مقاله پژوهشی

اثر سه ماه تمرین هوازی بر بیان ژن‌های AIF و کاسپاز-۹ عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر

ندا آبادی، جبار بشیری*

واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۲۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی نقش مهمی در بیماری‌های مرتبط با تخریب عملکرد بافتی مانند آتروفی عضلانی بازی می‌کند. دراین‌بین، شواهد حاکی از آن است که تمرینات ورزشی ممکن است تعدادی از مسیرهای پیام‌رسانی و آنزیم‌های مربوط به آپوپتوز را در عضله‌ی اسکلتی تحت تأثیر قرار دهد؛ بنابراین، مطالعه حاضر باهدف تعیین اثر سه ماه تمرین هوازی بر بیان ژن‌های AIF و کاسپاز ۹ عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر انجام گردید.

مواد و روش‌ها: این مطالعه در قالب یک طرح تجربی دوگروهی انجام شد. ۱۶ سر موش صحرایی نر سه‌ماهه به شکل تصادفی در دو گروه همگن تمرین (۸ سر) و کنترل (۸ سر) جایگزین شدند. آزمودنی‌های گروه تمرین به مدت سه ماه در برنامه‌ی تمرین هوازی (شدت ۸۰-۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) شرکت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، عضله‌ی نعلی آزمودنی‌ها استخراج و ژن‌های AIF و کاسپاز ۹ با استفاده از روش Real Time-PCR بررسی گردید. داده‌های حاصله با استفاده از آزمون t مستقل، در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تجزیه‌وتحلیل شدند.

نتایج: بیان ژن AIF عضله نعلی در گروه تمرین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (۱۳۷/۶۰٪، P=۰/۰۱). همچنین، بیان ژن کاسپاز ۹ عضله نعلی گروه تمرین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (۴۸/۲۲٪، P=۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که سه ماه تمرین هوازی در افزایش پروتئین‌های کلیدی در مسیر میتوکندریایی آپوپتوز عضله نعلی تأثیر قابل‌توجهی دارد. بااین‌حال، اظهارنظر قطعی در مورد نحوه تأثیرپذیری شاخص‌های مربوط به آپوپتوز و آتروفی عضله اسکلتی از تمرینات ورزشی، منوط به انجام مطالعات بیشتر است.

کلمات کلیدی: تمرین هوازی، عضله نعلی، ژن AIF، ژن کاسپاز ۹

مقدمه

آپوپتوز یا مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده یک فرآیند ژنتیکی است که بخش تفکیک‌ناپذیر از رشد، توسعه و هومئوستاز موجود زنده بوده که برای حذف سلول‌های زائد با روشی هدفمند به کار می‌رود (۱-۴). این فرآیند با قطعه‌قطعه شدن برگشت‌ناپذیر DNA و تشکیل اجسام آپوپتوتیکی چسبیده به غشاء اتفاق می‌افتد که نتیجه‌ی نهایی آن گسسته شدن پروتئین‌های حیاتی سلولی است (۵، ۶). بااین‌حال اختلال در تنظیم آپوپتوز شرایطی را به وجود می‌آورد که می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلف عضله‌ی اسکلتی مانند دیستروفی‌های عضلانی، تخریب عضله، سارکوپنیا و سالخوردگی شود (۷). دراین‌بین، آپوپتوز اغلب از طریق دو مسیر کلاسیک داخل و خارج سلولی رخ می‌دهد. مسیر خارجی بااتصال لیگاندهای مهم مانند TNFα و Fas به گیرنده‌های غشایی القاکننده‌ی مرگ راه‌اندازی می‌شود. درحالی‌که مسیر داخلی به‌عنوان مهم‌ترین مسیر ایجاد آپوپتوز، با تغییراتی در نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری و رهایش عوامل آپوپتوزی همراه است (۵، ۶ و ۸). دراین‌بین، افزایش بیان و جابه‌جایی پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی به‌طرف میتوکندری، با کاهش پایداری غشای بیرونی میتوکندری همراه بوده که می‌تواند منتج به رهایش مولکول‌های پروآپوپتوتیک مانند عامل القاء کننده آپوپتوز (AIF) و سیتوکروم c از فضای بین دو غشای میتوکندری به داخل سیتوپلاسم شود. دراین‌بین، عامل القاکننده آپوپتوز یا AIF در حالت طبیعی نقش ضد اکسایشی در داخل میتوکندری به عهده دارد. بااین‌حال، این نکته اشاره شده است

*نویسنده مسئول: جبار بشیری، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
Email: bashiri.jabbar@gmail.com

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]

