

تأثیر شدت تمرین هوازی تناوبی بر بیان ژن Bax و Bcl-2 در موش های صحرایی مبتلا به آنفارکتوس میوکاردا

مهران قهرمانی^۱، محمد علی آذربایجانی^۲، مقصود پیری^۲، عاطفه رئوفی^۲

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، ^۲ گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
تاریخ وصول: 96/5/3 تاریخ پذیرش: 96/7/25

چکیده

زمینه و هدف: آنفارکتوس میوکاردا (MI)، انهدام و مرگ سلولی دایم و غیرقابل برگشت بخشی از میوکاردا است. تمرین های بدنی باعث کاهش آپوپتوز عضله قلبی شده، ولی فرایند مولکولی آن در پاسخ به فعالیت و همچنین شدت مناسب فعالیت هنوز معلوم نیست. احتمال می رود فعالیت ورزشی، با تأثیر بر مهم ترین عوامل مؤثر بر فرآیند آپوپتوزیس بتواند باعث جلوگیری از مرگ سلولی گردد. بر این اساس هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر شدت تمرین تناوبی هوازی بر روند آپوپتوز در موش های صحرایی مبتلا به آنفارکتوس میوکاردا بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰ هفته ای مبتلا به آنفارکتوس میوکاردا در سه گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، شدت پایین (LIIT) و گروه کنترل (بدون تمرین) قرار گرفتند. غلظت Bax و Bcl-2 کاردیومیوسیتی به عنوان نشانگر اصلی آپوپتوز با روش qRT-PCR سنجیده شد.

یافته ها: مقادیر Bcl-2 در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) به طور غیر معنی داری بیشتر از گروه کنترل ($p=0/077$)، در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) ($p=0/017$) به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. مقادیر Bax نیز در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) ($p=0/019$) به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود. در حالی که در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) افزایش غیر معنی دار نسبت به گروه کنترل داشت ($p=0/098$). مقادیر BCL-2 در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) بیشتر از گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بود ($p=0/023$). مقادیر شاخص Bax در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بیشتر از گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) بود ($p=0/019$).

نتیجه گیری: تمرین تناوبی از طریق بیان ژن Bax و Bcl-2 و در نتیجه کاهش آپوپتوز در کاردیومیوسیت پس از وقوع آنفارکتوس میوکاردا شده که میزان آن وابسته به شدت تمرین می باشد. به علاوه تمرین تناوبی با شدت پایین اثر بیشتری نسبت به تمرین تناوبی با شدت بالا دارد. براین اساس توصیه می شود در باز توانی قلبی به شدت تمرین توجه شود.

واژه های کلیدی: آپوپتوز، آنفارکتوس میوکاردا، تمرین تناوبی خیلی شدید، تمرین تناوبی با شدت پایین، Bax، Bcl-2

نویسنده مسئول: محمد علی آذربایجانی، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

آپوپتوز می‌باشد که با فعال سازی کاسپاز ۹ از مسیر داخلی در روند آپوپتوز دخالت دارد. محصول ژن Bcl-2 نیز با ممانعت از رها سازی سیتوکروم C از میتوکندری آپوپتوزیس را مهار می‌کنند(۳).

Bax پروتئینی است که با خنثی کردن عمل Bcl-2 آپوپتوز را فعال و تغییرات بافت شناختی معینی از جمله کاهش یا عدم چسبندگی سلول آپوپتوزی به سلول‌های دیگر و ماتریکس خارج سلولی، وقوع تاول‌های غشاء پلاسمایی و تراکم هسته‌ای، قطعه قطعه شدن DNA ژنومی، اتساع رتیکلوم اندوپلاسمیک، آزادسازی ریبوزوم‌ها و تجزیه سلول به اجسام آپوپتوزی، سلول در حال مرگ، ایجاد می‌کند(۴). Bax محرک‌های بسیار قوی مرگ سلولی است، در صورتی که عملکرد Bcl-2 در راستای افزایش بقاء سلولی است.

