Research Paper

The effect of eight-week resistance training on BAX and BCL2 of hippocampus tissue in male rats

Majid Kashef, Mojtaba Salehpour, Fereshteh Shahidi, Mojtaba Sadegh Ghomi*

Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Science, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: Mojtabasadeghghomi@sru.ac.ir**

Citation: Kashef M, Salehpour M, Shahidi F, Sadegh Ghomi M. The effect of eight-week resistance training on BAX and BCL2 of hippocampus tissue in male rats. Daneshvar Medicine 2021; 29(4):11-21. doi: 10.22070/DANESHMED.2021.14577.1090

Abstract

Background and Objective: Nervous tissue apoptosis, especially of the hippocampus, has been identified as a potential contributor to neurological diseases such as Alzheimer's disease, and evidence suggests that exercise affects various aspects of nervous cell activity and may prevent the death of neurons cells. The aim of this study was to determine the effect of eight-week of resistance training on BAX and BCL2 in hippocampal tissue in male rats.

Materials and Methods: For this aim, 16 male rats were randomly divided into 2 groups of eight (resistance training and control) and resistance training group exercised for 8 weeks and 3 days per weeks with eight frequency and 2 minutes rest between them with resistance ladder with 1 meter length and 85 degree angle. Sandwich Elisa method was used to measure BCL2 and BAX concentrations and U Mann-Whitney and Wilcoxon tests were used to test the hypotheses.

Results: There was significant difference in BCL2 and BAX of hippocampus tissue in compared to control group, so that eight week resistance training causes significant increase in BCL2 level in resistance exercise group as compared to control group. Also eight week resistance training causes significant decrease in BAX level of resistance exercise group as compared to control group. Furthermore, eight week resistance training cause significant decrease in BAX/BCL2 ratio in resistance groups as compared to control group ($p<0.05$).

Conclusion: The results of this study showed eight-week resistance training causes significant increase in BCL2 and significant decrease in BAX and BAX/BCL2 ratio. Thus, it can cause decrease hippocampus tissue apoptosis in male rats.

Keywords: Resistance training, Hippocampus, BCL2, BAX

Received: 07 June 2021
Last revised: 22 Sep 2021
Accepted: 03 Oct 2021

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی بر BAX و BCL2 بافت هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی نر

نویسندگان: مجید کاشف، مجتبی صالح پور، فرشته شهیدی، مجتبی صادق قمی*

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی تهران، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: مجتبی صادق قمی **Email: Mojtabasadeghghomi@sru.ac.ir**

دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۷
آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۰/۰۶/۳۱
پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۱

چکیده

مقدمه و هدف: آپوپتوز بافت عصبی خصوصاً هیپوکمپ، به عنوان یک عامل احتمالی در بروز بیماری های عصبی مانند بیماری آلزایمر شناخته شده است. شواهد نشان می دهند که فعالیت ورزشی، جنبه های گوناگونی از فعالیت سلول های عصبی را تحت تأثیر قرار می دهد و ممکن است که از مرگ سلول های عصبی جلوگیری نماید. هدف از تحقیق حاضر تعیین تأثیر هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی بر BAX و BCL2 بافت هیپوکمپ در موش های بزرگ آزمایشگاهی نر بود.

مواد و روش ها: بدین منظور تعداد ١٦ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر به طور تصادفی در ٢ گروه هشت تایی (تمرین مقاومتی و کنترل) تقسیم شدند و گروه تمرین ورزشی مقاومتی برای هشت هفته و هر هفته سه روز با هشت تکرار و فواصل استراحتی دو دقیقه بین تکرارها با نردبان مقاومتی به طول یک متر و زاویه ٨٥ درجه به فعالیت ورزشی پرداختند. برای اندازه گیری غلظت‌های BCL2 و BAX از روش الایزای ساندویچی و برای آزمون فرضیه ها از آزمون یومن ویتنی و آزمون ویلکاکسون استفاده شد.

نتایج: تفاوت معنی داری در میزان پروتئین BCL2 و BAX هیپوکمپ در گروه تمرین مقاومتی در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت؛ به طوری که هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی دار BCL2 نسبت به گروه کنترل شد، علاوه بر این هشت هفته تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی دار BAX نسبت به گروه کنترل شد. بیشتر اینکه هشت هفته تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی دار نسبت BAX به BCL2 نسبت به گروه کنترل شد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، به دلیل اینکه هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی دار BCL2 و کاهش معنی دار BAX و نسبت BAX به BCL2 می شود می تواند باعث کاهش آپوپتوز سلول های بافت هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی نر شود.

