

پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش

دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸

ص ص : ۸۹ - ۷۷

بررسی تأثیر تمرین تناوبی هوازی و عصاره عناب بر عوامل آپوپتوزی در رت‌های مبتلا به سکتة قلبی

محمدعلی ربیعی^۱ - مهدی مقرنسی^{۲*} - هادی سریر^۳ - محسن خراشادی زاده^۴

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران ۲. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران ۳. دانشیار ایمونولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران ۴. استادیار، گروه پزشکی ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، بیرجند، ایران (تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۱، تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۰۶/۲۷)

چکیده

ایسکمی موجب افزایش تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن^۱ و تنش اکسایشی می‌شود که به‌طور مستقیم، با اثر بر غشا و پروتئین‌ها یا غیرمستقیم با تحریک مسیرهای آپوپتوز به آسیب سلولی منجر می‌شود. یکی از گیاهان دارای خاصیت ضداکسایشی، عناب است که می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. هدف این پژوهش، بررسی تأثیر تمرین تناوبی هوازی و عصاره عناب بر عوامل آپوپتوزی در رت‌های مبتلا به سکتة قلبی بود. در این مطالعه تجربی تعداد ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار که از طریق القای ایسکمی قلبی با تزریق زیرجلدی ایزوپرنالین دچار سکتة قلبی شدند، انتخاب شدند. رت‌های این مطالعه به‌طور تصادفی در شش گروه شامل کنترل سالم، کنترل سکتة، شم، کنترل سکتة + عصاره عناب، تمرین تناوبی هوازی + سکتة، تمرین تناوبی هوازی + سکتة + عصاره عناب قرار گرفتند. پروتکل تمرین تناوبی هوازی با ۵ تناوب ۴ دقیقه‌ای معادل $70-75\% \text{VO}_2\text{max}$ ، و استراحت فعال با ۵ تناوب ۴ دقیقه‌ای معادل $55-60\% \text{VO}_2\text{max}$ انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک، تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح $\alpha < 0.05$ تحلیل شدند. نتایج نشان داد در گروه سکتة نسبت به گروه سالم، القای سکتة به وسیله ایزوپرنالین مقادیر کاسپاز ۳ بافت قلب را به‌طور معناداری افزایش می‌دهد ($P < 0.05$)، که در این شاخص در هیچ‌یک از گروه‌های تمرین تناوبی هوازی، عصاره عناب و تمرین + عصاره تفاوت معناداری با گروه سکتة نداشت ($P > 0.05$). با وجود این در گروه تمرین تناوبی هوازی + عصاره عناب افزایش معناداری در شاخص Bcl-2 بافت قلب مشاهده شد ($P < 0.05$)، در حالی که در هیچ‌یک از گروه‌های دیگر در این شاخص تغییر معنادار مشاهده نشد ($P > 0.05$). بنابراین به‌نظر می‌رسد، تمرین تناوبی هوازی و عصاره عناب با افزایش Bcl-2 بافت قلب می‌تواند موجب مهار آپوپتوز سلول‌های قلبی پس از وقوع سکتة قلبی و همچنین موجب کاهش آسیب بافت قلبی شود.

واژه‌های کلیدی

آپوپتوز، تمرین تناوبی هوازی، سکتة قلبی، عصاره عناب.

مقدمه

خانواده Bcl-2 در پستانداران شناسایی شده است که اعضای ضدآپوپتوز آن شامل Bcl-2 و Bcl-x1 است (۷). کاسپازها اجرایی‌ترین عضو مجموعه هستند. نام کاسپازها از عملکرد آنها گرفته شده است. این خانواده در پستانداران چهارده عضو دارد که یازده عضو آنها آنزیم‌های انسانی‌اند. این آنزیم‌ها مسیر مرگ را هماهنگ می‌کنند. کاسپازها، پروتئازهای اختصاصی‌اند و سوبسترای خود را از محل آسپاراتات خاصی، که با توانایی کاسپاز سازگار است، تجزیه می‌کنند و موجب تخریب پروتئین‌ها یا فعال‌سازی کاسپازهای دیگر می‌شوند. تمام کاسپازها به‌وسیلهٔ رویداد تجزیه‌ای پروتئازی فعال می‌شوند. کاسپازها را از نظر تقدم و تأخر شرکت در فرایند مرگ سلولی به دو دستهٔ آغازگر و اجرایی دسته‌بندی می‌کنند. کاسپازهای آغازگر مانند کاسپاز ۸، در ابتدای فرایند فعال می‌شوند و کاسپازهای اجرایی مانند کاسپاز ۳ در مراحل بعدی و توسط کاسپازهای آغازگر فعال می‌شوند و آبشار کاسپازی را به راه می‌اندازند (۹).

یکی از گیاهان دارای خاصیت ضداکسایشی، عناب است، به‌طوری‌که در برخی موارد گزارش شده که عصارهٔ میوهٔ عناب دارای فعالیت ضداکسایشی بالاتر یا مشابه بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و اسید آسکوربیک (ویتامین C) است و این خاصیت به‌دلیل ترکیبات فعالی مانند پلی‌فنل‌ها از جمله تانن، فلونوئیدها، کاروتن و بتاکاروتن است. شایان ذکر است که در داروهای صنعتی، میوهٔ عناب به‌عنوان مادهٔ قوی در فعال کردن کبد استفاده می‌شود (۸). عناب شامل مواد مغذی مانند نشاسته ۲۱/۸ درصد، فروکتوز ۱۶ درصد، گلوکز ۹/۶ درصد، ساکاروز ۲۱/۸ درصد و چربی ۹ درصد و اسید آمینه‌های مختلف شامل گلیسین، هیستیدین، لوسین، ایزولوسین، فنیل آلانین، سرین، تروئونین و غیره و

سکتهٔ قلبی (MI) در نتیجهٔ جریان ناکافی خون و نیز هیپوکسی^۲ و کاهش گلوکز در دسترس بافت‌های قلبی پدید می‌آید که می‌تواند به آسیب سلولی منجر شود (۱). در طول دوره‌های ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد که موجب آسیب سلولی در اثر اکسیداسیون پروتئین‌ها و چربی‌ها و نیز تغییر ساختار ژنوم می‌شود. خنثی شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط SOD و کاتالاز می‌تواند از آپوپتوز قلبی جلوگیری کند و به‌طور همزمان آسیب ایسکمی/خون‌رسانی مجدد را کاهش دهند (۲).

