

# تأثیر یک دوره تمرین تناوبی و مکمل رزوراترول بر شاخص‌های Bcl-2 و Bax در موش‌های

## صحرائی ماده

فرح نامنی\*، نازنین عبدالله‌زاده

گروه تربیت بدنی واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۱۱/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** تمرین تناوبی روشی برای ارتقاء اجرای ورزشی است. استرس اکسیداتیو ناشی از برنامه‌های تمرین تناوبی و فشار بر دستگاه ایمنی ممکن است موجب آپوپتوز و تغییر در شاخص‌های Bcl-2 و Bax شود. رزوراترول ممکن است در کاهش آپوپتوز حاصل از تمرین تناوبی موثر باشد. هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر یک دوره تمرین تناوبی و مکمل رزوراترول بر شاخص‌های Bcl-2 و Bax در موش‌های صحرائی ماده بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، ۴۸ موش صحرائی ماده نژاد ویستار با متوسط وزن ۲۸۰ گرم وارد مطالعه شدند و به طور تصادفی در ۴ گروه: شاهد، تمرین تناوبی، مکمل رزوراترول + تمرین تناوبی و رزوراترول قرار گرفتند. به گروه رزوراترول و رزوراترول + تمرین تناوبی به مدت ۸ هفته، هر روز حدود ۲۴ میلی‌گرم محلول خورانیده شد. برنامه تمرین تناوبی بر روی تردمیل نیز ۸ هفته برای گروه‌ها در نظر گرفته شد. در پایان دوره، ۲ میلی لیتر خون جهت اندازه‌گیری شاخص‌های آپوپتوز Bcl-2 و Bax اخذ شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک، آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج بیانگر درصد پایین‌تر میانگین Bax در گروه رزوراترول + تمرین تناوبی و رزوراترول نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین تناوبی بود. همچنین نتایج درصد بیشتر Bcl-2 را در گروه رزوراترول + تمرین تناوبی و رزوراترول نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین تناوبی نشان داد. مصرف رزوراترول موجب کاهش معنی‌دار Bax و افزایش معنادار Bcl-2 در گروه‌های رزوراترول ( $p=0/001$ ) و رزوراترول + تمرین تناوبی ( $p=0/001$ ) نسبت به گروه تمرین تناوبی و کنترل شده بود ( $p\leq 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد، رزوراترول و تمرین تناوبی موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی و کنترل شاخص‌های آپوپتوز می‌شود. همچنین سازگاری حاصل از تمرین اینتروال و اثرات آنتی آپوپتوزی رزوراترول موجب افزایش تولید پروتئین‌های آنتی آپوپتوزی و مهار آبشار کاسپازی شده است. لذا تعادل بین Bcl-2 و Bax از مرگ برنامه ریزی سلولی و ایجاد آپوپتوز پیشگیری کرده است.

**واژه‌های کلیدی:** رزوراترول، استرس اکسیداتیو، تمرین تناوبی، آپوپتوز

\* نویسنده مسئول: فرح نامنی، ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین پیشوا، گروه تربیت بدنی

Email: f.nameni@yahoo.co.uk

## مقدمه

آپوپتوز فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلول است که مکانیسم آن از اصلی‌ترین راه‌های حذف سلول‌های ناخواسته است. سیستم ایمنی با به کارگیری این فرآیند بسیاری از اعمال ضدآنتی‌ژنی خود را انجام می‌دهد. حذف سلول‌های آلوده، حذف کلون‌های B و T فعال شده علیه آنتی‌ژن‌های خودی و جلوگیری از بروز بیماری‌های خود ایمنی از نتایج آپوپتوز هستند. خانواده پروتئین‌های Bcl-2<sup>(۱)</sup> نقش مهمی در تنظیم فرآیند آپوپتوز دارند. پروتئین Bax<sup>(۲)</sup> هم از خانواده همین پروتئین است که به عنوان القا کننده آپوپتوز عمل می‌کند<sup>(۱)</sup>. پروتئین Bax در حالت عادی به مقدار کمی در سیتوپلاسم محلول است، اما در فرآیند آپوپتوز مقدار آن افزایش می‌یابد و در غشای خارجی میتوکندری به عنوان الیگومر قرار می‌گیرد<sup>(۱)</sup>. مولکول Bcl-2 ابتدا به عنوان پروتئین کوژن در لنفومای فولیکولار سلول‌های B شناسایی شد. پروتئین Bcl-2 در غشای خارجی میتوکندری و ضدآپوپتوز است، اما Bax یک پروآپوپتوز است. Bax پروتئینی است که با خنثی کردن عمل Bcl-2 آپوپتوز را فعال و تغییرات بافت‌شناختی معینی را ایجاد می‌کند. مکانیسم این فرآیند از طریق کاسپازها است که باعث تخریب پروتئین‌ها یا فعال‌سازی کاسپازهای دیگر شده و به وسیله رویداد تجزیه پروتئازی آبشار کاسپازی را به راه می‌اندازند<sup>(۱)</sup>. رزوراترول نوعی ترانس تری(هیدروکسی استیل پلی) بن‌فنولیک فیتوآلکسین است<sup>(۲)</sup>. رزوراترول یک آنتی‌اکسیدان

