اثر تمرین تداومی بر میزان پروتئین‌های Caspase3, BCL-2, BAX عروق در رت‌های با مسمومیت القایی ناشی از دوزهای مختلف پراکسید هیدروژن (مداخله‌ای تجربی و شبه تجربی)

جاوید مهتابی علمداری[۱]، حسن متین همایی [۲]، پروین فرزانگی [۳]

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۱۰/۰۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۰۲/۰۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: آپوپتوزیس، مرگ سازمان‌یافته سلولی است که عوامل مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی باعث القای آن می‌گردد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین تداومی بر میزان پروتئین‌های BCL-2,Caspse 3،BAX عروق در رت‌های با مسمومیت القایی ناشی از دوزهای مختلف پراکسید هیدروژنمی‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر رت نر و بالغ به‌طور تصادفی به پنج گروه (n=۸) تقسیم شدند: (۱) تزریق یک میلی مول H_2O_2 به‌صورت درون صفاقی (H1)، (۲): تزریق دو میلی مول H_2O_2 به‌صورت درون صفاقی (H2)، (۳): تزریق یک میلی مول H2O2 به‌صورت درون صفاقی همراه با انجام تمرین ورزشی منظم (H1E)، (۴): تزریق دو میلی مول H2O2 به‌صورت درون صفاقی همراه با انجام تمرین ورزشی منظم ((H2E(2)، (۵): کنترل (C). گروه‌های تمرینی به‌طور روزانه فعالیت تمرینی منظم بر روی تردمیل را به مدت ۸ هفته (هفته اول و دوم، ۳۰ دقیقه- هفته سوم و چهارم، ۴۵ دقیقه- هفته پنجم تا هستم، ۶۰ دقیقه) انجام دادند. سپس همه رت‌ها بعد از بی‌هوشی قربانی شده و نمونه پروتئین‌های BAX, BCL-2, Caspase 3 با روش الایزا اندازه‌گیری شد. برای تعیین اثر هر یک از متغیرهای مستقل بر شاخص‌های موردنظر، از آزمون ANOVA Two Way استفاده شد همچنین برای بررسی بین گروهی هر یک از متغیرها آزمون ANOVA One Way و آزمون تعقیبی بونفرونی بکار گرفته شد. و معنی‌داری به‌صورت P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: انجام تمرینات تداومی در رت‌ها نشان داد که میزان پروتئین BAX نسبت به گروه تیمار با ۱ و ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن کاهش معنی‌داری پیدا نکرده است. انجام فعالیت ورزشی به‌تنهایی و همراه با تزریق ۱ و ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن باعث افزایش مقدار پروتئین BCL -2 گردید که این افزایش نیز معنی‌دار نبود، کاهش میزان Caspase3,BAX و نسبت BAX/BCL-2 در هر دو گروهی که یک و دو میلی مولار پراکسید هیدروژن دریافت کرده بودند، شد که فقط تغییرات Caspase3 (P=0.014) و نسبت BAX/BCL2(p=0.0002) در گروه‌هایی که ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن دریافت کرده بودند، معنی‌دار بود (P≤ ۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری: تمرینات تداومی احتمالاً از طریق کاهش Caspase3، نسبت BAX/BCL-2 و افزایش BCL-2، باعث کاهش آپوپتوز عروقی می‌گردد که احتمال می‌رود از آسیب وارده به بافت عروقی جلوگیری کند.

کلیدواژه‌ها: تمرین تداومی، کاسپاز ۳،BAX،BCL-2، اندوتلیال

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره سوم، ص ۱۶۸-۱۵۸، خرداد ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: :تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن:
Email: hasanmatinhomaee@gmail.com

مقدمه

آپوپتوز[۱] یک رخداد طبیعی سلولی است که به‌واسطه آن میزان رشد و تکثیر سلول‌های بدن تنظیم و از ایجاد سرطان جلوگیری می‌شود. سیستم ایمنی با به‌کارگیری این فرایند بسیاری از اعمال ضد آنتی‌ژنی خود را انجام می‌دهد. مولکول‌های متعددی در فرآیند آپوپتوز درگیر هستند. تحریک

[۱] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)
[۳] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