MI می‌تواند آپوپتوز را نیز القا کند (۳). آپوپتوز میوسیت‌های قلبی، فرایندی است که پس از MI به از دست رفتن درصدی از سلول‌های قلبی منجر می‌شود (۴). آپوپتوز^۳ نقشی کلیدی در مرگ سلولی دارد و در حدود ۴/۵ ساعت پس از انفارکتوس به اوج می‌رسد. مرگ سلول‌های قلبی در نواحی اطراف ناحیهٔ MI را اغلب به آپوپتوز نسبت می‌دهند (۵). گزارش شده است که استرس اکسیداتیو و آپوپتوز نقش مهمی در پیشرفت سکتهٔ قلبی، ایسکمی/ برقراری مجدد جریان خون، پرفشاری خون، آسیب عضلانی قلبی و گرفتگی عروق قلبی دارد. در این فرایند آنزیم‌هایی موسوم به کاسپاز نقش اصلی را عهده دارند. ژن Bax^۴ اولین عامل شناخته‌شدهٔ خانوادهٔ پروتئین Bcl-2 است. همچنین از ژن‌های مؤثر در کنترل شروع فرایند آپوپتوز است که با فعال‌سازی کاسپاز ۹ از مسیر داخلی در روند آپوپتوز دخالت دارد. Bcl-2^۵ نیز با ممانعت از رهاسازی سیتوکروم C از میتوکندری آپوپتوزیس را مهار می‌کنند (۶). Bcl-2 یک پروتئین غشایی است که اساساً در غشای خارجی میتوکندری قرار دارد، نوزده عضو از

4 . BAX (BcL2-associated X Protein)

5 . B-cell Lymphoma 2

1 . Myocardial Infarction

2 . Hypoxia

3 . Apoptosis

کاهش تولید سوپراکسید، پراکسیدهای چربی و فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی از قلب در برابر تولید استرس اکسیداتیو پس از ایسکمی محافظت می‌کند و موجب کاهش آپوپتوز بافت قلب می‌شود (۱۲).

نقش فعالیت بدنی منظم در حفظ و توسعه سلامتی به‌خوبی اثبات شده است، با این حال اغلب مردم از راه مشارکت در فعالیت بدنی منظم پیروی نمی‌کنند. امروزه تمرینات هوازی به‌عنوان محرکی قوی برای سازگاری‌های قلبی-عروقی و همچنین تمرین تناوبی با شدت بالا با حداقل مدت زمان تمرین، برای غلبه بر مشکل فرصت شرکت در فعالیت‌های بدنی برای سلامت و تندرستی بیشتر افراد مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۳).

فواید فعالیت‌های ورزشی بر عوامل متابولیک، قلبی-عروقی، ضدالتهابی و غیره، موجب شده است که بسیاری از محققان، تمرین ورزشی را به‌عنوان ابزار غیردارویی بسیار مهم در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی-عروقی پیشنهاد کنند. اثربخشی تمرین ورزشی به‌عنوان ابزاری نیرومند در درمان ناهنجاری‌های مرتبط با سکته قلبی در شرایط بالینی و تجربی گزارش شده است. با این حال، گارزا و همکاران (۲۰۱۵) بیان کرد تأثیر تمرینات ورزشی بعد از سکته قلبی بر آپوپتوز سلول‌های قلبی هنوز هم به‌خوبی مشخص نشده است (۱۴). برای مثال، لی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند ۱۲ هفته تمرین هوازی موجب کاهش میزان پروتئین کاسپاز ۹ عضله قلبی در موش‌های تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های تمرین‌نکرده می‌شود (۱۵). همچنین، پترسون و همکاران (۲۰۰۸) اشاره داشتند ۹ هفته تمرین هوازی متوسط موجب کاهش بیان پروتئین سیتوکروم C، کاهش بیان فعالیت کاسپاز ۹ و قطعه قطعه شدن DNA در میوکارد موش‌های چاق می‌شود (۱۶). در مقابل تبریزی و همکاران (۲۰۱۷) اظهار کردند ۱۲ هفته تمرین روی تردمیل با شدت ۸۰-۷۵٪

مواد معدنی شامل آهن، سدیم، پتاسیم، روی، منگنز، گوگرد و غیره و شامل ویتامین‌های B کمپلکس، A و C است (۹). از میوه عنب ترکیب‌های تری‌ترپنوئیدی، فلوونوئیدی و آلکالوئیدی تخلیص شده است، همچنین نوعی ترکیب فنیل گلیکوزیدی با عنوان ژوزوفنوزید نیز از میوه عنب به‌دست می‌آید (۱۰).

در مطالعه‌ای درمان بیماری قلبی با عصاره عنب (۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) برای ۱۰ روز، سبب محافظت معنادار و وابسته به دوز در برابر کاهش فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت مطالعه ناشی از ورزش خسته‌کننده شد. در دوز پایین‌تر (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ریکاوری فعالیت آنزیم‌ها در محدوده ۱۲ (برای SOD)، ۳۴ (برای GSH-Px) تا ۲۱٪ (برای CAT) قرار گرفت، درحالی‌که در دوز بالاتر (۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ریکاوری فعالیت آنزیم‌ها در محدوده ۴۰ (برای SOD)، ۷۴ (برای GSH-Px) تا ۱۰۲٪ (برای CAT) نسبت به مقدار گروه کنترل قرار گرفت. همچنین، درمان عصاره عنب به کاهش معنادار سطوح بیان Bax در بافت قلبی موش صحرایی منجر شد، اما سطح بیان Bcl-2 بدون تغییر بود. نتایج تحقیق مذکور حاکی از آن است که آپوپتوز عضله قلبی در اثر دریافت عصاره عنب و کاهش بیان Bax، به تأخیر افتاد است (۱۱). همچنین در مطالعه‌ای توفیقی و همکاران (۱۳۹۴) به بررسی اثر مکمل یاری رزوراترول و تمرین هوازی بر تغییرات بافت قلب در موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس قلبی حاد پرداختند. در پژوهش مذکور پس از ایجاد القای ایسکمی قلبی با تزریق زیرجلدی ایزوپرنالین، افزایش شاخص‌های اکسیدانی در قلب مشاهده شد. سپس با گاوژ مکمل یاری رزوراترول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و ۸ هفته تمرین هوازی مشاهده کردند ترکیب رزوراترول و تمرین ورزشی از طریق

تحقیق شامل ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار با محدوده سنی ۲-۳ ماه و با وزن ۲۳۰ - ۱۸۰ گرم بود. حیوانات به صورت گروه‌های شش‌تایی که به صورت تصادفی انتخاب شدند، در داخل قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند و در محیطی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. همچنین حیوانات از غذای سالم و استاندارد (پلت)^۳ استفاده کردند. آزمودنی‌ها پس از سازش یک‌هفته‌ای با محیط جدید و آشنایی با شیوه فعالیت روی نوار گردان به سکتة قلبی تجربی مبتلا شدند. برای وادار کردن رت‌ها به دویدن، از شوک الکتریکی به میزان ۰/۵ میلی‌آمپر استفاده شد. شایان ذکر است در مراحل آغازین تمرین شوک به همراه ضربه دست به نوار گردان انجام گرفت و پس از شرطی‌سازی اعمال شک متوقف شد. در نهایت رت‌هایی که قادر به سازگاری با دویدن نبودند، از تحقیق خارج شدند.

