



دانشکده‌ی علوم تربیتی و روان‌شناسی
گروه آموزشی تربیت بدنی و علوم ورزشی

رساله برای دریافت درجه‌ی دکترای تخصصی
در رشته‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی گرایش فیزیولوژی ورزشی

عنوان:

**تأثیر دو شیوه‌ی تمرینی تداومی و تناوبی هوازی بر آپوپتوز عضله‌ی نعلی
موش‌های صحرایی نر**

اساتید راهنما:

پروفسور معرفت سیاه‌کوهیان
دکتر لطفعلی بلبلی

اساتید مشاور:

دکتر افشار جعفری
دکتر فرزام شیخ‌زاده حصاری

پژوهشگر:

مسعود اصغر پور ارشد

بهار 1395

نام خانوادگی دانشجو: اصغر پور ارشد	نام: مسعود
عنوان رساله: تاثیر دو شیوهی تمرینی تداومی و تناوبی هوازی بر آپوپتوز عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر	
اساتید راهنما: پروفیسور معرفت سیاه‌کوهیان – دکتر لطفعلی بلبلی استاد (اساتید) مشاور: دکتر افشار جعفری – دکتر فرزام شیخ زاده حصارى	
مقطع تحصیلی: دکترای تخصصی	رشته: تربیت بدنی و علوم ورزشی
گرایش: فیزیولوژی ورزشی	دانشگاه: محقق اردبیلی
دانشکده: علوم تربیتی و روان‌شناسی	تاریخ دفاع: 1395/02/14
	تعداد صفحات: 108
<p>چکیده:</p> <p>زمینه و اهداف: آپوپتوز یک فرآیند سلولی محافظت‌کننده است که نقش مهمی در توسعه و هومئوستاز بافت طبیعی و نیز عوامل پیدایش بیماری‌ها بازی می‌کند. در شرایط طبیعی این پدیده باعث حذف سلول‌های پیر، آسیب‌دیده، اضافی و مضر می‌شود و برای ترمیم بافت‌ها ضروری می‌باشد. در عضله اسکلتی، آپوپتوز نقش مهمی در بیماری‌های مرتبط با تخریب عملکرد بافتی مانند آتروفی عضلانی بازی می‌کند. برخی شواهد حاکی از آن است که تمرینات ورزشی ممکن است تعدادی از مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به آپوپتوز را در عضله اسکلتی تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر دو شیوهی تمرینی تداومی و تناوبی هوازی بر آپوپتوز عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر انجام گردید.</p> <p>مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر در قالب یک طرح تجربی چند گروهی با گروه کنترل روی 38 سر موش صحرایی نر سه ماهه انجام گردید. آزمودنی‌ها به شکل تصادفی در چهار گروه همگن کنترل پایه‌ی سه ماهه (8 سر)، کنترل شش ماهه (10 سر)، تمرین ورزشی تداومی (10 سر) و تمرین ورزشی تناوبی (10 سر) جایگزین شدند. گروه‌های تمرین به مدت 12 هفته در دو برنامه‌ی تمرین هوازی تداومی و تناوبی شرکت کردند. آزمودنی‌های گروه پایه در سن سه ماهگی و قبل از شروع پروتکل تمرینی و آزمودنی‌های سه گروه دیگر در سن شش ماهگی و 48 ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین تحت جراحی قرار گرفته و بیان پروتئین‌های Bcl-2, Bax و کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی آن‌ها با استفاده از روش Real Time-PCR بررسی شد. داده‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعقیبی بونفرونی و و تامانز تی‌دو برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های مورد نظر بین گروه‌های مختلف در سطح معنی‌داری $P < 0/05$ تجزیه و تحلیل شدند.</p> <p>یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که بین گروه‌های کنترل و تمرین در بیان ژن Bcl-2 ($P < 0/01$) و نسبت Bcl-2 به Bax ($P < 0/05$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بیان ژن Bcl-2 گروه‌های تمرین به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. نسبت Bcl-2 به Bax نیز در هر دو گروه تمرینی به صورت معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود. اما در بیان ژن Bax و کاسپاز-3 بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). با این حال، بیان ژن Bax گروه تمرین تناوبی در مقایسه با گروه‌های کنترل و تمرین تداومی به ترتیب 44 و 46 درصد کمتر بود. بیان ژن کاسپاز-3 نیز در گروه تمرین تداومی 53 درصد بیشتر از گروه کنترل و در گروه تمرین تناوبی 21 درصد کمتر از گروه کنترل بود.</p> <p>نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد 12 هفته تمرین هوازی مخصوصاً از نوع تداومی تاثیر قابل‌توجهی بر افزایش پروتئین ضدآپوپتوز میتوکندریایی عضله‌ی نعلی دارد. با این حال، با توجه به پایین بودن معنی‌دار نسبت Bcl-2 به Bax گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل و عدم تفاوت معنی‌دار پروتئین کاسپاز-3 بین گروه‌های تمرین و کنترل، اظهار نظر قطعی در مورد تاثیر تمرینات ورزشی بر شاخص‌های مربوط به آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی، منوط به انجام مطالعات بیشتری می‌باشد.</p> <p>کلید واژه‌ها: آپوپتوز، تمرین هوازی تداومی، تمرین هوازی تناوبی، عضله‌ی نعلی.</p>	