[1]Apoptosis

مولکول‌های پرو آپوپتوزی[2] و یا مهار فاکتورهای آنتی آپوپتوزی بستگی به نوع سلول و محرک دارد(۱). درحالی‌که پروتئین‌های آپوپتوتیک آپوپتوز را با جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c از میتو کندری تنظیم می‌کند، پروتئین‌های پیش آپوپتوتیک موجب تسریع رهاسازی آن می‌شوند (۲). یکی از فاکتورهای اصلی که مشخص می‌کند سلول زنده می‌ماند یا دچار آپوپتوز می‌گردد، نسبت تعادل پروتئین‌های پیش آپوپتوتیکو پروتئین‌های ضد آپوپتوتیک می‌باشد (۳، ۴). پروتئین‌های خانواده BCL-2 ازجمله پروتئین‌های کلیدی هستند که نقش حیاتی در تنظیم آپوپتوز ایفا می‌کنند. خانواده BCL-2 به پروتئین‌های ضد آپوپتوز ,BCL-XL BCL-2 و پروتئین‌های پروآپوپتیک BAX طبقه‌بندی می‌شوند، این پروتئین‌ها نقش حیاتی در تنظیم مسیر آپوپتوزی ذاتی و اصلی میتوکندری ایفا می‌کنند(۵). پروتئین BCL-2 از طریق حفظ یکپارچگی سلولی غشاء میتوکندری با خارج ساختن یون‌های H^+، به Apaf-1متصل می‌شود و فعال‌سازی کاسپاز ۹ را مهار می‌کند(۵، ۶). بااین‌وجود پروتئین BAX می‌تواند عمل BCL-2 را خنثی کند(۷). به این دلیل در بیشتر مطالعات، جهت سنجش آپوپتوز، هردوی این فاکتور را ارزیابی می‌کنند (۸). در طول چند دهه گذشته محققین گزارش کرده‌اند که تمرینات منظم و با شدت متوسط می‌تواند آپوپتوز را در کروموزم‌های افراد بزرگ‌سال کاهش دهد(۹، ۱۰). بااین‌حال نتایج مطالعات ضدونقیض است، دراین‌باره پترسون و همکاران(۱۱) نشان دادند که ۹ هفته تمرین با شدت متوسط می‌تواند باعث کاهش سطوح پروتئین BAX، فعالیت کاسپاز و قطعه‌قطعه شدن DNA در بافت قلبی موش‌های چاق شود. سلول‌های اندوتلیال نقش اساسی در حفظ هموستاز عروقی دارند و در بسیاری از فرآیندهای عروقی ازجمله انقباض عروق، رگ‌زایی، پاسخ‌های التهابی و اتساع عروقی درگیر می‌شوند. مطالعات نشان داده است که اختلال عملکرد اندوتلیال در پاتوژنز بیماری‌های مختلف قلبی عروقی نقش دارد. بسیاری از فاکتورها می‌توانند سبب اختلال در سلول‌های اندوتلیال شوند و درنتیجه آپوپتوز ایجاد نمایند.آپوپتوز سلول‌های اندوتلیالبه‌عنوان یک ویژگی مشترک اختلال عملکرد اندوتلیال در نظر گرفته شده است(۱۲). افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و استرس اکسیداتیو نتیجه‌ی عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر بوده و عاملی در جهت پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد (۱۳). پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به‌عنوان یک مولد ROS نقش بسیار مهمی در اختلالات عروقی ایفا می‌کند. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که پراکسید هیدروژن باعث صدمه، القاء آپوپتوز، اختلال عملکردی اندوتلیال و در نتیجه آسیب سلولی می‌شود(۱۴) . جانرو و همکاران دریافتند که آپوپتوز کاردیومیوسیت ها[3] به میزان H_2O_2 تولید شده بستگی دارد که با افزایش میزان تولید آب اکسیژنه پروتئینهایHMBG1[4]افزایش یافته و متعاقب آن آسیب سلولی و استرس اکسیداتیو و نهایتاً آپوپتوز سلول‌ها قلبی بیشتر می‌شود(۱۵). مطالعات نشان دادند که سطوح بالای H_2O_2 (معمولاً بیشتراز ۵۰ میکرومول) باعث شروع سایتوتوکسیک در سلول‌های حیوانات،گیاهان و باکتری‌های کشت داده شده در محیط آزمایشگاه شد. خطرات H_2O_2 به صورت گسترده موقعی بروز پیدا می‌کند که به صورت رادیکال هیدروکسیل فعال (OH^-)شده باشد. در طول ورزش رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید می‌گردند که منبع اصلی آنرا میتوکندری‌ها پیشنهاد می‌کنند. منبع اصلی انرژی عضلات میوکاردی از میتوکندری‌ها تأمین می‌شود در این صورت در طول تمرینات با شدت متوسط H_2O_2/O_2^- بیشتری تولید شده بنابراین سیتوکروم c داخل سیتوپلاسم افزایش می‌یابد، سیتوکرومc یک پروتئین حاوی هم و محلول در آب است که از طریق میان کنش با فسفولیپید کاردیولیپین[5] به قسمت بیرونی غشای داخلی میتوکندری متصل می‌شود. رها شدن سیتوکرومc از میتوکندری به سیتوزول با اکسید شدن کاردیولیپین در لایه بیرونی غشای میتوکندری توسط ROS تحقق می‌یابد. ROS می‌تواند منجر به القای آپوپتوز وابسته به JNK[6]گردد که القای آپوپتوز به میزان و مدت زمان فعالیت آن در حضور ROS بستگی دارد(۱۶). در چند سال اخیر تأثیر تمرینات مختلف بر روی آپوپتوز مورد توجه بسیاری از پژوهشگران علوم ورزشی بوده و اعتقاد بر این است که فعالیت ورزشی منظم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود(۱۷). محققین نشان داند که تمرین با شدت متوسط، باعث مهار بیان پروتئین BAX و افزایش بیان پروتئین Bcl2 در موش‌های مسن شده است(۱۸). انجام تمرین استقامتی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را توسعه می‌دهد و القای اتوفاژی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از تمرین استقامتی، آپوپتوز غیر ضروری را مهار کرده و محیط مناسبی را برای فعالیت سلول‌های کبدی فراهم (۱۹). همچنین نشان داده شده است که تمرین ورزشی قبل از ایسکمی موجب کاهش نسبت پروتئین‌های پیش آپوپتوزی و پروتئین‌های

[2]Pro apoptosis
[3]-Cardiomyocites
[4] - High mobility group box 1
[5]- Cardiolipin
[6] -C-Jun N-terminal kinases

ضد آپوپتوزی (BAX/BCL-2) و کاهش فعال سازی کاسپاز۳(کاسپاز مسیر نهایی آپوپتوز)در ناحیه هیپوکامپ می‌شود(۲۰). هشت هفته تمرین استقامتی می‌تواند بیان ژن bcl2 را افزایش داده و از سوی دیگر باعثکاهش بیان ژن Bax در بافت قلبی موش‌های در معرض کادمیوم شود(۲۱).تمرین ورزشی می‌تواند آپوپتوز را از طریق القاء سیگنالینگ مسیر ذاتی آنتی آپوپتوتیک BCL-2 تنظیم نمایند (۲۲). افزایش نیازهای مکانیکی و متابولیکی توسط فعالیت ورزشی در چندین اندام و بافت‌ها بویژه عضلات اسکلتی و قلبی ممکن است ظرفیت هموستازی آن‌ها را در هم شکند و موجب افزایش بیان فاکتورهای آسیب/مرگ سلولی، التهابی و تغییرات ایمونولوژیک در خون می‌شود (۲۳، ۲۴). ولی بااین‌حال در برخی از نتایج این مطالعات اختلاف نظر وجود دارد، پترسون و همکاران نشان دادند که ۹ هفته تمرین با شدت متوسط می‌تواند باعث کاهش سطوح پروتئین BAX، فعالیت کاسپاز و قطعه قطعه شدن DNA در بافت قلبی موش‌های چاق شود(۱۱). در طول انجام تمرینات تداومی رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید می‌شود و با تزریق H2O2 اضافی به داخل خون غلظت H2O2 پلاسمایی دو چندان شده لذا میزان H2O2 سیتوزولی افزایش یافته و با توجه به موارد ذکر شده پروتئین‌های پیش برنده آپوپتوز و ضد آپوپتوز فعال خواهند شد و از سوی دیگر ثابت شده است که انجام این گونه از تمرینات باعث افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی، حجم ضربه‌ای، هایپرتروفی بطن چپ و کارایی قلبی عروقی می‌گر(28-25) . کواندری و همکاران نشان دادند که تمرین در تردمیل باعث افزایش متغیرهای آنتی آپوپتوزی بافت قلبی بعد از آسیب ایسکمیرپرفیوژن(IR) موش‌ها شده بود(۲۹). لذا با توجه به موارد ذکر شده و اینکه تمرینات ورزشی متوسط از فعالیت برخی متغیرهای آپوپتوزیسی جلوگیری می‌کند همچنین وجود برخی اختلاف نظرها در این زمینه ، تحقیقی لازم است تا اثر انجام تمرینات ورزشی تداومی را بر نشانگرهای آپوپتوزی ناشی از تزریق دوزهای مختلف پراکسید هیدروژن دربافت عروقی موش‌های مسموم شده با پراکسید هیدروژن مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی ۴۰ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار از بین ۷۰ موش با وزن ۲۰±۲۲۰ گرم از مرکزحیوانات دانشگاه شیراز تهیه شدند. حجم نمونه‌ها نیز بر اساس اندازه اثر و با استفاده از فرمول کوکران محاسبه شد. کلیه موش‌های نر سالم و بالغ نژاد ویستار موجود در دانشگاه علوم پزشکی شیراز که سنی ما بین ۸ الی ۱۲ هفته داشتند انتخاب شدند و بعد به دانشگاه علوم پزشکی کرمان برای انجام تحقیق انتقال داده شدند. رت‌ها در قفس‌های پلی پروپیلن، cm^3 ۴۲×۳۰×۱۶ تحت شرایط استاندارد و کنترل دمایی (۲±۲۲c) و چرخه متناوب روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزادانه به آب و غذا (شرکت غذای دام پارس، تهران، ایران) نگهداری شدند. همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد. سپس رتها به‌طور تصادفی به پنج گروه (n=۸) گروه (۱): تزریق یک میلی مول H_2O_2 به‌صورت درون صفاقی ((H1، گروه (۲): تزریق دو میلی مول H_2O_2 به‌صورت درون صفاقی ((H2گروه (۳): تزریق یک میلی مول H2O2 به‌صورت درون صفاقی همراه با انجام تمرین ورزشی منظم (H1E)، گروه (۴): تزریق دو میلی مول H2O2 به‌صورت درون صفاقی همراه با انجام تمرین ورزشی منظم ((H2E(2)، گروه (۵): کنترل (C). تجویزها به صورت ۳ بار در هفته در روزهای زوج هر هفته انجام شد.

