Journal of Practical Studies of
Biosciences in Sport

Effect of eight weeks of moderate intensity interval training and vitamin D intake on apoptosis factors of Bax and Bcl-2 and the ratio of Bax / Bcl-2 in male rats after myocardial infarction induction

Abstract

Background and Aim: The aim of this study was to investigate Effect of eight weeks of moderate intensity interval training and vitamin D intake on apoptosis factors of Bax and Bcl-2 and the ratio of Bax / Bcl-2 in male rats after myocardial infarction induction. **Matarilas and Methods:** Research samples were 56 vistar male Desert Rat, which were randomly divided in 7 Groups: Control and healthy group, stroke Group + 5 minutes' walk, stroke group + vitamin + D 5 minutes' walk, stroke group +interval exercise, stroke group + interval exercise + vitamin D, stroke group + interval exercise + oral paraffin gauge, stroke group + gauge oral paraffin+ 5 minutes of walking. The mice experienced supplementation, placebo and training in specific groups. For statistical analysis, multivariate analysis of variance and one-way analysis of variance test was used with Tukey's post-hoc test (at $p \leq 0.05$ significant level). **Results:** Both the individual and combined interventions resulted in a significant reduction in BAX and a marked increase in Bcl-2 relative to the stroke group, the combination of exercise and supplementation led to a more pronounced increase in Bcl-2 and a more significant decrease in BAX compared to the two supplementary groups (p=0.001) and the training group (p=0.001). also, Similar results were also observed regarding the BAX-BCL-2 ratio. **Conclusion:** In general, the results show that training and supplementation cause a significant change in apoptosis factors, but the combination of two variables has a synergistic effect and works better than the individual actions of each of the interventions.

Keywords: interval training, vitamin D, apoptosis, heart infarction.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدت متوسط و مصرف ویتامین D بر عوامل آپوپتوزیسی Bax و Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2 در موش های صحرایی نر متعاقب القای آنفارکتوس قلبی

فائزه وحید مقدم[1]، مقصود پیری[2]، شیما آب آب زاده[3]، فروزان فتاحی[4]

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران.
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران.
۳. دانشیار، گروه مهندسی بافت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.
۴. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

چکیده

زمینه و هدف: هدف این مطالعه بررسی تاثیر هشت هفته برنامه‌ی تمرین تناوبی با شدت متوسط و مصرف ویتامین D فاکتورهای آپوپتوزیسی Bax و Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2 در موش‌های صحرایی نر متعاقب القای آنفارکتوس قلبی بود. **روش تحقیق:** نمونه‌های پژوهش تعداد ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بودند که به طور تصادفی در ۷ گروه مساوی (هر گروه ۸ سر) شامل: گروه کنترل سالم، گروه سکته + ۵ دقیقه راه رفتن، گروه سکته + ویتامین D + ۵ دقیقه راه رفتن، گروه سکته + تمرین تناوبی، گروه سکته + تمرین تناوبی + ویتامین D ، گروه سکته + تمرین تناوبی + گاواژ پارافین خوراکی، و گروه سکته + گاواژ پارافین خوراکی + ۵ دقیقه راه رفتن قرار گرفتند. موش‌ها در گروه‌های اختصاصی، مکمل‌دهی، دارونما و تمرین را تجربه نمودند. آزمون های تحلیل واریانس چند متغیره، تحلیل واریانس یک راهه و تعقیبی توکی برای استخراج نتایج (در سطح معنی داری $p<۰/۰۵$) مورد استفاده قرار گرفتند. **یافته ها:** هر دو مداخله تمرین تناوبی و مکمل به صورت انفرادی و ترکیبی، سبب کاهش معنی دار BAX و افزایش معنی‌دار Bcl-2 نسبت به گروه سکته گردید. همچنین، ترکیب تمرین و مکمل، سبب افزایش بیشتر Bcl2 و کاهش بیشتر Bax نسبت به دو گروه مکمل (P=۰/۰۰۱) و تمرین تنها شد (P=۰/۰۰۱). در رابطه با نسبت Bax به Bcl-2 نیز نتیجه مشابهی مشاهده شد. **نتیجه گیری:** نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار تمرین و مکمل سبب بهبود معنی‌دار عوامل آپوپتوزیسی می‌گردد، اما ترکیب دو متغیر اثر هم‌افزایی داشته و بهتر از اعمال منفرد هر یک از مداخله‌ها عمل می‌کند.

واژه های کلیدی: تمرین تناوبی، ویتامین D، آپوپتوزیس، انفارکتوس قلبی.

Journal of Practical Studies of
Biosciences in Sport

مقدمه

آپوپتوزیس فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ا ست که در موجودات چند سلولی رخ داده و روندی فیزیولوژیک و زیستی برای نمو فعال طبیعی و همچنین حفظ هموستاز ا ست. مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، از طریق مسیرهای مختلفی برانگیخته می شود (۱)، که می‌تواند از مسیرهای خارجی (با واسطه گیرنده های مرگ) یا مسیرهای داخلی (میتوکندریایی) وابسته به کاسپاز ایجاد شده و سلول را تحت تاثیر قرار دهد. این دو م سیر متمایز ولی مرتبط به هم شکل می‌گیرد. یکی از مهم‌ترین م سیرهای القای آپوپتوزیس م سیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی است. از بین پروتئین‌های تنظیم‌کننده مسیر داخلی می‌توان به پروتئین Bcl-2 اشاره نمود، این پروتئین سرکوب‌کننده پروتئین‌هایی است که سبب تغییرات نفوذپذیری غشای میتوکندریایی برای آزادسازی سیتوکروم c و سایر پروتئین های آپوپتوژنیک می‌باشد. پروتئین های ضدآپوپتوزیس سبب تو سعه بقای سلولی شده ولی در مقابل پروتئین‌های پروآپوپتوزیس سبب تسهیل و تسریع این فرایند می‌شوند (۲). پروتئین‌های پروآپوپتوزیس خود به دو دسته عمده پروتئین‌های چند دامنه مانند Bax وBak و پروتئین های BH-3 تنها (مانند، Bid، Bad، Puma، Bik و Noxa) تقسیم می‌شوند پروتئین‌های BH-3 تنها خود به دو دسته تق سیم می شوند. د سته اول آن‌هایی هستند که به طور م ستقیم Bax و Bak را فعال می‌کنند تا سبب ایجاد نفوذپذیری در غ شای میتوکندری شوند. د سته دوم بازدارنده‌ها هستند که به طور مستقیم Bax و Bak را فعال نمی‌کنند، بلکه سبب خنثی سازی پروتئین های ضدآپوپتوزیسی می شوند. بنابراین هرگونه مداخله که بتواند سبب افزایش بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوزیس مانند Bcl2 و کاهش پروتئین‌های پروآپوپتوزیسی مانند Bax گردد می‌تواند در کاهش آپوپتوزیس در بافت‌های فعال موثر باشد. این امر در بافتهای سرطانی متفاوت بوده و دانشمندان و درمانگران به دنبال ایجاد اختلال در این فرایند و افزایش آپوپتوزیس برای پیشگیری از گسترش سرطان هستند. تعادل بین Bax و Bcl-2 به واسطه تنظیم ثبات غشای بیرونی میتوکندری یک نقطه کنترل اساسی برای سرنوشت سلول در نظر گرفته شده است (۱).