که AIF آزاد شده از میتوکندری در طی روند آپوپتوز، سبب آسیب به DNA هسته‌ای در مسیری مستقل از کاسپاز می‌شود (۵، ۸ و ۹). رهایش عوامل آپوپتوزی از میتوکندری به سیتوزول، موجب فعال‌سازی پروکاسپاز ۹ و سپس کاسپاز ۹ به‌عنوان کاسپاز آغازگر آپوپتوز در مسیر میتوکندریایی می‌شود. این روند نهایتاً موجب فعال‌سازی کاسپاز ۳ به‌عنوان کاسپاز اجرایی و فصل مشترک همه مسیرهای آپوپتوزی می‌گردد. کاسپازها پس از فعال شدن، بسیاری از پروتئین‌های حیاتی سلولی را هیدرولیز و تجزیه می‌کنند و باعث ورود سلول به مرحله غیرقابل‌برگشت مرگ سلولی می‌شوند (۶، ۹-۱۱)؛ بنابراین پژوهشگران همواره به دنبال اتخاذ راهکارهای مناسب برای پیشگیری از آپوپتوز و بیماری‌های مختلف عضلانی مرتبط با آن هستند. در دهه‌ی اخیر، تأثیر فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی بر آپوپتوز مورد علاقه‌ی محققان حوزه‌ی ورزش قرار گرفته است (۱۲). در این زمینه، تعدادی از محققان عنوان کردند که یک جلسه فعالیت ورزشی شدید تا ۴۸ ساعت می‌تواند موجب تسریع در فرآیند آپوپتوز شود (۹، ۱۲). این در حالی است که برخلاف فعالیت ورزشی، انجام تمرینات ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود (۲، ۷ و ۱۳). در این راستا وینشتین و همکاران اشاره داشتند که ۱۰ هفته تمرین روی چرخ گردان موجب کاهش بیان پروتئین AIF و نسبت Bax/Bcl-2 در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تمرین کرده در مقایسه با موش‌های صحرایی تمرین نکرده شد (۱۴). همچنین مک‌میلان و همکاران گزارش کردند که شش هفته تمرین استقامتی موجب کاهش بیان پروتئین AIF، رهایش سیتوکروم c و قطعه‌قطعه شدن DNA در عضله نعلی موش‌های صحرایی تمرین کرده شد (۱۳). در رابطه با کاسپاز ۹ نیز هوانگ و همکاران عنوان کردند که ۱۲ هفته تمرین هوازی موجب کاهش معنی‌دار بیان کاسپاز-۹ در موش‌های تمرین کرده شد (۱۵). بااین‌حال و برخلاف نتایج مطالعات مذکور، سیو و همکاران نشان دادند که تفاوت معنی‌داری بین بیان پروتئین AIF و کاسپاز ۹ هردوی عضله نعلی و قلبی گروه‌های تمرین کرده و تمرین نکرده متعاقب هشت هفته تمرین هوازی روی نوارگردان وجود نداشت (۱۶). لیو و همکاران نیز نشان دادند که ۹ هفته تمرین استقامتی موجب افزایش قابل‌توجه آپوپتوز در عضله‌ی اسکلتی موش‌های صحرایی می‌شود (۱۷). به‌هرحال، با توجه به اهمیت تمرینات هوازی و فشارهای مکانیکی و متابولیکی نسبتاً شدید و طولانی‌مدت حین این تمرینات و نقش عضلات اسکلتی در سلامتی و موفقیت ورزشکاران، این موضوع یکی از چالش‌های جدی است که می‌تواند ذهن پژوهشگران ورزشی را به خود جلب کند. بااین‌وجود، با توجه به اینکه تفاوت شدت و مدت تمرینات هوازی مورد استفاده در مطالعات مختلف باعث به دست آمدن نتایج متناقضی شده است و تاکنون مطالعه جامعی به‌ویژه در داخل کشور درزمینه‌ی تأثیر تمرینات هوازی با شدت بالاتر از متوسط بر آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی و تغییرات احتمالی مولکولی و پروتئین‌های درگیر در آپوپتوز انجام نشده و اغلب مطالعات برخی جنبه‌های مورفولوژیکی آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی در طی فعالیت ورزشی حاد را مورد آزمایش قرار داده‌اند، انتظار می‌رود با انجام تحقیق حاضر بتوان ضمن پاسخ به برخی ابهامات موجود و تعیین تأثیر تمرینات ورزشی بر آپوپتوز عضله-ی اسکلتی، پیشنهادهای کاربردی متناسبی در راستای نحوه‌ی انجام تمرینات و نیز پیش‌بینی پیامدهای احتمالی ارائه داد.