رت‌های گروه H1E، H2E فعالیت تمرینی منظم بطور روزانه بر روی تردمیل به مدت ۸ هفته انجام دادند (جدول شماره ۱)، رت ها در هفته اول با سرعت m/min ۸ و شیب ۱۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل تمرین کردند، در هفته دوم با سرعت ۱۲m/min با شیب و زمان مشابه، در هفته سوم با سرعت ۱۶m/min با شیب مشابه به مدت ۴۵ دقیقه و در چهارمین هفته با سرعت ۲۰m/min با شیب مشابه به مدت ۴۵ دقیقه تمرین کردند. طی هفته‌های پنجم تا هشتم رت‌ها در سرعت ۲۰m/min با زاویه ده درجه به مدت ۶۰ دقیقه هر روز تمرین داده شد(۳۰). ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه پروتکل، جهت اجتناب از سهم زیاد تولید ROS درونزا (۳۱) و بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی، رت‌ها با استنشاق کلروفرم بیهوش و سپس به وسیله خونگیری مستقیم از قلب، قربانی و بافت عروقی آئورت از بدن حیوان خارج شد و بعدجهت استفاده‌های بعدی در تانک ازت یا یخچال ۸۰- درجه نگهداری شد. سپس بافت از یخچال خارج و بلافاصله با یک بافر مناسب به نام بافر سالین فسفات (PBS) مخلوط شد. اینکار بوسیله دستگاه هموژنایزر مخلوط بافت/بافر طی چندین سیکل هموژنیزه (خرد)و با دستگاه سانتریفوژ یخچال دار با دمای ۴ درجه سانتی گراد و دور ۱۲ هزار به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی آن به نام سوپر ناتانت بوسیله لوله‌ای از مخلوط جدا و دریخچال با دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. ابتدا پروتئین تام مورد اندازه گیری قرار گرفت. به‌طوری که با روش استاندارد برد فورد و با استفاده از محلولی به نام بووین سرم آلبومین (Bovine Serum Albumin) میزان غلظت پروتئین‌های BAX, BCL-2وCaspas-3 درمایع رویی حاصل از هموژنایز بافت آئورت، با استفاده از کیت‌های الایزای ساخت شرکت Bioassay Technology Laboratory و به ترتیب

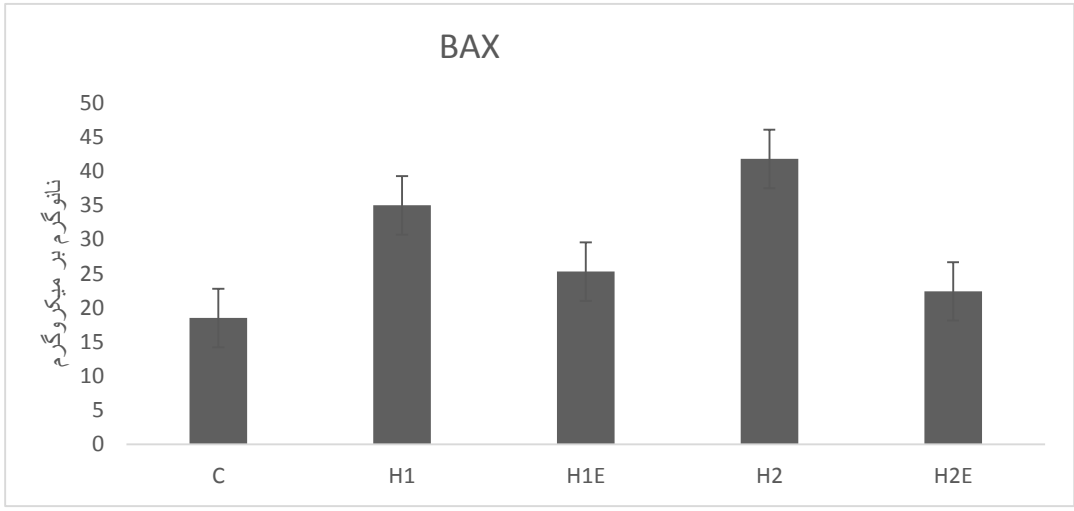
با حساسیت ۱/۱۵، ۰/۱۵، ۰/۰۵۱ نانوگرم در میلی لیتر و مطابق با دستورالعمل کارخانه سازنده ارزیابی گردید. نتایج بدست آمده از آزمایشات الایزا وارد نرم افزارSPSS ورژن ۱۹ شدند. . برای تعیین تأثیر هر یک از متغیرهای مستقل(تمرین، تزریق H_2O_2 و یا اثر توام آنها) بر شاخص‌های موردنظر، از آزمونANOVA Two Way استفاده شد و همچنین بررسی بین گروهی هر یک از متغیرها با استفاده از آزمون ANOVA One Way با آزمون تعقیبی BONFERRONI استفاده شد. نتایج به‌صورت Mean±Std گزارش شده‌اند و سطح معنی‌داری نیز به‌صورت ($p< ۰/۰۵$)در نظر گرفته شد.