یکی از بافت‌هایی که در اثر ایسکمی و رپرفیوژن متعاقب ایسکمی دچار افزایش آپوپتوزیس می‌گردد بافت قلبی است. در اثر انفارکتوس میوکارد تغییرات زیادی در دستگاه قلبی _ عروقی رخ می‌دهد. انفارکتوس میوکارد با کاهش اکسیژن رسانی در عضله قلبی همراه است که این فرایند به مرگ سلول های میوکارد و پاسخ التهابی منجر می‌شود(۳). پس از انفارکتوس میوکارد ترکیب زنجیره تنفسی کاهش می‌یابد و موجی از گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه در آغاز رپرفیوژن دیده می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند از طریق آسیب رساندن به لیزوزوم‌ها و دیواره‌شان، به فعال‌سازی آنزیم‌های غیرفعال و تخریب سلولی منجر شده و در نهایت سبب سستی و شکستن پیوندهای هیدروژنی در غشای سلول شوند. با شکستن پیوند بین مولکول‌های غشا، آنزیم‌های متصل به آن نیز متعاقبا از کار افتاده و فعالیت سلول دچار اختلال می‌شود. آسیب به DNA منجربه مرگ سلولی، هم از طریق آپوپتوزیس و هم ازطریق نکروز می‌گردد (۴).

سنجش تعامل بین عوامل دخیل در فرایند آپوپتوزیس و مهار آن در شرایط متفاوت می‌تواند به یافتن روشی موثر در ارتقا کیفیت بیماران مبتلا به آنفارکتوس قلبی کمک کند. یکی از تداخلات غیر دارویی موثر پیشنهادی در این زمینه، تمرین ورزشی منظم در دوره بازتوانی قلبی پس از ابتلا به آنفارکتوس قلبی است (۴). همانطور که مشخص است بیماران با تجربه وقوع انفارکتوس قلبی به مشکلات قلبی _ عروقی به علت دارا بودن زمینه ی آترواسکلروزیس، زمینه لازم برای سکته مجدد را دارند، متخصصان قلبی- عروقی و بازتوانی قلبی برای پیشگیری از سکته مجدد دوره بازتوانی قلبی را ضروری دانسته اند (۵). در مطالعات تخصصی‌تر مشخص شده که تمرین ورزشی سبب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود آپوپتوزیس در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی مزمن شده بود. صادقی و همکاران (۲۰۲۱) در تحقیق خود مشاهده نمودند که تمرین هوازی سبب کاهش عوامل پروآپوپتوتیک مانندBax وcaspase-3 شده و

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

نشانگرهای ضد آپوپتوزیس مانند Bcl-2 را در موش‌های دیابتی افزایش می‌دهد. این امر نشان دهنده اثر محافظتی در برابر آپوپتوزیس قلبی است. ورزش مسیرهایی مانند مسیر PI3K/Akt را فعال می‌کند که پاسخهای ضد آپوپتوتیک را تقویت می‌کنند، در حالی که سیگنال های آپوپتوتی مانند کاسپازها را کاهش می‌دهد (۶). خواجه لندی وهمکاران (۲۰۲۴) در مطالعه خود بیان داشتند که تمرین ورزشی می‌تواند از طریق بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش استرس اکسایش سبب بهبود آپوپتور در بافت قلبی شود (۷). متغیر شدت تمرین عامل اثرگذار مهمی بر تفاوت نتایج تحقیقی است. در این زمینه برخی از متخصصان عنوان کردند که فعالیت ورزشی شدید می‌تواند موجب تسریع در فرایند آپوپتوزیس شود. این در حالی است که برخلاف فعالیت شدید، انجام تمرین با شدت متوسط و مداوم احتمالا موجب کاهش آپوپتوزیس در بافت‌های مختلف می‌شود (۸). در زمینه شدت تمرین راموس[1] و همکاران(۲۰۱۵) در بررسی خود بیان داشتند که تمرین هوازی با شدت متوسط سبب بهبود عوامل قلبی_ عروقی می‌گردد، اما تمرین خیلی شدید ممکن است سبب معکوس شدن نتایج گردد، این محققین بیان داشتند که احتمالا آستانه شدتی وجود داشته باشد که وقتی شدت تمرین بالاتر از این آستانه باشد احتمالا در دسترس بودن NO به مخاطره افتاده و بر اثر گذاری مثبت تمرین غلبه نموده و بالعکس مسیر ROS که مخالف مسیر NO است را تقویت نماید (۹). در رابطه با تاثیر تمرین شدت متوسط بر آپوپتوزیس سلول‌های قلبی تحقیقات مختلفی صورت گرفته است. برای مثال، سونگ[2] و همکاران (۲۰۰۶) تاثیر تمرین ورزشی بر آپوپتوزیس بافت قلبی در موش‌های پیر را مورد بررسی قرار دادند. مداخله تمرینی به مدت ۱۲ هفته طول کشید. در بررسی خود بیان داشتند که تمرین هوازی با شدت متوسط توانست سبب کاهش معنی دار سنتز پروتئین BAX و افزایش بیان Bcl-2 گردد (۱۰)، وحید و همکاران (۲۰۲۲) تحقیقی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که اجرای تمرین هوازی با شدت متوسط توانست سبب کاهش سطوح پروتئین BAX ، فعالیت کاسپاز و قطعه قطعه شدن DNA در بافت قلبی رت‌های مبتلا به چاقی گردد (۱۱) آبادی و همکاران (۲۰۱۷) نیز در تایید این یافته نشان دادند که تمرین هوازی بر روی تردمیل توانست سبب افزایش عوامل ضد آپوپتوزیسی قلب پس از ایسکمی ریپرفیوژن شود (۱۱). از طرف دیگر، جدای از اثرات تمرین، مشخص شده است که مصرف مکمل ها به ویژه ویتامین های ضروری و آن دسته از ویتامین هایی که نقش آنتی‌اکسیدانی دارند می‌تواند از تخریب غشا و آترواسکلروزیس پیشگیری کند (۱۲). اگر چه نقش ویتامین D در حفظ هموستاز بافت استخوانی به اثبات رسیده است (۱۳)، اثرات این ویتامین بر ساختار و عملکرد بافت‌های دیگر از جمله عضلات و عروق، با علاقه زیاد توسط دانشمندان در حال پیگیری است. در بررسی‌های اپیدمیولوژیکی مشخص شده که کمبود این ویتامین با توسعه بیماری‌های قلبی عروقی بویژه گرفتگی عروق کرونر و ایجاد سکته قلبی ارتباط دارد. اما این بررسی در زمینه تاثیرات پیشگیرانه از بیماری قلبی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. به طور کلی تحقیقات نشان داده که ارتباط قوی بین کمبود ویتامین D و بیماری‌های قلبی _ عروقی وجود دارد. شواهد پزشکی نشان می‌دهد مکمل گیری ویتامین D با افزایش عملکرد قلبی ارتباط دارد. همچنین کمبود ویتامین D می‌تواند سبب افزایش چاقی، مقاومت به انسولین و اختلال سیستم التهابی شود (۱۴) در مورد ارتباط بین ویتامین D و آپوپتوزیس تحقیقاتی صورت گرفته است. گزارش شده است که ویتامین D می تواند سبب بهینه سازی تغییر پذیری سلول های میوکاردی شده و از میوکارد در برابر آپوپتوزیس ناشی از ایسکمی- ریپرفیوژن محافظت کند، بیان ژن‌های کینازی را کاهش داده در سلامت اندوتلیوم شرکت نموده و از طرق مختلف به نظر می‌رسد ساختار و عملکرد قلبی را بهبود می‌بخشد و در نتیجه سبب کاهش عوامل خطرزای قلبی می‌گردد. این روند در سلول های سالم رخ می‌دهد در مقابل در سلول‌های سرطانی ویتامین D و کلسیم نقش عکس داشته و قادرند سبب افزایش آپوپتوزیس (تغییر مثبت) در سلول های سرطانی از طریق مسیرهای سیگنالی وابسته یا مستقل از P53 شود (۱۵). اما نتایج در این زمینه متناقض و مبهم بوده و نیاز است تا تحقیقات دقیق‌تری صورت پذیرد. با این تفاسیر احتمالا تمرین ورزشی و مکمل دهی ویتامین D با نقش ضد التهابی و ضد آپوپتیکی که دارند سبب بهبود ساختار و عملکرد قلبی شوند اما شناخت مکانیزم دقیق و مسیرهای این بهبود نیاز به تحقیقات جزئی تر و گسترده دارد. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی تاثیر هشت هفته

[1] . Ramos
[2] . Song

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

Journal of Practical Studies of
Biosciences in Sport

تمرین تناوبی شدت متوسط و مصرف ویتامین D بر فاکتورهای آپوپتوزیسی Bax و Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2 در موش های صحرایی نر متعاقب القای آنفارکتوس قلبی بود.

