مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره چهار، تیر ۱۳۹۷
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۹
تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۴/۲

تاثیر تمرین تداومی بر میزان پروتئین های BAX و BCL-2 قلبی در رت های مسموم شده با آب اکسیژنه

صمد صفرزاده گرگری*[۱]، حسن متین همایی[۲]، محمد علی آذربایجانی[۳]

مقاله پژوهشی

مقدمه: گونه‌های اکسیژن فعال باعث تحریک آپوپتوز سلول های قلبی شده و عملکرد میوکاردی را مختل می‌کند، ولی مکانیسم آن به درستی معلوم نیست. شواهد نشان داده تمرینات ورزشی ممکن است فرآیندهای پیام رسانی آپوپتوز را تغییر دهد. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر تمرین تداومی بر پروتئین های BAX و BCL-2 همراه با تزریق آب اکسیژنه با دو دوز مختلف در رت‌های نر سالم می‌باشد.

روش بررسی: تحقیق حاضر به روش تجربی با پنجاه راس موش نر سالم به ۵ گروه ۱۰ راسی شامل: گروه اول(کنترل)، گروه دوم و سوم به ترتیب تزریق یک و دو میلی مول آب اکسیژنه،گروه چهارم و پنجم به ترتیب تزریق یک و دو میلی مول آب اکسیژنه همراه با انجام تمرینات تداومی، تقسیم شده بودند انجام گردید. گروه های تمرینی به مدت هشت هفته و چهار روز در هفته روی تریدمیل با شدت متوسط دویدند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و در حالت بی هوشی سینه آن ها شکافته شد. میزان پروتئین های بکس (BAX) و بی سی ال دو(BCL-2) توسط دستگاه الایزا استخراج شد. برای سنجش توتال پروتئین از روش brad ford استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آنووا در سطح معنی‌داری $P\leq 0/05$ توسط نرم افزار spss16 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که میزان سطوح BAXوBCL2 و نسبت BAX/BCL2 در گروه های تمرین و آب اکسیژنه پس از دو ماه تمرین تداومی در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود ($P>0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده اگر هشت هفته تمرین تداومی همراه با تزریق آب اکسیژنه با دوزهای یک و دو میلی لیتر صورت گیرد احتمالاً نمی‌تواند باعث افزایش پروتئین پیش آپوپتوزی سلول های قلبی در رت ها گردد ممکن است به سازگاری ایجاد شده بین تجزیه و سنتز سلول های قلبی در اثر انجام تمرینات تداومی مربوط باشد.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز سلول های قلبی، تمرینات تداومی، پروتئین Bax، پروتئین Bcl2، آب اکسیژنه، رت

ارجاع: صفرزاده گرگری صمد، همایی حسن متین، آذربایجانی محمد علی .**تاثیر تمرین تداومی بر میزان پروتئین های BAX و BCL-2 قلبی در رت های مسموم شده با آب اکسیژنه**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۴): ۷۹-۳۶۳.

۱-دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاداسلامی واحد تهران مرکزی، شهر تهران، ایران
۲- استاد گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاداسلامی واحد تهران مرکزی، شهر تهران، ایران
۳-استاد گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاداسلامی واحد تهران مرکزی، شهر تهران، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۴۹۹۱۳۱۲۶، پست الکترونیکی: safarzadeh.gargari@yahoo.com، کد پستی :۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

مقدمه

آپوپتوز، مرگ فیزیولوژیک سلولی است که در شرایط طبیعی سبب حذف سلول های پیر، آسیب دیده، اضافی و مضر می شود و برای تکامل و هموستاز بافتی ضروری است. آپوپتوز در ترمیم و نوسازی بافتی و نیز حذف سلول های خود واکنش گر نقش دارد (۱) در سال های اخیر مطالعات متعددی نشان دادند که اجزای مکانیزم مرگ سلولی در طول تجزیه ارگانل ها مورد استفاده قرار گرفته اند (۲)، طبق این نظریه، تجزیه ارگانل ها شکلی از مرگ سلولی تقلیل یافته می باشد. در حمایت از این نظریه مشاهده شد که بیان ژن بی سی ال دو (*BCL-2*) ،که یک ملکول ضد آپوپتوزی است، باعث کاهش یا به تاخیر انداختن تجزیه ارگانل‌ها در مسیرهای تمایزی می‌شود. نفوذپذیری غشاء میتوکندری به سیتوکروم C توسط نسبت نسبی واسطه های پروآپوپتوتیک و آنتی‌آپوپتوتیک از قبیل بکس (Bax) یا بک (Bak) سبب افزایش نفوذپذیری غشاء میتوکندری شده و متعاقب آن آپوپتوز سلولی را تحریک می کند (۳). جلوگیری از آسیب سلول های میوکاردی قلبی ناشی از آپوپتوز بسیار با اهمیت است و در چند سال اخیر تاثیر تمرینات مختلف بر روی آپوپتوز مورد توجه بسیاری از پژوهش گران علوم ورزشی بوده و نشان دادند که آپوپتوز و مرگ سلولی می تواند با تمرینات ورزشی رخ دهد.