القای ایسکمی قلبی با تزریق زیرجلدی ایزوپرنالین به مقدار ۸۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت محلول در نرمال سالین در دو روز متوالی به فاصله ۲۴ ساعت، به رت‌ها تزریق شد تا سکتة قلبی تجربی ایجاد شود (۲۰). برای اطمینان از القای سکتة قلبی تجربی، به صورت تصادفی از هر گروه تعدادی از رت‌های گروه سکتة‌ای دو روز بعد از MI بی‌هوش شدند و نمونه‌های بافت قلب آنها با استفاده از تکنیک‌های هیستوشیمیایی رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین بررسی و گروه‌های واجد شرایط وارد تحقیق شدند (شکل ۱). رت‌ها به شش گروه کنترل سالم، کنترل سکتة، شم (تزریق آب مقطر به جای ایزوپرنالین و گاوآژ آب مقطر به جای عصاره عناب)، کنترل سکتة+ عصاره عناب، تمرین تناوبی هوازی+

VO₂max موجب افزایش شاخص‌های مرتبط با آپوپتوز (کاسپاز ۹ و سیتوکروم C) در عضله قلبی موش‌ها شد (۱۷). همچنین سیو (۲۰۰۴) بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین منظم با شدت پایین (۵ روز در هفته) در عضله قلبی و اسکلتی موش‌ها پرداخته بود. نتایج افزایش Bcl-2 و HSP70^۱ و کاهش^۲ APAF-1 و Bax و همچنین عدم تغییر معنادار کاسپاز ۳ را نشان داد (۱۸). همچنین فرناندز (۲۰۱۲) به بررسی ۱۰ هفته تمرین منظم هوازی شنا در موش‌های صحرایی نر پرداخته بودند که نتایج این پژوهش حاکی از افزایش Bcl-2 و کاهش BAD و در کل مهار آپوپتوز بود (۱۹).

به هر حال، با توجه به نقش حساس و کلیدی بافت قلبی در سلامت و عملکرد افراد، این موضوع یکی از نگرانی‌ها و چالش‌های جدی است که می‌تواند ذهن پژوهشگران و افراد جامعه را به خود جلب کند. البته تناقضات موجود، دسترسی نداشتن به مستندات معتبر، ضرورت و اهمیت موضوع را دوچندان کرده است. همان‌طور که گفته شد، مطالعاتی در راستای تأثیر برخی از گیاهان دارویی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و اثر تعاملی آن با تمرین ورزشی بر روی عوامل مرگ سلولی انجام گرفته است، اما هیچ‌گونه مطالعه‌ای در زمینه تأثیر مصرف عصاره عناب و تمرین تناوبی هوازی بر فرایند آپوپتوز در شرایط مبتلا به سکتة قلبی با مدل حیوانی و کنترل همه عوامل اثرگذار یافت نشد. از این رو در مطالعه حاضر اثر تمرین تناوبی هوازی و مصرف عصاره عناب بر عوامل آپوپتوزی بافت قلب (Bcl-2 و کاسپاز ۳) در رت‌های مبتلا به سکتة قلبی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر، مطالعه تجربی است، نمونه‌های این

3 . Pellet

1 . Heat Shock Protein 70 kilodalton (Hsp70)
2 . Apoptotic Protein Acyivating Factor -1 (APAF-1)

دقیقه و مدت تمرین از ۵ دقیقه به ۱۰ دقیقه در هر جلسه افزایش خواهد یافت (۲۱). پس از اتمام دورۀ سازگاری، تمرین تناوبی هوازی ۵ روز در هفته به مدت ۶ هفته بر روی نوار گردان انجام خواهد گرفت؛ برنامه تمرین تناوبی هوازی، به مدت ۵۲ دقیقه در روز و شیب نوار گردان صفر درجه، شامل ۸ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه (معادل $45-50\% VO_2max$)، و ۵ تناوب ۴ دقیقه‌ای با شدت ۲۳ متر بر دقیقه (معادل $70-75\% VO_2max$)، و ۵ تناوب ۴ دقیقه‌ای با شدت ۱۵ متر بر دقیقه (معادل $55-60\% VO_2max$)، و ۴ دقیقه سرد کردن با شدت ۱۰ متر بر دقیقه انجام گرفت (۲۲).

سکتۀ تمرین تناوبی هوازی + سکتۀ + عصاره عناب تقسیم شدند.

گروه‌های تمرینی به مدت شش هفته در شرایط تمرین تناوبی به صورت دویدن روی نوار گردان قرار گرفتند. در این مدت گروه‌های کنترل در شرایط محیط استاندارد آزمایشگاه (بدون فعالیت) قرار داشتند. گروه‌های عصاره عناب طبق برنامه تنظیمی از مکمل عناب استفاده کردند.

پروتکل تمرین تناوبی هوازی

رت‌ها در یک دورۀ آشناسازی (۵ روزه در هفته) قرار گرفتند، که با پروتکل و شرایط تمرین آشنا شوند. در این دوره، شدت نوار گردان از ۵ متر بر دقیقه به ۱۰ متر بر

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی هوازی

| متغیرهای تمرین | مرحلۀ آشنایی (۵ روز در هفته) | هفته اول تمرین | هفته دوم تمرین | هفته سوم تمرین | هفته چهارم تمرین | هفته پنجم تمرین | هفته ششم تمرین |
|---|------------------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|-----------------|----------------|
| مدت تمرین (دقیقه) | ۱۰-۵ | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ |
| مدت استراحت | | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ | ۴×۵ |
| سرعت تمرین (متر بر دقیقه) (درصد vo_2max) | ۱۰-۵ | ۱۶-۱۵ | ۱۶-۱۷ | ۱۹-۲۰ | ۲۲-۲۱ | ۲۳ | ۲۳ |
| سرعت استراحت (متر بر دقیقه) (درصد vo_2max) | ۱۰-۵ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ | ۱۴ | ۱۴ |
| | | ۴۵٪ | ۴۷٪ | ۴۹٪ | ۵۱٪ | ۵۳٪ | ۵۳٪ |

شدند (۲۳، ۲۴). عصاره عناب، طی یک دورۀ ۶ هفته‌ای با دوز مصرفی ۴۰۰ میلی‌گرم (به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) روزانه به هر موش، گاوآژ شد. به گروه شم نیز آب مقطر گاوآژ شد (۲۵، ۲۶).

