

مقاله پژوهشی

تاثیر دوازده هفته مصرف عصاره چای سبز بر بیان ژن **Bax** و **bcl-2** بافت قلب رت‌های مسن در پاسخ به فعالیت حاد وامانده‌ساز

احمد کاظمی^۱، ناصر بهپور^{۲*}، احمد همت‌فر^۱

۱- گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
*مسئول مکاتبات: n_behpoor@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1943959.1332

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۱

چکیده

بروز بیماری‌های قلبی در اثر پیری به صورت فزاینده‌ای افزایش می‌یابد. چای سبز یک آنتی‌اکسیدان است که می‌تواند از پیری سلولی جلوگیری کند. میتوکندری نقشی حیاتی در مسیر داخل سلولی آپوپتوز ایفا می‌کند. پروتئین‌های **Bax** و **bcl-2** تنظیم‌کننده‌های اصلی آپوپتوز وابسته به میتوکندری هستند. از اینرو هدف این پژوهش بررسی تاثیر ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز بر بیان ژن **Bax** و **bcl-2** بافت قلب رت‌های مسن در پاسخ به فعالیت حاد وامانده‌ساز بود. ۳۲ سر رت نر مسن به صورت تصادفی در ۲ گروه ۱۶ تایی شامل گروه گروه مکمل و گروه بدون مکمل قرار گرفتند. گروه مکمل ۱۲ هفته مکمل عصاره چای سبز دریافت کردند. در انتهای ۱۲ هفته هر کدام از این گروه‌ها خود به دو گروه استراحت و تمرین حاد وامانده‌ساز تقسیم شدند. گروه بدون مکمل همراه با استراحت را گروه کنترل، گروه بدون مکمل همراه با تمرین را گروه تمرین، گروه مکمل همراه با استراحت را گروه مکمل و آخرین گروه را مکمل همراه با تمرین نام‌گذاری شدند. بعد از ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز یک جلسه تمرین وامانده‌ساز تا حد خستگی بر روی نوارگردان انجام شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن **Bax** و **bcl-2** از روش **Real time PCR** استفاده شد. نتایج نشان داد که ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن **Bax** و نسبت بیان ژن **Bax** به بیان ژن **bcl-2** و همچنین افزایش معنی‌دار بیان ژن **bcl-2** و نسبت بیان ژن **Bax** به **bcl-2** و همچنین وامانده‌ساز شد. یک جلسه تمرین وامانده‌ساز موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن **Bax** و نسبت بیان ژن **Bax** به **bcl-2** و همچنین کاهش معنی‌دار بیان ژن **bcl-2** در بافت قلب شد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز می‌تواند سبب کاهش بیان ژن **Bax** و نسبت بیان ژن **Bax** به بیان ژن **bcl-2** و افزایش بیان ژن **bcl-2** در بافت قلب درحالت استراحت و پس از انجام فعالیت حاد وامانده‌ساز شود.

کلمات کلیدی: چای سبز، تمرین وامانده‌ساز، آپوپتوز، **Bax**، **bcl-2**

مقدمه

است که جمعیت سالمند جهان در سال ۲۰۳۰ به ۹۷۳ میلیون نفر و در سال ۲۰۵۰ به دو میلیارد نفر خواهد

در جهان امروز جمعیت سالمندی رو به افزایش است به گونه‌ای که سازمان بهداشت جهانی تخمین زده

روی نوارگردان، فعالیت آنزیم‌های گلوکوتاتیون پراکسیداز، گلوکوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز در بافت قلب رت‌ها کاهش می‌یابد (۱۲). Trofin و همکاران (۲۰۱۴) گزارش دادند که در رت‌ها پس پنج دقیقه دوییدن بر روی نوارگردان سطح اکسیدان‌های سرم مانند مالون دی آلدئید و پروتئین کربونیل‌ها افزایش یافته و سطح سوپراکسید دیسموتاز سرم کاهش یافت (۲۹). Olah و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که یک جلسه تمرین حاد وامانده ساز در رت‌ها باعث تخریب ساختار میوکارد، کاهش کسر تزریقی و اختلال در انقباض قلبی بطن چپ شد. همچنین نیترو اکسیداتیو استرس‌ها و نسبت Bax به Bcl-2 افزایش یافتند و رنگ آمیزی ساختار قلب نشان داد که سیگنالینگ آپوپتوز افزایش یافته است (۲۱). از اینرو در این پژوهش به منظور ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت قلب از یک جلسه فعالیت حاد وامانده ساز استفاده شد. مطالعات گزارش کرده‌اند که مکمل‌های آنتی اکسیدانی، استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش را مهار می‌کنند (۵، ۸). به عبارت دیگر، مصرف مکمل‌های آنتی اکسیدانی ممکن است استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش را مهار کند.

