۸). با توجه به اینکه نتایج مطالعات در حیطة شدت و نوع تمرین بر روند آپوپتوز به‌ویژه در بافت قلب متناقض‌اند و هنوز محققان نتوانسته‌اند مناسب‌ترین روش تمرین را در جهت کاهش و پیشگیری از افزایش آپوپتوز در افراد غیرورزشکار معرفی کنند، همچنین به نظر می‌رسد بررسی دو نوع تمرین در کنار یکدیگر بتواند اطلاعات بیشتری در این زمینه به محققان علوم ورزشی ارائه دهد. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرین تناوبی و تداومی بر

3. Bcl-2-associated X protein

1. Hannan
2. B-cell lymphoma-2

برخی از نشانگران آپوتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی انجام گرفت.

روش بررسی

نگهداری و گروه‌بندی موش‌های صحرایی

در این مطالعه تجربی ابتدا ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگودوالی با سن تقریبی ۸ هفته و میانگین وزن $170/19 \pm 50/24$ گرم خریداری شد و به محل آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت انتقال یافت. پس از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی در چهار گروه پنج سری شامل کنترل هفته اول، کنترل هفته آخر، تمرین تناوبی و تداومی قرار گرفتند.

تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی یا سرعت بیشینه

در ابتدا به‌منظور تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی از آزمون فزاینده استاندارد بدفورد و همکاران (۱۹۷۹) استفاده شد (۱۶). این آزمون شامل ۱۰ مرحله سه‌دقیقه‌ای بود. سرعت در مرحله اول $0/3$ کیلومتر بر ساعت بود و در مراحل بعدی، $0/3$ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوار گردان اضافه شد، درحالی‌که در تمام مراحل شیب برابر صفر بود. در هر مرحله از آزمون که حیوان دیگر قادر به ادامه کار نبود، سرعت در آن مرحله، معادل سرعت حیوان در حداکثر اکسیژن مصرفی یا سرعت بیشینه در نظر گرفته شد.

پروتکل تمرین تداومی و تناوبی

پروتکل تمرین تداومی شامل ۶۰ دقیقه دویدن روی نوار گردان با شدت ۶۵ تا ۷۵ درصد سرعت بیشینه به مدت ۸ هفته و ۳ جلسه در هفته بود. پروتکل تمرینات تداومی

بدین‌صورت بود که موش‌های صحرایی در هر جلسه ابتدا به مدت ۵ دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوار گردان گرم می‌کردند؛ سپس با شدت ۶۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول؛ ۷۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم؛ ۷۵ درصد سرعت بیشینه از هفته سوم به بعد تمرین تداومی را انجام می‌دادند (جدول ۱). تمرین تناوبی شامل ترکیب تکرارهای اینتروال با شدت بالا و شدت پایین بود. تکرار اینتروال با شدت بالا شامل ۲ دقیقه با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول؛ ۹۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۱۰۰ درصد سرعت بیشینه در هفته سوم و ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته چهارم، تا پایان تمرین بود و تکرار اینتروال با شدت پایین (اینتروال بازیافت) شامل ۲ دقیقه با شدت ۵۰ درصد سرعت بیشینه بود. پس از انجام آخرین تکرار اینتروال با شدت بالا، موش‌های صحرایی به مدت ۵ دقیقه با شدت ۶۰-۵۰ درصد سرعت بیشینه سرد کردن را انجام دادند (جدول ۱). تعداد تکرار اینتروال با شدت بالا با توجه به هفته تمرینی موش‌های صحرایی تعیین شد. به‌صورتی که در هفته اول دو تکرار اینتروال با شدت بالا؛ هفته دوم چهار تکرار اینتروال با شدت بالا؛ هفته سوم شش تکرار اینتروال با شدت بالا و از ابتدای هفته چهارم به بعد شامل هشت تکرار اینتروال با شدت بالا بود. از این‌رو زمان کل تمرین شامل تکرار اینتروال با شدت بالا و با شدت پایین به‌همراه گرم کردن و سرد کردن به‌طور میانگین در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ دقیقه و از ابتدای هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود. در پایان موش‌های صحرایی ۵ دقیقه سرد کردن را با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه انجام می‌دادند (۱۶).