وسعت و شدت آنفارکتوس میوکارد(MI)، در افراد مختلف متفاوت بوده و بسته به درگیری سلول‌های آن قسمت از بافت قلب، وسعت آن متغیر خواهد بود. لزوم ادامه آپوپتوز به این امر بستگی دارد که آیا میزان آسیب سلولی فراتر از توانایی سلول به ترمیم خودش می‌باشد یا نه؟ که این امر نیز خود به نسبت پروتئین‌های پیش برنده آپوپتوز(به عنوان مثال Fas, P53) و پروتئین‌های مهارکننده(مانند Bcl-2)، وابسته است(۵). به طور کلی افزایش مقادیر Bax باعث افزایش میزان آپوپتوز و کاهش آن‌ها باعث بقای سلول و ترمیم آن‌ها می‌شود. هم‌چنین افزایش مقادیر Bcl-2 در جهت بقا و ترمیم سلول بوده و آپوپتوز

مقدمه

آنفارکتوس میوکارد(MI)، عبارت است از، انهدام و مرگ سلولی دایم و غیرقابل برگشت بخشی از عضله قلب(میوکارد). دلیل این پدیده از بین رفتن جریان خون و وقوع یک ایسکمی شدید در آن قسمت از بافت قلب و در نتیجه انسداد عروق تغذیه کننده عضله قلب می‌باشد(۱). آسیب بافتی ناشی از آنفارکتوس میوکارد تحت تأثیر مدت زمان ایسکمی بوده و حاصل از سرگیری جریان خون میوکارد است. اگرچه با از سرگیری جریان خون مقادیر اکسیژن به حال اول باز می‌گردد، ترکیب‌های زنجیره تنفسی کاهش یافته و موجی از گونه های فعال اکسیژن به ویژه در آغاز از سرگیری جریان خون دیده می‌شود. این رویدادها روی هم، باعث باز شدن منافذ نفوذپذیری میتوکندریایی شده که نتیجه آن مرگ سلولی از راه آپوپتوزیس است(۲).

آپوپتوز فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده یاخته است که در جانداران چند یاخته‌ای به وقوع می‌پیوندد و روندی فیزیولوژیک و زیستی برای نمو فعال و طبیعی و هم‌چنین حفظ هموستازی می‌باشد. مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، از طریق مسیرهای مختلفی، برانگیخته می‌شود(۳). در این فرایند آنزیم‌هایی موسوم به کاسپاز نقش اصلی را عهده‌دار می‌باشند. ژن Bax از ژن‌های مؤثر در کنترل شروع فرایند

را مهار می‌نماید (۵). بنابراین، سنجش تعامل بین عوامل دخیل در فرایند آپوپتوز و مهار آن در شرایط متفاوت می‌تواند به یافتن روشی موثر در ارتقای کیفیت بیماران مبتلا به آنفارکتوس میوکارد کمک کند.

نقش فعالیت بدنی منظم در حفظ و توسعه سلامتی به خوبی اثبات شده است، با این حال اغلب مردم از راه مشارکت در فعالیت بدنی منظم پیروی نمی‌کنند. امروزه تمرین‌های استقامتی به عنوان محرکی قوی برای سازگاری‌های قلبی - عروقی و همچنین تمرین تناوبی با شدت بالا با حداقل صرف زمان، برای غلبه بر مشکل فرصت شرکت در فعالیت‌های بدنی و در نتیجه افزایش میزان فعالیت بدنی و میزان سلامت افراد مورد توجه قرار گرفته‌اند (۶).

در حالت طبیعی، بین عوامل مهارتی و محرک آپوپتوز تعادل برقرار است، اما همواره در موقعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی این تعادل برهم می‌خورد، که یکی از این موقعیت‌ها فعالیت‌های بدنی می‌باشد. احتمال می‌رود فعالیت ورزشی، با تاثیر بر مهم‌ترین عوامل موثر بر فرایند آپوپتوزیس بتواند باعث جلوگیری از مرگ سلولی گردد (۶).

در ارتباط با تاثیر شدت‌های مختلف فعالیت بدنی بر فرایند آپوپتوز، مطالعه‌های پراکنده‌ای با نتایج متناقض دیده می‌شود. برای مثال لو و همکاران به مقایسه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین استقامتی بر نشانه‌های آپوپتوز و عملکرد قلبی در

