

## تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط و مصرف عصاره چای سبز بر بیان کاسپاز - ۳ و محتوای آنزیم تلومراز بافت قلبی رت‌های نر مسن

میرزا حسین نوروزی کمره<sup>۱</sup>، محمدرضا ذوالفقاری<sup>۲</sup>، فیروز قادری پاکدل<sup>۳</sup>،  
جواد طلوعی آذر<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه ارومیه

۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه ارومیه

۳. دانشیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۴. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه ارومیه\*

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۱۴

### چکیده

با افزایش سن، شیوع، بروز و عوارض بیماری‌های قلبی افزایش می‌یابد. آپوپتوز سلول قلبی در پاتوژنز نارسایی قلبی نقش دارد. هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی و مصرف عصاره چای سبز بر بیان کاسپاز-۳ و محتوای آنزیم تلومراز بافت قلبی رت‌های نر مسن بود. ۲۰ سر رت نر مسن به‌طور تصادفی به چهار گروه پنج‌تایی کنترل، تمرین، مکمل و تمرین به‌اضافه مکمل تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی ۱۲ هفته و پنج روز در هفته فعالیت مقاومتی انجام دادند. در همین مدت، گروه‌های دریافت‌کننده مکمل، مکمل عصاره چای سبز دریافت کردند. برای اندازه‌گیری بیان کاسپاز-۳ از روش ایمنو‌هیستوشیمی و برای اندازه‌گیری محتوای تلومراز از روش ساندویچ الایزا استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنوا و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند. نتایج نشان داد که بیان کاسپاز-۳ در گروه‌های تمرین ( $P = 0.011$ )، مکمل ( $P = 0.001$ ) و تمرین به‌اضافه مکمل ( $P = 0.000$ ) نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری دارد. بیان کاسپاز-۳ در گروه تمرین به‌اضافه مکمل نسبت به گروه تمرین ( $P = 0.004$ ) و گروه مکمل ( $P = 0.031$ ) کاهش معناداری دارد. محتوای آنزیم تلومراز در گروه‌های تمرین ( $P = 0.043$ )، مکمل ( $P = 0.015$ ) و تمرین به‌اضافه مکمل ( $P = 0.005$ ) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری دارد. براساس نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت که انجام تمرین مقاومتی و مصرف عصاره چای سبز با کاهش بیان کاسپاز-۳ و افزایش محتوای آنزیم تلومراز می‌تواند از پیری سلولی در بافت قلب رت‌های نر مسن جلوگیری کند.

**واژگان کلیدی:** پیری، بافت قلب، تمرین مقاومتی، چای سبز، کاسپاز-۳، محتوای تلومراز

## مقدمه

با افزایش سن، شیوع، بروز و عوارض بیماری‌های قلبی افزایش می‌یابد. در سطح سلولی، پیری، پایداری کروموزوم و قابلیت زنده ماندن سلول به وسیلهٔ تلومرها<sup>۱</sup> و پروتئین‌های همراه با آن تنظیم می‌شود. کوتاه شدن تلومرها میزان مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های قلبی را افزایش می‌دهد. آنزیم تلومراز<sup>۲</sup> یک ریبونوکلوپروتئین است که در مرکز کمپلکس تلومریک قرار دارد (۱). مهم‌ترین عامل افزایش طول تلومر، آنزیم تلومراز است. آنزیم تلومراز یک ترانس کریپتاز معکوس است که می‌تواند RNA موجود در ساختار خود را به عنوان الگو قرار دهد و بدین ترتیب طول تلومر را افزایش دهد (۲). افزایش طول تلومر اغلب ناشی از افزایش فعالیت آنزیم تلومراز است و محتوای آنزیم تلومراز نمی‌تواند یک عامل اصلی باشد (۳). در یک مطالعه که روی افراد سالم انجام گرفت، گزارش شد که فعالیت آنزیم تلومراز در لکوسیت‌های خون محیطی با افزایش سن از چهار تا ۳۹ سالگی به صورت مداوم کاهش یافت (۴). اجزای کمپلکس تلومریک علاوه بر حفاظت از انتهای کروموزوم باعث بقای سلول نیز می‌شوند. کاهش محتوا و سرکوب فعالیت آنزیم تلومراز، آپوپتوز<sup>۳</sup> را افزایش می‌دهد؛ در حالی که افزایش محتوا و فعالیت آنزیم تلومراز مانع از مرگ برنامه‌ریزی شدهٔ سلول در مرحلهٔ قبل از میتوکندری در آبشار مرگ سلولی می‌شود (۵). در بیشتر سلول‌های سوماتیک، ژن آنزیم تلومراز به مقدار بسیار اندکی بیان می‌شود؛ اما در برخی از سلول‌ها مانند سلول‌های بنیادی، سلول‌های رویانی، سلول سرطانی، سلول‌های اپیدرمی پوست، سلول‌های فولیکولی مو و لنفوسیت‌های فعال روشن است و بیان می‌شود (۶). نقش ضدپیری تلومراز به واسطهٔ افزایش تلومرهای طویل، جلوگیری از انباشت تلومرهای کوتاه و اختلال در هموستاز سلول است. با افزایش سن، محتوا و فعالیت آنزیم تلومراز بافت قلبی کاهش می‌یابد (۷).

آپوپتوز قلبی به صورت چشمگیری در پاتوژنز نارسایی قلبی مشارکت می‌کند. در مرحلهٔ پایانی نارسایی قلبی، آپوپتوز سلول‌های قلبی مشاهده شده است (۸). القای آپوپتوز از طریق مکانیسم مرگ درون سلولی و بیرون سلولی، به وسیلهٔ فعالیت کاسپازها<sup>۴</sup> روی می‌دهد. کاسپازهای تأثیرگذار<sup>۵</sup> هم در مسیر داخل سلولی و هم در مسیر بیرون سلولی سبب آپوپتوز می‌شوند و به نوع القای آپوپتوز مرتبط نیستند (۹). برای اولین بار در سال ۱۹۹۴، ژن کاسپاز-سه انسان با وزن ۳۲ کیلو دالتونی از لنفوسیت‌های T شناسایی شد. مطالعات نشان داده‌اند که کاسپاز-سه، کاسپاز اولیهٔ تأثیرگذار در

- 
1. Telomeres
  2. Telomerase
  3. Apoptosis
  4. Caspases
  5. Effector Caspases

