



تأثیر تمرین تناوبی شدت متوسط و مصرف ویتامین D بر بیان ژن کاسپاز ۳ و کاسپاز ۸ در موش‌های صحرایی نر متعاقب القای آنفارکتوس قلبی

فائزه وحید مقدم^۱، مقصود پیری^{۲*}، شیما آب آب زاده^۳، فروزان فتاحی مسرور^۴

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. دانشیار، گروه مهندسی بافت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران
۴. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

نوع مقاله: پژوهشی اصیل

مقدمه: هدف این مطالعه بررسی تأثیر هشت هفته برنامه‌ی تمرین تناوبی با شدت متوسط و مصرف ویتامین D بر بیان ژن کاسپاز ۳ و کاسپاز ۸ در موش‌های صحرایی نر متعاقب القای آنفارکتوس قلبی بود.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۲

روش: نمونه‌های پژوهش تعداد ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بودند که به طور تصادفی در ۷ گروه: گروه کنترل و سالم، گروه سکت+۵ دقیقه راه رفتن، گروه سکت+ویتامین D+۵ دقیقه راه رفتن، گروه سکت+تمرین تناوبی، گروه سکت+تمرین تناوبی+ویتامین D، گروه سکت+تمرین تناوبی+گاواژ پارافین خوراکی، گروه سکت+گاواژ پارافین خوراکی+۵ دقیقه راه رفتن قرار گرفتند. و به مدت ۸ هفته تحت مداخله قرار گرفتند. برای تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

*نویسنده مسئول: مقصود پیری،
استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد
تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی،
تهران، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۶۵۱۱۸۹۵

پست الکترونیک:
m.peeri@gmail.com

یافته‌ها: نتایج نشان داد که سکت سبب افزایش معنی‌دار سطح نسبی کاسپاز ۳ و کاهش معنی‌دار کاسپاز ۸ نسبت به گروه کنترل شده بود. هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب کاهش معنی‌دار کاسپاز ۳ و افزایش کاسپاز ۸ نسبت به گروه سکت شد ($P=0/001$). بین دو گروه مکمل و تمرین تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. اما گروه ترکیبی تمرین و مکمل سبب کاهش بیشتر کاسپاز ۳ و افزایش بیشتر کاسپاز ۸ نسبت به سایر گروه‌ها شده بود ($P=0/001$).

نتیجه‌گیری: به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار تمرین و مکمل سبب تغییر معنی‌دار عوامل آپوپتوز می‌شود، اما ترکیب دو متغیر اثر هم افزایی داشته و بهتر از اعمال منفرد هر یک از مداخله‌ها عمل می‌کند.

کلیدواژه‌ها: آپوپتوز، انفارکتوس قلبی، انفارکتوس میوکارد، تمرین تناوبی، کاسپاز ۳، کاسپاز ۸، ویتامین D



مقدمه

بیماری قلبی-عروقی یکی از شایع‌ترین علل مرگ و میر در جوامع امروزی به‌شمار می‌رود (۱). بیماری قلبی-عروقی طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله آریتمی، نارسایی قلبی و آترواسکلروزیس را دربر می‌گیرد. این بیماری‌ها می‌توانند به حوادث قلبی بالقوه کشنده‌ای مانند سکته، انفارکتوس میوکارد یا ایست قلبی منجر شوند (۲). در این میان انفارکتوس میوکارد بیش از همه توجه و نگرانی متخصصان قلب را به خود اختصاص داده است. هر ساله حدود ۱۷/۱ میلیون نفر در جهان به علت بیماری‌های قلبی-عروقی جان خود را از دست می‌دهند که حدود ۷/۲ میلیون نفر از آن به علت انفارکتوس میوکارد رخ می‌دهد (۳).

در اثر انفارکتوس میوکارد تغییرات زیادی در دستگاه قلبی-عروقی رخ می‌دهد. انفارکتوس میوکارد با کاهش اکسیژن‌رسانی در عضله قلبی همراه است که این فرایند به مرگ سلول‌های میوکارد و پاسخ التهابی منجر می‌شود (۴). پس از انفارکتوس میوکارد ترکیب زنجیره تنفسی کاهش می‌یابد و موجی از گونه‌های فعال اکسیژن بویژه در آغاز رپرفیوژن دیده می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند از طریق آسیب رساندن به لیزوزوم‌ها و دیواره‌شان، به فعال‌سازی آنزیم‌های غیرفعال و تخریب سلولی منجر شده و در نهایت سبب سستی و شکستن پیوندهای هیدروژنی در غشای سلول شوند. با شکستن پیوند بین مولکول‌های غشا، آنزیم‌های متصل به آن نیز متعاقباً از کار افتاده و فعالیت سلول دچار اختلال می‌شود. آسیب به DNA منجر به مرگ سلولی، هم از طریق آپوپتوزیس و هم از طریق نکروز می‌شود (۵). آپوپتوز فرایند مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول است که در موجودات چند سلولی رخ داده و روندی فیزیولوژیک و زیستی برای نمو فعال طبیعی و همچنین حفظ هموستاز است. مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی، از طریق مسیرهای مختلفی برانگیخته می‌شود (۶). در این فرایند آنزیم‌های کاسپاز نقش اساسی دارند. کاسپازها جزو خانواده سیستئین پروتئازها هستند و نقش محوری در شروع و فاز اجرایی آپوپتوز ایفا می‌کنند. بنابراین، ارزیابی فعالیت کاسپازها به عنوان یک مارکر بیوشیمیایی آپوپتوز مطرح است. فرایند آپوپتوز از طریق دو مسیر داخلی و خارجی رخ می‌دهد.

کاسپازها به دو دسته آغازگر یا پیش‌برنده آپوپتوز و کاسپازهای اجرایی تقسیم می‌شوند. کاسپازهای آغازگر مانند کاسپاز ۸ و ۱۰ قادرند سبب فعال‌سازی کاسپازهای اجرایی آپوپتوز از جمله کاسپاز ۳، ۶ و ۷ شوند (۶). همان‌طور که مشخص است بیماران با تجربه وقوع انفارکتوس قلبی به مشکلات قلبی-عروقی به علت دارا بودن زمینه‌ی آترواسکلروزیس، زمینه لازم برای سکته مجدد را دارند، متخصصان قلبی-عروقی و بازتوانی قلبی برای پیشگیری از سکته مجدد دوره بازتوانی قلبی را ضروری دانسته‌اند (۷). اطلاعات در زمینه اثربخشی بازتوانی قلبی بسیار زیاد است، برای مثال دیده شده که بازتوانی قلبی در بیماران عروق کرونری و نیز سکته قلبی در مقایسه با افرادی که در این برنامه‌ها شرکت نداشتند ۲۵ تا ۳۵ درصد مرگ و میر را کاهش داده است (۸). در مطالعات تخصصی‌تر مشخص شد که تمرین ورزشی سبب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود آپوپتوز در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی مزمن شده بود. متغیر شدت تمرین عامل اثرگذار مهمی بر تفاوت نتایج تحقیقی است. در این زمینه برخی از متخصصان عنوان کردند که فعالیت ورزشی شدید می‌تواند موجب تسریع در فرایند آپوپتوز شود. این در حالی است که برخلاف فعالیت شدید، انجام تمرین با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود. در زمینه شدت تمرین راموس و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی خود بیان داشتند که تمرین هوازی با شدت متوسط سبب بهبود عوامل قلبی-عروقی می‌شود، اما تمرین خیلی شدید ممکن است سبب معکوس شدن نتایج گردد (۹).