روش تحقیق

تحقیق حا ضر از نظر هدف تو سعه‌ای و از لحاظ شیوه اجرا، آزمایشگاهی به صورت پس آزمون با گروه کنترل بود که ابتدا در کمیته اخلاق بررسی و با کد IR.SSRC.REC.1402.226 مورد تصویب قرار گرفت.

نمونه گیری و نگهداری موش‌ها: نمونه‌های این پژوهش ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۳۰ گرم و محدوده سنی ۲ تا ۳ ماه بودند. موش‌های خریداری شده از مرکز انیستیتو پا ستور تهران، در آزمایشگاه مرکز تحقیقات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی قم در شرایط جدید به مدت دو هفته نگهداری و پس از القای ایسکمی و ایجاد انفارکتوس قلبی بر اساس وزن به طور تصادفی به ۷ گروه (۸ سر در هر گروه) تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: ۱-گروه کنترل و سالم ۲-گروه سکته + ۵دقیقه راه رفتن ۳-گروه سکته + ویتامین D + 5 دقیقه راه رفتن ۴-گروه سکته +تمرین تناوبی ۵-گروه سکته + تمرین تناوبی + ویتامین D ۶-گروه سکته + تمرین تناوبی + گاواژ پارافین خوراکی ۷-سکته+گاواژ پارافین خوراکی+ ۵ دقیقه راه رفتن بودند. این موش‌ها به مدت ۸ هفته تحت مداخله تحقیق قرار گرفتند. گروه‌های تمرین ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر روی تردمیل جوندگان تحت تمرین قرار گرفتند. نمونه‌های مطالعه حاضر در آزمایشگاه جوندگان در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و در شرایط استاندارد، با چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و میانگین درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و با رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد قرار داشتند. از دو دستگاه تهویه هوا بدون صدا جهت ایجاد تهویه و جریان مناسب هوا استفاده شد. در پایان مطالعه همه موش‌های صحرایی بی‌هوش، تشریح و بافت قلب آن ها جدا گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد جهت بررسی‌های بعدی نگه‌داری شدند.

نحوه مکمل دهی: تغذیه نمونه‌ها با ا ستفاده از غذاهای تو صیه شده تو سط مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت از شرکت بهپرور همراه با بطری های آب ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت. ضمنا دسترسی به غذا و آب به صورت نامحدود بود. همچنین در گروه‌های مکمل علاوه بر غذای روزانه، ویتامین D به صورت گاواژ خورانده شد. ویتامینD به مقدار مورد نیاز از شرکت حکیمان طب خریداری شد. مقدار م صرف ویتامین روزانه IU/kg ۵۰۰ معادل ۱۲/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بود که در ۱/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم پارافین خوراکی حل شد و به مدت ۸ هفته و با تواتر سه روز در هفته به صورت گاواژ به موش ها خورانده شد (۱۶).

نحوه اجرای پروتکل تمرین تناوبی: به موش‌ها ابتدا یک دوره مقدماتی (پنج روز در هفته) داده شد تا آن ها با پروتکل و شرایط آشنا شوند. در این دوره به ازای هر جلسه، سرعت تردمیل از ۵ متر بر دقیقه به ۱۰ متر در دقیقه و زمان ورزش از ۵ دقیقه به ۱۰ دقیقه افزایش یافت. سپس بعد از پایان دوره سازگاری، تمرین تناوبی ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته بر روی نوارگردان انجام شد. برنامه تمرین در مدت ۵۰ دقیقه در روز، و شامل ۳ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و ۵ وهله ۴ دقیقه ای با شدت ۲۳ متر در دقیقه (۷۰ تا ۷۵ در صد توان هوازی بی شینه) و ۵ وهله ۴ دقیقه ای با شدت ۱۵ متر در دقیقه (معادل ۵۵ تا ۶۰ در صد توان هوازی بیشینه) بود. پس از ۸ هفته تمرین تناوبی شدت متوسط به همراه استفاده از ویتامین D مرحله بافت برداری انجام شد. به منظور همانندسازی شرایط، بقیه گروه‌ها در روز در مدت زمان ۵ دقیقه روی تردمیل قرار گرفت و فعالیت راه رفتن با سرعت ۵ متر بر دقیقه را انجام دادند (۵).

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

جدول ۱. برنامه‌ی ۸ هفته تمرین تناوبی شدت متوسط

هفته ها	وهله ها	زمان تمرین	شدت تمرین	زمان استراحت	شدت استراحت
اول	۳	۲ دقیقه	۱۵ متر/ دقیقه	۲ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
دوم	۳	۲ دقیقه	۱۵ متر/دقیقه	۲ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
سوم	۴	۳ دقیقه	۱۷ متر/دقیقه	۳ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
چهارم	۴	۳ دقیقه	۱۷ متر/دقیقه	۳ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
پنجم	۴	۴ دقیقه	۲۰ متر/دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه
ششم	۴	۴ دقیقه	۲۰ متر/دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه
هفتم	۴	۴ دقیقه	۲۳ متر/دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه
هشتم	۴	۴ دقیقه	۲۳ متر/دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه

نحوه القای سکته: در ابتدا چند آزمایش پایلوت برای به دست آوردن دوز مناسب دارو انجام گرفته و سپس مناسب ترین دوز انتخاب شد. جهت القای ایسکمی قلبی از تزریق زیر جلدی ایزوپرنالین به اندازه ۸۵ میلی گرم/کیلوگرم به صورت محلول در نرمال سالین (۴ میلی لیتر نرمال سالین به ازای هر ۸۵ میلی گرم ایزوپرنالین) در دو روز پی در پی به فاصله زمانی ۲۴ ساعت تزریق و آنفارکتوس تجربی ایجاد شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین تزریق از هر گروه ۲ موش به صورت تصادفی انتخاب شده و تشخیص آنفارکتوس قلبی از طریق اندازه گیری آنزیم تروپونین I مشخص شد. غلظت تروپونین I در سرم بیمارانی که فاقد بیماری قلبی باشند اندک است. اما در زمان آنفارکتوس افزایش زیادی پیدا می‌کند (۱۶).

تشریح بافت ها و اندازه گیری متغیرهای بیوشیمیایی: در تحقیق حاضر بررسی بپروتئین‌ها توسط وسترن بلات انجام شد. در این روش اگر پروتکل‌ها استانداردسازی شود به اطلاعات تکرارپذیر و معتبری می‌رسد. بنابراین از متخصص واحد آزمایشگاه بیوشیمی برای انجام وسترن بلات در تمامی نمونه‌ها استفاده گردید. روش آماده سازی و اجرای وسترن بلات به طور خلاصه آورده شده است. تمامی نمونه ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، با ترکیبی از ۷۵ میلیگرم/کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم زایلازین بی هوش، کشته و تشریح و سپس بافت قلب برداشته شد. بافت های استخراجی با نرمال سالین مورد شستشو قرار گرفته و به سرعت در مخازن نیتروژن مایع به مدت ۲ دقیقه غوطه ور شده و در دمای ۷۰- درجه در آزمایشگاه نگهداری شد. به منظور استخراج پروتئین، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول لیز سلولی Pro-PRETM (iNtRON Biotechnology, Korea) را بر روی سلول های ریخته و عمل لیز سلول