مواد و روش‌ها

برای مطالعه‌ی حاضر، ۱۶ موش صحرایی نر دوماهه‌ی ویستار ۱۴۸۴۸ خریداری شد. جهت جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیکی، نمونه‌ها به مدت دو هفته تحت شرایط جدید نگهداری شدند. لازم به ذکر است که دما (۲±۲۲ سانتی‌گراد)، رطوبت محیط (۵±۵۰ درصد) و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته کنترل شد. آزمودنی‌ها به‌صورت آزادانه از غذای استاندارد و آب در طول دوره‌ی پژوهش استفاده کردند. لازم به ذکر است که نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مطابق باراهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام شده است. همچنین تمامی اعمال انجام شده روی حیوانات، مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مستخرج از دستورالعمل هلسینکی بود.

در ابتدا نمونه‌ها به مدت ۱۴ روز تحت برنامه‌ی آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی نوارگردان قرار گرفتند. در طی این دوره، شیب نوارگردان صفر درصد، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۰-۵ دقیقه در روز بود. در پایان این دوره، موش‌ها پس از مطابقت وزنی به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل و تمرین جایگزین شدند. گروه تمرین برای ۵ روز در هفته (یکشنبه، دوشنبه، سه‌شنبه، پنج‌شنبه و جمعه) و به مدت ۱۲

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]

هفته در برنامه‌ی تمرین هوازی روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی شرکت کرد. شدت نسبی کار در سرتاسر برنامه‌ی تمرین معادل ۸۰-۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه (۲۴-۳۳ متر/دقیقه با شیب ۱۵٪) حفظ شد. مدت‌زمان تمرین از ۱۰ دقیقه در روز در هفته‌ی اول شروع و به ۶۰ دقیقه در روز در هفته‌ی پنجم رسیده و تا انتهای دوره حفظ شد (۱۸) (جدول ۱).

جدول ۱- برنامه ۱۲ هفته تمرین هوازی روی نوارگردان

هفته‌های تمرین	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم	نهم	دهم	یازدهم	دوازدهم
مدت تمرین (دقیقه در روز)	۱۰	۲۰	۳۵	۴۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۲۴	۲۴	۲۵	۲۵	۲۶	۲۷	۲۸	۲۹	۳۰	۳۱	۳۲	۳۳
شیب نوارگردان (درصد)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵

موش‌های گروه کنترل سه‌ماهه جهت کنترل پارامترهای پایه و لحاظ شدن به‌عنوان گروه مرجع درروش RT-PCR قبل از شروع پروتکل تمرینی اصلی کشته شدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین نیز، موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین هوازی و کنترل شش‌ماهه تحت جراحی قرار گرفتند. موش‌ها ابتدا توسط استنشاق اتر بی‌هوش شدند. سپس توسط متخصصین کارآزموده جراحی انجام و عضله نعلی آن‌ها استخراج و وزن‌کشی شد. سپس، نمونه در کرایوتیوب در نیتروژن مایع قرار داده شده و برای بررسی‌های بعدی در دمای ۷۰- درجه نگهداری گردید.

برای استخراج RNA از نمونه‌ها، طبق روش پیشنهادی کیت (Thermo, K0731, USA) حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت عضله‌ی نعلی با استفاده از یک میلی‌لیتر RNXTM-PLUS(سیناژن، ایران) هموژنه شده و در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه انکوبه گردید. پس از اضافه کردن ۰/۲ میلی‌لیتر کلروفروم به هر میکروتیوب و تکان دادن آن با دست به مدت ۱۵ ثانیه، میکروتیوب ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه انکوبه گردید و در ادامه به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۳۷۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس به‌دقت و بدون تکان دادن تیوب، قسمت بالایی که حاوی RNA بود، جدا و به میکروتیوب دیگری انتقال داده شد. به محلول جدا شده حجم مساوی از ایزوپروپانول سرد اضافه گردید و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه انکوبه شد. سپس، میکروتیوب به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه و ۱۳۷۰۰g سانتریفیوژ شده، مایع رویی بیرون ریخته شد و یک میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به میکروتیوب اضافه گردید. بلافاصله میکروتیوب به مدت ۵ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۳۷۰۰g سانتریفیوژ شده، مایع رویی آن بیرون ریخته شد و به‌دقت اتانول خالی شد و حدود ۲۰ دقیقه اجازه داده شد تا الکل تبخیر گردد. سپس در آب تیمار شده با دی اتیل پیروکربنات (DEPC) حل شد. پس از استخراج RNA، مقدار و خلوص آن توسط روش اسپکتروفتومتری (Bio-Rad, CA, USA) تعیین گردید. همچنین، RNA تام به‌وسیله الکتروفورز روی ژل آگاروز حاوی اتیدیوم بروماید قرار گرفت و دو باند مشخص ۱۸s و ۲۸s مربوط به RNA ریبوزومی مشاهده و کنترل شد. RNA استخراج شده جهت استفاده در مراحل بعدی در دمای ۸۰- درجه نگهداری گردید.