در زمینه مقایسه شدت‌های مختلف تمرینی، مقدم و همکاران (۱۳۹۸) اثر یک دوره تمرین استقامتی تداومی و تناوبی بر میزان بیان ژن استئوپنتین بافت قلب رت‌های نر وistar مبتلا به انفارکتوس را بررسی نموده و نتایج نشان داد که تمرین تداومی استقامتی عملکرد بهتری داشته است (۱۰). خانسوز و همکاران (۱۳۹۸) در تحقیق خود تحت عنوان تاثیر یک دوره تمرین استقامتی فزاینده بر شاخص‌های تنظیم‌کننده آپوپتوزیس موش‌های وistar مبتلا به انفارکتوس قلبی به این نتیجه رسیدند که کاسپاز



۳ و سیتوکروم C تفاوتی بین گروه کنترل و تمرین نداشت فقط بیان کاسپاز ۸ در گروه تمرین کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشت. این تحقیق نشان می دهد تمرین تداومی شدت متوسط نتوانست مسیرهای سیگنالی آپوپتوز را دستخوش تغییر کند (۱۱). در مقابل رمضانی و همکاران (۱۳۹۶) در تحقیق خود بیان داشتند که تمرین تناوبی شدید توانست سبب بهبود سیگنالینگ عوامل درگیر در تغییرات مولکولی و در نهایت کاهش سایز انفارکتوس قلبی به دنبال ایسکمی میوکارد شود (۱۲). با این حال، امروزه پژوهشگران با این پرسش عمده روبه رو هستند که کدام نوع تمرین ورزشی و با چه شدت و مدتی می تواند بیشترین و بهترین اثر را بر بهبود وضعیت بیمار و پیشگیری ثانویه از افزایش عوامل خطر قلبی داشته باشد. بنابراین، مطالعه بر روی شدت های مختلف تمرین و تاثیر آن بر انفارکتوس قلبی زمینه ای است که نیاز به بررسی های فراوان دارد.

از طرف دیگر، جدای از اثرات تمرین، مشخص شده است که مصرف مکمل ها بویژه ویتامین های ضروری و آن دسته از ویتامین هایی که نقش آنتی اکسیدانی دارند می تواند از تخریب غشا و آترواسکلروزیس پیشگیری کند (۱۲). اگر چه نقش ویتامین D در حفظ هموستاز بافت استخوانی به اثبات رسیده است (۱۳)، اثرات این ویتامین بر ساختار و عملکرد بافت های دیگر از جمله عضلات و عروق، با علاقه زیاد توسط دانشمندان در حال پیگیری است. ویتامین D از جمله ویتامین هایی است که تاثیر آن در بیماری های مختلف از جمله همه گیری کرونا و نیز بیماری های قلبی-عروقی به اثبات رسیده است (۱۴). گزارش های اکوسیستمی حاکی از آن است که انفارکتوس و ایسکمی قلبی در زمستان و مناطقی دورتر از عرض جغرافیایی که در آن ویتامین D بدن (۲۵ دی هیدروکسیل) افراد کمتر از سایر نقاط است بیشتر روی می دهد. هر چند عوامل مختلفی ممکن است در این زمینه اثرگذار باشد. در مطالعات دقیق تر لاند و همکاران (۱۹۷۸) به این نتیجه رسیدند که سطح ویتامین D3 بیمارانی که به بیمارستان مراجعه کرده بودند (۷۵ نفر

با آنژین صدری و ۵۳ نفر با سکته قلبی) و ۴۰۹ نفر کنترل مشخص شد که سطح ویتامین D3 در دو گروه بیمار کمتر از گروه کنترل بود (۱۴). به طور کلی، تحقیقات نشان داده که ارتباط قوی بین کمبود ویتامین D و بیماری های قلبی-عروقی وجود دارد. شواهد پزشکی نشان می دهد مکمل گیری ویتامین D با افزایش عملکرد قلبی ارتباط دارد. همچنین کمبود ویتامین D می تواند سبب افزایش چاقی، مقاومت به انسولین و اختلال سیستم التهابی شود (۱۵). در بررسی که توسط با و همکاران (۲۰۱۳) انجام گرفت تاثیر مکمل دهی ویتامین D بر نارسایی قلبی پس از انفارکتوس قلبی در موش ها مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه تحقیق ایشان نشان داد که ویتامین D از طریق نقش ضد التهابی، ضد فیبروز و ضد آپوپتیکی (کاسپاز ۳ و پلی ADP ریبوز) پلیمرز (PARP) توانست سبب کاهش مرگ و میر و عوارض انفارکتوس قلبی گردد (۱۶). لی و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر دوزهای مختلف ویتامین D در محیط کشت سلولی بر سلول های قلبی را بررسی و به این نتیجه رسیدند که مکمل دهی ویتامین D در خارج از بدن توانست سبب افزایش بیان ژن و سنتز پروتئین های گیرنده ویتامین D در سطح سلولی شود. همچنین پس از MI گروهی که مکمل گیری ویتامین D را تجربه کردند، تحلیل عضله قلبی کمتری را تجربه نموده و عملکرد پایان سیستمی کاهش کمتری را تجربه نمود (۱۷). با این تفاسیر احتمالاً تمرین ورزشی و مکمل دهی ویتامین D با نقش ضد التهابی و ضد آپوپتیکی که دارند سبب بهبود ساختار و عملکرد قلبی شوند اما، شناخت مکانیزم دقیق و مسیرهای این بهبود نیاز به تحقیقات جزئی تر و گسترده دارد. بنابراین، هدف از این تحقیق بررسی تاثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط و مصرف ویتامین D بر بیان ژن کاسپاز ۳ و کاسپاز ۸ در موش های صحرایی نر متعاقب القای انفارکتوس قلبی بود.

روش

تحقیق حاضر از نظر هدف توسعه ای و از لحاظ شیوه اجرا، آزمایشگاهی به صورت پس آزمون با گروه کنترل بود که ابتدا در کمیته اخلاق بررسی و تصویب شد. نمونه های این



پژوهش ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۳۰ گرم و محدوده سنی ۲ تا ۳ ماه بودند. موش‌های خریداری شده از مرکز انیستیتو پاستور تهران در آزمایشگاه مرکز تحقیقات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی قم در شرایط جدید به مدت دو هفته نگهداری و پس از القای ایسکمی و ایجاد انفارکتوس قلبی براساس وزن به‌طور تصادفی به ۷ گروه (هر کدام هشت سر) تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: ۱- گروه کنترل و سالم ۲- گروه سکت ۵ دقیقه راه رفتن ۳- گروه سکت ۵ + ویتامین D ۵ دقیقه راه رفتن ۴- گروه سکت ۵ + تمرین تناوبی ۵- گروه سکت ۵ + تمرین تناوبی + ویتامین D ۶- گروه سکت ۵ + تمرین تناوبی + گاوآژ پارافین خوراکی ۷- سکت ۵ + گاوآژ پارافین خوراکی + ۵ دقیقه راه رفتن بودند. این موش‌ها به مدت ۸ هفته تحت مداخله تحقیق قرار گرفتند. گروه‌های تمرین ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر روی تردمیل جوندگان را اجرا نمودند. در پایان مطالعه همه موش‌های صحرایی بیهوش، تشریح و بافت قلب آن‌ها جدا شد و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد جهت بررسی‌های بعد نگهداری شدند (۷).