جدول ۱. پروتکل تمرینات تداومی و تناوبی

| سرد کردن | تمرین اصلی | | | گرم کردن | تمرین | |
|---|---|---|--|---|--------|--|
| | هفته سوم تا هشتم | هفته دوم | هفته اول | | | |
| ۵ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ تا ۶۰ سرعت بیشینه | دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه | دویدن با شدت ۷۰ درصد سرعت بیشینه | دویدن با شدت ۶۵ درصد سرعت بیشینه | ۵ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ تا ۶۰ سرعت بیشینه | تداومی | |
| سرد کردن | تمرین اصلی | | | گرم کردن | تناوبی | |
| | هفته چهارم تا هشتم | هفته سوم | هفته دوم | | | هفته اول |
| ۵ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ تا ۶۰ سرعت بیشینه | اینتروال با شدت بالا | | | ۵ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ تا ۶۰ سرعت بیشینه | تناوبی | |
| | ۸ تکرار ۲ دقیقه دویدن با شدت ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه | ۶ تکرار ۲ دقیقه دویدن با شدت ۱۰۰ درصد سرعت بیشینه | ۴ تکرار ۲ دقیقه دویدن با شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه | | | ۲ تکرار ۲ دقیقه دویدن با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه |
| | اینتروال با شدت پایین | | | | | |
| | ۲ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ درصد سرعت بیشینه | ۲ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ درصد سرعت بیشینه | ۲ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ درصد سرعت بیشینه | ۲ دقیقه دویدن با شدت ۵۰ درصد سرعت بیشینه | | |

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A260 \times \epsilon \times d/1000$$

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده به منظور انجام واکنش رونویسی معکوس به کار رفت. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن‌ها بررسی شد و سپس بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی q-PCR انجام پذیرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است.

اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق

در پایان دوره تحقیق ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی به وسیله کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند و سپس برای اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق بافت قلب آنها استخراج شد. برای بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت قلب طبق پروتکل شرکت سازنده (سیناژن، ایران)، با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی به دست آمد.

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

| | |
|-----------------------------|---------------|
| ACTTTTAGGCGTGGCTGATG | BCL-2 (f) |
| TTTGTGCTGCTCACTGTATTTTATTTT | BCL-2 (r) |
| GCA AAC TGG TGC TCA AGG | BAX (f) |
| CAG CCA CAA AGA TGG TCA | BAX (r) |
| TCCTCGCTTCATCTCCTGC | Caspase 9 (f) |
| GCTTCACTACTTTCTGCTCC | Caspase 9 (r) |

یافته‌ها

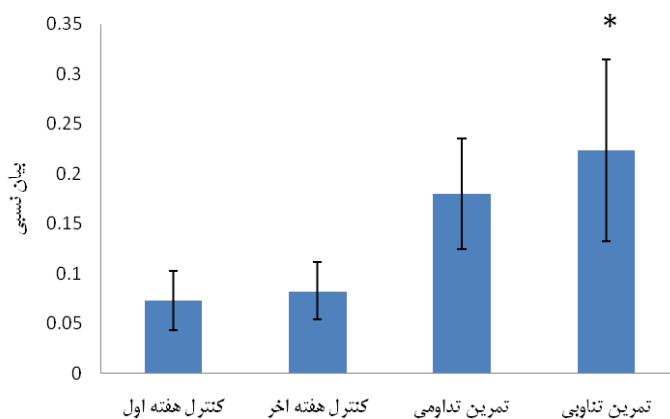
میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای تحقیق در شکل‌های ۱ تا ۴ گزارش شده است. به منظور بررسی اثر