موش‌های صحرایی ماده پرداختند (۷). در پژوهش مذکور کسر تزریقی بطن چپ و همچنین فسفواينوزیتید ۳- کیناز (PI3K)^(۱) و پروتئین کیناز (AKT)B^(۲) و پروتئین کیناز فعال شده AMP (AMPK)^(۳) و پروتئین فعال شده میتوزن P38 (P38mapK)^(۴) به عنوان نشانگان آپوپتوز مورد بررسی قرار گرفته شده بود و نتایج حاکی از تاثیر معنی‌دار تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین هوازی بر کاهش فرایند آپوپتوز بود (۷). همچنین پارکو به بررسی تاثیر هشت هفته تمرین منظم با شدت پایین (۵ روز در هفته) در عضله قلبی و اسکلتی موش‌ها پرداخته بود. نتایج افزایش Bcl-2 و Hsp70^(۵) و کاهش APAF-1^(۶) و Bax و همچنین عدم تغییر معنی‌دار کاسپاز ۳ را نشان داد (۸). همچنین فرناندز به بررسی ۱۰ هفته تمرین منظم هوازی شنا در موش‌های صحرایی نر پرداخته بودند که نتایج این پژوهش حاکی از افزایش Bcl-2 و کاهش BAD و در کل مهار آپوپتوز بود (۹). فانواف نیز بیان کرد که بلافاصله بعد از جلسه فعالیت هوازی مقادیر Bcl-2 کاهش و مقادیر Bax افزایش می‌یابد (۵). و بیرال نیز در پژوهش خود به تاثیر یک جلسه تمرین برون گرای هوازی در افزایش مقادیر Bax و کاسپاز ۳ و در نتیجه آن آپوپتوز اشاره کرده است (۱۰).

- 1-Phosphoinositide-3-Kinase (PI3K)
- 2-Protein Kinase B(AKT)
- 3-AMP-activated protein kinase (AMPK)
- 4-P38 mitogen-activated protein kinases (P38mapk)
- 5-Heat Shock Protein 70 kilodalton(Hsp70)
- 6-Apoptotic Protein Acyivating Factor-1 (APAF)

توجه به اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH-publication) و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگه داری شدند.

در ادامه در مرکز قلب شهید رجایی تهران موش‌های صحرایی تحت عمل جراحی قرار گرفته و شریان کرونری نزولی سمت چپ (LAD) آنها مسدود شد و به این ترتیب موش‌های صحرایی به آنفارکتوس میوکارد مبتلا شدند (۱۱).

پس از ایجاد آنفارکتوس میوکارد، موش‌های صحرایی به مدت دو هفته دوره بازیافت بعد از جراحی را طی کردند. در هفته سوم و چهارم موش‌های صحرایی با تردمیل به وسیله راه رفتن آرام روی آن آشنا شدند (با سرعت ۵ متر در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه در روز و ۴ روز در هفته). در پایان هفته چهارم VO_{2max} موش‌های صحرایی به وسیله آزمون فعالیت ورزشی بیشینه، جهت برآورد سرعت اولیه دویدن موش‌های صحرایی، اندازه‌گیری شدند (۱۱). سرعت دویدن هر موش صحرایی روی تردمیل با توجه به VO_{2max} آن به صورت انفرادی محاسبه شد. پس از آن موش‌های صحرایی به مدت دو روز استراحت کردند. سپس، برای اطمینان از مبتلا شدن به آنفارکتوس میوکارد، موش‌های صحرایی برای اندازه‌گیری شاخص‌های همودینامیکی به صورت بی‌هوش با دستگاه اکوکاردیوگراف، اکوکاردیوگرافی شدند. طی این فرایند شاخص کسر کوتاه شدگی بطن چپ (FS) اندازه‌گیری گردید. موش‌هایی که میزان این شاخص در آنها کمتر از $FS \geq 35\%$ درصد بود به عنوان

همان طور که گفته شد در ارتباط با تأثیر تمرینات با شدت پایین و تمرین‌های تناوبی خیلی شدید بر فرایند آپوپتوز در شرایط مبتلا به آنفارکتوس میوکارد مطالعه‌ای یافت نشد. در کل با بررسی این مطالعه‌ها به نظر می‌رسد پاسخ آپوپتوز به تمرین تابع شدت و نوع تمرین است، ولی با توجه به تناقض در نتایج و کمبود اطلاعات کافی در این زمینه نیاز به انجام مطالعه‌های بیشتر احساس می‌گردد.

با توجه به نتایج مطالعه‌های گذشته به نظر می‌رسد تمرین تناوبی خیلی شدید و هم‌چنین تمرین تناوبی با شدت پایین در بسیاری از موارد باعث دگرگونی‌های مثبتی در متغیرهای فیزیولوژیکی شده که هر کدام به نوعی می‌توانند در سلامتی مؤثر باشند، اما این که به کارگیری تمرین تناوبی خیلی شدید و تمرین تناوبی با شدت پایین باعث تغییرات اصلی مؤثر بر مهار آپوپتوز می‌شود، پرسشی است که این پژوهش می‌کوشد بدان پاسخ دهد، لذا هدف از این پژوهش بررسی اثرات تمرین تناوبی خیلی شدید و تمرین تناوبی با شدت پایین بر Bcl-2 و Bax در نتیجه آپوپتوز در شرایط سکته قلبی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن ۲۵۰ گرم انتخاب و به صورت تصادفی به سه گروه ۶ تایی کنترل و تجربی تقسیم شدند. موش‌ها در قفس‌های مجزا با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی با