فصل اول: کلیات پژوهش

1-1	مقدمه	2
1-2	بیان مسأله	3
1-3	اهمیت و ضرورت تحقیق	6
1-4	اهداف تحقیق	7
1-4-1	هدف کلی	7
1-4-2	اهداف جزئی	7
1-5	فرضیه‌ها یا سؤالات اصلی تحقیق	8
1-6	محدودیت‌های تحقیق	9
1-6-1	محدودیت‌های قابل کنترل	9
1-6-2	محدودیت‌های غیرقابل کنترل	9
1-7	تعریف واژگان	10

فصل دوم: مبانی نظری پژوهش

1-2	مقدمه	12
2-2	چرخه‌ی سلولی و تحول بافتی	12
3-2	تاریخچه و دسته‌بندی مرگ سلولی	13
2-4	آپوپتوز	18
2-5	نقش‌های کلیدی آپوپتوز	20
2-6	بررسی اجمالی مسیرهای آپوپتوزی	20
2-6-1	مسیر میتوکندریایی یا داخلی	21
2-6-2	آپوپتوز القا شده توسط گیرنده‌های مرگ یا مسیر خارجی	23
2-6-3	مسیر شبکه اندوپلاسمیک	24
2-7	تغییرات مورفولوژیک آپوپتوز	25
2-8	کاسپازها، مسئولان اجرائی آپوپتوز	26
2-8-1	انواع کاسپازها	27
2-8-2	فعال شدن کاسپازها در مسیر داخلی	28
2-9	پروتئین‌های خانواده‌ی Bcl-2	30
2-9-1	ساختار و عملکرد	30
2-9-2	تنظیم فعالیت پروتئین‌های خانواده Bcl-2	32
2-10	آپوپتوز در عضله‌ی اسکلتی و ارتباط آن با آتروفی	33
2-11	اثرات فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی بر آپوپتوز	34
1-11-2	اثر تمرینات ورزشی بر آپوپتوز	35
2-11-2	اثر فعالیت ورزشی حاد بر آپوپتوز	44

452-12 جمع بندی.....

فصل سوم: مواد و روش پژوهش

501-3 مقدمه
513-2 طرح و روش تحقیق.....
523-3 جامعه و نمونه‌ی آماری
523-4 شرایط نگهداری حیوانات
533-5 آشنایی آزمودنی‌ها با دویدن روی نوارگردان و گروه‌بندی آنها.....
543-6 تغذیه موش‌های صحرایی.....
553-7 قرارداد تمرینی.....
563-7-1 پروتکل تمرین هوازی تداومی.....
573-7-2 پروتکل تمرین هوازی تناوبی.....
573-8 جراحی حیوانات آزمایشگاهی و استخراج نمونه.....
583-9 اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکی و هماتولوژیکی.....
5910-3 متغیرهای تحقیق.....
591-10-3 متغیرهای مستقل.....
592-10-3 متغیرهای وابسته.....
603-11 ابزار و مواد مورد استفاده.....
601-11-3 ابزار اندازه‌گیری‌های فیزیکی.....
632-11-3 ابزار مورد استفاده در روش‌های مولکولی.....
663-11-3 محلول‌های مورد استفاده در روش‌های مولکولی.....
661-3-11-3 محلول‌های لازم جهت واکنش PCR.....
662-3-11-3 محلول‌های لازم جهت الکتروفورز کردن RNA.....
6712-3 استخراج RNA.....
683-13 تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده.....
6914-3 ساخت cDNA.....
693-15 Real-time PCR.....
723-15-1 بیان ژن مرجع (بتا اکتین) با استفاده از Real Time -PCR.....
723-15-2 بیان ژن‌های مورد نظر با استفاده از Real Time RT-PCR.....
7316-3 روش‌های تجزیه و تحلیل آماری.....

فصل چهارم: نتایج و یافته‌های پژوهش

751-4 مقدمه
752-4 توصیف داده‌ها.....
773-4 یافته‌های تحقیق.....
781-3-4 تفاوت‌های فیزیکی.....
802-3-4 تفاوت‌های هماتولوژیکی.....

81	3-3-4 آزمون فرصیه‌های تحقیق.....
82	1-3-3-4 میزان بیان پروتئین Bax عضله‌ی نعلی (فرضیه‌های اول تا سوم تحقیق).....
83	2-3-3-4 میزان بیان پروتئین Bcl-2 عضله‌ی نعلی (فرضیه‌های چهارم تا ششم تحقیق).....
85	3-3-3-4 نسبت Bax/Bcl-2 عضله‌ی نعلی (فرضیه‌های هفتم تا نهم تحقیق).....
87	4-3-3-4 میزان بیان پروتئین کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی (فرضیه‌های دهم تا دوازدهم تحقیق).....
89	4-4 جمع بندی.....