واژه های کلیدی: تمرین ورزشی مقاومتی، هیپوکمپ، **BAX ،BCL2**

مقدمه

واژه آپوپتوز یا آپوپتوزیس[1] یک واژه یونانی به معنی ریزش برگ درختان پاییزی است. در سال ۱۹۷۲ که کر[2] و همکارانش برای نخستین بار تفاوت میان نکروز[3] و آپوپتوز را مشاهده کردند، گمان نمی کردند که پدیده اکتشافی آنها روزی سرلوحه مطالعات ضد سرطان قرار گیرد (۱). آپوپتوز، مرگ فیزیولوژیک سلول 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 (۲). آپوپتوز برای حفظ تعادل بافتی، هم در دوران جنینی و هم در دوران بلوغ لازم است و حتی مهم تر از آنها در بیماری های مختلف انسان مثل تجمع ناخواسته سلول ها (سرطان)، ناتوانی در حفظ سلول ها (بیماری خود ایمنی) و بیماری های دیگر مانند نارسایی قلب، سکته، ایدز، بیماری های عصبی مانند پارکینسون و آسیب کبدی نقش دارد (۳،٤). این فرآیند با قطعه قطعه شدن برگشت ناپذیر DNA[4] و تشکیل اجسام آپوپتوزی چسبیده به غشا اتفاق می افتد که نتیجه نهایی آن گسسته شدن پروتئین های حیاتی سلولی است (۵،٦). در این بین، آپوپتوز اغلب از طریق دو مسیر پیام رسانی کلاسیک داخل و خارج سلول رخ می دهد. مسیر خارجی با اتصال لیگاند های مهم مانند TNF-α[5] و Fas به گیرنده های القایی مرگ راه اندازی می شود؛ در حالی که مسیر داخلی به عنوان مهم ترین مسیر ایجاد آپوپتوز، با تغییراتی در نفوذ پذیری غشای خارجی میتوکندری و رهایش عوامل آپوپتوزی همراه است (۷-۵).

از میان مهم ترین عوامل آپوپتوزی مولکول BCL2[6] بسیار مورد توجه محققان قرار دارد. مولکول BCL2 به عنوان پرتوانکوژن در لنفومای فولیکولار سلول های B شناسایی شد. سپس این مولکول به عنوان هومولوگ پستانداری یکی از اعضای اصلی آپوپتوز معرفی شد. BCL2 یک پروتئین غشایی است که اساسا در غشای خارجی میتوکندری قرار دارد. ۱۹ عضو از خانواده BCL2 در پستانداران شناسایی شده است. این خانواده ٤ موتیف حفاظت شده BH1-BH2-BH3-BH4 دارد که با توجه به فعالیت و ساختار به سه دسته تقسیم می شوند: الف- اعضای ضد آپوپتوزی شامل BCL2 و BCL-XL[7] هستند. ب- اعضای پروآپوپتوزی BAX[8] و BAK[9] ج- شامل Bad ، Bin، Bik هستند (۸).

نسبت تعادل بین پروتئین های پیش آپوپتوزی و پروتئین های ضد آپوپتوزی یکی از فاکتور های مشخص کننده این است که آیا سلول زنده می ماند یا دچار آپوپتوز می شود (۱۱-۹). BCL2 با وزن مولکولی ۲۸ کیلو دالتون، یکی از معروف ترین پروتئین های مهارکننده آپوپتوز است که علاوه بر جلوگیری از آزاد سازی سیتوکروم c از میتوکندری، از طریق یکپارچه سازی غشای میتوکندری با خارج ساختن یون های هیدروژن، به Apaf-1[10] متصل می‌شود و فعال سازی کاسپاز ۹ را مهار می کند (۱۲،۱۳). با وجود این پروتئین BAX با وزن مولکولی ٢٤ کیلو دالتون می تواند عمل BCL2 را خنثی کند (١٤). به همین دلیل در بیشتر مطالعات جهت سنجش آپوپتوز، هر دوی این فاکتورها را اندازه گیری می کنند. بررسی ها نشان داده است که آپوپتوز نورونی یکی از علل شناخته شده نوروپاتی محیطی و مرکزی است. از میان مناطق مختلف مغزی، هیپوکمپ یکی از حساس ترین نواحی است که دستخوش تغییرات نوروفیزیولوژیکی، ساختاری و مولکولی خواهد شد (۱۵). شواهد نشان می دهند که فعالیت ورزشی جنبه های گوناگونی از فعالیت سلول های عصبی را تحت تاثیر قرار می دهد و ممکن است از مرگ سلول های عصبی جلوگیری نماید (١٦). نشان داده شده است که فعالیت ورزشی موجب بهبود عملکرد شناختی، حافظه و یادگیری و همچنین کاهش اختلالات شناختی ناشی از آسیب های مغزی می گردد (۱۷). اعتقاد بر این است که فعالیت ورزشی منظم باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب های استرس اکسیداتیو

1. Apoptosis
2. Kerr
3. Necrosis
4. DNA fragmentation
5. Tumor Necrosis Factor-Alfa
6. B-cell Lymphoma2
7. B-cell lymphoma extra large
8. Bcl2 Associated X protein
9. Bcl2 homologous antagonist Killer
10. 11.Apoptotic protease activating factor 1