تجزیه و تحلیل آماری یافته‌ها

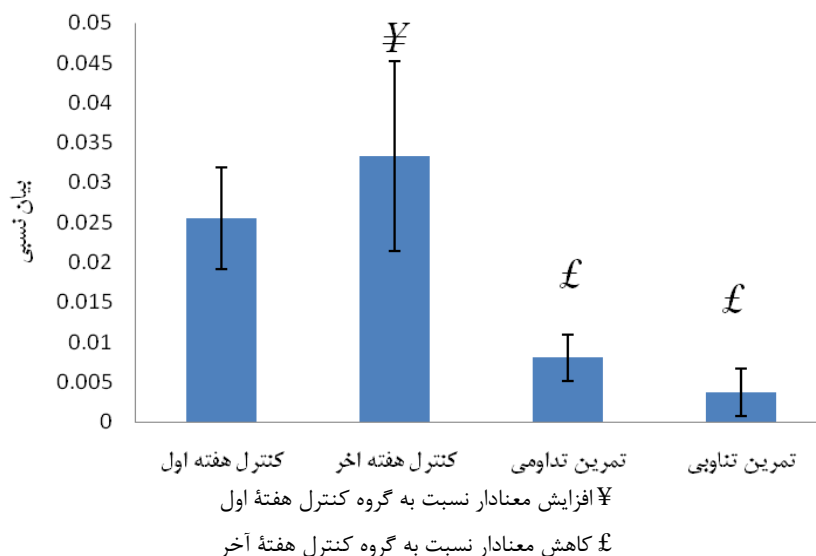
تجزیه و تحلیل یافته‌های تحقیق با استفاده از آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک، t مستقل و MANOVA در نرم‌افزار SPSS انجام گرفت ($P \leq 0.05$).

تمرین تناوبی و تداومی اثر یکسانی بر افزایش بیان ژنی Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی دارند ($P=0/29$ و $t=0/04$) (شکل ۱)؛ ۸ هفته تمرین تداومی ($P=0/001$ و $t=0/03$) و تناوبی ($P=0/001$ و $t=0/04$) اثر معناداری بر کاهش بیان ژنی Bax در بافت قلب موش‌های صحرایی دارند و تمرین تناوبی و تداومی تأثیرات یکسانی در کاهش بیان Bax در بافت قلب موش‌های صحرایی دارند ($P=0/54$ و $t=0/04$) (شکل ۲)؛ ۸ هفته تمرین تداومی ($P=0/001$ و $t=0/04$) و تناوبی ($P=0/001$ و $t=0/04$) اثر معناداری بر کاهش بیان کاسپاز ۹ در بافت قلب موش‌های صحرایی دارند، همچنین تمرینات تداومی و تناوبی دارای تأثیرات یکسانی بر کاهش بیان کاسپاز ۹ در بافت قلب موش‌های صحرایی‌اند ($P=0/75$ و $t=0/002$) (شکل ۳). ۸ هفته تمرین تداومی ($P=0/001$ و $t=0/42$) و تناوبی ($P=0/001$ و $t=0/46$) اثر معناداری بر کاهش نسبت Bcl-2 به Bax در بافت قلب موش‌های صحرایی دارند. همچنین تمرینات تداومی و تناوبی دارای تأثیرات یکسانی بر کاهش نسبت Bax به Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی‌اند ($P=0/55$ و $t=0/03$) (شکل ۴).