بسیار قوی و طبیعی با اثرات حفاظتی در بیماری‌ها و سرطان<sup>(۳)</sup> است که سازوکار آن از طریق کنترل اکسیداسیون، پیشگیری و درمان التهاب مزمن، فرآیند آپوپتوز و اثرات بیولوژیکی متنوع می‌باشد<sup>(۲)</sup>. همچنین رزوراترول قادر به عبور از سد مغز خون بوده و دارای اعمال خواص آنتی‌اکسیدان قوی است. رزوراترول باعث فعال شدن انواع کاسپازها، ایجاد آپوپتوز، تجمع پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی مانند Bax و Bak و انتشار Fas در غشای سلول می‌گردد. رزوراترول بیان عوامل ضدآپوپتوزی Bcl-2 که به طور غیرمستقیم در مرگ میتوکندری اعمال می‌شوند را مهار می‌کند. فعالیت آپوپتوزی رزوراترول ممکن است از طریق تغییر در عملکرد میتوکندری صورت گیرد. همچنین ممکن است با القای غشای میتوکندری منجر به آزاد شدن سیتوکروم C و در پی آن فعال شدن کاسپاز ۳ و ۹ شود که از پروتئازهای سیستمی با فعالیت پیش آپوپتوزی هستند<sup>(۴)</sup>. اثرات مهار رزوراترول بر رشد سلول از طریق فعال کردن گیرنده‌های آپوپتوز صورت می‌گیرد. اعضای گیرنده پس از اتصال لیگاند مربوط به سیگنال‌های آبشاری فعال می‌شوند<sup>(۴)</sup>. رضوی مجد و همکاران تأثیر همزمان تمرین شنای منظم و عصاره سیر را بر شاخص‌های آپوپتوزی بافت قلب موش بررسی کردند. نتایج نشان داد تمرین شنا و مصرف عصاره سیر و ترکیب تمرین و عصاره سیر سبب افزایش معنی‌داری

1-B-Cell Lymphoma 2  
2-BCL2-Associated X Protein

عملکرد ورزشکاران می‌شوند (۱۰). در مورد نقش حیاتی رزوراترول بر استرس اکسیداتیو، جنبه‌های درمانی و بالینی، تمرین تناوبی و هوازی و رزوراترول، پژوهش‌هایی صورت گرفته است (۱۱)، اما از تأثیر مصرف رزوراترول و تمرین تناوبی (یک روش رایج برای ارتقاء اجرای ورزشی) بر شاخص‌های آپوپتوز نتایج مشخصی در دست نیست (۱۲)، لذا هدف از این تحقیق تعیین و تأثیر همزمان مصرف رزوراترول و تمرین تناوبی بر میزان Bax و Bcl-2 بود.

#### روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، ۴۸ موش صحرایی ماده نژاد ویستار ۸-۱۰ هفته‌ای با وزن متوسط ۲۸۰ گرم خریداری و به آزمایشگاه و اتاق موش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین منتقل گردید و در شرایط محیطی با دمای  $22 \pm 3$  درجه حرارت و رطوبت ۵۵-۴۵ درصد نگهداری شدند.

موش‌ها در طی مراحل تحقیق در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در ابعاد  $15 \times 15 \times 30$ ، در وضعیت هوای سالم و شاخص استاندارد قرار داشتند. شرایط نگهداری آنها یکسان و دارای رژیم غذایی استاندارد (تهیه شده از شرکت بهپرور کرج) و دوره ۱۲ ساعته خواب و بیداری بودند.

کلیه نکات اخلاقی کار با حیوانات بر طبق دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین‌المللی کار با