چای سبز یک نوشیدنی مفید است که به دلیل خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد تومورزایی و ضد حساسیت توجه بسیاری را جذب کرده است. اپی-گالوکتشین گالات (EGCG) بیشترین پلی فنول موجود در چای سبز است. مطالعات اخیر اثرات محافظتی چای سبز و EGCG را در بیماری‌های قلب و عروقی نشان داده‌اند (۲۵). Li و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که EGCG سبب از بین رفتن سلول‌های سرطانی می‌شود ولی تاثیری بر سلول‌های نرمال ندارد (۱۸). Sheng و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که EGCG آپوپتوز و استرس اکسیداتیو سلول‌های قلبی هنگام بار اضافی ناشی از هایپرتروفی را مهار می‌کند

رسید (۲۲). با افزایش سن، شیوع، بروز و عوارض بیماری‌های قلبی افزایش می‌یابد (۶). بروز بیماری‌های قلبی در اثر پیری به صورت فزاینده‌ای افزایش می‌یابد به طوری که نارسایی قلبی در افراد بالای ۸۵ سال چهار برابر بیشتر از افراد ۶۵-۷۵ ساله است (۱۹). پیری سلولی نتیجه تعادل بین آسیب و ترمیم است که منجر به از دست دادن عملکرد و عدم توانایی پاسخ مناسب به استرس خارجی می‌شود (۱۱). آپوپتوز واژه‌ای یونانی که اولین بار در سال ۱۹۷۲ توسط Kerr و همکارانش بکار گرفته شد، و به نوع جدیدی از مرگ سلولی که در کبد مشاهده شده بود دلالت می‌کرد و خصوصیتی داشت که آن را از سایر انواع مرگ سلولی متمایز می‌ساخت (۲۰). مسیر داخلی آپوپتوز که به میتوکندری وابسته است توسط پروتئین‌های خانواده BCL-2 کنترل می‌شود. پروتئین‌های خانواده BCL2 به دو دسته پرو آپوپتوز و آنتی آپوپتوز تقسیم می‌شوند (۱۵). Bax یک پروتئین پرو آپوپتوتیک است که با افزایش نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری، آبشار کاسپازها را فعال می‌کند (۹). Bcl-2 یک پروتئین ضد آپوپتوتیک است که با جدا کردن Bax از غشای خارجی میتوکندری، نفوذپذیری غشاء را کاهش می‌دهد (۷). پیری منجر به اختلال در سیستم اکسایشی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت قلب می‌شود. افزایش رادیکال‌های آزاد در اثر پیری در بافت قلب منجر به مرگ سلول‌های قلبی می‌شود (۱۲).

با وجود اثرات مفید فعالیت ورزشی منظم، تمرین حاد وامانده ساز منجر به اختلال در سیستم اکسایشی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت قلب می‌شود. افزایش رادیکال‌های آزاد در اثر تمرین ورزشی با شدت بالا در بافت قلب منجر به تخریب DNA و مرگ سلول‌های قلبی می‌شود (۱۲). Gul و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که در اثر انجام فعالیت حاد بر

(۲۶). به علاوه EGCG استرس اکسیداتیو ناشی از سلول‌های آپوپتوز را از طریق مهار تغییر تلومر وابسته به مسیر آپوپتوز سرکوب می‌کند (۲۷). با توجه با اثرات سودمند چای سبز بر مهار استرس اکسیداتیو، به نظر می‌رسد که مصرف چای سبز بتواند از پیری سلولی ناشی از افزایش سن و فعالیت حاد و امانده ساز در بافت قلب جلوگیری کند. از اینرو در این پژوهش تاثیر ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز بر بیان ژن Bax و bcl-2 بافت قلب رت‌های مسن در پاسخ به فعالیت حاد و امانده ساز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۲ سر رت نر ویستار ۴۸ هفته‌ای با وزن ۲۸۰ تا ۳۱۵ گرم نمونه آماری این تحقیق را تشکیل دادند. ابتدا رت‌ها را در ۲ گروه ۱۶ تایی شامل گروه مکمل و گروه بدون مکمل قرار دادیم. گروه مکمل ۱۲ هفته مکمل عصاره چای سبز دریافت کردند. در انتهای ۱۲ هفته هر کدام از این گروه‌ها خود به دو گروه استراحت و تمرین حاد و امانده ساز تقسیم شدند. بعد از ۱۲ هفته گروه‌های تمرین یک جلسه فعالیت حاد و امانده ساز انجام دادند. گروه بدون مکمل همراه با استراحت را گروه کنترل، گروه بدون مکمل همراه با تمرین را گروه تمرین، گروه مکمل همراه با استراحت را گروه مکمل و آخرین گروه را مکمل همراه با تمرین نام گذاری شدند. در آغاز هفته آخر پروتکل مصرف مکمل، همه گروه‌ها جهت آشنایی با نوارگردان و اجرای تمرین و امانده ساز به مدت ۵ روز روی نوارگردان فعالیت با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه را انجام دادند. این ۵ روز تمرین فقط جهت آشنایی رت‌ها با نوارگردان انجام شد و هیچگونه تاثیر قابل توجه تمرینی ندارد (۱۲). در انتهای هفته دوازدهم و پس از اتمام یک جلسه تمرین حاد و امانده ساز، رت‌ها بیهوش و سپس جراحی شده