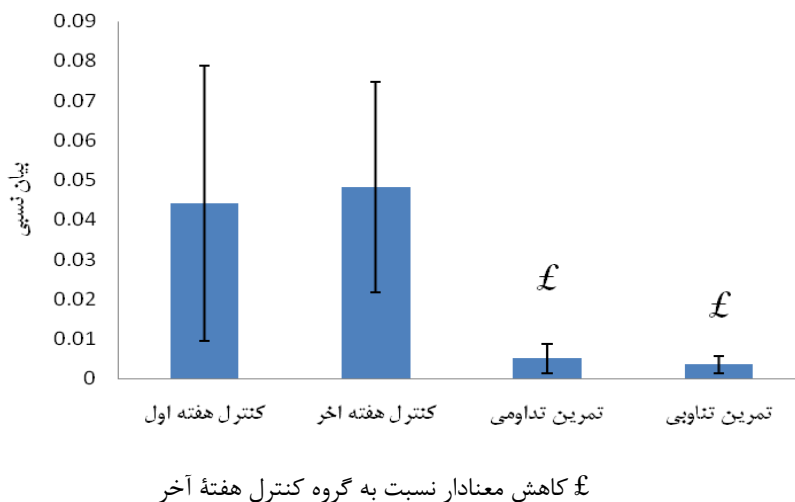
گذر ۸ هفته عمر از موش‌های صحرایی بر متغیرهای تحقیق نتایج آزمون t مستقل نشان داد گذر ۸ هفته عمر اثر معناداری بر Bcl-2 ($P=0/08$ و $t=-1/98$)، کاسپاز ۹ ($P=0/78$ و $t=-0/28$) و نسبت Bax به Bcl-2 ($P=0/18$) و Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی ندارد. با وجود این گذر ۸ هفته عمر از موش‌های صحرایی موجب افزایش معنادار سطوح Bax ($P=0/04$ و $t=-2/41$) در بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود. به‌منظور بررسی تغییرات سطوح بیان ژنی در بافت قلب موش‌های صحرایی تحقیق نتایج آزمون MANOVA نشان داد تفاوت معناداری در سطوح بیان ژنی Bcl-2 ($P=0/02$ و $t=5/17$)، Bax ($P=0/001$ و $F=23/07$)، کاسپاز ۹ ($P=0/001$) و نسبت Bax به Bcl-2 ($F=54/10$ و $P=0/001$) در بافت قلب در گروه‌های تحقیق وجود دارد. برای بررسی محل تفاوت گروه‌ها نتایج آزمون تعقیبی LSD نشان داد ۸ هفته تمرین تداومی اثر معناداری بر افزایش بیان ژنی Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی ندارد ($P=0/06$ و $t=-0/08$). با وجود این ۸ هفته تمرینات تناوبی اثر معناداری بر افزایش سطوح Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی دارد ($P=0/08$ و $t=-0/12$). همچنین



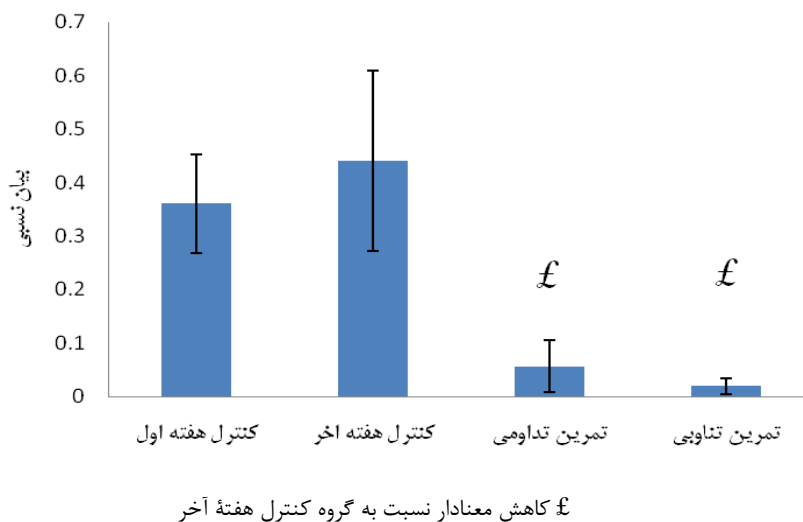
شکل ۱. سطوح بیان ژنی Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های چهارگانه تحقیق * افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل هفته آخر



شکل ۲. سطوح بیان ژنی Bax در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های چهارگانه تحقیق



شکل ۳. سطوح بیان ژنی کاسپاز ۹ در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های چهارگانه تحقیق



شکل ۴. نسبت Bax به Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های چهارگانه تحقیق

بحث

۹ به کاسپاز ۳ که اجرایی‌ترین عضو در روند آپوپتوز است، می‌شود (۱۹). در تأیید این یافته مطالعات مختلفی انجام گرفته است. برای مثال محققان عنوان کردند که افزایش سن و سالمندی در مدلسازی حیوانی از طریق دی گالاکتوز موجب افزایش معنادار بیان ژن Bax و نسبت Bax به Bcl-2، و فاکتور محرک آپوپتوز AIF (۲۰) و همچنین کاهش سوپراکسید دیسموتاز (۲۱) شد.