در طول چند دهه گذشته محققین گزارش کرده‌اند که تمرینات منظم و با شدت متوسط می تواند آپوپتوز را در کروموزوم های افراد بزرگ سال کاهش دهد (۴،۵). در این باره پترسون و همکاران نشان دادند که ۹ هفته تمرین با شدت متوسط می تواند باعث کاهش سطوح پروتئین BAX، فعالیت کاسپاز و قطعه قطعه شدن DNA در بافت قلبی موش های چاق شود (۶). این یافته ها با نتایج کواندری و همکاران (۲۰۱۲) حمایت می شود آنها نشان دادند تمرین روی تریدمیل باعث افزایش متغیرهای آنتی آپوپتوزیسی بافت قلبی بعد از آسیب ایسکمی- رپرفیوژن (IR) موش ها شده بود (۷). در مقابل نتایج تحقیقات اسینبرگر و همکاران (۲۰۰۹) نشان داده است که تمرینات استقامتی طولانی مدت می تواند بیان ژن پروتئین های BAX و BCL-2 قلبی را تغییر دهد و آپوپتوز قلبی را به وسیله استرس اکسیداتیو تحریک کند (۸). سمیت فلزات سنگین و تجمع آن‌ها در زنجیره‌های غذایی و نقش آن ها در آلودگی هوا یکی از اصلی‌ترین معضلات زیست محیطی و بهداشتی جوامع مدرن است، این آلاینده ها از طریق ریه‌ها وارد جریان خون شده و باعث تولید رادیکال های آزاد متنوعی می شوند که می توانند به بافت های بدن آسیب جدی به رسانند. چندین مطالعه نشان داده اند ایسکمی و رپرفیوژن باعث تولید رادیکال های آزاد (۹) شده و به تدریج باعث ترومبوز، مرگ سلولی و آسیب به عروق کرونری قلب در موش های نر شده است (۱۰،۱۱) رودی‌گر و همکاران نشان داده‌اند که ROSها نقش اصلی در پاتوفیزیولوژیکی بیماران قلبی دارند هم چنین آن ها پیشنهاد می کنند که ROSهای مختلف باعث تحریک مسیرهای سیگنالی آپوپتوزی درون سلول های میوکاردی می شود، (۱۱) در این میان H2O2 (پراکسید هیدروژن) یکی از قوی ترین ROSها است که اکثر مطالعات علمی در تحقیقات آزمایشگاهی خود از آن استفاده می کنند.

مطالعات بیشتری نشان دادند که سطوح بالای H2O2 (معمولاً بیشتراز ۵۰ میکرومول) باعث شروع سایتوتوکسیک در سلول های حیوانات، گیاهان و باکتری های کشت داده شده در محیط آزمایشگاه شده بود. میزان اکسیژن مصرفی توسط بدن (vo2) در طی تمرینات ۲۰-۱۵ برابر افزایش می یابد که به همان نسبت مصرف اکسیژن در میتوکندری عضلات فعال تا ۱۰۰ برابر افزایش یافته و تولید رادیکال آزاد به صورت قابل توجهی افزایش می یابد (۱۲) جانرو و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند. H2O2 باعث آسیب جدی به سارکولمای سلول های قلبی می گردد ولی به خاطر این که کاردیومیوست ها توسط کاتالاز محافظت می شدند هیچ گونه آسیبی ندیدند (۱۳). قرار گرفتن مختصر سلول های قلبی در معرض H2O2 می تواند مکانیسم های پاتولوژیکی را که منجر به آسیب سلولی شود، تحریک کند هم چنین باعث انتشار سیتوکروم c به درون سیتوزل سلول های قلبی نیز می گردد، که از این طریق

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

می تواند آپوپتوز سلولی را تحریک کند (۱۴). مطالعات نشان داده است که تزریق H2O2 به اندازه یک میلی مول باعث غیر فعال شدن آنزیم گلیسرول آلدهید ۳- فسفات دهیدروژناز شده و متعاقب آن آپوپتوز سلولی اتفاق افتاده بود. (۱۵). هم چنین نتایج دیتینگ کواین و همکاران نشان داده است که تزریق آب اکسیژنه با دوزهای متفاوت (کمتر از یک میلی مول) باعث ایجاد آپوپتوز بلاستوسیت ها و تخریب DNA شده بود (۱۶) با توجه به نتایج مطالعات صورت گرفته H2O2 تولید شده در داخل سلول به تنهایی باعث بروز آپوپتوز و آسیب سلولی می گردد، بنابراین با تزریق اضافی H2O2 بدن استرس متابولیکی بیشتری را متحمل شده لذا انتظار می‌رود پروتئین های پیش آپوپتوزی قلبی افزایش یابد و این که اکثر تحقیقات صورت گرفته اثرات H2O2 تولیدی در داخل بدن را بر بافت ها بررسی کرده اند و هیچ تحقیقی در مورد تاثیر تزریق H2O2 با دوزهای یک و دو میلی لیترکه همراه با انجام تمرین تداومی است بر روی آپوپتوز عضله قلبی صورت نگرفته است لذا این مطالعه بر آن شد تا تاثیر تمرین تداومی بر میزان پروتئینهای BAX و BCL-2 قلبی در رت های مسموم شده با آب اکسیژنه را مورد بررسی قرار دهد.