نمونه‌های مطالعه حاضر در آزمایشگاه جوندگان در قفس‌های پلی کربنات شفاف و در شرایط استاندارد، با چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و میانگین درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتیگراد و با رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد قرار داشتند. از دو دستگاه تهویه هوا بدون صدا جهت ایجاد تهویه و جریان مناسب هوا استفاده شد. تغذیه نمونه‌ها با استفاده از غذاهای توصیه شده توسط مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت از شرکت بهپرو همراه با بطری‌های آب ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت.

ضمناً دسترسی به غذا و آب به صورت نامحدود بود. همچنین در گروه‌های مکمل علاوه بر غذای روزانه ویتامین D به صورت گاوآژ خورنده شد. ویتامین D (۲۵-۱ دی هیدروکسیل) به مقدار مورد نیاز از شرکت حکیمان طب خریداری شد. مقدار مصرف ویتامین روزانه ۵۰۰ IU/kg معادل ۱۲/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بود که در ۱/۵ کیلوگرم/کیلوگرم پارافین خوراکی حل شد و به مدت ۸ هفته و با تواتر سه روز در هفته به صورت گاوآژ به موش‌ها خورانه شد (۱۸).

پروتکل تمرین

به موش‌ها ابتدا یک دوره مقدماتی (پنج روز در هفته) داده شد تا آن‌ها با پروتکل و شرایط آشنا شوند. در این دوره به ازای هر جلسه سرعت تردمیل از ۵ متر بر دقیقه به ۱۰ متر در دقیقه و زمان ورزش از ۵ دقیقه به ۱۰ دقیقه افزایش یافت. سپس بعد از پایان دوره سازگاری، تمرین تناوبی ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته بر روی نوارگردان انجام شد. برنامه تمرین در مدت ۵۰ دقیقه در روز، و شامل ۳ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و ۵ تناوب ۴ دقیقه‌ای با شدت ۲۳ متر در دقیقه (۷۰ تا ۷۵ درصد توان هوایی بیشینه) و ۵ تناوب ۴ دقیقه‌ای با شدت ۱۵ متر در دقیقه (معادل ۵۵ تا ۶۰ درصد توان هوایی بیشینه) بود. پس از ۸ هفته تمرین تناوبی به همراه استفاده از ویتامین D مرحله بافت برداری انجام شد به منظور همانندسازی شرایط، بقیه گروه‌ها در روز در مدت زمان ۵ دقیقه روی تردمیل قرار گرفتند و فعالیت راه رفتن با سرعت ۵ متر بر دقیقه را انجام دادند (۷).

جدول ۱. برنامه ۸ هفته تمرین تناوبی شدت متوسط

هفته	وهله	زمان تمرین	شدت تمرین	زمان استراحت	شدت استراحت
اول	۳	۲ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه	۲ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
دوم	۳	۲ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه	۲ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
سوم	۴	۳ دقیقه	۱۷ متر در دقیقه	۳ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
چهارم	۴	۳ دقیقه	۱۷ متر در دقیقه	۳ دقیقه	۱۰ متر در دقیقه
پنجم	۴	۴ دقیقه	۲۰ متر در دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه
ششم	۴	۴ دقیقه	۲۰ متر در دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه
هفتم	۴	۴ دقیقه	۲۳ متر در دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه
هشتم	۴	۴ دقیقه	۲۳ متر در دقیقه	۴ دقیقه	۱۵ متر در دقیقه



القای سکنه

برای القای ایسکمی از روش غیرتهاجمی استفاده از ایزوپرنالین استفاده شد. القای ایسکمی قلبی از تزریق زیرجلدی ایزوپرنالین به اندازه ۸۵ میلی گرم/کیلوگرم به صورت محلول در نرمال سالین (۴ میلی لیتر نرمال سالین به ازای هر ۸۵ میلی گرم ایزوپرنالین) در دو روز پی در پی به فاصله زمانی ۲۴ ساعت تزریق و آنفارکتوس تجربی ایجاد شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین تزریق از هر گروه ۲ موش به صورت تصادفی انتخاب شده و تشخیص آنفارکتوس قلبی از طریق اندازه گیری آنزیم تروپونین I مشخص شد. غلظت تروپونین I در سرم بیماران که فاقد بیماری قلبی باشند اندک است. اما در زمان آنفارکتوس افزایش زیادی پیدا می کند (۱۹).

تمامی نمونه ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، با ترکیبی از ۷۵ میلی گرم/کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم زایلازین بیهوش، کشته و تشریح و سپس بافت قلب برداشته شد. بافت های استخراجی با نرمال سالین موردشستشو قرار گرفته و به سرعت در مخازن نیتروژن مایع به مدت ۲ دقیقه غوطه ور شده و در دمای -70°C در آزمایشگاه نگهداری شد. به منظور استخراج پروتئین، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول لیز سلولی Pro-PRETM (iNtRON Biotechnology, Korea) را بر روی سلول های ریخته و عمل لیز سلول ها با کمک هموژنایزر بر روی یخ انجام داده شد. برای جلوگیری از اثر مخرب دما بر روی ساختار پروتئین ها، ظروف حاوی سلول ها در حین استخراج پروتئین ها بر روی کیسه ی یخ قرار داده می شدند. سپس طبق دستور مندرج در دستورالعمل محلول لیز سلولی، تعلیق سلولی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای -20°C درجه ی سانتی گراد نگهداری می شدند. سرانجام، عصاره را با Hettich universal 320R, (Germany) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 4°C درجه ی سانتی گراد سانتریفیوژ کرده و محلول بالایی یکدست هموژن برداشته شد. محلول فوقانی توسط روش پروتئین سنجی با استفاده از روش پروتئین سنجی BCA

(iNtRON Biotechnology, Korea) و دستگاه اسپکتوفوتومتر (SmartSpec Plus spectrophotomet) (er, Bio-Rad) اندازه گیری شد. برای انجام وسترن بلاتینگ در این مطالعه از سیستم عمودی TV100 (Scie-Plas) Ltd, UK با یونیت های ژلی 10×10 سانتی متری و دستگاه مولد برق Consort-EV202 (Sigma) استفاده شد. روش وسترن بلاتینگ در دو مرحله انجام شد.

الکتروفورز (حرکت پروتئین ها در طول ژل پلی آکرلامید براساس وزن مولکولی)

ابتدا ژل تحتانی یا جداکننده با غلظت ۱۰٪ (آب مقطر، بیس-آکرلامید ۳۰٪، Tris-base ۱/۵ مولار با $\text{pH}=8.8$ ، SDS ۱۰٪، آمونیوم پرسولفات ۱۰٪ و TMED) را به اندازه تقریبی ارتفاع ۷ سانتی متری ریخته و بعد از سفت شدن با استفاده از ۲۵ میکرولیتر ایزوبوتانول (Merck, Germany) سطح فوقانی هموار شد. سپس بر روی آن ژل فوقانی هم تراز کننده ۵٪ (آب مقطر، بیس-آکرلامید ۳۰٪، Tris-base ۱ مولار با $\text{pH}=6.8$ ، SDS ۱۰٪، آمونیوم پرسولفات ۱۰٪ و TMED) را ریخته و قبل از سفت شدن شانه گذاری انجام گرفت. بعد از سفت شدن، شانه ها را خارج نموده و سپس رک وسترن در تانک الکتروفورز حاوی ۱۲۰۰ میلی لیتر محلول الکتروفورز (۲۵ میلی مول Tris base، ۱۹۰ میلی مول گلیسین، و ۰/۱٪ SDS با $\text{pH}=8$) قرار داده شد. مقدار ۵۰ میکروگرم از محلول های پروتئینی برداشته و بعد از ۵ دقیقه جوشیدن در بافر لاملی دو برابر غلظت (SDS ۴٪، ۲-مرکاپتواتانول ۱۰٪، گلیسرول ۲۰٪، بروموفنول ۰/۰۴٪ و ۰/۱۲۵ مول Tris HCl) تحت شرایط احیاء با استفاده از سوزن هامیلتون بر گودی ژل SDS-PAGE (ژل فوقانی) بارگذاری شدند. در یکی از گودی ها پروتئین مارکر pre-stained (Fermentas, USA) نیز بارگذاری و با ولتاژ اولیه ۸۰ و سپس ۱۸۰ پروتئین ها بر روی ژل ران شدند.