مجدد بی هوش و نمونه برداری بافت عضلانی قلب در ناحیه مبتلا به آنفارکتوس میوکارد برای سنجش مقادیر RNA ژن Bax و RNA ژن Bcl-2 پس از فریز در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد به وسیله روش Real time-PCR (qRT-PCR) کمی طی مراحل زیر در آزمایشگاه ژنتیکی ملکولی انجام شد.

به طور خلاصه برای سنجش بیان ژن‌ها؛ تهیه نمونه‌های بافتی به منظور سنجش بیان ران‌های Bax و Bcl-2، استخراج RNA از نمونه‌های بافتی و سپس بررسی جذب نوری نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر، سنتز cDNA از روی RNA، انجام واکنش Real time PCR و بررسی میزان بیان ژن Bax و Bcl-2 در نمونه‌های گروه تجربی و گروه کنترل. توالی پرایمری مربوط به Bcl-2 شامل پیشرو

5'- TTTTAGGAGACCGAAGTCCG-3'
و معکوس 5'-AGCCAACGTGCCATGTGCTA-3'
بود و پرایمرهای مربوط به ژن Bax شامل پرایمر پیشرو 5'- AAGAAGCTGAGCGAGTGTCT-3'
و معکوس 5'-CAAAGATGGTCACTGTCTGC-3' بودند.

داده‌های آماری جمع‌آوری شده به وسیله نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری تی مستقل و آنالیز واریانس (آنوا) تجزیه و تحلیل می‌شوند.

یافته‌ها

بین دو گروه کنترل و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) در شاخص Bax تفاوت معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۱۹) و مقادیر شاخص Bax در گروه

موش‌های مبتلا به آنفارکتوس میوکارد، برای این مطالعه انتخاب شدند (۱۱). در نهایت موش‌های زنده مانده مبتلا به آنفارکتوس میوکارد تصادفی به سه گروه تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) و کنترل (CTRL) تقسیم شده و پروتکل تمرینی مدنظر اجرا شد (۱۱).

موش‌های گروه تمرین تناوبی شدید، چهار روز در هفته، به مدت شش هفته و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه به صورت تناوبی روی تردمیل دویدند. هر تناوب شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت ۸۵-۹۰ درصد VO2max و ۲ دقیقه بازیافت فعال با شدت ۵۰-۶۰ درصد VO2max بود (۱۱). موش‌ها قبل از شروع فاز اصلی تمرین به مدت ۸ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه گرم کردند.

موش‌های گروه تمرین تناوبی با شدت پایین، چهار روز در هفته، به مدت شش هفته و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه به صورت تناوبی دویدن روی تردمیل فعالیت می‌کردند. هر تناوب شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت ۶۰-۵۵ درصد VO2max و ۲ دقیقه بازیافت فعال با شدت ۵۰-۴۵ درصد VO2max بود (۱۲). موش‌ها قبل از شروع فاز اصلی تمرین به مدت ۸ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه گرم می‌کردند. لازم به ذکر است موش‌های گروه کنترل هیچ تمرینی انجام ندادند، اما برای کنترل اثر اقدام به دویدن در طی روز از قفس برداشته و در کنار نوارگردان روشن قرار گرفتند.

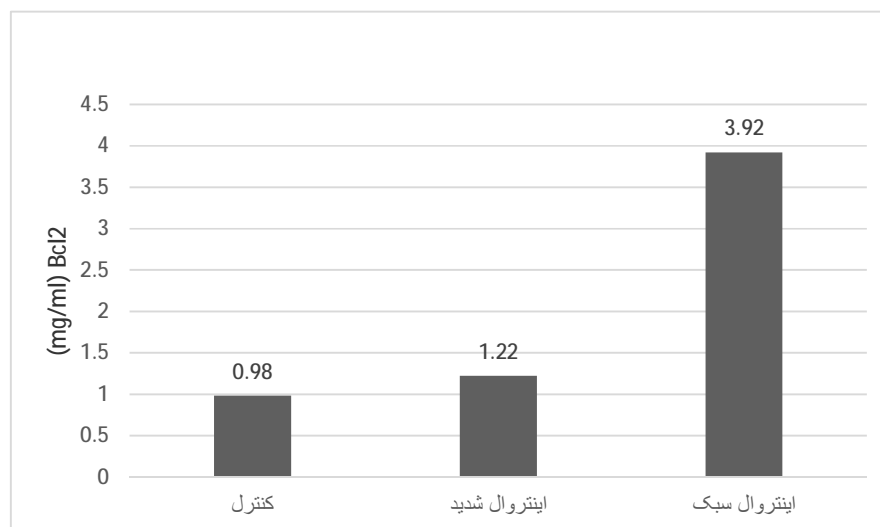
پس از پایان شش هفته دوره مطالعه، موش‌ها دو روز استراحت نموده و برای اکوکاردیوگرافی