روش بررسی

در یک کارآزمایی تجربی با طرح پس آزمون ۵۰ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰±۲۲۰ گرم و ۱۰-۸ هفته‌ای از مرکز حیوانات دانشگاه شیراز به عنوان آزمودنی تهیه و انتخاب شده و به دانشگاه علوم پزشکی کرمان انتقال یافتند. رت‌ها در قفس‌های پلی پروپیلن، $42\times30\times16\ cm^3$ تحت شرایط استاندارد و کنترل دمایی (22 ± 2 °C) و چرخه متناوب روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزادانه به آب و غذا (شرکت غذای دام پارس، تهران، ایران) نگهداری شدند.

همه آزمایش های مربوط به حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی قوانین هلسینکی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد. رت‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه n=10 مطابق با مداخلات استرس و فعالیت تمرینی منظم به شرح زیر تقسیم شدند: گروه اول (گروه کنترل)، گروه دوم دریافت دوز یک میلی مول H_2O_2(H)؛گروه سوم دریافت دوز دو میلی مول $2H_2O_2$(2H) (۱۷). گروه چهارم H_2O_2 و فعالیت تمرینی منظم (HE)؛ گروه پنجم $2H_2O_2$ E و (2HE) به مدت هشت هفته با تردمیل در سرعت و شیب های مشخص مورد آزمون قرار گرفتند. جهت القا استرس اکسیداتیو، گروه های H،HE، توسط تزریق درون صفاقی H_2O_2 با دوز۱mmol/kg و گروه های 2H، 2HE و تزریق درون صفاقی H2O2 با دوز ۲mmol/kg به صورت سه بار در هفته یک روز در میان انجام شد.

پروتکل تمرینی

رت ها در هفته اول با سرعت ۸ m/min و شیب ۱۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل تمرین کردند، در هفته دوم با سرعت ۱۲m/min با شیب و زمان مشابه، در هفته سوم با سرعت ۱۶m/min با شیب مشابه به مدت ۴۵ دقیقه و در چهارمین هفته با سرعت ۲۰m/min با شیب مشابه به مدت ۴۵ دقیقه تمرین داده شدند. طی هفته های پنجم تا هشتم رت ها در سرعت ۲۰m/min با زاویه ده درجه به مدت ۶۰ دقیقه هر روز تحت تمرین قرار گرفتند (۱۷).

حجم نمونه و روش اندازه گیری

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ناشتایی شبانه، نمونه برداری ها انجام شد،کلیه نمونه‌های بافت قلبی استخراج شده از رت ها خیلی سریع با سرم فیزیولوژیکی سرد شستشو داده و بلافاصله در داخل تانک ازت یا یخچال ۸۰- درجه سانتی گراد برای استفاده‌های طولانی مدت نگهداری شدند برای هموژنیزه کردن بافت مورد نظر را وزن کرده تا متناسب با آن بافر را اضافه کردیم، بافر مورد نظر برای این بافت PBS (phosphate bafer salin) می باشد، سپس مخلوط بافر و بافت را همراه با یخ توسط دستگاه هموژنایزه و طی چندین سکیل خرد شد. این مخلوط را در داخل سانتریفیوژ با دمای ۴ درجه، دور ۱۲ هزار و به مدت ۱۰ دقیقه قرار داد شد. بعد از خارج کردن تیوب ها از سانتریفیوژ، محلول بالای تیوب ها (سوپرناتان) را برداشته و برای سنجش پروتئین کل آن داخل لوله های آزمایش دیگری قرار می دهیم، برای

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

سنجش توتال پروتئین از روش استاندارد brad ford (روش رنگ سنجی) استفاده شد (۱۸). برای اندازه‌گیری میزان پروتئین های BAX وBCL-2 با استفاده ازکیت‌های تجاری الآیزا ساخت شرکت CRYSTAL DAY BIOTECH کشور چین با مشخصات E0034Ra برای پروتئین BAX و E0037 برای پروتئین BCL-2 با استفاده از طول موج ۴۵۰ نانومتراستفاده گردید.

تجزیه تحلیل آماری

از روش آمار توصیفی و استنباطی در این تحقیق استفاده شد. در بخش آمار توصیفی با استفاده از میانگین و انحراف معیار داده های پژوهش توصیف شدند. در بخش آمار استنباطی نیز به وسیله روش آماری تحلیل واریانس یک راهه در سطح معنی داری $P\leq 0/05$ مورد بررسی قرار گرفت در صورت مشاهده تفاوت معنی دار، جهت تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی شفه برای مقایسه تک تک گروه ها استفاد گردید. آزمون لوین برای یکسان سازی داده ها مورد استفاده قرار گرفت. کلیه محاسبات توسط نرم افزار SPSS نسخه۱۶ انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

