

The effect of eight weeks of continuous aerobic training with moderate intensity on the apoptosis indices of heart tissue in aged male rats

Farnaz Seifi AsgShahr*, Sajjad Ramezani

Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Corresponding author e-mail: f.seify@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: The aging process is characterized by a series of molecular and cellular changes over the years that can lead to the destruction of important physiological parameters to keep an organism alive and healthy. On the other hand, physical activity not only improves heart function but also reduces the risk of heart disease. Therefore, this study aimed to investigate the effect of eight weeks of continuous aerobic training (MICT) on the apoptosis indices of heart tissue in aged male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 16 male Wistar rats with an average age of 19 ± 2.25 months and weight of 350.02 ± 20.12 grams were used. They were randomly divided into two groups of moderate intensity continuous training (MT) and control (C). The continuous aerobic exercise program (MICT) was performed for 8 weeks and five sessions per week with an intensity of 60-75% of the maximum speed. 48 hours after the last training session, after complete anesthesia and killing of the mice, heart tissue was removed and immediately frozen in nitrogen solution and kept at -80 degrees. The gene expression values of BAX, BCL2, the ratio of BAX to BCL2 and P53, and caspase 3 of the heart were measured by real-time PCR. The data were analyzed by independent t-statistical method in SPSS 27 software at a significant level of $P < 0.05$.

Results: The findings showed that eight weeks of MICT training significantly reduced the apoptotic indices of BAX ($P=0.002$), P53 ($P=0.015$), and caspase 3 ($P=0.002$) in the heart tissue of elderly rats compared to the control group. Also, the results showed that MICT training increased BCL2 ($P=0.011$) and decreased the ratio of BAX to BCL2 ($P=0.008$) in the heart tissue of elderly rats.

Conclusion: It seems that regular continuous aerobic exercise using the MICT method can play a significant role in reducing the apoptotic indices of the heart tissue and slowing down the aging process.

Keywords: Continuous exercise, Apoptosis, Heart, Elderly

Received: Oct 20, 2024

Revised: Nov 20, 2024

Accepted: Nov 29, 2024

How to cite this article: Seifi-Skishahr F, Ramezani S. The effect of eight weeks of continuous aerobic training with moderate intensity on the apoptosis indices of heart tissue in aged male rats. Daneshvar Medicine 2024; 32(5):55-66. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.19721.1557

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

اثر هشت هفته تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط بر شاخص های آپوتوز بافت قلب موش های نر سالمند

فرناز سیفی اسگ شهر*، سجاد رمضانی

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

Email: f.seify@yahoo.com

*نویسنده مسئول: فرناز سیفی اسگ شهر

چکیده

مقدمه و هدف: فرایند پیری با مجموعه ای از تغییرات مولکولی و سلولی در طول سال ها مشخص می شود که می تواند به تخریب پارامترهای فیزیولوژیکی مهم برای زنده و سالم نگه داشتن یک موجود زنده منجر شود. از طرفی فعالیت بدنی نه تنها باعث بهبود عملکرد قلبی می شود، بلکه خطر بیماری های قلبی را هم کاهش می دهد. از این رو هدف این پژوهش، بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی تداومی (MICT) بر شاخص های آپوتوز بافت قلب موش های نر سالمند بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۱۶ سرموش صحرایی نر از نژاد ویستار با میانگین سنی $19 \pm 2/25$ ماه و وزن $20 \pm 2/12$ گرم به طور تصادفی به دو گروه تمرین تداومی با شدت متوسط (MT) و کنترل (C) تقسیم شدند. برنامه تمرین هوازی تداومی (MICT) به مدت ۸ هفته و پنج جلسه در هفته با شدت ۶۰-۷۵ درصد حداکثر سرعت به صورت فزاینده انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی پس از بیهوشی کامل و کشتار موش ها بافت قلب برداشته و بلافاصل در محلول نیتروژن فریز و در دمای -80°C درجه نگهداری شد. مقادیر بیان ژن شاخص های BCL2، BAX، نسبت BAX به BCL2، P53، و کاسپاز ۳ قلب به روش Real time PCR اندازه گیری شد. داده ها به روش آماری t مستقل در نرم افزار SPSS ۲۷ و در سطح معنی داری ($P < 0/05$) تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: نتایج نشان داد انجام هشت هفته تمرین MICT باعث کاهش معنی دار شاخص های آپوتوزی BAX ($P = 0/002$)، P53 ($P = 0/015$) و کاسپاز ۳ ($P = 0/002$) در بافت قلب موش های سالمند نسبت به گروه کنترل شد. همچنین نتایج نشان داد اجرای تمرین به روش MICT باعث افزایش BCL2 ($P = 0/011$) و کاهش نسبت BAX به BCL2 ($P = 0/008$) در بافت قلب موش های سالمند شد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد انجام منظم تمرینات هوازی تداومی به روش MICT می تواند در کاهش شاخص های آپوتوز بافت قلب و کند شدن سرعت فرآیند پیری نقش بسزایی داشته باشد.