مرحلۀ بافت‌برداری، ۲۴ ساعت پس از اتمام ۶ هفته مداخله‌های تمرینی همراه با مصرف عصاره عناب، آغاز شد. بدین منظور، هر یک از رت‌ها توسط تزریق مادۀ بی‌هوشی (ترکیب

برای عصاره‌گیری عناب ابتدا ۵۰ گرم میوه خشک‌شده عناب پودر شد، سپس در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۸ درصد حل شده و به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و صاف شد. برای حذف حلال نمونه‌های صاف‌شده درون صفحه‌های شیشه‌ای ریخته شد و به مدت یک تا دو روز در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از تبخیر حلال، نمونه‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده قرار داده

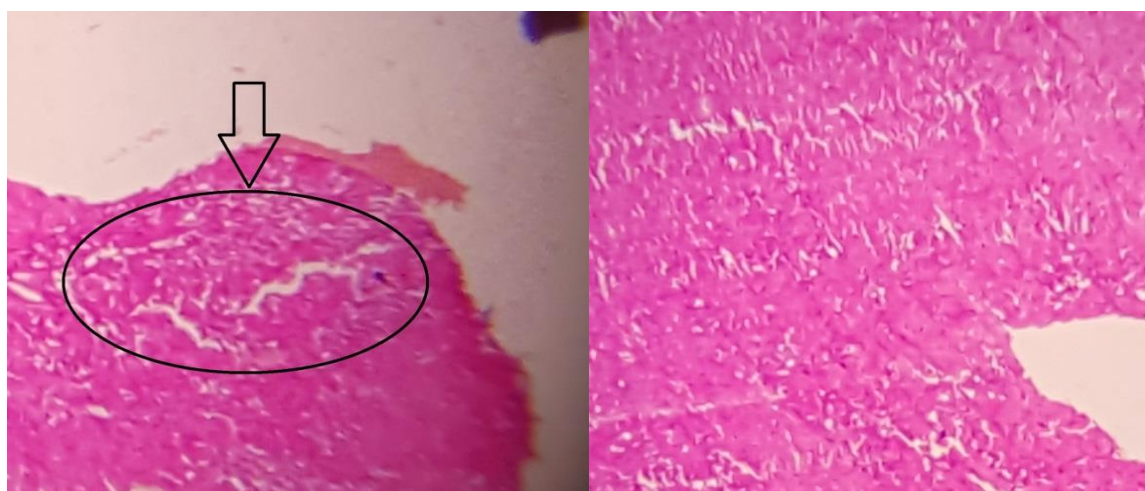
آلمان با $CV \leq 10\%$ و حساسیت 0.1 ng/ml و 0.1 ng/ml و 0.3 به شیوه ایزا اندازه‌گیری شد. از آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها، و تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS24 در سطح $\alpha < 0.05$ انجام گرفت.

یافته‌های تحقیق

جدول ۱ میانگین، انحراف معیار و سطح معناداری شاخص‌های اندازه‌گیری را در مقایسه با گروه سکنه نشان می‌دهد. تزریق زیرجلدی ایزوپرنالین (85 mg/kg) در دو روز متوالی با فاصله ۲۴ ساعت موجب ایجاد تغییرات معنادار در شاخص‌های Bcl-2 و کاسپاز ۳ در گروه کنترل سکنه نسبت به گروه سالم شده است که نشان از ایجاد سکنه قلبی است و در نتیجه این دوز تزریقی موجب ایجاد آپوپتوز شده است (شکل ۱).

کتامین 70 mg/kg و زایلازین 10 mg/kg (۲۷) بی‌هوش شدند و به‌منظور استخراج بافت، نمونه‌های خون مستقیماً از قلب حیوان گرفته شد. آنگاه عضله قلب از بطن چپ حیوان برداشته شد؛ در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شد؛ سپس بلافاصله با استفاده از ازت مایع منجمد شد و برای سنجش‌های بعدی به فریزر با دمای -80 درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. تمام مراحل بافت‌برداری با شرایط مشابه، هنگام صبح صورت گرفت.

برای استخراج پروتئین از بطن چپ، بافت قلب توسط نیتروژن مایع هموژنیزه (پودر) شد. سپس به هر نمونه بافر مهارکننده پروتئاز (ساخت شرکت Sigma آمریکا) اضافه شد و سپس سانتریفیوژ گردید (14000 دور در دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه) و مایع رویی جهت تعیین پروتئین‌های حل شده از طریق آزمایش بردفورد انجام گرفت. مقادیر کاسپاز ۳ و Bc-12 در بافت قلب با استفاده از کیت‌های شرکت ZellBio GmbH ساخت

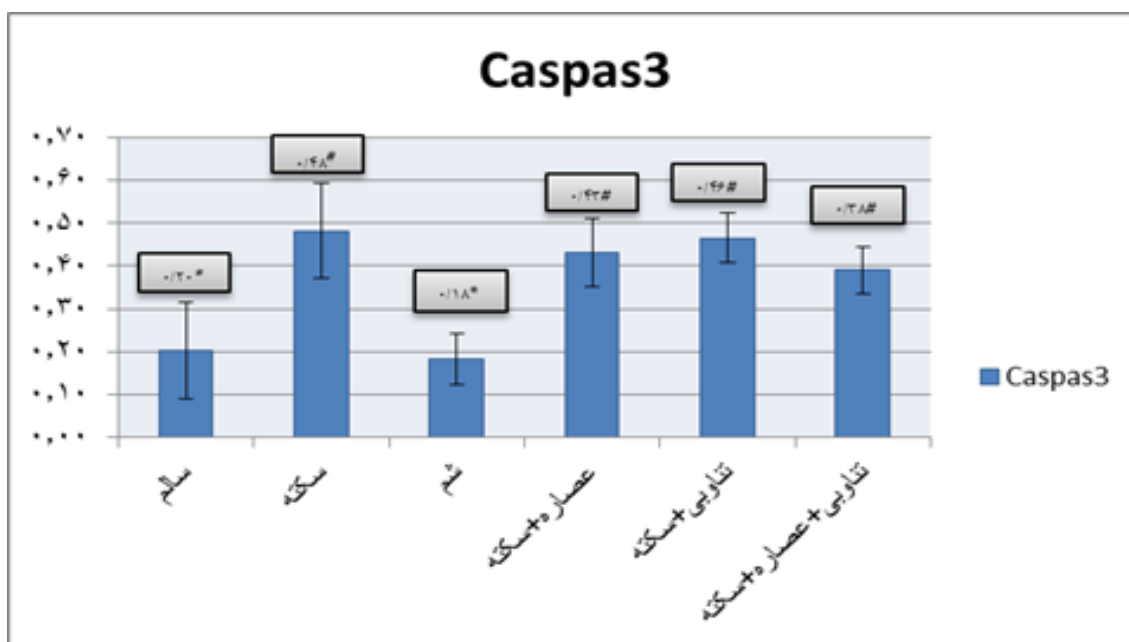


شکل ۱. ظهور مناطق سفیدرنگ و بی‌نظم نشان‌دهنده آسیب آپوپتوزی ناشی از انفارکتوس در بافت قلب