Journal of Practical Studies of
Biosciences in Sport

ها با کمک هموژنایزر بر روی یخ انجام گردید. برای جلوگیری از اثر مخرب دما بر روی ساختار پروتئین‌ها، ظروف حاوی سلول ها در حین استخراج پروتئین‌ها بر روی کیسه‌ی یخ قرار داده می‌شدند. سپس طبق دستور مندرج در دستورالعمل محلول لیز سلولی، تعلیق سلولی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. سرانجام، عصاره را با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه (Hettich universal 320R, Germany) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ کرده و محلول بالایی یکدست هموژن را برداشته شد. محلول فوقانی توسط روش پروتئین سنجی با استفاده از روش پروتئین سنجی BCA (iNtRON Biotechnology, Korea) و دستگاه اسپکتوفوتومتری (Smartspec Plus spectrophotometer, Bio-Rad) اندازه‌گیری شد. برای انجام وسترن‌بلاتینگ در این مطالعه از سیستم عمودی TV100 (Scie-Plas Ltd, UK) با یونیت‌های ژلی ۱۰×۱۰ سانتی‌متری و دستگاه مولد برق Consort-EV202 (Sigma) استفاده شد. روش وسترن بلاتینگ در دو مرحله انجام شد؛

الکتروفورز (حرکت پروتئین‌ها در طول ژل پلی آکریلامید بر اساس وزن مولکولی): ابتدا ژل تحتانی یا جدا کننده با غلظت ۱۰ ٪ (آب مقطر، بیس-آکریلامید ۳۰٪، Tris-base ۱/۵ مولار با pH=۸/۸، SDS ۱۰٪، آمونیوم پر سولفات ۱۰٪ و TMED) را به اندازه تقریبی ارتفاع ۷ سانتی‌متری ریخته و بعد از سفت شدن با استفاده از ۲۵ میکرولیتر ایزوبوتانول (Merck, Germany) سطح فوقانی هموار شد. سپس بر روی آن ژل فوقانی هم تراز کننده ۵٪ (آب مقطر ، بیس-آکریلامید ۳۰٪، Tris-base ۱ مولار با pH=۶/۸، SDS ۱۰٪، آمونیوم‌پر سولفات ۱۰٪ و TMED) را ریخته و قبل از سفت شدن شانه‌گذاری انجام گرفت. بعد از سفت شدن، شانه‌ها را خارج نموده و سپس رَک و سترن را در تانک الکتروفورز حاوی ۱۲۰۰ میلی‌لیتر محلول الکتروفورز (۲۵ میلی‌مول Tris base، ۱۹۰ میلی‌مول گلیسین، و ۰/۱٪ SDS با pH=۸) قرار داده شد. مقدار ۵۰ میکروگرم از محلول‌های پروتئینی برداشته و بعد از ۵ دقیقه جوشیدن در بافر لاملی دو برابر غلظت (SDS٪۴، ۲- مرکاپتواتانول ۱۰٪، گلیسرول ۲۰٪، برومفنول ۰/۰۰۴ ٪ و ۰/۱۲۵ مول Tris HCl) تحت شرایط احیاء با استفاده از سوزن هامیلتون بر گودی ژل SDS-PAGE (ژل فوقانی) بارگذاری شدند. در یکی از گودی‌ها پروتئین مارکر pre-stained (Fermentas, USA) نیز بارگذاری و با ولتاژ اولیه ۸۰ و سپس ۱۸۰ پروتئین‌ها بر روی ژل ران شدند.

مرحله انتقال: در این مرحله پروتئین‌های ران شده در طول ستون عمودی ژل به غشاءهای ۰/۲ میکرومتری پی-وی-دی-اف (PVDF) شرکت Bio-Rad انتقال داده شدند. بعد از اتمام مرحله الکتروفورز، ژل خارج و توسط اسپیسرها ژل فوقانی هم تراز کننده جدا گردید. ژل به همراه غشاء PVDF بین اسفنج و کاغذهای فیلتری (Bio-Rad) به صورت ساندویچی بر اساس شکل زیر لایه‌گذاری شد. رک ترانسفر در تانک ترانسفر حاوی بافر ترانسفر با pH (۳=۸/۳ گرم Tris-base، 4/14 گرم گلیسین و ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) فرو برده و به مدت ۷۵ دقیقه با جریان آمپر ۳۰۰ میلی‌آمپر قرار گرفت. بعد از این مدت برای ارزیابی کیفیت انتقال پروتئین ژل را با محلول قرمز رنگ پُنسِهآ- اِس۷ (۰/۵ ٪ پودر پنسهآ- اِس، ۰/۸ ٪ درصد محلول اسید استیک) به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. سپس با استفاده از محلول ۲-۱٪ اسید استیک تا زمان زایل شدن رنگ اضافی و بی‌رنگ شدن ژل رنگ‌زدایی شد (در صورت عدم ترانسفر باندهای قرمز رنگ بر روی ژل متظاهر می‌گردد). با توجه به آنتی‌بادی‌های مورد استفاده در این مطالعه و توصیه‌ی کارخانه‌ی سازنده غشاء PVDF با استفاده محلول تریس- بافر سالین حاوی (TBST Tween20 1/0%) و آلبومین سرم گاوی (Sigma) (BSA) 5% یا پودر شیر خشک بدون چربی (Merck) به مدت ۱ ساعت در دمای آزمایشگاه بلوک شدند (در این مطالعه با توجه به توصیه‌ی کارخانه‌ی سازنده به علت واکنش غیر اختصاصی آنتی‌بادی مختص پروتئین‌های فسفات دار، آنتی Tie2 فسفریله، برای بلوکه کردن غشاء فقط از آلبومین سرم گاوی استفاده شد). غشاء از محلول TBST بلوک کننده خارج و در مجاورت غلظت مناسب آنتی‌بادی اولیه برحسب توصیه کارخانه‌ی سازنده به مدت ۱ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. در مرحله‌ی بعدی غشاءها به منظور حذف آنتی‌بادی‌های اضافی DAB توسط محلول TBST خالی ۳ بار هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه شستشو و سرانجام آنتی‌بادی‌های ثانویه کونژوگه با HRP با غلظت مناسب بر روی غشاء ریخته و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس جهت ظاهر شدن باندها، به بلات ها محلول ECL اضافه شد و به محض مشاهده نور فیلم رادیوگراف را روی بلات گذاشته و سپس

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

فیلم رادیوگراف در محلول ظهور و سپس ثبوت قرار گرفت. در نهایت توسط نرم‌افزار Gel analyser باندها ظاهر شده آنالیز شد. سپس مساحت زیر سطح منحنی برای هر فاکتور و کنترل بتا اکتین محاسبه شده و شدت نسبی با تقسیم مساحت زیر سطح منحنی هر فاکتور به مساحت زیر سطح منحنی بتا اکتین به دست آمد. نتایج با گروه کنترل برای هر کدام از سلول ها مقایسه گردید.

روش های تجزیه و تحلیل آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۳) و آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. در سطح آمار توصیفی از شاخص هایی نظیر میانگین، انحراف معیار، جداول توزیع فراوانی و در بخش آمار استنباطی ابتدا برای بررسی تاثیرهمزمان مداخله بر متغیرهای وابسته از آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره[1](MANOVA) استفاده شد. از آنجا که نتیجه تحلیل چندمتغیره معنی دار بود از تحلیل واریانس یک‌راهه[2]برای سنجش اثر گروه بر هر متغیر وابسته به صورت انفرادی استفاده شد و در صورت معنی داری برای مشخص شدن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی[3] استفاده گردید. سطح آلفای کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد و جهت رسم شکل‌ها و گراف‌ها از نرم افزار گرف پد پریزم (نسخه ۱۰) استفاده شد.