ترانسفرینگ

در این مرحله پروتئین های ران شده در طول ستون عمودی

ثبوت قرارداده شد. در نهایت توسط نرم افزار Gel analyser باند ها ظاهر شده آنالیز شد. سپس مساحت زیر سطح منحنی برای هر فاکتور و کنترل بتا کتین محاسبه شده و شدت نسبی با تقسیم مساحت زیر سطح منحنی هر فاکتور به مساحت زیر سطح منحنی بتا کتین به دست آمد. نتایج با گروه کنترل برای هر کدام از سلول ها مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۳) و آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. در سطح آمار توصیفی از شاخص هایی نظیر میانگین، انحراف معیار، جداول توزیع فراوانی و در بخش آمار استنباطی برای آنالیز داده ها از تحلیل واریانس یک طرفه (One Way Anova) استفاده شد برای مشخص شدن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. سطح آلفای کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد و جهت رسم شکل ها و گراف ها از نرم افزار گراف پد پریزم (نسخه ۱۰) استفاده شد.

یافته ها

میانگین و انحراف معیار موارد ارزیابی در گروه های مختلف و نتایج آنالیز واریانس یک طرفه متغیرهای این مطالعه در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتایج و مقایسه بین گروهی کاسپاز ۳ و ۸ به ترتیب در نمودار شماره ۱ و ۲ آمده است. همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می شود، اختلاف معناداری بین گروه ها وجود داشت ($P=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی در میانگین مقادیر گروه ها نشان داد که سبب افزایش معنی دار سطح نسبی کاسپاز ۳ نسبت به گروه کنترل سالم شده بود. هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب کاهش معنی دار کاسپاز ۳ نسبت به گروه سخته گردید ($P=0/001$). این تغییر در گروه شم (سخته+پارافین) معنی دار نبود ($P=0/43$). بین دو گروه مکمل و تمرین تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد ($P=0/83$). اما گروه ترکیب تمرین و مکمل سبب کاهش بیشتر کاسپاز ۳ شده بود ($P=0/001$)، به طوری که تفاوت آماری معنی داری بین گروه کنترل سالم و تیمار ترکیبی

ژل به غشاء های ۰/۲ میکرومتری پی-وی-دی-اف (PVDF) شرکت Bio-Rad انتقال داده شدند. بعد از اتمام مرحله الکتروفورز، ژل خارج و توسط اسپیسرها ژل فوقانی هم تراز کننده جدا شد. ژل به همراه غشاء PVDF بین اسفنج و کاغذ های فیلتری (Bio-Rad) به صورت ساندویچی بر اساس شکل زیر لایه گذاری شد. رک ترانسفر در تانک ترانسفر حاوی بافر ترانسفر (با $Ph=8/3$ ، Tris-base گرم، $4/14$ گرم گلیسین و 150 میلی لیتر متانول در 1000 میلی لیتر آب مقطر) فرو برده و به مدت 75 دقیقه با جریان 300 آمپر 300 میلی آمپر قرارداده شد. بعد از این مدت برای ارزیابی کیفیت انتقال پروتئین ژل را با محلول قرمز رنگ پُسنه آ-اس 7 (۰/۵٪) پودر پُسنه آ-اس، $0/8$ ٪ محلول اسیداستیک) به مدت 5 دقیقه قرارداده شد. سپس با استفاده از محلول $1-2$ ٪ اسیداستیک تا زمان زایل شدن رنگ اضافی و بی رنگ شدن ژل رنگ زدایی شد (در صورت عدم ترانسفر باندهای قرمز رنگ بر روی ژل متظاهر می شود). با توجه به آنتی بادی های مورد استفاده در این مطالعه و توصیه ی کارخانه ی سازنده غشاء PVDF با استفاده محلول تریس-بافر سالین (حاوی $0/1$ ٪ Tween20 TBST) و آلبومین سرم گاوی (5 ٪ Sigma) یا پودر شیر خشک بدون چربی (Merck) به مدت 1 ساعت در دمای آزمایشگاه بلوک شدند (در این مطالعه با توجه به توصیه ی کارخانه ی سازنده به علت واکنش غیر اختصاصی آنتی بادی مختص پروتئین های فسفات دار، آنتی Tie2 فسفریله، برای بلوک کردن غشاء فقط از آلبومین سرم گاوی استفاده شد). غشاء از محلول TBST بلوک کننده خارج و در مجاورت غلظت مناسب آنتی بادی اولیه بر حسب توصیه کارخانه ی سازنده به مدت 1 ساعت در دمای آزمایشگاه قرارداده شدند. در مرحله ی بعدی غشاء ها به منظور حذف آنتی بادی های اضافی DAB توسط محلول TBST خالی 3 بار هر کدام به مدت 10 دقیقه شست و شو و سرانجام آنتی-بادی های ثانویه کونزوگه با HRP با غلظت مناسب بر روی غشاء ریخته و به مدت 1 ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس جهت ظاهر شدن باندها، به بلات ها محلول ECL زده شد و به محض مشاهده نور فیلم رادیوگراف را روی بلات گذاشته و سپس فیلم رادیوگراف در محلول ظهور و سپس



بحث

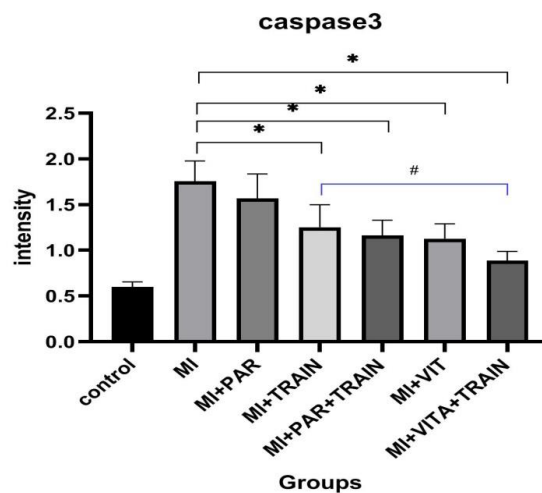
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کاسپاز ۳ در اثر القای سکتة افزایش معنی داری داشت. مداخله هر یک از متغیرهای تمرین و مکمل دهی ویتامین D سبب کاهش سطح کاسپاز ۳ در موش‌ها پس از القای حاد انفارکتوس قلبی می‌گردد. همچنین ترکیب دو مداخله اثر هم‌افزایی داشته و تاثیر بیشتری بر کاهش کاسپاز ۳ داشته است. این نتایج با یافته‌های خانسوز و همکاران (۱۳۹۹)، باو و همکاران (۲۰۱۳)، روزبهرانی و همکاران (۱۴۰۲)، زارعلی و همکاران (۲۰۲۰)، جدیدی و همکاران (۱۴۰۰)، قانع و همکاران (۱۴۰۱)، و سونگ و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی دارد (۱۱، ۱۶، ۱۹). با نتایج سیاهکوهیان و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی ندارد (۲۰). قانع و همکاران (۱۴۰۱) در بررسی خود مشاهده نمودند که تمرین ورزشی سبب کاهش کاسپاز ۳ گردید (۲۱). نوروزی و همکاران (۱۳۹۷) در تحقیق خود مشاهده نمودند ۱۲ هفته تمرین هوازی توانست سطح کاسپاز ۳ را ۱۸ درصد کاهش دهد (۲۲). روزبهرانی و همکاران (۱۴۰۲) در بررسی خود بر روی موش‌های نر مدل سکتة قلبی مشاهده نمودند که ۸ هفته تمرین هوازی شدید سبب کاهش معنی‌دار کاسپاز ۳ شد (۱۹).