و کاهش آپوپتوز می گردد (۱۸). فعالیت ورزشی همچنین باعث تنظیم افزایشی تولید نوروپپتید ها و نوتروفین ها مانند نوروتنسین[1] و عامل نوتروفینی مشتق از مغز[2] در هیپوکمپ موش های صحرایی می شود. این انتقال دهنده های عصبی در بقای سلول های عصبی، تمایز، اتصال و شکل پذیری سیناپسی درگیر هستند (۱۹). مکانیزم محافظت نورونی ناشی از تمرین ورزشی در ارتباط با مرگ نورون ها در ناحیه هیپوکمپ به طور دقیق مشخص نیست و نیاز به پژوهش های بیشتری دارد اما به نظر می رسد که فعالیت ورزشی مقاومتی در یک دوره طولانی می تواند از طریق افزایش آنتی اکسیدان ها، کاهش بیان TNF-α، تنظیم افزایشی مسیر IGF-1 و گیرنده های آن، تاثیر بر ژن P53 و P21، افزایش بیان ژن PRb[3] و BCL2، کاهش پروتئین BAX، کاهش تعامل سیتوکروم c و dATP[4]، کاهش اتصال Apaf-1 به پرو کاسپاز ۹، کاهش تشکیل آپوپتوزوم[5]، فعال سازی کاسپاز ۹ و متعاقب آن کاسپازهای اجرایی که مهم ترین آنها کاسپاز ۳ می باشد؛ موجب کاهش مرگ سلولی شود. حال این سوال مطرح است که آیا هشت هفته فعالیت ورزشی مقاومتی می تواند باعث افزایش پروتئین BCL2 و کاهش غلظت پروتئین BAX و همچنین نسبت BAX به BCL2 در بافت هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی نر شود؟ بنابراین هدف از مطالعه حاضر تعیین تاثیر هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی بر برخی از عوامل آپوپتوزی بافت هیپوکمپ در موش های بزرگ آزمایشگاهی نر بوده است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به لحاظ هدف توسعه ای، به لحاظ روش تجربی و به لحاظ شیوه اجرا میدانی و آزمایشگاهی و با مدل حیوانی بوده و در یک طرح دو گروهی با پس آزمون انجام شد. در این تحقیق سعی شد تا تمامی متغیر های تحقیق کنترل شوند. این متغیر ها شامل آب و غذای یکسان (پلت)، دما و رطوبت نگهداری یکسان (۳±۲۳ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۵±۵۵٪)، چرخه خواب و روشنایی یکسان (۱۲:۱۲، ۸ شب تا ۸ صبح)، جنسیت و وضعیت سلامتی یکسان (همگی نر و سالم)، زمان تمرین یکسان (بعد از ظهر ساعت ۱۷–۱۵) و نیز محل نگهداری یکسان (قفس های پلی کربناتی در حیوان خانه دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی) بودند. برای نیل به هدف پژوهش حاضر، تعداد ۱۶ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر با میانگین وزنی ۳۰/۹۵±۲۲۷/۶۱ گرم و میانگین سنی ۱±۷/۵ هفته خریداری شدند. بعد از خریداری موش ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه برای سازگاری با محیط قرار گرفتند و سپس به طور تصادفی در دو گروه مساوی ۸ تایی، شامل گروه های تمرین مقاومتی و کنترل تقسیم شدند. کلیه مراحل تمرین و اجرای تحقیق مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی تهران درباره تغذیه، مراقبت، بهداشت و تشریح موش های بزرگ آزمایشگاهی انجام گردید.

پروتکل ها برای گروه های تمرین مقاومتی شامل ۲ فاز بود. فاز اول، سازگاری یا آشنا سازی با تمرین و فاز دوم تمرین اصلی برای موش ها بود. موش های گروه تمرین مقاومتی برای آشنا شدن با محیط تمرین و نردبان بعد از یک هفته سازگاری با محیط نگهداری، در هفته دوم برای ٤ روز و به مدت ٤٥ دقیقه بدون وزنه، بالا رفتن از نردبان را انجام دادند. از هفته سوم به بعد پروتکل اصلی تمرین مقاومتی که شامل بالا رفتن از نردبانی به طول ۱ متر و شیب ۸۵ درجه به مدت ۸ هفته و هر هفته ۳ روز با ۸ تکرار و فاصله استراحتی ۲ دقیقه بین تکرار ها بود؛ انجام شد. برای اجرای پروتکل تمرینی، وزنه در داخل یک کیسه پارچه ای که با چسب لکوپلاست به دو سوم انتهای پروگزیمال دم موش بسته شده بود، قرار می گرفت و در صورت نیاز از لمس آن برای تحریک موش استفاده می شد. در روز اول، در اولین تکرار هر موش وزنه ای معادل ۵۰ درصد وزن خود را حمل می کرد؛ در تکرار دوم ۷۵ درصد وزن خود، در تکرار سوم ۹۰ درصد وزن خود، در تکرار چهارم ۱۰۰ درصد وزن خود و از تکرار پنجم تا هشتم در صورت موفقیت در مراحل قبل، در هر تکرار ۳۵ گرم به وزنه قبلی اضافه می شد. اگر یکی از موش ها قبل

1.Neurotensin
2.Brain-drived Neurotrophic Factor
3.Retinoblastoma protein
4.Deoxyadenosine triphosphate
5.Apoptosome