فرایند آپوتوز در بیشتر سلول‌های پستانداران از جمله بافت قلب است. به تازگی نشان داده شده است که کاسپاز-سه نقش بسیار مهمی در حساسیت سلول به فرایند آپوتوز ایفا می‌کند (۱۰). فعالیت ورزشی منظم با کاهش بیماری‌های قلبی همراه است. فعالیت بدنی با بهبود فشار خون، حساسیت به انسولین، خلق‌وخو، وزن بدن و متغیرهای التهابی همراه است. فعالیت بدنی یک قسمت مهم در زندگی روزمره است؛ زیرا، حدود ۱۲ درصد از بیماری‌های قلبی-عروقی به دلیل فقدان فعالیت بدنی است (۱۱). فعالیت بدنی بر اساس نوع و شدت آن عامل تأثیرگذاری بر فیزیولوژی قلب از جمله افزایش خون‌رسانی و افزایش انقباض قلبی است (۱۲). فعالیت ورزشی درمانی غیردارویی برای نارسایی قلبی و بهبود عملکرد ورزشی و کیفیت زندگی در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی-عروقی است (۱۳). در سال‌های اخیر، تأثیر فعالیت‌های ورزشی مختلف موردعلاقه دانشمندان و پژوهشگران قرار گرفته است؛ زیرا، شواهد نشان می‌دهند که علاوه بر مرگ نکرولی سلول، مرگ آپوتوزی سلول نیز طی فعالیت ورزشی رخ می‌دهد (۱۴). چندین مطالعه اثر فعالیت منظم هوازی را بر آپوتوز سلول‌های قلبی در آزمودنی‌های مسن بررسی کرده‌اند و گزارش داده‌اند که فعالیت هوازی منظم تأثیر مفیدی بر جلوگیری از آپوتوز در بافت قلب مسن دارد (۱۶-۱۴). تمرین مقاومتی یک تمرین طراحی‌شده ویژه برای افزایش قدرت، استقامت عضلانی و بهبود عملکرد قلب است (۱۷). همانند تمرین استقامتی، مشاهده شده است که تمرین مقاومتی تأثیرهای مفیدی بر برخی از فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک از جمله آمادگی جسمانی، کیفیت زندگی و نارسایی مزمن قلبی دارد (۱۸). درباره عوارض قلبی-عروقی ناشی از تمرین مقاومتی با شدت بالا، به واسطه افزایش فشار خون ناشی از انجام این تمرین در بیماران قلبی-عروقی نگرانی وجود دارد (۱۹)؛ با این وجود، نشان داده شده است که تمرین مقاومتی با شدت متوسط می‌تواند تأثیرات مثبتی بر کیفیت زندگی، فاکتورهای خطرهای قلبی-عروقی و عملکرد قلبی-عروقی در افراد سالم و بیماران مبتلا به نارسایی قلبی داشته باشد (۲۰). با توجه به تأثیرات مفید فعالیت مقاومتی با شدت متوسط و تأثیرات منفی آپوتوز سلول‌های قلب بر عملکرد قلبی در دوران سالمندی، این پرسش مطرح می‌شود که آیا تمرین منظم مقاومتی با شدت متوسط بر آپوتوز تأثیر دارد؟ با توجه به تأثیر آنزیم تلومراز در فرایند آپوتوز و از آنجایی که کاسپاز-سه در بافت قلب، کاسپاز تأثیرگذار اولیه در شروع فرایند آپوتوز است و مطالعات از آن به عنوان واسطه کلیدی آپوتوز نام می‌برند (۲۱)، در این پژوهش به بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط بر بیان کاسپاز-سه و محتوی آنزیم تلومراز بافت قلب رت‌های مسن پرداخته شد.

چای سبز یکی از محبوب‌ترین نوشیدنی‌ها در جهان است که اجزای اصلی آن را پلی‌فنول‌های چای تشکیل می‌دهند (۳۰ درصد وزن خشک). پلی‌فنول‌ها اثرهای مختلف درمانی در برابر شرایط

پاتولوژیک از جمله سرطان، التهاب، دیابت و بیماری‌های قلبی - عروقی دارند. اخیراً، علاقه علمی به پلی فنول‌ها به سرعت افزایش یافته است. پلی فنول چای سبز حاوی بسیاری از کاتچین‌ها<sup>۱</sup> از جمله اپی کاتچین<sup>۲</sup> (EC)، اپی کاتچین گالات<sup>۳</sup> (ECG)، اپی گالوکاتچین<sup>۴</sup> (EGC)، اپی گالوکاتچین گالات<sup>۵</sup> (EGCG) است. در میان این اجزا، EGCG بیشترین و فعال‌ترین پلی فنول چای سبز است (۲۲). در مقایسه با سایر کاتچین‌های چای، کاتچین‌های دارای بخش گالیول<sup>۶</sup> (EGCG و ECG) دارای بیشترین فعالیت‌های بیولوژیک شامل افزایش متابولیسم چربی‌ها و افزایش آنژیوژنز هستند (۲۲). مطالعات اخیر اثرهای محافظتی چای سبز و EGCG را در بیماری‌های قلبی - عروقی نشان داده‌اند (۲۳). شنگ<sup>۷</sup> و همکاران (۲۴) نشان دادند که EGCG، آپوپتوز و استرس اکسیداتیو سلول‌های قلبی را هنگام بار اضافی ناشی از هایپرتروفی مهار می‌کند. به علاوه EGCG استرس اکسیداتیو ناشی از سلول‌های آپوپتوز را از طریق مهار تغییر تلومر وابسته به مسیر آپوپتوز سرکوب می‌کند (۲۵). افزایش سوخت‌وساز چربی‌ها موجب کاهش آپوپتوز در بیشتر بافت‌های بدن می‌شود (۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که مصرف عصاره چای سبز و EGCG موجب کاهش وزن، افزایش سوخت‌وساز چربی‌ها و افزایش هزینه انرژی<sup>۸</sup> هنگام فعالیت بدنی و استراحت در موش و انسان می‌شود (۳۱-۲۷). همچنین، نشان داده شده است که مصرف عصاره چای سبز موجب افزایش عملکرد ورزشی در موش‌ها (۳۲) و بهبود حداکثر اکسیژن مصرفی در انسان (۳۳) می‌شود. کاردوسو<sup>۹</sup> و همکاران (۳۴) گزارش دادند که مصرف هم‌زمان عصاره چای سبز و انجام تمرین مقاومتی نسبت به هر کدام از آن‌ها، به‌تنهایی موجب افزایش قدرت عضلانی و کاهش درصد چربی در زنان شد. با توجه به نتایج مطالعات به نظر می‌رسد که مصرف عصاره چای سبز با افزایش سوخت‌وساز چربی‌ها و اثرهای آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از آپوپتوز و مرگ سلولی جلوگیری کند. همچنین، مصرف هم‌زمان آن با انجام فعالیت بدنی می‌تواند اثرهای سودمند فعالیت بدنی را بر سوخت‌وساز چربی‌ها و جلوگیری از آپوپتوز افزایش دهد؛ زیرا، نشان داده شده است که افزایش سوخت‌وساز چربی‌ها موجب کاهش آپوپتوز در بیشتر بافت‌های بدن می‌شود (۲۶).

- 
1. Catechins
  2. Epicatechin
  3. Epicatechin-3-Gallate
  4. Epigallocatechin
  5. Epigallocatechin-3-Gallate
  6. Galloyl
  7. Sheng
  8. Energy Expenditure
  9. Cardoso

باتوجه به آثار سودمند تمرین مقاومتی با شدت متوسط بر عملکرد قلبی و تأثیرات مثبت و آنتی‌اکسیدانی چای سبز، این پرسش مطرح می‌شود که آیا ترکیب تمرین مقاومتی و مصرف چای سبز می‌تواند تأثیر مثبتی بر جلوگیری از فرایند آپوپتوز در دوران سالمندی داشته باشد؟ از این رو، در این پژوهش بر آن شدیم که تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط و مصرف عصاره چای سبز را بر بیان کاسپاز-۳ و محتوای آنزیم تلومراز بافت قلبی رت‌های مسن بررسی کنیم.

### روش پژوهش

تعداد ۲۰ سر رت نر ویستار ۳۶ هفته‌ای با وزن ۲۷۰ تا ۳۰۰ گرم نمونه آماری این پژوهش را تشکیل دادند. ابتدا رت‌ها را در چهار گروه پنج‌تایی شامل گروه تمرین، گروه مکمل، گروه تمرین به‌اضافه مکمل و گروه کنترل قرار دادیم. سپس، طبق دستورالعمل انجمن ایرانیان حمایت‌کننده از حیوانات آزمایشگاهی، رت‌ها در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. حیوانات در محیطی با میزان رطوبت  $5 \pm 44$  درصد و سیکل شبانه‌روزی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای  $2 \pm 22$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی آزاد به غذای مخصوص حیوانات و آب داشتند. این مطالعه در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی ارومیه با شناسه IR.umsu.rec.1396.57 به تصویب رسید. دو هفته برای آشنایی با محیط آزمایشگاه و نحوه اجرای تمرین برای آزمودنی‌ها در نظر گرفته شد. پس از گذشت دو هفته، پروتکل اصلی تمرین شروع شد؛ به این صورت که گروه تمرین به مدت ۱۲ هفته تحت تأثیر تمرینات مقاومتی قرار گرفتند، گروه مکمل به مدت ۱۲ هفته عصاره چای سبز را دریافت کردند و گروه تمرین به‌اضافه مکمل به مدت ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی را به همراه مصرف عصاره چای سبز انجام دادند. پس از اتمام دوره در حالت ناشتا و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، نمونه‌های مورد نیاز از رت‌ها جمع‌آوری شدند.