فصل پنجم: نتیجه گیری و بحث

91	1-5- مقدمه.....
92	2-5 بحث.....
93	1-2-5 بیان ژن Bax، Bcl-2 و نیز نسبت بیان ژن Bax به Bcl-2 عضله نعلی موش‌های صحرایی نر متعاقب دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی.....
97	2-2-5 بیان ژن کاسپاز-3 عضله نعلی موش‌های صحرایی نر متعاقب دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی..
99	3-5 نتیجه گیری.....
100	4-5 پیشنهادات تحقیق.....
100	1-4-5 پیشنهادات کاربردی.....
101	2-4-5 پیشنهادات تحقیقاتی.....
102	منابع و مأخذ.....

جدول 1-2: تمرین، فعالیت بدنی و اثر آن بر شاخص‌های آپوتوز	46
جدول 1-3: جزئیات پروتکل تمرین هوازی تداومی 12 هفته‌ای مورد استفاده در پژوهش (5 جلسه در هفته)	56
جدول 2-3: جزئیات پروتکل تمرین هوازی تناوبی 12 هفته‌ای مورد استفاده در پژوهش (5 جلسه در هفته)	57
جدول 3-3: تجهیزات و لوازم مورد استفاده در روش‌های مولکولی	63
جدول 3-4: مواد عمومی مورد استفاده در روش‌های مولکولی	65
جدول 3-5: مواد شیمیایی مورد استفاده در روش‌های مولکولی	65
جدول 3-6: مواد بیولوژیک مورد استفاده در روش‌های مولکولی	66
جدول 3-7: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر برای پروتئین Bax	70
جدول 3-8: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر برای پروتئین Bcl2	70
جدول 3-9: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر برای پروتئین کاسپاز-3	70
جدول 3-10: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر برای پروتئین مرجع (بتا آکتین)	71
جدول 1-4: شاخص‌های مربوط به آپوتوز عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی مورد مطالعه	76
جدول 2-4: آزمون شاپیرو- ویلک جهت بررسی همگنی داده‌ها	77
جدول 3-4: آزمون لون جهت بررسی برابری واریانس‌ها در شاخص‌های مورد مطالعه	78
جدول 4-4: برخی ویژگی‌های فیزیکی موش‌های صحرایی مورد مطالعه	79
جدول 4-5: برخی ویژگی‌های هماتولوژیکی موش‌های صحرایی مورد مطالعه	80
جدول 4-6: تحلیل واریانس یک‌طرفه میزان بیان پروتئین Bax بین گروه‌های مختلف	82
جدول 4-7: تحلیل واریانس یک‌طرفه میزان بیان پروتئین Bcl-2 بین گروه‌های مختلف	83
جدول 4-8: آزمون تعقیبی بونفرونی تفاوت میزان بیان پروتئین Bcl-2 بین گروه‌های مختلف	84
جدول 4-9: تحلیل واریانس یک‌طرفه نسبت بیان پروتئین Bax به Bcl-2 بین گروه‌های مختلف	85
جدول 4-10: آزمون تعقیبی بونفرونی تفاوت نسبت Bax به Bcl-2 بین گروه‌های مختلف	86
جدول 4-11: تحلیل واریانس یک‌طرفه میزان بیان پروتئین کاسپاز-3 بین گروه‌های مختلف	87

فهرست شکل‌ها

شماره و عنوان شکل	صفحه
شکل 2-1: انواع مرگ سلولی. A: آپوپتوز، B: اتوفاژی، C: نکروز.....	14
شکل 2-2: شماتیک تشکیل اجسام آپوپتوتیک.....	19
شکل 2-3: شماتیک مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز.....	23
شکل 2-4: مسیر آپوپتوزی شبکه اندوپلاسمیک.....	25
شکل 2-5: تغییرات تعداد هسته در آتروفی و هایپرتروفی عضله‌ی اسکلتی.....	33
شکل 3-1: شماتیک و روش اجرای تحقیق.....	51
شکل 3-2: موش صحرایی ویستار 14848.....	51
شکل 3-3: آماده سازی کف قفس موش صحرایی.....	52
شکل 3-4: نگهداری موش صحرایی در قفس‌های پلی کربنات.....	53
شکل 3-5: نوارگردان الکترونیکی حیوانی هوشمند.....	53
شکل 3-6: پلت مورد استفاده برای تغذیه موش‌های صحرایی.....	55
شکل 3-7: بطری آب مورد استفاده برای هر قفس.....	55
شکل 3-8: استخراج عضله‌ی نعلی.....	58
شکل 3-9: دما و رطوبت سنج دیجیتالی.....	60
شکل 3-10: پریز تایمردار 24 ساعته.....	61
شکل 3-11: سرنگ انسولین.....	61
شکل 3-12: لوله موئینه.....	61
شکل 3-13: ست تشریح حیوان.....	62
شکل 3-14: ترازوی آزمایشگاهی.....	62
شکل 3-15: دستگاه شمارشگر H1.....	62
شکل 3-16: دستگاه ترموسایکلر (PCR).....	64
شکل 3-17: اسپکتروفتومتر.....	64
شکل 3-18: Rotor gene 6000.....	64
شکل 4-1: مقادیر بیان پروتئین Bax در عضله‌ی نعلی گروه‌های تمرین و کنترل.....	83
شکل 4-2: مقادیر بیان پروتئین Bcl-2 در عضله‌ی نعلی گروه‌های تمرین و کنترل.....	85
شکل 4-3: نسبت بیان پروتئین Bax به Bcl2 در عضله‌ی نعلی گروه‌های تمرین و کنترل.....	87
شکل 4-4: مقادیر بیان پروتئین کاسپاز-3 در عضله‌ی نعلی گروه‌های تمرین و کنترل.....	88