یافته ها

در جدول ۲ وزن موش های در طول دوره آورده شده است. در جدول ۳ ارتباط بین متغیرهای مستقل و پارامترها (β) آورده شده است. در نمودار ۱، ۲ و ۳ مقادیر Bcl-2، Bax و نسبت Bax به Bcl-2 آورده شده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقدار Bax به طور معنی داری در گروه ها متفاوت بود (F=۱۰۶/۲۲ و p=۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سکته سبب افزایش معنی دار سطح نسبی BAX نسبت به گروه کنترل شده بود (P=۰/۰۰۱). هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب کاهش معنی دار BAX نسبت به گروه سکته گردید (P=۰/۰۰۱). این تغییر در گروه شم یعنی سکته+پارافین معنی دار نبود(P=۰/۹۹). بین دو گروه مکمل و تمرین تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد (P=۰/۹۹). اما گروه ترکیب تمرین و مکمل سبب کاهش بیشتر BAX نسبت به دو گروه مکمل (P=۰/۰۰۱) و تمرین تنها شده بود (P=۰/۰۰۱). یعنی ترکیب دو مداخله توانست BAX را بیشتر از گروه سکته و شم و حتی مداخله انفرادی کاهش دهد. این کاهش به قدری بود که تفاوت آماری معنی داری بین گروه کنترل (سالم) و گروه ترکیبی پس از سکته مشاهده نشد (نمودار ۱).

آزمایش M باکس نشان داد که ماتریس‌های کوواریانس مشاهده شده از متغیرهای وابسته در گروه‌ها برابر نبود (P =۰/۰۰۱)اثر معنادار گروه بر متغیرهای وابسته (BAX, bcl-2/BAX و bcl-2 به‌طور همزمان) مشاهده شد بنابراین از آزمون پلایز تریس به جای لامبدا ویلز استفاده شد (پلایزتریس = ۰,۹۹، قسمت ایتا مربع = ۰,۹۹، معنی داری=۰/۰۰۱) با در نظر گرفتن اثر معنادار بر متغیرهای وابسته به طور همزمان، تحلیل تک‌متغیره فردی انجام شد و نشان داد که اثر معناداری از گروه بر متغیرها به‌صورت انفرادی، bcl-2:(F6,49 = 107.86, p≤0/001)، BAX:(F6,49 = 106.22, p≤0/001)، و bcl-2/BAX:(F6,49 = 97.25, p≤0/001) وجود داشت. جدول ۳ (الف) نشان داد که بین متغیرهای وابسته ارتباط قوی وجود دارد. فاکتور BCL-2 با نسبت BCL-2/BAX ارتباط شدید و مثبت معنی دار ولی با متغیر BAX ارتباط منفی و شدیدی داشت. فاکتور BAX با نسبت BCL-2/BAX ارتباط شدید و منفی معنی داری داشت. نتایج جدول ۳ (ب) پارامترهای محاسبه شده (β) با دیگر گروه ها با گروه کنترل نشان داد که القای سکته سبب افزایش BAX و کاهش BCL2 نسبت به گروه کنترل شده بود. اعمال مداخله انفرادی و همزمان سبب افزایش BCL-2 و کاهش BAX در موش

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

[1] . Multivariate analysis of variance
[2] . One-way analysis of variance
[3] . Tukey

Journal of Practical Studies of
Biosciences in Sport

های سکته‌ای شده به طوری که در تمامی گروه ها به جز گروه شم (سکته+پارافین+۵ دقیقه راه رفتن) همه متغیرها به گروه کنترل نزدیک شده بود.

نسخه در انتظار ویرایش نشده

جدول ۲. توصیف(میانگین ± انحراف استاندارد) تغییرات وزن آزمودنی ها به تفکیک گروه ها

متغیر		گروه		
	گروه ها	هفته اول	هفته چهارم	هفته هشتم
وزن (گرم)	کنترل و سالم	۳۹۱/۳۷±۲۹/۷۶	۳۸۴/۴۵±۷۱/۸۷	۳۸۱/۳۱±۱۴/۵۱
	سکته + ۵ دقیقه راه رفتن	۳۸۸/۴۷±۴۹/۴۴	۳۷۷/۴۳±۴۳/۱۷	۳۸۴/۵۱±۱۴/۵۶
	سکته+ویتامینD+۵ دقیقه راه رفتن	۳۸۶/۳۷±۱۴/۱۵	۳۷۱/۴۱±۷۶/۷۳	۳۷۹/۲۴±۵۷/۵۰
	سکته+تمرین تناوبی	۳۸۷/۵۶±۱۱/۹۹	۳۶۶/۳۹±۲۹/۲۸	۳۷۲/۲۵±۲۰/۶۶
	سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D	۳۸۸/۴۲±۸۶/۷۸	۳۶۲/۴۱±۱۴/۰۷	۳۷۷/۲۵±۱۴/۰۶
	سکته+تمرین تناوبی +پارافین	۳۸۹/۵۵±۸۱/۶۸	۳۵۸/۳۸±۵۷/۸۳	۳۸۱/۲۹±۵۷/۹۷
	سکته+پارافین+۵ دقیقه راه رفتن	۳۹۰/۳۷±۲۹/۷۶	۳۵۸/۳۷±۱۴/۶۸	۳۸۰/۳۰±۸۶/۸۵

جدول ۳. بررسی رابطه بین متغیرهای وابسته و پارامتر (β)

الف) رابطه بین متغیرها در بافت قلب با استفاده از روش همبستگی پیرسون و نسبی							
متغیرها	همبستگی	Bcl-2	معنی داری	BAX	معنی داری	Bcl-2/BAX	معنی داری

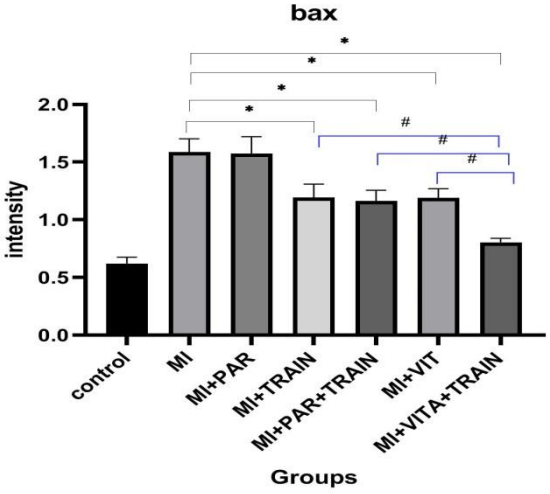
Bcl-2	پیرسون	۱		-۰/۹۲	※۰/۰۰۱	-۰/۹۴	※۰/۰۰۱
	نسبی	۱		-۰/۹۲	※۰/۰۰۱	-۰/۹۵	※۰/۰۰۱
BAX	پیرسون	-۰/۹۲	※۰/۰۰۱	۱		۰/۹۵	※۰/۰۰۱
	نسبی	-۰/۹۲	※۰/۰۰۱	۱		۰/۹۶	※۰/۰۰۱
Bcl-2/BAX	پیرسون	-۰/۹۴	※۰/۰۰۱	۰/۹۵	※۰/۰۰۱	۱	
	نسبی	-۰/۹۵	※۰/۰۰۱	۰/۹۶	※۰/۰۰۱	۱	

ب) محاسبه پارامتر در گروه های مختلف

کنترل و سالم	کنترل و سالم	Bcl-2	BAX	Bcl-2/bax
سکته + ۵ دقیقه راه رفتن	β	۱/۱۶	۰/۸۰	۰/۶۹
	معنی داری	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱
سکته+ویتامین D+5 دقیقه راه رفتن	β	۰/۱۹	-۰/۱۸	-۰/۲۳
	معنی داری	۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱
سکته+تمرین تناوبی	β	-۰/۴۸	۰/۷۸	۱/۶۷
	معنی داری	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱
سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D	β	-۰/۵۲	۰/۷۷	۱/۷۹
	معنی داری	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱
سکته+تمرین تناوبی +پارافین	β	-۰/۳۰۰	۰/۳۸	۰/۷۰
	معنی داری	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱
سکته+پارافین+۵ دقیقه راه رفتن	β	-۰/۱۹	۰/۳۸	۰/۵۵
	معنی داری	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱	※۰/۰۰۱