رت‌های گروه‌های تمرینی بعد از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و نحوه اجرای تمرین به مدت ۱۲ هفته تمرین مقاومتی را انجام دادند. تمرین روی یک نردبان عمودی به طول ۱۱۰ سانتی‌متر و شیب ۸۰ درجه نسبت به سطح زمین انجام شد. وزنه‌ها براساس وزن بدن به قاعده دم حیوان بسته شدند. رت‌ها تمرین مقاومتی را یک جلسه در روز، پنج روز در هفته و به مدت ۱۲ هفته انجام دادند. هر جلسه تمرین شامل یک دوره هشت تکراری با فواصل استراحتی ۶۰ ثانیه‌ای برای هر تکرار بود. در ابتدای هر هفته، وزن حیوان اندازه‌گیری

می‌شد و براساس وزن بدن وزنه تمرینی اعمال شد (جدول شماره یک). حداکثر وزنه حمل‌شده توسط رت‌ها، تا آخر هفته دوازدهم به ۶۰ درصد وزن بدن حیوان رسید. مقدار وزنه تمرینی در هفته اول، پنج درصد وزن بدن اعمال شد و بعد از آن هر هفته پنج درصد به آن اضافه شد که در آغاز هفته دوازدهم، به ۶۰ درصد وزن بدن حیوان رسید. برای بالارفتن حیوان از نردبان فقط از تحریک نوک دم استفاده شد و از هیچ‌گونه تحریک الکتریکی استفاده نشد. پروتکل تمرینی با توجه به مطالعات قبلی و به‌ویژه مطالعات نوکسی<sup>۱</sup> و همکاران (۳۶) و سوزا<sup>۲</sup> و همکاران (۳۷) که تأثیر مفید این پروتکل تمرین مقاومتی را بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک کبد، قلب و آئورت رت‌های مسن گزارش دادند، طراحی شد؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که این پروتکل بر آپوپتوز سلول‌های قلبی در رت‌های مسن مؤثر باشد. به استناد مطالعه نوکسی و همکاران (۳۶)، شدت تمرین مقاومتی مورد استفاده در این مطالعه برای رت‌های مسن، یک شدت متوسط محسوب می‌شود.

جدول ۱- وزن بدن رت‌ها در ابتدای هر هفته (برحسب گرم)

هفته	گروه کنترل	گروه تمرین	گروه مکمل	گروه تمرین به‌اضافه مکمل
اول	۲۷۷	۲۹۱	۲۸۴	۲۸۰
دوم	۲۸۳	۲۹۴	۲۸۹	۲۸۶
سوم	۲۸۹	۳۰۱	۲۹۵	۲۸۹
چهارم	۲۹۵	۳۰۹	۲۹۹	۲۹۳
پنجم	۳۰۸	۳۱۱	۳۰۶	۳۰۱
ششم	۳۱۶	۳۱۳	۳۱۳	۳۰۵
هفتم	۳۲۲	۳۱۹	۳۱۷	۳۱۶
هشتم	۳۲۹	۳۲۷	۳۲۰	۳۱۸
نهم	۳۳۲	۳۲۹	۳۲۴	۳۲۴
دهم	۳۳۶	۳۳۴	۳۲۹	۳۲۹
یازدهم	۳۴۱	۳۳۹	۳۳۵	۳۳۶
دوازدهم	۳۴۵	۳۴۴	۳۳۸	۳۴۱

- 
1. Nucci
  2. Souza

رت‌های گروه مکمل و گروه تمرین به‌اضافهٔ مکمل، به‌مدت ۱۲ هفته و پنج روز در هفته عصارهٔ چای سبز دریافت کردند. عصارهٔ چای سبز به‌صورت کپسول ۴۰۰ میلی‌گرمی حاوی پودر عصارهٔ چای سبز، ساخت شرکت NOW FOODS کشور آمریکا بود که هر کپسول حاوی ۴۰ درصد کتشین بود. کپسول را باز کردیم و سپس، مطابق با مطالعهٔ گاد<sup>۱</sup> و همکاران (۳۸) به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم، به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن پودر را در یک سی‌سی آب مقطر حل کردیم و به‌وسیلهٔ گواژ به رت‌ها دادیم. مکمل چای سبز در ساعت ۱۱ صبح به رت‌ها داده شد و پروتکل تمرینی در ساعت پنج عصر انجام شد.

در این مطالعه، برای بررسی بیان کاسپاز-سه در بافت قلب از روش ایمنوهیستوشیمی استفاده شد. بدین‌منظور، از آنتی‌بادی کاسپاز-سه<sup>۲</sup> ساخت شرکت Elabscience با شماره کاتالوگ E-AB-30756 ساخت کشور آمریکا استفاده شد. ۴۸ ساعت بعد از انجام آخرین جلسهٔ تمرینی، در حالت ناشتا رت‌ها جراحی شدند. ابتدا رت‌ها توسط تزریق عضلانی کتامین ده درصد با دوز ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن بی‌هوش شدند و سپس، قلب حیوان را برداشتیم و داخل فرمالین ۲۵ درصد قرار دادیم. روش ایمنوهیستوشیمی (جدول شمارهٔ دو) پس از قرارگیری ۴۸ ساعتی نمونه‌ها در فرمالین انجام شد (۳۹، ۱۲). تصاویر با میکروسکوپ نوری گرفته شدند. برای تجزیه و تحلیل تصاویر و مشخص کردن میزان کاسپاز-سه از نرم‌افزار ایمیج جی<sup>۳</sup> استفاده شد که بیان کاسپاز-سه را براساس درصدی از تصویر نشان داد.

برای بررسی محتوای آنزیم تلومراز در بافت قلب، از روش سنجش ایمنی ساندویچ الایزا استفاده شد. بدین‌منظور از کیت رت تلومراز الایزا کیت<sup>۴</sup> ساخت شرکت ای‌لب ساینس<sup>۵</sup> کشور آمریکا استفاده شد. از لحاظ حساسیت، حداقل مقدار اندازه‌گیری کیت ۴۶/۸۸ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و دامنهٔ تشخیص آن ۷۸/۱۳ تا ۵۰۰۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. دقت تکرارپذیری و دقت درون‌سنجی کیت بیشتر از ۹۰ درصد بود. برای لیز کردن بافت از دستورالعمل شرکت سازندهٔ کیت استفاده شد. ابتدا مقداری از بافت قلب را برداشتیم (۳۰۰ میلی‌گرم) و با یک میلی‌لیتر محلول PBS را به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم گلس هموژنیزر، داخل میکروتیوپ قرار دادیم. سپس، با استفاده از دستگاه میکرو دیس ممبر تور<sup>۶</sup> به مدت دو دقیقه با شدت ۳۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه کردیم و سپس، آن را به‌مدت دو دقیقه داخل ظرف یخ قرار دادیم. پس از آن، محلول موردنظر را در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد

1. Gad
2. Caspase-3 Polyclonal Antibody
3. Image J
4. Rat TE (Telomerase) ELISA Kit
5. Elabscience
6. Mikro-Dismembrator

به مدت هشت دقیقه با شدت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ کردیم. سپس، محلول بالایی را برداشتیم و ارزیابی کردیم. سپس، برای اندازه‌گیری محتوای تلومراز طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، روش سنجش ایمنی ساندویچ الایزا را اجرا کردیم. در این مطالعه، برای حذف خطاهای آزمایشگاهی ناشی از وزن نمونه برداری بافت، حجم بافر PBS و حجم نمونه برداری با سمپلر، مقدار محتوای آنزیم تلومراز بافت را نسبت به مقدار پروتئین کل بافت بیان کردیم. برای اندازه‌گیری پروتئین تام از روش برادفورد استفاده شد (۴۰). ابتدا محلول برادفورد را آماده کردیم و سپس، نمونه‌های محلول بافتی را به نسبت یک به پنج با آب مقطر رقیق کردیم. برای آماده‌کردن نمونه‌های استاندارد، آلبومین سرم گاوی (BSA) را در آب مقطر در غلظت‌های ۵۰۰۰، ۲۵۰۰، ۱۲۵۰، ۶۲۵ و ۳۱۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر حل کردیم. سپس، از هر کدام از نمونه‌های محلول بافتی و استاندارد، ۱۰ میکرولیتر برداشتیم و در پنج میلی‌لیتر محلول برادفورد حل کردیم و ارزیابی کردیم (۴۱).

#### جدول ۲- مراحل انجام ایمنو هیستوشیمی

۱	ابتدا، برای آگیری نمونه‌ها آن‌ها را داخل الکل با درصدهای مختلف (۷۰، ۸۰، ۹۰، ۹۶ و ۱۰۰ درصد) به صورت صعودی، هر کدام به مدت دو ساعت داخل آون و در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم؛
۲	سپس، بافت‌ها را در مخلوط روغن صدر (سه‌چهارم) به اضافه گزلیل (یک‌چهارم) به مدت شب تا صبح (حدود ۱۱ ساعت) قرار دادیم؛
۳	سپس، بافت‌ها را داخل پارافین خالص و بد از آنپارافین به اضافه موم هر کدام به مدت چهار ساعت قرار دادیم؛
۴	سپس، توسط پارافین کاملاً مذاب با مخلوط موم قالب‌گیری کردیم. اندازه قالب‌ها دو سانتی‌متر در دو سانتی‌متر بود؛
۵	با میکروتوم پنج‌میکرونی قالب‌ها را برش زدیم. سپس، بافت برش خورده را داخل بن‌ماری با درجه ۴۰ قرار دادیم و بعد از پنج دقیقه روی لام انتقال دادیم؛
۶	لام‌ها را به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق قرار دادیم (دمای اتاق کنترل شد)؛
۷	برای پارافین‌زدایی، لام‌ها را به مدت نیم‌ساعت در دمای ۷۰ درجه و سپس، به مدت نیم‌ساعت داخل گزلیل قرار دادیم؛
۸	مرحلهٔ آبدهی: لام‌ها را به مدت پنج دقیقه به ترتیب داخل هر یک از الکل‌های ۹۶، ۹۰، ۸۰ و ۷۰ درصد و آب مقطر قرار دادیم؛
۹	سپس، داخل محلول رتریوال (تری سدیم سیترات، Tween 20 و آب مقطر) قرار دادیم. سپس، سه دقیقه در ۷۲۰ وات و بعد ۱۱ دقیقه در ۱۸۰ وات داخل مایکروویو گذاشته شد؛
۱۰	برای بلاک کردن اندروژن‌های پراکسیداز، به مدت پنج دقیقه سطح لام‌ها را با آب اکسیژنه پوشاندیم؛
۱۱	سوپربلاک را به مدت ۱۰ دقیقه روی مقاطع ریختیم و سپس، در PBS شست‌وشو دادیم؛
۱۲	آنتی‌بادی اولیه (آنتی‌بادی کاسپاز-سه) به نسبت یک به ۲۰۰ را روی مقاطع ریختیم و در یک جعبهٔ تاریک در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد، به مدت یک شبانه‌روز نگه داشتیم؛



## ادامه جدول ۲- مراحل انجام ایمنوهیستوشیمی

۱۳	پس از یک شبانه‌روز، آنتی‌بادی روی مقاطع را خالی کردیم و در PBS شست‌وشو دادیم؛
۱۴	پس از خشک کردن، آنتی‌بادی ثانویه را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق آنکوبه کردیم و در PBS شست‌وشو دادیم و سپس، لام‌ها را کاملاً خشک کردیم؛
۱۵	روی لام‌ها محلول HRP را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق آنکوبه کردیم؛
۱۶	پنج میکرولیتر کروموژن را با یک میلی‌لیتر از دب سوبستریت، در یک میکروتیوب مخلوط کردیم و به مدت ۱۰ دقیقه روی همه مقاطع را با مخلوط پوشاندیم. سپس، در PBS شست‌وشو دادیم و خشک کردیم؛
۱۷	رنگ همانوکسیلین را به مدت ۱۰ ثانیه روی مقاطع ریختیم و سپس، در یک ظرف آب مقطر شست‌وشو دادیم؛
۱۸	پس از شست‌وشو و بررسی کردن کیفیت کامل تصاویر، با میکروسکوپ روی مقاطع را با لامل فیکس کردیم.

از آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها و رسم نمودار استفاده شد. برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف<sup>۱</sup> و برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس<sup>۲</sup> و آزمون تعقیبی توکی<sup>۳</sup> استفاده شد. برای بررسی تجانس واریانس از آزمون لون<sup>۴</sup> استفاده شد. سطح معناداری  $P = 0.05$  در نظر گرفته شد. تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس<sup>۵</sup> نسخه ۲۴ انجام شد. برای رسم نمودار از نرم‌افزار اکسل استفاده شد. ابتدا، طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف بررسی شد که نتایج این آزمون از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0.999$ ,  $Z = 0.329$ ) که نشان‌دهنده توزیع طبیعی داده‌ها بود. نتایج آزمون لون از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0.144$ ) که نشان‌دهنده همگن بودن واریانس‌ها بود. برای بررسی تغییرات بین گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس استفاده شد.

## نتایج

برای بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل عصاره چای سبز بر بیان کاسپاز-سه بافت قلب، از روش ایمنوهیستوشیمی استفاده شد. شکل شماره دو تصاویر ایمنوهیستوشیمی را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. نقاط بیان کاسپاز-سه در تصاویر به رنگ قهوه‌ای تیره مشخص شده است. نقاط آبی هسته سلول‌ها هستند. داده‌ها براساس درصدی از کل تصویر با استفاده از نرم‌افزار Image J به دست آمدند. نتایج آزمون تحلیل واریانس نشان داد که در مقدار بیان کاسپاز-

1. Kolmogorov-Smirnov Test
2. Analysis of Variance
3. Tukey Post Hoc Test
4. Levene Test
5. SPSS

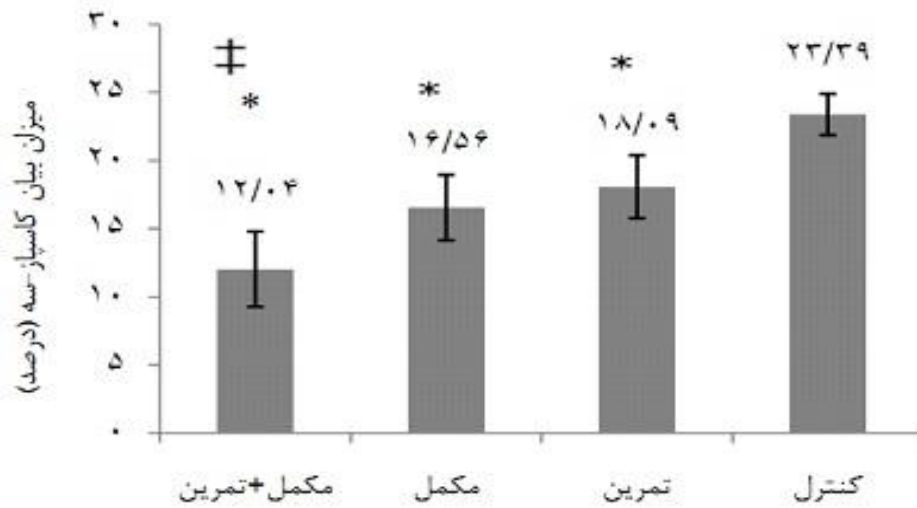
سه، بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود دارد ( $F = 20.673$ ,  $P = 0.000$ ). جدول شماره سه نتایج آزمون تعقیبی توکی را نشان می‌دهد.

جدول ۳- نتایج آزمون تعقیبی توکی

گروه‌ها	فاکتور	تفاوت میانگین گروه‌ها	سطح معناداری
کنترل - تمرین	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۵/۲۹۴	۰/۰۱۱*
کنترل - مکمل	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۶/۸۳۲	۰/۰۰۱*
کنترل - مکمل	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۵۷۵/۴۳۹	۰/۰۱۵*
کنترل - مکمل	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۱۱/۳۴۴	۰/۰۰۰*
به‌اضافه تمرین	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۶۷۰/۷۵۷	۰/۰۰۵*
تمرین - مکمل	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۱/۵۳۸	۰/۷۲۰
تمرین - مکمل	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۸۶/۸۱۸	۰/۹۵۳
تمرین - مکمل	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۶/۰۵۰	۰/۰۰۴*
به‌اضافه تمرین	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۱۸۲/۱۳۵	۰/۶۹۸
مکمل - مکمل	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۴/۵۱۲	۰/۰۳۱*
به‌اضافه تمرین	بیان کاسپاز-۳ (درصد) نسبت محتوای آنزیم تلومراز به پروتئین کل (پیکوگرم بر میلی گرم)	۹۵/۳۱۷	۰/۹۳۹

\*سطح معناداری از لحاظ آماری  $P = 0.05$

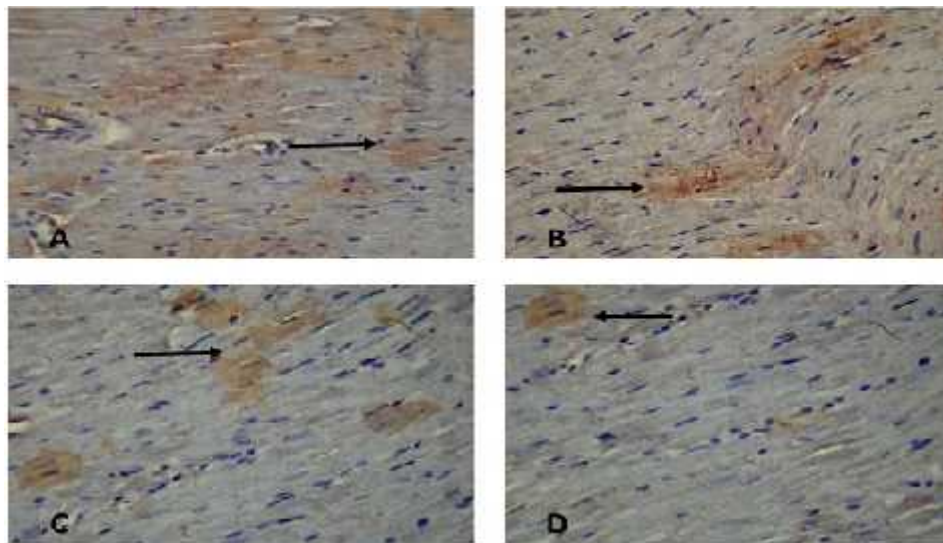
شکل شماره یک مقادیر بیان کاسپاز-سه در بافت قلب را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که اختلاف بین همه گروه‌های تجربی با گروه کنترل در بیان کاسپاز-سه معنادار بود (جدول شماره دو). همان‌گونه که در شکل شماره یک مشاهده می‌شود، بیان کاسپاز-سه در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که این کاهش از لحاظ آماری معنادار بود (جدول شماره دو). مقدار بیان کاسپاز-سه در گروه مکمل نسبت به گروه تمرین پایین‌تر بود؛ اما از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0.720$ ). گروه مکمل به‌اضافه تمرین نسبت به گروه تمرین ( $P = 0.004$ ) و نسبت به گروه مکمل ( $P = 0.031$ ) کاهش معناداری داشت.



شکل ۱- مقادیر میان کاسپاز- سه در بافت قلب گروه‌های مختلف

\* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل  $P = 0.05$

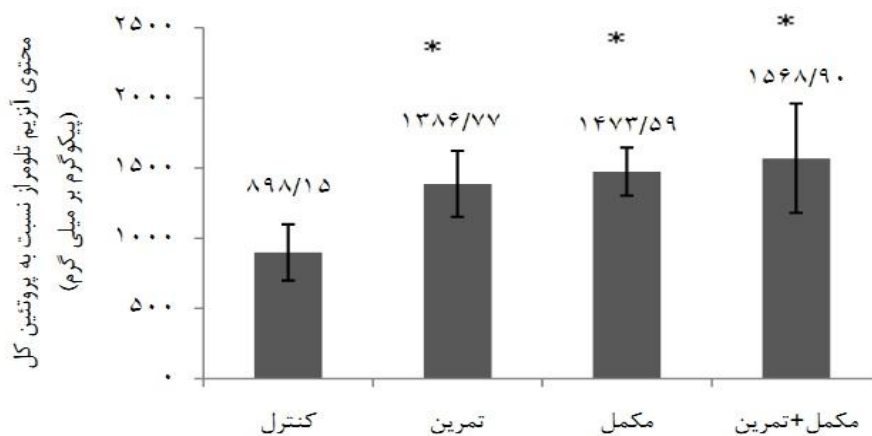
‡ اختلاف معنادار نسبت به گروه مکمل و گروه تمرین  $P = 0.05$



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی ایمنوهیستوشیمی (با بزرگ‌نمایی ۴۰۰)، A گروه کنترل، B گروه تمرین، C گروه مکمل و D گروه تمرین به‌اضافه مکمل

برای بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل عصاره چای سبز بر محتوای آنزیم تلومراز بافت قلب، از روش سنجش ایمنی ساندویچ الایزا استفاده شد. محتوای آنزیم تلومراز نسبت به مقدار پروتئین استخراج شده از بافت ارزیابی شد. نتایج آزمون کلموگروف-اسمیرنوف از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0.855$ ,  $Z = 0.607$ ) که نشان دهنده توزیع طبیعی داده‌ها بود. نتایج آزمون لون از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0.136$ ) که نشان دهنده همگن بودن واریانس‌ها بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس نشان داد که تفاوت محتوای آنزیم تلومراز بافت قلب بین گروه‌ها معنادار است ( $F = 6.436$ ,  $P = 0.005$ ). برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد (جدول شماره دو).

جدول شماره سه محتوای آنزیم تلومراز را نسبت به پروتئین کل در بافت قلب، در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که اختلاف بین همه گروه‌های تجربی با گروه کنترل در محتوای آنزیم تلومراز معنادار است (جدول شماره دو). همان‌گونه که در شکل شماره سه مشاهده می‌شود، محتوای آنزیم تلومراز نسبت به پروتئین کل در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که این افزایش از لحاظ آماری معنادار بود (جدول شماره دو). محتوای آنزیم تلومراز نسبت به پروتئین کل در گروه مکمل نسبت به گروه تمرین بالاتر بود؛ اما از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P = 0.953$ ). گروه مکمل به اضافه تمرین نسبت به گروه تمرین ( $P = 0.698$ ) و نسبت به گروه مکمل ( $P = 0.939$ ) افزایش داشت؛ اما از لحاظ آماری معنادار نبود.