مشاهده‌نشده ($P=0/053$)؛ یعنی ترکیب دو مداخله توانست مقدار کاسپاز ۳ را به نزدیکی موش‌های سالم برساند.

در نمودار شماره ۲ نتایج مربوط به کاسپاز ۸ قابل مشاهده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه در رابطه با کاسپاز ۸ نشان داد که اختلاف معناداری بین گروه‌ها وجود داشت ($P=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی در میانگین نمرات کسب‌شده در پس آزمون نشان داد که سکتة سبب کاهش معنی‌دار سطح نسبی کاسپاز ۸ نسبت به گروه کنترل شده بود ($P=0/001$). هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب افزایش معنی‌دار کاسپاز ۸ نسبت به گروه سکتة گردید ($P=0/001$). این تغییر در گروه شم یعنی سکتة+پارافین معنی‌دار نبود ($P=0/34$). بین دو گروه مکمل و تمرین تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده‌نشده ($P=0/26$). اما گروه ترکیب تمرین و مکمل سبب افزایش بیشتر کاسپاز ۸ نسبت به دو گروه مکمل و تمرین تنها شده بود ($P=0/001$). یعنی ترکیب دو مداخله توانست کاسپاز ۸ را بیشتر از گروه سکتة و شم و حتی مداخله انفرادی افزای دهد اما باز مقادیر کاسپاز ۸ کمتر از گروه کنترل (سالم) بود.

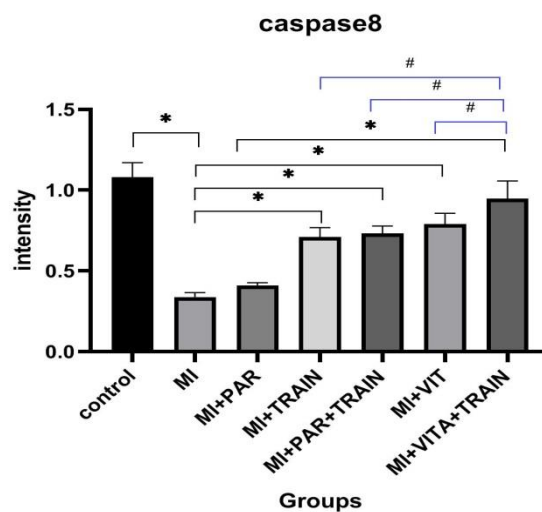
جدول ۲. میانگین، انحراف معیار و نتایج آنالیز واریانس یک راهه متغیرهای آپوپتوزی بافت قلب در گروه‌های مختلف

Caspase8				Caspase3				گروه‌ها
sig	F	انحراف معیار	میانگین	sig	F	انحراف معیار	میانگین	
		۰/۹۸	۱/۰۸		۰/۰۵	۰/۵۹		کنترل و سالم
		۰/۰۲	۰/۳۳		۰/۲۲	۱/۷۵		سکتة + ۵ دقیقه راه رفتن
		۰/۰۶	۰/۷۸		۰/۱۶	۱/۱۲		سکتة+ویتامین D+۵ دقیقه راه رفتن
*۰/۰۰۱	۱۲۷/۵۷	۰/۰۵	۰/۷۱	*۰/۰۰۱	۳۴/۴۶	۰/۲۴	۱/۲۵	سکتة+تمرین تناوبی
		۰/۱۱	۰/۹۴		۰/۱۰	۰/۸۸		سکتة+تمرین تناوبی+ویتامین D
		۰/۰۴	۰/۷۳		۰/۱۶	۱/۱۶		سکتة+تمرین تناوبی+پارافین
		۰/۰۱	۰/۴۰		۰/۲۶	۱/۵۶		سکتة+پارافین+۵ دقیقه راه رفتن



نمودار ۱. مقادیر نسبی بیان ژن مربوط به کاسپاز ۳

MI: سکته، MI+PAR: سکته+پارافین ۵ دقیقه راه رفتن، MI+TRAIN: سکته + تمرین تناوبی MI+PAR+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+پارافین، MI+VIT: سکته +ویتامین D3 + ۵ دقیقه راه رفتن، MI+VIT+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D3



نمودار ۲. مقادیر نسبی بیان ژن مربوط به کاسپاز ۸

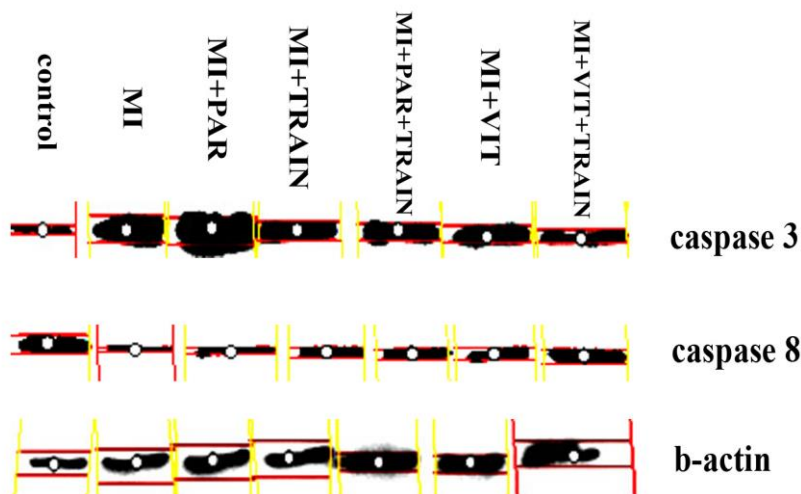
MI: سکته، MI+PAR: سکته+پارافین ۵ دقیقه راه رفتن، MI+TRAIN: سکته + تمرین تناوبی MI+PAR+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+پارافین، MI+VIT: سکته +ویتامین D3 + ۵ دقیقه راه رفتن، MI+VIT+TRAIN: سکته+تمرین تناوبی+ویتامین D3

این کاهش نسبت به گروه شم و ایسکمی معنی دار بود. همچنین مشاهده شد کاسپاز ۳ در موش‌های گروه سکته به قدری کاهش یافته بود که مقدار آن از گروه کنترل سالم نیز کمتر بود (۲۴). خانسوز و همکاران (۱۳۹۹) اثر یک دوره تمرین استقامتی فزاینده بر شاخص‌های تنظیم‌کننده