جهت ساخت cDNA، طبق دستورالعمل کیت (Fermentas, Canada) Revert AID™ Firs Standard cDNA synthesis یک میکرولیتر RNA و یک میکرولیتر از DNase I reaction buffer 10X در یک تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شده و توسط DEPC-traeted water به حجم ۹ میکرولیتر رسید. برای از بین بردن آلودگی احتمالی با DNA، یک میکرولیتر DNase به تیوب اضافه و پس از افزودن یک میلی‌لیتر از اتانول مطلق، تیوب مربوطه به مدت ۳۰ دقیقه در فریزر ۷۰- درجه قرار گرفت. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۴۰۰۰g سانترفیوژ شد و پس‌ازآن، در زیر هود به‌دقت اتانول آن خالی شده و حدود ۱۰ دقیقه اجازه داده شد تا الکل تبخیر گردد. به تیوب یک میکرولیتر DEPC-treated water و یک میکرولیتر پرایمر oligi (dt) یا پرایمر Random hexamer افزوده شد و ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه بر روی Dry

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]

block انکوبه گردید. چهار میکرولیتر reaction buffer 5X و دو میکرولیتر dNTP 10mM mix و یک میکرولیتر Ribo lock Ribo nuclease Transcription Inhibitor به تیوب افزوده شد و پس از سانترفیوژ مختصر، به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه انکوبه گردید. یک میکرولیتر آنزیم RverertAid™ H Minus M-MuLV Reverse به تیوب قبل افزوده شد. در ادامه در صورت استفاده از پرایمر oligo (dt)، ۶ دقیقه در ۴۲ درجه و در صورت استفاده از پرایمر Random hexamer، ابتدا ۵ دقیقه در ۲۵ درجه و به دنبال آن ۹۰ دقیقه در ۴۲ درجه انکوباسیون صورت گرفت. واکنش با قرار دادن تیوب به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰ درجه پایان پذیرفت و نمونه در فریزر ۷۰- درجه نگهداری شد.

Real-time PCR : اندازه‌گیری میزان بیان ژنی پروتئین‌های AIF و کاسپاز-۹ با استفاده از دستگاه Corbett-Rotor gene-6000(Corbett Research Australia) انجام گردید. جفت پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم‌افزار Primer 3 طراحی و توسط بایونیر (Bioneer-Germany) سنتز شد و با غلظت نهایی ۸۰nm مورد استفاده قرار گرفت.

پرایمرها: واکنش‌ها بر مبنای استفاده از رنگ Syber green انجام گردید. رنگ Syber green طی واکنش Real-time PCr به DNA دو رشته‌ای متصل شده و نور فلورسنت ساطع می‌کند. در جدول ۲ توالی پرایمرهای بیان ژنی برای موش‌های صحرایی مشخص شده است. به‌عنوان بلانک از تیوبی که حاوی همه مواد موجود در واکنش به‌جز cDNA بود، استفاده شد و به‌جای cDNA، به تیوب مربوطه DEPC water اضافه گردید. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس بر این اساس CT تعیین شد. در پایان، قبل از آنالیز داده‌ها، منحنی ذوب (Melting curve) به‌دست‌آمده از هر واکنش Real-time PCR بررسی شد تا پیک مربوط به ژن موردنظر و فقدان پرایمر دایمر تأیید شود. برای آنالیز داده‌ها ابتدا، ΔCt ژن در هر نمونه از افتراق Ct ژن مربوطه و Ct ژن GAPDH به‌عنوان رفرنس محاسبه شد. فرمول‌ها برای محاسبه به ترتیب زیر است:

$\Delta C_T = C_T \text{ target} - C_T \text{ reference}$

$\Delta\Delta C_T = \Delta C_T \text{ test sample} - \Delta C_T \text{ control sample}$

توزیع طبیعی داده‌ها و برابری واریانس‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مشخص شد. سپس برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های موردنظر بین دو گروه کنترل و تمرین هوازی از آزمون تی مستقل استفاده گردید. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ انجام شد.