جدول (۱): پروتکل هشت هفته تمرین تداومی

هفته	سرعت (متر/ دقیقه)	شیب (درجه)	زمان (دقیقه)
۱	۸	۱۰	۳۰
۲	۱۲	۱۰	۳۰
۳	۱۶	۱۰	۴۵
۴	۲۰	۱۰	۴۵
۵	۲۰	۱۰	۶۰
۶	۲۰	۱۰	۶۰
۷	۲۰	۱۰	۶۰
۸	۲۰	۱۰	۶۰

یافته‌ها

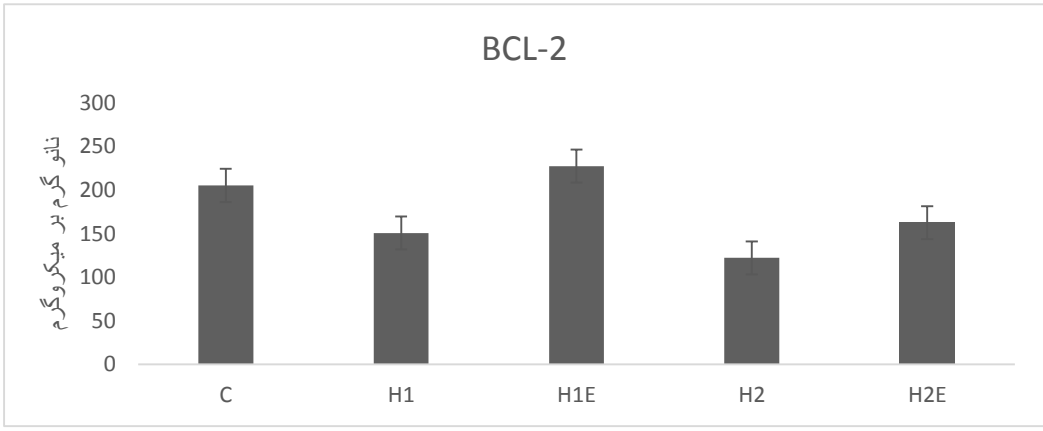
نتایج حاصل از بررسی میزان پروتئین BAX در شکل شماره ۱ آورده شده است. مقدار پروتئین BAX درگروه H1 در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p = ۰/۰۶۳$). همچنین در گروه H2 در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنا داری نشان داده نشد ($p=۰/۱۵۴$).



شکل(۱): مقدار پروتئین BAX گروه‌های مختلف

میزان پروتئین BAX در گروه H1E در مقایسه باگروهH1 تفاوت معنی‌داری نداشت ($p = ۰/۶۵۰$). در گروه H2E نیز تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین BAX در مقایسه با گروه H2 نشان داده نشد ($p = ۰/۲۱۲$) (شکل شماره ۱).

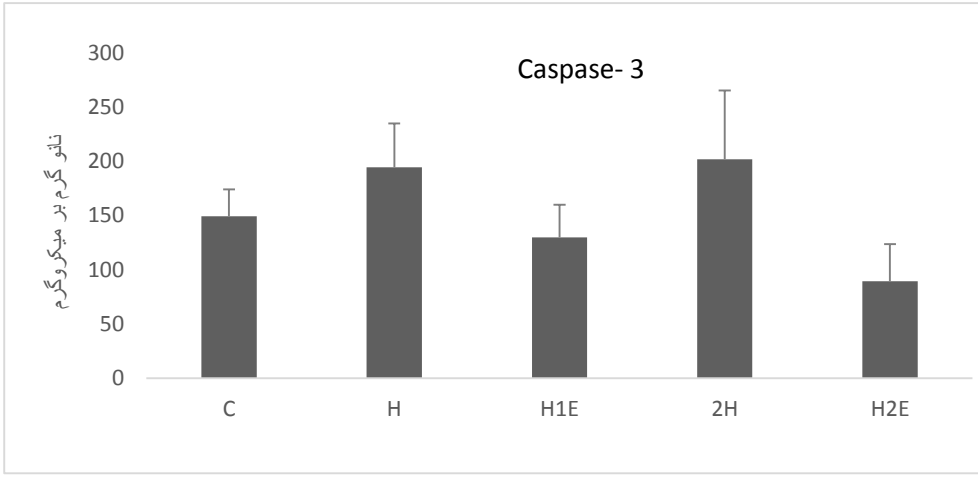
نتایج حاصل از بررسی میزان پروتئین BCL-2 درشکل شماره ۲ نشان داده شده است. مقدار پروتئین BCL-2 در گروه H1E در مقایسه با گروه H1 تفاوت معنی‌داری نداشت (p = ۰/۳۳۴). همچنین مقدار پروتئین BCL-2 در گروه H1 نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری (p = ۰/۷۳۱) نداشت.



شکل(۲): مقدارپروتئین BCL-2 در گروههای مختلف

از طرفی مقدار پروتئین BCL-2 در گروه H2E در مقایسه باگروه H2 تفاوت معنی‌داری نداشت (p = ۰/۲۹۱). همچنین مقدار پروتئین BCL-2 در گروه H2E (p = ۰/۱۴۳) در مقایسه با گروه کنترل تفاوتی نشان نداد (شکل شماره ۲).

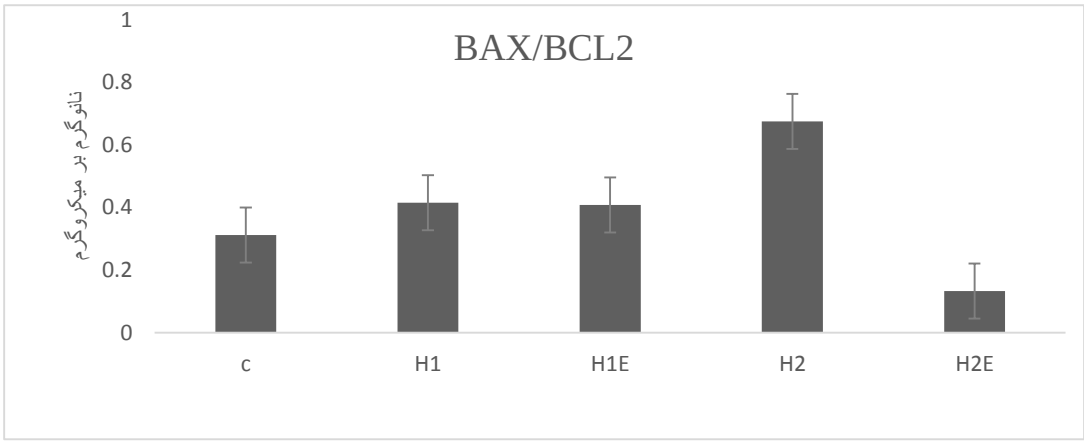
نتایج حاصل از بررسی میزان پروتئین کاسپاز-۳ درشکل شماره ۳ آورده شده‌اند. گروه‌های H2 و H1 سبب افزایش کاسپاز-۳ نسبت به سایر گروه‌ها شدند.