و بافت بطن چپ قلب آن‌ها جمع آوری شد. در انتهای هفته دوازدهم، گروه‌های تمرینی یک جلسه تمرین حاد و امانده ساز روی نوارگردان انجام دادند. ابتدا ۵ دقیقه تمرین با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه برای گرم کردن انجام شد، سپس سرعت نوارگردان به صورت تدریجی افزایش یافت به گونه‌ای که در دقیقه سی‌ام به ۳۵ متر بر دقیقه رسید و تا زمان رسیدن به خستگی حیوان حفظ شد. در آخر تمرین هم ۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به عنوان سرد کردن در نظر گرفته شد. شیب نوارگردان در کل جلسه تمرینی صفر بود (۳۱). رت‌های گروه مکمل و گروه تمرین همراه با مکمل به مدت ۱۲ هفته ۵ روز در هفته عصاره چای سبز دریافت کردند. عصاره چای سبز به صورت کپسول ۴۰۰ میلی گرمی حاوی پودر عصاره چای سبز، ساخت شرکت NOW FOODS کشور امریکا بود که هر کپسول حاوی ۴۰ درصد پلی فنول بود. کپسول را باز کرده و سپس به میزان ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن پودر را در ۱ سی سی آب مقطر حل و به وسیله گاوآژ به رت‌ها داده شد (۱۱).

برای اندازه‌گیری بیان ژن Bax و bcl-2 بافت قلب از روش Real time PCR استفاده شد. به منظور لیز کردن بافت ابتدا مقداری از بافت بطن چپ قلب را برداشته (۳۰۰ میلی گرم) و با یک میلی لیتر محلول PBS به همراه ۱۰۰ میلی گرم گلس هموژنیزر در داخل میکروتیوپ قرار دادیم. سپس با استفاده از دستگاه Mikro-dismembrator به مدت ۲ دقیقه با دور ۳۰۰۰ تکان در دقیقه هموژنیزه کردیم و سپس آن را به مدت ۲ دقیقه در داخل ظرف یخ قرار دادیم. پس از آن محلول مورد نظر را در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ کردیم. سپس محلول بالایی را برداشته و مورد ارزیابی قرار دادیم. پرایمرها توسط شرکت سینا

Change محاسبه شده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

از آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها و رسم نمودار استفاده شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) و برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey's Test for Post-Hoc Analysis) استفاده شد برای بررسی تجانس واریانس از آزمون لون (Levene's Test) استفاده شد. سطح معناداری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار Spss 24 انجام شد. برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد.

ژن (سینا ژن، تهران، ایران) طراحی شد. توالی الیگونوکلئوتیدی ژن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. RNA کل توسط کیت استخراج RNA پارس توس (مشهد، ایران) طبق پروتکل سازنده کیت استخراج شد. برای تعیین غلظت RNA از اسپکتروفتومتر (Henan, Nanbei, چین) استفاده شد. DNA مکمل (cDNA) با استفاده از ۱۰۰۰ نانوگرم mRNA به دست آمد. کیت Easy cDNA Synthesis (پارس توس، مشهد، ایران)، برای سنتز cDNA استفاده شد و پروتکل سنتز طبق دستورالعمل سازنده کیت انجام شد. CT‌های به دست آمده از Real time PCR با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ آنالیز شدند و Fold

جدول ۱- توالی الیگونوکلئوتیدی ژن‌ها

ژن	پرایمر	طول محصول (جفت باز)	شماره و مکان ژن
bcl-2	F: GAGGATTGTGGCCTTCTTTG R: AGGTA CT CAGTCATCCACA	109	Chromosome 13, NC_051348.1 Gene ID: 24224
Bax	F: ATGGAGCTGCAGAGGATGA R: CCAGTTTGCTAGCAAAGTAG	142	Chromosome 1, NC_051336.1 Gene ID: 24887
GAPDH	F: CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTAT R: AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC	307	Chromosome 4, NC_051339.1 Gene ID: 24383