※نشانه رابطه معنی دار بین متغیرها در سطح p≤۰/۰۵

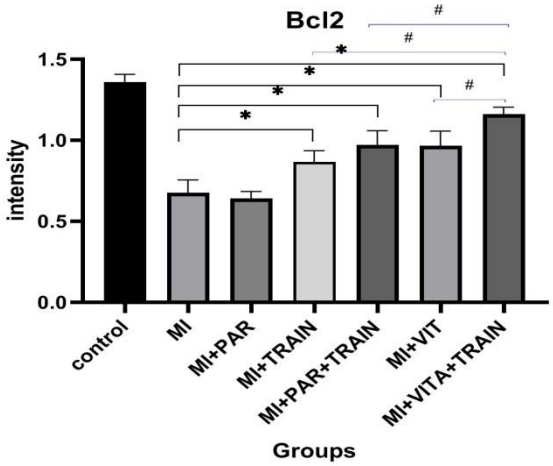
Journal of Practical Studies of
Biosciences in Sport



شکل ۱. مقایسه بیان نسبی پروتئین Bax در گروه های مختلف؛ MI: سکته، MI+PAR: سکته+پارافین + ۵ دقیقه راه رفتن، MI+TRAIN: سکته + تمرین تناوبی MI+PAR+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+پارافین، MI+VIT: سکته + ویتامین D3+ ۵ دقیقه راه رفتن، MI+VIT+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی + ویتامین D3؛ *: تفاوت معنی دار با گروه سکته، #: تفاوت معنی دار با گروه سکته + تمرین تناوبی + ویتامین D3 ؛ سطح معنی داری p<۰/۰۵

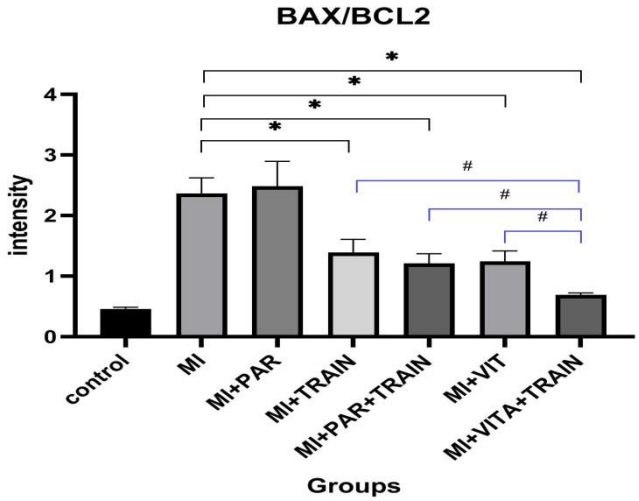
در شکل ۲ مقادیر پروتئین Bcl-2 در گروه های مختلف نشان داده شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که اختلاف معناداری بین گروه‌ها وجود داشت (P=۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سکته سبب کاهش معنی دار سطح نسبی Bcl2 نسبت به گروه کنترل شده بود (P=۰/۰۰۱). هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب افزایش معنی دار Bcl2 نسبت به گروه سکته گردید (P=۰/۰۰۱). این تغییر در گروه شم یعنی سکته+پارافین معنی دار نبود(P=۰/۹۳). بین دو گروه مکمل و تمرین تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد (P=۰/۰۷). همچنین، ترکیب تمرین و مکمل سبب افزایش بیشتر Bcl2 نسبت به دو گروه مکمل (P=۰/۰۰۱) و تمرین تنها شده بود (P=۰/۰۰۱). یعنی ترکیب دو مداخله توانست Bcl2 را بیشتر از گروه سکته و شم و حتی مداخله انفرادی افزایش دهد (نمودار ۲).

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده



شکل ۲. مقایسه بیان نسبی پروتئین Bcl-2 در گروه های مختلف؛ MI: سکته، MI+PAR: سکته+پارافین+۵ دقیقه راه رفتن، MI+TRAIN: سکته + تمرین تناوبی MI+PAR+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+پارافین، MI+VIT: سکته +ویتامین D3+ ۵ دقیقه راه رفتن، MI+VIT+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D3؛ *: تفاوت معنی دار با گروه سکته، #: تفاوت معنی دار با گروه سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D3، سطح معنی داری p<۰/۰۵

در رابطه با نسبت Bax به Bcl-2 نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که اختلاف معناداری بین گروه‌ها وجود داشت (P=۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سکته سبب افزایش معنی دار نسبت BAX/BCL2 نسبت به گروه کنترل شده بود (P=۰/۰۰۱). هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب کاهش معنی دار نسبت BAX/BCL2 در مقایسه با گروه سکته گردید. این تغییر در گروه شم یعنی سکته+پارافین معنی دار نبود(P=۰/۹۳). بین دو گروه مکمل و تمرین تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد (P=۰/۸۲). همچنین، ترکیب تمرین و مکمل سبب کاهش بیشتر نسبت BAX/BCL2 در مقایسه با دو گروه مکمل (P=۰/۰۰۱) و تمرین تنها شده بود (P=۰/۰۰۱). یعنی ترکیب دو مداخله توانست نسبت BAX/BCL2 را بیشتر از گروه سکته و شم و حتی مداخله انفرادی کاهش دهد (نمودار ۳).



نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

Journal of Practical Studies of
Biosciences in Sport

شکل۳. مقایسه نسبت Bax به Bcl-2 در گروه های مختلف؛ MI: سکته، MI+PAR: سکته+پارافین+۵ دقیقه راه رفتن، MI+TRAIN: سکته + تمرین تناوبی MI+PAR+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+پارافین، MI+VIT: سکته +ویتامین D3+ ۵ دقیقه راه رفتن، MI+VIT+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D3 ؛ ❋: تفاوت معنی دار با گروه سکته، #: تفاوت معنی دار با گروه سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D3، سطح معنی داری p<۰/۰۵

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سکته سبب افزایش معنی دار مقادیر BAX نسبت به گروه کنترل شده بود. هر دو مداخله تمرین و مکمل‌دهی به صورت انفرادی و ترکیبی سبب کاهش معنی‌دار BAX نسبت به گروه سکته گردید. گروه ترکیب تمرین و مکمل سبب کاهش بیشتر BAX نسبت به دو گروه مکمل و تمرین تنها شده بود. این کاهش به قدری بود که تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه کنترل (سالم) و گروه ترکیبی پس از سکته مشاهده نشد. در رابطه با مقادیر BCL2 نیز نتایج حاکی از آن بود که که سکته سبب کاهش معنی‌دار سطح نسبی Bcl2 نسبت به گروه کنترل شده بود. هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی تمرین و مکمل سبب افزایش معنی دار Bcl2 نسبت به گروه سکته گردید. بین دو گروه مکمل و تمرین تفاوت آماری معنی داری مشاهده شد. این افزایش در گروه مکمل بیشتر از گروه تمرین بود. در رابطه با نسبت این دو متغیر یعنی BAX/ BCL2 نتایج نشان داد که سکته سبب افزایش معنی دار نسبت BAX/BCL2 نسبت به گروه کنترل شده بود. هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب کاهش معنی دار نسبت BAX/BCL2 در مقایسه با گروه سکته گردید. ترکیب تمرین و مکمل سبب کاهش بیشتر نسبت BAX/BCL2 در مقایسه با دو گروه مکمل و تمرین تنها شده بود. نتایج تحقیق حاضر در رابطه با کاهش BAX و افزایش BCL2 در اثر تمرین ورزشی با برخی از تحقیقات سونگ و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی دارد (۱۰). دوک[1] و همکاران (۲۰۰۴)، مورالز[2] و همکاران (۲۰۰۴)، رمضانی و همکاران (۱۳۹۸)، چناری و همکاران (۱۴۰۱) و طالقانی و همکاران، ۱۴۰۱ همخوانی دارد (۲،۱۷،۱۸). سونگ و همکاران (۲۰۱۶) در تایید نتایج تحقیق حاضر در بررسی خود گزارش نمودند که تمرین تناوبی با شدت متوسط توانست بیان پروتئین BAX را کاهش و بیان پروتئین BCL2 را افزایش و نسبت BAX/BCL2 را کاهش دهد (۱۰). همچنین این یافته توسط چناری و همکاران (۱۴۰۱) و دیگر محققین تایید شد (۱۹).