واژه های کلیدی: تمرین تداومی، آپوتوز، قلب، سالمند

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۲۹

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۰۸/۳۰

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۹

مقدمه

فرآیند پیری با کاهش تدریجی عملکرد قلب، برون ده قلبی، جریان خون و مصرف اکسیژن و افزایش حساسیت به التهاب، استرس اکسیداتیو و بیماری مشخص می‌شود. اختلال در عملکرد قلب، باعث افزایش سیتوکین های التهابی و افزایش استرس اکسیداتیو از ویژگی‌های مشترک بین پیری و بیماری‌های قلبی عروقی است (۱). به نظر می‌رسد کاهش قابل‌توجه در میوسیت های قلب به‌طور مستقیم در اختلال عملکرد انقباضی، کاردیومیوپاتی، بیماری‌های قلبی و نارسایی قلبی دخیل است. این در حالی است مطالعات نشان داده‌اند میوسیت های قلب یک مرد ۷۰ ساله در مقایسه با یک بزرگسال جوان ۳۰ درصد کمتر است (۱). از دیدگاه فیزیولوژیکی قلب، مرگ سلولی در این بافت به‌عنوان مسیر مهمی که نظارت بر انواع رویدادهای سلولی غیر پاتولوژیک دارد معرفی‌شده است (۲) و از دو مسیر داخلی (وابسته به اعضای خانواده لئفم B¹ (BCL-2) و BAX) و مسیر خارجی (یا رسپتورهای مرگ) اتفاق می‌افتد (۳). به عبارتی رهایش عوامل آپوپتوزی از میتوکندری به سیتوزول، موجب فعال‌سازی پروکاسپاز ۹ و سپس کاسپاز ۹ و درنهایت، فعال‌سازی کاسپاز ۳ به‌عنوان کاسپاز اجرایی و فصل مشترک همه مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز می‌شود (۳). در مسیر خارجی، زمانی که گیرنده‌های مرگ غشاء سلولی (TNFR1^۲, TRAIL-R1^۳, TRAIL-R2^۴) به لیگاند خود یعنی اینترلوکین ۱ بتا (IL-1β^۵)، عامل مرگ بافتی تومور آلفا (TNF-α^۶)، لیگاند Fas (FasL) و غیره متصل می‌شوند، موجب فعال سازی کاسپازها شده و درنهایت مرگ سلولی اتفاق می‌افتد (۴). فرایند آپوپتوز به‌طور دقیق به کنش و برهمکنش این محصولات ژنی بستگی دارد که فرایند خودکشی سلول را مهار یا فعال

می‌کنند. بدین معنی که آپوپتوز توسط رونویسی ژن پیش آپوپتوزی Bax و ممانعت ژن آنتی آپوپتوزی Bcl-2 تعیین می‌گردد (۵). همچنین پیشینه پژوهشی بیانگر ارتباط بین پروتئین P53 یا سرکوبگر تومور با فرایند آپوپتوز است (۶). پروتئین P53 در تنظیم چرخه سلولی، پیری، آپوپتوز و ثبات ژنوم فعال بوده و نقش مؤثری دارد. این پروتئین با فعال‌سازی فرایند آپوپتوز از تکثیر و ترمیم سلول‌های عضلانی جلوگیری کرده و باعث تسریع در مرگ سلولی می‌شود (۶). نتایج مطالعات نشان داده‌اند که با پیر شدن، میزان آپوپتوز به شکل قابل‌توجهی در قلب افزایش می‌یابد که می‌تواند احتمالاً به علت افزایش بیان ژن‌های مولد P53، کاسپازها و کاهش بیان BCL2 باشد و این داده‌ها نشان می‌دهد که قلب پیر بیشتر از قلب جوان مستعد ابتلا به آپوپتوز است (۷). بنابراین پژوهشگران همواره به دنبال روش‌های مناسب پیشگیری از آپوپتوز و بیماری‌های مختلف قلبی مرتبط با سالمندی هستند. در دهه‌های اخیر، تأثیر فعالیت‌ها و تمرین ورزشی بر آپوپتوز موردعلاقه محققان حوزه ورزش قرارگرفته است (۸). در این باره برخی از پژوهشگران عنوان کردند یک جلسه فعالیت ورزشی تا ۴۸ ساعت می‌تواند موجب افزایش سرعت آپوپتوز شود (۹، ۱۰). این در حالی است که برخی مطالعات نشان داده‌اند انجام تمرینات ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود. در این راستا، آذربایجانی و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه خود نشان دادند تمرین هوازی باعث کاهش آپوپتوز بخصوص کاسپاز ۳ در بافت قلب می‌شود (۱۱). کی واک (۲۰۱۳) نیز در مطالعه خود بیان نمود که تمرین استقامتی آرایش پیام‌رسانی آپوپتوزی و فرایند آپوپتوز را معکوس می‌کند و پیشنهاد کرد که تمرین استقامتی از قلب در مقابل آپوپتوز محافظت می‌نماید (۱). اگرچه سازوکارهای دقیق فعالیت ورزشی منظم بر تنظیم مسیر آپوپتوزی حاصل از پیری به‌درستی مشخص نیست،