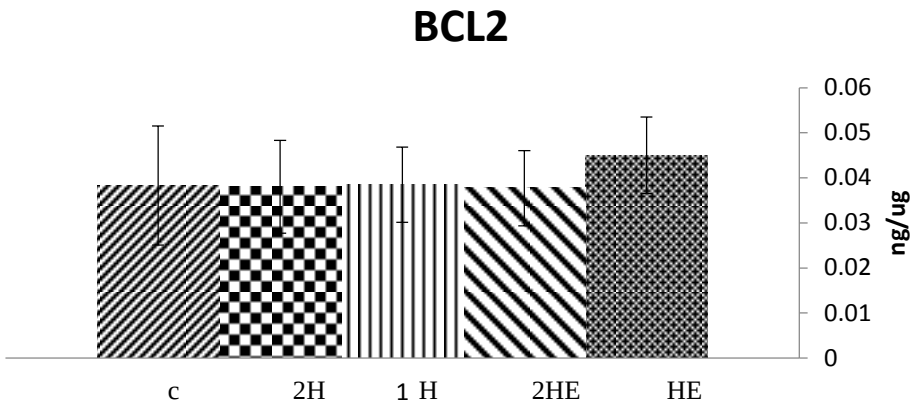
همه آزمایش های مربوط به حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی قوانین هلسینکی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد.

نتایج

با وجود این که میزان غلظت BAX در گروه های با دوز بیشتر (2H و2HE) نسبت به گروه های دریافت کننده کمتر آب اکسیژنه (H و HE) کاهش یافت ولی این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود (P=۰/۱۱۶) (نمودار ۱) و (جدول ۱). هم چنین در میزان پروتئین BCL-2 در مقایسه بین گروهی هیچ تفاوت معنی داری مشاهده نشد (P=۰/۴۶۶) (نمودار ۲) و (جدول۱). در نسبت BAX/BCL2 نیز تفاوت معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد (P=۰/۸۳۷) (نمودار ۳) و (جدول ۱).

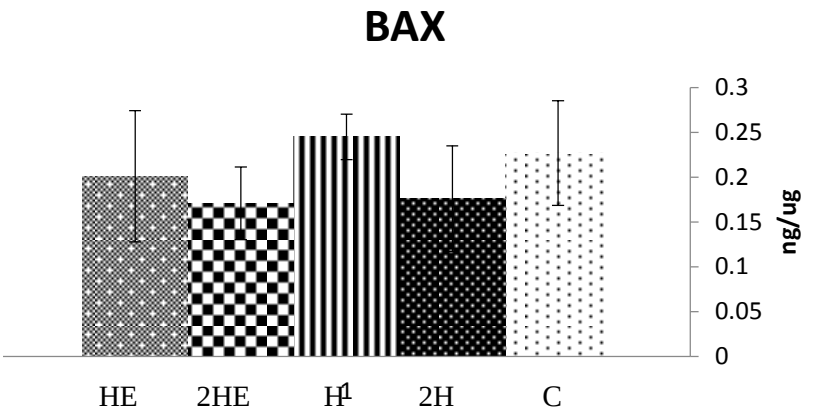
جدول ۱: نتایج آزمون آنووای یک راهه برای متغیرها در مقایسه بین گروه های تمرین، مسموم شده با آب اکسیژنه و گروه کنترل

متغیر	درجه آزادی	F	معنی داری
Bax(نانوگرم بر میکروگرم)	۹	۱/۶۵۱	۰/۱۱۶
Bcl2(نانوگرم بر میکروگرم)	۹	۰/۹۷۷	۰/۴۶۶
Bax/Bcl2	۹	۰/۵۴۵	۰/۸۳۷

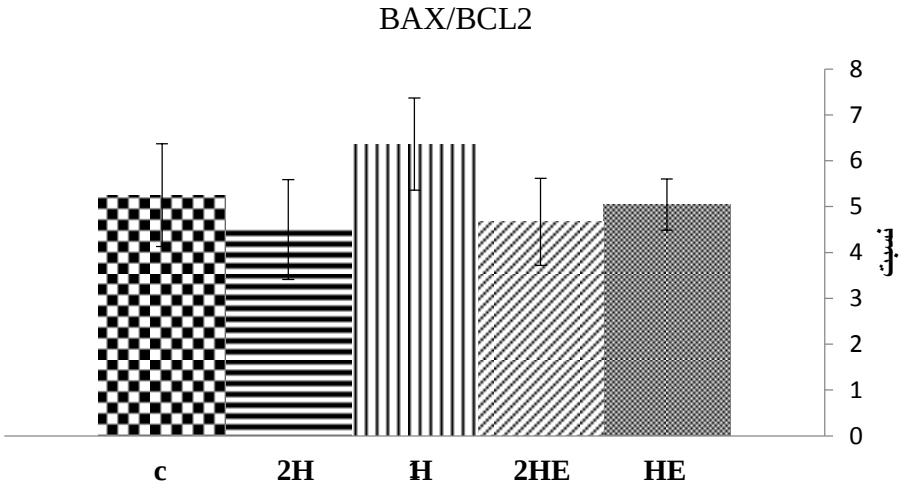


نمودار۱: تغییرات پروتئین BAX در مقایسه بین گروه های تمرین و مسموم شده با آب اکسیژنه در دوزهای متفاوت

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]



نمودار۲: تغییرات پروتئین BCL2 در مقایسه بین گروه های تمرین و مسموم شده با آب اکسیژنه در دوزهای متفاوت



نسبت BAXبر BCL2 در گروهها

نمودار ۳: تغییرات در نسبت پروتئینهای BAX/BCL2 در مقایسه بین گروه های تمرین و مسموم شده با آب اکسیژنه در دوزهای متفاوت