در سطوح Bcl-2 و همچنین کاهش معنی‌داری در سطوح Bax و نسبت Bax به Bcl-2 بافت قلب موش‌های مسن تحت بیماری مزمن کلیوی شد (۵). اثر رزوراترول در کاهش افسردگی با تست شنای اجباری در موش‌ها نشان داد که رزوراترول تأثیر سودمندی در کاهش هورمون افسردگی و همچنین فاکتور نوتروفیک مغزی را نشان داده است (۶). دوستار و همکاران در زمینه نقش ورزش شنا استقامتی بر وقوع آپوپتوز در میوپاتی دیابتی تجربی گزارش دادند ورزش موجب بهبود روند آپوپتوز در سلول‌های عضلانی پا می‌شود (۷). تأثیر ورزش در تغییر سیگنال‌های آپوپتوز در عضلات اسکلتی رت‌ها نشان داده است که میزان Bax و Bcl-2 با انجام ورزش افزایش یافته و موجب افزایش روند آپوپتوز سلول‌های رت‌های سالمند شده‌اند (۸). پژوهش‌ها نشان می‌دهند، فعالیت ورزشی به طور کلی در فرآیند آپوپتوز مؤثر است و ممکن است موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی با کاهش سطح گونه‌های فعال، کاهش آسیب میوکارد، بهبود عملکرد قلب و فرآیندهای آپوپتوز می‌شود (۹). این مکمل در مداوای بیماران، تأمین مواد مغذی مورد نیاز افراد عادی و ورزشکار، کاهش عوارض و آسیب‌های تمرین‌های شدید می‌تواند مؤثر باشد. البته برخی محققان هم به علت ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، تقویت سیستم ایمنی و انرژی‌زایی این مکمل را پیشنهاد می‌کنند. زیرا موجب رفع نیازهای غذایی (مواد معدنی، ویتامین‌ها و مواد انرژی‌زا)، توسعه عملکرد عضلانی (کراتین و آمینواسیدها)، ارتقاء و بهبود سطح

حیوانات انجام گرفت. موش‌ها به طور تصادفی ساده در ۴ گروه ۱۲ تایی: شاهد (کنترل)، تمرین تناوبی، مکمل رزوراترول + تمرین تناوبی و رزوراترول تقسیم گردید و در قفس‌های جداگانه قرار گرفتند. با توجه به پژوهش‌های قبلی تعداد ۸-۱۰ سر موش برای حجم نمونه قابل قبول بود، اما با توجه به تلفات احتمالی ۱۲ سر موش در نظر گرفته شد. بنابراین معیارهای ورود شامل؛ سلامتی کامل موش‌ها و عدم استفاده پیشین از هر گونه دارو، محدوده سنی مناسب، بازه وزنی تعیین شده، ماده بودن و نژاد موش‌ها می‌شد. معیارهای خروج از مطالعه شامل؛ استفاده از داروهای ضد درد، ضد التهاب، وجود هر گونه بیماری یا التهاب مزمن و حاد، نر بودن و عدم تناسب وزنی موش‌ها با پژوهش بود.

۲ هفته پس از تطابق و آشنایی با محیط جدید برای تمام گروه‌ها، موش‌های گروه تمرین تناوبی و مکمل+تمرین تناوبی، فعالیت بر روی تردمیل را آغاز کردند. به منظور آشنایی با تردمیل (تردمیل ۵ ریلی، برند شرکت فنی مهندسی کیمیا کهربای مبین، ساخت ایران) قبل از شروع پروتکل اصلی، به مدت یک هفته، ۴ جلسه در هفته، هر جلسه ۵ دقیقه تمرین داشتند. برنامه تمرینی اصلی پروتکل تمرین تناوبی، به مدت ۸ هفته، ۴ جلسه در هفته، ۱۰ ست ۴ دقیقه‌ای با ۲ دقیقه استراحت بین ست‌ها با سرعت ۴۰ متر در دقیقه و ۷۰-۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. در هر جلسه ۵ دقیقه برای گرم کردن و سرد شدن (۱۰-۵ متر سرعت در دقیقه) در نظر گرفته شد. پروتکل تمرین

براساس اصول علمی انجمن آمریکایی طب ورزشی طراحی شد و از جریان الکتریکی برای ادامه فعالیت موش‌ها استفاده نشد و یک میله پلاستیکی جایگزین آن گردید (۱۳).

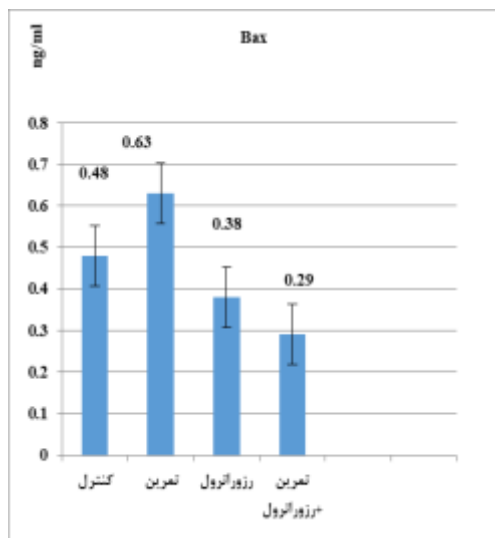
رزوراترول تهیه شده (از شرکت نوترابیو، ساخت آمریکا، با درجه دارویی و خلوص حدود ۹۸ درصد) به صورت محلول (۱۰ گرم در هر لیتر) آماده شد. سپس به صورت خوراکی با سرنگ گاواژ، روزی یک بار و راس ساعت ۸/۳۰ صبح به مدت ۸ هفته، در گروه‌های مکمل و مکمل+تمرین، روزانه با دوز ۸ میلی‌گرم به ازاء هر ۱۰۰ گرم وزن بدن به آنها خورانیده شد. در گروه‌های تمرین و شاهد (کنترل) برای ایجاد یکسان‌سازی استرس گاواژ، از سرم فیزیولوژیک استفاده شد.