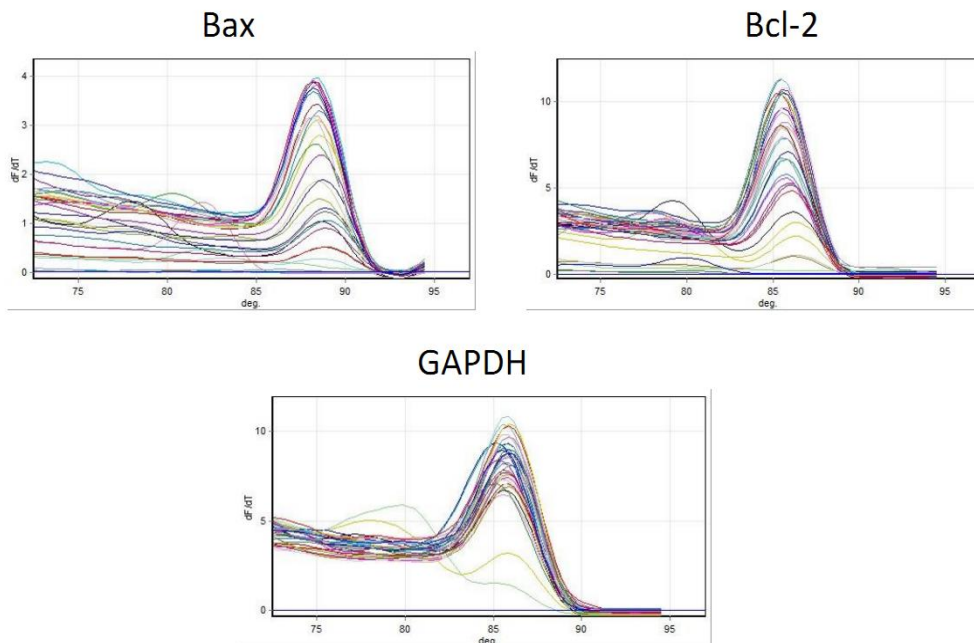
نتایج

مکمل نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری کمتر بود ($p = 0/0001$). اختلاف بین دو گروه تمرین و مکمل همراه با تمرین از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p = 0/0001$). نمودار ۲ بیان ژن bcl-2 در بافت قلب گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. نتایج آزمون ANOVA نشان داد که در بیان ژن bcl-2 بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p = 0/0001$ ، $F=72/716$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن bcl-2 در گروه مکمل نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری بیشتر بود ($p = 0/0001$). اختلاف بین دو گروه تمرین و مکمل همراه با تمرین از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p = 0/0001$). نمودار ۳ نسبت

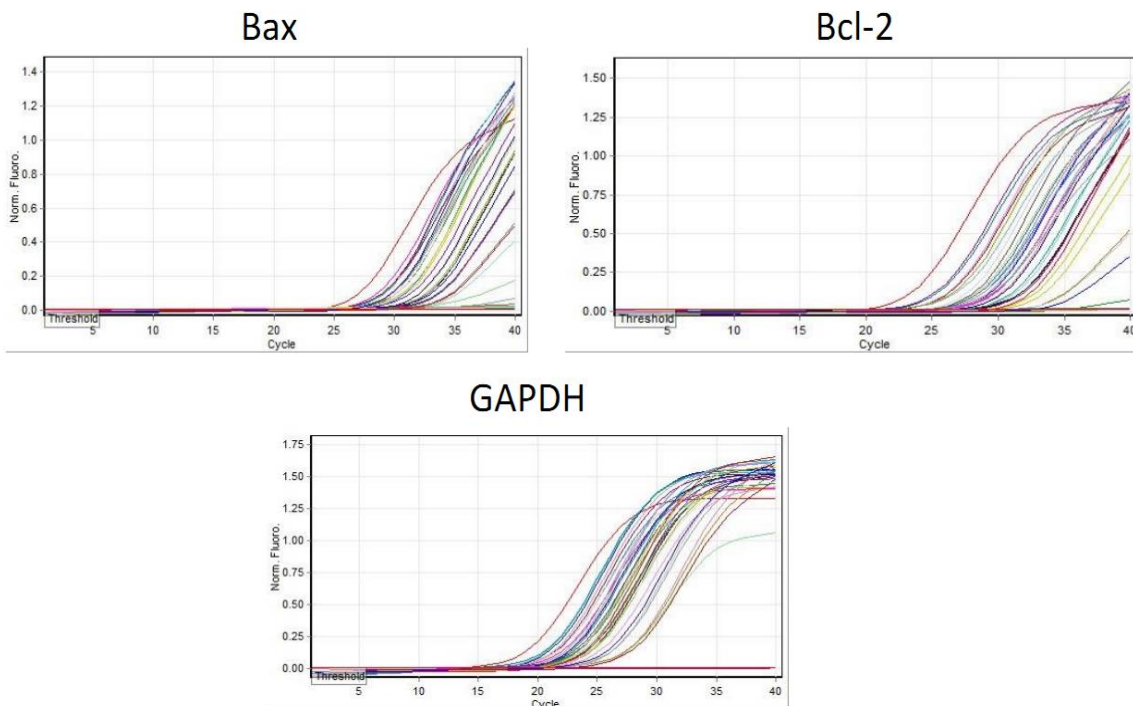
شکل ۱ نمودار ct بیان ژن‌ها در اثر آزمایش Real time PCR را نشان می‌دهد. شکل ۲ تکثیر ژن‌ها بر حسب دوره‌های تکثیر در آزمایش Real time PCR را نشان می‌دهد. نتایج آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف توزیع طبیعی داده‌ها را نشان داد (جدول ۲). همچنین آزمون لون تجانس واریانس داده‌ها را تأیید کرد (جدول ۳). نمودار ۱ میزان بیان ژن Bax در بافت قلب گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. نتایج آزمون ANOVA نشان داد که در بیان ژن Bax بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p = 0/0001$ ، $F=64/358$). برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد (جدول ۴). بیان ژن Bax در گروه

نشان داد که نسبت بیان ژن Bax به bcl-2 در گروه مکمل نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری کمتر بود ($p = ۰/۰۰۰۱$). اختلاف بین دو گروه تمرین و مکمل همراه با تمرین از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p = ۰/۰۰۰۱$).