بحث

تمرینات منظم جسمانی یکی از عوامل مهم در کاهش بیماری های قلبی عروقی به شمار می رود و باعث سازگاری عضلات قلبی نسبت به تمرین می گردد. به علاوه گزارش شده افزایش هایپرتروفی در اثر سازگاری با تمرینات استقامتی طولانی مدت رخ می‌دهد (۱۹). محققان یکی از دلایل آن را افزایش مقاومت سلول های میوکاردی در برابر آسیب سلولی ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن و تولید گونه‌های اکسیژن فعال ذکر کرده اند. در تحقیق حاضر تمرینات تداومی همراه با تزریق دو میلی لیتر آب اکسیژنه در مقایسه با تزریق یک میلی لیتر باعث کاهش بیشتری در میزان پروتئین های آپوپتوزی شده بود ولی از لحاظ آماری معنی دار نبودند. و هم چنین غلظت پروتئین BCL-2 و نسبت BAX/BCL2 نیز در همه گروه ها تقریباً مشابه بود. یکی از دلایل می‌تواند به اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن های ایجاد کننده هایپرتروفی قلبی جستجو باشد، تمرینات استقامتی باعث تغییر بیان ژن هایی از جمله سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، ATP حساس به کانال های پتاسیم، مونو آمینواکسیداز، SIRT3 میتوکندریایی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

می شود که متعاقب آن باعث کاهش تحریک آپوپتوز و بسیاری از صدمات میتوکندری می گردد، شواهد تجربی نشان می دهد افزایش بیان ژن SOD2 میتوکندری نقش مهمی در جلوگیری از آسیب های قلبی در ورزش دارد (۲۰). در هر مرحله از مرگ سلولی، سلول با توجه به ماهیت تحریکات و خصوصیات و محتویات سلولی و محیط پیرامون خود تصمیم می گیرد که کدام مسیر را به کار گیرد ولی بسیاری از این مسیرها در تعامل با هم بوده و از تنظیم کننده های مولکولی و مکانیسم های بیوشیمیایی مشترکی استفاده می کنند. (۲۱) به عنوان مثال انجام تمرینات استقامتی به تنهایی باعث افزایش رادیکال های آزاد شده و احتمالاً در کوتاه مدت باعث افزایش آپوپتوز گردد ولی اگر به صورت منظم و تداومی انجام گیرد باعث افزایش فعالیت مسیر AKT/MTOR شده فرایند سنتز پروتئین را تحریک کند (۲۲،۲۳). به علاوه فعالیت بدنی منظم به عنوان یک عامل جبران کننده اپوپتوز میوسیت ها تلقی می شود (۲۴،۲۵) در این زمینه سانگ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که یک برنامه تمرین دویدن ۱۲ هفته ای روی تریدمیل باعث کاهش بیان BAX در عضله دوقلوی رت های پیر می شود (۲۶). سطوح BCL-2 در جوندگان تمرین کرده افزایش یافت که به کاهش نسبت BAX به BCL-2 منجر می شود. به علاوه شکسته شدن کاسپاز-۳ در رت های پیر بعد از تمرین ورزشی کاهش یافت. در نتیجه مقدار قطعه قطعه شدن DNA آپوپتوزی تا حد چشم گیری توسط ورزش جبران شد و سطوح آن به مقادیر مشابه با سطوح آپوپتوزی حیوانات جوان رسید این تغییرات با افزایش سطح مقطع تار عضلانی و کاهش فضای برون سلولی در بین میوسیت ها همراه بود (۲۷). تزریق H2O2 باعث تحریک آپوپتوز از طریق افزایش بیان ژن های CASPASE و P53 می‌شود که فعالیت این مسیر می تواند به وسیله BCL-2 کاهش یابد (۲۸)، به خاطر اینکه سیستم انرژی بافت میوکاردی به صورت کاملا هوازی تامین می شود بنابراین در زنجیره انتقال الکترونی الکترون های بیشتری تولید شده (۲۹) و با تزریق آب‌اکسیژنه اضافی رادیکال های آزاد افزایش یافته انتظار می رفت که بافت میوکاردی آسیب بیشتری را متحمل شود و متعاقب آن میزان مرگ سلولی افزایش یابد ولی با این حال نتایج در این تحقیق از عدم تغییر معنی دار متغیرهای آپوپتوزی حکایت دارد، از دلایل تغییرات غیر معنی‌دار در میزان پروتئینهای BAX و BCL-2 در گروه ها می تواند افزایش miR-499 بافت قلبی باشد به طوری که جی آ جی وانگ (۲۰۱۴) تاثیر قرار گرفتن بافت قلبی در معرض H2O2 با دوز ۱۰۰ میکرو مول به مدت ۶ ساعت را بر بیان ژن های ایجاد کننده آپوپتوزی مورد بررسی قرار دادند آن ها نشان دادند که H2O2 باعث تحریک سریع آپوپتوز میتوکندریایی از طریق افزایش بیان چهار ژن *MAPKs* (mitogen activated protein kinas) *JNK،ERK* و *P38* می‌گردد. بنابراین این عوامل باعث فسفوریلاسیون c-Jun شده و آن نیز باعث افزایش بیش تنظیمی ژن *miR-499* می شود *miR-499*، از افزایش ژن های آپوپتوزی *PCD4* و *Pacs2* که فعال کننده ژن *BAX* هستند جلوگیری می کند (۳۰) با توجه به تحقیق حاضر و هم چنین به خاطر این که غلظت های بیشتر H2O2 باعث افزایش بیشتر *miR-499* می گردد تا حدودی انتظار می رود کاهش بیشتر گروه های دریافت کننده دو میلی لیتر آب اکسیژنه آپوپتوز قلبی کمتری را تجربه کنند. نینگ لیوی و همکاران (۲۰۱۷) تاثیر قرار گرفتن بافت قلبی خارج شده از موش در معرض قرار گرفتن در آب اکسیژنه را مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد که *miR-135a* باعث افزایش آپوپتوز سلول های قلبی شده و با سرکوب این ژن بیان پروتئین BCL-2 افزایش یافته در نتیجه از بروز آپوپتوز میوکاردی جلوگیری می شود (۳۱)، این نتایج با یافته های تحقیق حاضر در تضاد است دلیل احتمالی آن می‌تواند مربوط به قرارگیری مستقیم بافت قلبی در معرض آب اکسیژنه و غلظت آن باشد.