شکل ۳- محتوای آنزیم تلومراز نسبت به پروتئین کل در بافت قلب گروه‌های مختلف

\*اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل  $P < 0.05$

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ترکیب ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط و مصرف عصاره‌ی چای سبز و هرکدام از آن‌ها، به‌تنهایی سبب کاهش بیان کاسپاز-۳ و افزایش محتوای آنزیم تلومراز در بافت قلب رت‌های مسن شد. ترکیب تمرین مقاومتی و مصرف عصاره‌ی چای سبز نسبت به هرکدام از آن‌ها، به‌تنهایی بیان کاسپاز-۳ را به‌صورت معناداری کاهش داد. مطالعات اندکی تأثیر عصاره‌ی چای سبز را بر مسیرهای آپوپتوز بررسی کرده‌اند. شنگ و همکاران (۲۵، ۲۳) در دو مطالعه‌ی جداگانه تأثیر EGCG را بر مسیر تلومریک آپوپتوز در بافت قلب رت‌ها بررسی کردند و نشان دادند که EGCG موجب کاهش آپوپتوز، کاهش تخریب DNA و کاهش مقادیر P53 و P21 در بافت قلب شد. نتایج مطالعات شنگ و همکاران با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو است که علت آن می‌تواند نوع آزمودنی‌ها باشد که در هر دو مطالعه رت‌های نر بودند. در ارتباط با تأثیر تمرین مقاومتی بر آپوپتوز و بیولوژی تلومر، نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعه‌ی دیمارو<sup>۱</sup> و همکاران (۴۲) و دوستار<sup>۲</sup> و همکاران (۱۸) مغایرت دارد. دیمارو و همکاران در مطالعه‌ی خود تأثیر ۱۲ هفته، دو روز در هفته و هر روز یک جلسه تمرین مقاومتی با شدت پایین را بر برخی از عوامل مرتبط با تلومر و آپوپتوز در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در زنان و مردان مسن بررسی کردند. آن‌ها گزارش دادند که تمرین مقاومتی باوجود افزایش طول تلومر، تأثیری بر میزان کاسپاز-۳، Bax، Bcl-2، Ku80، SIRT1 و SIRT2 نداشت (۴۲). ازجمله دلایل مغایرت نتایج پژوهش حاضر با مطالعه‌ی دیمارو و همکاران می‌تواند بافت موردبررسی، نوع آزمودنی‌ها و تعداد جلسات فعالیت مقاومتی باشند. بافت موردبررسی در پژوهش حاضر بافت قلب بود؛ درحالی‌که دیمارو و همکاران سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی را بررسی کردند. آزمودنی‌های پژوهش حاضر رت‌های نر مسن بودند؛ درحالی‌که در مطالعه‌ی دیمارو و همکاران، آزمودنی‌ها زنان و مردان مسن بودند. در پژوهش حاضر، تعداد جلسات تمرینی پنج روز در هفته بود؛ درحالی‌که در مطالعه‌ی دیمارو و همکاران دو روز در هفته بود. دوستار و همکاران (۱۸) تأثیر چهار هفته تمرین مقاومتی را بر آپوپتوز قلب بررسی کردند و گزارش دادند که تمرین مقاومتی تأثیری بر آپوپتوز قلبی نداشت. نتایج مطالعه‌ی دوستار و همکاران با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی ندارد که دلیل آن می‌تواند مدت دوره‌ی فعالیت مقاومتی باشد که در مطالعه‌ی دوستار و همکاران چهار هفته بود؛ درحالی‌که در پژوهش حاضر ۱۲ هفته بود.

- 
1. Dimauro
  2. Doustar

دلیل مغایرت نتایج پژوهش حاضر با مطالعات دیماریو و همکاران و دوستار و همکاران می‌تواند در روش پژوهش، شدت و مدت فعالیت بدنی باشد. کرکاس<sup>۱</sup> و همکاران (۴۳) پیشنهاد دادند که رابطه بین شدت فعالیت بدنی و طول تلومر یک رابطه مثبت است؛ اما ساولا<sup>۲</sup> و همکاران (۴۴) بیان کردند که این رابطه می‌تواند به شکل U وارونه باشد؛ بدین معنی که شدت متوسط تمرین می‌تواند تأثیر بهتری از تمرین با شدت بالا یا شدت پایین بر طول تلومر و پیری سلولی داشته باشد. از آنجایی که شدت فعالیت در مطالعه دیماریو و همکاران نسبت به پژوهش حاضر پایین تر بود و طول دوره تمرین در مطالعه دوستار و همکاران نسبت به پژوهش حاضر کمتر بود (چهار هفته نسبت به ۱۲ هفته)، شاید بتوان گفت که اصلی‌ترین دلیل مغایرت نتایج این مطالعات با پژوهش حاضر شدت و مدت تمرین باشد.

چای سبز یک نوشیدنی محبوب است که ۳۰ درصد وزن آن در حالت خشک را پلی فنول‌های چای تشکیل داده است. اپی‌گالوکتشین گالات<sup>۳</sup> (EGCG) که بیشترین و فعال‌ترین کتشین موجود در چای سبز در سیستم بیولوژیک یک آنتی‌اکسیدان است، خیلی سریع از روده کوچک جذب خون می‌شود. پلی فنول‌های موجود در چای سبز می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند و کاهش دهند و حتی ممکن است از برخی از اثرهای مخرب رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند (۳۸). مطالعات آثار سودمند چندین آنتی‌اکسیدان را از جمله ویتامین C، گلوکاتین و N-استیل-L-سیستئین بر جلوگیری از آپوپتوز گزارش داده‌اند (۲۳). رایس - اوانز<sup>۴</sup> (۴۵) نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی EGCG از ویتامین C و ویتامین E بیشتر است. تولید بیش از حد گونه فعال اکسیژن می‌تواند باعث ایجاد استرس در سلول، بافت یا اندام شود و همچنین، به آسیب DNA و آپوپتوز یا پیری سلولی منجر شود (۴۶). استارر<sup>۵</sup> و همکاران (۴۷) چندین ژن استرس اکسیداتیو را که با بیولوژی پیری در ارتباط هستند، معرفی کردند. استرس اکسیداتیو پایدار به آسیب DNA و مرگ سلولی منجر می‌شود. با توجه به اثرهای استرس اکسیداتیو بر بیولوژی پیری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز، به نظر می‌رسد که مصرف چای سبز می‌تواند تأثیر مثبتی بر آپوپتوز سلولی داشته باشد؛ از این رو، در مطالعه حاضر، کاهش بیان کاسپاز-سه و افزایش محتوای آنزیم تلومراز در اثر مصرف مکمل چای سبز را می‌توان ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز دانست.

- 
1. Cherkas
  2. Savela
  3. Epigallocatechin Gallate
  4. Rice-Evans
  5. Starr

از یک سو، به صورت طبیعی پیری سبب کاهش عملکرد قلبی و افزایش استرس اکسیداتیو در قلب می‌شود که به آپوپتوز از طریق اختلال عملکرد میتوکندریایی منجر می‌شود. از سوی دیگر، فعالیت بدنی تأثیر مثبتی در جلوگیری از آپوپتوز در قلب مسن دارد که نشان‌دهنده تأثیرات مثبت فعالیت بدنی بر قلب در دوران سالمندی است (۱۵). مطالعات نشان داده‌اند که افزایش سن با آسیب DNA بافت قلب همراه است که به اختلال در زنجیره انتقال الکترون و افزایش ROS میتوکندریایی و در نهایت، آپوپتوز سلول‌های قلبی منجر می‌شود (۱۶). والس<sup>۱</sup> و همکاران (۴۸) نشان دادند که ۱۲ هفته فعالیت مقاومتی با شدت متوسط، نه تنها تأثیر منفی بر عملکرد قلب در دوران سالمندی ندارد، بلکه سبب بهبود سطح آمادگی هوازی در دوران سالمندی می‌شود و نقش محافظتی در برابر عوامل اکسایشی و التهابی دارد. براری و همکاران (۴۹) بیان کردند که چهار هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط، سبب افزایش سطوح سرمی سوپر اکسید دیسموتاز در افراد غیرفعال شد. قیاسی و همکاران (۵۰) نشان دادند که چهار ماه فعالیت منظم مقاومتی با شدت متوسط، سبب افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوکوتایون پراکسیداز در بافت قلب رت‌های نر مسن شد. با توجه به نتایج مطالعات می‌توان گفت که فعالیت منظم مقاومتی با شدت متوسط، اثرهای آنتی‌اکسیدانی دارد؛ از این رو، در پژوهش حاضر، یک عامل تأثیرگذار بر کاهش بیان کاسپاز-سه و افزایش محتوای آنزیم تلومراز بافت قلبی در اثر فعالیت مقاومتی را می‌توان خاصیت آنتی‌اکسیدانی فعالیت منظم مقاومتی دانست.

فاکتور نکروزدهنده تومور - آلفا (TNF- $\alpha$ )، یک مولکول پیش‌آپوپتوزی و پیش‌التهابی است که در مسیر خارج سلولی آپوپتوز با اتصال با گیرنده TNFR1 موجب فعال‌سازی کاسپاز-هشت و سپس، کاسپاز-سه و در نهایت، آپوپتوز می‌شود (۵۱). سهیلی و همکاران (۵۲) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط سبب کاهش سطوح سرمی TNF- در زنان غیرفعال شد. فیلیپس<sup>۲</sup> و همکاران (۵۳) گزارش کردند که ۱۰ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط سبب کاهش مقادیر سرمی TNF- در زنان مسن شد؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که در مطالعه حاضر، سازوکار مؤثر دیگر در کاهش بیان کاسپاز-سه و افزایش محتوای آنزیم تلومراز در بافت قلب در اثر فعالیت مقاومتی، سرکوب مسیر خارج سلولی آپوپتوز در اثر تمرین مقاومتی باشد.

به‌طور کلی، براساس نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد که ترکیب ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط و مصرف مکمل عصاره چای سبز می‌تواند سبب کاهش بیان کاسپاز-سه و افزایش محتوای آنزیم تلومراز در بافت قلب رت‌های مسن شود و از پیری سلولی جلوگیری کند. ترکیب تمرین مقاومتی و مصرف عصاره چای سبز می‌تواند تأثیر بیشتری نسبت به هر کدام از آن‌ها

1. Valls

2. Phillips

به‌تنهایی، بر کاهش بیان کاسپاز- سه در بافت قلب مسن داشته باشد. همچنین، انجام تمرین مقاومتی و مصرف عصاره‌ چای سبز به‌تنهایی نیز می‌تواند موجب کاهش بیان کاسپاز- سه و افزایش محتوای آنزیم تلومراز در بافت قلب رت‌های مسن شود.

**پیام مقاله:** انجام تمرین مقاومتی با شدت متوسط و مصرف عصاره‌ چای سبز می‌تواند اثرهای سودمندی بر آپوپتوز و جلوگیری از بیماری‌های قلبی مرتبط با افزایش سن در رت‌های مسن داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

### منابع

1. Werner C, Hanhoun M, Widmann T, Kazakov A, Semenov A, Pöss J, et al. Effects of physical exercise on myocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(6):470-82.
2. Müezziner A, Zaineddin AK, Brenner H. A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Res Rev*. 2013;12(2):509-19.
3. Zalli A, Carvalho LA, Lin J, Hamer M, Erusalimsky JD, Blackburn EH, et al. Shorter telomeres with high telomerase activity are associated with raised allostatic load and impoverished psychosocial resources. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(12):4519-24.
4. Chilton W, O'Brien B, Charchar F. Telomeres, aging and exercise: Guilty by association? *Int J Mol Sci*. 2017;18(12):25-73.
5. Haendeler J, Hoffmann J, Brandes RP, Zeiher AM, Dimmeler S. Hydrogen peroxide triggers nuclear export of telomerase reverse transcriptase via Src kinase family-dependent phosphorylation of tyrosine 707. *Mol Cell Biol*. 2003;23(13):4598-610.
6. Nazem MR, Emami A, Movafagh A, Pejhan N, Hedayati M. Significance of telomere and telomerase biology and their relationship with aging process. *Genet 3rd Millennium*. 2012;10(2):2736-45. (In Persian).
7. Torella D, Rota M, Nurzynska D, Musso E, Monsen A, Shiraishi I, et al. Cardiac stem cell and myocyte aging, heart failure, and insulin-like growth factor-1 overexpression. *Circ Res*. 2004;94(4):514-24.
8. Shih H, Lee B, Lee RJ, Boyle AJ. The aging heart and post-infarction left ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(1):9-17.
9. Ashe PC, Berry MD. Apoptotic signaling cascades. *P Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003;27(2):199-214.
10. Shi J, Zhao Y, Wang Y, Gao W, Ding J, Li P, et al. *Nature*. 2014; 514(7521): 187-92.



11. Bowles DK, Laughlin MH. Mechanism of beneficial effects of physical activity on atherosclerosis and coronary heart disease. *J Appl Physiol* (1985). 2011;111(1): 308-10.
12. Siagian M, Lousiana M, Santoso DI, Endardjo S. Effects of anaerobic exercise and detraining on the caspase-3 expression of rat ventricular cardiomyocyte. *Med J Indones*. 2015;24(2):84-90.
13. Hsieh S-F, Hu G-C, Chuang Y-C, Chen C-Y, Hu Y-N. The effects and safety of exercise training in subjects with chronic heart failure—do elder subjects gain similar benefits? *Int J Gerontol*. 2010;4(4):165-70.
14. 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, Tissue*. 2015;2(4): 328-33.
15. Ko I-G, Kim S-E, Kim C-J, Jee Y-S. Treadmill exercise alleviates aging-induced apoptosis in rat cardiac myocytes. *Int J Gerontol*. 2013;7(3):152-7.
16. Kwak H-B, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J*. 2006;20(6):791-3.
17. Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, De Oliveira EM. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. *Clin Med Res*. 2007;5(2):114-20.
18. Yousef D, Farhad GS, Ghiassie R, Saeid S. Effect of resistance exercise on cardiac apoptosis following of ischemic/reperfusion. *J Anim Vet Adv*. 2011;10(19):2561-6.
19. Berent R, von Duvillard SP, Crouse SF, Sinzinger H, Green JS, Schmid P. Resistance training dose response in combined endurance-resistance training in patients with cardiovascular disease: a randomized trial. *Arch Phys Med Rehabil*. 2011;92(10):1527-33.
20. Bjarnason-Wehrens B, Mayer-Berger W, Meister E, Baum K, Hambrecht R, Gielen S. Recommendations for resistance exercise in cardiac rehabilitation. Recommendations of the German federation for cardiovascular prevention and rehabilitation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2004;11(4):352-61.
21. Lakhani SA, Masud A, Kuida K, Porter GA, Booth CJ, Mehal WZ, et al. Caspases 3 and 7: Key mediators of mitochondrial events of apoptosis. *Science*. 2006;311(5762):847-51.
22. Chu C, Deng J, Man Y, Qu Y. Green Tea Extracts Epigallocatechin-3-gallate for Different Treatments. *Biomed Res Int*. 2017; 2017: Article ID 5615647, 9 pages.
23. Sheng R, Gu ZL, Xie ML, Zhou WX, Guo CY. Epigallocatechin gallate protects H9c2 cardiomyoblasts against hydrogen dioxides- induced apoptosis and telomere attrition. *Eur J Pharmacol*. 2010;641(2-3):199-206.
24. Sheng R, Gu ZL, Xie ML, Zhou WX, Guo CY. EGCG inhibits proliferation of cardiac fibroblasts in rats with cardiac hypertrophy. *Planta Med*. 2009;75(2):113-20.
25. Sheng R, Gu ZL, Xie ML. Epigallocatechin gallate, the major component of polyphenols in green tea, inhibits telomere attrition mediated cardiomyocyte apoptosis in cardiac hypertrophy. *Int J Cardiol*. 2013;162(3):199-209.
26. Boren J, Brindle K. Apoptosis-induced mitochondrial dysfunction causes cytoplasmic lipid droplet formation. *Cell Death Differ*. 2012;19(9):1561-70.