شکل(۳): مقدارپروتئین Caspase3 در گروه‌های مختلف

میزان پروتئین کاسپاز-۳ درگروه H1E در مقایسه با گروه H1 تفاوت نداشت (p = ۰/۶۳۰). همچنین در گروه H1 مقدار پروتئین کاسپاز-۳ در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p = ۰/۹۴۵). از طرفی، مقدار پروتئین کاسپاز-۳ در گروه H2E (p = ۰/۰۱۴) بطور معنی‌داری کمتر از گروه H2 بود. همچنین در گروهH2 (p = ۰/۱۲۷) مقدار پروتئین کاسپاز-۳ در مقایسه با گروه کنترل تفاوتی نشان نداد (شکل شماره ۳).

نتایج حاصل از بررسی نسبت پروتئین BAX/BCL-2 در شکل شماره ۴ آورده شده است. نسبت پروتئین BAX/BCL-2 در گروه H1E در مقایسه با گروه H1 کاهش معنی‌داری نشان نداد. (p = ۰/۰۵۵). همچنین در گروه H1 در مقایسه با گروهکنترل تفاوتی نداشت (p = ۰/۰۹۷).



شکل(۴): نسبت پروتئینهای BAX/BCL-2 در گروههای مختلف

از طرفی، نسبت پروتئینی BAX/BCL-2 در گروه H2E به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه H2 بود (p = ۰/۰۰۲). همچنین نسبت پروتئینی BAX/BCL-2 در گروه H2(p = ۰/۱۵۳) در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (شکل شماره ۴).

بحث و نتیجه گیری

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان پروتئین BAX نسبت به گروه تیمار با ۱ و ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن با انجام تمرینات تداومی در رت‌ها، کاهش معنی‌داری پیدا نکرده است. مقدار پروتئین BCL-2 در گروه‌هایی که به ترتیب ۱ و ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن دریافت کردند کاهش یافت. انجام فعالیت ورزشی به‌تنهایی و همراه با تزریق ۱ و ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن باعث افزایش مقدار پروتئین BCL -2 گردید که این افزایش نیز معنی‌دار نبود. مقدار پروتئین کاسپاز-۳ در گروهی که ۱ میلی مولار پراکسید هیدروژن دریافت کردند و در گروهی که فعالیت ورزشی انجام دادند تغییرات معنی‌داری نشان نداد، از طرفی در گروهی که ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن دریافت کردند، انجام فعالیت ورزشی سبب کاهش معنی‌دار پروتئین کاسپاز-۳ نسبت به گروه H2 شد. نسبت پروتئین BAX/BCL-2 در گروه H1E در مقایسه با گروه H1 کاهش معنی‌داری نشان نداد، اما این نسبت در گروه H2E در مقایسه با گروه H2 کاهش معنی‌داری را نشان داد.

نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان می‌دهند که مقدار ۱ میلی مولار پراکسید هیدروژن در القای آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال آئورت کارایی چندانی ندارد. اما از طرفی، تیمار حیوانات با غلظت ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن سبب تغییرات به مراتب شدیدتری نسبت به غلظت ۱ میلی مولار، در مقدار پروتئین‌های پیش آپوپتوزی، ضد آپوپتوزی و همچنین نسبت پروتئین BAX /BCL 2- شده بود. مارتینز و همکاران گزارش کرده‌اند تمرینات تداومی باعث بهبود عملکرد اندوتلیال در آئورت رت‌ها شده است(۳۲). همچنین گوئیزونی و همکاران (۳۳)نشان دادند که تمرین ورزشی هوازی به‌عنوان یک درمان غیر دارویی می‌تواند در جلوگیری از اختلال عملکرد اندوتلیال و بهبود وضعیت آئورتی مطرح باشد. در اغلب این مطالعات ورزش منجر به کاهش رادیکال‌های آزاد و یا آپوپتوز شده است که در رابطه با کاهش فرایند آپوپتوز با یافته‌های ما هم خوانی دارند. نتایج حاصل از مطالعه‌ی ما نشان می‌دهند که تمرین ورزشی در بهبود وضعیت عملکردعروق نقش دارد و سبب کاهش عوامل منجر به آپوپتوز نظیر BAX و کاسپاز-۳ و همچنین نسبت پروتئینی BAX/BCL-2 می‌شود (شکل‌های ۱،۳ و۴). همچنین هشت هفته تمرین ورزشی در مطالعه‌ی ما با وجود اینکه باعث افزایش عامل ضد آپوپتوزی BCL-2 و کاهش نسبت BAX/BCL-2در مقایسه باگروه ۱ میلی مولار پراکسید هیدروژن شده بود ولی این تغییرات معنی دار نبود، بنابراین به نظر می‌رسد که ورزش بیشتر سبب کاهش عوامل منجر به شروع یا انجام آپوپتوز می‌شود تا اینکه روی عوامل ضد آپوپتوزی اثر چشمگیری داشته باشد و به نوعی اثر پیشگیرانه در مقابل آپوپتوز دارد، که این امر نشان از اهمیت و ضرورت فعالیت بدنی در پیشگیری از آپوپتوز و مرگ زودرس سلولی می‌باشد. همچنین نتایج مطالعه ما نشان داد دریافت ۱ و ۲ میلی مولار پراکسید هیدروژن همراه با انجام تمرینات تداومی سبب افزایش عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 و کاهش نسبت BAX/BCL -2 شده بود و این تغییرات در گروه ۲ میلی

مولار معنی‌دار بود. تمرین با شدت بالا و نیز تمرین تداومی در رت هایی که سکته‌ی قلبی کرده بودند منجر به کاهش بیان ژن BAX ،کاسپاز-۳ و همچنین افزایش بیان BCL-2شده بودند(۳۴). کواک و همکاران نشـــان دادند که تمرین منظم متغیرهای آپوپتوز نظیر کاســـپاز-۳ و پروکاســـپاز-۹ را کاهش می‌دهد و همچنین ســـبب کاهش نسـبت BAX/BCL-2 می‌شود. یافته‌های آنها هماهنگ با این فرضیه است که تعدیل مسیر BCL-2 میتوکندریایی بوسیله‌ی تمرین می‌تواند آثار مفیدی بر بطن داشـته باشـد و سـبب کاهش اختلالات عملکردی قلب شـود(۳۵). لی و همکاران نشان دادند که تمرین ورزشـــی از بروز هیپرتروفی پاتولوژیکی بطن چپ جلوگیری می‌کند، و با پیام رسانی آپوپتوز که ناشی از هیپرتروفی پاتولوژیکی عضـله‌ی قلب می‌باشد، تداخل پیدا می‌کند و در گروه تمرین باعث افزایش معنی‌دار BCL-2 و کاهش BAX و کاسپاز-۳ گردید(۳۶). در مطالعه‌ی حاضـر نیز نتایج مشـابهی با این تحقیقات در آئورت رت‌هایی که ۸ هفته ورزش انجام دادند بدسـت آمده اسـت با این تفـاوت کـه افزایش BCL-2و کاهش BAXمتعاقب ورزش در این مطالعه معنی‌دار نبود.