بالا (HIIT) و گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) در شاخص Bax تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p=0/019$) و مقادیر شاخص Bax در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) بیشتر از گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) بود.

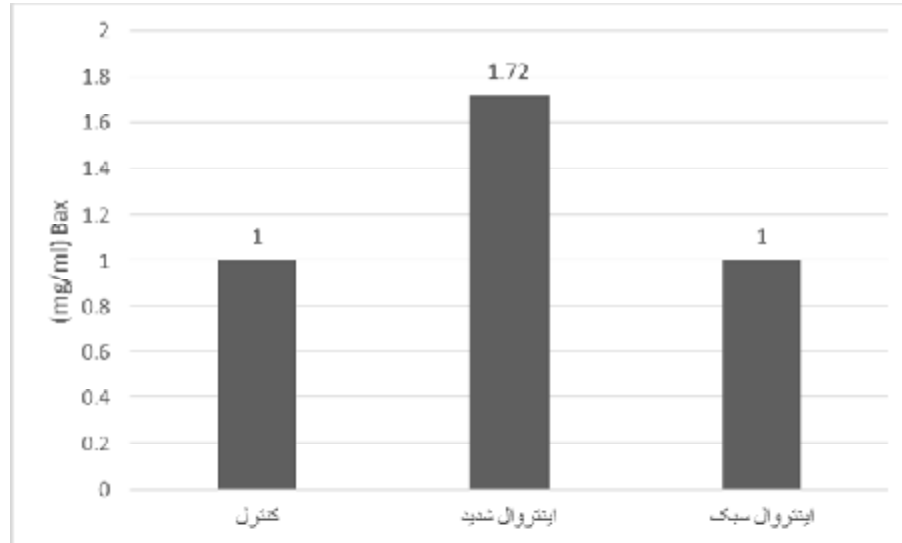
یافته‌ها نشان داد که مقادیر Bcl-2 در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. بیشتر از گروه کنترل ($p=0/077$) و در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) ($P=0/017$) به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (شکل ۱).

یافته‌ها نشان داد که مقادیر Bax در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($p=0/019$) و در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) افزایش غیر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت ($p=0/979$) (شکل ۲).

تجربی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بیشتر از گروه کنترل بود. مقادیر شاخص Bax در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) بیشتر از گروه کنترل بود، ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/979$). علی‌رغم این که مقادیر شاخص BCL-2 در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بیشتر از گروه کنترل است، ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/077$). بین دو گروه کنترل و تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) در شاخص BCL-2 تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p=0/017$) و مقادیر شاخص BCL-2 در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) بیشتر از گروه کنترل بود. بین دو گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) در شاخص BCL-2 تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p=0/022$) و مقادیر شاخص BCL-2 در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) بیشتر از گروه HIIT بود. بین دو گروه تمرین تناوبی با شدت



نمودار ۱: میانگین شاخص BCL-2 در گروه‌های مختلف تحقیق (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)



نمودار 2: میانگین شاخص Bax در گروه‌های مختلف تحقیق (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

بحث

نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از تنها پژوهش مقایسه‌ای یافت شده در رابطه با تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر آپوپتوز قلبی که به وسیله لو و همکاران انجام شده بود و به مقایسه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین استقامتی بر نشانه‌های آپوپتوز و عملکرد قلبی در موش‌های صحرایی ماده پرداخته بودند هم‌خوانی داشت. در پژوهش مذکور کسر تزریقی بطن چپ و همچنین PI3K و AKT و AMPK و P38maPK به عنوان نشان‌گران آپوپتوز مورد بررسی قرار گرفته شده بود و نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین هوازی بر کاهش فرایند آپوپتوز بود (۷).