1 B-Cell Lymphoma-2

2 Tumor Necrosis Factor Receptor 1

3 Trail Receptor 1

4 Trail Receptor 2

5 Interleukin 1β

6 Tumor Necrosis Factor Alpha

سنی ۱۸-۲۰ ماه و محدوده وزنی ۳۰۰-۳۸۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و به آزمایشگاه تخصصی این واحد دانشگاهی منتقل شدند. پژوهش حاضر مطابق دستورالعمل‌های موسسه ملی بهداشت (NIH) وبا تائید کمیته اخلاق دانشگاه محقق اردبیلی به شماره IR.UMA.REC.1402.022 انجام شد. تمامی موش‌های صحرایی در قفس‌های تمیز و استریل شده شفاف تحت شرایط استاندارد با چرخه تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و دمای ۲۲-۱۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات با رژیم غذایی استاندارد آزمایشگاهی جوندگان (پروتئین خام ۲۰/۵۰-۱۹/۵۰٪، چربی ۴/۵-۵/۳٪، فیبر ۴-۴/۵٪، کلسیم ۱-۰/۹۵٪، فسفر ۰/۷-۰/۶۵٪، نمک ۰/۵۵-۰/۵٪، لیزین ۱/۱۵٪، متیونین ۰/۳۳٪، ترئونین ۰/۷۲٪، تربیتوفان ۰/۲۵٪، کالری ۱۶/۱۶-۱۷ mj/kg) و آب لوله‌کشی به صورت دسترسی نامحدود تغذیه شدند. پس از طی یک دوره یک‌هفته‌ای سازگاری با محیط آزمایشگاه موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۲ گروه ۸ سره کنترل (C)، تمرین تداومی (MT) تقسیم شدند.

پروتکل تمرین

پروتکل تمرین تداومی با شدت متوسط به گونه‌ای تدریجی در طول ۸ هفته افزایش می‌یافت تا حیوان با محرک تمرینی جدید سازگار گردد و استرس ناشی از تمرینات به گونه‌ای تدریجی افزایش یابد. در ابتدای پژوهش همه موش‌ها به منظور کاهش استرس و هم‌چنین آشنایی با دویدن روی تردمیل، در یک برنامه آشنا سازی تمرینی به مدت یک هفته با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و مدت زمان ده دقیقه شرکت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه آشناسازی، موش‌ها متحمل یک آزمون ورزشی فزاینده تا مرز خستگی شدند تا حداکثر سرعت دویدن روی تردمیل مشخص گردد. این آزمون فزاینده با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه شروع می‌شد و هر سه دقیقه، سرعتی معادل با سه متر بر دقیقه به سرعت آن افزوده می‌شد. زمان رسیدن به خستگی با عدم توانایی موش‌ها در دویدن روی تردمیل با وجود ایجاد شوک الکتریکی مشخص شد (۱۶). بر اساس سرعت حداکثر به دست آمده، تمرینات به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته برای گروه تمرینی طراحی گردید. پروتکل تمرینی

بالین حال پیشینه پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش فعالیت مولکول P53 در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C مانع از فعال شدن کاسپازهای آغازگر و اجرایی (کاسپاز ۳) و تداوم ایجاد فرایند آپوپتوز گردد (۱۲). در این زمینه مرادیان و همکاران بیان کردند هشت هفته تمرین ورزشی صرف نظر از نوع آن، باعث ایجاد تأثیرات مثبت در عوامل آپوپتوزی می‌گردد (۱۳). در مطالعه کین و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که ۷ هفته تمرینات شنا میزان کاسپاز ۳- و بیان فاکتور مشتق از آپوپتوزیس، BAX را به طور معنی داری کاهش می‌دهد، اما موجب افزایش BCL-2 موش‌های مبتلا به التهاب روده می‌شود (۱۴). هم‌چنین سان^۱ همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که یک جلسه فعالیت وامانده ساز شنا موجب کاهش چشم‌گیر بیان ژن BCL-2 در ۶ ساعت پس از ورزش می‌شود اما تأثیری بر BAX و نسبت BAX به BCL-2 ندارد (۱۵). پی بردن به عملکردهای مداخلات ورزشی شناخت بهتری از واکنش‌های فرایند سالمندی ایجاد می‌کند و یک فرصت بالینی نویدبخش را برای پیشگیری از پیری انسان و بیماری‌های مرتبط با آن را فراهم می‌کند. لذا، با توجه به نقش آپوپتوز در فرایند پیری و مطرح شدن مؤلفه‌های گوناگون تمرینی در تغییرات نشانگرهای آپوپتوز و متناقض بودن نتایج پژوهش‌های انجام شده و محدود بودن پژوهش‌ها در زمینه مداخله فعالیت ورزشی در نمونه‌های سالمند سالم، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی تداومی (MICT) باشد متوسط بر بیان شاخص‌های آپوپتوزی BAX، BCL2، نسبت بیان ژن BAX/BCL2، کاسپاز ۳ و P53 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر سالمند بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی- بنیادی است که به صورت گروه مداخله‌ای و کنترل انجام گرفت. در این پژوهش ۱۶ سر موش صحرایی سالمند نر از نژاد ویستار با میانگین

موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه سرد کردند. شیب نوار گردان صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت (۱۷، ۱۶).

در هفته اول پس از آشنا سازی با شدتی حدود ۶۰ درصد حداکثر سرعت و به مدت ۱۵ دقیقه شروع شد که تا هفته هشتم به صورت فزاینده به شدت ۷۵ درصد حداکثر سرعت و به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. در پایان هر جلسه نیز

جدول ۱. پروتکل تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)

هفته	شدت فعالیت (درصد)	مدت فعالیت (دقیقه)
اول	۶۰	۱۵
دوم	۶۰	۱۵
سوم	۶۵	۲۰
چهارم	۶۵	۲۰
پنجم	۷۰	۲۵
ششم	۷۰	۲۵
هفتم	۷۵	۳۰
هشتم	۷۵	۳۰

طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی بدست آمد.

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d / 1000$$

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن ها مورد بررسی قرار گرفت، و سپس بررسی بیان ژن ها با استفاده از روش کمی q-RT PCR انجام پذیرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است (۱۸).