البته برای آثار مفید ورزش نیز محدودیت وجود دارد، رت‌هایی کـه تمرین تـا ســرحـد وامـانـدگی انجـام دادند میزان آنزیم‌های آنتی‌اکســـیـدانی در آنهـا کـاهش یـافتـه بود، از آنجـائیکه تجمع رادیکـال‌های آزاد ســـبب افزایش بیان BAX و کاهش BCL -2 می‌شـــود بنـابراین می‌توانـد توجیـه کننـده‌ی افزایش آپوپتوز در رت‌های این گروه نسـبت به گروه کنترل باشـد(۳۷). فعالیت بدنی منظم، اسـترس اکسـیداتیو را از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی کاهش داده و سبب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز می‌شود که ممکن اسـت با کاهش اسـترس اکسـیداتیو در اندوتلیوم مرتبط باشد(۳۸). مطالعات نشان داده‌اند فعالیت بدنی از آپوپتوز سلول‌های عروقی که از طریق اسـترس القا می‌شـود، جلوگیری می‌کند(۳۴). سـوزا و همکاران (۳۹) گزارش کرده‌اند که تمرین مقاومتی سـبب بهبود وضعیت دیواره‌ی آئورت با افزایش اندازه‌ی سلول‌های صاف و همچنین افزایش الاسـتین در دیواره آئورت گردید. همچنین نتایج مطـالعـه مـارش و همکاران نشـــان داد که محافظت ســـلول‌های اندوتلیال با انجام فعالیت ورزشی توسط مکانیسمی به غیر از مسیر BCL-2 انجام می‌شـود و تاثیری بر میزان پروتئین BCL-2 ندارد (۴۰) کـه این با نتایج تحقیق در میزان پروتئین BCL-2 همســـو اســـت. نقش مفید تمرین می‌تواند به پروتئین‌های پیش آپوپتوزی بافت عروقی (نظیر BAX) مرتبط باشـد، بدین صـورت که سـبب کاهش سـطوح پروتئین‌های BAX و کاسپاز-۳ و نسبت پروتئینی BAX/BCL-2 گردیـد. با توجه به مطالبی که تاکنون ذکر شـــده است، تمرینات با شدت متوسط می‌تواند عامل درمانی موثری برای کاهش اختلال عملکرد و التهاب دیواره‌ی عروق باشد. این آثار مفید می‌تواند بوسـیله‌ی چند مکانیسـم متفاوت توضـیح داده شـود که شـــامـل: ۱- افزایش فراهمی زیســـتی NO، ۲-افزایش دفـاع آنتی‌اکســـیـدانی، ۳-کـاهش تولید ســـایتوکین‌های پیش التهابی بوسیله‌ی بافت چربی، عضلات اسکلتی و سلول‌های اندوتلیال و ۴- افزایش ظرفیت تولید مجدد اندوتلیوم است(۴۱). این آثار مفید نیز بطور غیر مسـتقیم می‌توانند در کاهش فرایند آپوپتوز نقش داشته باشـند. همچنین گزارش شـده است که تمرینات تداومی از طریق مهـار تجمع کلاژن، بـافـت آئورت را در برابر فیبروز محـافظـت می‌کند(۴۲). که این نیز می‌تواند یکی از دلایل مکانیسـم‌های ضـد آپـوپـتوزی تمرینـات ورزشـــی در حفظ عملکرد عروقی بیـان شـــود.تحقیقـات نشـــان می‌دهـد کـه تولیـد ROS یـک فرآیند فیزیولوژیکی نرمـال اســـت کـه حضـــور آن برای ایمنی و ایجـاد هماهنگی در مسـیرهای انتقال پیام ضـروری اسـت تزریق H2O2 بـاعـث تحریـک آپوپتوز از طریق افزایش بیـان ژنهای Caspas3 و P53 می‌شـود که فعالیت این مسـیر می‌تواند به وسـیله BCL-2 کـاهش یـابـد.(۴۳). در طول فعـالیت‌های هوازی ۲-۵ درصـــد از اکســـیژن دریافتی در مســـیر ســـیتوکروم اکســـیداز زنجیره انتقال الکترون به رادیکال ســوپراکســید هیدروژن تبدیل می‌شـود(۴۴). ازجملـه آنزیم‌هـایی کـه از آســـیـب پراکســـید هیدروژن تولیدی جلوگیری می‌کند می‌توان به گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، SOD، کـاتـالاز (CAT) اشـــاره کرد. فعـالیـت این آنزیم‌هـا بـاعـث مهار آسیب‌های پراکسید هیدروژن می‌شود(۴۵).که در اثر انجام تمرینات تداومی منظم میزان فعالیت این آنزیم‌ها بیشتر می‌گردد. محققین، تـأثیر قرار گرفتن بافت قلبی خارج شـــده از موش در معرض قرار گرفتن در آب اکسـیژنه را مورد بررسـی قرار دادند، نتایج نشان داد که miR-135a باعث افزایش آپوپتوز ســلول‌های قلبی شـــده و با ســرکوب این ژن، بیان پروتئین BCL-2 افزایش یافته در نتیجه از بروز آپوپتوز میوکـاردی جلوگیری می‌شـــود (۴۶) .این نتـایج بـا یافته‌های تحقیق حاضـر در تضـاد است دلیل احتمالی آن می‌تواند مربوط به قرارگیری مسـتقیم بافت قلبی در معرض آب اکسـیژنه و غلظت آن باشد. تحقیق مشابه دیگری نشان داد H2O2 و رادیکال آزاد اکسـیژن باعث ظهور سـیتوکروم c در سـیتوزول میتوکندری شده بود و آن نیز باعث افزایش فعالیت CPP32 می‌گردد در نتیجه باعث تحریک آپوپتوز قلبی خواهد شـد. پروتئین‌های BCL-2 که بعنوان پروتئین‌های ضد آپوپتوزی عمل می‌کنند یکپارچگی غشای میتوکندری را حفظ می‌کنند و آزاد شـدن سـیتوکروم c به درون سـیتوزول و در نتیجـه فعـال شـــدن CASPASE 3 را تنظیم می‌کنند(۱۱). نتیجه گیری کلی اینکه تمرین ورزشـی به‌طور مؤثر

بر علیه آپوپتوز عمل می‌کند که احتمالاً با افزایش مدت زمان تمرین، تأثیر فعالیت ورزشی بر ضد آپوپتوز بیشتر خواهد بود.