فصل اول:

کلیات پژوهش

1-1 مقدمه

آپوپتوز¹ یک فرآیند بیولوژیکی داخلی کدگذاری شده‌ی فعال است که به تنظیم ژن‌های خاصی نیاز دارد تا رویدادهای آپوپتوتیک مربوطه را هماهنگ نماید. آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول در ایجاد تعادل بین بقا و مرگ سلولی در لیگاندهای سلول میتوتیک بسیار مهم است و به عنوان فرآیند تنظیم کننده‌ی فعال حذف بافت‌های غیرطبیعی یا آسیب‌دیده به رسمیت شناخته شده است. نقش آپوپتوز در سلامتی و بیماری‌ها به وسیله‌ی پاتوزن چندین بیماری شدید از جمله سرطان‌های مختلف، سندروم نقص ایمنی، بیماری‌های خود ایمنی، عفونت‌های ویروسی و بیماری‌های عصبی اثبات شده است که در این بیماری‌ها تنظیم نابجای آپوپتوز مشارکت دارد. اخیراً، آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی تحت شرایط فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی مشخصی از جمله قطع عصب عضله، آتروفی عضلانی، اختلالات عصبی عضلانی، عدم تحمل وزن اندام‌های تحتانی، کاهش بار روی عضله، سارکوپنیای² ناشی از پیری، فعالیت‌های ورزشی شدید و همچنین برخی بیماری‌ها از قبیل دیابت، چاقی، کمبود ویتامین D، کمبود هورمون رشد و ... گزارش شده است. این مشاهدات موافق از فعال شدن آپوپتوز در حالت آتروفی عضلانی که با کاهش توده و قدرت عضلانی و در نتیجه افزایش خطر ناتوانی جسمانی همراه است، توجهات را به وجود نقش فیزیولوژیکی آپوپتوز در تنظیم فرآیند آتروفی عضلانی در هنگام عدم استفاده یا عدم فعالیت عضله به خود جلب کرده است. بنابراین پژوهشگران همواره به دنبال اتخاذ راهکارهای مناسب برای پیشگیری از آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی و بیماری‌های مختلف عضلانی مرتبط با آن هستند.

¹ Apoptosis

² Sarcopenia

1-2 بیان مسأله

آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یک فرآیند ژنتیکی است که بخش تفکیک‌ناپذیر از رشد، توسعه و همئوستاز³ موجود زنده می‌باشد که برای حذف سلول‌های زاید با روشی هدفمند به کار می‌رود (مارفی⁴ و همکاران، 2010؛ تسالوهیدو⁵ و همکاران، 2009؛ کوادریلاترو⁶ و همکاران، 2010؛ سیو⁷ و همکاران، 2005). تحت شرایط طبیعی آپوپتوز به شدت تنظیم شده است و برای رشد و تنظیم طبیعی بافت‌های بدن ضروری می‌باشد. آپوپتوز معمولاً از طریق دو مسیر خارجی و داخلی رخ می‌دهد (ادهیتهتی⁸ و هود، 2003). مسیر خارجی آپوپتوز شامل فعال‌سازی گیرنده‌های مرگ سلول موجود در غشای سلول می‌باشد. برای مثال TNF α یا Fasl می‌توانند از طریق فعال‌سازی کاسپازهای آغازگر (کاسپاز 8 و 10) آپوپتوز را شروع کنند. مسیر داخلی شامل رهاسازی سیتوکروم c از میتوکندری و شروع سیگنال‌های خودکشی به واسطه‌ی کاسپازها می‌باشد (کوادریلاترو و همکاران، 2010). در این بین رویدادهای مولکولی که منجر به فعال‌سازی و اجرای برنامه‌ی آپوپتوتیکی در مسیر داخلی می‌شوند، اغلب به واسطه‌ی تعادل بین پروتئین‌های پیش و ضد آپوپتوزی کنترل می‌شوند (پترسون⁹ و همکاران، 2008؛ سانگ¹⁰ و همکاران، 2006). خانواده‌ی پروتئین‌های Bcl-2 به عنوان تنظیم‌کننده‌های بالا دست آپوپتوز شامل پروتئین‌های Bax و Bcl-2 به عنوان پروتئین‌های کلیدی مشهور در شکل‌گیری کانال‌های آپوپتوزی و تنظیم پیام‌های آپوپتوز میتوکندریایی شناخته شده‌اند (پترسون و همکاران، 2008؛ کوچتورک¹¹ و همکاران، 2008؛ مک‌میلان¹² و همکاران، 2012). اغلب مطالعات نشان داده‌اند که جابجایی پروتئین Bax به طرف میتوکندری و جاسازی آن در داخل غشای بیرونی منتج به رهایش سایر عوامل آپوپتوزی (مانند سیتوکروم c) از فضای بین غشایی میتوکندری می‌شود. این در حالی است که پروتئین Bcl-2 با فعالیت پیش‌آپوپتوزی پروتئین Bax مخالفت کرده و موجب حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری می‌شود (پترسون و همکاران، 2008؛