مراحل نمونه گیری بافت و اندازه گیری تغییرات آپوپتوزی در بافت قلب

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش های صحرایی به وسیله کتامین با دوز ۹۵ میلی گرم/کیلوگرم و زایلازین با دوز ۵ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و با سرنگ انسولین تزریق و بی هوش شدند و بافت قلب موش های صحرایی توسط متخصصین آزمایشگاه جداسازی و در ادامه بلافاصله در ازت مایع فریز شده و در دمای ۷۰- نگهداری شد. جهت بررسی های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت قلب طبق پروتکل شرکت سازنده (سیناژن، ایران)، انجام گرفت، سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد مطالعه

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
Bax	Forward: 5'-CTGCAGAGGATGATTGCTGA-3'	142
	Reverse: 5'-GATCAGCTCGGGCACTTTAG-3'	
BCL2	Forward: 5'-ATCGCTCTGTGGATGACTGAGTAC-3'	134
	Forward: 5'-AGAGACAGCCAGGAGAAATCAAAC-3'	
P53	Reverse: 5'-GGCTCCGACTATACCACTATCC-3'	110
	Reverse: 5'-GAGTCTTCCAGCGTGATGATG-3'	
Caspase 3	Forward: 5'-AGCTTGAACGCGAAGAA-3'	118
	Reverse: 5'-GCTTCCATGGATAGTCTTTGTTTC-3'	
B2m	Forward: 5'-CGTGCTTGCCATTGAGAAA-3'	244
	Reverse: 5'-ATATACATCGGTCTCGGTGG-3'	

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک مشخص شد. همچنین برای بررسی اثر تمرین تداومی بر متغیرهای وابسته از آزمون t مستقل در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ($P \leq 0/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مورد تحقیق در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج آزمون t مستقل نشان داد هشت هفته تمرین تداومی باعث کاهش معنی‌دار وزن در موش‌های صحرایی سالمند شد، این در حالی است که در گروه کنترل افزایش وزن معنی‌دار پس از هشت هفته مشاهده شد ($P=0/001$).

بیان ژن شاخص آپوپتوزی BAX در گروه تمرین با میانگین و انحراف استاندارد ($0/69 \pm 0/19$) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل با میانگین و انحراف استاندارد ($1/52 \pm 0/21$) داشت ($t=4/122$ ، $P=0/001$). بیان

BCL2 در گروه تمرین با میانگین و انحراف استاندارد ($1/25 \pm 0/70$) به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل با میانگین و انحراف استاندارد ($0/43 \pm 0/07$) افزایش داشت ($t=-2/909$ ، $P=0/011$). این در حالی است که نسبت بیان ژن BAX به BCL2 پس از هشت هفته در گروه تمرین با میانگین و انحراف استاندارد ($0/64 \pm 0/24$) کمتر از گروه کنترل با میانگین و انحراف استاندارد ($6/85 \pm 2/71$) بود ($t=3/066$ ، $P=0/008$).

بیان ژن P53 بافت قلب در گروه تمرین با میانگین و انحراف استاندارد ($0/0 \pm 81/20$) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل با میانگین و انحراف استاندارد ($1/0 \pm 21/23$) داشت ($t=4/103$ ، $P=0/015$). همچنین بیان ژن کاسپاز ۳ در بافت قلب موش‌های گروه تمرین با میانگین و انحراف استاندارد ($0/0 \pm 77/19$) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل با میانگین و انحراف استاندارد ($1/0 \pm 16/24$) داشت ($t=2/436$ ، $P=0/002$). (شکل‌های ۳-۱).

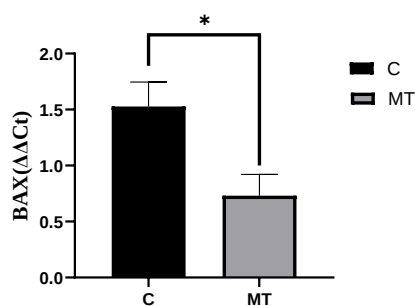
جدول ۳. سطوح پیش‌آزمون و پس‌آزمون وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	پیش‌آزمون (گرم)	پس‌آزمون (گرم)	P
	میانگین و انحراف استاندارد	میانگین و انحراف استاندارد	
کنترل	۳۲۰/۳۱±۴/۵۷	۳۴۵/۵۷±۴/۶۴	†۰,۰۰۱
تمرین تداومی	۳۵۰/۲۷±۵/۶۸	۲۷۷/۰۰±۴/۳۲	*۰,۰۰۱

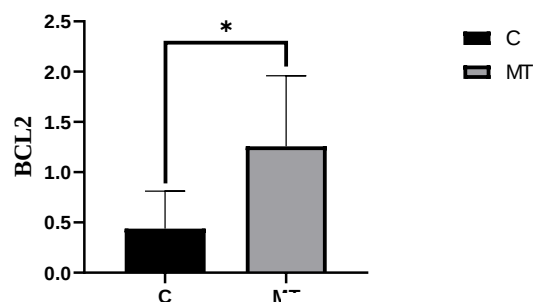
*کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل، †افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل

جدول ۴. میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای تحیق

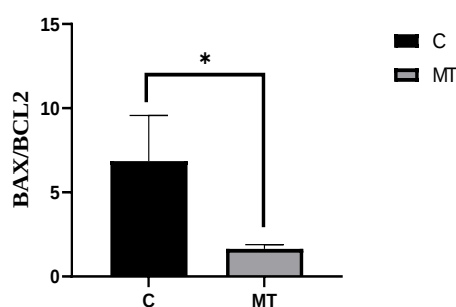
متغیر	گروه‌ها	میانگین و انحراف استاندارد	حداقل	حداکثر
BAX	کنترل	۰/۰±۶۹۸/۰۶۸	۱/۲۰	۱/۸۰
	تمرین	۱/۰±۵۲۵/۷۳۳	۰/۴۶	۱/۰۱
BCL2	کنترل	۰/۰±۴۳۷/۱۳۲	۰/۰۸	۱/۰۸
	تمرین	۱/۰±۲۵۶/۲۴۸	۰/۹۲	۲/۹۹
BAX/BCL2	کنترل	۶/۲±۸۵۳/۰۲۱	۱/۵۳	۱۸/۷۵
	تمرین	۰/۰±۶۴۹/۰۸۸	۰/۱۶	۰/۹۲
کاسپاز ۳	کنترل	۱/۰±۱۶۵/۰۸۵	۰/۷۲	۱/۴۲
	تمرین	۰/۰±۷۷۷/۰۶۹	۰/۴۳	۱/۰۰
P53	کنترل	۱/۰±۲۱۳/۰۸۳	۰/۸۰	۱/۵۲
	تمرین	۰/۰±۸۸/۰۷۲	۰/۵۱	۱/۱۳



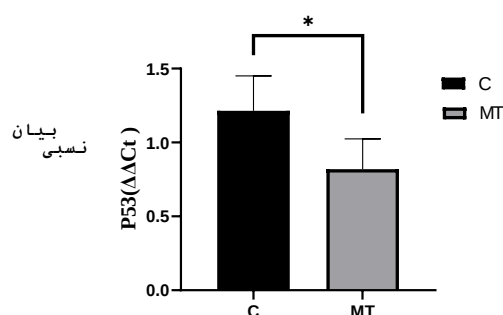
شکل ۱. (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) میزان نسبی بیان ژن BAX در گروه‌های تمرین تداومی (MT) و کنترل (C) *تفاوت معنادار گروه تمرین با کنترل



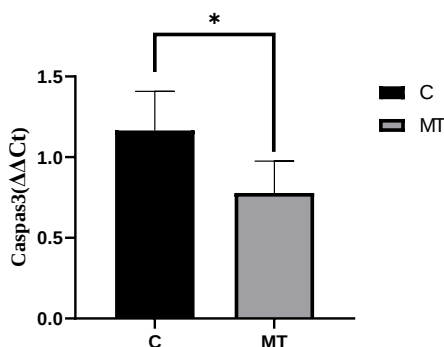
شکل ۲. (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) میزان نسبی بیان ژن BCL2 در گروه‌های تمرین تداومی (MT) و کنترل (C) *تفاوت معنادار گروه تمرین با کنترل



شکل ۳. (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) میزان نسبت بیان ژن BAX به BCL2 در گروه‌های تمرین تداومی (MT) و کنترل (C) *تفاوت معنادار گروه تمرین با کنترل



شکل ۴. (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) میزان نسبی بیان ژن P53 در گروه‌های تمرین تداومی (MT) و کنترل (C) *تفاوت معنادار گروه تمرین با کنترل



شکل ۵. (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) میزان نسبی بیان ژن کاسپاز ۳ در گروه‌های تمرین تداومی (MT) و کنترل (C) *تفاوت معنادار گروه تمرین با کنترل

بحث

بر اساس مطالعات افزایش نسبت BAX/BCL2 با پیری قلب مستقیماً با افزایش سیگنال دهی کاسپاز پایین‌دستی از جمله کاسپاز ۹ و کاسپاز ۳ مرتبط بوده که باعث تکه‌تکه شدن DNA و مرگ سلولی می‌شود. این در حالی است که نشان داده شده است فعالیت ورزشی در قلب سالخورده

نتایج پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین تداومی MICT تأثیر معنی‌داری بر کاهش بیان ژن BAX، کاسپاز ۳ و نسبت BAX به BCL2 و افزایش بیان BCL2 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر سالمند دارد.

منجر به بهبود تغییرات ناشی از افزایش سن در مسیرهای آپوپتوز با واسطه میتوکندری می‌شود. همچنین به‌طور خاص کاسپاز ۳، الگوی مشابهی را با تکه‌تکه شدن DNA در اثر پیری نشان داد، که نشان‌دهنده این است که کاسپاز ۳ یک مشخصه اساسی در آپوپتوز است (۱). در همین راستا رضایی و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای بر روی تأثیر تمرینات هوازی بر روی آپوپتوز بافت قلب موش‌های مسموم شده با آب اکسیژنه نشان دادند تمرینات هوازی تأثیر معنی‌داری بر کاهش شاخص‌های آپوپتوزی BAX و کاسپاز ۳ دارد (۱۹). همچنین نتایج کواک و همکاران به کاهش آپوپتوز عضله میوکارد موش‌های صحرایی مسن متعاقب تمرین استقامتی اشاره داشت. در این مطالعه نشان داده شد که ۱۲ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط به‌طور معنی‌داری موجب کاهش شاخص‌های آپوپتوزی در میوکارد موش‌های مسن شد (۲۰). قجری شلمزاری و همکاران نیز در مطالعه خود نشان دادند گذر عمر باعث افزایش شاخص‌های آپوپتوزی Bax و کاسپاز ۹ در بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود در حالی انجام ۸ هفته تمرین تداومی و تناوبی باعث کاهش معنی‌دار این شاخص‌ها شد (۲۱) که همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشند. با این حال نتایج برخی از مطالعات با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر ناهم‌سو هستند. در همین راستا تبریزی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که ۱۲ هفته برنامه تمرینی هوازی با شدت ۷۵ تا ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه به‌طور معنی‌داری باعث افزایش بیان ژن کاسپاز ۹ در عضله قلبی موش‌های صحرایی نرمسن در گروه تمرین می‌شود. به عبارتی، ۱۲ هفته تمرین هوازی روی نوار گردان با شدت ۷۵ تا ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه، موجب افزایش قابل‌توجه هردو ژن مربوط به آپوپتوز میتوکندریایی عضله قلبی موش‌های صحرایی شده و این احتمال وجود دارد که این موضوع در نهایت، موجب تشدید بروز فرآیند آپوپتوز از طریق مسیر داخلی شود (۹). Olah و همکاران (۲۰۱۵) نیز در مطالعه خود نشان دادند یک جلسه تمرین مقاومتی در موش‌های صحرایی و ۳ ساعت شنای اجباری موجب افزایش BAX شد که نشان‌دهنده افزایش سیگنالینگ آپوپتوز است و ورزش حاد به اختلال در سیستم ماتریکس میتوکندری می‌انجامد (۲۲).