از تکرار هشتم به واماندگی می رسید، ۷۰ درصد آخرین وزنه را تا تکرار هشتم ادامه می داد. آخرین وزنه حمل شده در روز قبل به عنوان حداکثر وزنه برای پروتکل جلسه بعدی استفاده می شد؛ یعنی موش در تکرار اول با ۵۰ درصد حداکثر وزنه روز قبل، شروع به تمرین می کرد و در تکرار های دوم ، سوم ، چهارم به ترتیب با ۷۵ ،۹۰،۱۰۰ درصد حداکثر وزنه روز قبل تمرین را ادامه می‌داد و در صورت موفقیت برای تکرار های پنجم تا هشتم هر تکرار ۳۵ گرم به وزنه اضافه می کرد (۲۰). موش‌های گروه کنترل بدون هیچ تمرین ۸ هفته را پشت سر گذاشتند. در طول این مدت موش های گروه کنترل استرس دست تمرین دهنده را برای یکسان شدن با دیگر گروه ها دریافت می کردند. برای اثبات کفایت تمرین و تاثیر آن، متغیر تثبیت کننده حداکثر وزنه بالا برده شده توسط موش برای گروه تمرین مقاومتی اندازه گیری شد. ۱۲ ساعت قبل از تشریح همگی آن ها در ناشتایی کامل قرار گرفتند و فقط آب برای آنها گذاشته شد. دلیل ناشتا بودن موش ها این بود که هیپوگلیسمی و هایپرگلیسمی احتمالا بر BAX و BCL2 اثر می گذارند و می توانند باعث افزایش یا کاهش شاخص های تحقیق شوند. ٤٨ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، برای از بین رفتن پاسخ فیزیولوژیکی آخرین جلسه تمرین موش ها نمونه گیری شدند. به این صورت که ابتدا هر حیوان با استفاده از گاز CO در محفظه مخصوص بیهوشی، بیهوش و سپس جمجمه آنها شکافته و بافت مغز خارج شده و در ادامه بافت هیپوکمپ به صورت دوطرفه و از ناحیه سوپریور با کنار زدن قشر با احتیاط خارج گردید. قبل از خارج کردن بافت مغز از زنده بودن موش ها اطمینان حاصل گردید. دلیل استفاده از گاز کربن منو اکسید به جای روش های تزریقی مانند کتامین و گزایلازین، تهاجمی نبودن روش بیهوشی و همچنین تاثیر احتمالی کتامین و گزایلازین بر شاخص های مورد نظر تحقیق بود. هیپوکمپ های جدا شده بلافاصله وارد کرایوتیوب می شدند و سریعا داخل تانک ازت قرار می گرفتند. در این تحقیق سعی شد که تمامی موش ها با حداقل درد و آزار بیهوش و فدا شوند. بافت های منجمد شده برای سنجش های عوامل مورد نظر به فریزر با دمای ۷۵- درجه سانتی گراد منتقل شدند.

برای اندازه گیری غلظت BCL2 و BAX بافت هیپوکمپ، از روش سنجش ایمنی آنزیم دار با تکنیک الایزای ساندویچی و کیت های تجاری شرکت کازابایو[1] چین BCL2: CODE:CSB-E08854r و BAX:CODE:CSB-EL002573RA با حساسیت های ۱۰ نانو گرم بر میلی لیتر استفاده شد. در ابتدا سنجش، نمونه‌ها با استفاده از بافر مخصوص PBS و پروتئاز اینهیبیتور کوبیده و لیز شدند. قبل از اندازه گیری کیت های الایزا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای طبیعی اتاق قرار گرفتند. پس از آن، اندازه گیری برای عوامل BCL2 و BAX به طور همزمان با آماده سازی استاندارد های الایزا و نمونه ها در داخل میکرو پلیت ها آغاز شد. آماده سازی استاندارد ها به این صورت بود که ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر از استاندارد (Standard) با ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول رقیق کننده (Standard diluent)، رقیق می شد و میزان ۱۰۰میکرو لیتر از محلول حاصل، با ۱۰۰ میکرو لیتر محلول رقیق کننده، رقیق می شد. این رقیق سازی در مجموع ۵ بار انجام می شد و سپس استاندارد نهایی به اندازه ۵۰ میکرو لیتر در میکروپلیت قرار می گرفت. نمونه های اصلی به میزان ٤٠ میکرو لیتر به همراه ۱۰ میکرو لیتر(BCL2-Ab) آنتی بادی BCL2 (مجموعا ۵۰ میکرو لیتر) برای میکروپلیت BCL2 و ٤٠ میکرو لیتر به همراه ۱۰ میکرو لیتر(BAX-Ab) آنتی بادی BAX (مجموعا ۵۰ میکرو لیتر) در میکرو پلیت BAX قرار می گرفت. سپس ۵۰ میکرو لیتر از Streptavidin-HRP به همه میکرو پلیت ها اضافه می شد و برای انجام واکنش به مدت ٦٠ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می گرفت. برای جلوگیری از تبخیر محلول از برچسب مخصوص میکرو پلیت استفاده شد. پس از گذشت ٦٠ دقیقه برچسب ها کنده شد و میکرو پلیت ها با استفاده از Wash buffer solution ، ۵ مرتبه شسته شدند. پس از شست و شوی، میکرو پلیت ها کاملا خشک شدند. پس از اطمینان کامل از خشک بودن میکرو پلیت ها، ۵۰ میکرو لیتر Chromogen solution A و ۵۰ میکرو لیتر Chromogen solution B در میکرو پلیت ها ریخته شد و برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