در پایان دوره، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲-۱۰ ساعت ناشتایی، آزمودنی‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم) و زایلازین (۱ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم) به طور عمیق بی‌هوش شدند. سپس، ۲ میلی‌لیتر خون جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی شاخص عملکرد کبد (retro-orbital plexus) از سینوس پشت کره چشم موش‌های صحرایی اخذ و سرم نمونه‌های خون به وسیله سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد.

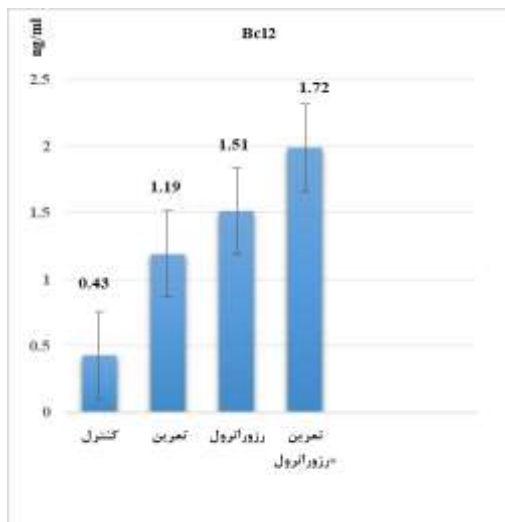
برای بررسی شاخص‌های آپوپتوزی، از روش غیر رادیواکتیو نشان‌دار کردن انتهایی استفاده شد.

( $p=0/0001$ ) نسبت به گروه تمرین تناوبی و کنترل شده بود ( $p\leq 0/05$ ).

می‌توان گفت تمرین تناوبی و مکمل رزوراترول بر سطح آپوپتوز، Bax و Bcl-2 اثرگذار بوده‌اند. نتایج جدول تجزیه واریانس در بین گروه‌ها بر اساس آزمون بونفرونی هم بررسی شد و این معنی‌داری بین گروه کنترل با سه گروه دیگر تأیید شدند.



نمودار ۱. میانگین تغییرات شاخص Bax



نمودار ۲. میانگین تغییرات شاخص Bcl-2

کیت آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق کیت تشخیص مرگ سلولی POD (ساخت شرکت Roche آلمان) بود که تمامی مراحل آن مطابق با دستورالعمل همراه کیت انجام پذیرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک، آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی بونفرونی، تجزیه و تحلیل شدند.

## یافته‌های

با استفاده از آزمون‌های میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای پیوسته محاسبه شدند. تغییرات شاخص‌های آپوپتوز، Bax و Bcl-2 در نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می‌شود. نتایج بیانگر درصد پایین‌تر Bcl-2 در گروه کنترل و درصد پایین‌تر Bax در گروه تمرین تناوبی + رزوراترول بود (نمودارهای ۱ و ۲).

با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک نرمال بودن توزیع متغیرهای اصلی بررسی شد و همه متغیرهای مطالعه در بین گروه‌ها از توزیع نرمال پیروی کرده بودند. با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت میانگین بین متغیرها بررسی شد. نتایج آزمون نشان داد بین گروه کنترل با سایر گروه‌ها تغییرات Bax و Bcl-2 تفاوت معنی‌داری وجود داشته است ( $p=0/0001$ ). تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد مصرف رزوراترول موجب کاهش معنی‌دار Bax و افزایش معنی‌دار Bcl-2 در گروه‌های رزوراترول ( $p=0/0001$ ) و رزوراترول + تمرین تناوبی

## بحث

فعالیت ورزشی ممکن است موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی، کاهش سطح اکسیدان‌ها، کاهش آسیب و بهبود عملکرد قلب و فرآیندهای آپوپتوز شود (۸). مکمل‌های ورزشی نیز برای رفع نیازهای غذایی، توسعه عملکرد عضلانی، ارتقاء و بهبود سطح عملکرد ورزشکاران توصیه می‌شوند (۹). در مورد نقش رزوراترول و تمرین تناوبی شدید بر استرس اکسیداتیو و شاخص‌های آپوپتوز نتایج مشخصی در دست نیست. لذا هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر تمرین تناوبی با استفاده از مکمل رزوراترول بر تغییرات شاخص‌های Bax و Bcl-2 در موش‌های صحرایی ماده بود.