تحقیق مشابه توسط کالوسی و همکاران (۲۰۰۰) انجام گردید که نشان داد H2O2 و رادیکال آزاد اکسیژن باعث ظهور سیتوکروم c در سیتوزول میتوکندری شده بود و آن نیز باعث افزایش فعالیت CPP32 می‌گردد در نتیجه باعث تحریک آپوپتوز قلبی خواهد شد (۳۲). پروتئین های BCL-2 که به عنوان پروتئن های ضد آپوپتوزی عمل می کنند یک پارچگی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

غشای میتوکندری را حفظ می‌کنند و آزاد شدن سیتوکروم c به درون سیتوزول و در نتیجه فعال شدن CASPASE 3 را تنظیم می‌کنند. کای لو و همکاران (۲۰۱۵) ثابت کردند که انجام تمرینات استقامتی به مدت ۸ هفته باعث کاهش آپوپتوز قلبی موشها از طریق افزایش غلظت آنزیم های سوپراکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و کاهش غلظت مالونیل دی آلدهید می گردد هم چنین نشان دادند که انجام تمرینات استقامتی و HIIT باعث افزایش بیان ژن های *PI3k, AMPK, P38mapk, Akt*، که هر کدام در سنتز بافت قلبی و ایجاد کننده هایپرتروفی درگیر هستند، می‌گردد (۳۳) .به خاطر این که در این تحقیق انجام تمرینات به مدت طولانی انجام گردید یک سازگاری در قلب ایجاد شده بنابراین با توجه به مطالعات صورت گرفته تعادلی بین تجزیه و سنتز بافتی برقرار خواهد شد تا از به روز آسیب قلبی جلوگیری شود که این دلایل تا حدی می تواند عدم تغییر معنی دار در مقدار پروتئین های BCL2, BAX را نسبت به گروه کنترل توجیه کند هم چنین نشان داده شده تزریق رادیکال های آزاد به مدت طولانی باعث سازگاری در بافت گردد.

به طوری که زی سولک راداک و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که تزریق H2O2 با دوز پایین به صورت مزمن باعث فعال شدن آنزیم های پپتیداز، کمپلکس پروتئوزوم و DT-diaphorase شده و متعاقب آن باعث تجمع پروتئین های کربونیل نسبت به حالت استدی استیت در میوکاردیوم قلبی گردد (۳۴). در این باره جانرو و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که H2O2 باعث آسیب جدی به سارکولمای سلول های قلبی می گردد ولی به خاطر این که کاردیومیوست ها توسط کاتالاز محافظت می شوند هیچ گونه آسیبی ندیده بودند و هیچ گونه تاثیر معنی داری بر محتوای پروتئین ها و فسفو لیپید های غشای کاردیومیوسیت ها نداشت اما باعث تغییر معنی داری در ترکیبات غشای سلولی شده بود (۳۵) در تحقیق حاضر به گروه های (H,HE) آب اکسیژنه یک ساعت قبل از تمرین تزریق شده بود. لذا به خاطر اینکه انجام تمرینات استقامتی خود باعث تشکیل رادیکال های آزاد از جمله H2O2 می‌گردد با تزریق H2O2 اضافی به موش ها قلب استرس متابولیکی بیشتری را متحمل می گردد در نتیجه بافت قلبی به شدت آسیب می بیند ولی در اثر انجام تمرینات طولانی مدت، سازگاری با این شرایط اتفاق می‌افتد تا هموستاز رادیکال های آزاد تولید شده دربافت میوکاردیوم را برقرار نماید و این کار را از طریق تعادل بین میزان بیان پروتئینهای آپوپتوزی (BAX) و ضد آپوپوپتوزی (BCL-2) جبران می‌نماید (۳۶).