1. Cusabio

برای توسعه رنگی در انکوباتور قرار گرفت؛ در این مرحله نیز از برچسب مخصوص میکرو پلیت استفاده شد. این مرحله برای جلوگیری از تاثیر نور بر میکرو پلیت ها، در تاریکی انجام شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه به میزان ۵۰ میکرو لیتر از Stop solution برای توقف واکنش ها به میکرو پلیت ها اضافه شد؛ سپس برای مشخص شدن مقدار جذب نور (OD) میکرو پلیت ها در دستگاه الایزا ریدر قرار گرفتند و مقدار آنها مشخص شد. نهایتاً برای محاسبه غلظت عوامل از نمودار استاندارد هریک از عوامل استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

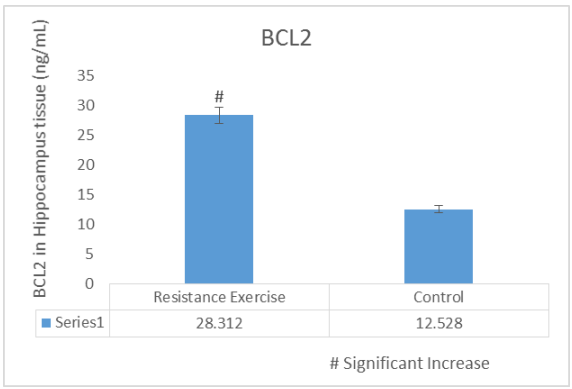
برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS[1] ویرایش ۲۲ و برای رسم نمودار ها از نرم افزار اکسل استفاده شد. برای مشخص شدن توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و برای تعیین تأثیر تمرین مقاومتی از آزمون یو من ویتنی و برای تعیین تفاوت درون گروهی متغیر یک تکرار بیشینه از آزمون ویلکاکسون در سطح P<۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

جدول ۱، میانگین و انحراف معیار ویژگی های عمومی موش ها شامل قد و وزن را به تفکیک در گروه های تمرین مقاومتی و کنترل نشان می دهد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که بعد از هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی، میزان پروتئین آنتی آپوپتوزی BCL2 بافت هیپوکمپ در گروه تمرین ورزشی مقاومتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (P<۰/۰۵)(شکل ۱). همچنین میزان پروتئین پرو آپوپتوزی BAX بافت هیپوکمپ در گروه تمرین ورزشی مقاومتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت (P<۰/۰۵)(شکل ۲). علاوه بر این نسبت BAX به BCL2 بافت هیپوکمپ در گروه تمرین ورزشی مقاومتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت (P<۰/۰۵)(شکل ۳). از سویی دیگر میزان وزنه جابه جا شده بیشینه توسط رت‌ها پس از هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی به طور معنی داری افزایش یافت (از ۵۰ گرم به ٤٦٣/٧٥ گرم) (P<۰/۰۵)(شکل ٤).

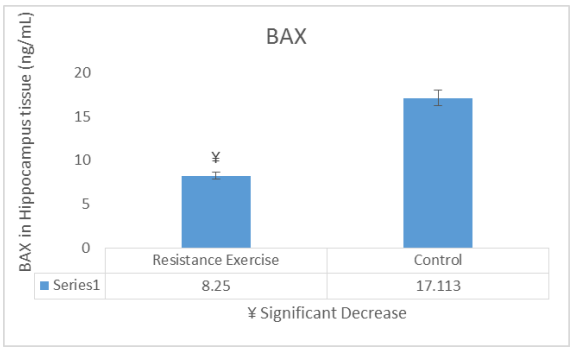
جدول ۱. میانگین و انحراف معیار وزن و قد رت ها

Control M±SD	Resistance M±SD	Variables
236.38±27.20	209.38±32.29	Weight(Gram)
17.88±1.2	18.25±1.28	Length(cm)



شکل ۱. تفاوت معنی دار گروه های تمرین مقاومتی و کنترل در شاخص **BCL2** هیپوکمپ

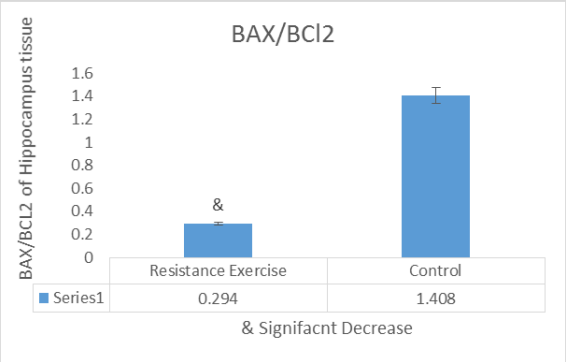
نشان دهنده افزایش معنی دار **BCL2** در گروه تمرین مقاومتی نسبت به کنترل است(**P**□۰/۰۵)