نتایج آزمون تعقیبی توکی با توجه به شکل ۱ و جدول ۱ نشان داده است که القای سکنه توسط ایزوپرنالین موجب افزایش چشمگیری در میزان کاسپاز ۳ در مقایسه با گروه سالم ($0.482 \pm 0.1 \text{ pg/ml}$ در مقابل 0.201 ± 0.112) و تنابوی سکنه ($P < 0.000$) تأثیر چشمگیری در کاهش سطح کاسپاز ۳ نسبت به گروه سکنه

نتایج آزمون تعقیبی توکی با توجه به شکل ۱ و جدول ۱ نشان داده است که القای سکنه توسط ایزوپرنالین موجب افزایش چشمگیری در میزان کاسپاز ۳ در مقایسه با گروه سالم ($0.482 \pm 0.1 \text{ pg/ml}$ در مقابل 0.201 ± 0.112) و تنابوی سکنه ($P < 0.000$) تأثیر چشمگیری در کاهش سطح کاسپاز ۳ نسبت به گروه سکنه

مشاهده نمی‌شود، اما در گروه تمرین تناوبی عصاره سکنه چشم‌گیر عددی شده است. (P<0/575) اگرچه تفاوت معنادار نیست، موجب کاهش



نمودار ۱. تغییرات میانگین داده‌ها در شاخص کاسپاز ۳ (ng/mg)
#: تفاوت معنادار با گروه سالم
*: تفاوت معنادار با گروه سکنه

جدول ۲. نتایج آزمون‌های تحلیل واریانس یکطرفه متغیرهای تحقیق

| کاسپاز ۳ (ng/mg) | | | | Bcl2 (ng/mg) | | | |
|-------------------|------------------------|----------------|--------------|-------------------|------------------------|----------------|--------------|
| گروه مقایسه | انحراف معیار ± میانگین | اختلاف میانگین | سطح معناداری | گروه مقایسه | انحراف معیار ± میانگین | اختلاف میانگین | سطح معناداری |
| سالم | 1/76 ± 0/43 | 0/82 ± 0/1 | 0/008* | سالم | 1/80 ± 0/16 | 0/281 | 0/000* |
| شم | 1/80 ± 0/16 | 0/181 ± 0/06 | 0/004* | شم | 1/189 ± 0/29 | 0/300 | 0/000 |
| عصاره سکنه | 1/189 ± 0/29 | 0/430 ± 0/08 | 0/870 | عصاره سکنه | 1/528 ± 0/70 | 0/05 | 0/962 |
| تناوبی سکنه | 1/528 ± 0/70 | 0/465 ± 0/05 | 0/114 | تناوبی سکنه | 2/00 ± 0/77 | 0/17 | 1/000 |
| تناوبی عصاره سکنه | 2/00 ± 0/77 | 0/389 ± 0/05 | 0/000* | تناوبی عصاره سکنه | | 0/92 | 0/575 |

*تفاوت معنادار تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی برای تفاوت بین گروهی (P<0/05)

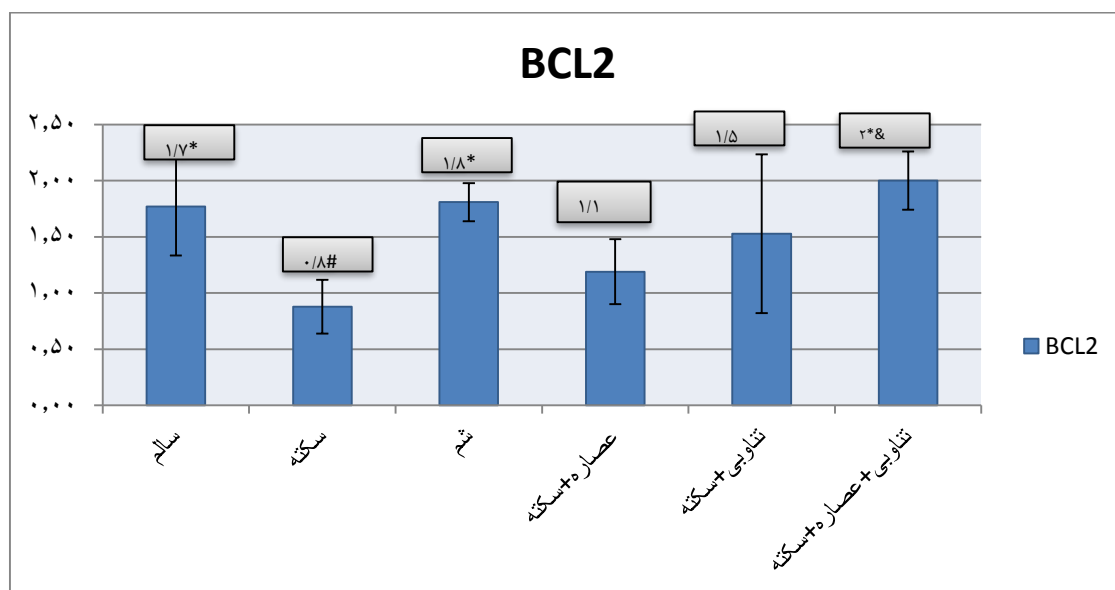
غلظت Bcl-2 در بافت‌های قلب موش‌های دچار سکنه پس از انجام تمرین تناوبی هوازی (P<0/114) یا مصرف عصاره عناب (P<0/870) افزایش محدودی یافته است و معنادار نیست. با این حال در اثر تعاملی تمرین تناوبی + عصاره افزایش چشمگیری نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود

همان‌طور که در نمودار ۲ و جدول ۲ مشاهده می‌کنید، ایزوپروپونالین و سکنه قلبی موجب کاهش چشمگیری در سطح Bcl-2 نسبت به گروه کنترل (0/87 ± 0/02) در مقابل (1/76 ± 0/43، P<0/000) و شم (1/80 ± 0/16، P<0/000) در مقابل این شده است. علاوه بر این

($P < 0.021$) که بیانگر تأثیرگذاری تمرین نسبت به عصاره است.