نتیجه گیری

با توجه به تحقیقات صورت گرفته به نظر می رسد اگر تمرینات استقامتی همراه با تزریق دوزهای یک و دو میلی لیتر آب اکسیژنه همراه باشد تاثیری بر میزان پروتئین های BCL-2 و BAX ندارد و در اثر سازگاری با تمرین و تزریق H2O2 به مدت طولانی احتمالاً بافت قلبی تحت تاثیر آپوپتوز قلبی قرار نگیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی بوده که در گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی مورد تصویب قرار گرفته است. نویسندگان از پرسنل محترم دانشگاه علوم پزشکی کرمان، خانم نعیمه محسنی زاده و آقای مهدی پیروز که با همکاری ایشان مطالعه حاضر به پایان رسید ضمناً این مطالعه حامی مالی ندارد، تشکر و قدردانی می نمایند.

تعارض در منافع: تعارض منافع وجود ندارد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

References:

1-Von Harsdorf R, Li P-F, Dietz R. ***Signaling pathways in reactive oxygen species–induced cardiomyocyte apoptosis***. Circulation 1999; 99(22): 2934-41.

2-Xie J, Zhou X, Hu X, Jiang H. ***H2O2 evokes injury of cardiomyocytes through upregulating HMGB1.*** Hellenic J Cardiol 2014; 54: 101-6.

3-nabiyuni T, parivar R, divsalar F. e***ffects of honey bee poison on leukemia lymphoblastic cancer cells***. kashan J faze med sci. 2012; 16(2): 7-121. [persian]

4-Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. ***Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c–dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition***. Cell 2000; 102(1): 33-42.

5-Ghavami S, Hashemi M, Kadkhoda K, Alavian SM, Bay GH, Los MJ. ***Apoptosis in liver diseases-detection and therapeutic applications.*** Med Sci Monitor 2005; 11(11): RA337-RA45.

6-Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. ***Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise.*** J Appl Physio 1985; 105(6): 1934-43.

7-Quindry JC, Miller L, McGinnis G, Kliszczewicz B, Irwin JM, Landram M, et al. ***Ischemia reperfusion injury, KATP channels, and exercise-induced cardioprotection against apoptosis***. J Applied Physiology 2012; 113(3): 498-506.

8-Eisenberg A, Bialik S, Simon HU, Kimchi A. ***Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them.*** journal of Cell Death & Differentiation. 2009; 16(7): 966-75.

9-Smith T, Rana RS, Missiaen P, Rose KD, Sahni A, Singh H, et al. ***High bat (Chiroptera) diversity in the Early Eocene of India.*** Naturwissenschaften 2007; 94(12): 1003-9.

10- KaraM, ozchaghlı E, Jannuzzi AT, Alpertunga B. ***Oxidative stress mediated cardiac apoptosis***. Istanbul J Pharmacy. 2015; 45(2): 217-32.

11- Powers SK, Smuder AJ, Kavazis AN, Quindry JC. ***Mechanisms of exercise-induced cardioprotection***. Physio 2014; 29(1): 27-38.

12- Amri F, Ghouili I, Amri M, Carrier A, Masmoudi-Kouki O. ***Neuroglobin protects astroglial cells from hydrogen peroxide induced oxidative stress and apoptotic cell death***. J neurochemistry 2017; 140(1): 151-69.

13- Janero DR, Hreniuk D, Sharif HM. ***Hydrogen peroxide induced oxidative stress to the mammalian heart muscle cell (cardiomyocyte): Lethal peroxidative membrane injury***. J cellular physio 1991; 149(3): 347-64.

14- Kim R, Emi M, Tanabe K. ***Role of mitochondria as the gardens of cell death***. Cancer chemotherapy and pharmacology 2006; 57(5): 545-53.

15- Qian D, Li Z, Zhang Y, Huang Y, Wu Q, Ru G, et al. ***Response of mouse zygotes treated with mild hydrogen peroxide as a model to reveal novel mechanisms of oxidative stress-induced injury in early embryos***. Oxid Med Cell Longev 2016; 2016.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

16- Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. ***Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training.*** Eur J Cardiovas Prev Rehabil 2007; 14(6): 753-60.

17- valipour NR, ahmadzadeh M. ***determination of protein concentraion using brad ford microplate protein quantification assay.*** inter electonic j med 2015; 4(1).

18- seene T, Kaasik P. ***Skeletal Muscle Adaptation to Endurance Exercise: Fibre Type Peculiarities***. Austin Sports Med. 2017; 2(2): 1020.

19- Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, Kuo CH, Chan YS, Lin YM, et al. ***Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats.*** Nutr Metab Cardiovas Dis 2013; 23(6): 566-73.

20- Montazeri F, Rahgozar S, Gaemi K. ***apoptosis and cytoplasmic organelles***. Genetics In The 3rd Millennium 2011; 9(1): 2300-12. [persian]

21- Wang J, Jia Z, Zhang C, Sun M, Wang W, Chen P, et al. ***miR-499 protects cardiomyocytes from H2O2-induced apoptosis via its effects on Pdcd4 and Pacs2***. RNA Biology 2014; 11(4): 339-50.

22- Zuzanna Kazior, Sarah J, Willis, Marcus Moberg, William Apro, Jose AL. Calbet, Hans-Christer Holmberg, and Eva Blomstrand ***Endurance Exercise Enhances the Effect of Strength Training on Muscle Fiber Size and Protein Expression of Akt and mTOR*** J pone 2016; 11(2).