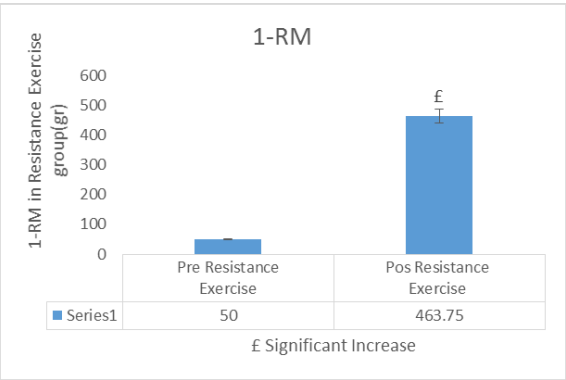
شکل ۲. تفاوت معنی دار گروه های تمرین مقاومتی و کنترل در شاخص **BAX** هیپوکمپ

¥ نشان دهنده کاهش معنی دار **BAX** در گروه تمرین مقاومتی نسبت به کنترل است(P<۰/۰۵)

1. Statistical Package for the Social Science



شکل ۳. تفاوت معنی دار گروه های تمرین مقاومتی و کنترل در BAX/BCL2 هیپوکمپ
& نشان دهنده کاهش معنی دار نسبت BAX به BCL2 در گروه تمرین مقاومتی نسبت به کنترل است(P<۰/۰۵)



شکل ۴. تفاوت معنی دار یک تکرار بیشینه برای گروه تمرین ورزشی مقاومتی
£ نشان دهنده افزایش معنی دار یک تکرار بیشینه پس از هشت هفته تمرین مقاومتی در مقایسه با قبل از شروع تمرین مقاومتی است(P<۰/۰۵)

بحث

هدف از تحقیق انجام شده ، تعیین تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر BAX و BCL2 بافت هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی نر بود که یافته های حاصل از تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی داری مقادیر BCL2 و کاهش معنی دار مقادیر BAX و نسبت BAX به BCL2 نسبت به گروه کنترل می شود.
قبل از دریافت یک محرک مرگ، پروتئین آنتی آپوپتوزی BCL2 به طور داخل سلولی با BAX هترودایمر می شود. در صورت بیان اضافه BCL2 این مولکول ها تشکیل هموداِیمر می دهند و به طور همزمان آپوپتوز ناشی از تحریک را مهار می کنند. به طور معکوس بیان اضافی BAX باعث هموداِیمر شدن خودش و در نتیجه افزایش حساسیت به محرک های آپوپتوز می گردد (۲۱). آپوپتوز مغز بیانگر شرایط پاتوفیزیولوژیک متفاوتی است که می تواند باعث پیری شود و به عنوان شاخص آسیب مغزی به کار می رود (۲۲)؛ لذا بر هم خوردن تعادل بین پروتئین های BAX و BCL2 و تمایل به سمت افزایش BCL2 ناشی از تمرین مقاومتی می تواند اثرات محافظتی برای مغز همراه داشته باشد. در این راستا کانگ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که پس از ۱۶ هفته فعالیت ورزشی مقادیر BAX در بافت مغز موش های کوچک مبتلا به آلزایمر کاهش و مقادیر BCL2 به طور معنی داری افزایش می‌یابد (۲۳). علاوه بر این مختاری زائر و همکاران (۲۰۱٤) افزایش بیان BCL2 و کاهش بیان BAX را در بافت هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی وابسته به مورفین پس از ۱۰ روز فعالیت اختیاری چرخ گردان و یا اجباری با شدت کم مشاهده نمودند (۲٤). همچنین چانگ و همکاران (۲۰۱٤) سرکوب BAX و کاهش نسبت BAX به BCL2 و افزایش مقادیر BCL2 در بافت عصبی موش‌های مبتلا به شیزوفرنی بعد از تمرین ورزشی نوارگردان بدون شیب را گزارش نمودند (۲۵).
یکی از مکانیزم های احتمالی در مورد قابلیت حفاظت نورونی تمرین ورزشی، می توان به افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و مسدود کردن تشکیل رادیکالهای آزاد (ROS[1]) اشاره کرد. مغز دارای ویژگی های آنتی اکسیدانی پائین است و بیشترین میزان اسید چرب و کاتکولامین ها را دارد که به راحتی اکسید می شوند و مغز را در معرض استرس اکسیداتیو بیشتری قرار می دهند (۲٦). فعالیت ورزشی می تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش التهاب و تنظیم مثبت دفاع آنتی اکسیدان (۲۳،۲۷) باعث افزایش پروتئین آنتی آپوپتوزی BCL2 و کاهش پروتئین آپوپتوزی BAX در بافت هیپوکمپ گردد. البته در این تحقیق میزان استرس اکسیداتیو و دفاع آنتی اکسیدانی اندازه گیری نشده است که می تواند از محدودیت های تحقیق حاضر باشد، اما با این وجود نتایج تحقیقاتی که علاوه بر شاخص های آپوپتوزی، شاخص های استرس اکسیداتیو را اندازه گیری کردند؛ مهر تاییدی بر این مطلب است. در این خصوص ۱۵ هفته مکمل دهی جنستئین[2] باعث افزایش معنی دار BCL2 و کاهش معنی دار BAX در هیپوکمپ موش های