نتایج تحقیق نشان داد میزان Bax در گروه تمرین تناوبی و Bcl-2 کبدی موش‌ها در گروه تمرین+مکمل رزوراترول نسبت به گروه کنترل افزایش بیشتری داشته است، معنی‌داری این افزایش از نظر آماری تأیید شد و این دو گروه بیشتر از گروه کنترل شاخص‌های آپوپتوزی را نشان داده‌اند. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر بر مبنای تأیید یا رد فرضیات، با پژوهش‌های رضوی مجد و همکاران، رینگولم و همکاران، وو و همکاران، کان و همکاران، جیانگ و همکاران و کیم و همکاران هم‌خوان بود (۱۸-۱۴ و ۵). پروتئین‌های Bcl-2 و Bax موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی شده بودند که این موضوع خود به تنهایی موجب بهبود روند آپوپتوز

است. فعالیت ورزشی، استرس جسمانی، تولید اکسیدان‌ها و تحریک سیستم ایمنی موجب تولید مولکول‌های پروتئینی Bax در گروه‌های درگیر شده بود. پروتئین Bax در حالت عادی به مقدار کمی در سیتوپلاسم محلول است، اما در فرآیند آپوپتوز مقدار آن افزایش یافته و در غشای خارجی میتوکندری به عنوان الیگومر قرار می‌گیرد (۱۹). در واقع بعد از مواجه شدن سلول‌ها با عوامل القاء کننده آپوپتوز، پروتئین Bax از سیتوپلاسم به غشاء میتوکندری انتقال یافته و تغییراتی در نفوذپذیری غشاء خارجی ایجاد کرده است. این تغییرات باعث آزاد شدن سیتوکروم c و سایر فاکتورهای پیش‌برنده آپوپتوز از میتوکندری و در نهایت منجر به قطعه قطعه شدن DNA شده است (مسیر میتوکندریایی آپوپتوز) (۲۰). بیش فعالی مسیرهای سیگنال‌دهی بتا آدرنرژیک و انتشار سیتوکروم C از میتوکندری با افزایش آپوپتوز و فیروز همراه است (۲۱) که احتمالاً در این تحقیق اتفاق افتاده است. بسیاری از مسیرهای فعال سیگنالینگ و تحریک پروتئین کیناز B (KT) و عوامل آدرنرژیک با افزایش کشش سلول عضله قلبی در تنظیم آپوپتوز نقش دارند. Bax با خنثی کردن عمل Bcl-2 آپوپتوز را فعال و تغییرات بافت‌شناختی معینی را (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

ریبوزوم ها و تجزیه سلول به اجسام آپوپتوزی) در سلول در حال مرگ، ایجاد می کند (۲۲). البته اعضای Bcl-2 به دو گروه تسهیل کننده و مهار کننده آپوپتوز تقسیم می شوند و نسبت بیان این دو گروه است که تعیین کننده بقا یا مرگ سلول است (۲۳). پروتئین Bcl-2 از طریق اتصال به کانال های موجود بر روی غشاء خارجی میتوکندری موجب حفظ یکپارچگی این غشاء می شود. پروتئین های آنتی آپوپتوزی از طریق فعالیت آنتی آپوپتوزی و تأثیر بر مرحله آبشار کاسپازی (پروتئاز هایی که با فعال شدن آنها پروتئین های هسته ای پروتئین های اسکلت سلولی و همچنین پروتئین های دخیل در انتقال پیام مورد هدف قرار گرفته و در نهایت مرگ سلول رخ می دهد)، می توانند از مرگ سلولی ایجاد شده به وسیله محرک ها بکاهند، که هر دو در این تحقیق فعالیت داشته اند. افزایش Bax با افزایش Bcl-2 همراه است. افزایش و غلبه هر یک بر دیگری، می تواند موجب مرگ یا زندگی سلول شود. نسبت این دو پروتئین شاخصی برای کاهش یا افزایش مرگ سلولی است. بنابراین، هر عاملی که بتواند نسبت Bcl-2 به Bax را افزایش دهد، می تواند در کاهش آپوپتوز مؤثر واقع شود (۲۴). سازوکار افزایش این دو پروتئین را می توان چنین توجیه کرد که Bax یک مونومر سیتوزولی سلول های زنده است، که در طول آپوپتوز با تغییرات کنفورماسیونی - اولیگومریزه می شود و به غشای خارجی میتوکندری اتصال پیدا می کند. اولیگومریزه