محدودیت‌های تحقیق:

- تعیین میزان دقیق غلظت آب اکسیژنه تولید شده در پلاسما یا میتوکندری رت‌ها و اثر آن به‌تنهایی بر میزان شاخص‌های آپوپتوزی
- میزان دقیق ویتامین D پلاسمایی بدون مصرف مکمل ویتامین D
- عوامل ژنتیکی و شرایط بالینی شامل بی نظمی‌های DNA و میتوکندریایی، بالا بودن فعالیت غده تیروئید،
- تعیین میزان پاسخ دهی رت‌ها به تمرین، تزریق آب اکسیژنه و مصرف مکمل ویتامین D
- با توجه به تزریق آب اکسیژنه استرس بیشتری متوجه رتها می‌شد وبرخی از موشها از روند پژوهش خارج می‌شدند و بعضی نیز به دویدن روی تریدمیل خیلی دیر عادت می‌کردند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی بوده که با رعایت کامل اصول اخلاقی هلسینگی با کد اخلاق IR.KMU.REC.1396.1562 در گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی مورد تصویب قرار گرفته است. نویسندگان از دست اندرکاران و پرسنل محترم دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوستان و همکاران که با کمک ایشان مطالعه حاضر به پایان رسید، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References:

1. Hashemi M, Kroczak TJ. Apoptosis and autoimmune disease. Curr Med Chem Anti Inflamm Anti Allergy Agents 2005;4(4):429-37.
2. Sadowski-Debbing K, Coy JF, Mier W, Hug H, Los MJ. Caspases-their role in apoptosis and other physiological processes as revealed by knock-out studies. Arch Immunol Ther Exp 2002;50(1):19-34.
3. 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. Am J Respir Cell Mol Biol 2003;29(2):180-7.
4. Skommer J, Wlodkowic D, Deptala A. Larger than life: mitochondria and the Bcl-2 family. Leuk Res 2007;31(3):277-86.
5. Mokhtari-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. Behav Brain Res 2014;271:160-70.
6. Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. Nat Rev Mol Cell Biol 2008;9(1):47-59.
7. Yang Y, Jemiolo B, Trappe S. Proteolytic mRNA expression in response to acute resistance exercise in human single skeletal muscle fibers. Eur J Appl Physiol 2006;101(5):1442-50.
8. Park K-S, Sedlock DA, Navalta JW. Exercise-induced muscle damage and apoptotic protein expression in immune cells. FASEB J; 2007.
9. Nabiyuni M, B p, Y d. effects of honey bee poison on leukemia lymphoblastic cancer cells. journal of Faze Med Sci of Kashan university 2012;16(2):7-121.
10. Ghavami S, Hashemi M, Kadkhoda K, Alavian SM, Bay GH, Los M. Apoptosis in liver diseases-detection and therapeutic applications. Med Sci Monit 2005;11(11):RA337-RA45.
11. 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. Eur J Appl Physiol 2008;105(6):1934-43.
12. Favero G, Paganelli C, Buffoli B, Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and its alterations in

cardiovascular diseases: life style intervention. Biomed Res Int 2014;2014.

13. Čolak E. New markers of oxidative damage to macromolecules. J Med Biochem 2008;27(1):1-16.
14. Cai H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: origins, mechanisms, and consequences. Cardiol Res 2005;68(1):26-36.
15. Janero DR, Hreniuk D, Sharif HM. Hydroperoxide-induced oxidative stress impairs heart muscle cell carbohydrate metabolism. Am J Physiol Cell Physiol 1994;266(1):C179-C88.
16. Khoshtabiat L, Mahdavi M. The role of oxidative stress in proliferation and cell death. Iran J Psychiatry Behav Sci 2015;25(127):130-45.
17. 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. Metab Brain Dis 2011;26(4):291.
18. Yazdanparast Chaharmahali B, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi Arkhazloo P. Increased Expression of Bax and Bcl2 Apoptosis Biomarkers in the Heart of Old Female Rats After Interval Training and Curcumin Consumption. Jorjani Biomed J 2018;6(4):40-52.
19. Kwon I, Song W, Jang Y, Choi MD, Vinci DM, Lee Y. Elevation of hepatic autophagy and antioxidative capacity by endurance exercise is associated with suppression of apoptosis in mice. Annals of hepatology 2020;19(1):69-78.
20. Aboutaleb N, Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Nikbakht F. Pre-ischemic exercise reduces apoptosis in hippocampal CA3 cells after cerebral ischemia by modulation of the Bax/Bcl-2 proteins ratio and prevention of caspase-3 activation. J PHysiol Sci 2015;65(5):435-43.
21. Ghajari H, Hosseini SA, Farsi S. The effect of endurance training along with cadmium consumption on Bcl-2 and bax gene expressions in heart tissue of rats. Ann Mil Health Sci Re 2019;17(1).
22. Sinha-Hikim I, Sinha-Hikim AP, Shen R, Kim H, French SW, Vaziri ND, et al. A novel cystine based antioxidant attenuates oxidative stress and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. Exp Mol Pathol 2011;91(1):419-28.
23. Quadrilatero J, Alway SE, Dupont-Versteegden EE. Skeletal muscle apoptotic response to physical activity: potential mechanisms for protection. Appl Physiol Nutr Metab 2011;36(5):608-17.
24. Neto JCR, Lira FS, Oyama LM, Zanchi NE, Yamashita AS, Batista ML, et al. Exhaustive exercise causes an anti-inflammatory effect in skeletal muscle and a pro-inflammatory effect in adipose tissue in rats. Eur J Appl Physiol 2009;106(5):697.
25. Pagan LU, Damatto RL, Cezar MD, Lima AR, Bonomo C, Campos DH, et al. Long-term low intensity physical exercise attenuates heart failure development in aging spontaneously hypertensive rats. Cell PHysiol Biochem 2015;36(1):61-74.
26. Kenney WL, Wilmore JH, Costill DL. Physiology of sport and exercise: Human kinetics; 2015.
27. Shi J, Bei Y, Kong X, Liu X, Lei Z, Xu T, et al. miR-17-3p contributes to exercise-induced cardiac growth and protects against myocardial ischemia-reperfusion injury. Theranostics 2017;7(3):664.
28. Kanter M, Aksu F, Takir M, Kostek O, Kanter B, Oymagil A. Effects of low intensity exercise against apoptosis and oxidative stress in Streptozotocin-induced diabetic rat heart. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2017;125(09):583-91.
29. Quindry JC, Miller L, McGinnis G, Kliszczewicz B, Irwin JM, Landram M, et al. Ischemia reperfusion injury, KATP channels, and exercise-induced cardioprotection against apoptosis. Eur J Appl Physiol 2012;113(3):498-506.
30. Husain K, Hazelrigg SR. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect

of regular exercise on the heart. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2002;1587(1):75-82.