بیان ژن Bax به bcl-2 در بافت قلب گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. نتایج آزمون ANOVA نشان داد که در نسبت بیان ژن Bax به bcl-2 بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p = ۰/۰۰۰۱$) ($F=۶۶/۹۸۴$). نتایج آزمون تعقیبی توکی (جدول ۴)



شکل ۱- نمودار CT بیان ژن‌ها



شکل ۲- تکثیر ژن‌ها بر حسب دوره‌های تکثیر در آزمایش Real time PCR

جدول ۲- نتایج آزمون کولموگروف-اسمیرنوف

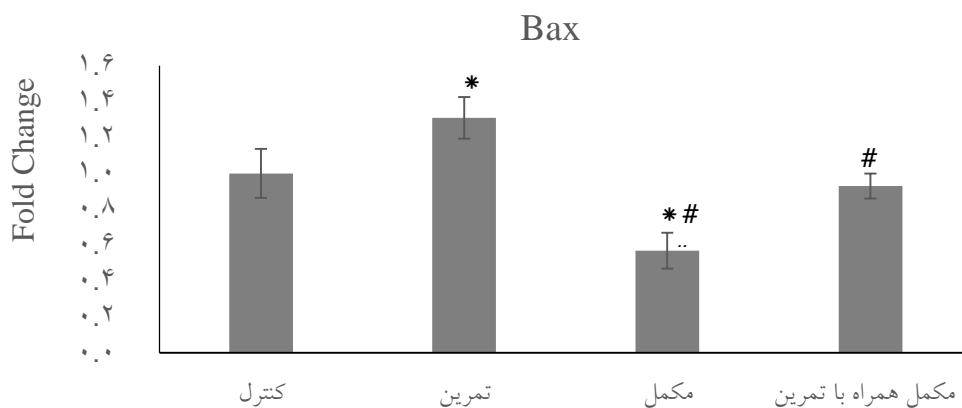
سطح معنی داری	df	Statistic	
۰/۲۰۰	۳۲	۰/۱۰۰	Bax
۰/۲۰۰	۳۲	۰/۱۱۳	bcl-2
۰/۰۶۹	۳۲	۰/۱۴۹	نسبت Bax به bcl-2

جدول ۳- نتایج آزمون لون بر اساس میانگین

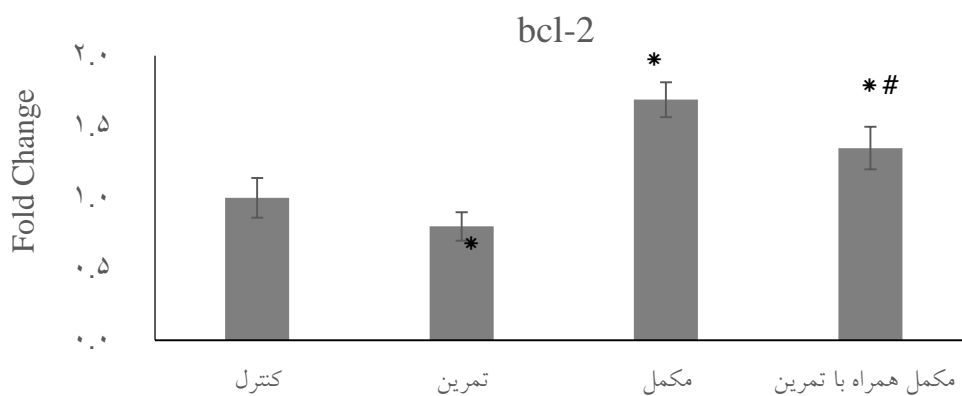
سطح معنی داری	Df2	Df1	Statistic	
۰/۳۸۵	۲۸	۳	۱/۰۵۲	Bax
۰/۳۳۸	۲۸	۳	۱/۱۷۳	bcl-2
۰/۶۷۶	۲۸	۳	۰/۵۱۴	نسبت Bax به bcl-2