شدن Bax، باعث تحریک نفوذ پذیری غشا خارجی میتوکندری می شود. در مقابل اعضای مهار کننده آپوپتوز با اتصال به دامنه های BH3 اعضاء تسهیل گشاده از فعال شدن و الیگومریزه شدن Bax و در نتیجه اتفاقات پرو آپوپتوتیک میتوکندری جلوگیری می کنند (۱). در واقع بیان بالای Bcl-2 و Bax با فعالیت هایی نظیر جلوگیری از تولید Ros و بلاک کردن آزاد سازی سیتوکروم ، باعث مهار فرآیند آپوپتوز می شوند. فعالیت دامنه Bax از طریق تداخل با اعضای مهار کننده آپوپتوز خانواده Bcl-2 کنترل می شود. تحریکات آپوپتوزی منجر به فعال شدن پروتئین های القا کننده ای می شود. این پروتئین ها با اتصال به اعضای مهار کننده آپوپتوز در غشای خارجی میتوکندری منجر به رهاسازی فاکتور های القا کننده آپوپتوز می شوند که تحت تغییرات کنفورماسیونی اولیگومریزه می شوند و با ایجاد نفوذ پذیری در غشای خارجی میتوکندری باعث رهاسازی فاکتور های آپوپتوزی به داخل سیتوزول و تشکیل کمپلکس آپوپتوزوم و سپس فعال سازی آبشار کاسپازی می شود. پیام های آپوپتوزی که منشاء درون سلولی دارند و از داخل هسته ایجاد می شوند، معمولاً ناشی از آسیب DNA می باشد که به وسیله تابش یا دیگر استرس ها ایجاد می شود. آسیب DNA می تواند باعث فعال شدن فاکتور رونویسی شود، که این فاکتور باعث افزایش بیان اعضای القا کننده آپوپتوز در خانواده Bcl-2 و همچنین مهار اعضای ضد آپوپتوزی

این خانواده و در نتیجه پیشرفت آپوپتوز در سلول شود. پس از شروع آپوپتوز فاکتورهای پروآپوپتوتیک از میتوکندری به سیتوپلاسم آزاد شده و منجر به پیشروی آپوپتوز می‌شود (۲۵ و ۱). در اثر تمرین تناوبی عملکرد میتوکندری‌ها بهبود یافته و این عامل باعث افزایش مقادیر Bcl-2 به عنوان مهم‌ترین عامل مهار آپوپتوز شده است. سازوکار احتمالی دیگر، مهار مسیر سیگنالینگ انسولین<sup>(۱)</sup> و مهار مسیر TOR<sup>(۲)</sup>، افزایش فعالیت AMP کیناز، ممانعت از کوتاه شدن تلومرها و در نهایت فعالیت خانواده سیرتوئین<sup>(۳)</sup> (گروهی از پروتئین‌ها که دارای فعالیت هیستون بر پروتئین و ترانسفرازی می‌باشند) هستند که حاصل تأثیر آنتی‌اکسیدانی قوی رزوراترول و عامل مهار آپوپتوز می‌باشند که در گروه‌های رزوراترول و رزوراترول+تمرین نسبت به گروه تمرین اتفاق افتاده است. در سلول‌های کبدی، در حضور رزوراترول سیرتوئین موجب افزایش بیوزن میتوکندریایی شده، به دنبال آن ژن‌های گلوکونئوزنیک افزایش یافته و با مسیر گلوکونئوزن از مصرف گلوکز ممانعت می‌شود. تأمین ذخایر گلوکز برای دستگاه ایمنی، تقویت سیستم دفاعی، مهار تولید سایتوکاین‌ها، کاهش ROS و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> خواهد شد و مسیر تولید کاسپاز و القا آپوپتوز را به تعویق خواهد انداخت (۲۲)، که احتمالاً این وقایع در این تحقیق رخ داده است. تمرین تناوبی با شدت‌های مختلف با حداقل زمان، برای شرکت در فعالیت‌های بدنی و افزایش سلامت مورد توجه می‌باشد. در

شرایط طبیعی، بین عوامل مهار و محرک آپوپتوز تعادل برقرار است، اما در وضعیت فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی این تعادل برهم می‌خورد (مثل وضعیت فعالیت جسمانی و تمرین). احتمالاً فعالیت ورزشی، با تأثیر بر عوامل مؤثر بر آپوپتوز بتواند از مرگ سلولی ممانعت کند (۲۵ و ۱۳). همچنین نتایج تحقیق با یافته‌های کاکه برای و کریمی و همکاران همسو بوده است (۲۶ و ۲).

نتایج بایر و سوبرانز در تناقض با یافته‌های تحقیق بود (۲۴ و ۲۳). در این پژوهش‌ها گزارش شده است که تمرین موجب افزایش مقادیر Bax و کاسپاز ۳ شده است و در نتیجه آن آپوپتوز القا شده بود. تفاوت نتایج ناشی از تفاوت در روش تمرینی (تمرین تداومی، هوازی و قدرتی)، شدت (شدید، متوسط و سبک) و مدت (کوتاه مدت، میان مدت و بلند مدت) نوع و غلظت مکمل مصرف شده (عصاره سیر و ویتامین C)، تیمار (انسان یا حیوان)، تحقیقات بالینی (سرطان و دیابت) یا پژوهش‌های ورزشی می‌باشد. در این پژوهش‌ها احتمالاً با توجه به نوع و روش تمرین، هایپرگلیسمیا و رادیکال‌های آزاد مانند؛ هیدروکسیل، نیتریک اکساید فاکتورهای پیش آپوپتوزی تولید شده است و افزایش Bcl-2 قادر به مهار کاسپاز و آپوپتوز محدودیت‌های تحقیق شامل عدم تسلط بر نحوه نگهداری، کار با حیوانات، تمرین با حیوانات، امور آزمایشگاهی و استخراج بافت‌ها و انجام آزمایش‌ها بود که ناشی از هزینه‌های بالای تجربیات آزمایشگاهی و کمبود مراکز آموزشی و تحقیقی است.