جدول ۲- توالی پرایمرهای بیان ژنی عضله نعلی موش‌های صحرایی

genes	Primer sequence Product	length (bp)
AIF	F: 5' TCCTCTACCCTCTATGCCAGGA 3' R: 5' AGCTGGGAACCATCATGTGC 3'	162
Caspase 9	F:5' CGAGCTGTTCAGGCCCCATA3' R: 5'CGCAGAAACGAAGCCAGCAT3'	174
GAPDH	F: 5' GGAAAGCCTGCCGGTGACTA3' R:5' CACCCGGAGGAGAAATCGGG 3'	110

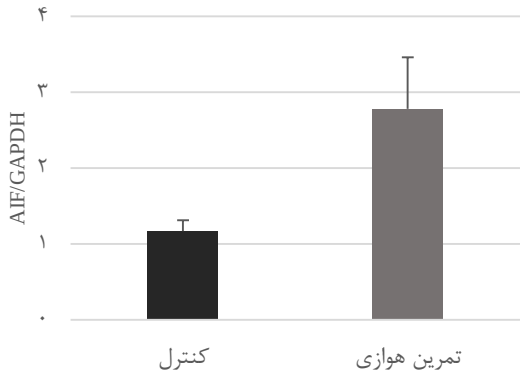
نتایج

در رابطه با تأثیر سه ماه تمرین هوازی روی نوارگردان بر ویژگی‌های بدنی، با استفاده از آزمون تی، تفاوت معنی‌داری بین وزن بدنی آزمودنی‌های گروه کنترل (۲۲/۶±۲۵۱/۷۵ گرم) و گروه تمرین (۱۸/۳±۲۰۲/۳۳ گرم) مشاهده شد (P=۰/۰۳)، به‌طوری‌که وزن بدن گروه تمرین ۱۹٪ کمتر از گروه کنترل بود. بااین‌حال، تفاوت معنی‌داری در وزن عضله نعلی و نسبت وزن عضله نعلی به وزن بدن گروه کنترل (به ترتیب ۰/۰±۰۷۲/۰۱؛ ۰/۲۹±۰/۰۵) و تمرین (به ترتیب ۰/۰±۰۶۴/۰۲؛ ۰/۳۲±۰/۰۳) مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). این در حالی بود که میانگین وزن عضله نعلی گروه تمرین حدود ۱۱٪ کمتر از گروه کنترل بود.

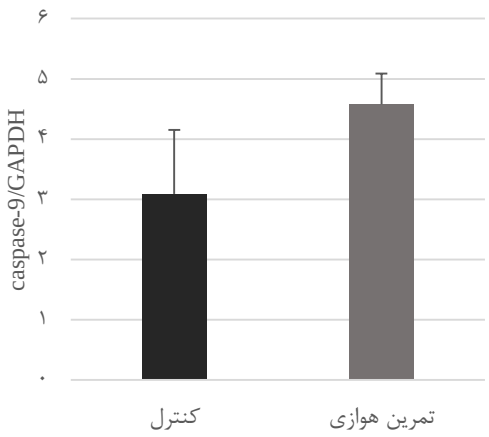
در رابطه با شاخص‌های مربوط به آپوپتوز عضله نعلی، نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تمرین هوازی در بیان ژن‌های AIF و کاسپاز-۹ وجود دارد (P=۰/۰۱). در این راستا، میزان بیان هر دو ژن AIF و کاسپاز-۹ در گروه

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]

تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (ژن AIF: ۱۳۷/۶٪ و ژن کاسپاز-۹: ۴۸/۲۲٪). به عبارتی سه ماه تمرین هوازی روی نوارگردان موجب افزایش قابل‌توجه هردوی ژن‌های مربوط به آپوپتوز میتوکندریایی عضله نعلی موش‌های صحرایی شده است (نمودار ۱ و ۲).