جدول ۴- نتایج آزمون تعقیبی توکی

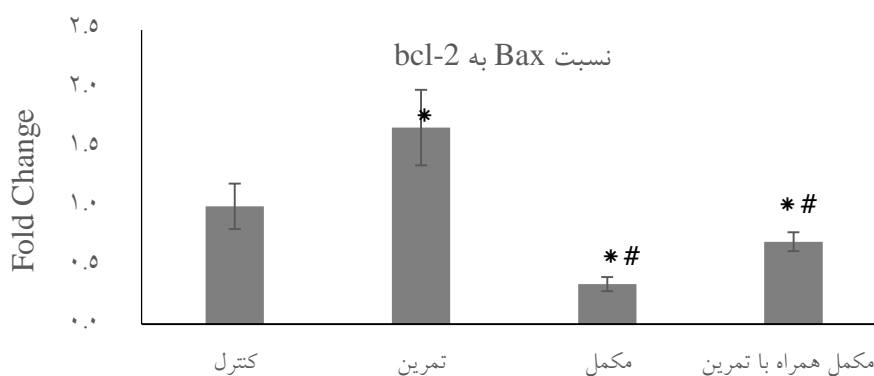
سطح معنی داری	تفاوت میانگین	گروه‌ها	متغیر
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۰/۴۳۶	کنترل-مکمل	Bax
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۰/۳۷۵	تمرین-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۰/۷۴۰	تمرین-مکمل	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	-۰/۳۰۳	کنترل-تمرین	
$p = ۰/۰۵۴۲$	۰/۰۷۲	کنترل-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۰/۳۶۴	مکمل-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	-۰/۶۸۵	کنترل-مکمل	Bcl-2
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	-۰/۵۵۲	تمرین-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	-۰/۸۹۴	تمرین-مکمل	
$p = ۰/۰۱۷$ **	۰/۲۰۹	کنترل-تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	-۰/۳۴۳	کنترل-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۰/۳۴۱	مکمل-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۰/۶۷۸	کنترل-مکمل	نسبت Bax به bcl-2
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۰/۹۷۴	تمرین-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	۱/۳۳۴	تمرین-مکمل	
$p = ۰/۰۰۰۱$ ***	-۰/۶۵۵	کنترل-تمرین	
$p = ۰/۰۱۵$ **	۰/۳۱۸	کنترل-مکمل همراه با تمرین	
$p = ۰/۰۰۵$ ***	-۰/۳۵۹	مکمل-مکمل همراه با تمرین	



نمودار ۱- بیان ژن Bax در بافت قلب گروه‌های مختلف. *تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین



نمودار ۲- بیان ژن bcl-2 در بافت قلب گروه‌های مختلف. *تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین



نمودار ۳- نسبت بیان ژن Bax به bcl-2 در بافت قلب گروه‌های مختلف. *تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین

بحث

MDA و محتوی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در دوندگان سرعت در پی دارد (۱۶). هزاوه و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز موجب کاهش مقدار پروتئین Bax و افزایش مقدار پروتئین bcl-2 شد (۱۴).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که یک جلسه تمرین وامانده ساز موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن Bax و نسبت بیان ژن Bax به بیان ژن bcl-2 و همچنین کاهش معنی‌دار بیان ژن bcl-2 در بافت قلب شد. کاظمی و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه خود نشان دادند که یک جلسه فعالیت حاد وامانده ساز موجب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC)، افزایش سطوح مالون دی‌آلدهید (MDA) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب شد (۱۷). اگرچه، توسعه استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش در طی انواع مختلف ورزش، از جمله ورزش مداوم با شدت کم (۳۰)، ورزش اینتروال با شدت بالا (۲۳،۳۰) و ورزش‌های سرعتی (۲۳)، نشان داده شده است با این حال، هنوز مشخص نیست که کدام نوع ورزش بیشترین پاسخ استرس اکسیداتیو را به همراه دارد. در واقع، چند مطالعه که به طور مستقیم اثرات تمرینات ورزشی با شدت بالا و کوتاه مدت و تمرینات مداوم با شدت کم را بر تعادل ردوکس مقایسه کرده‌اند، یافته‌های متفاوتی را به دست آورده‌اند (۴، ۲۳، ۳۰). وقتی ورزش کوتاه مدت حداکثر ۳۰ ثانیه با حداکثر تمرین مداوم با شدت کم مقایسه می‌شود، برخی از مارکرهای اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی بیشتر افزایش می‌یابد (۲۳). بنابراین، به نظر می‌رسد شدت ورزش محرک مهمی برای تنظیم نشانگرهای زیستی استرس اکسیداتیو پس از ورزش است. همچنین عابد و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرینات سرعتی با

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن Bax و کاهش نسبت بیان ژن Bax به بیان ژن bcl-2 و همچنین افزایش معنی‌دار بیان ژن bcl-2 بافت قلب در پاسخ به یک جلسه فعالیت حاد وامانده ساز شد. همچنین ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن Bax و نسبت بیان ژن Bax به بیان ژن bcl-2 و همچنین افزایش معنی‌دار بیان ژن bcl-2 در بافت قلب شد. کاظمی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز می‌تواند موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC)، کاهش سطوح مالون دی‌آلدهید (MDA) و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب رت‌های مسن شود (۱۷). فعالیت مطالعات فراوانی تاثیر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آپوپتوزی چای سبز را گزارش داده‌اند که با نتایج مطالعه حاضر همسو است. شنگ و همکاران (۲۰۱۰ و ۲۰۱۳) در دو مطالعه جداگانه تاثیر EGCG بر مسیر تلومریک آپوپتوز در بافت قلب رت‌ها را بررسی کردند و نشان دادند که EGCG موجب کاهش آپوپتوز، کاهش تخریب DNA، کاهش مقادیر P53 و P21 در بافت قلب شد (۲۵، ۲۷). نوروزی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که مصرف ۱۲ هفته عصاره چای سبز سبب کاهش بیان کاسپاز ۳ در بافت قلب رت‌ها نر شد (۲۰). هادی و همکاران (۲۰۱۷) تاثیر مصرف عصاره چای سبز بر سطوح مالون دی‌آلدهید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در مردان فوتبالیست را بررسی کردند و گزارش دادند که سطوح MDA در اثر مصرف عصاره چای سبز کاهش یافت (۱۳). Jowko و همکاران (۲۰۱۵) مشاهده کردند که مصرف ۴ هفته مکمل عصاره‌ی چای سبز، کاهش برخی از فاکتورهای استرس اکسیداتیو از جمله

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که ۱۲ هفته مصرف عصاره چای سبز می‌تواند با کاهش بیان ژن Bax و نسبت بیان ژن Bax به بیان ژن bcl-2 و افزایش بیان ژن bcl-2 در بافت قلب رت‌های مسن، از پیری سلولی و بیماری‌های قلبی مرتبط با افزایش سن جلوگیری کند.

منابع

1. Ammar A., Trabelsi K., Boukhris O., Glenn J.M., Bott N., Masmoudi L., Hakim A., Chtourou H., Driss T., Hoekelmann A., El Abed K. 2020. Effects of Aerobic-, Anaerobic- and Combined-Based Exercises on Plasma Oxidative Stress Biomarkers in Healthy Untrained Young Adults. *Int J Environmental Research and Public Health*, 17(7): 2601.
2. Arsenis N.C., You T., Ogawa E.F., Tinsley G.M., Zuo L. 2017. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget*, 8(27): 45008-45019.
3. Bhardwaj P., Khanna D. 2013. Green tea catechins: defensive role in cardiovascular disorders. *Chincal Journal of Natural Medicine*, 11(4):345-53.
4. Bloomer R.J., Goldfarb A.H., Wideman L., McKenzie M.J., Consitt L.A. 2005. Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *Journal of Strength Condition Research*, 19(2): 276-285.
5. Brady P.S., Brady L.J., Ullrey D.E. 1979. Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *The Journal of nutrition*, 109(6):1103-1109.
6. Chilton W., O'Brien B., Charchar F. 2017. Telomeres, Aging and Exercise: Guilty by Association? *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12):2573.

شدت بالا نسبت به تمرین مداوم با شدت پایین بیشتر موجب پاسخ استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۰). بلافاصله پس از یک جلسه تمرین با شدت بالا، سطح پراکسیداسیون لیپید و آزاد شدن رادیکال‌های آزاد از میتوکندری به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و باعث استرس اکسیداتیو می‌شود (۱). از طرف دیگر، افزایش رادیکال‌های آزاد، به ویژه H₂O₂، آپوپتوز را به دلیل استرس اکسیداتیو از طریق سیگنالینگ P53 و همچنین افزایش Bax و کاهش سطح Bcl-2 افزایش می‌دهد (۳۲). بنابراین، نتایج مطالعه حاضر را می‌توان ناشی از افزایش سطح رادیکال‌های آزاد به دلیل فعالیت حاد و امانده ساز دانست. تولید بیش از حد گونه فعال اکسیژن می‌تواند باعث ایجاد استرس در سلول، بافت یا اندام و همچنین منجر به آسیب DNA و آپوپتوز یا پیری شود (۲). Starr و همکاران (۲۰۰۸) چندین ژن استرس اکسیداتیو که با بیولوژی پیری در ارتباط هستند را معرفی کردند. استرس اکسیداتیو پایدار منجر به آسیب DNA و کوتاهی طول تلومر می‌شود (۲۸). Rice-Evans (۱۹۹۸) نشان داد که ظرفیت آنتی اکسیدانی EGCG از ویتامین C و ویتامین E بیشتر است (۲۴). EGCG که بیشترین کاتچین موجود در چای سبز در سیستم بیولوژیکی یک آنتی اکسیدان است و خیلی سریع از روده کوچک جذب خون می‌شود. پلی فنول‌های موجود در چای سبز می‌تواند رادیکال‌های آزاد را خنثی و کاهش دهد و حتی ممکن است از برخی از اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد جلوگیری کند (۱۱). کاتچین‌ها با القای آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، مهار آنزیم‌های پرواکسیدان و مهار رادیکال‌های آزاد، اثر آنتی اکسیدانی خود را می‌گذارند (۳). بنابراین، علت نتایج مطالعه حاضر در اثر مصرف ۱۲ هفته عصاره چای سبز می‌تواند ناشی از خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز باشد.