همچنین نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعه‌های پارکو که به بررسی تأثیر هشت هفته

تمرین منظم با شدت پایین (۵ روز در هفته) در عضله قلبی و اسکلتی موش‌ها پرداخته بود (نتایج این پژوهش حاکی از افزایش Bcl-2 و Hsp70 و کاهش ApaF-1 و Bax و همچنین عدم تغییر معنی‌دار کاسپاز ۳ بود (۸). و همچنین با نتایج حاصل از پژوهش فرناندز که به بررسی ۱۰ هفته تمرین منظم هوازی شنا در موش‌های صحرایی نر پرداخته بودند هم‌سو بود. نتایج این پژوهش حاکی از افزایش Bcl-2 و کاهش BAD و در کل مهار آپوپتوز بود (۹)، اما با نتایج حاصل از پژوهش فانواف و همکاران که نتایج حاکی از آن بود که بلافاصله بعد از جلسه تمرینی هوازی مقادیر Bcl-2 کاهش و مقادیر Bax افزایش یافت هم‌خوانی نداشت (۵). در تحقیق بیرال و همکاران نتایج حاکی از آن بود که بعد از یک جلسه تمرین برون‌گرای هوازی مقادیر Bax و کاسپاز ۳ افزایش یافت که در نتیجه آن آپوپتوز القا شد، متناقض بود (۸). علت تناقض‌ها را

تناوبی خیلی شدید باعث افزایش مقادیر بیان ژن Bax شده باشد.

احتمالاً در اثر تمرین، مسیره‌های آپوپتوزی داخلی، ملکول‌های سیگنالی پیش آپوپتوزی (مانند پروتئین‌های پیش آپوپتوزی خانواده Bcl-2 مانند Bak و Bax) به میتوکندری منتقل شده و باعث القای یک سری منافذ نفوذپذیر موقت در غشای خارجی میتوکندری شده‌اند که ره‌ایش سیتوکروم c را مهار و منجر به کاهش فعالیت کاسپاز ۹ شده‌اند. سیتوکروم c علاوه بر این که بازیگر اصلی فرآیند فعال ساختن آبشار کاسپازهای میتوکندریایی است با فسفولیپید اختصاصی میتوکندری یعنی کاردیولیپین تعامل دارد. نتیجه این واکنش تشکیل کمپلکس کاردیولیپین-سیتوکروم c است که این کمپلکس در حضور پراکسید هیدروژن، اکسیداسیون کاردیولیپین را کاتالیز می‌کند. تجمع محصولات این اکسیداسیون در میتوکندری منجر به آزاد شدن فاکتورهای پیش آپوپتوزی به درون سیتوزول می‌شود (۱۷ و ۱۶).

در اثر شش هفته تمرین تناوبی خیلی شدید و تمرین تناوبی با شدت پایین اعضای خانواده Bcl-2 که به طور مستقیم روی غشای خارجی میتوکندری عمل می‌کنند هم‌والیگومریزه شده و نقشی حیاتی در نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری ایفا کرده‌اند (۱۶). Bcl-2 افزایش یافته در اثر بهبود عملکرد میتوکندری در نتیجه سازگاری با تمرین تناوبی با شدت پایین باعث مهار Bax / Bak شده که آن نیز تغییر پتانسیل غشای میتوکندریایی و ره‌اسازی

می‌توان در مدت زمان و طول دوره تمرین دانست. به طوری که مشاهده می‌شود در پژوهش‌های با نتایج متناقض یک جلسه فعالیت مورد بررسی قرار گرفته بود.

به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) و همچنین تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) هر دو باعث القای عوامل موثر در افزایش بیان ژن Bcl-2 شده‌اند. همچنین کاهش بیان ژن محرک Bax در تمرین تناوبی با شدت پایین (LIIT) دیده شد. همان طور که نتایج تحقیق‌های گذشته اثبات کرده‌اند هر دو شدت تمرینی در افزایش میزان میتوکندری و همچنین بهبود عملکرد آنها مؤثر هستند (۱۶ و ۱۵) و در این بین تمرین هوازی با شدت پایین مؤثرتر می‌باشد.

یکی از جنبه‌های مهم زیستی میتوکندری نقشی است که این ارگانل در آپوپتوز ایفا می‌کند. میتوکندری جزء لاینفک مسیر داخلی آپوپتوز و محل استقرار بسیاری از پروتئین‌های درگیر در مراحل اولیه این فرایند از جمله اعضای خانواده Bcl-2 می‌باشد (۱۷).