³ Homeostasis

⁴ Marfe

⁵ Tsalouhidou

⁶ Quadriatero

⁷ Siu

⁸ Adhihetty

⁹ Peterson

¹⁰ Song

¹¹ Koçtürk

¹² Mc Millan

سانگ و همکاران، 2006؛ مک‌میلان و همکاران، 2012؛ لیو¹ و همکاران، 2013). در نهایت پیام‌های آپوپتوزی در فعال‌سازی کاسپازهای اثر کننده‌ی متداول از جمله کاسپاز-3 همگرا شده و باعث تخریب احتمالی سلول می‌گردند (مک‌میلان و همکاران، 2012؛ فاولورو² و همکاران، 2012؛ پترسون و همکاران، 2008؛ کوچتورک و همکاران، 2008؛ مک‌میلان و همکاران، 2012؛ کوری‌بونتورا³ و همکاران، 2008). این فرآیند با قطعه‌قطعه شدن برگشت ناپذیر DNA و تشکیل اجسام آپوپتوتیکی چسبیده به غشاء اتفاق می‌افتد که نتیجه‌ی نهایی آن گسسته شدن پروتئین‌های حیاتی سلولی است (فارل⁴ و همکاران، 2012؛ فاولورو و همکاران، 2012). آپوپتوز ممکن است به وسیله‌ی پرتوافکنی، گرما، محرک‌های هورمونی، داروهای مختلف و استرس جسمانی شدید ناشی از فعالیت ورزشی تحریک شود (فارل و همکاران، 2012). با این حال اختلال در تنظیم آپوپتوز شرایطی را به وجود می‌آورد که می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلف عضله‌ی اسکلتی مانند دیستروفی‌های عضلانی، تخریب عضله، سارکوپنیا و سالخوردگی شود (پترسون و همکاران، 2008). بنابراین پژوهشگران همواره به دنبال اتخاذ راهکارهای مناسب برای پیشگیری از آپوپتوز و بیماری‌های مختلف عضلانی مرتبط با آن هستند. در دهه‌ی اخیر، تاثیر فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی بر آپوپتوز مورد علاقه‌ی محققان حوزه‌ی ورزش قرار گرفته است (کوچتورک و همکاران، 2008). در این زمینه، تعدادی از محققان عنوان کردند که یک جلسه فعالیت ورزشی شدید تا 48 ساعت می‌تواند موجب تسریع در فرآیند آپوپتوز شود (کوچتورک و همکاران، 2008؛ فانوف⁵ و لیونبرگ⁶، 2001). زیرا یک محرک پر قدرت مسیر داخلی بالا رفتن استرس اکسایشی است که در فعالیت‌های ورزشی هوازی شدید رخ می‌دهد. فعالیت شدید ورزشی موجب تعدیل چندین فاکتور می‌شود که ممکن است آپوپتوز را در بافت‌های گوناگون تغییر دهند. شواهدی وجود دارد که بیانگر ارتباط آپوپتوز با فعالیت ورزشی در لنفوسیت‌ها و عضلات اسکلتی است. برای مثال گلوکوکورتیکوئیدها، کاهش فاکتور رشد، ROS⁷، افزایش سطوح کلسیم و فاکتور نکروز توموری (TNF) داخل سلولی بعضی از سیگنال‌هایی هستند که می‌توانند منجر به آپوپتوز شوند (کارارو⁸ و فرانچسکی¹، 1996؛ گرین² و رید³، 1998؛ میگنوته⁴ و وایسیر⁵، 1998). این در حالی است که