31. Plant DR, Gregorevic P, Warmington SA, Williams DA, Lynch GS. Endurance training adaptations modulate the redox‐force relationship of rat isolated slow ‐ twitch skeletal muscles. Clin Exp Pharmacol Physiol 2003;30(1 ‐ 2):77-81.
32. Martinez JE, Taipeiro EdF, Chies AB. Effects of continuous and accumulated exercise on endothelial function in rat aorta. Arq Bras Cardiol 2017;108(4):315-22.
33. Guizoni DM, Dorighello GG, Oliveira HC, Delbin MA, Krieger MH, Davel AP. Aerobic exercise training protects against endothelial dysfunction by increasing nitric oxide and hydrogen peroxide production in LDL receptor-deficient mice. J Transl Med 2016;14(1):213.
34. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate‐intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. Mol Med Rep 2015;12(2):2374-82.
35. Kwak H-B, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. FASEB Bioadv. 2006;20(6):791-3.
36. Lee YI, Cho JY, Kim MH, Kim KB, Lee DJ, Lee KS. Effects of exercise training on pathological cardiac hypertrophy related gene expression and apoptosis. Eur J Appl Physiol 2006;97(2):216-24.
37. Liu W, 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;2013.
38. Ross MD, Malone E, Florida-James G. Vascular ageing and exercise: focus on cellular reparative processes. Oxid Med Cell Longev 2016;2016.
39. Souza RR, de França E, Madureira D, Pontes CC, Santana JO, Caperuto EC. Resistance training improves aortic structure in Wistar rats. Braz J Phys Ther 2017;21(4):244-50.
40. Marsh SA, Coombes JS. Exercise and the endothelial cell. Int J Cardiol Heart Vessel 2005;99(2):165-9.
41. Ribeiro F, Alves AJ, Duarte JA, Oliveira J. Is exercise training an effective therapy targeting endothelial dysfunction and vascular wall inflammation? Int J Cardiol Heart Vessel 2010;141(3):214-21.
42. Kim SY, Lee J. Exercise Training suppresses vascular fibrosis in aging obesity induced rats. J Exerc Nutrition Biochem 2014;18(2):175.
43. Anderson EJ, Lustig ME, Boyle KE, Woodlief TL, Kane DA, Lin C-T, et al. Mitochondrial H 2 O 2 emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. Eur J Clin Invest 2009;119(3):573-81.
44. Konopka AR, Asante A, Lanza IR, Robinson MM, Johnson ML, Dalla Man C, et al. Defects in mitochondrial efficiency and H2O2 emissions in obese women are restored to a lean phenotype with aerobic exercise training. Diabetes 2015;64(6):2104-15.
45. Fischer TW, Kleszczyński K, Hardkop LH, Kruse N, Zillikens D. Melatonin enhances antioxidative enzyme gene expression (CAT, GPx, SOD), prevents their UVR ‐ induced depletion, and protects against the formation of DNA damage (8 ‐ hydroxy ‐ 2' ‐ deoxyguanosine) in ex vivo human skin. J Pineal Res 2013;54(3):303-12.
46. Zhang L, Liu H, Sun L, Li N, Ding H, Zheng J. Glypican-3 as a potential differential diagnosis marker for hepatocellular carcinoma: a tissue microarray-based study. Acta Histochem 2012;114(6):547-52.

Original Article

THE EFFECT OF CONTINUOUS TRAINING ON RATE OF CASPASE3, BAX AND BCL-2 PROTEINS IN VASCULAR OF INDUCED POISONING INDUCED BY DIFFERENT DOSES OF HYDROGEN PEROXIDE

J. Mahtabi Alamdari[1], H. Matin Homaei[2], P. Farzaneghi [3]

Received: 24 Dec, 2019; Accepted: 20 Apr, 2020

Abstract

Background & Aims: Apoptosis is organized cellular death, induced by various physiological and pathological factors. Therefore, the purpose of this study is to investigate the effect of continuous training on rate of Caspase3, BAX and BCL-2 proteins in rats vascular by induced poisoning due to various doses of hydrogen peroxide.

Materials & Methods: 40 mature male wistar rats were randomly assigned into 5 groups including 8 rats in each group. The groups were injected by: 1-Intraperitoneal injection of 1mM H2O2, group (H1), 2-Intraperitoneal injection of 2mM H2O2, group(H2), 3-Intraperitoneal injection of 1mM H2O2 with regular exercise, group (H1E), 4- Intraperitoneal injection of 2mM H2O2 with regular exercise, group (H2E), and 5-control group(C).The training groups performed regular training on the treadmill daily for 8 weeks, all of rats after the anaesthesia knocked out and the BAX, BCL-2 and Caspas3 proteins ratio were determined and measured by ELISA technic. The ANOVA Two Way test was used to determine the effect of each of the independent variables on the indicators. Also, the ANOVA One Way test of the Bonfroni follow-up test was used to examine the intergroup of each of the variables. And significance was considered as $P\leq 00.05$.

Results: Continuous training in the rats showed that the amount of BAX protein did not decrease significantly compared to the treatment group with 1 and 2 mM of hydrogen peroxide. Exercise alone or with injections of 1 and 2 mM of hydrogen peroxide, increased the amount of protein BCL-2, which was not significant and decreased Caspase3, BAX, and BAX / BCL-2 ratios in both groups receiving one and two milliliters of hydrogen peroxide, but only changes in Caspase-3 ($P = 0.014$) and ratio BAX / BCL-2 ($p = 0.0002$) was significant in groups receiving 2 mM of hydrogen peroxide ($P \leq 0.05$).

***Conclusion*:**Continuous exercises are likely to reduce the apoptosis of endothelial cells by reducing Caspase3, BAX / BCL-2 ratio and increasing BCL-2 which is likely to prevent vascular tissu damage.

Keywords: Continuous Exercise, BCL-2, BAX, Caspase3, Endothelial

Address: Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Tel:

Email: hasanmatinhomaee@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(3): 168 ISSN: 2717-008X

[1] *Department of Sports Physiology, Tehran Central Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

[2] *Sports Physiology Department, Tehran Central Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding Author)*

[3] *Department of Sports Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran*