تأثیر هم‌زمان تمرین هوازی و مکمل‌سازی عصارهٔ گیاهی مرزنجوش بر بیان ژنی پروتئین‌های آپوپتوز میوکارد موش‌های صحرایی

قادر رحیم‌زاده [۱]، محمدعلی آذربایجانی [۲]*، حسن متین همایی [۳]

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۰۹

چکیده

زمینه امروزه استفاده از مکمل‌ها و عصاره‌های گیاهی مانند مرزنجوش برای مقابله با آپوپتوز ناشی از ورزش و بهبود سازگارهای تمرینی رواج بسیاری یافته است. بنابراین، مطالعهٔ حاضر با هدف تعیین تأثیر هم‌زمان تمرین هوازی و مکمل‌سازی عصارهٔ گیاهی مرزنجوش بر بیان ژنی پروتئین‌های آپوپتوز میوکارد موش‌های صحرایی انجام شد.

روش کار در این مطالعهٔ تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۸ هفته‌ای) با میانگین وزنی (۱۷/۸۶± ۱۲۹گرم) به صورت تصادفی در ۵ گروه همگن، پایه (n=۸)، کنترل(n=۸)، عصاره(n=۸)، تمرین(n=۸) و تمرین - عصاره (n=۸) قرار گرفتند. گروه تمرین و تمرین-عصاره در برنامه‌ای ۱۲ هفته‌ای(هر هفته ۵ جلسهٔ ۶۰-۱۰ دقیقه‌ای با شدت ۸۰-۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) دویدن روی نوارگردان حیوانی(شیب ۱۵درصد و سرعت ۳۳-۲۴ متر بر دقیقه) شرکت کردند. همچنین، مکمل‌سازی مرزنجوش شامل دریافت عصارهٔ اتانولی مرزنجوش بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، بخشی از بافت بطن چپ قلب موش‌ها برداشته شد و بیان پروتئین‌هایBax، Bcl-2 و کاسپاز-۹ با استفاده از روش RT-PCR بررسی شد. داده‌ها، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوراهه تجزیه‌وتحلیل شد((p<۰/۰۵).

یافته‌ها نتایج تحقیق نشان داد بیان پروتئین Bax، کاسپاز -۹ و نسبت Bax/Bcl-2 در گروه تمرین و ترکیب تمرین و مکمل‌سازی مرزنجوش نسبت به گروه کنترل کمتر و بیان پروتئین Bcl-2 بیشتر از گروه کنترل بود، اما این تفاوت معنادار نبود. علاوه بر این، تفاوت بین این گروه‌ها در تمامی شاخص‌ها به لحاظ آماری معنادار نبود.

نتیجه‌گیری بر اساس این یافته‌ها، به‌نظر می‌رسد ۱۲ هفته تمرینات هوازی همراه با مکمل‌سازی عصارهٔ مرزنجوش به کاهش فرایندهای آپوپتوزی و بهبود سازگاری‌های میتوکندریایی منجر نشد. بنابراین برای دستیابی به نتایج بهتر و روشن‌تر تحقیقات بیشتری نیاز است.

کلیدواژه‌ها:
آپوپتوز، تمرینات هوازی، مرزنجوش، موش صحرایی.

مقدمه

آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده فرایندی زیستی فعال و برگشت‌پذیر است که در تنظیم تعادل بین زایش و مرگ سلولی در بافت‌های مختلف به‌ویژه بافت‌هایی مانند مغز، عضلهٔ

* نویسندهٔ مسئول:محمدعلی آذربایجانی
نشانی:

تلفن:۰۹۱۲۳۱۷۲۹۰۸ دورنگار:
رایانه: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir
شناسه ORCID: 0000-0002-3502-7487
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-9962-4125

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۶، شمارهٔ ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۸، ص ۱۶۱-۱۷۰
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

اسکلتی و میوکارد نقش اساسی دارد. این روند با فشرده‌سازی و تکه‌تکه کردن کروماتین‌ها و غلیظ سیتوپلاسم سلولی کار خود را آغاز کرده و با مچاله شدن هسته و غشاهای سلولی و تولید واکوئل‌های محتوی ذرات آپوپتوتیکی خاتمه می‌یابد [۱]. با این حال، نتایج مطالعات موجود حاکی است که میزان آپوپتوز اندک میوکارد ممکن است در اثر عوامل درونی یا بیرونی مانند پرتوافکنی، ایسکمی/خون‌رسانی مجدد، داروهای مختلف، سالخوردگی و فشارهای جسمانی (مکانیکی-متابولیکی) تشدید پیدا کرده و از این طریق مقدمات بروز انواع بیمارهای قلبی- عروقی را فراهم کند [۲]. این فرایند فیزیولوژیایی از طریق دو مسیر داخل و خارج سلولی رخ می‌دهد. مسیر خارجی با اتصال لیگاندهای مهم مانند TNFα و Fas به گیرنده‌های غشایی القا کنندهٔ مرگ راه‌اندازی می‌شود [۵-۳]. در حالی که مسیر داخلی، مهم‌ترین مسیر ایجاد آپوپتوز، با تغییراتی در نفوذپذیری میتوکندری و رهایش عوامل آپوپتوزی همراه است. به هر حال، رخدادهای مولکولی آپوپتوز اساساً به واسطهٔ تعادل بین پروتئین‌های ویژهٔ تنظیمی پیش و ضدآپوپتوزی مشخص می‌شود. در این بین پروتئین‌های Bax و Bcl-2، به‌عنوان پروتئین‌های اصلی در شکل‌گیری آپوپتوز و پیام‌های آپوپتوز میتوکندریایی درگیر می‌شوند. تحقیقات نشان داده‌اند که پروتئین Bax با کاهش پایداری غشای بیرونی میتوکندری به رهایش عوامل آپوپتوزی مانند سیتوکروم C از فضای بین غشایی منتج می‌شود. در حالی‌که پروتئین Bcl-2 از طریق مقابله با فعالیت پیش‌آپوپتوزی پروتئین Bax به حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری می‌انجامد. در مسیر داخلی یا میتوکندریایی کاسپاز-۹ به‌عنوان کاسپاز آغازگر است[۶]. در این بین، فصل مشترک همه مسیرهای آپوپتوزی، در نهایت فعال‌سازی کاسپاز-۳ و تجزیهٔ پروتئین‌های حیاتی سلول است[۹-۷]. با این حال، پژوهشگران همواره به‌دنبال اتخاذ راهکارهای مناسب برای حمایت از میوکارد در مقابل آپوپتوز و آسیب‌های احتمالی مرتبط با آن هستند. درمان سنتی گیاهی به‌عنوان جایگزین یا مکمل درمان، یکی از نگرش‌های بالقوه‌ای است که برای تعدیل آپوپتوز بکار می‌رود. مطالعات وسیعی مصرف غذا و محصولات طبیعی بافت گیاهی غنی از بیوفنل‌ها را با حفاظت علیه امراض مزمن مرتبط کرده‌اند. مرزنجوش (Origanum vulgare) گیاهی محلی غنی از ترکیبات استروفنولیک است که عاملی ضدآپوپتوزی معرفی شده است[۱۰].

در برخی مطالعات اثر ضد آپوپتوزی عصارهٔ اتانولی مرزنجوش به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی میکروبی، آنتی سایتوکسیک و ضد سرطانی اجزای اصلی آن مطالعه و تأیید شده است [۱۱، ۱۲]. همچنین، به‌تازگی تأثیر عصاره‌های گیاهی و تمرینات هوازی بر فرایند آپوپتوز توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. نتایج برخی از مطالعات اشاره دارد که مرزنجوش ممکن است به‌عنوان رویکردی آنتی‌اکسیدانی و ضدآپوپتوزی عمل کند. در این راستا، گزارش شده است که عصارهٔ متانولی مرزنجوش[۱۲] اثر مثبتی روی جزایر لانگرهانس پانکراس داشت و آن را از آپوپتوز حاصل از سایتوکاین از طریق تنظیم کاهشی کاسپاز-۳ حفظ کرد. افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) که همراه با تغییرات عملکرد میتوکندریایی است، مهم‌ترین دلیل افزایش فرایند آپوپتوز در سلول‌های قلبی است و استفاده از مرزنجوش با کاهش تولید ROS، از افزایش بی‌رویه فرایند آپوپتوز در این بافت حیاتی ممانعت می‌کند [۱۳]. برخی از محققان معتقدند که بروز فشارهای متابولیکی-اکسایشی-التهابی در حین فعالیت‌های ورزشی نسبتاً سنگین و شدید ممکن است با افزایش عوامل پیش آپوپتوزی یا کاهش پروتئین‌های ضدآپوپتوزی باعث تشدید این فرایند و پیامدهای بعدی آن شود. هر چند نتایج برخی از مطالعات به نقش محافظتی تمرینات بدنی اشاره دارد. این تناقضات ممکن است عمدتاً ناشی از شدت، مدت و نوع تمرینات بدنی (مقاومتی در برابر غیرمقاومتی) یا وضعیت سلامت و آمادگی آزمودنی‌های مورد مطالعه باشد. در این راستا پترسون و همکاران[۹] در سال ۲۰۰۸ اشاره داشتند که نه هفته تمرین هوازی متوسط موجب کاهش سطوح پروتئین Bax میوکارد، فعالیت کاسپازی و قطعه قطعه شدن DNA در میوکارد موش‌های چاق می‌شود. واینشتین و همکاران[۱۴] در سال ۲۰۱۱ نیز به کارکرد حفاظتی تمرین استقامتی (۷۰درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) در مقابله با آپوپتوز میوکارد موش‌های صحرایی پس از آسیب ناشی از ایسکیمی-پرفزیون مجدد اشاره داشتند. با این حال و بر خلاف نتایج مطالعات مذکور، برخی از پژوهش‌ها به تسریع فرایند آپوپتوز متعاقب تمرینات ورزشی اشاره دارند.

به هر حال، فشارهای نسبتاً زیاد انواع مختلف تمرینات و همچنین استفادهٔ نادرست از پروتکل‌های فعالیت بدنی و تجویزهای نادرست در ورزشکاران غیرحرفه‌ای و عموم جامعه یکی از نگرانی‌ها و چالش‌های جدی است که ذهن پژوهشگران و متخصصان ورزشی و حتی خود ورزشکاران را به خود جلب کرده است. به‌طوری‌که برخی محققان معتقدند که با اعمال چنین فشارهایی حین تمرینات بدنی ممکن است میزان

آپوپتوز و استرس اکسایشی و عواقب بعدی آن بیشتر شود. تاکنون مطالعهٔ جامعی در این زمینه انجام نشده است و مطالعات اندکی اثر تمرین ورزشی و عصاره‌های گیاهی مختلفی را بر فرایندهای آپوپتوزی به شکل مجزا یا با هم بررسی کرده‌اند و همچنین تاکنون مطالعهٔ جامعی روی مصرف عصارهٔ مرزنجوش و تمرین هوازی با توجه به رویکرد آپوپتوزیس بافت میوکاردی صورت نگرفته است. ازاین‌رو شناسایی اثر تمرینات هوازی در حضور عصارهٔ مرزنجوش بر آپوپتوز میوکارد برای کاهش بیماری‌ها و آسیب‌های ناشی از آن ضرورت انکارناپذیری به نظر می‌رسد. از این‌رو، با انجام تحقیق حاضر می‌توان انتظار داشت که ضمن پاسخ به برخی ابهامات موجود، پیشنهادهای کاربردی متناسبی در راستای نحوهٔ انجام تمرینات و پیشگیری از پیامدهای منفی احتمالی آن به دست آید.

روش تحقیق

مطالعهٔ تجربی حاضر به صورت پس آزمون همراه با گروه کنترل، روی ۴۰ سر موش صحرایی نر دو ماهه نژاد ویستار (میانگین وزن ۱۷/۸۶±۱۲۹ گرم) انجام شد. حجم نمونهٔ مطالعهٔ حاضر براساس نتایج تحقیقات پیشین، درسطح معناداری (خطای نوع نخست) ۵درصد و توان آماری (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم‌افزار Medcalc18.2.1 تعیین شد [۲۰]. سپس برای تعیین گروه‌های تجربی و کنترل، از موش‌های موجود در هر یک از قفس‌ها (با مقادیر وزنی نزدیک به هم) به صورت تصادفی یک نمونه انتخاب و در یکی از گروه‌های پایه (در بدو پروتکل پس از ۴۸ ساعت استقرار کشته و بافت‌برداری شدند)، کنترل ۱۲ هفته‌ای (در هیچ‌گونه برنامهٔ فعالیت ورزشی شرکت نکردند)، تمرین هوازی (هر هفته ۵ جلسهٔ ۶۰-۱۰ دقیقه‌ای با شدت ۸۰-۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه دویدن روی نوارگردان حیوانی با شیب ۱۵درصد و سرعت ۳۳-۲۴ متر بر دقیقه)، عصارهٔ مرزنجوش (روزانه یک گرم مکمل مرزنجوش شامل ۰/۰۹ گرم عصارهٔ مرزنجوش به اضافهٔ ۹سی‌سی محلول سالین مصرف کردند و در هیچ برنامهٔ ورزشی شرکت نکردند) و تمرین هوازی- عصاره مرزنجوش (۵ جلسه تمرین در هفته و روزانه یک گرم مکمل مرزنجوش مصرف می‌کردند) قرار داده شدند (۸ موش در هر گروه). برای جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیکی، نمونه‌ها به مدت دو هفته تحت شرایط جدید (آزمایشگاه نگهداری حیوانات آزمایشی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز) نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۴روز تحت برنامهٔ آشنایی با نحوهٔ فعالیت، روی نوارگردان قرار گرفتند. طی این دوره، شیب نوارگردان صفر درصد، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۰-۵ دقیقه در روز بود. دو گروه تمرین و تمرین-عصاره برای ۵ روز در هفته (یکشنبه، دوشنبه، سه‌شنبه، پنج‌شنبه و جمعه) و به مدت ۱۲ هفته در برنامهٔ تمرین هوازی روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی شرکت کردند. شدت نسبی کار در سرتاسر برنامهٔ تمرین معادل ۸۰-۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه (۳۳-۲۴ متر/دقیقه با شیب ۱۵ درصد) حفظ شد. مدت زمان تمرین از ۱۰ دقیقه در روز در هفتهٔ نخست شروع و به ۶۰ دقیقه در روز در هفتهٔ پنجم رسیده و تا انتهای دوره حفظ شد[۱۵](جدول ۱). شایان ذکر است که در طول تحقیق، موش‌ها در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به ابعاد ۱۵×۲۶/۵×۴۲ سانتی‌متر، دمای (۱/۴±۲۲سانتی‌گراد)، رطوبت محیط (۵±۵۵ درصد) و چرخهٔ روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویهٔ مناسب نگهداری شدند.

جدول ۱. مشخصات پروتکل تمرینی

متغیرهای تمرین	هفته‌های تمرین											
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
مدت تمرین (دقیقه در روز)	۱۰	۲۰	۳۵	۴۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۲۴	۲۴	۲۵	۲۵	۲۶	۲۷	۲۸	۲۹	۳۰	۳۱	۳۲	۳۳
شیب نوارگردان (درصد)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵

آزمودنی‌های گروه کنترل و تمرین به صورت آزادانه از غذای استاندارد و آب در طول دورهٔ پژوهش استفاده کردند. متخصصان کارآزموده، تمامی موش‌های صحرایی را ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین به روش بدون درد کشته و جراحی کردند. سپس بخشی از بافت بطن چپ آزمودنی‌ها با دقت برداشته شده و برای بررسی میزان بیان ژنی یا mRNA

پروتئین‌های Bax، Bcl-2، کاسپاز-۹، از روش PCR ReaL Time استفاده شد. تمامی مراحل تحقیق با رعایت دستورالعمل سازمانی در خصوص مراقبت و استفاده از حیوانات انجام شد.

روش تهیهٔ عصارهٔ اتانولی و مکمل‌دهی مرزنجوش

نمونهٔ خشک شدهٔ گیاه مورد نظر با دستگاه خوردکننده پودر شد، ۱۰۰ گرم از پودرگیاه درون ارلن یک لیتری ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۹۶درصد و آب مقطر به نسبت ۱ به ۱ اضافه شد، به گونه‌ای که به حجم برسد. بعد از ۲۴ ساعت محلول صاف شد. سپس محلول صاف شده توسط دستگاه تقطیر در خلأ در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ شد.

گروه مرزنجوش و ترکیبی یک گرم مکمل مرزنجوش (۰/۰۹ گرم عصارهٔ مرزنجوش به اضافهٔ ۹ سی‌سی محلول سالین) که به وسیلهٔ ترازوی حساس دیجیتالی اندازه‌گیری شده بود بعد از اتمام هر پروتکل تمرینی از طریق گاواژ دریافت کرده، در طول دوره‌ای این پروتکل تمرینی هیچ‌گونه مکمل غذایی دیگری به موش‌ها خورانده نشد و در ضمن در تمامی گروه‌های آزمودنی‌ها به غیر از گروه تمرین و کنترل این امر رعایت شد.

استخراج RNA :

نخست حیوانات با استفاده از تزریق زایلازین و کتامین بی‌هوش و سپس فدا شدند. پس از شکافتن حفره سینه‌ای، بافت قلب (بخش بطن چپ) به دقت جدا شدند. برای استخراج RNA از نمونه‌ها، طبق روش پیشنهادی کیت (Thermo K0731, USA) و با اندکی تغییرات به شرح زیر عمل شد. حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت عضلهٔ قلبی در حضور یک میلی‌لیتر از بافر لیز کننده هموژنه شده و سپس به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس به هر میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتر کلروفروم افزوده شد و میکروتیوب به شدت با دست به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده شده و ۵دقیقه در دمای ۴ درجه انکوبه شد و در ادامه به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط ۴درجه و ۱۳۷۰۰ g سانتریفیوژ شد. سپس به دقت و بدون تکان دادن تیوب، فاز رویی که حاوی RNA بود، جداسازی شد و به میکروتیوب دیگر منتقل شده و به محلول جدا شده حجم مساوی از ایزوپروپانول سرد اضافه شد و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه انکوبه شد. بعد از آن میکروتیوب به مدت ۱۰ دقیقه در شرایط ۴ درجه و ۱۳۷۰۰ g سانترفوژ شده، مایع رویی بیرون ریخته شده و سپس ۱میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به میکروتیوب اضافه شد. بلافاصله میکروتیوب به مدت ۵دقیقه در شرایط ۴درجه و ۱۳۷۰۰ g سانترفوژ شده، مایع رویی بیرون ریخته شد و به دقت اتانول خالی شد و حدود ۲۰ دقیقه اجازه داده شد تا الکل تبخیر شود. سپس مجدداً به هر میکروتیوب ۰/۰۲ میلی‌لیتر آب تیمار شده با دی اتیل پیروکربنات (DEPC[1]) افزوده شد. RNA استخراج شده برای استفادهٔ بعدی در دمای ۷۰- درجه نگه‌داری شد.

تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده:

پس از استخراج RNA لازم است، کیفیت و کمیت RNA استخراج شده تعیین شود. برای تعیین مقدار RNA از دو روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز بر ژل آگاروز استفاده شد. در روش اسپکتروفتومتری از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد، به‌طوری‌که حجم معینی از RNA استخراج شده را با آب مقطر یا بافر TE رقیق کرده و به حجم خاصی رسانده شد. نسبت مذکور فاکتور رقت[2] نامیده می‌شود. برای کالیبره کردن دستگاه، حجم خاصی از آب مقطر یا TE درون کوت کوارتز ریخته و طیف جذبی آن در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر روی صفر تنظیم شد. A۲۶۰، میزان جذب نور متوسط DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر و A۲۸۰، میزان جذب نور متوسط RNA در طول موج ۲۸۰ نانومتر است. پس از کالیبره شدن، حجم خاصی از نمونه RNA رقیق شده داخل کوت ریخته شده، A۲۶۰ و A۲۸۰ و همین‌طور نسبت بین این دو از دستگاه خوانده می‌شد. نسبت A۲۶۰/A۲۸۰ برآوردی از خلوص RNA است. این نسبت در RNA بین ۱/۸ تا ۲ است. مقادیر کمتر از ۱/۸ نشانگر وجود آلودگی‌های پروتئینی، فنلی یا دیگر جذب‌کننده‌های اشعه ماوراءبنفش است. مقادیر بیشتر از ۲ نیز نشانگر وجود RNA در نمونه استخراج شده است پس از انتخاب محلول‌هایی که نسبت جذبی آن‌ها در محدوده مورد نظر باشد، از اعداد مربوط به طول موج ۲۶۰ نانومتر برای محاسبهٔ میزان غلظت RNA طبق روابط زیر استفاده شد: از آنجایی که هر یک واحد جذب در طول ۲۶۰ نانومتر متناظر با حدود ۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر از RNA تک رشته‌ای است برای تعیین مقدار RNA می‌توان از فرمول زیر استفاده کرد:

غلظت RNA (ng/µl) = ضریب رقت ×۵۰ ng/µl × ۲۶۰

نمونه‌های RNA استخراج شده به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد. در بیشتر موارد کیفیت نمونه‌ها مطلوب بود به طوری که نسبت A۲۶۰/A۲۸۰، مناسب و بین

۱. Diethylpyrocarbonate
۲. Dilution factor

۱/۹ تا ۲ بود. در روش الکتروفورز روی ژل آگاروز نیز نمونه‌های RNA با غلظت‌های متفاوت بر ژل آگاروز (۱/۸درصد) الکتروفورز شدند. حضور زیر واحدهای RNA تام، مشخص کننده کیفیت مناسب RNA استخراجی است.

ساخت cDNA

از کیت RevertAID TM Firs (Fermentas., Canada) Standard cDNA synthesis و طبق دستورالعمل شرکت سازنده به صورت زیر استفاده شد: ۱میکرولیتر DNA و ۱میکرولیتر از DNase I reaction buffer 10X در تیوبی ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شده و توسط DEPC-traeted eater به حجم ۹میکرولیتر رسید. ۱میکرولیتر DNase به تیوب اضافه (برای از بین بردن آلودگی احتمالی با DNA) و پس از افزودن ۱میلی‌لیتر از اتانول مطلق، تیوب مربوطه به مدت ۳۰ دقیقه در فریزر ۷۰- درجه قرار گرفت. تیوب مربوطه به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط ۴درجه و ۱۴۰۰۰g سانترفوژ شد و پس از آن، در زیر هود به دقت اتانول خالی شده و حدود ۱۰ دقیقه اجازه داده شد تا الکل تبخیر شود.

به تیوب مربوطه ۱۱ میکرولیتر DEPC-treated water و ۱میکرولیتر oligi (dt) Primer یا Random hexamer Primer افزوده شد و ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه روی Dry block انکوبه شد. ۴میکرولیتر reaction buffer 5X و ۲میکرولیتر dNTP 10mM mix و ۱میکرولیتر Ribolock RibonucleaseTranscription Inhibitor به تیوب افزوده شد و پس از سانترفوژ مختصر، به مدت ۵دقیقه در ۳۷ درجه انکوبه شد. ۱میکرولیتر آنزیم RverertAid TM H Minus M-MuLV Reverse به تیوب قبل افزوده شد. در ادامه در صورت استفاده از پرایمر oligo (dt)، ۶دقیقه در ۴۲ درجه و در صورت استفاده از Random hexamer primer، نخست ۵دقیقه در ۲۵ درجه و به دنبال آن ۹۰ دقیقه در ۴۲ درجه انکوباسیون صورت گرفت. واکنش با قرار دادن تیوب به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰ درجه پایان پذیرفت و نمونه در فریزر ۷۰- درجه نگه‌داری شد. ساخت cDNA برای همه ۵ژن موردنظر انجام شد.

Real-time PCR:

برای اندازه‌گیری میزان بیان ژنی پروتئین‌های مورد نظر از دستگاه مربوطه Rotor gene-6000 (Corbett, USA) استفاده شد. برای ژن‌های مورد مطالعه، پرایمرهای اختصاصی طراحی شد و توسط شرکت بایونیر (Bioneer, Germany) سنتز شدند. سپس هر پرایمر توسط نرم‌افزار Primer 3 برای اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها ارزیابی شد (جدول ۲). طبق دستورالعمل مشخص شده از شرکت سنتز کننده پرایمرها، مقدار لازم آب مقطر فاقد DNase, RNase به‌منظور رقیق‌سازی به آن اضافه شد. سپس از این استوک ۱۰۰ Mμ، رقت ۱۰ Mμ تهیه کرده و در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. در این تحقیق از ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد که همیشه در تمامی سلول‌ها بیان می‌شود.

جدول ۲. توالی پرایمرهای ژن‌ها مورد بررسی

ژن	توالی پرایمر
Bcl2	′- TGCAGAGATGTCCAGTCA -3′For: 5 ′-CCCACCGAACTCAAAGAAG-3′Rev: 5
Bax	′- TGCTACAGGGTTTCATCCA -3′For: 5 ′- GTCCAGTTCATCGCCAATTC -3′Rev: 5
Caspase-9	′- CCTCACTTTGCTCTTCCTAC -3′For: 5 ′- GTAACCAACAGACAGGAGAC -3′Rev: 5
GAPDH	′- GGAGAAACCTGCCAAGTATG -3′For: 5 ′- CAGCATCAAAGGTGGAAGAA -3′Rev: 5

تجزیه‌وتحلیل‌های آماری

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و تجانس واریانس‌ها به‌ترتیب از آزمون‌های شاپیرو-ویلک و لوین استفاده شد. همچنین مقایسهٔ میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه (ANOVA) انجام شد. تجزیه‌وتحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و در سطح معناداری p<۰/۰۵ انجام شد.

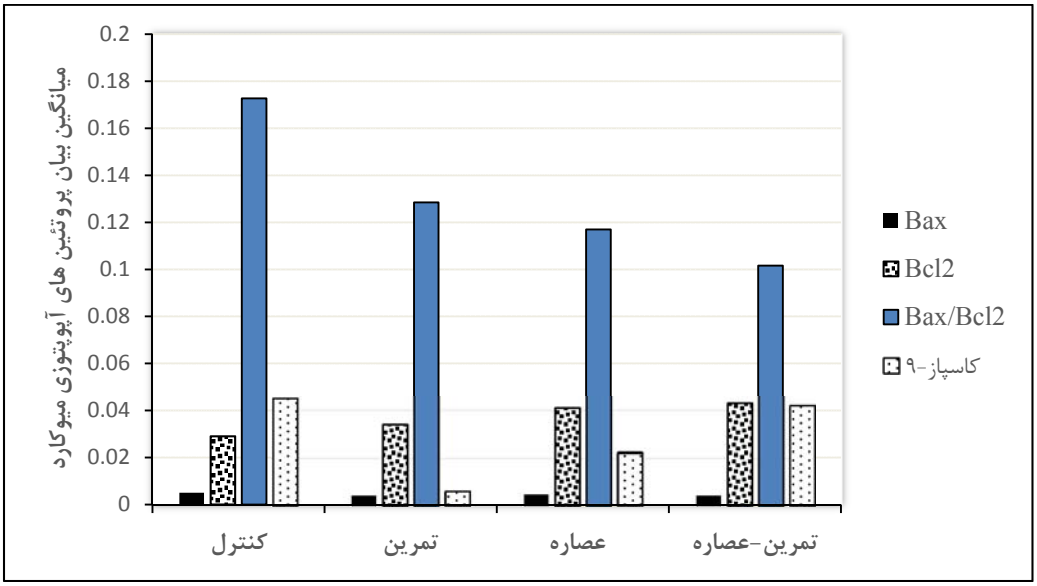
نتایج و یافته‌های تحقیق

نتایج آزمون شاپیرو-ویلک و آزمون لوین در تمامی شاخص‌ها (p > ۰/۰۵) بود که دلالت بر توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها داشت. با توجه به ارزش F محاسبه‌شده حاصل از

آزمون تحلیل واریانس دو طرفه، تفاوت معناداری بین میانگین مقادیر بیان پروتئین‌های Bax ، Bcl-2 ، نسبت Bax/Bcl-2 و کاسپاز-۹ قلبی موش‌های صحرایی پس از ۱۲ هفته مشاهده نشد(p > ۰/۰۵). به طوری که با وجود معنادار نبودن تفاوت بین گروهی، بیان پروتئین Bax ، کاسپاز -۹ و نسبت Bax/Bcl-2 درگروه تمرین و ترکیب تمرین و مکمل‌سازی مرزنجوش نسبت به گروه کنترل کمتر و بیان پروتئین Bcl-2 بیشتر از گروه کنترل بود(شکل ۱ و جدول ۳).

جدول ۳. تحلیل واریانس دوراهه مقادیر بیان پروتئین‌های Bax ، Bcl-2 ، نسبت Bax/Bcl-2 و کاسپاز-۹ قلبی موش‌های صحرایی متعاقب تمرین هوازی و مکمل‌سازی مرزنجوش

شاخص‌ها		میانگین مجذورات	F	P
Bcl2	تمرین هوازی	۰/۰۲۶	۲/۱	۰/۱۶۰
	مکمل‌سازی مرزنجوش	۰/۰۳۱	۲/۵۶	۰/۱۲۲
	تمرین هوازی× مکمل‌سازی مرزنجوش	۰/۰۲۱	۱/۷۵	۰/۱۹۸
Bax	تمرین هوازی	۰/۰۰۱	۰/۴	۰/۵۸
	مکمل‌سازی مرزنجوش	۰/۰۳۴	۱/۵۲	۰/۲۲
	تمرین هوازی× مکمل‌سازی مرزنجوش	۰/۰۰۳	۰/۰۳	۰/۸۴
Bax/Bcl-2	تمرین هوازی	۵/۶۶	۰/۲۳۰	۰/۶۳
	مکمل‌سازی مرزنجوش	۵/۳۵	۱/۲۱	۰/۲۸
	تمرین هوازی× مکمل‌سازی مرزنجوش	۵/۶۶	۱/۲۳	۰/۳۶
کاسپاز-۹	تمرین هوازی	۲/۷۸	۰/۷۲	۰/۴۶۸
	مکمل‌سازی مرزنجوش	۱/۷۸	۰/۶۶	۰/۵۳۲
	تمرین هوازی× مکمل‌سازی مرزنجوش	۳۵/۲	۱/۳۴	۱/۰۰۰



شکل ۱. تغییرات بیانBax، Bcl-2 ، نسبت Bax/Bcl-2 و کاسپاز -۹ در گروه تمرینات هوازی، مکمل‌سازی مرزنجوش و ترکیبی

بحث

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که تفاوت معناداری بین میانگین مقادیر بیان پروتئین‌های Bax ، Bcl-2 ، نسبت Bax/Bcl-2 و کاسپاز-۹ قلبی موش‌های صحرایی پس از ۱۲ هفته وجود ندارد. به طوری که با وجود معنادار نبودن تفاوت بین گروهی، بیان پروتئین Bax ، کاسپاز -۹ و نسبت Bax/Bcl-2 درگروه

تمرین و ترکیب تمرین و مکمل‌سازی مرزنجوش نسبت به گروه کنترل کمتر و بیان پروتئین Bcl-2 بیشتر از گروه کنترل بود. با این حال، مطالعات بسیار اندکی دربارهٔ تأثیر تمرینات ورزشی و مصرف عصارهٔ مرزنجوش بر بیان پروتئین‌های Bax ، Bcl-2 و کاسپاز-۹ وجود دارد که اغلب نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند [۱، ۱۶، ۱۷]

به طوری که نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعهٔ سیو[3] که افزایش Bcl-2 وکاهش Bax و همچنین عدم تغییر معنادار کاسپاز-۳ در عضلهٔ قلبی و اسکلتی موش‌ها پس از ۸ هفته تمرین هوازی (۵ روز در هفته) را گزارش کردند هم‌راستا است[۱۶]. همچنین با نتایج مطالعهٔ فرناندز مبنی بر افزایشBcl-2، کاهش Bax و درکل مهار آپوپتوز متعاقب ۱۰ هفته تمرین هوازی شنا در موش‌های صحرایی نر همسو است[۱۷]، اما با نتایج پژوهش فانواف و همکاران مبنی بر کاهش Bcl-2 و افزایش Bax بلافاصله بعد از جلسهٔ تمرینی هوازی همخوانی نداشت. همچنین، علت تناقض را می‌توان در مدت زمان و طول دورهٔ تمرین دانست. به طوری که در این مطالعه تنها پاسخ به یک جلسه فعالیت بدنی بررسی شد [۱].

به نظرمی‌رسد در پژوهش حاضر تمرین باعث القا عوامل مؤثر در افزایش بیان ژنBcl-2 شده است. همچنین کاهش بیان ژن محرک Bax درگروه ترکیب تمرین و مرزنجوش مشاهده شد. تمرین هوازی مهم‌ترین نوع تمرین به لحاظ شدت تمرینی در افزایش چگالی و محتوای میتوکندریایی و همچنین بهبود عملکرد آن است[۱۸]. میتوکندری نقش بسیار حیاتی در آپوپتوز ایفا می‌کند. میتوکندری جزء لاینفک مسیر داخلی بروز آپوپتوز و محل استقرار بسیاری از پروتئین‌های درگیر در مراحل اولیه این فرایند از جمله اعضا خانواده Bcl-2 است[۱۹]. به نظر می‌رسد بهبود عملکرد میتوکندری در اثر ۱۲هفته تمرین هوازی با شدت متوسط باعث افزایش مقادیرBcl-2 و در نتیجه مهار آپوپتوز شده باشد و Bax نیز به صورت همزمان کاهش یافته است. احتمالاً گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) ایجاد شده در اثر تمرین خیلی شدید باعث افزایش مقادیر بیان ژن Bax شده باشد. احتمالاً در اثر تمرین، مسیرهای آپوپتوز داخلی، مولکول‌های سیگنالی پیش آپوپتوز مانند پروتئین‌های پیش آپوپتوزی خانواده Bcl-2 مانند Bak(Bax به میتوکندری منتقل شده) و رهایش سیتوکروم C را مهار و به کاهش فعالیت کاسپاز-۹ منجر شده‌اند. سیتوکروم C علاوه بر اینکه بازیگر اصلی فرایند فعال ساختن آبشارکاسپازهای میتوکندریایی است با فسفولیپید اختصاصی میتوکندری تعامل دارد[۱۹].

Bcl-2 به‌طور مستقیم در غشای خارجی میتوکندری همواليگومریزه شده و نقشی حیاتی در نفوذپذیری غشاء خارجی میتوکندری ایفا کرده‌اند[۱۸]. افزایش Bcl-2 افزایش در اثر بهبود عملکرد میتوکندری ناشی از سازگاری با تمرین باعث مهار Bax/ Bak شده که آن نیز تغییر پتانسیل غشاء میتوکندریایی و رهاسازی سیتوکروم C را در پی داشته است،که درنهایت کاسپاز-۹ را مهارکرده است[۱]. بهبود عملکرد میتوکندری در اثر سازگاری با تمرین هوازی باعث القاء عوامل بالادستی درافزایش تولید Bcl-2 شده که در نتیجهٔ آن کاهش بیان ژن‌های محرک آپوپتوز مانند Bax و درنتیجه کاهش آسیب بافت میوکاردی و بهبود عملکرد سلول‌های میوکاردی می‌شود. با توجه به نتایج پژوهش حاضر تمرین هوازی روش مناسبی برای بهبود بیان پروتئین‌هایی است که برای تعدیل و کاهش فرایندهای آپوپتوزی عمل می‌کنند.