کاظمی و همکاران (۲۰۲۲) نیز در مطالعه‌ای به بررسی بیان ژن BAX و BCL2 بافت قلب در رت‌های مسن در پاسخ به یک جلسه فعالیت و امانده ساز پس از ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز پرداختند و نشان دادند یک وهله فعالیت ورزشی باعث افزایش بیان ژن BAX و نسبت BAX به BCL2 شد (۲۳). از دلایل اختلاف در نتایج بدست آمده می‌توان به عواملی مانند، نوع نمونه‌های انتخابی، سن، سطح آمادگی و همچنین وضعیت سلامتی، تغذیه، پروتکل تمرینی و نحوه سنجش متغیرها اشاره کرد که ممکن است در این ناهم‌سو بودن نتایج نقش داشته باشد. اگرچه مکانیسم‌های دقیق آپوپتوز ناشی از فعالیت ورزشی به‌طور دقیقی مشخص نیست، اما فرضیه‌های احتمالی زیادی وجود دارند که به بررسی‌های بیشتر نیاز دارند. یکی از فرضیه‌های مهم در این زمینه این است که حین فعالیت ورزشی، متابولیسم عضلانی افزایش می‌یابد که منجر به تولید ROS می‌شود. کمیت زیاد ROS می‌تواند آسیب اکسیداتیو تولید کرده و بدین گونه منجر به آپوپتوزیس از طریق مسیر داخلی شود (۲۳). گزارش شده است که کاهش قابل‌توجه بیان پروتئین کاسپاز ۳ متعاقب تمرین هوازی با کاهش عوامل پیش آپوپتوزی مانند بیان پروتئین BAX و نسبت BAX به BCL2 و نیز افزایش معنی‌دار پروتئین ضد آپوپتوزی BCL2 همراه بود. این کاهش پتانسیل آپوپتوز میتوکندریایی متعاقب تمرین هوازی در موش‌های سالخورده احتمالاً با کاهش رهائش عوامل آپوپتیک مانند سیتوکروم C و APAF1، موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز ۳ شده است (۲۳). همچنین مطالعات نشان داده‌اند فعالیت ورزشی باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی از جمله سوپراکسید دیسموتاز باشد که می‌تواند در تنظیم مسیر آپوپتوزی سالمندی اهمیت داشته باشد. از طرفی نشان داده شده است فعالیت ورزشی از طریق تنظیم پروتئین‌هایی از جمله ایزوفرم منگنز سوپراکسید دیسموتاز^۱، NF-kB، گیرنده واسطه کیناز مرتبط با خارج سلولی (ERK)^۲، مسیر IGF/AKT^۳، مسیریروتئین‌ها^۴ و پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs)^۴

^۱ Mn-Sod^۲ Extracellular Signal-Regulated Kinases^۳ Sirtuins^۴ Heat Shock Protein

که تنظیم‌کننده بالادست آپوپتوز هستند، فرآیند آپوپتوز را کاهش می‌دهند (۲۴).

یکی دیگر از نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر کاهش معنی‌دار بیازن P53 بافت قلب موش‌های صحرایی سالمند پس از هشت هفته تمرین تداومی با شدت متوسط بود. در این راستا همسو با مطالعه حاضر هوشمند و همکاران (۲۰۲۱) در پژوهش خود نشان دادند انجام ۱۲ هفته تمرین مقاومتی تأثیر معنی‌دار بر کاهش مقادیر سرمی P53 مردان سالمند دارد (۲۵). جان بزرگی و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که انجام ۸ هفته تمرین هوازی با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی باعث کاهش معنی‌دار پروتئین سالمندی P53 در موش‌های دیابتی شد (۲۶). ژانگ‌تنگ^۱ و همکاران (۲۰۱۱) نیز در پژوهشی گزارش کردند که چهار هفته فعالیت ورزشی تغییرات وابسته به سن فعالیت P53 را کاهش می‌دهد و در نتیجه اثرات محافظتی و ضد پیری در عضلات قلبی موش‌ها دارد (۲۷). از طرفی ناهمسو با پژوهش حاضر کلایی و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تمرینات ترکیبی باعث افزایش سطح سرمی پروتئین P53 در مردان مبتلا به سرطان پروستات شد (۲۸). سید قمی و همکاران (۲۰۱۷) نیز در پژوهشی عدم وجود تغییرات معنی‌داری در بیان ژن P53 عضله نعلی موش‌های صحرایی نر به دنبال سه ماه تمرین را گزارش کردند (۶). زرباف و همکاران (۲۰۱۸) نیز در پژوهش خود به عدم وجود تغییرات معنی‌دار در بیان ژن P53 به دنبال سه هفته تمرین با شدت متوسط در رت‌ها را گزارش کردند (۲۹). از جمله دلایل ناهمسو بودن نتایج مطالعات ذکر شده می‌توان به بافت مورد بررسی، نوع آزمودنی‌ها، تعداد جلسات تمرین و شدت تمرین دانست. با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده، از دلایل اصلی افزایش مقادیر P53 فرآیندهای ایجاد شده ناشی از فشارهای اکسایشی است. نشان داده شده است که تمرینات منظم باعث کاهش استرس اکسیداتیو و بالا رفتن دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شوند (۲۵). در همین زمینه گزارش شده است که فعالیت ورزشی منظم و با شدت مناسب موجب کاهش استرس اکسایشی از طریق افزایش ظرفیت دفاع آنتی

اکسیدانی بدن می‌شود (۳۰). فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی سلول و کاهش میزان استرس اکسایشی بر اثر افزایش خستگی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شود (۳۱). بنابراین چون یکی از دلایل افزایش مقادیر P53، افزایش استرس اکسیداتیو است، می‌توان انتظار داشت مقادیر P53 به دلیل مهار استرس اکسیداتیو و بهبود سطوح عوامل ضد اکسایشی بدن، کاهش پیدا کند (۳۰). با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر در مورد اثر تمرین هوازی تداومی بر آپوپتوز بافت قلب، به نظر می‌رسد تحقیقات بیشتری برای جهت‌گیری در مطالعات آینده برای تعیین اثرات فعالیت‌های ورزشی بر مکانیسم‌های محافظتی سلولی بالادست در قلب افراد پیر مورد نیاز است. به عنوان مثال: فعالیت ورزشی ممکن است پروتئین‌های بقای سلولی از جمله ایزوفرمن منگنز سوپراکسید دیسموتاز (Nfkb, (MnSOD)، گیرنده‌های خارج سلولی کیناز (ERK)، مسیر IGF1/AKT و پروتئین‌های شوک گرمایی (HSPs) را در بافت قلب افزایش دهد که ممکن است تنظیم‌کننده‌های بالقوه آپوپتوز ناشی از افزایش سن دریافت قلب باشند.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، به نظر می‌رسد افزایش سن با افزایش مسیرهای آپوپتوزی با میانجی‌گری میتوکندری از جمله سطوح پروتئین‌های پیش آپوپتوزی مثل P53، Bax، کاسپاز-۳ و آپوپتوز می‌شود. با این وجود، تمرین تداومی با شدت متوسط توانست افزایش با افزایش سطوح پروتئین BCL2 و کاهش نسبت BAX به BCL2 از طریق سیگنالینگ مسیر آپوپتوزی و آپوپتوز را برعکس کند که نشانه اثرات محافظتی این نوع تمرین برای عضله قلبی در مقابل آپوپتوز است. با این حال، پژوهش‌های بیشتری لازم است تا مکانیسم‌های مولکولی و سلولی این حفاظت از عضله قلبی در برابر آپوپتوز ناشی از پیری را مشخص سازد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقی با حمایت دانشگاه محقق اردبیلی است. نویسندگان مقاله از تمامی عزیزانی که در اجرای این پژوهش با ما همکاری کرده‌اند، کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

ملاحظات اخلاقی

پژوهش حاضر مطابق دستورالعمل‌های موسسه ملی بهداشت (NIH) و با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه محقق

منابع

اردبیلی به شماره IR.UMA.REC.1402.022 انجام شد.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