¹ Liu

² Favaloro

³ Cury-Boaventura

⁴ Farrell

⁵ Phaneuf

⁶ Leeuwenburgh

⁷ Reactive Oxygen Species

⁸ Carraro

بر خلاف فعالیت ورزشی، انجام تمرینات ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود (کوادریلاترو و همکاران، 2010؛ پترسون و همکاران، 2008؛ مک‌میلان و همکاران، 2012؛ سیو و همکاران، 2004؛ آوی^۶ و همکاران، 2008). در این راستا سانگ و همکاران (2006) اشاره داشتند که تمرین هوازی میزان پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl2 را افزایش داده در حالی که به طور مشخصی قطعه قطعه شدن DNA، فعالیت کاسپاز-3، پروتئین Bax و نسبت Bax/Bcl2 را در عضلات ساق پا و نعلی موش های صحرایی کاهش می‌دهد. همچنین مک‌میلان و همکاران (2012) گزارش کردند که شش هفته تمرین استقامتی موجب کاهش قطعه قطعه شدن DNA، رهایش سیتوکروم c و پروتئین Bax می‌شود. با این حال و برخلاف نتایج مطالعات مذکور، لیو و همکاران (2013) نشان دادند که 9 هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار پروتئین Bax و نسبت Bax/Bcl2 در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی می‌شود. به هر حال، با توجه به اهمیت تمرینات هوازی و فشارهای مکانیکی و متابولیکی نسبتاً شدید و طولانی مدت حین این تمرینات و با توجه به تاثیر بهتر تمرینات تناوبی بر برخی شاخص‌ها از جمله ظرفیت هوازی و افزایش استفاده از این تمرینات توسط ورزشکاران و افراد عادی و حتی برخی بیماران (هرم^۷ و همکاران، 2008؛ هلگرود^۸ و همکاران، 2007؛ ویسلوف^۹ و همکاران، 2007) و اهمیت نقش عضلات اسکلتی در سلامتی و موفقیت ورزشکاران، تاثیر انواع مختلف تمرینات هوازی بر آپوپتوز موضوعی است که ذهن پژوهشگران ورزشی را به خود جلب کرده است. با این وجود، با توجه به اینکه تفاوت شدت و مدت تمرینات هوازی مورد استفاده در مطالعات مختلف باعث به دست آمدن نتایج متناقضی شده است؛ همچنین، با توجه به تحقیقات انجام شده در زمینه‌ی تأثیر تمرینات ورزشی بر آپوپتوز مشخص می‌شود که اکثر تحقیقات انجام شده در این زمینه به بررسی اثر تمرین تداومی با شدت متوسط بر آپوپتوز پرداخته‌اند و تحقیقات اندکی در مورد تأثیر تمرینات تناوبی هوازی بر آپوپتوز عضله اسکلتی و مقایسه‌ی آن با تمرینات هوازی تداومی صورت گرفته است، تحقیق حاضر طراحی گردید تا با مقایسه‌ی تأثیر دو شیوه‌ی تمرینی تداومی و تناوبی هوازی بر آپوپتوز عضلانی به این سؤال پاسخ دهد که آیا بین تأثیر این دو

¹ Franceschi

² Green

³ Reed

⁴ Mignotte

⁵ Vayssiere

⁶ Alway

⁷ Haram

⁸ Helgerud

⁹ Wisløff

شیوه‌ی تمرینی بر شاخص‌های آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی تفاوتی وجود دارد یا خیر؟ همچنین، انتظار می‌رود با انجام تحقیق حاضر بتوان ضمن پاسخ به برخی ابهامات موجود و تعیین تاثیر دو نوع مختلف از تمرینات ورزشی هوازی بر آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی، پیشنهادات کاربردی متناسبی در راستای نحوه‌ی انجام تمرینات و نیز پیش‌بینی پیامدهای احتمالی ارائه داد.

3-1 اهمیت و ضرورت تحقیق

بافت عضله‌ی اسکلتی تقریباً نیمی از توده‌ی بدن انسان را تشکیل می‌دهد و علاوه بر نقش تولید نیرو، یک عامل حیاتی برای حفظ همئوستاز می‌باشد. انقباض‌های عضله‌ی اسکلتی حرکات بدن انسان را شکل می‌دهد و برای حفظ پایداری و ثبات ضروری می‌باشد. با توجه به نقش عضله‌ی اسکلتی در حرکت و اعمال متابولیکی، هرگونه تغییر در شرایط انقباضی، فیزیکی و سوخت و سازی آن اثرات مهم و زیادی بر سلامتی انسان می‌گذارد (زمبرون لاسنی و همکاران، 2014). نشان داده شده است که کاهش توده و قدرت عضلانی با آپوپتوز در ارتباط است. آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی در طول پیری و چندین حالت بیماری تغییر پیدا می‌کند. بیماری‌های مزمن زیادی از قبیل دیابت، چاقی، کمبود ویتامین D، کمبود هورمون رشد و ... ممکن است با اختلال در تنظیم آپوپتوز باعث تسریع کردن کاهش توده و قدرت عضلانی و در نتیجه افزایش خطر ناتوانی جسمانی شود (پترسون و همکاران، 2008؛ راستگویی کلیانی¹ و همکاران، 2014). آتروفی عضلانی در برخی شرایط فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی از جمله سارکوپنیا، قطع عصب تار عضلانی و عدم استفاده از عضله نیز گزارش شده است. آتروفی عضلانی و به تبع آن کاهش توده و قدرت عضلانی یکی از مشکلات عمده‌ی جوامع امروزی می‌باشد. به عنوان نمونه هزینه‌ی مراقبت از سلامتی افراد مبتلا به سارکوپنیا در سال 2000 در ایالات متحده‌ی آمریکا 18/5 میلیارد دلار برآورد شده است. بنابراین، با توجه به اینکه امروزه افراد زیادی در تمرینات ورزشی شرکت می‌کنند، شناخت اثرات احتمالی انواع مختلف تمرینات ورزشی بر آپوپتوز می‌تواند مهم و حیاتی باشد. فعالیت شدید ورزشی موجب تعدیل چندین فاکتور می‌شود که ممکن است آپوپتوز را در بافت‌های گوناگون تغییر دهد. شواهدی نیز وجود دارد که بیانگر ارتباط آپوپتوز با فعالیت ورزشی در لنفوسیت‌ها و عضلات اسکلتی است (سان² و همکاران، 1999؛ وسدن³