با وجود این ۸ هفته تمرین تداومی و تناوبی موجب کاهش معنادار بیان ژن Bax، کاسپاز ۹ و نسبت Bax به Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی شد. همچنین تمرین تناوبی موجب افزایش بیان ژن Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی شد، ولی این افزایش متعاقب تمرینات تداومی معنادار نبود. به نظر می‌رسد انجام فعالیت‌های ورزشی هوازی موجب افزایش بیوتنز میتوکندریایی، افزایش پروتئین ضد آپوپتوزی درون سلولی مانند نیتریک اکساید، پروتئین تنظیم‌شده توسط گلکز (GRP78)،^۴ اینترلوکین ۸- افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها، افزایش پروتئین‌های شوک گرمایی متعاقب تمرین هوازی و یا تمرینات تداومی با شدت‌های متوسط می‌شود (۲۲)، اگرچه مقایسه تأثیر شدت و نوع تمرینات در مطالعات قبلی محدود بوده‌اند، برخی محققان بر این عقیده‌اند که تمرینات تناوبی منظم و طولانی‌مدت بیشتر از مسیر سازگاری‌های افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B به کاهش عوامل پیش آپوپتوزی مانند کاسپاز ۹، Bax و سیتوکروم C و در نتیجه مهار آپوپتوز منجر می‌شود (۲۳). همچنین فعالیت ورزشی به‌طور مستقیم با افزایش سطوح Bcl-2 موجب هموالیگومریزه شدن آن و کاهش نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری می‌شود و در نتیجه رهاسازی سیتوکروم C، Smac/DIABLO و کاسپاز ۹ را مهار

نتایج نشان داد گذر ۸ هفته عمر اثر معناداری بر افزایش بیان ژن Bax در بافت قلب موش‌های صحرایی دارد. محققان بر این اعتقادند که با افزایش سن تغییرات متعددی در سلول و بافت‌های بدن انسان رخ می‌دهد که این عوامل موجب بر هم خوردن تعادل تولید پروتئین‌ها، افزایش استرس اکسیداتیو، اختلال در آنزیم تلومراز و کاهش عملکرد میتوکندری می‌شوند (۱۷، ۱۸). روند مرگ سلولی نیز از این قاعده مستثنا نیست، به عبارتی افزایش التهاب و استرس اکسیداتیو موجب فعال‌تر شدن رسپتورهای مرگ سلولی موجود در سطح سلول می‌شود و در نتیجه موجب اتصال آنها به لیگاند‌های خود مانند TNF- α ، لیمفوتوکسین، FasL می‌شوند. برای مثال اتصال TNF- α به مولکول گیرنده عامل نکروزدهنده تومور آلفا وابسته به مسیر مرگ سلولی^۱ (TRADD) از طریق واکنش دومین مرگ^۲ (DD) انجام می‌گیرد. سپس خود TRADD هم با کمک DD ثانویه به دومین مرگ وابسته به Fas^۳ (FADD) اتصال می‌یابد. در نتیجه FADD از طریق واکنش دومین‌های فعال‌کننده مرگ (DED-DED)^۴ به پروکاسپاز ۸ متصل می‌شوند و در ادامه تجزیه و تبدیل پروکاسپاز ۸ به کاسپاز ۸ یا فرم فعال آن سبب راه‌اندازی آبشار کاسپازی می‌شود. در مرحله بعد آبشار کاسپازی با رهایی سیتوکروم C از میتوکندری کامل شده و این عمل موجب مهار Bcl-2 می‌شود. با شروع این اتفاق سطوح Bak و Bax افزایش می‌یابد که موجب افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری و خروج سریع‌تر سیتوکروم C از میتوکندری می‌شود. سپس سیتوکروم C با اتصال به پروتئینی به نام عامل فعال‌کننده پروتئازی آپوپتوز-۱ (Apaf-1) روند آپوپتوز را تکمیل می‌کند. Apaf-1، موجب شکستن کاسپاز