به نظر می‌رسد در اثر شش هفته تمرین‌های تناوبی خیلی شدید و همچنین تمرین‌های تناوبی با شدت پایین عملکرد میتوکندری‌ها بهبود یافته و این عامل باعث افزایش مقادیر Bcl-2 به عنوان مهم‌ترین عامل مهار آپوپتوز شده باشد. Bax نیز در تمرین تناوبی با شدت پایین کاهش یافته است. احتمالاً گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ایجاد شده در اثر تمرین

سیتوکروم c و Smac/DIABLO را در پی داشته است، که در نهایت کاسپاز ۹ را مهار کرده است.

به نظر می‌رسد در این پژوهش بهبود عملکرد میتوکندری نقش مهمی در مهار آپوپتوز داشته است. عمده‌ترین نقش این ارگانل در مسیر آپوپتوز، مهار رهاسازی سیتوکروم c به درون سیتوزول می‌باشد که منجر به افزایش پتانسیل غشای میتوکندری شده است. این پتانسیل برای تولید انرژی ATP و حفظ هموستازی سلولی ضروری است (۱۸). در نهایت کاهش سیتوکروم c، آپوپتوزوم را با کاهش تولید کاسپاز ۹ مهار کرده و باعث مهار پرتئولیتیک کاسپازهای اثرکننده شده است.

بهبود عملکرد میتوکندری در اثر سازگاری با هر دو شدت تمرینی باعث القا عوامل بالا دستی در افزایش تولید Bcl-2 شده که در نتیجه آن کاهش بیان ژن‌های محرک آپوپتوز از جمله Bax و در نتیجه کاهش آسیب با بافت قلب و حفظ بهتر عملکرد سلول‌های قلبی می‌شود. با توجه به نتایج این پژوهش به بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد پیشنهاد می‌شود که بعد از دوره نقاهت، از تمرین‌های تناوبی خیلی شدید به مدت حداقل شش هفته و پنج روز در هفته، جهت ارتقای سطح زندگی و بهبود عملکرد سیستم قلب و عروق خود بهره گیرند.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این پژوهش از نقش مثبت شش هفته تمرین‌های تناوبی خیلی شدید و همچنین

شش هفته تمرین تناوبی با شدت پایین بر مهار آپوپتوز سلول‌های قلبی پس از وقوع انفارکتوس حمایت می‌کند. بهبود عملکرد میتوکندری در اثر سازگاری با هر دو شدت تمرینی باعث القا عوامل بالا دستی در افزایش تولید Bcl-2 شده که در نتیجه آن کاهش بیان ژن‌های محرک آپوپتوز از جمله Bax و در نتیجه کاهش آسیب با بافت قلب و حفظ بهتر عملکرد سلول‌های قلبی می‌شود.

نتایج این مطالعه نشان داد تمرین تناوبی موجب بیان ژن Bcl-2 و Bax در نتیجه کاهش آپوپتوز در کاردیو میوسیت پس از وقوع انفارکتوس میوکارد شده که میزان آن وابسته به شدت تمرین می‌باشد. براین اساس توصیه می‌شود در بازتوانی قلبی به شدت تمرین توجه شود. شدت پایین اثر بیشتری نسبت به تمرین با شدت بالا دارد. با وجود این نیاز به مطالعه‌های بیشتر با بررسی سایر عوامل بازیگر در روند آپوپتوز ضروری به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می‌باشد، لذا از اساتید گروه فیزیولوژی ورزشی آن دانشگاه تقدیر و تشکر می‌کنم.