¹ Kalyani

² Sun

³ Vousden

و لو¹، 2002؛ کارو و فرانچسکی، 1996). برخی مطالعات اخیر نیز نشان داده اند که با توجه به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی عضلات پس از انجام تمرینات ورزشی، آپوپتوز در عضلات کاهش می‌یابد (سیو و همکاران، 2004). بر این اساس شناخت بیشتر اثرات انواع فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی بر آپوپتوز که نقش مهمی در برخی بیماری‌ها دارد بسیار حائز اهمیت است. به نظر می‌رسد ورزشکاران در مقایسه با هم‌تایان غیرفعال خود، میزان آپوپتوز کمتری در هر وهله فعالیت معین تجربه کنند. از سویی، در مورد میزان تأثیر فعالیت های هوازی تناوبی بر آپوپتوز اطلاعات جامع و کاملی وجود ندارد و این پژوهش از نظر مقایسه‌ی تأثیر تمرینات تداومی و تناوبی هوازی بر آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی کاملاً جدید بوده و قطعاً می‌تواند زمینه‌ساز انجام تحقیقات بیشتری در آینده باشد. به علاوه نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌تواند در انتخاب تمرین ورزشی مناسب برای مقابله با آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی به افراد عادی، ورزشکاران و حتی برخی بیماران کمک نماید.

1-4 اهداف تحقیق

1-4-1 هدف کلی

هدف کلی تحقیق حاضر تعیین تأثیر دو شیوه‌ی تمرینی تداومی و تناوبی هوازی بر آپوپتوز عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

1-4-2 اهداف جزئی

- 1- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر بیان پروتئین Bax عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر.
- 2- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین Bax عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر.
- 3- مقایسه‌ی بیان پروتئین Bax عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی.
- 4- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر بیان پروتئین Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر.
- 5- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر.

¹ Lu

6- مقایسه‌ی بیان پروتئین Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی

7- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر نسبت Bax/Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر

8- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر نسبت Bax/Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر.

9- مقایسه‌ی نسبت Bax/Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی.

10- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر بیان پروتئین کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر.

11- تعیین تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر.

12- مقایسه‌ی بیان پروتئین کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی.

5-1 فرضیه‌ها یا سوالات اصلی تحقیق

1- دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر بیان پروتئین Bax عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

2- دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین Bax عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

3- بین مقادیر بیان پروتئین Bax عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی تفاوت وجود دارد.

4- دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر بیان پروتئین Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

5- دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

6- بین مقادیر بیان پروتئین Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی تفاوت وجود دارد.

7- دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر نسبت Bax/Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

8- دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر نسبت Bax/Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

9- بین نسبت Bax/Bcl-2 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی تفاوت وجود دارد.

10- دوازده هفته تمرین هوازی تداومی بر بیان پروتئین کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

11- دوازده هفته تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر تأثیر دارد.

12- بین مقادیر بیان پروتئین کاسپاز-3 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر پس از دوازده هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی تفاوت وجود دارد.

1-6 محدودیت‌های تحقیق

1-6-1 محدودیت‌های قابل کنترل

- کنترل و ثبت ویژگی‌های جسمانی (گونه، نژاد، جنس، سن، وزن)
- کنترل عوامل محیطی (نور، دما و رطوبت).
- کنترل رژیم غذایی و میزان غذای مصرفی روزانه
- کنترل شرایط تمرین (شدت، مدت و نوع تمرین) و ابزار تمرین یکسان
- کنترل نوع و محل بافت قلبی استخراج شده
- استفاده از وسایل و ابزار آزمایشگاهی، زمان و مکان اندازه‌گیری و آزمونگر یکسان برای همه‌ی آزمودنی‌ها.

1-6-2 محدودیت‌های غیرقابل کنترل

- عدم تعیین برخی از ظرفیت‌های فیزیولوژیک پایه (ضربان قلب، میزان اسید لاکتیک و ...)
- احتمال تأثیر و تداخل شوک الکتریکی
- عدم اندازه‌گیری تغییرات مورفولوژیکی
- عدم اندازه‌گیری برخی تغییرات آنزیمی و هیستوشیمیایی
- عدم اندازه‌گیری سایر پروتئین‌های درگیر در مسیر میتوکندریایی آپوپتوز
- عدم بررسی پروتئین‌های درگیر در مسیر خارجی آپوپتوز

7-1 تعریف واژگان

تمرین هوازی تداومی: تمرینی است که قابلیت دستگاه تولید انرژی را از طریق فرآیند هوازی افزایش داده و از

این طریق سبب بهبود استقامت قلبی-تنفسی می‌گردد (هرم و همکاران، 2008).