همچنین، در راستای تقویت آثار تمرین هوازی توسط مکمل‌سازی و دریافت عصارهٔ گیاهی مرزنجوش برخی مطالعات نشان داده‌اند که این ترکیب گیاهی دارای ترکیباتی است که ویژگی‌های آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آپوپتوزی مانند کارواکرول[4]، تیمول[5]، گاما-ترپین[6]، ترپینین-۴-اول[7]، میرسن[8]و لینالیل-استات[9] دارد [۱۱، ۲۰]. البته ممکن است نسبت به نحوهٔ عصاره‌گیری (آبی-الکلی یا ترکیبی) اجزای متفاوتی در عصارهٔ حاصل استخراج شده باشد. کارواکرول یکی از ترکیبات موجود در عصارهٔ مرزنجوش است که دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و دارای توانایی اتصال به باکتری‌ها و گیرنده‌های سلولی مرتبط با بروز آپوپتوز است و همچنین در برخی مطالعات گزارش شده است که از طریق کاهش بیان اینترلوکین-۶ (IL-6) و عامل نکروزی توموری-آلفا (TNF-α) است که با بروز آپوپتوز حین فعالیت ورزشی ارتباط نزدیکی دارد [۲۱، ۲۲]. همچنین، برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که کارواکرول ممکن است از طریق مهار آنزیم Cyclooxygenase-2 بر فرایند التهاب و از طریق کاهش فعال‌سازی Erk1/2 فسفوریله و تعدیل فعالیت P38 باعث تعدیل فرایند آپوپتوز شود[۲۳]. به علاوه، در برخی از مطالعات پیشین نشان داده شده است که فرم فسفوریله Akt در ممانعت از القاء آپوپتوز نقش مهمی دارد و کارواکرول باعث

3. Siu

4. Carvacrol
5. Thymol
6. gamma-terpiene
7. Terpinin-4-ol
8. Myricine
9. Linalyl-acetate

کاهش معنادار فرم فسفوریله Akt، بروز خاصیت ضد التهابی، القاء استرس اکسایشی از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، مسیرهای مرتبط با پروتئین کینازها و فعال‌سازی کاسپاز-۳ می‌شود[۲۳].

همچنین، تیمول، ترکیب مونوترپنفنولی موجود در عصارهٔ مرزنجوش است که آثار ضداکسایشی و ضدآپوپتوزی دارد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که این مصرف ترکیب با افزایش بیان و فعالیت آنزیم کاتالاز باعث سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد پراکسید هیدروژن و کاهش بروز استرس اکسایشی و آپوپتوز متعاقب آن می‌شود[۲۴]

علاوه بر این، برخی تحقیقات نشان داده‌اند که ایزومرهای ترکیبات فنولی حاضر در ساختار این ترکیب گیاهی دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی برای مقابله با رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسید هیدروژن است [۱۱]. در این راستا، پراسانا و همکاران [۲۵] در سال ۲۰۱۶ گزارش کردند که شش هفته مصرف عصاره مرزنجوش به مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم باعث کاهش شاخص پروآپوپتوزی Bax و افزایش شاخص آنتی‌آپوپتوزی Bcl-2 در موش‌های مبتلا به دیابت شده است.

با توجه به مطالب فوق و بر خلاف نتایج تحقیق حاضر می‌توان ابراز داشت که دریافت و مکمل‌سازی عصارهٔ اتانولی مرزنجوش همراه با تمرینات هوازی با شدت متوسط نمی‌تواند باعث بهبود فرایندهای مرتبط با کاهش آپوپتوز ناشی از فعالیت ورزشی و بهبود عملکرد میتوکندریایی و متعاقب آن کاهش فرایندهای مرتبط با آپوپتوز شود. با این حال مطالعات متعددی که از دیگر ترکیبات گیاهی استفاده کرده‌اند که دارای اجزای مشابهی با مرزنجوش هستند، نشان از تأثیر مثبت این مکمل‌ها را داشتند [۲۶، ۲۷]. برای مثال، خانی و همکاران [۲۶] در سال ۲۰۱۷ گزارش کردند که ترکیب هشت هفته مکمل‌سازی آویشن (۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) با فعالیت ورزشی هوازی باعث افزایش ظرفیت ضداکسایشی، کاهش شاخص‌های اکسایشی و بهبود بیوژنز و عملکرد میتوکندریایی شده است. این نکته باید خاطر نشان شود که عصاره آویشن دارای ترکیباتی مانند کارواکرول و تیمول است که در عصاره مرزنجوش نیز حضور دارند. علاوه بر این، برخلاف نتایج تحقیق حاضر، نتایج برخی مطالعات مانند جعفری و همکاران (۲۰۱۵) و سونگ و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که پس از تمرینات هوازی یا مکمل‌سازی با مواد آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش معناداری نسبت Bax/Bcl2 می‌شود[۲۸-۳۰]. این مطالعات نشان داده‌اند که این شاخص ممکن است نشان دهندهٔ افزایش مقاومت سلولی در برابر بروز آپوپتوز باشد. در مقابل، برخی محققان افزایش این نسبت پس از مکمل‌سازی با برخی مواد آنتی‌اکسیدانی مانند کرومیوم گزارش شده است. این تناقض ممکن است ناشی از محل اندازه‌گیری نسبت Bax/Bcl2 باشد؛ به طوری که در این مطالعه این نسبت در دیواره میتوکندری اندازه گرفته شده است [۳۱]. با این حال، به دلیل محدود بودن مطالعات انجام شده در این زمینه، تا زمان روشن شدن ابعاد بیشتر این حیطه از نتیجه‌گیری قطعی در این مورد اجتناب شود.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد۱۲ هفته تمرینات هوازی همراه با مکمل‌سازی عصارهٔ مرزنجوش به کاهش فرایندهای آپوپتوزی و بهبود سازگاری های میتوکندریایی منجر نشد. بنابراین نتیجه می‌گیریم که برای دستیابی به نتایج بهتر و روشن‌تر تحقیقاتی با تعداد آزمودنی و میزان عصاره مرزنجوش مصرفی بیشتری مورد نیاز است.

تشکروقدردانی

این مقاله مستخرج از رسالهٔ دکتری مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی است، از همکاری گروه‌های مختلف که در این تحقیق همکاری داشته‌اند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

[1]. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2001; 33(3):393-6.
[2]. Kwak H-B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. Journal of exercise rehabilitation. 2013; 9(2): 212.
[3]. Farrell P, Joyner J, Caiozzo V. ACM's advanced exercise physiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2012.
[4]. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. Cell. 1997; 91(4):479-89.
[5]. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Exercise and interleukin-6. Current opinion in hematology. 2001; 8(3):137-41.
[6]. Navalta J, Sedlock D, Park K-S. Effect of exercise intensityon exercise-induced lymphocyte apoptosis. International journal of sports medicine. 2007; 28(06): 539-42.
[7]. 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. The FASEB Journal. 2006; 20(6):791-3.
[8]. Lee Y, Min K, Talbert EE, Kavazis AN, Smuder AJ, Willis WT, et al. Exercise protects cardiac mitochondria against

ischemia-reperfusion injury. Medicine and science in sports and exercise. 2012; 44(3):397-405.
[9]. 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.
[10]. Abdel-Massih RM, Fares R, Bazzi S, El-Chami N, Baydoun E. The apoptotic and anti-proliferative activity of Origanum majorana extracts on human leukemic cell line. Leukemia research. 2010; 34(8): 1052-6.
[11]. Coccimiglio J, Alipour M, Jiang Z-H, Gottardo C, SuntresZ. Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of the ethanolic Origanum vulgare extract and its major constituents. Oxidative medicine and cellular longevity. 2016.
[12]. Miraj S. Antioxidant, anticancer, antimicrobial potential of Origanum vulgare. Der Pharmacia Lettre. 2016; 8(13):89-97.
[13]. Vujicic M, Nikolic I, Kontogianni VG, Saksida T, Charisiadis P, Orescanin-Dusic Z, et al. Methanolic extract of Origanum vulgare ameliorates type 1 diabetes through antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activity. British Journal of Nutrition. 2015; 113(5):770-82.
[14]. Vainshtein A, Kazak L, Hood DA. Effects of endurance training on apoptotic susceptibility in striated muscle. Journal of applied physiology. 2011; 110(6):1638-45.
[15]. Naito H, Powers SK, Demirel HA, Aoki J. Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. Medicine and science in sports and exercise. 2001; 33(5):729-34.
[16]. 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.
[17]. Fernandes T, Magalhães FdC, Carmo ECd, Oliveira EMd. Aerobic exercise training inhibits skeletal muscular apoptotic signaling mediated by VEGF-VEGR2 in spontaneously hypertesive rats. Revista Brasileira de Medicina do Esporte. 2012; 18(6):412-8.
[18]. 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.
[19]. 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.
[20]. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology. 2004; 94(3):223-53.
[21]. Arunasree K. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. Phytomedicine. 2010;17(8-9):581-8.
[22]. Aristatile B, Al-Assaf AH, Pugalendi KV. Carvacrol suppresses the expression of inflammatory marker genes in D-galactosamine-hepatotoxic rats. Asian Pacific journal of tropical medicine. 2013; 6(3): 205-11.
[23]. Yin Q-h, Yan F-x, Zu X-Y, Wu Y-h, Wu X-p, Liao M-c, et al. Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of carvacrol on human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2. Cytotechnology. 2012; 64(1):43-51.
[24]. Jamhiri M, Hafizibarjin Z, Ghobadi M, Moradi A, Safari F. Effect of Thymol on Serum Antioxidant Capacity of Rats Following Myocardial Hypertrophy. Majallah-i dānishgāh-i ʿulūm-i pizishkī-i Arāk. 2017; 20(4):10-9.
[25]. Prasanna R, Ashraf EA, Essam MA. Chamomile and oregano extracts synergistically exhibit antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and renal protective effects in alloxan-induced diabetic rats. Canadian journal of physiology and pharmacology. 2016; 95(1):84-92.
[26]. Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1α content and endurance exercise performance in rats. Journal of the international society of sports nutrition. 2017;14(1):11.
[27]. Sellami M, Slimeni O, Pokrywka A, Kuvačić G, Hayes LD, Milic M, et al. Herbal medicine for sports: a review. Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2018; 15(1):14.
[28]. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. Effect of exercise training on Bcl-2 and bax gene expression in the rat heart. Gene, Cell and Tissue. 2015; 2(4).
[29]. Song W, Kwak H-B, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. Antioxidants & redox signaling. 2006; 8(3-4):517-28.
[30]. Kandeil MA, Hassanin KM, Mohammed ET, Safwat GM, Mohamed DS. Wheat germ and vitamin E decrease BAX/BCL-2 ratio in rat kidney treated with gentamicin. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. 2018.
[31]. Zhu L, Han MB, Gao Y, Wang H, Dai L, Wen Y, et al. Curcumin triggers apoptosis via upregulation of Bax/Bcl-2 ratio and caspase activation in SW872 human adipocytes. Molecular medicine reports. 2015; 12(1):1151-6.

.

The effect of concurrent aerobic training with Origanum vulgare Hydro Ethanolic Extract supplementation on gene expression of myocardial apoptosis proteins in male rats

Ghader Rahimzadeh[1], Mohamad Ali Azarbaijani[2]*, Hasan Matin Homaei[3]

1. Ph.D. Student, Department of Sport Sciences, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID: 0000-0002-9962-4125
2. Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID: 0000-0002-3502-7487
3. Associate Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background Today, the use of supplements and herbal extracts has been widely used to prevent exercise induced apoptosis and improve exercise training adaptations. Thus, the present study examined the effect of the 12 weeks aerobic training with Origanum vulgare Ethanolic Extract supplementation on the myocardial apoptosis in young male rats.

Methods . In this experimental study, 40 male Wistar rats (8 weeks old) with an average weight 129±17.86 gr randomly divided in five equal groups: basic (n=8), control (n=8), Origanum vulgare (n=8), aerobic training (n=8) and aerobic training- Origanum vulgare (n=8). The aerobic training and aerobic training- Origanum vulgare groups participated in a 12-week program (5 sessions of 10-60 min each week, with an intensity of 75-80% of maximum oxygen consumption) running on animal treadmill (15% incline and 24-33 m/s). Also, Origanum vulgare Ethanolic extract was used for supplementation. Forty-eight hours after the last exercise session, a part of the left venticular tissue of the heart was removed and expression of Bax, Bcl2 and caspase-9 proteins was investigated using RT-PCR method. Data were analyzed by Two-way ANOVA test ($P<0.05$).

Results The results showed that expression of Bax, caspase-9 and Bax/ Bcl-2 ratio in the training and training- Origanum vulgare groups was lower than the control group and expression of Bcl-2 protein was higher than the control group, but this difference was not significant. In addition, the difference between these groups in all indices was not statistically significant.

Conclusion . Based on these findings, it seems that 12 weeks of aerobic training with supplementation of Origanum vulgare extract did not lead to apoptotic processes and improved mitochondrial adaptations. Therefore, more research is needed to achieve better and clearer results.

Received: 2018/12/14
Accepted: 2019/01/29

Keywords: aerobic exercise, apoptosis, Origanum vulgare, rat.