منابع تورش احتمالی، استفاده از یک بار نمونه‌گیری و اخذ بافت، بیماری‌های نهفته و اختصاصات فیزیولوژیکی و ژنی خاص می‌تواند باشد. با همسان‌سازی، انتخاب تصادفی، تعیین حجم نمونه مناسب و معادلات و روش‌های آماری دقیق محققین سعی در کاهش این عوامل داشته‌اند. توصیه می‌شود با توجه به نتایج پژوهش، مطالعه در زمینه پایروپتوز<sup>(۱)</sup>، نقش کاسپازها و مکانیسم آپوپتوز، پروتکل‌های تمرینی مقاومتی، تمرین‌های موازی، نمونه‌های انسانی و مکمل‌های گیاهی دیگر مانند لیورگل، می‌تواند در ارتقاء سلامتی مؤثر باشد.

#### تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد، رشته فیزیولوژی ورزشی گرایش تغذیه ورزشی، با کد اخلاق IR.IAU.VARAMIN.REC.1397.017 دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا می‌باشد. نویسندگان از تمامی عوامل اجرایی دانشگاه، مرکز تحقیق، عوامل نگهداری و تکنسین آزمایشگاه که در این پژوهش همکاری صمیمانه داشتند کمال تشکر را دارند.

---

1- Pyroptosis

## REFERENCES

1. Honardoost M, Soleimanjahi H, Rajaei F. Apoptosis: programmed cell death. Review Article JQUMS 2013; 17(3): 48-57.
2. Jamali Qarakhlanlou B, Ebrahimi Kalan A, Tofighi A. Effect of resveratrol and aerobic exercise on some cardiovascular risk factors in rats with acute myocardial infarction. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 25(6): 501-11.
3. Hassanpour Z, Amiri F. Anti-tumor effects of resveratrol in breast cancer. Rsj lums 1395; 2(2): 32-40.
4. Kakeh-Baraei S, Niroumand E, Khazaei M. Biopharmacologic Properties of Resveratrol. J Isfahan Med Sch 2015; 32(308): 879-96.
5. Razavimajd Z, Homaei HM, Azarbayjani MA, Farzanegi P. The Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Heart Apoptosis Regulatory Factors in Chronic Kidney Disease. Iranian Journal of Diabetes & Obesity (IJDO) 2017; 9(1-2): 62-68.
6. Wang Z, Gu J, Wang X, Xie K, Luan Q, Wan N. Antidepressant-like activity of resveratrol treatment in the forced swim test and tail suspension test in mice: the HPA axis, BDNF expression and phosphorylation of ERK. Pharmacol Biochem Behav 2013; 112: 104-10.
7. Doustar Y, Mohajeri D, Rezaei A, Hashemi M. The effect of endurance swimming exercise on the occurrence of apoptosis in experimental diabetic myopathic rats. J of Islamic Azad Uni Tabriz Branch 2010; 3-4: 629-36.
8. Song W, Kwak HB, Lawler JM. Exercise training attenuates age induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. Antioxidants & Redox Signaling 2006; 8(3-4): 517-28.
9. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Always SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. Federation of American Societies for Experimental Biology Journal 2004; 18(10): 1150-2.
10. Gharib MH, Ghatreh Samani K, ZarrinAbadi Z, Mokhtari M, Heydarian E. Effect of resveratrol supplementation on antioxidant parameters, lipids profile and several biochemical indices in type 2 diabetic patients: a double-blind randomized-controlled clinical trial. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2018; 12(4): 42.
11. Tofighi A, Ebrahimi Kalan A, Jamali Qarakhlanlou B. The effect of resveratrol supplementation and aerobic training on cardiac tissue alteration of rats with acute myocardial infarction. Iran J Physiol Pharmacol 2017; 1: 211-221.
12. Yulug E, Tured S, Alver A, Kutlu O, Karaguzel E, Kahraman C. Effects of resveratrol on testis damage in streptozotocin induced diabetic Rats. Journal of Animal and Veterinary Advances 2013; 12(6): 747-53.
13. 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): 781-91.
14. Ringholm S, Olesen J, Pedersen JT, Brandt CT, Halling JF, Hellsten Y, et al. Effect of lifelong resveratrol supplementation and exercise training on skeletal muscle oxidative capacity in aging mice; impact of PGC-1 $\alpha$ . Experimental Gerontology 2013; 48(11): 1311-8.
15. Wu RE, Huang WC, Liao CC, Chang YK, Kan NW, Huang CC. Resveratrol protects against physical fatigue and improves exercise performance in mice. Molecules 2013; 18(4): 4689-702.
16. Kan NW, Ho CS, Chiu YS, Huang WC, Chen PY. Effects of resveratrol supplementation and exercise training on exercise performance in middle- age mice. Molecules 2016; 21(5): 319-24.
17. Jeong HK, Gautam S, Jae YU, Muthu KS, Frank A, Alan PK, et al. The role of resveratrol in cancer therapy. International Journal of Molecular Sciences Int J Mol Sci 2017; 18(12): 2589.
18. Kim EJ, Anko ML, Flensberg C, Majewski IJ, Geng FS, Firas J, et al. BAK/BAX-mediated apoptosis is a myc-induced roadblock to reprogramming. Stem Cell Reports 2018; 10(2): 194-204.
19. Kim HJ, Kim IK, Song W, Lee J, Park S. The synergic effect of regular exercise and resveratrol on kainite-induced oxidative stress and seizure activity in mice. Neurochemical Research 2013; 38(1): 117-22.
20. Eslami H, Sharifi A. Morphine-induced apoptosis in PC12 cells: role of Bax and Bcl2, Medical School. Research Center for Molecular Medicine 1391; 16(91): 81-8.
21. Tanoorsaz S, Behpour N, Tadibi V. Investigating the effect of mid-term of aerobic exercise on apoptosis biomarkers in the cardiomyocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Fasa University of Medical Sciences 2018; 7(4): 488-97.
22. Fereidoni M, Jahanbakhshi S. A review of resveratrol effects on longevity. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 1393; 23(3): 54-72.