تعریف عملیاتی تمرین هوازی تداومی: دویدن روی نوارگردان به مدت 12 هفته با شدت 75-80 درصد

اکسیژن مصرفی بیشینه، شیب 15٪، مدت 60-10 دقیقه، سرعت 24-33 متر در دقیقه.

تمرین هوازی تناوبی: نوعی از تمرینات ورزشی است که شامل دوره‌های متغیری از فعالیت‌های ورزشی هوازی

شدید با دوره‌های ریکاوری غیرفعال یا فعالیت با شدت متوسط می‌باشد (ژیرو¹ و همکاران، 2012).

تعریف عملیاتی تمرین هوازی تناوبی: دویدن روی نوارگردان به مدت 12 هفته با شدت تقریبی 85 الی 90

درصد اکسیژن مصرفی بیشینه و سرعت 26 الی 35 متر در دقیقه در تناوب شدید و شدت تقریبی 50 الی 60

درصد اکسیژن مصرفی بیشینه و سرعت 14 الی 27 متر در دقیقه در تناوب با شدت کم، شیب 15٪، مدت 64-

12 دقیقه.

آپویتوز: آپویتوز یا مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده یک فرآیند زیستی فعال و برگشت ناپذیر است که در تنظیم

تعادل بین زایش و مرگ سلولی در بافت‌های مختلف نقش اساسی دارد (مک میلان و همکاران، 2012).

¹ Guiraud

Family name: Asghar pour arshad	Name: Masoud
Title of Thesis : Effect Of Aerobic Interval Versus Continuous Training On Soleus Muscle Apoptosis of Male Rats	
Supervisors: Marefat Siahkouhian (Ph.D)- Lotfali Bolboli (Ph.D) Advisors: Afshar Jafari (Ph.D)- Farzam Sheykhzadeh hesari (Ph.D)	
Graduate Degree Ph. D	
Major: Physical Education and Sport Sciences	Specialty: Exercise Physiology
University: Mohaghegh Ardabili	Faculty: Psychology and Educational Sciences
Graduation date: 2016-05-03	Number of pages: 108
<p>Abstract:</p> <p>Background and objectives: Apoptosis is a protective cell process which plays important role in development and homeostasis of natural tissue and the emergence of diseases. In natural conditions this leads to elimination of old, damaged, waste and harmful cells and is essential for tissue repair. Apoptosis plays an important role in diseases which impairs tissue performance including muscle atrophy. Some evidences indicated that exercise may affect a number of apoptosis related signaling pathways in skeletal muscles. Thus, the present study aimed to determine the effect of two methods of continuous and interval aerobic exercise on soleus muscle apoptosis in male rats.</p> <p>Material and methods: Present study was multi group with control group experimental design which conducted on 38 three months old male rats. Subjects randomly were divided in to four homogenous groups including three months old base control (N=8), six months old control (N=10), continuous (N=10) and interval (N=10) exercise training. Training groups were participated in two continues and interval aerobic program for 12 weeks. Surgeries were done on three month old rats of bace control group before beginning of exercise protocol and on the subjects of other three groups after three months of training and following 48 hours of last training session, and then protein expression was evaluated. Data were evaluated by Real Time-PCR and the Caspase-3, Bcl-2 and Bax of soleus muscle were analyzed using the one way ANOVA and Bonferroni post hoc test ($P < 0.05$).</p> <p>Results: The findings showed that there is a significant difference between control and training groups in Bcl-2 ($p < 0.01$) and the Bax to Bcl-2 ratio ($p < 0.05$). Gene expression of Bcl-2 in training group was higher than control (it was significant in continuous training but insignificant in interval training group). Bax to Bcl-2 ratio were significantly lower in both training groups than control group, but there were no significant difference in Bax and Caspase-3 gene expressions between groups ($p > 0.05$). However, the Bax gene expression of interval training group were 44 and 46 percent lower compared with control and continuous training groups. The Caspase-3 gene expression in continuous training group was 53 percent higher than control and in interval training group 21 percent lower than control group.</p> <p>Conclusion: It seems that 12 weeks of aerobic training specially the continuous one have a significant effect on the increase of mitochondrial anti-apoptotic proteins of soleus muscle. However, regarding the significant low levels of Bax to Bcl-2 ratio in training group than control group and no significant difference of Caspase-3 between training and control group, a definite statement about the effect of exercise on skeletal muscle apoptosis needs more studies.</p>	
Keywords: apoptosis, continuous aerobic training, interval aerobic training, soleus muscle.	



University of Mohaghegh Ardabili

Faculty of Psychology and Educational Sciences

Department of Physical Education and Sport Sciences

**Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the
degree of Ph.D in exercise Physiology**

Title:

**Effect Of Aerobic Interval Versus Continuous Training On
Soleus Muscle Apoptosis of Male Rats**

Supervisors:

Marefat Siahkouhian (Ph. D)

Lotfali bolboli (Ph. D)

Advisors:

Afshar Jafari (Ph. D)

Farzam Sheykhzadeh hesari (Ph. D)

By:

Masoud Asgharpour arshad

May – 2016