نمودار ۱- میزان بیان ژن AIF در دو گروه کنترل و تمرین هوازی



نمودار ۲- میزان بیان ژن کاسپاز-۹ در دو گروه کنترل و تمرین هوازی

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سه ماه تمرین هوازی موجب کاهش معنی‌دار وزن بدن موش‌های صحرایی شد (۱۹٪). بااین‌حال، باوجود کاهش معنی‌دار وزن بدن متعاقب سه ماه تمرین هوازی، تفاوت معنی‌داری در وزن عضله نعلی و نسبت وزن عضله نعلی به توده‌ی بدن گروه کنترل و تمرین مشاهده نگردید. اگرچه، میانگین وزن عضله نعلی گروه تمرین حدود ۱۱٪ کمتر از گروه کنترل بود. به عبارتی، سه ماه تمرین هوازی با شدت نسبی ۸۰-۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه، در کنار کاهش قابل‌توجه وزن بدن، موجب کاهش توده عضله نعلی شده است. به‌علاوه، بر اساس نتایج پژوهش حاضر، میزان بیان ژن AIF در گروه تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری و حدود ۱۳۷/۶۰٪ بیشتر از گروه کنترل بود. همچنین، میزان بیان ژن کاسپاز-۹ در گروه تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری و حدود ۴۸/۲۲٪ بیشتر از گروه کنترل بود. به عبارتی، سه ماه تمرین هوازی موجب افزایش قابل‌توجه هر دو ژن مربوط به آپوپتوز میتوکندریایی عضله نعلی موش‌های صحرایی شده است و این احتمال وجود دارد که این موضوع نهایتاً موجب تشدید بروز فرآیند آپوپتوز در این بافت سوماتیک حساس از طریق مسیر داخلی شود. اگرچه اغلب مطالعات قبلی اشاره به کاهش پروتئین‌های درگیر در مسیر میتوکندریایی آپوپتوز متعاقب تمرینات ورزشی داشتند، اما در تأیید نتایج پژوهش حاضر، سیو و همکاران اشاره داشتند که بیان پروتئین AIF در عضله نعلی گروه تمرین (۸ هفته تمرین هوازی) بیشتر از گروه کنترل بود (۱۶). همچنین، لیو و همکاران نیز نشان دادند که ۹ هفته تمرین استقامتی موجب افزایش قابل‌توجه آپوپتوز در عضله‌ی اسکلتی موش‌های صحرایی می‌شود (۱۷). در این راستا، اگرچه سازوکارهای متعددی مانند تغییر مستقیم در بیان ژن‌های مربوط به آپوپتوز، آزادسازی عوامل آپوپتوتیک میتوکندری، تغییرات تولید ROS و وضعیت ضد اکسایشی مطرح شده است، ولی هنوز ابهامات بسیاری در این زمینه وجود دارد (۱۳). در این خصوص، وینشتین و همکاران اشاره داشتند که آپوپتوز میتوکندریایی اغلب با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن همراه است (۱۴). از طرفی، ژین و همکاران عنوان داشتند که تمرینات هوازی و استقامتی طولانی‌مدت می‌تواند با افزایش استرس اکسایشی موجب تشدید آپوپتوز شوند (۱۹). این احتمال وجود دارد که در پاسخ به فشار اکسایشی، جابه‌جایی و استقرار پروتئین Bax در غشای بیرونی میتوکندری افزایش می‌یابد. این موضوع تااندازه‌ای می‌تواند ناشی از فعال شدن JNK سیتوزلی باشد به‌طوری‌که JNK در حضور محرک‌های استرس سلولی فسفریله شده و موجب مهار پروتئین Bcl-2 می‌شود، لذا پروتئین Bax اجازه جابه‌جایی به سمت میتوکندری را می‌یابد. پروتئین JNK در داخل میتوکندری، در باز شدن mtPTP دخالت کرده و موجب رهایش عوامل

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]

پیش‌آپوپتوزی مانند AIF و سیتوکروم c به داخل سیتوزول می‌شود. به‌محض رهایش و ورود به سیتوزول، AIF می‌تواند مستقیماً موجب قطعه‌قطعه شدن DNA یا از طریق آبشار کاسپازی شامل کاسپاز-۹ و نهایتاً کاسپاز-۳ شوند (۱۴). البته عوامل دیگری نیز در برخی مطالعات در رابطه با نفوذپذیری غشای میتوکندری مورد بررسی قرار گرفته‌اند، به‌طوری‌که اشاره شده است برخی از پروتئین‌های اسکلت سلولی مانند کافیلین-۲ (یک پروتئین اسکلت سلولی متصل به آکتین)، با آپوپتوز ناشی از فشار اکسایشی ارتباط دارد. کافیلین-۲ در سیتوزول قرار دارد، ولی به‌محض اکسایش، به درون میتوکندری جابه‌جا و احتمالاً موجب تسهیل باز شدن mtPTP می‌گردد (۲۰). بااین‌حال، اگرچه امکان بررسی تغییرات این شاخص در مطالعه حاضر وجود نداشت، ولی شواهد حاکی است که سطوح این پروتئین با تمرین تغییر چندانی نمی‌کند که نشانگر عدم سازگاری آن با تمرین ورزشی است.