4. Death effector domain
5. Apoptotic protease activating factor 1
6. Glucose-regulated-78

1. TNF-R associated death domain (TRADD)
2. Death domain
3. Fas-associated death domain (FADD)

می‌کند (۲۴). همسو با مطالعه حاضر محققان عنوان کردند که ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا موجب کاهش Bax و افزایش Bcl-2 در بافت مغز موش‌های صحرایی شد (۲۳)؛ ۱۲ هفته، تمرینات استقامتی با شیب ۱۵ درصد بیان ژن Bcl-2 در موش‌های صحرایی تمرین‌کرده را به‌طور معناداری افزایش داد (۸)؛ سه ماه تمرین ورزشی بر روی نوار گردان ویژه موش‌های صحرایی سطوح پروتئینی Bax، BAD، Bcl-2 و مقادیر کاسپاز فعال‌شده ۹ و کاسپاز فعال‌شده ۳ را به‌طور معناداری کاهش داد (۱۴)؛ ۱۳ هفته، ۶ جلسه در هفته و هر جلسه یک ساعت تمرین هوازی موجب افزایش معنادار بیان ژن‌های ضد آپوپتوز Bcl-2 و کاهش معنادار بیان ژن عوامل آپوپتوزی Bax می‌شود (۱۵). از سویی ناهمسو با مطالعه حاضر یک جلسه تمرین مقاومتی در موش‌های صحرایی و ۳ ساعت شنای اجباری موجب افزایش نسبت Bax به Bcl-2 شد که نشان‌دهنده افزایش سیگنالینگ آپوپتوز است و ورزش حاد به اختلال در سیستم ماتریکس میتوکندری انجامید (۲۴). از دلایل ناهمسویی مطالعه اشاره شده با مطالعه حاضر، می‌توان به شدت و مدت تمرینات اشاره کرد که در تحقیق حاضر مدت زمان ۸ هفته و شدت متوسط در نظر گرفته شد در مقابل تحقیق اول و همکاران، مدت زمان یک جلسه و شدت بالای تمرینات مقاومتی در نظر گرفته شده بود. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمرین تناوبی و تداومی تأثیر یکسانی بر افزایش بیان ژن Bcl-2، Bax، کاسپاز ۹ و نسبت Bax به Bcl-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی دارند. بررسی مطالعات مختلف نشان داد مدت زمان انجام فعالیت‌های ورزشی عاملی مهم در سازگاری‌های سلولی مولکولی به‌منظور جلوگیری از آپوپتوز است. این در حالی است که در بیشتر مطالعات حاد و یک‌جلسه‌ای نتایج متناقض بوده است. همچنین به‌نظر می‌رسد انجام تمرینات تناوبی با توجه به درگیر نمودن سیستم‌های مختلف انرژی

تأثیر آنتی‌اکسیدانی و متابولیکی بیشتری نسبت به تمرینات تداومی داشته باشند (۲۳، ۲۲). از این رو می‌توان معنادار نبودن افزایش Bcl-2 متعاقب تمرینات تداومی را به شدت و مدت زمان این تمرین نسبت داد. با وجود این در این زمینه نتایج متناقضی گزارش شده است. برای مثال سطوح بیان ژن Bcl-2 متعاقب تمرین تناوبی با شدت پایین بیشتر از تمرین تناوبی با شدت بالا در موش‌های صحرایی مبتلا به آنفارکتوس میوکارد بود (۱۸). به‌نظر می‌رسد پاسخ قلب به شدت تمرین تناوبی در این مطالعه با مطالعه حاضر همخوانی ندارد. از دلایل این تناقض می‌توان به نوع تمرین و تفاوت در جامعه آماری در این دو مطالعه اشاره کرد. همچنین ۳ هفته، ۵ جلسه در هفته تمرین با سرعت ۱۷-۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۳۹-۲۵ دقیقه تأثیرات جزئی بر بهبود روند آپوپتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی مسموم‌شده با دوکسوروبین داشت (۲۵). به‌نظر می‌رسد تفاوت در سطوح اولیه Bcl-2 و تفاوت در جامعه آماری این دو تحقیق عاملی اثرگذار در میزان تأثیرپذیری بافت قلب به تمرینات ورزشی باشد. همچنین به‌نظر می‌رسد از دلایل دیگر تفاوت نحوه بررسی آسیب‌های بافتی است، چراکه در این مطالعه برخلاف مطالعه حاضر سطوح بیان ژن بررسی نشده است. با توجه به پیچیدگی و گستردگی مسیر آپوپتوز به‌نظر می‌رسد اندازه‌گیری عواملی چون کاسپاز-۳، سیتوکروم C و دیگر عوامل ضروری است و پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی به اندازه‌گیری عوامل بیشتری در کنار این متغیرها پرداخته شود تا اطلاعات بیشتری در این زمینه به‌دست آید. همچنین به‌نظر می‌رسد تفاوت در سطوح بیان ژن و سطوح پروتئینی که عملاً فاز اجرایی تر پروتئین‌ها هستند، از محدودیت‌های دیگر این تحقیق عدم اندازه‌گیری سطوح پروتئینی متغیرهای تحقیق است. بنابراین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی به اندازه‌گیری سطوح مختلف متغیرها چون پروتئینی و سرمی نیز توجه شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تمرین تناوبی و تداومی تأثیر یکسانی بر سازگاری‌های ضد آپوپتوز سلول در بافت قلب موش‌های صحرایی دارند.