23- Marzetti E, calvin R.Bernabei R, Leeuwenburgh C. ***Apoptosis in skeletal myocytes: a potential target for interventions against sarcopenia and physical frailty-a mini reviwe.*** Gerontology 2012; 58(2): 99-106.

24- Leonardo Maximo Cardoso a, Debora Sim oes de Almeida Colombari b, Jose Vanderlei Menani b, Deoclecio Alves Chianca Jrc, Eduardo Colombari. ***Cardiovascular responses produced by central injection of hydrogen peroxide in conscious rats***. Brain Res Bulletin 2006; 71: 37-44.

25- Ghavami S, Hashemi M, Kadkhoda K, Alavian SM, Bay GH, Los MJ. ***Apoptosis in liver diseases-detection and therapeutic applications.*** Med Sci Monitor 2005; 11(11): RA337-RA45.

26- Marzetti E, privitera G, Simili V, Wohlegemuth SE, et al. ***multiple pathways to the same end:mechanisms of myonuclear apoptosis in sarcopenia of aginig***. scientific world J 2010; 10: 340-9.

27- Zsolt Radak, Sasvari M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamot H, Goto S. ***Exercise Preconditioning against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Damage in Proteins of Rat Myocardium.*** Biochemistry and Biophysics 2000; 376(2): 248-251.

28- Anderson EJ, Lustig ME ,Boyle KE, Woodlief TL, Kane DA, Lin CT, et al. ***Mitochondrial H2O2 emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans***. J clin Inves 2009; 119(3): 573-81

29- 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***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

infarcted myocardium in a rat model. Mol Med Rep 2015; 12(2): 2374-82.

30- Liu N, Shi YF, Diao HY, Li YX, Cui Y, Song XJ, et al. ***MicroRNA-135a Regulates Apoptosis Induced by Hydrogen Peroxide in Rat Cardiomyoblast Cells***. Int J bio sci 2017; 13(1): 13-21.

31- Colussi C, Albertini M, Coppola S, Rovidati S, Galli F, Ghibelli L. ***H2O2-induced block of glycolysis as an active ADP-ribosylation reaction protecting cells from apoptosis.*** The FASEB J 2000; 14(14): 2266-76.

32- 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.*** Mol Med Rep 2015; 12(2): 2374-82.

33- 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.*** Mol Med Rep 2015; 12(2): 2374-82.

34- Zsolt Radak, Sasvari M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamot H, Goto S***. Exercise Preconditioning against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Damage in Proteins of Rat Myocardium.*** Biochemistry and Biophysics 2000; 376(2): 248-251.

35- janero DR, Hreniuk D, Sharif HM. ***Hydrogen peroxide induced oxidative stress to the mammalian heart muscle cell (cardiomyocyte): Lethal peroxidative membrane injury***. J cellular physio 1991; 149(3): 347-64.

36- Salakou S1, Kardamakis D, Tsamandas AC, Zolota V, Apostolakis E, Tzelepi V. ***Increased Bax/Bcl-2 ratio up-regulates caspase-3 and increases apoptosis in the thymus of patients with myasthenia gravis***. In Vivo 2007; 21(1): 123-32

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 4 | Jul 2018

Received: 30 May 2018
Accepted: 23 Jun 2018

Effects of continues exercise on BAX and BCL-2 heart proteins following by different dos of H2O2 consumption in rat male

Samad Safarzadeh Gargari[*1], Hassan Matin Homai[2], Mohammad Ali Azarbayjani[3]

Original Article

Introdution: The research has been indicated that reactive oxygen species induced the apoptosis of cardiomyocytes. However, this mechanism has been unclear. The aim of this study was to investigate the effects of concurrent training on some of the heart apoptosis variables
(BAX,BCL-2) following by the injection of different H2O2 dose in Wistar rat males.

Methods: 50 male rats were randomly assigned to 5 groups with 10 rats in which group. Groups included: group (1): control group (C), group (2, 3): injection of 1 and 2ml H2O2, group (4,5): exercise and injection of 1and 2 ml H2O2. Exercise groups have been run on treadmill for four days during 8 weeks at moderate intensity. 24 hr after the last exercise and in anesthetic state all rats have been knockouted to determine bax and bcl2 proteins ratio. For measuring the BAX and BCL-2 proteins were used by ELISA technic and total protein were determined by brad ford technic. Data were analyzed by SPSS 17, one ways ANOVA was used to analysis of data at the level of $p \leq 0/05$.

Results: The results have been indicated that after two month continues training no significant difference in BAX, BCL-2 proteins and BAX/BCL2 ratio in exercise and H2O2 groups in compared by control groups.

Conclusion: based on the result of this study if the 8-week continues training has been followed by H2O2 injection with both of one and two ml H2O2 concentration, it may not have induced apoptosis cardio myocyte in rats. And it may adjusted the synthesis and degradation myocardial

Keywords: Cardiac cell apoptosis , BAX protein, BCL-2 protein, H2O2, Continues exercise, Rat.

Citation: Safarzadeh Gargari S Homai M, Mousavi Z. **Effects of continues exercise on BAX and BCL-2 heart proteins following by different dos of H2O2 consumption in rat male.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(4): 363-73.

[1]Department. of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
[2]Department. of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
[3]Department. of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
***Corresponding author: Tel:** 09149913126, **email:**safarzadeh.gargari@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-05-14]