بااین‌حال، برخلاف نتایج مطالعه حاضر، وینشتین و همکاران اشاره داشتند که ۱۰ هفته تمرین روی چرخ گردان موجب کاهش بیان پروتئین AIF و نسبت Bax/Bcl-2 در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تمرین کرده در مقایسه با موش‌های صحرایی تمرین نکرده شد (۱۴). همچنین مک‌میلان و همکاران گزارش کردند که شش هفته تمرین استقامتی موجب کاهش بیان پروتئین AIF و قطعه‌قطعه شدن DNA در عضله نعلی موش‌های صحرایی تمرین کرده شد (۱۳). به نظر می‌رسد دلیل اصلی تناقض مطالعه حاضر با پژوهش وینشتین و همکاران و برخی از مطالعات پیشین که اشاره به مهار یا کاهش فرآیند آپوپتوز متعاقب تمرینات هوازی و استقامتی داشتند (۷)، پروتکل تمرینی مورد استفاده در مطالعه حاضر باشد؛ زیرا این احتمال وجود دارد که تمرینات هوازی شدیدتر و طولانی‌مدت، پیام‌رسانی آپوپتوتیک عضله اسکلتی را افزایش دهد به‌طوری‌که آزمودنی‌های مطالعه وینشتین و همکاران روی چرخ گردان و با شدت تمرینی متوسط و ملایم تمرین کرده بودند به‌طوری‌که اغلب تمرین آن‌ها بیشتر شبیه تمرینات ورزشی داوطلبانه و اختیاری محسوب می‌شود؛ درحالی‌که آزمودنی‌های پژوهش حاضر ۱۲ هفته تمرین هوازی روی نوارگردان را با شدت نسبی ۸۰-۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه (سرعت ۳۳ متر بر دقیقه در هفته آخر) اجرا کردند. لذا به نظر می‌رسد که تمرینات هوازی با شدت‌های متوسط و پائین موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسایشی سلول شده و سازگاری‌های لازم برای مهار یا توقف آپوپتوز ناشی از تمرینات هوازی را فراهم نماید (۱۴، ۲۰). همچنین، به نظر می‌رسد عدم همخوانی نتایج مطالعه حاضر بامطالعه مک‌میلان و همکاران چندان نیز دور از انتظار نیست، زیرامک‌میلان و همکاران اثر شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط (۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) را بر شاخص‌های آپوپتوز میتوکندریایی در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی مبتلا به فشارخون بالا مورد ارزیابی قرار داده بودند، درحالی‌که آزمودنی‌های مطالعه حاضر، موش‌های صحرایی جوان سالم بودند. درگذر از پروتکل و شدت تمرین ورزشی، مک‌میلان و همکاران عنوان داشتند که فشارخون بالا عامل مهمی در افزایش و تشدید آپوپتوز در سلول‌های عضله اسکلتی است (۱۳). لذا، احتمال تأثیر تمرین هوازی و استقامتی متوسط بر شاخص‌های آپوپتوزی مانند بیان ژن یا پروتئین AIF و کاسپاز-۹ در شرایطی مانند فشارخون بالا که سلول‌های عضله اسکلتی دچار آپوپتوز شدید باشند، بیشتر است؛ همانند آنچه در مطالعه مک‌میلان و همکاران مشاهده شد (۱۳). بااین‌حال، اظهارنظر قطعی در مورد نحوه تأثیرپذیری شاخص‌های مربوط به آپوپتوز عضله قلبی از تمرینات ورزشی مختلف، منوط به انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر در این زمینه است.