23. 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): 206.
24. Soberanes S, Panduri V, Mutlu GM, Ghio A, Scott Bundinger GR, Kamp DW. Mediates particulate matter-induced alveolar epithelial cell mitochondria regulated apoptosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2006; 174: 1229-38.
25. Hasani S, Habibian M. The effect of regular high-intensity interval exercise on some apoptotic factors in the brain tissue of old female rats. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences* 2018; 22(2): 128-33.
26. Karimi MN, Abbasalipourkabir R, Arab Sadeghabadi Z, Ziamajidi N. The level of gene expression of Bax and Bcl-2 and the activity of caspase 3 in the liver tissues of normal, type 1 and type 2 diabetic rats before and after treatment with aqueous extract of garlic. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2017; 25(7): 547-55.

# The Effect of a Periodic and Complementary Resveratrol Supplementation Effect on Bax and Bcl-2 Indicators in Female Rats

Namani F\*, Abdullahzadeh N

Department of Physical Education, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Received: 25 Jan 2019

Accepted: 09 Feb 2020

## Abstract

**Background & aim:** Alternative training is a way to improve athletic performance. Oxidative stress caused by periodic exercise programs and pressure on the immune system may cause apoptosis and changes in Bax and Bcl-2 characteristics. Resveratrol may be effective in reducing apoptosis resulting from intermittent exercise. The aim of the present study was to determine the effect of a periodic and complementary reservoir supplementation training on the characteristics of Bax and Bcl-2 in female rats.

**Methods:** In the present experimental study conducted in 2018, 48 Wistar rats with an average weight of 280 g entered the study and were randomly divided into 4 groups: control, periodic exercise, resveratrol supplementation + periodic training and resveratrol. The resveratrol and resveratrol + exercise group was fed 24 mg of the solution daily for 8 weeks. The intermittent training program on treadmills was also scheduled for 8 weeks. At the end of the course, 2 ml of blood was taken to measure the apoptosis characteristics of Bax and Bcl-2. Data were analyzed using Shapiro-Wilk statistical tests, one-way analysis of variance and post-Bonfroni follow-up test.

**Results:** The results indicated a lower average percentage of Bax in the resveratrol group + alternate training and resveratrol than the control group and the alternate training group. The results also indicated a higher percentage of Bcl-2 in the resveratrol group + intermittent exercise and resveratrol than the control group and the alternate training group. Reservoir + alternate exercise ( $p=.0001$  (relative to the periodic and controlled exercise group ( $p\leq 05$ )).

**Conclusion:** The results of the present study revealed that resveratrol and intermittent exercises improved mitochondrial function and control apoptotic characteristics. Correspondingly, compatibility resulting from interval training and antipyretic effects of resveratrol increased the production of antiseptic proteins and cascade inhibition. Therefore, the balance between Bax and Bcl-2 prevented the death of cellular planning and apoptosis.

**Keywords:** Resveratrol, Oxidative Stress, Periodic Exercise, Apoptosis

**Corresponding author:** Namani F, Department of Physical Education, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

**Email:** f.nameni@yahoo.co.uk

## Please cite this article as follows:

Namani F, Abdullahzadeh N. The Effect of a Periodic and Complementary Resveratrol Supplementation Effect on Bax and Bcl-2 Indicators in Female Rats. Armaghane-danesh 2020; 25(2): 213-224.