REFERENCES

1. Nordlie MA, Wold LE, Kloner RA. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2005; 39(4): 667–79.
2. Kange C, O'Moore KM, Dickman JR, Ji LL. Exercise activation of muscle peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α signaling is redox sensitive. *Free Radical Biology & Medicine* 2009; 47: 1394–400.
3. Köhler C, Orrenius S, Zhivotovsky B. Evaluation of Caspase activity in apoptotic cells. *Journal of Immunological Methods* 2002; 265(1-2): 97-110.
4. Mooren F, Volker K. Molecular and cellular exercise physiology. *Human Kinetics* 2004; 7: 451.
5. Phaneuf SC, Leewenburgh. Apoptosis and exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2001; 33: 393-96.
6. Grd RH. Exercise is good for your blood pressure: Effects of endurance training and resistance training. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 853-6.
7. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular Medicine Reports* 2015; 12(2): 2374-82.
8. Parco M, Siu Bryner RW, Martyn LK, Always SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal* 2004 FASEB Journal : 1-25.
9. Fernandes T, Magalhaes FC, Everton C. Aerobic exercise training inhibits skeletal muscular apoptotic signaling mediated by VEGF –VEGR2 in spontaneously hypertensive rats. *Exercise and Sports Sciences* 2012 ; 18: N6- Nov/Dec.
10. Biral D, J-Puka A, Betto R. Expression of Bcl-2 Family Proteins in Recovering and Regenerating Muscles. *Basic and Applied Myology Journal* 2002; 12(1): 43-6.
11. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. *Cardiovascular Research* 2013; 99(1): 55-64.
12. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. *European Heart Journal* 2012; 35(39): 2-10.
13. Mirkin G. New benefits of high-intensity interval training (HIIT) discovered. *Journal of Science and Cycling* 2015; 8(5): e65382.
14. Terblanche SE, Packer K, Henderson S. The effect of endurance training and exhaustive exercise on mitochondrial enzymes in tissues of the rat. *Journal of Elsevier Part A* 2001; 128: 889-96.
15. Scott L. The role of mitochondria in the mammalian antiviral defense system. *Mitochondrion* 2010; 10(4): 316-20.
16. Bayir H, Kagan VE. Bench-to-bedside review: Mitochondrial injury, oxidative stress and apoptosis – there is nothing more practical than a good theory. *Journal of Critical Care* 2008; 12(1): 1-11.
17. Soberanes S, Panduri V, Mutlu GM, Ghio A, Scott Bundinger, GR, Kamp DW. p53 Mediates particulate matter–induced alveolar epithelial cell mitochondriaregulated apoptosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2006; 174: 1229-38.
18. Oh YS, Kwon HY, Jeong SJ, Park KY, Lee HJ. Sojucktang induces apoptosis via loss of mitochondrial membrane potential and caspase3 activation in KLE human endometrial cancer cells. *Chinese Sci Bull* 2009; 54: 4387-92.

Effect of Frequency Aerobic Exercise on Expression of Bcl-2 and Bax Gene in Mice With Myocardial Infarction

Ghahremani M¹, Azarbaijani MA^{1*}, Piri M¹, Raoufi A²

¹Department of Physiology, Islamic Azad University, Tehran, Iran, ²Department of Physiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 25 Jul 2017 Accepted: 17 Oct 2017

Abstract

Background and Aim: Myocardial infarction (MI) is a permanent and irreversible cell death and death of the myocardium. Physical training reduces cardiac muscle apoptosis, but its molecular process is still unknown in response to activity and also the intensity of exercise. Exercise activity can be expected to prevent cell death by influencing the most important factors affecting the apoptosis process. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of aerobic exercise intensity on apoptosis in rats with myocardial infarction.

Methods: In this experimental study, 18 male Wistar rats with myocardial infarction were divided into three groups: High intensity periodic exercise (HIIT), Low intensity (LIIT) and Control group (without exercise). Bcl-2 and Bax cardiomyocyte concentrations were evaluated as the main markers of apoptosis by qRT-PCR method.

Results: Bcl-2 values were significantly higher in the high intensity exercise group (HIIT) than in the control group ($p = 0.077$), in the low intensity periodic exercise group (LIIT) ($p = 0.017$) were more than the control group. Bax values were significantly higher in the high intensity periodic exercise group (HIIT) ($p = 0.019$) than in the control group. While in the low intensity exercise group (LIIT), there was no significant increase compared to the control group ($p = 0.98$). BCL-2 values in the low intensity periodic exercise group (LIIT) were higher than the high intensity periodic exercise group (HIIT) ($p = 0.023$). Bax index values in the high intensity periodic exercise group (HIIT) were higher than the low intensity exercise group (1.91).

Conclusion: Periodic training was performed by expression of Bcl-2 and Bax gene and as a result of reduction of apoptosis in cardiomyocytes after myocardial infarction, which depends on the intensity of exercise. In addition, low intensity periodic exercises have a greater effect than high intensity periodic exercises. On this basis, it is recommended that attention be paid to intensive training in cardiac rehab.

Key words: Apoptosis, Myocardial infarction, Very intense exercise

Corresponding author: Azarbayjani MA, Department of Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Email: m.azarbayjani@iauctb.ac.ir

Please cite this article as follows:

Ghahremani M, Azarbaijani MA, Piri M, Raoufi A. Effect of Frequency Aerobic Exercise on Expression of Bcl-2 and Bax Gene in Mice With Myocardial Infarction. *Armaghane-danesh* 2018; 22 (6): 781-791.