1. Kwak H-B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *Journal of Exercise Rehabilitation*. 2013;9(2):212.
2. Sedaghat M. Cardiac remodeling, apoptosis-related process (Bax, Bcl-2), and their ratio (Bax/Bcl-2) in cardiomyocytes of diabetic rats after combined exercise training and taurine supplementation. *Comparative Clinical Pathology*. 2021;30(5):801-10.
3. 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. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 2017;7(2):257-64.
4. Huang M, Li Z-x, Chen J, Chen L, Li Y-y. Extracts of *Bauhinia Championii* Alleviate Acute Neuronal Injury After Ischemic Reperfusion by Improving Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Neuronal Apoptosis. *Current Medical Science*. 2022;1-8.
5. Morawska-Kochman M, Śmieszek A, Marcinkowska K, Marycz KM, Nelke K, Zub K, et al. Expression of Apoptosis-Related Biomarkers in Inflamed Nasal Sinus Epithelium of Patients with Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps (CRSwNP)—Evaluation at mRNA and miRNA Levels. *Biomedicines*. 2022;10(6):1400.
6. Seyedgomi F, Bashiri J, Gholami F. Effect of high intensity endurance training on p53 and cytochrome-c gene expression in male rat soleus muscle. *Armaghane danesh*. 2017;22(5):608-22.
7. Shahrabadi H, Haghighi AH, Askari R, Asadi-Shekaari M, Souza DC, Gentil P. Effect of High-Intensity Interval Training on Cardiac Apoptosis Markers in Methamphetamine-Dependent Rats. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022;44(7):3030-8.
8. Sadighi A, Abdi A, Azarbayjani MA, Barari A. Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats. *KAUMS Journal (FEYZ)*. 2019;23(5):495-502.
9. Javid Tabrizi N, Bashiri J, Narimani Rad M. Effect of 12 Weeks of Treadmill Aerobic Training on Cytochrome c and Caspase-9 gene Expression in Cardiac Muscle of Male Rats. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2017;11(6):1-9.
10. Koçtürk S, Kayatekin B, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and soleus muscle fibers in rats. *European Journal of Applied Physiology*. 2008;102(5):515-24.
11. Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. The effects of aerobic exercise training with octopamine supplementation on cardiomyocyte apoptosis induced by deep-frying oil: The role of caspase and procaspase 3. *Clinical Nutrition ESPEN*. 2022.
12. Norouzi Kamareh MH, Zolfaghari MR, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. Effect of 12 weeks aerobic training and oral green tea extract on cardiac caspase-3 expression in aged male rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2018;10(2):221-35.
13. Moradian F, Nazarali P, Alizadeh R. The Effect of Eight Weeks of Endurance and Resistance Training on Apoptotic Indexes in Young Men. *Journal of Isfahan Medical School*. 2018;36(489):845-52.
14. Qin L, Yao Z-q, Chang Q, Zhao Y-l, Liu N-n, Zhu X-s, et al. Swimming attenuates inflammation, oxidative stress, and apoptosis in a rat model of dextran sulfate sodium-induced chronic colitis. *Oncotarget*. 2017;8(5):7391.
15. Sun Y, Cui D, Zhang Z, Zhang T, Shi J, Jin H, et al. Attenuated oxidative stress following acute exhaustive swimming exercise was accompanied with modified gene expression profiles of apoptosis in the skeletal muscle of mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016.
16. Motiei Haghighi M, Soori R, Shabkhiz F, Choobine S. Comparison of the effect of high intensity interval training and moderate intensity continuous training on gene expression of Il-6 and Nf-Kb in lung tissue of old and young male rats. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2019;27(5):54-64.
17. Jokar M, SHERAFATI MM, Salesi M. The Effect Of Endurance Exercise On The Content Of Ampk And Pgc1A Proteins In The Left Ventricular Heart Tissue Of Rats With Type 2 Diabetes. 2020;19(5):252-60.
18. Shamsi B, Abedi B, Ramezani S. The effect of eight weeks of resistance training with consumption of *Tribulus terrestris* extract on antioxidant indices of hippocampal tissue in male rats exposed to stanazol. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2022;9(1):48-60.
19. Rezaei SM, Abedi B, Elahi HF. Research Paper

- The Effect of an Aerobic Exercise Course on Cardiac Tissue Apoptosis in Adult Male Rats Poisoned With Oxygenated Water. *Journal of Vessels and Circulation*. 2(3):201-08.
20. Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *The FASEB Journal*. 2006;20(6):791-3.
 21. Ghajari H, Hosseini SA, Farsi S, Azarbaijani M. The Effect of Interval and Continuous Training on Some Apoptotic Markers in the Heart Tissue of Rats. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2019;11(4):165-74.
 22. Oláh A, Németh BT, Mátyás C, Horváth EM, Hidi L, Birtalan E, et al. Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model. *International Journal of Cardiology*. 2015;182:258-66.
 23. Kazemi A, Behpoor N, Hematfar A. The Effect of 12 Weeks of Green Tea Extract Consumption on Expression of Bax and bcl-2 Genes of Old Rats' Heart Tissue in Response to Acute Exhaustive Exercise. *Journal of Animal Biology*. 2022;14(3):71-82.
 24. Soori R, Zare Shahneh M, Choubineh S, Ramezankhani A. Effect of high-intensity interval training on expression of pro and anti-apoptotic genes in myocard tissue of aged male C57BL/6 mice. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2018;11(2):13-24.
 25. Hooshmand MB, GAEINI AA, ESKANDARI M, Parseh S, Hojjati MM. Twelve weeks of resistance training intervention on serum levels of some apoptosis markers in elderly men. 2021.
 26. Janbozorgi M, Choobineh S. The Effect of Eight Weeks of Aerobic Exercise on the Expression of Senescence Proteins P53 and P16 in Pancreatic Tissue of Diabetic Mice. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2022;22(1):45-54.
 27. Qi Z, He J, Su Y, He Q, Liu J, Yu L, et al. Physical exercise regulates p53 activity targeting SCO2 and increases mitochondrial COX biogenesis in cardiac muscle with age. *PloS one*. 2011;6(7):e21140.
 28. Rakabdarkolaee MA, Barari A, Abdi A, Hasrak K. The Effect of Eight-Week Concurrent Training on Aerobic Capacity and Serum Level of P53 Tumor Suppressor Protein in Prostate Cancer Patients: A Clinical Trial. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 2018;17(8).
 29. Zarbaf R, Koushki Jahromi M, Daryanoosh F. The effects of aerobic exercise in Sprague Dawley pregnant rats on BRCA1 and P53 gene expression of adult offspring breast tissue. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2018;20(5):13-24.
 30. Folli F, Corradi D, Fanti P, Davalli A, Paez A, Giaccari A, et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro-and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Current diabetes reviews*. 2011;7(5):313-24.
 31. Khorram H, Ravasi A, Hedayati M, Samadi A, Gaeini A. Effect of 8 weeks of resistance training on oxidative stress in diabetic rats. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2014;20(3):389-99.