($P < 0.000$). علاوه بر این در مقایسه گروه تناوبی عصاره سکت

با گروه عصاره سکت، تفاوت معنادار مشاهده می‌شود



نمودار ۲. تغییرات میانگین داده‌ها در شاخص Bcl-2 (ng/mg)

#: تفاوت معنادار با گروه سالم * تفاوت معنادار با گروه سکت &: تفاوت معنادار با گروه عصاره سکت

منبع میتوکندری فعال شود (۲۸). در حقیقت، کاسپاز ۳ یک عملگر پایین‌تر از کاسپاز ۹ است، که خود توسط سیتوکروم C آزاد شده یا توسط میتوکندری یا کاسپاز ۸ فعال می‌شود که از طریق گیرنده‌های مرگ غشایی فعال می‌شود (۲۸).

اما در شاخص Bcl-2 تمرین تناوبی + عصاره عناب موجب تغییرات معنادار نسبت به گروه سکت و گروه عصاره + سکت شده است. اما بین گروه تمرین تناوبی و سکت تفاوت معنادار مشاهده نشد که نشان می‌دهد ترکیب تمرین تناوبی و عصاره می‌تواند نسبت به تمرین یا عصاره به تنهایی مفیدتر باشد. شایان ذکر است محقق هیچ‌گونه تحقیقی مشابهی در زمینه تأثیر عصاره عناب در بازتوانی قلبی و تأثیر آن بر روی آپوپتوز بعد از سکت قلبی و همچنین ترکیب آن با تمرین ورزشی پیدا نکرد. غلظت Bcl-2 در بافت‌های قلب موش‌های دچار سکت پس از تمرین تناوبی هوازی ($P < 0.114$) یا عصاره عناب

بحث

تحقیق حاضر نشان داد القای سکت توسط ایزوپرنالین موجب افزایش شایان توجهی در میزان کاسپاز ۳ در گروه سکت نسبت به گروه سالم شد که نشان‌دهنده ایجاد سکت و آپوپتوز است. علاوه بر این در شاخص کاسپاز ۳ در هیچ‌یک از گروه‌ها تفاوت معناداری با گروه سکت مشاهده نمی‌شود که با نتایج مطالعات سیو (۲۰۰۴) که به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین منظم با شدت پایین (۵ روز در هفته) در عضله قلبی و اسکلتی موش‌ها پرداخت و افزایش Bcl-2 و HSP-70 و کاهش ApaF-1 و Bax و همچنین عدم تغییر معنادار کاسپاز ۳ را نشان داد، همخوان بود (۱۸). خانواده کاسپاز ۳ شامل بیش از چهارده کاسپاز (Caspas1 تا Caspas14) است. برای تنظیم آپوپتوز و التهاب نیاز به کاسپازهاست. داده‌های ما نشان داد که تولید بیش‌ازحد کاسپاز ۳ پس از سکت موجب افزایش آپوپتوز می‌شود، این می‌تواند از طریق محرک‌ها با یک غشا (گیرنده فعال) یا

موش‌های سالم موجب کاهش آپوپتوز و سطوح کاسپاز ۳ بافت قلب شد (۳۱). کویندری^۳ و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی تداومی هوازی در محیط‌های گرم و سرد موجب کاهش آپوپتوز سلول‌های قلبی پس از آسیب سکنه/ خون‌رسانی مجدد شد (۳۲). همچنین، سیو^۴ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که ۸ هفته تمرین هوازی دویدن بر روی نوار گردان در موش‌های صحرایی موجب کاهش شاخص آپوپتوزی عضله اسکلتی به میزان ۳۳ درصد و عضله قلبی بطن چپ به میزان ۱۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل بدون تمرین شد. همچنین، بیان ژن پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 در عضله اسکلتی و بطن چپ موش‌های گروه تمرین به ترتیب ۴۸ و ۳۵ درصد بیشتر از گروه کنترل بود. همچنین، بیان ژن پروتئین آپوپتوزی Bax در عضله اسکلتی گروه تمرین هوازی به میزان ۳۵ درصد کمتر از گروه کنترل بدون تمرین بود. با این حال، تمرین هوازی تأثیر معناداری بر سطوح بیان ژن پروتئین آپوپتوزی Bax در عضله قلبی نداشت. آنها گزارش کردند که محتوی پروتئین و mRNA عامل ضد آپوپتوزی Bcl-2 همبستگی مثبتی با محتوی پروتئین HSP-70 و سطوح آنزیم منگنز سوپراکسید دسموتاز (Mn-SOD) دارد (۱۸). ابوطالب^۵ و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که انجام تمرین ورزشی هوازی پیش از القای سکنه مغزی موجب کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوزی، کاهش نسبت Bax/Bcl-2 و نیز کاهش تعداد سلول‌های کاسپاز-۳ فعال در ناحیه CA3 هیپوکامپ رت‌های مبتلا به سکنه مغزی شد (۳۳) که در تمام موارد مذکور با نتایج تحقیق ما کاملاً همخوان است. طیبی و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی اثر مصرف کوتاه‌مدت محلول خوراکی عناب را قبل از یک

($P < 0.0001$) افزایش محدودی یافته و معنادار نیست. با این حال در اثر تعاملی تمرین تناوبی+عصاره افزایش چشمگیری نسبت به گروه کنترل سکنه مشاهده می‌شود ($P < 0.0001$) که با نتایج پژوهش لو و همکاران (۲۰۱۵) در زمینه تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر آپوپتوز قلبی و مقایسه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین استقامتی بر نشانه‌های آپوپتوز و عملکرد قلبی در موش‌های صحرایی ماده، همخوانی داشت. در پژوهش مذکور کسر تزریقی بطن چپ و همچنین PI3K و AKT و AMPK و P38MAPK به‌عنوان نشانگر آپوپتوز بررسی شده و نتایج حاکی از تأثیر معنادار تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین هوازی بر کاهش فرایند آپوپتوز بود (۲۹). همچنین با نتایج پژوهش فرناندز (۲۰۱۲) که به بررسی ۱۰ هفته تمرین منظم هوازی شنا در موش‌های صحرایی نر پرداخت، همسو بود. نتایج این پژوهش حاکی از افزایش Bcl-2 و کاهش BAD و در کل مهار آپوپتوز بود (۱۹). ژانگ و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثر ۱۴ روز تمرین استقامتی دویدن بر روی نوار گردان در موش‌های مبتلا به سکنه مغزی گزارش کردند که این پروتکل تمرینی موجب کاهش معنادار تعداد سلول‌های آپوپتوزی، مهار بیان کاسپاز-۳ و افزایش قابل توجه بیان Bcl-2 شد (۳۰). لی^۱ و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند که میزان آپوپتوز سلول‌های قلبی، سطوح پروتئین پیش آپوپتوزی Bax، نسبت Bax/Bcl-2، فعالیت کاسپاز-۹ و کاسپاز-۳ پس از ۱۲ هفته تمرین هوازی دویدن بر روی نوار گردان در نمونه‌های حیوانی (موش) کاهش و سطوح پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 افزایش یافت (۱۵). حسن^۲ و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که ۶ هفته تمرین ورزشی در