1. Reactive oxygen space
2.Genistein

اوارکتومی شده شد (۲۸). علاوه بر این مکمل دهی مزمن آستاگزانتین[1] باعث کاهش MDA[2]، کربونیلاسیون ، افزایش فعالیت آنتی اکسیدان ها، کاهش بیان BAX و افزایش بیان BCL2 در بافت مغز موش های پیر گردید (۲۹). آکسو و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که در نتیجه فعالیت بدنی، سطح آنزیم آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز[3] در نقاط مختلف مغز افزایش می یابد و موجب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی می شود (۳۰). دیگر عوامل سلولی مولکولی مهم در فرآیند کاهش آپوپتوز بافت عصبی ناشی از تمرین مقاومتی به روشنی واضح نیست؛ اما به نظر می رسد که احتمالا یکی از این عوامل به ویژه در تمرین مقاومتی، پیام رسانی AKT یا همان پروتئین کیناز B است که عمل کننده اصلی در مسیر پیام رسانی فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز[4] است که در بسیاری از فرآیند های حیاتی سلول از جمله متابولیسم، رشد، تکثیر و بقای سلول های نقش دارد. مشخص شده است که پروتئین کیناز B از طریق فسفوریلاسیون BCL2 و غیر فعال سازی BAX و یا از طریق سرکوب مستقیم کاسپاز های اجرایی باعث کاهش آپوپتوز می شود (۳۱). همچنین AKT مقاومت به انسولین را کاهش داده و باعث بهبود شکل پذیری سیناپسی می شود (۳۲).

یکی دیگر از سازوکارهای احتمالی در کاهش آپوتوز بافت هیپوکمپ می تواند تاثیر تمرین ورزشی مقاومتی بر سایتوکاین های پیش التهابی و ضد التهابی باشد. تمرین مقاومتی در دراز مدت می تواند از طریق کاهش سایتوکاین‌های پیش التهابی خصوصاً TNF-α باعث کاهش التهاب سیستمیک و افزایش کانژوگاسیون عامل مهارگر کاپا B (I-kB) با عامل هسته ای کاپا B (NF-kB) و در نتیجه کاهش جدا شدن NF-kB از I-kB و کاهش ورود آن به هسته و آغاز رونویسی عوامل آپوپتوزی گردد. همچنین فعالیت ورزشی می تواند ازطریق تنظیم افزایشی پروتئین شوک گرمایی باعث کاهش آپوپتوز شود (۷).

یکی دیگر از دلایل احتمالی در خصوص کاهش آپوپتوز بافت هیپوکمپ را می توان به افزایش نوروتروفین های مشتق از مغز مانند BDNF[5] و NGF[6] نسبت داد که در پاسخ به یک دوره فعالیت ورزشی مقاومتی افزایش می یابند. این نوروتروفین ها اثرات حفاظتی و حمایتی بر نورونها در شکل پذیری سیناپسی و تمایز و رشد وبقای سلول های عصبی دارند و علاوه بر این BDNF به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل می کند (۳۳) و از طریق افزایش دفاع آنتی اکسیدانی باعث کاهش فشار اکسیداتیو و نهایتا کاهش پروتئین های آپوپتوزی و کاهش آپوپتوز می گردد.

نتیجه گیری

در مجموع یافته های این پژوهش نشان داد که یک دوره تمرین مقاومتی منظم می تواند باعث کاهش آپوپتوز سلول‌های بافت هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی نر شود که احتمالا می تواند اثرات حفاظتی و نروپروتکتیو برای بافت مغز و پیشگیری از پیری زودرس مغز داشته باشد. با این حال انجام تحقیقات بیشتری در این موضوع ضرورت دارد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بر اساس اصول اخلاقی کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری با کد IR.SSRI.REC.1397.278 و کد ردیابی ٤٥٦١٤ انجام گردیده است . با نهایت تقدیر و تشکر از کلیه عزیزانی که با مهربانی و همراهی ما را در اجرای این مطالعه یاری کردند. حامی یا حامیان مالی در این تحقیق وجود نداشته است.

تعارض منافع

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

1. Astaxanthin
2. Malondialdehyde
3. Superoxide dismutaze
4. Phosphatidylinositol 3-kinase
5. Brain derived neurotrophic factor
6. Nerve growth factor