منابع و مآخذ

1. Alansare A, Alford K, Lee S, Church T, Jung H C. The Effects of High-Intensity Interval Training vs. Moderate-Intensity Continuous Training on Heart Rate Variability in Physically Inactive Adults. *Int J Environ Res Public Health*, 2018; 15(7): 1508.
2. Nystoriak M A, Bhatnagar A. Cardiovascular Effects and Benefits of Exercise. *Front Cardiovasc Med*, 2018; 5: 135.
3. Kruger K, Mooren FC. Exercise-induced leukocyte apoptosis. *Exerc Immunol Rev*. 2014; 20: 117–34.
4. Arisi MF, Chirico EN, Sebeny R, Muthukumar G, Mu A, De Jonghe BC, et al. Myocardial apoptosis and mesenchymal stem cells with acute exercise. *Physiol Rep*. 2017; 5(11): 13297.
5. Hannan A L, Hing W, Simas V, Climstein M, Coombes J S, Jayasinghe R, Furness J. High-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training within cardiac rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. *J Sports Med*. 2018; 9: 1–17.
6. Sari-Sarraf V, Amirsasan R, Sheikholeslami-Vatani D, Faraji H. 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. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci*. 2016; 21(4): 47–54.
7. Wencker D, Chandra M, Nguyen K, Miao W, Garantziotis S, Factor S M, Kitsis R N. A mechanistic role for cardiac myocyte apoptosis in heart failure. *J Clin Invest*, 2003; 111(10): 1497–1504.
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): 1–6.
9. Montazeri F, Rahgozar S, Ghaedi K. Apoptosis and cytoplasm organelles. *Genet Third Millenn*. 2011; 9(1): 2300–2312.
10. Abadi N, Bashiri J. The effect of three-month aerobic training on the expression of AIF and caspase-9 gene in male rat soleus muscle. *J Fasa Univ Med Sci*. 2017; 7(2): 257–64.
11. Zhao YC, Fu JM, Gao BH. Effects of different intensity exercise training on apoptosis-related microRNAs and the targeted proteins in cardiomyocytes. *Chinese J Physiol*. 2018; 34(1): 93-96
12. Mirdar S, Arab A, Hedayati M, Hajizadeh A. Evaluation of the Effect of a Swimming Training Program on Levels of Lung Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) in Pups. *Qom Univ Med Sci J*. 2013; 7(3):11–20.
13. Huang C-Y, Lin Y-Y, Hsu C-C, Cheng S-M, Shyu W-C, Ting H, et al. Antiapoptotic effect of exercise training on ovariectomized rat hearts. *J Appl Physiol*. 2016; 121(2): 457–65.