در کل و بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان عنوان کرد که تمرینات هوازی طولانی‌مدت و با شدت بالای متوسط، باوجود تأثیرات عملکردی مثبت همچون کاهش وزن بدن، احتمالاً می‌تواند موجب کاهش وزن عضله اسکلتی و نسبت وزن عضله اسکلتی به بدن و نهایتاً آتروفی عضله شود. همچنین، این روند با افزایش بیان برخی ژن‌های درگیر در مسیر میتوکندریایی آپوپتوز مانند AIF و کاسپاز-۹ همراه است که نهایتاً می‌تواند باعث تشدید آپوپتوز عضله اسکلتی در موش‌های صحرایی جوان شود. بااین‌حال، با توجه به محدودیت‌های پژوهش حاضر مانند عدم اندازه‌گیری تغییرات مورفولوژیکی، ارزیابی بیان سایر پروتئین‌های درگیر در مسیر میتوکندریایی آپوپتوز، بررسی بیان پروتئین‌های درگیر در مسیر خارجی آپوپتوز و اندازه‌گیری محتوی پروتئین‌های موردنظر توسط روش وسترن بلات، اظهارنظر قطعی درزمینهٔ آپوپتوز عضله اسکلتی و تمرینات ورزشی مختلف، منوط به انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر است.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی خانم ندا آبادی به شماره ۱۰۲۲۱۴۳۵۹۴۱۰۰۱ است. لذا از مساعدت و همکاری صمیمانه مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و تمام افرادی که موجب تسهیل اجرای پایان‌نامه شدند، تقدیر و تشکر می‌گردد. ضمناً تمامی هزینه‌های پایان‌نامه به‌صورت شخصی بوده و هیچ سازمانی حمایت مالی نکرده است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1. Tsalouhidou S, Petridou A, Mougios V. Effect of chronic exercise on DNA fragmentation and on lipid profiles in rat skeletal muscle. Q J ExpPhysiol 2009; 94(3): 362-370.
2. Quadrilatero J, Bombardier E, Norris SM, Talanian JL, Palmer MS, Logan H, et al. Prolonged moderate-intensity aerobic exercise does not alter apoptotic signaling and DNA fragmentation in human skeletal muscle. Am J PhysiolEndocrinolMetab 2010; 298(3): 534-547.
3. Marfe G, Tafani M, Pucci B, Di Stefano C, Indelicato M, Andreoli A, et al. The effect of marathon on mRNA expression of anti-apoptotic and pro-apoptotic proteins and sirtuins family in male recreational long-distance runners. BMC physiology 2010; 10(1):1-7.
4. Cerella C, Grandjenette C, Dicato M, Diederich M. Roles of Apoptosis and Cellular Senescence in Cancer and Aging. Curr Drug Targets 2016; 17(4):405-15.
5. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death.ToxicolPathol 2007; 35(4): 495–516.
6. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Ilio C.D, Laurenzi V.D. Role of Apoptosis in disease. Aging 2012; 4(5):330-349.
7. 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 Physiol 2008; 105(6): 1934-1943.
8. Kwak H.B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. J Exer Rehabi 2013; 9(2):212-219.
9. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. Med Sci Sport Exer 2001; 33(3), 393-396.
10. Würstle ML, Laussmann MA, Rehm M. The central role of initiator caspase-9 in apoptosis signal transduction and the regulation of its activation and activity on the apoptosome. Exp Cell Res 2012; 318(11):1213-1220.
11. Brentnall M, Rodriguez-Menocal L, Guevara RL, Cepero E, Boise LH. Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis.BMC Cell Biol 2013; 14: 32.
12. Koçtürk S, Kayatekin BM, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats.Eur J ApplPhysiol2008; 102(5):515-524.
13. McMillan EM, Graham DA, Rush JWE, Quadrilatero J. Decreased DNA fragmentation and apoptotic signaling in soleus muscle of hypertensive rats following 6 weeks of treadmill training. J Appl Physiol 2012; 113(7): 1048-1057.
14. Vainshtein A, Kazak L, Hood DA. Effects of endurance training on apoptotic susceptibility in striated muscle. J ApplPhysiol 2011; 110(6):1638-1645.
15. Huang CY, Yang AL, Lin FNW, Lin JA, Chan YS, Tsai FJ,et al. Anti-apoptotic and pro-survival effects of exercise training on hypertensive hearts. J Appl Physiol 2012; 112(5): 883-891.
16. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. FASEB J 2004; 18(10): 1150-1152.
17. Liu WY, He W, Li H. Exhaustive training increases uncoupling protein 2 expression and decreases Bcl-2/Bax ratio in rat skeletal muscle. Oxid Med Cell Longev 2013; 1-7.
18. Natio H, Powers SK, Demirel HA and Aoki J. Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. Med Sci Sports Exerc 2001; 33(5): 729-734.
19. Xin L, Jian LU, Wei WU. Effect of Long-term Endurance Exercise on Cardiac Apoptosis. J Mian Nor Univ 2009; 7(2): 2009-2011.
20. Klamt F, Zdanov S, Levine RL, Pariser A, Zhang Y, Zhang B,et al. Oxidant-induced apoptosis is mediated by oxidation of the actin-regulatory protein cofilin. Nat Cell Biol 2009; 11(10): 1241-1246.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]

Original Article

The Effect of Three-month Aerobic Training on the Expression of AIF and Caspase-9 Gene in Male Rat Soleus Muscle

Abadi N, Bashiri J*

Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Received: 11 Dec 2016 Accepted: 09 Mar 2017

Abstract

Background & Objectives: Apoptosis in skeletal muscle plays an important role in disease-related tissue dysfunction such as muscle atrophy. Current evidence suggests that exercise training may alter apoptosis-related signaling and enzymes in skeletal muscle. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of three-month aerobic training on AIF and caspase-9 gene expression in male rat soleus muscle.

Materials & Methods: This study was conducted as a two-group experimental design and sixteen 3-month-old male rats were selected and randomly divided into two groups of aerobic training (n=8) and control (n=8). Rats in trained group participated in the aerobic training program for three months (75-80%VO_{2Max}). 48 hours after the last training session, the soleus muscle of rats were extracted and AIF and caspase-9 mRNA were evaluated by Real Time-PCR. Independent-samples t-test was applied to analyze the data ($P<0.05$).

Results: AIF gene expression of trained group was significantly higher than that of the control group (137.60%, P=0.01). Furthermore, caspase-9 gene expression of trained group was significantly higher than that of the control group (48.22%, P=0.01).

Conclusion: In general, it seems that a three-month aerobic training was effective in increasing soleus muscle mitochondrial apoptotic protein. However, more research needs to be done to identify the effects of exercise trainings on indices of apoptosis and skeletal muscle atrophy.

Keywords: Aerobic training, Soleus muscle, AIF gene, caspase-9 gene

Corresponding Author: Jabbar Bashiri, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
Email: bashiri.jabbar@gmail.com.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-25]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.2.8.9]