سونگ و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی خود بیان داشتند که تمرین هوازی با شدت متوسط توانست سبب کاهش معنی دار کاسپاز ۳ گردد (۲۳). جدیدی و همکاران (۱۴۰۰) در تحقیق خود بیان داشتند که تمرین تناوبی شدید مقدار کاسپاز ۳ را در موش‌ها پس از القای ایسکمی کاهش داد،

دهقانی زاده و همکاران نیز (۱۴۰۰) اثر ۸ هفته تمرین مداومی شدت متوسط بر بیان ژن کاسپاز ۳ پس از القای ایسکمی مغزی در بافت مغز را بررسی و مشاهده نمودند،

آپوپتوز سرمی در موش‌های ویستار مبتلا به MI را مورد بررسی قرار دادند آزمودنی‌های پژوهش ۲۰ سر موش نر نژاد ویستار بودند که به دو گروه MI و تمرین MI+MI+VIT



شکل ۱. تصویر گرافیکی وسترن بلاتینگ متغیرهای وابسته و پروتئین رفرنس (b-actin)

مقدار کاسپاز ۳ از گروه ایسکمی کمتر بود اما باز نسبت به گروه تمرین و کنترل سالم بیشتر بود (۲۵). در مقابل سیاهکوهیان و همکاران (۲۰۱۸) پس از ۱۲ هفته تمرین تغییر معنی‌داری در میزان کاسپاز ۳ مشاهده نکردند (۲۰)، احتمالاً شدت تمرین عامل تاثیر گذاری بر نتایج می‌باشد. پروتکل تمرین این بررسی تمرین مداومی بوده و شدت پایین‌تر از پروتکل‌های تمرین تناوبی است. با بررسی پیشینه مشخص می‌شود که تمرینات شدید تناوبی و همچنین مداومی شدت متوسط و بالا اثر بیشتری در کاهش کاسپاز ۳ داشته و با کاهش شدت تمرین اثرگذاری هم کاهش یافته است. همچنین عواملی چون سن موش‌ها و نیز زمان استخراج بافت بر یافته‌ها موثر است (۲۶). کنترل کاسپاز ۳ فرایند پیچیده ای است و چندین مسیر پیام رسانی آپوپتوز را درگیر می‌کند. یکی از سازوکارهای پیشنهادی برای کاهش کاسپاز ۳ در اثر فعالیت ورزشی می‌توان به کاهش عوامل آپوپتوزی مسیر خارجی از جمله

تقسیم شدند. گروه تمرینی پس از القای MI به مدت ۸ هفته تمرین استقامتی فزاینده را اجرا نمود. نتایج نشان داد که کاسپاز ۳، کاسپاز ۸ و سیتوکروم C در گروه تمرین کاهش بیشتری نسبت به گروه کنترل داشت؛ اما فقط متغیر کاسپاز ۸ به طور معنی‌داری بیشتر کاهش یافته بود. محققین نتیجه گرفتند که تمرین ورزشی استقامتی می‌تواند سبب بهبود عوامل آپوپتوزی پس از وقوع MI شود (۱۱). همچنین، باو و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر مکمل‌یاری ویتامین D بر عوامل آپوپتوزی، التهابی و گیرنده‌های ویتامین D را بررسی کردند. نتایج نشان داد که مکمل‌گیری ویتامین D سبب بهبود معنی‌دار عوامل التهابی و آپوپتوزی شد. در موش‌هایی که گیرنده‌های ویتامین D سرکوب شده بود، مشاهده شد که اثر MI بر التهاب و آپوپتوز بیش از سایر موش‌ها بوده و مکمل‌گیری ویتامین D توانسته موجب بهبود افزایش بیان این گیرنده‌ها شود و از طرفی کاسپاز ۳ و دیگر عوامل آپوپتوزی و التهابی را کاهش دهد (۱۶).



TNF- α و اینترلوکین ۶ اشاره نمود که کاهش این موارد در اثر تمرین بلندمدت می‌تواند سبب کاهش بیان ژن و پروتئین کاسپاز ۳ شود. سازوکار دیگر این است که در اثر تمرین بلند مدت پروتئین‌هایی مانند BAX و Bcl-2 دستخوش تغییرات اساسی می‌شوند که در نهایت می‌تواند موجب کاهش پروتئین C و مهار عوامل آپوپتوزی از جمله کاسپاز ۳ گردد. کاهش پتانسیل آپوپتوتیکی میتوکندری متعاقب تمرین در موش‌ها با کاهش رهایش سیتکروم C و Apaf-1 در عضله همراه است که این عوامل سبب کاهش تولید کاسپاز ۳ می‌شوند (۲۳).

همچنین در رابطه با کاسپاز ۸ نتایج نشان‌داد که سبب کاهش معنی‌دار سطح نسبی کاسپاز ۸ نسبت به گروه کنترل شده بود. هر دو مداخله به صورت انفرادی و ترکیبی سبب افزایش معنی‌دار کاسپاز ۸ نسبت به گروه سکنه گردید. نتایج تحقیق حاضر با یافته طالقانی و همکاران (۱۴۰۱)، پیروزی و همکاران (۲۰۱۷) همخوانی دارد (۲۷)، اما با نتایج خانسوز و همکاران (۱۴۰۲)، کیم و همکاران (۲۰۱۸) و اعتمادی و همکاران (۱۴۰۰) همخوانی ندارد (11, 28). در رابطه با تاثیر تمرین و مکمل دهی بر کاسپاز ۸ نتایج متناقضی گزارش شده است. در تحقیق حاضر برعکس شواهد موجود مشاهده شد که کاسپاز ۸ در اثر مکمل دهی و تمرین ورزشی افزایش یافته بود. برخی از تحقیقات از جمله یافته‌های طالقانی و همکاران (۱۴۰۱) و کانگ و همکاران (۲۰۱۷) یافته تحقیق حاضر را تایید می‌کند (۲۷، ۲۹). طالقانی و همکاران (۱۴۰۱) اثر تمرینات استقامتی و مقاومتی بر میزان آپوپتوزیس در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت را بررسی نمودند. این محققین اثر ۱۲ هفته تمرین بر عوامل آپوپتوتیک و ضدآپوپتوتیک را بررسی کردند. این محققین نتیجه‌گیری نمودند که تمرین مقاومتی و استقامتی سبب کاهش BAX و افزایش کاسپاز ۸ و BCL2 شده بود (۲۷). همچنین، پیروزی و همکاران (۲۰۱۷) تاثیر همزمان مکمل دهی ویتامین D و تمرین هوازی بر عوامل آپوپتوتیک را بررسی نمودند. این محققین مشاهده کردند که کاسپاز ۸ و Fas در اثر آپوپتوز در بافت قلبی افزایش یافته بود (۳۰). بر عکس این یافته‌ها، اکثر تحقیقات بیان داشته‌اند که تمرینات ورزشی منظم سبب