بر اساس پژوهش ها BAX نقش موثری در تعدیل فرایند مرگ سلولی بازی می‌کند. هرگونه تغییرات در سطوح BAX سبب می شود محیط به سمت آپوپتوزیس سوق پیدا کند. این شرایط در زمان فعالیت‌ورزشی درمانده‌ساز یا عوامل خطر زا دچار اختلال می‌گردد. در حالت طبیعی بین عوامل پیش برنده و ضد آپوپتوزیسی تعادل برقرار است. همانطور که گفته شد در برخی از شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک این تعادل به هم می خورد، یکی از این شرایط انفارکتوس قلبی و سکته است که مطالعات نشان داده سبب پیشرفت سکته و افزایش نسبت BAX/BCL2 می‌گردد (۲۰). در مقابل گزارش‌ها نشان می دهد تمرین ورزشی منظم سبب افزایش پروتئین BCL2 عضله قلبی شده و نسبت BAX/BCL2 را به سمت شرایط ضدآپوپتوزیسی پیش می برد (۲۱). سازوکار مسیر سیگنالی BAX این گونه است که فعال سازی پروتئین BAX سبب افزایش نفوذپذیری غشا می‌شود. یکی از جنبه های زیستی مهم میتوکندری نقشی است که این اندامک در آپوپتوزیس ایفا می‌کند. میتوکندری عضو مهم در مسیر داخلی ایجاد آپوپتوزیس در محل استقرار برخی از پروتئین های مهم درگیر در مراحل آغازین مرگ برنامه ریزی شده از جمله خانواده BCL2 است. عمده‌ترین نقش این اندامک در مسیر آپوپتوزیس مهار رهایش سیتوکروم c به درون سیتوزول می‌باشد که منجربه افزایش پتانسیل غشا میتوکندری شده است. این پتانسیل

[1] . Duque
[2] . Morales

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

برای حفظ عملکرد سلول ضروری است. نسبت پروتئین‌های پرو و ضد آپوپتوتیک، کنترل سلول های یک یا چند هسته‌ای و بقای سلول را با کنترل نفوذپذیری غشا میتوکندریایی و فعال سازی کاسپازها تنظیم می‌کند. مهم ترین مرحله آپوپتوزیس آزاد سازی سیتوکروم c است. پروتئین‌های مهارکننده مسیر مرگ سلولی مانند BCL2 و BCL-XL مانع آزاد سازی سیتوکروم c شده و به این ترتیب سبب محافظت از سلول می‌شوند (۲۲).

همانگونه که ذکر شد شواهد زیادی وجود دارد که تمرین ورزشی منظم می تواند سبب کاهش سطوح BAX و افزایش سطوح BCL2 و بهبود نسبت BAX/BCL2 در بدن بویژه بافت قلب پس از اعمال سکته گردد. اما در رابطه با اثر گذاری مکمل دهی ویتامین D تحقیقات اندکی صورت گرفته است. تمرین ورزشی و مکمل ویتامین D از طریق مسیرهای مختلف در پیشگیری از آپوپتوزیس نقش دارند. مکانیسم های تمرین ورزش هوازی یکی از مسیرهای پیشنهادی برای اثر بخشی تمرین هوازی مسیر سیگنالینگ AKT-GSK3β اتفاق است که عملکرد میتوکندری را افزایش می دهد و استرس اکسیداتیو را کاهش می دهد و در نتیجه از آسیب ایسکمی-ریپرفیوژن محافظت می کند(۲۳)، همچنین نشان داده شده که تمرینات هوازی منظم می تواند بیان ژنهای درگیر در آپوپتوزیس مانند BAX و BCL-2 را تغییر دهد، که در تنظیم بقا و مرگ سلولها حیاتی هستند (۱۸). در مقابل در رابطه با مکانیسم های مکمل ویتامین D3 نشان داده شده است که ویتامین D3 با حفظ یکپارچگی میتوکندری، به کاهش آپوپتوزیس و حفظ عملکرد قلبی کمک می کند (۲۴). تحقیقات اندکی در رابطه با اثر همزمان دو مداخله صورت گرفته است. برای مثال رمضانی و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که ترکیب تمرینات هوازی و مکمل ویتامین D3 بیان ژن ها و پروتئین های آپوپتوزیس را به طور قابل توجهی تغییر می دهد و به طور بالقوه روند آپوپتوزیس را معکوس می کند و بقای سلول های قلبی را در شرایطی مانند دیابت افزایش می دهد (۱۸). دوک و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه خود گزارش دادند که ویتامین D قادر است سبب افزایش فعالیت BCL2 گردد (۲). همچنین مورال و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهشی مشاهده نمودند که در محیط کشت سلولی ویتامین D سبب افزایش محتوای پروتئین BCL2 در سلول شده بود. احتمالا ویتامین D از طریق کاهش ROS بتواند از دیواره غشا محافظت و از نشت سیتوکروم c و آپوپتوزیس پیشگیری نماید (۱۷). این مورد در برخی از تحقیقات انسانی مشاهده شده برای مثال در تحقیقی بر روی مردان بالغ گزارش شد مصرف هفتگی و یتامین D (۵۰۰۰۰ واحد) توانست TNF را کاهش دهد (۲۵) و در مطالعه دیگری بر روی کودکان ۶ تا ۱۳ ساله گزارش شد که ویتامین D توانست سبب افزایش سطوح آنتی اکسیدانی گردد (۲۶). تمامی این موارد می تواند شرایط سلول را به سمت افزایش پروتئین های ضد آپوپتوزیسی از جمله BCL2 و کاهش BAX و بهبود نسبت BAX/BCL2 پیش ببرد.

از نقاط قوت تحقیق می‌توان به اندازه‌گیری وسترن بلات و همچنین تعداد زیاد گروه ها (شم و کنترل سالم) برای کنترل شرایط تحقیق اشاره نمود. اما این تحقیق محدودیت‌هایی نیز داشت. از محدودیت‌های این تحقیق می‌توان به عدم کنترل ویتامین d3 خون نمونه‌ها و مقدار پایه این ویتامین بود. همچنین مدت دوره مداخله می‌توانست طولانی‌تر در نظر گرفته شود. استرس و مقدار کالری دریافتی بر نتایج تاثیرگذار است و این دو عامل مهم توسط محقق کنترل نگردید.

نتیجه گیری کلی: امروزه واژه آپوپتوزیس نظردانشمندان را در بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های قلبی به سوی خود جلب نموده است. تحقیقات نشان می‌دهد که ویتامین D و تمرین تاثیر مثبتی بر سلامت قلب و عروق دارد. تاثیر این مداخلات در سطح سلولی نیاز به تحقیقات مختلفی دارد. این تحقیق در رابطه با اثر مداخله تمرین شدت متوسط و ویتامینD بر آپوپتوزیس سلول‌های قلبی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار تمرین و مکمل سبب تغییر معنی‌دار عوامل آپوپتوزیسی می‌گردد اما ترکیب دو متغیر اثر هم‌افزایی داشته و بهتر از اعمال منفرد هر یک از مداخله‌ها عمل می‌کند.