2 . Hassan
3 . Quindry
4 . Siu
5 . Aboutaleb

1 . Lee

(Hypoxia) بسیار بالاست (۳۸). همچنین، به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی موجب افزایش ۱۰ تا ۲۰ برابری مصرف اکسیژن در بدن و تقویت تولید رادیکال‌های آزاد در بافت‌های مختلف از جمله قلب می‌شود (۳۹). از طرفی عدم تحمل فعالیت ورزشی و کاهش برداشت اکسیژن از ویژگی‌های ثابت‌شده بیماران پس از سکته قلبی است (۴۴). به نظر می‌رسد ۶ هفته تمرین تناوبی هوازی و مصرف عصاره عنباب به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدانی عملکرد میتوکندی‌ها را بهبود بخشیده و این عامل موجب افزایش مقادیر Bcl-2 به‌عنوان مهم‌ترین عامل مهار آپوپتوز شده باشد. از طرفی احتمالاً گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ایجادشده در اثر تمرین تناوبی عامل عدم معنادار شدن گروه تمرین در هر دو شاخص شده است. احتمالاً در اثر تمرین و مصرف عصاره عنباب، مسیرهای آپوپتوزی داخلی، مولکول‌های سیگنالی پیش‌آپوپتوزی (مانند پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی خانواده Bcl-2 مانند Bak و Bax) به میتوکندری منتقل شده و موجب القای یک سری منافذ نفوذپذیر موقت در غشای خارجی میتوکندری شده‌اند که رهایش سیتوکروم C را مهار و به کاهش فعالیت کاسپاز ۹ منجر شده‌اند. سیتوکروم C علاوه بر اینکه بازیگر اصلی فرایند فعال ساختن آبشار کاسپازهای میتوکندریایی است، با فسفولیپید اختصاصی میتوکندری یعنی کاردیولیپین تعامل دارد. نتیجه این واکنش تشکیل کمپلکس کاردیولیپین-سیتوکروم C است که این کمپلکس در حضور پراکسید هیدروژن، اکسیداسیون کاردیولیپین را کاتالیز می‌کند. تجمع محصولات این اکسیداسیون در میتوکندری به آزاد شدن عوامل پیش‌آپوپتوزی به درون سیتوسل منجر می‌شود (۴۰، ۴۱).

برخی از محدودیت‌های پژوهش مذکور شامل کمبود امکاناتی مانند دستگاه اکوکاردیوگرافی مخصوص رت‌ها، بررسی تفاوت‌های اولیه حیوانات از نظر عملکرد قلب و

جلسه ورزش مقاومتی دایره‌ای بر آپوپتوز نوتروفیل انسانی بررسی کردند که نشان دادند ارتقای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نوتروفیل بر اثر مصرف عنباب پس از تمرین مقاومتی به‌وجود می‌آید (۳۴). نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق ما که نشان داد عنباب به‌عنوان داروی گیاهی آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش آپوپتوز می‌شود، همخوان است.

تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن میتوکندریایی از جمله عوامل کلیدی در مرگ نکروزی و آپوپتوزی سلول‌های قلبی پس از آسیب ایسکمی-ریپرفیوژن است. شواهد متعددی نشان می‌دهند تمرین ورزشی تناوبی هوازی موجب افزایش اجزای مختلف سیستم تامپونی در قلب می‌شود. برای مثال، میردار و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که تمرینات شنای استقامتی با شدت زیربیشینه آپوپتوز را مهار می‌کنند یا از طریق راه‌اندازی مکانیسم‌های جبرانی موجب کاهش آن می‌شوند (۳۵). همچنین، مشخص شده است که تمرین تناوبی هوازی موجب افزایش سطوح آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز-۱ و ۲ (SOD-1,2) در فضای بین‌غشایی و ماتریکس میتوکندری می‌شود. این آنزیم‌ها به‌عنوان اولین خط دفاعی در مقابل رادیکال‌های سوپراکسید در سلول‌ها شناخته شده‌اند که از طریق ایجاد جهش در رادیکال‌های سوپراکسید آنها را به گونه‌های غیررادیکالی هیدروژن پراکسید (H₂O₂) تبدیل می‌کنند (۳۶). سکته قلبی ناشی از ایزوپرنالین به‌صورت انسداد دائمی نیست، بلکه به‌صورت ایسکمی-برقراری مجدد جریان خون است. نشان داده شده است که برقراری مجدد جریان خون پس از ایسکمی موقت موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش نفوذپذیری میتوکندری‌ها و مرگ سلول‌های قلبی می‌شود (۳۷).

علاوه بر این، تحقیقات نشان داده‌اند که ظرفیت ترشح کاتکولامین‌ها در پاسخ به محرک‌هایی مانند فعالیت ورزشی، هیپوگلیسمی (Hypoglycemia) و هیپوکسی

همچنین بافت قلب بود، علاوه بر این عدم امکان کنترل تأثیر ناشی از استرس شوک الکتریکی در جلسات اولیه تمرین و عدم امکان کنترل تأثیر ناشی از استرس گواژ است.

عنا ب به عنوان-یک آنتی‌اکسیدان قوی- و تأثیرگذار با افزایش معنادار Bcl-2 بافت قلب، می‌تواند موجب مهار آپوپتوز سلول‌های قلبی پس از سکته، و کاهش آسیب بافت قلبی شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تمرین تناوبی هوازی و مصرف عصاره