منابع

1. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. British Journal of Cancer 1972;26(4):239.
2. von Harsdorf Rd, Li P-F, Dietz R. Signaling pathways in reactive oxygen species–induced cardiomyocyte apoptosis. Circulation 1999;99(22):2934-41.
3. Fischer U, Schulze-Osthoff K. New approaches and therapeutics targeting apoptosis in disease. Pharmacological Reviews 2005;57(2):187-215.
4. Ricci MS, Zong W-X. Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways. The Oncologist 2006;11(4):342-57.
5. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic Pathology 2007;35(4):495-516.
6. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. Aging (Albany NY) 2012;4(5):330.
7. Kwak H-B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. Journal of Exercise Rehabilitation 2013;9(2):212.
8. Dlamini Z, Mbita Z, Zungu M. Genealogy, expression, and molecular mechanisms in apoptosis. Pharmacology & Therapeutics 2004;101(1):1-15.
9. Upadhyay D, Panduri V, Ghio A, Kamp DW. Particulate matter induces alveolar epithelial cell DNA damage and apoptosis: role of free radicals and the mitochondria. American Journal of Respiratory Cell and molecular Biology 2003;29(2):180-7.
10. Kim S-E, Ko I-G, Kim B-K, Shin M-S, Cho S, Kim C-J, et al. Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus. Experimental Gerontology 2010;45(5):357-65.
11. Skommer J, Wlodkowic D, Deptala A. Larger than life: mitochondria and the Bcl-2 family. Leukemia Research 2007;31(3):277-86.
12. Marzetti E, Privitera G, Simili V, Wohlgemuth SE, Aulisa L, Pahor M,et al. Multiple pathways to the same end: mechanisms of myonuclear apoptosis in sarcopenia of aging. The Scientific World Journal 2010;10:340-9.
13. Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2008;9(1):47.
14. Yang Y, Jemiolo B, Trappe S. Proteolytic mRNA expression in response to acute resistance exercise in human single skeletal muscle fibers. Journal of Applied Physiology 2006;101(5):1442-50.
15. Orlovsky M, Spiga F, 15. Lebed Y, Skibo G, Lightman S. Early molecular events in the hippocampus of rats with streptozotocin-induced diabetes. Neurophysiology 2007;39(6):435-8.
16. Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. Neuroscience 1999;89(4):1229-39.
17. Kim D-H, Ko I-G, Kim B-K, Kim T-W, Kim S-E, Shin M-S, et al. Treadmill exercise inhibits traumatic

brain injury-induced hippocampal apoptosis. Physiology & Behavior 2010;101(5):660-5.

18. Mazzola PN, Terra M, Rosa AP, Mescka CP, Moraes TB, Piccoli B, et al. Regular exercise prevents oxidative stress in the brain of hyperphenylalaninemic rats. Metabolic Brain Disease 2011;26(4):291.

19. Kim B-K, Shin M-S, Kim C-J, Baek S-B, Ko Y-C, Kim Y-P. Treadmill exercise improves short-term memory by enhancing neurogenesis in amyloid beta-induced Alzheimer disease rats. Journal of Exercise Rehabilitation 2014;10(1):2.

20. Lee S, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. Journal of Applied Physiology 2004;96(3):1097-104.

21. Shacka J, Roth K. Bcl-2 family and the central nervous system: from rheostat to real complex. Nature Publishing Group 2006.

22. Zhang C, Bazan NG. Lipid-mediated cell signaling protects against injury and neurodegeneration. The Journal of Nutrition 2010;140(4):858-63.

23. Um HS, Kang EB, Leem YH, Cho IH, Yang CH, Chae KR, et al. Exercise training acts as a therapeutic strategy for reduction of the pathogenic phenotypes for Alzheimer's disease in an NSE/APPsw-transgenic model. International Journal of Molecular Medicine 2008;22(4):529-39.

24. Mokhtari-24. Zaer A, Ghodrati-Jaldbakhan S, Vafaei AA, Miladi-Gorji H, Akhavan MM, Bandegi AR, et al. Effects of voluntary and treadmill exercise on spontaneous withdrawal signs, cognitive deficits and alterations in apoptosis-associated proteins in morphine-dependent rats. Behavioural Brain Research 2014;271:160-70.

25. Chung JW, Seo J-H, Baek S-B, Kim C-J, Kim T-W. Treadmill exercise inhibits hippocampal apoptosis through enhancing N-methyl-D-aspartate receptor expression in the MK-801-induced schizophrenic mice. Journal of Exercise Rehabilitation 2014;10(4):218.

26. Hong J-H, Kim M-J, Park M-R, Kwag O-G, Lee I-S, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clinica Chimica Acta 2004.

27. Um HS, Kang EB, Cho IH, Kim CH, Cho JS, Hwang DY. The combination of exercise training and α-lipoic acid treatment has therapeutic effects on the pathogenic phenotypes of Alzheimer's disease in NSE/APPsw-transgenic mice. International Journal of Molecular Medicine 2010;25(3):337-46.

28. Peng Y, Jiang B, Wu H, Dai R, Tan L. Effects of genistein on neuronal apoptosis, and expression of Bcl-2 and Bax proteins in the hippocampus of ovariectomized rats. Neural Regeneration Research 2012.7(36).

29. Wu W, Wang X, Xiang Q, Meng X, Peng Y, Du N, et al. Astaxanthin alleviates brain aging in rats by attenuating oxidative stress and increasing BDNF levels. Food & Function 2014;5(1):158-66.

30. Aksu I, Topcu A, Camsari UM, Acikgoz O. Effect of acute and chronic exercise on oxidant–antioxidant equilibrium in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. Neuroscience Letters 2009;452(3):281-5.

31. Kim DY, Jung SY, Kim CJ, Sung YH, Kim JD. Treadmill exercise

ameliorates apoptotic cell death in the retinas of diabetic rats. Molecular Medicine Reports 2013;7(6):1745-50.

32. Aguiar Jr AS, Castro AA, Moreira EL, Glaser V, Santos AR, Tasca CI, et al. Short bouts of mild-intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging rats: involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling. Mechanisms of Ageing and Development 2011;132(11-12):560-7.

33. Tsai C-Y, Chan JY, Hsu K-s, Chang AY, Chan SH. Brain-derived neurotrophic factor ameliorates brain stem cardiovascular dysregulation during experimental temporal lobe status epilepticus. PLoS One 2012;7(3):e33527.