14. Lee S-D, Shyu W-C, Cheng I-S, Kuo C-H, Chan Y-S, Lin Y-M, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2013; 23(6): 566–573.
15. Santana ET, Serra AJ, Silva Junior JA, Bocalini DS, Barauna VG, Krieger JE, et al. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. *Mot Rev educ Fis*. 2014; 20(2): 233–238.
16. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi C V. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol*. 1979;47(6):1278–83.
17. Yari R. Cell Ageing and Biotechnology. *NCMBJ*. 2011; 1 (4) :7-26.
18. Ghahremani M. The role of physical activity in oxidative damage and anti-oxidant status in elderly people: A Review of Mechanisms. *Pathobiol Res*. 2017; 20(3): 1–16.
19. Honardoost M, Soleimanjahi H, Rajaei F. Apoptosis: programmed cell death. *J Qazvin Univ Med Sci*. 2013; 17(3): 48–57.
20. Sharifi F, Roshan V, Mazaheri Z. Effect of Pretreatment of Aerobic Training on Doxorubicin-induced Left Ventricular Apoptosis Gene Expression in Aging Model Rats. *Pathobiol Res*. 2016; 19(2): 29–43.
21. Sadat-Hoseini SK, Dabidi Roshan V. The interactive effects of two forced and voluntary exercise training method and Nanocurcumin supplement on doxorubicin-induced hepatotoxicity in aging induced by D-galactose TT. *Tehran-Univ-Med-J*. 2017; 74(11): 807–16.
22. Tehrani M, Azarbayjani MA, Hossini S. Effects of Aerobic Exercise and Curcumin on Apoptosis: A Review. *JMI*. 2018; 16 (2) :58-66
23. Hasani S, Habibian M. The effect of regular high-intensity interval exercise on some apoptotic factors in the brain tissue of old female rats. *Feyz*. 2018; 22 (2):128-133
24. Olah A, Nemeth BT, Matyas C, Horvath EM, Hidi L, Birtalan E, et al. Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model. *Int J Cardiol*. 2015; 182: 258–66.
25. Azizi S, Hashemichashmi Z, Dabidiroshan V, Zolfagharzade F, Parsaei far A. Heart Tissue Changes Following Doxorubicin Toxicity: An Experimental Study on the Protective Effect of Aerobic Training in Young and Old Rats. *J ilam Univ Med Sci*. 2018; 25(5): 34–41.

The Effect of Interval and Continuous Training on Some Apoptotic Markers in the Heart Tissue of Rats

Hadis Ghajari Shalamzari¹ - Seyed Ali Hosseini^{*2}- Sirous Farsi³ - Mohammad Ali Azarbayjani⁴

1. PhD Student, Department of Exercise Physiology, Larestan Branch, Islamic Azad University, Larestan, Iran 2. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran 3. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Larestan Branch, Islamic Azad University, Larestan, Iran 4. Professor, Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2018/11/30; Accepted: 2019/06/01)

Abstract

Apoptosis is a highly organized and programmed process that plays a vital role in monitoring various types of non-pathological cell events; however, the effect of various sport activities with various intensities on apoptosis is still not fully identified. The aim of this study was to investigate the effect of interval and continuous training on some apoptotic markers in the heart tissue of rats. 20 rats were randomly divided into four groups: first week control, last week control, interval training, and continuous training. Interval training was performed for 8 weeks, 3 sessions per week, and 2- 8 intervals each session with the intensity of 85-110% of maximum sprint speed, while continuous training was performed for 8 weeks, 3 sessions per week, 16-40 minutes per session equal to 55-60% of maximum sprint speed. To analyze the findings, independent t test and MANOVA were employed using SPSS software ($P \leq 0.05$). The gene expression levels of Bax, Caspase 9, and Bax/Bcl-2 ratio in continuous training and interval training groups were significantly lower than the last week control group ($P \leq 0.05$); gene expression levels of Bcl-2 in interval training group were significantly higher than the last week control group ($P \leq 0.05$). There were no significant differences in gene expression levels of Bcl-2, Bax, Caspase 9, and Bax/Bcl-2 ratio in continuous training and interval training groups ($P \geq 0.05$). It seems that interval and continuous training have the same effects on cell anti-apoptotic adaptations in the heart tissues of Sprague Dawley male rats.

Keywords

Bax, Bcl-2, caspase 9, continuous training, heart, interval training.

* Corresponding Author: Email: alihoseini_57@miau.ac.ir ; Tel: +989173027100