کاهش کاسپاز ۸ می‌شود، ولی در تحقیق حاضر و برخی از تحقیقات افزایش این متغیر گزارش شده است. بیشتر تحقیقات کاسپاز ۸ را از کاسپازهای فعال شده در اثر تحریک مسیر خارجی بیان کرده و گزارش نموده‌اند که عوامل ضدآپوپتوزی سبب کاهش سطوح آن می‌شود. این مسیر به مسیر القایی توسط گیرنده‌های مرگ نیز معروف است. گیرنده‌های مرگ در غشای پلاسمایی اکثر سلول‌ها وجود دارد. این گیرنده‌ها زیرمجموعه دسته بزرگ گیرنده‌های فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF- α) هستند. زمانی که این گیرنده‌ها توسط لیگاندهای مربوطه تحریک می‌شود، سبب القای کاسپازها و پیشرفت آپوپتوز می‌شود (۲۹). در مقابل تحقیقاتی وجود دارد که از یافته تحقیق حاضر حمایت می‌کند و بر این باور هستند که کاسپاز ۸ وابسته به محل تحریک دارای نقش آپوپتوزی و ضدآپوپتوزی است. همچنین کاسپاز ۸ علاوه بر مسیر خارجی در مسیر داخلی نیز اثرگذار می‌باشد. مسیر اصلی برای فعال شدن کاسپاز ۸ از طریق فعالیت گیرنده‌های مرگ و مولکول FADD است (27). یکی از علل اصلی این تناقض‌ها در کاسپاز ۸ می‌تواند به نقش دوگانه کاسپاز ۸ در ایجاد آپوپتوز و پیشگیری از آپوپتوز برگردد. برای مثال کانگ و همکاران (۲۰۱۷) در تحقیق خود بیان داشتند که کاسپاز ۸ علاوه بر نقش آپوپتوتیک می‌تواند نقش ضدآپوپتوتیکی در موقعیت‌های مختلف داشته‌باشد. برای مثال هنگام القای TNF/NGF کاسپاز ۸ نقش آپوپتوتیکی داشته و می‌تواند به حذف سلول‌های آسیب‌دیده و مبتلا کمک کرده و عملکرد لکوسیت را حفظ نماید. همچنین در کبد دیده‌شده که نقش آپوپتوتیکی آن برای سم‌زدایی سلول‌های مسموم نقش حیاتی دارد. گزارش شده است که تحریک مسیر خارجی آپوپتوز سبب افزایش بیان ژن کاسپاز ۸ می‌شود اما کاسپاز ۸ اگر مستقل از این مسیر افزایش یابد ممکن است سبب مهار آپوپتوز گردد که مطالعه مسیرهای مستقل نیازمند شواهد بیشتری است (۲۹).

یکی از سازوکارهای افزایش کاسپاز ۸ در بافت قلبی افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است. برخی از تحقیقات نشان‌داده که کاسپاز ۸ ممکن است از مسیرهای دیگر مانند افزایش فشار اکسایش فعال گردد. افزایش کاسپاز ۸



نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مکمل‌گیری ویتامین D3 در کنار تمرین تناوبی شدت متوسط قادر است عوامل آغازین و اجرایی آپوپتوز یعنی کاسپاز ۳ و ۸ را به طور معنی‌داری تغییر دهد و این تغییرات به گونه‌ای بود که میانگین متغیرها در گروه‌های تیمار به سمت موش‌های کنترل سالم گرایش داشت و این نشانه تاثیر مثبت تمرین تناوبی و ویتامین D3 و اثر هم‌افزایی دو متغیر در بهبود آپوپتوز ایجادشده متعاقب القای سخته می‌باشد.

تعارض منافع

نتایج مقاله تضاد و تعارض منافی با هیچ موسسه یا شرکتی ندارد.

حمایت مالی

مقاله مستخرج از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد بوده و تحت هیچ حمایت مالی نبود.

ملاحظات اخلاقی و کد اخلاق

در این پژوهش ملاحظات اخلاقی رعایت‌شده و با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1402.226 مورد تصویب قرار گرفته است.

می‌تواند سبب سرکوب کامپلکس FLIP گردد که این پروتئین از لیگاند FASL ممانعت می‌کند. در واقع FASL پپتید گلیکوزیلاتی است که در خارج غشا بوده و از خانواده TNF-a بودخه و در مسیر خارجی آپوپتوز نقش اساسی دارد (۳۰). تمرین ورزشی از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش پتانسیل تولید ROS از یک سو و از سوی دیگر تاثیر مستقیم بر بهبود عملکرد و ساختار میتوکندریایی سبب بهبود آپوپتوزیس شده (۱۶) و احتمالاً ویتامین D به علت نقش آنتی‌اکسیدانی که دارد و از سوی دیگر نقش ضدالتهابی که دارد سبب حفاظت از ساختار غشا سلول و میتوکندری در برابر آسیب‌هایی می‌شود که ممکن است سبب آپوپتوزیس و از بین رفتن یکپارچگی سلول و حتی قطعه‌قطعه شدن DNA گردد. همچنین، شواهدی دال بر این وجود دارد که ویتامین D می‌تواند سبب کاهش متوسط استرس اکسایش و کاهش پروتئولیز در بافت‌ها می‌شود. تحقیقات در رابطه با تاثیر مستقیم ویتامین D بر آپوپتوزیس اندک است. برخی از محققین بر این باور هستند که ویتامین D با مهار فعال‌سازی NF-Kb از طریق TNF-a و کاهش فعالیت IKBa می‌شود. کاهش فعالیت این مسیر می‌تواند سبب کاهش تولید کاسپاز ۸ و در نهایت افزایش BCL2 گردد (۳۱).

نتیجه‌گیری

References:

1. Dod R, Rajendran A, Kathrotia M, Clarke A, Dodani S. Cardiovascular disease in south asian immigrants: a review of dysfunctional HDL as a potential marker. *Journal of racial and ethnic health disparities*. 2023;10(3):1194-200.
2. Chow LS, Gerszten RE, Taylor JM, Pedersen BK, Van Praag H, Trappe S, et al. Exerkines in health, resilience and disease. *Nature Reviews Endocrinology*. 2022;18(5):273-89.
3. Sahni M, Kumar R, Thakur S, Bhardwaj R. Clinical profile, risk factors and short term outcome of acute myocardial infraction in females: A hospital based study. *Heart India*. 2013;1(3):73-7.
4. Muse ED, Kramer ER, Wang H, Barrett P, Parviz F, Novotny MA, et al. A whole blood molecular signature for acute myocardial infarction. *Scientific reports*. 2017;7(1):12268.
5. van Dijk A, Krijnen PA, Vermond RA, Pronk A, Spreuwenberg M, Visser FC, et al. Inhibition of type 2A secretory phospholipase A 2 reduces death of cardiomyocytes in acute myocardial infarction. *Apoptosis*. 2009;14:753-63.
6. Hashemi M, Chitayat S, Ande SR, Chazin WJ. Apoptosis-inducing activity of the S100A8/A9 heterodimer. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*. 2009;8(4):318-28.