27. Maki KC, Reeves MS, Farmer M, Yasunaga K, Matsuo N, Katsuragi Y, et al. Green tea catechin consumption enhances exercise-induced abdominal fat loss in overweight and obese adults. *J Nutr*. 2008;139(2):264-70.
28. Murase T, Haramizu S, Shimotoyodome A, Tokimitsu I, Hase T. Green tea extract improves running endurance in mice by stimulating lipid utilization during exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006;290(6): 1550-6.
29. Nagao T, Hase T, Tokimitsu I. A green tea extract high in catechins reduces body fat and cardiovascular risks in humans. *Obesity*. 2007;15(6):1473-83.
30. Thielecke F, Rahn G, Böhnke J, Adams F, Birkenfeld AL, Jordan J, et al. Epigallocatechin-3-gallate and postprandial fat oxidation in overweight/obese male volunteers: a pilot study. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(7):704-13.
31. Venables MC, Hulston CJ, Cox HR, Jeukendrup AE. Green tea extract ingestion, fat oxidation, and glucose tolerance in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(3):778-84.
32. Call JA, Voelker KA, Wolff AV, McMillan RP, Evans NP, Hulver MW, et al. Endurance capacity in maturing mdx mice is markedly enhanced by combined voluntary wheel running and green tea extract. *J Appl Physiol* (1985). 2008;105(3):923-32.
33. Richards JC, Lonac MC, Johnson TK, Schweder MM, Bell C. Epigallocatechin-3-gallate increases maximal oxygen uptake in adult humans. *Med Sci Sports Exerc*. 2010;42(4):739-44.
34. Cardoso GA, Salgado JM, Cesar MdC, Donado-Pestana CM. The effects of green tea consumption and resistance training on body composition and resting metabolic rate in overweight or obese women. *J Med Food*. 2013;16(2):120-7.
35. Gonçalves L, de Souza RR, Maifrino LBM, Caperuto ÉC, Carbone PO, Rodrigues B, et al. Resistance exercise and testosterone treatment alters the proportion of numerical density of capillaries of the left ventricle of aging Wistar rats. *Aging Male*. 2014;17(4):243-7.
36. Nucci RAB, Teodoro ACdS, Krause Neto W, Silva WdA, de Souza RR, Anaruma CA, et al. Effects of resistance training on liver structure and function of aged rats. *Aging Male*. 2018; 21(1):60-64.
37. Souza RR, de França E, Madureira D, Pontes CC, Santana JO, Caperuto EC. Resistance training improves aortic structure in Wistar rats. *Braz J Phys Ther*. 2017;21(4):244-50..
38. Gad SB, Zaghoul DM. Beneficial effects of green tea extract on liver and kidney functions, ultrastructure, lipid profile and hematological parameters in aged male rats. *Global Vet*. 2013;11(2):191-205.
39. Keele JA, Stayton MM. Immunohistochemistry in the heart: A protocol manual 2008 [cited 2016 Aug 12]. Available from: [http://www.uwo.edu/molecbio/faculty-and-staff/mark-stayton/\\_files/ihc-heart-protocols.pdf](http://www.uwo.edu/molecbio/faculty-and-staff/mark-stayton/_files/ihc-heart-protocols.pdf).
40. Akbari H, Maleki MJ, Ravasi AA, kordi MR, Dizagi A, Miri M, et al. The effect of an endurance training period with cellular Anti-aging purpose on telomerase enzyme activity in cardiac tissue and peripheral blood lymphocytes in male rats. *J Med Counc I.R. Iran*. 2014;31(4):389-96. (In Persian).

41. Okutucu B, Dınçer A, Habib Ö, Zihnioğlu F. Comparison of five methods for determination of total plasma protein concentration. *J Biochem Biophys Meth.* 2007;70(5):709-11.
42. Dimauro I, Scalabrin M, Fantini C, Grazioli E, Valls MRB, Mercatelli N, et al. Resistance training and redox homeostasis: Correlation with age-associated genomic changes. *Redox Biol.* 2016;10:34-44.
43. Cherkas LF, Hunkin JL, Kato BS, Richards JB, Gardner JP, Surdulescu GL, et al. The association between physical activity in leisure time and leukocyte telomere length. *Arch InternMed.* 2008;168(2):154-8.
44. Savela S, Saijonmaa O, Strandberg TE, Koistinen P, Strandberg AY, Tilvis RS, et al. Physical activity in midlife and telomere length measured in old age. *Exp Gerontol.* 2013;48(1):81-4.
45. Rice-Evans C. Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants in vitro for chemoprevention in humans. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;220(4):262-6.
46. Arsenis NC, You T, Ogawa EF, Tinsley GM, Zuo L. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget.* 2017; 8(27):45008-19.
47. Starr JM, Shiels PG, Harris SE, Pattie A, Pearce MS, Relton CL, et al. Oxidative stress, telomere length and biomarkers of physical aging in a cohort aged 79 years from the 1932 Scottish Mental Survey. *Mech Ageing Dev.* 2008;129(12):745-51.
48. Valls MRB, Dimauro I, Brunelli A, Tranchita E, Ciminelli E, Caserotti P, et al. Explosive type of moderate-resistance training induces functional, cardiovascular, and molecular adaptations in the elderly. *Age.* 2014;36(2):759-72.
49. Barari A, Bashiri J, Farzanegi P, Fayyaziniya V. The effect of endurance and circuit resistance training on serum superoxide dismutase and heat shock protein 70 levels in inactive college students. *J Iran Univ Med Sci.* 2015;22(134):9-17. (In Persian).
50. Ghiasi R, Mohammadi M, Helan JA, Jozani SRJ, Mohammadi S, Ghiasi A, et al. Influence of Two Various Durations of Resistance Exercise on Oxidative Stress in the Male Rat's Hearts. *J Cardiovasc Thorac Res.* 2015;7(4):149-53.
51. Huang C-Y, Lin Y-Y, Hsu C-C, Cheng S-M, Shyu W-C, Ting H, et al. Antiapoptotic effect of exercise training on ovariectomized rat hearts. *J Appl Physiol (1985).* 2016;121(2):457-65.
52. Soheily S, Yadegari Hemat Abadi E, Shakeri N. The effect of endurance and resistance training on interleukin-6 and tumor necrosis factor- in overweight young woman. *Journal of Sport Biosciences.* 2016;8(2):263-76. (In Persian).
53. Phillips MD, Flynn MG, McFarlin BK, Stewart LK, Timmerman KL. Resistance training at eight-repetition maximum reduces the inflammatory milieu in elderly women. *Med Sci Sports Exerc.* 2010;42(2):314-25.

**ارجاع‌دهی**

نوروزی کمره میرزاحسین، ذوالفقاری محمدرضا، قادری پاکدل فیروز، طلوعی آذر جواد. تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط و مصرف عصاره‌ چای سبز بر بیان کاسپاز-۳ و محتوای آنزیم تلومراز بافت قلبی رت‌های نر مسن. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۷؛ ۱۰(۳۹): ۲۶-۱۰۷. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2018.5146.1687

Norouzi Kamareh M. H, Zolfaghari M. R, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. Effect of 12 Weeks Moderate Intensity Resistance Training and Green Tea Extract on Cardiac Caspase-3 Expression and Telomerase Enzyme Content in Aged Male Rats. Fall 2018; 10(39): 107-26. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2018.5146.1687

## **Effect of 12 Weeks Moderate Intensity Resistance Training and Green Tea Extract on Cardiac Caspase-3 Expression and Telomerase Enzyme Content in Aged Male Rats**

**M. H. Norouzi Kamareh<sup>1</sup>, M. R. Zolfaghari<sup>2</sup>, F. Ghaderi Pakdel<sup>3</sup>, J. Tolouei Azar<sup>4</sup>**

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Urmia University
2. Assistant Professor of Exercise Physiology, Urmia University
3. Associate Professor of Physiology, Urmia University of Medical Sciences
4. Assistant Professor of Exercise Physiology, Urmia University \*

**Received: 2017/12/05**

**Accepted: 2018/06/10**

---

### **Abstract**

The prevalence, incidence, and morbidity of cardiac diseases increase with aging. Cardiomyocyte apoptosis contributes to the pathogenesis of heart failure. The aim of this study was to evaluate the effect of 12 weeks resistance training and green tea extract on cardiac caspase 3 expressions and telomerase enzyme content in aged male rats. In this study, 20 aged male rats were randomly divided into four groups: control, exercise, supplement and exercise plus supplement. Exercise groups performed resistance exercise for 12 weeks and five days per week; meantime, the supplementary groups consumed green tea extract. Immunohistochemistry method was used to measure the expression of caspase 3 and sandwich ELISA method was used to measure the telomerase content. Data was analyzed by ANOVA and Tukey's post hoc test. The results show that caspase 3 expressions in exercise (P=0.011), supplement (P=0.001) and exercise plus supplement (P=0.000) groups was significantly lower than control group. caspase 3 expressions in exercise plus supplement group significantly lower than exercise group (P=0.004) and supplement group (P=0.031). Telomerase content in exercise (P=0.043), supplement (P=0.015) and exercise plus supplement (P=0.005) groups was significantly higher than control group. According to the results of this of this study, the combination of resistance training and green tea extract can prevent cell aging in the cardiac tissue of elderly rats with decreasing expression of Caspase-3 and increased content of telomerase enzymes in the cardiac tissue.

**Keywords:** Aging, Cardiac Tissue, Resistance Training, Caspase-3, Telomerase Content, Green Tea

---

---

\*Corresponding Author

Email: j.toloueiazar@urmia.ac.ir