منابع و مآخذ

1. Takahashi M. Role of the SDF-1/CXCR4 system in myocardial infarction. *Circulation Journal*. 2010;74(3):418-23.
2. Galang N, Sasaki H, Maulik N. Apoptotic cell death during ischemia/reperfusion and its attenuation by antioxidant therapy. *Toxicology*. 2000, 148(2-3):111-8.
3. Pendergrass KD, Varghese ST, Maiellaro-Rafferty K, Brown ME, Taylor WR, Davis ME. Temporal effects of catalase overexpression on healing after myocardial infarction. *Circulation: Heart Failure*. 2011;4(1):98-106.
4. Takemura G, Kanoh M, Minatoguchi S, Fujiwara H. Cardiomyocyte apoptosis in the failing heart—a critical review from definition and classification of cell death. *International journal of cardiology*. 2013;167(6):2373-86.
5. Tekin D, Xi L, Kukreja RC. Genetic deletion of fas receptors or Fas ligands does not reduce infarct size after acute global ischemia-reperfusion in isolated mouse heart. *Cell biochemistry and biophysics*. 2006;44(1):111-7.
6. Köhler C, Orrenius S, Zhivotovsky B. Evaluation of caspase activity in apoptotic cells. *Journal of immunological methods*. 2002;265(1-2):97-110.
7. Polster BM, Pevsner J, Hardwick JM. Viral Bcl-2 homologs and their role in virus replication and associated diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2004;1644 (2-3) :27-211.
8. Calvert JW. Cardioprotective effects of nitrite during exercise. *Cardiovascular Research*. 2011;89(3):499-506.
9. Zhang S, Li N. Effects of carbon monoxide on quality, nutrients and antioxidant activity of post-harvest jujube. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014;94(5):1013-9.
10. Cheng G, Bai Y, Zhao Y, Tao J, Liu Y, Tu G, et al. Flavonoids from *Ziziphus jujuba* Mill var. *spinosa*. *Tetrahedron*. 2000;56(45):8915-20.
11. Liang S, Juan J. Effect of jujube extract on oxidative injury in heart muscles of exhausted training rats. *African Journal of Microbiology Research*. 2011;5(14):1896-9.
12. Tofighi A, Kalan AE, Qarakanlou BJ. The effect of resveratrol supplementation and aerobic training on cardiac tissue alteration of rats with acute myocardial infarction.
13. Fagard RH. Exercise is good for your blood pressure: effects of endurance training and resistance training. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2006;33(9):853-6.

14. Garza MA, Wason EA, Zhang JQ. Cardiac remodeling and physical training post myocardial infarction. *World journal of cardiology*. 2015;7(2):52.
15. 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.
16. 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. *Journal of applied physiology*. 2008;105(6):1934-43.
17. Tabrizi NJ, Bashiri J, Rad MN. *Qom Univ Med Sci* 2017 August.
18. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *The FASEB Journal*. 2004;18(10):1150-2.
19. Fernandes T, Magalhães FdC, Carmo ECd, Oliveira EMd. Aerobic exercise training inhibits skeletal muscular apoptotic signaling mediated by VEGF-VEGR2 in spontaneously hypertensive rats. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2012.18(6); 412-8.
20. Mohanty I, Arya DS, Dinda A, Talwar KK, Joshi S, Gupta SK. Mechanisms of cardioprotective effect of *Withania somnifera* in experimentally induced myocardial infarction. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2004;94(4):184-90.
21. Xu X, Zhao W, Lao S, Wilson BS, Erikson JM, Zhang JQ. Effects of exercise and L-arginine on ventricular remodeling and oxidative stress. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010;42(2):346.
22. Nunes RB, Alves JP, Kessler LP, Dornelles AZ, Stefani GP, Lago PD. Interval and continuous exercise enhances aerobic capacity and hemodynamic function in CHF rats. *Brazilian journal of physical therapy*. 2015;19(4):257-63.
23. Dashtban M, Sarir H, Omidi A. The effect of *Prosopis farcta* beans extract on blood biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Advanced biomedical research*. 2016;5.
24. Wang S, Zhang J, Zhang Z, Gao W, Yan Y, Li X, et al. Identification of chemical constituents in the extract and rat serum from *Ziziphus jujuba* mill by HPLC-PDA-ESI-MSn. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2014;13(3):1055.
25. Pahuja M, Mehla J, Reeta K, Joshi S, Gupta YK. Hydroalcoholic extract of *Zizyphus jujuba* ameliorates seizures, oxidative stress, and cognitive impairment in experimental models of epilepsy in rats. *Epilepsy & Behavior*. 2011;21(4):356-63.
26. Niaki AG, Hosseini F, Roodbari F, Ahmadabad SR, Roodbari M. Effects of Aerobic Training, with or without *Zizyphus Jujuba* Water Extraction, on Fundus Nesfatin-1, ATP, HDL-C, and LDL-C Concentrations in Female Rats. *Iranian Journal of Health and Physical Activity*. 2013;4(1):9-16.
27. Yang Y-L, Chen C-L, Chen C-M, Ko W-C. Hesperetin-5, 7, 3'-O-triacetate suppresses airway hyperresponsiveness in ovalbumin-sensitized and challenged mice without reversing xylazine/ketamine-induced anesthesia in normal mice. *BMC Pharmacology and Toxicology*. 2017;18(1):39.

28. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science*. 1998;1305-8.
29. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular medicine reports*. 2015;12(2):2374-82.
30. Zhang P, Zhang Y, Zhang J, Wu Y, Jia J, Wu J, et al. Early exercise protects against cerebral ischemic injury through inhibiting neuron apoptosis in cortex in rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(3):6074-89.
31. Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *International journal of health sciences*. 2013;7(1).
32. Quindry JC, Hamilton KL, French JP, Lee Y, Murlasits Z, Tumer N, et al. Exercise-induced HSP-72 elevation and cardioprotection against infarct and apoptosis. *Journal of Applied Physiology*. 2007;103(3):1056-62.
33. 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. *The Journal of Physiological Sciences*. 2015;65(5):435-43.
34. Tayebi SM, Agha-Alinejad H, Shafaei S, Gharakhanlou R, Asouri M. Short-Term Effects of Oral Feeding Jujube *Ziziphus* Solution before a Single Session of Circuit Resistance Exercise on Apoptosis of Human Neutrophil. *Annals of Applied Sport Science*. 2014;2(1):53-68.
35. Mirdar S, Musavi N, Hamidian G, Hedayati M. The effect of swimming endurance training on changes in liver apoptotic index and metallothionein levels in pregnant rats exposed to cadmium. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2014;1(2):9-20.
36. Powers SK, Smuder AJ, Kavazis AN, Quindry JC. Mechanisms of exercise-induced cardioprotection. *Physiology*. 2014;29(1):27-38.
37. Chiong M, Wang Z, Pedrozo Z, Cao D, Troncoso R, Ibacache M, et al. Cardiomyocyte death: mechanisms and translational implications. *Cell death & disease*. 2011;2(12):e244.
38. Zouhal H, Jacob C, Delamarche P, Gratas-Delamarche A. Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Medicine*. 2008;38(5):401-23.
39. Husain K, Hazelrigg SR. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2002;1587(1):75-82.
40. BayIr H, Kagan VE. Bench-to-bedside review: Mitochondrial injury, oxidative stress and apoptosis—there is nothing more practical than a good theory. *Critical care*. 2008;12(1):206.
41. Soberanes S, Panduri V, Mutlu GkM, Ghio A, Bundinger GS, Kamp DW. p53 mediates particulate matter-induced alveolar epithelial cell mitochondria-regulated apoptosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2006;174(11):1229-38.