7. Tehrani BJ, Arefi RG. The effect of eight weeks of aerobic interval training and jujube extract on vascular endothelial growth factor in heart tissue of male Wistar rats with myocardial infarction. 2020. 3 (1):1-11. [in persian]
8. Weng T-P, Huang S-C, Chuang Y-F, Wang J-S. Effects of interval and continuous exercise training on CD4 lymphocyte apoptotic and autophagic responses to hypoxic stress in sedentary men. PloS one. 2013;8(11):e80248.
9. Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. Sports medicine. 2015;45:679-92.
10. Mohammadi Moghaddam A, Tadibi V, Behpour N, Nazari A. Effects of pretreatment of continuous and intermittent endurance training on myocardial osteopontin gene expression in male Wistar rats following induction of myocardial infarction. Yafteh Journal for Medical Sciences. 2019;21(2):1-13. [in persian]
11. MalekiPoya M, Palizvan MR, Saremi A. The Effect of Eight Weeks of Incremental Endurance Training on The Levels of Matrix Metalloproteinase-1 (MMP1) and Thrombospondine-1 (TSP1) in the Rats, Induced by Myocardial Infarction by Isoproterenol. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2019;22(3):118-28. [in persian]
12. Abdehvand SZ, Dehkordi KJ, Taghian F. The Effect of High-Intensity Interval Training and Quercetin Nanoliposome Consumption on Angiogenesis Indexes in the Heart Tissue of Myocardial Infarction Rats. Hormozgan Medical Journal. 2023;27 (3),40-45.
13. Le TY, Ogawa M, Kizana E, Gunton JE, Chong JJ. Vitamin D improves cardiac function after myocardial infarction through modulation of resident cardiac progenitor cells. Heart, Lung and Circulation. 2018;27(8):967-75.
14. Maestri E, Formoso G, Da Cas R, Mammarella F, Guerrizio MA, Trotta F. Vitamin D and coronavirus: a new field of use? Recent Progressi in Medicina. 2020;111(4):253-6.
15. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. Archives of internal medicine. 2008;168(11):1174-80.
16. Bae S, Singh SS, Yu H, Lee JY, Cho BR, Kang PM. Vitamin D signaling pathway plays an important role in the development of heart failure after myocardial infarction. Journal of Applied Physiology. 2013;114(8):979-87.
17. Lee S-D, Shyu W-C, Cheng I-S, Kuo C-H, Chan Y-S, Lin Y-M, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2013;23(6):566-73.
18. sanaz h, Reza N, Abasali G. The effect of 8 weeks of vitamin D supplementation and aerobic exercise on sirtuin-1 protein levels and oxidative stress markers of myocardial tissue in middle-aged male rats. J of ex and sp physio. 2022;33:12-22.
19. Rouzbahani A, Rahmati-Ahmadabad S. The effect of high-intensity interval training along with curcumin consumption on mitochondrial caspase 3 and 9 gene expression of cardiomyocyte in male rat of the stroke model. Feyz Medical Sciences Journal. 2023;27(3):254-61.[in persian]
20. Siahkohian M, Asgharpour-Arshad M, Bolboli L, Jafari A, Hesari FS. Effect of 12-weeks aerobic training on some indices of skeletal muscle apoptosis in male rats. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 2017;39(6):35-43. [in persian]
21. Ghane A, Abednatanzi H, Saghebjo M, Hedayati M. The effect of high-intensity interval training and high-protein diet on the apoptotic indices of caspase-3, Bax, and Bcl-2 in the cardiac tissue of obese male rats. Daneshvar Medicine. 2022;30(1):59-71. [in persian]
22. Norouzi Kamareh MH, Zolfaghari MR, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. Effect of 12 weeks aerobic training and oral green tea extract on cardiac caspase-3 expression in aged male rats. Journal of Sport Biosciences. 2018;10(2):221-35. [in persian]
23. Song W, Kwak H-B, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. Antioxidants & redox signaling. 2006;8(3-4):517-28.
24. Pouzesh Jadidi G, Seifi-skishahr F, Bolboli L, Azali Alamdari K, Pourrahim A. Effects of HIIT and Curcumin Supplementation on MiR-208, MiR-499 and HSP60 Expression Level in Rat Model of Isoproterenol Induced Myocardial Infraction. Sport Physiology. 2021;13(52):85-110.



25. Dehghanizadeh B, Fallahmohammadi Z, Kalani AT, Mirghani SJ. Effects of Aerobic Training on Caspase-3 Expression and Apoptosis in Hippocampus of Rats after Brain Ischemic Stroke. J of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2022.
26. Hou W, Han J, Lu C, Goldstein LA, Rabinowich H. Autophagic degradation of active caspase-8: a crosstalk mechanism between autophagy and apoptosis. Autophagy. 2010;6(7):891-900.
27. Montazery-Taleghani H, Shakeri N, Ebrahim K, Souri R, Gholami M. The Effect of Endurance and Resistance Training on Apoptosis Activity and Collagen Deposition in Heart Tissue of Diabetic Rats. J Ardabil Univ Med Sci. 2022;22(2):186-203. [in persian]
28. Kim HS, Lee JW, Soung YH, Park WS, Kim SY, Lee JH, et al. Inactivating mutations of caspase-8 gene in colorectal carcinomas. Gastroenterology. 2003;125(3):708-15.
29. Kang T-B, Ben-Moshe T, Varfolomeev EE, Pewzner-Jung Y, Yogeve N, Jurewicz A, et al. Caspase-8 serves both apoptotic and nonapoptotic roles. J of Immunology. 2004;173(5):2976-84.
30. Pirooz M, Azarbayjani MA, Peeri M, Hosseini SA. The effect of aerobic training with vitamin D on extrinsic pathway of apoptosis and anti-apoptotic indices of heart tissue of rats exposed to oxidative damage induced by H₂O₂. Report of Health Care. 2017;3(1):30-40.
31. Kantari C, Walczak H. Caspase-8 and bid: caught in the act between death receptors and mitochondria. Biochim Biophys Acta. 2011;1813(4):558-63.



The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Interval Training and Vitamin D Intake on Caspase 3 and Caspase 8 Gene Expression in Male Desert Rats Following Induction of Cardiac Infarction

Faezeh Vahidmoghadam¹, Maghsoud Peeri^{*2}, Shima Ababzadeh³, Forouzan Fattahi Masror⁴

1. PhD student, Department of Sport Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Sport Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Department of Tissue Engineering, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran
4. Assistant Professor, Department of Sport Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Type of Article Original Research

Received: 2024/12/19
Accepted: 2025/03/12

***Corresponding Author:**
Maghsoud Peeri,
Professor, Department of
Sports Physiology, Central
Tehran Branch, Islamic
Azad University, Tehran,
Iran

TEL: 09126511895

Email: (m.peeri@gmail.com)

Abstract

Introduction: The aim of this study was to investigate the effect of an eight-week moderate intensity interval training program and vitamin D intake on caspase 3 and caspase 8 in male desert mice following induction of cardiac infarction.

Methods: Research samples were 56 Wistar male desert rats, which were randomly divided into 7 groups: a control and healthy group, an infarcted Group+5 minutes walking, an infarcted group + vitamin D+5 minutes walking, an infarcted group +interval training, an infarcted group + interval training + vitamin D, an infarcted group + interval training + oral paraffin vehicle, and an infarcted group + oral paraffin vehicle + 5 minutes of walking. The mice received supplementation, a placebo, and training in specific groups. For statistical analysis, the one-way analysis of variance test was used with the Tukey post-hoc test.

Results: The results showed that the myocardial infarction caused a significant increase in the relative level of caspase-3 and a significant decrease in the relative level of caspase-8 compared to the control group. Both individual and combined interventions caused a significant decrease in caspase3 and a significant increase in caspase8 compared to the infarcted group ($p=0.001$). There was no significant difference between the supplement-only and training-only groups. But the training+supplemental group showed a greater reduction in caspase3 and a greater increase in caspase 8 compared to the other two groups ($p=0.001$).

Conclusion: The results of this study show that exercise training and supplementation with vitamin D cause a significant change in apoptosis factors, but the combination of the two interventions has a synergistic effect and works better than the individual application of each intervention.

Keywords: Apoptosis, Caspase 3, Caspase 8, Heart Infarction, Interval Training, Myocardial Infarction, Vitamin D

► Please cite this article as: Vahidmoghadam F, Peeri M, Ababzadeh Sh, Fattahi Masror F. The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Interval Training and Vitamin D Intake on Caspase 3 and Caspase 8 Gene Expression in Male Desert Rats Following Induction of Cardiac Infarction. J Neyshabur Univ Med Sci 2024;12(2):44-57.