تعارض منافع

نویسندگان در ارتباط با مقاله حاضر تضاد منافعی ذکر نکردند.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

قدردانی و تشکر

این مقاله برگرفته از ق سمتی از ر سالۀ دکتری در ر شتۀ فیزیولوژی ورز شی دان شگاه آزاد ا سلامی واحد تهران مرکز ا ست و با هزینۀ شخصی انجام گرفته است و نویسندگان از مسئولین و کادر آزمایشگاه آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی قم که همکاری صمیمانه ای با محققین داشتند تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

1. Hashemi, M., Dostar, Y., Saraji, A. A., Rohani, S., & Bayat, M. Role of Time as a Variable in the Apoptotic Changes Following Ischemia-Reperfusion in the Isolated Heart of Rat. World J. Med. Sci, 2009,4(2), 85-88, [in persian].
2. Duque, G., El Abdaimi, K., Henderson, J. E., Lomri, A., & Kremer, R. Vitamin D inhibits Fas ligand-induced apoptosis in human osteoblasts by regulating components of both the mitochondrial and Fas-related pathways. *Bone*,2004, *35*(1), 57-64. https://doi.org/10.1016/j.bone.2004.03.005.
3. Muse, E. D., Kramer, E. R., Wang, H., Barrett, P., Parviz, F., Novotny, M. A., Lasken, R. S., Jatkoe, T. A., Oliveira, G., & Peng, H. A whole blood molecular signature for acute myocardial infarction. *Scientific reports, 2017, 7*(1), 12268, https://doi.org/10.1038/s41598-017-12166-0 .
4. Van Dijk, A., Krijnen, P. A., Vermond, R. A., Pronk, A., Spreeuwenberg, M., Visser, F. C., Berney, R., Paulus, W. J., Hack, C. E., & van Milligen, F. J. Inhibition of type 2A secretory phospholipase A 2 reduces death of cardiomyocytes in acute myocardial infarction. *Apoptosis, 2009, 14*, 753-763, https://doi.org/10.1007/s10495-009-0350-x .
5. Tehrani, B. J., & Arefi, R. G. The effect of eight weeks of aerobic interval training and jujube extract on vascular endothelial growth factor in heart tissue of male Wistar rats with myocardial infarction 2020. [in persian].
6. Sadighi, A., & Azarbayjani, M. A. Response of some apoptotic indices to six weeks of aerobic training in streptozotocin-induced diabetic rats. *Medical Laboratory Journal*, 2021, *15*(1), 33-39, https://doi.org/10.29252/mlj.15.1.33 .
7. Khajehlandi, M., & Bolboli, L. Protective effect of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training with quercetin supplementation on the apoptosis cardiomyopathy related factors in the diabetic cardiac of obese rats, 2024, https://doi.org/10.2139/ssrn.4723071 .
8. Weng, T.-P., Huang, S.-C., Chuang, Y.-F., & Wang, J.-S. Effects of interval and continuous exercise training on CD4 lymphocyte apoptotic and autophagic responses to hypoxic stress in sedentary men. *PloS one, 2013, 8*(11), e80248, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080248 .
9. Ramos, J. S., Dalleck, L. C., Tjonna, A. E., Beetham, K. S., & Coombes, J. S. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports medicine, 2015, 45*, 679-692, https://doi.org/10.1007/s40279-015-0321-z.
10. Song, W., Kwak, H.-B., & Lawler, J. M. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. *Antioxidants & redox signaling,2006, 8*(3-4), 517-528, https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.517 .
11. Vahid, N. K., Nameni, F., & Chaharmahali, B. Y. Effect of Interval Training and Curcumin on BAX, Bcl-2, and Caspase-3 Enzyme Activity in Rats. *Gene, Cell and Tissue, 2022, 9*(4), https://doi.org/10.5812/gct-112792 .
12. Yang, X., Li, Y., Li, Y., Ren, X., Zhang, X., Hu, D., Gao, Y., Xing, Y., & Shang, H. Oxidative stress-mediated atherosclerosis: mechanisms and therapies. *Frontiers in physiology,2017, 8*, 600, https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00600.
13. Le, T. Y., Ogawa, M., Kizana, E., Gunton, J. E., & Chong, J. J. Vitamin D improves cardiac function after myocardial infarction through modulation of resident cardiac progenitor cells. *Heart, Lung and Circulation, 2018, 27*(8), 967-975, https://doi.org/10.1016/j.hlc.2018.01.006.
14. Giovannucci, E., Liu, Y., Hollis, B. W., & Rimm, E. B. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Archives of internal medicine, 2008, 168*(11), 1174-1180. https://doi.org/10.1001/archinte.168.11.1174 .
15. Wei, Y. X., Dong, S. M., Wang, Y. Y., Zhang, P., Sun, M. Y., Wei, Y. X., Meng, X. C., & Wang, Y. (2021). Autophagy participates in the protection role of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in acute

myocardial infarction via PI3K/AKT/mTOR pathway. *Cell biology international*, *2021*, *45*(2), 394-403, https://doi.org/10.1002/cbin.11495.

16. Mehdipoor, M., Damirchi, A., Razavi Tousi, S. M. T., & Babaei, P. Concurrent vitamin D supplementation and exercise training improve cardiac fibrosis via TGF-β/Smad signaling in myocardial infarction model of rats. *Journal of physiology and biochemistry*, *77*, 75-84, https://doi.org/10.1007/s13105-020-00778-6 .
17. Morales, O., Samuelsson, M. K., Lindgren, U., & Haldosén, L.-A. Effects of 1α, 25-dihydroxyvitamin D3 and growth hormone on apoptosis and proliferation in UMR 106 osteoblast-like cells. *Endocrinology*, *2004*, *145*(1), 87-94, https://doi.org/10.1210/en.2003-0718 .
18. Ramezani, S., Peeri, M., Azarbaijani, M. A., & Dehghan, F. Effects of aerobic exercise and vitamin D supplementation on the expression of apoptosis genes BCL2, BAX, Caspase3 and BCL2/BAX ratio on lung in male rats exposed to hydrogen peroxide. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, *2020*, *8*(16), 86-100, https://doi.org/10.1007/s11332-019-00546-0.
19. Chenari, M., Rahimi, A., Sarshin, A., & Feizolahi, F. Compare the Effect of Aerobic and Resistance Training on Bax and Caspase 3 Apoptotic Indices of the Heart Tissue in Male Diabetic Rats. *Razi Journal of Medical Sciences*,*2022*, *29*(6), 144-154, [in persian].
20. Pouzesh Jadidi, G., Seify, F., Bolboli, L., & Pourrahim, A. Effect of high intensity interval training on cardiomyocytes HSP70 and Caspase-3 gene expression levels in myocardial infarction male rat model. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*,*2022*, *9*(2), 1-11, [in pesian].
21. Kwak, H. B., Song, W., & Lawler, J. M. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *The FASEB Journal*, *2006*, *20*(6), 791-793. https://doi.org/10.1096/fj.05-5116fje .
22. Lee, S.-D., Shyu, W.-C., Cheng, I.-S., Kuo, C.-H., Chan, Y.-S., Lin, Y.-M., Tasi, C.-Y., Tsai, C.-H., Ho, T.-J., & Huang, C.-Y. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *2013*, *23*(6), 566-573, https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.11.002 .
23. Li, Y., Wang, X., Meng, X., Xia, C., Yang, C., Wang, J., ... & Wang, F. Aerobic exercise inhibits GSDME-dependent myocardial cell pyroptosis to protect ischemia-reperfusion injury. *Molecular Medicine*, 2024, *30*(1), 273, https://doi.org/10.1186/s10020-024-01048-7 .
24. Lee, T. L., Lee, M. H., Chen, Y. C., Lee, Y. C., Lai, T. C., Lin, H. Y. H., ... & Chen, Y. L. Vitamin D attenuates ischemia/reperfusion-induced cardiac injury by reducing mitochondrial fission and mitophagy. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, *11*, 604700. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.604700 .
25. Matinhomaee, H., Zobeiri, M., Azarbayjani, M. A., & Azizbeigi, K. The effect of vitamin D supplementation during resistance training on the markers of systemic inflammation in untrained males. 2017, 21, 88-96, [in persian].
26. Fasihi, F., Alavi-Naeini, A., Najafi, M., Ghazvini, M., & Hasanzadeh, A. The effects of vitamin D supplementation on the antioxidant serum level in 6-13 years old children with ADHD. 2018. https://doi.org/10.1016/j.eujim.2018.10.006.

پذیرفته شده