- Green Tea Extract Supplementation on Bax and Bcl-2 in Aged Male Rat's Heart Tissue by Immunohistochemistry. *Community Health Journal*, 14(3): 55-64 [in persian].
15. Iyer S., Anwari K., Alsop A.E., Yuen W.S., Huang D.C., Carroll J. 2016. Identification of an activation site in Bax and mitochondrial Bax triggered by antibodies. *Nature Communications*, 7(1): 1-10.
16. Jówko E., Długolecka B., Makaruk B., Cieśliński I. 2015. The effect of green tea extract supplementation on exercise-induced oxidative stress parameters in male sprinters. *European Journal of Nutrition*, 54(5): 783-791.
17. Kazemi A., Behpour N., Hematfar A. 2020. Effect of 12 weeks of green tea extract consumption on total antioxidant capacity (TAC), malondialdehyde (MDA) levels and superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activity of old rats' heart tissue in response to a bout acute exhaustive exercise. *Yafteh*, 22(2): 177-187 [in persian].
18. Li W.G., Li Q.H., Tan Z. 2005. Epigallocatechin gallate induces telomere fragmentation in HeLa and 293 but not in MRC-5 cells. *Life Science*, 76(15): 1735-1746.
19. Norouzi Kamareh M.H., Zolfaghari M.R., Ghaderi Pakdel F., Tolouei Azar J. 2018. The effect of taking green tea extract for 12 weeks on telomerase enzyme content in heart tissue of old rats in response to acute exhaustive exercise. *Studies in Medical Sciences*, 29(2): 103-109 [in persian].
20. Norouzi Kamareh M.H., Zolfaghari M.R., Ghaderi Pakdel F., Tolouei Azar J. 2018. 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. *Sport Physiology*, 10(39): 107-126 [in persian].
7. Chong S.J.F., Iskandar K., Lai J.X.H., Qu J., Raman D., Valentin R. 2020. Serine-70 phosphorylated Bcl-2 prevents oxidative stress-induced DNA damage by modulating the mitochondrial redox metabolism. *Nucleic Acids Research*, 48(22): 12727-12745.
8. Dillard C., Litov R., Savin W., Dumelin E., Tappel A.L. 1978. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *Journal of Applied Physiology*, 45(6):927-32.
9. Edlich F. 2018. BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 500(1): 26-34.
10. El Abed K., Ammar A., Boukhris O., Trabelsi K., Masmoudi L., Bailey S.J. 2019. Independent and combined effects of all-out sprint and low-intensity continuous exercise on plasma oxidative stress biomarkers in trained judokas. *Frontiers in Physiology*, 10: 842.
11. Gad SB, Zaghloul DM. 2013. Beneficial effects of green tea extract on liver and kidney functions, ultrastructure, lipid profile and hematological parameters in aged male rats. *Global Veterinary*, 11(2): 191-205.
12. Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, et al. 2006. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 143(2): 239-245.
13. Hadi A, Pourmasoumi M, Kafeshani M, Karimian J, Maracy MR, Entezari MH. 2017. The Effect of Green Tea and Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) Supplementation on Oxidative Stress and Muscle Damage in Athletes. *Journal of Dietary Supplements*, 14(3): 346-357.
14. Hezave MR, Behpour N, Hematfar A. 2020. The Effect of Aerobic Exercise with

- component of polyphenols in green tea, inhibits telomere attrition mediated cardiomyocyte apoptosis in cardiac hypertrophy. *International Journal of Cardiology*, 162(3):199-209.
28. Starr J.M., Shiels P.G., Harris S.E., Pattie A., Pearce M.S., Relton C.L. 2008. Oxidative stress, telomere length and biomarkers of physical aging in a cohort aged 79 years from the 1932 Scottish Mental Survey. *Mechanisms of Ageing and Development*, 129(12): 745-751.
29. Trofin F.P., Ciobica A., Cojocaru D., Chirazi M., Honceriu C., Trofin L. 2014. Increased oxidative stress status in rat serum after five minutes treadmill exercise. *Open Medicine*, 9(5): 722-728.
30. Wadley A.J., Chen Y.W., Lip G.Y., Fisher J.P., Aldred S. 2016. Low volume–high intensity interval exercise elicits antioxidant and anti-inflammatory effects in humans. *Journal of Sports Sciences*, 34(1): 1-9.
31. Wang K., Xu B.C., Duan H.Y., Zhang H., Hu F.S. 2015. Late cardioprotection of exercise preconditioning against exhaustive exercise-induced myocardial injury by up-regulation of connexin 43 expression in rat hearts. *Asian Pacific Journal of Tropical medicine*, 8(8): 658-663.
32. Yang H., Xie Y., Yang D., Ren D. 2017. Oxidative stress-induced apoptosis in granulosa cells involves JNK, p53 and Puma. *Oncotarget*, 8(15): 25310.
21. Oláh A., Németh B.T., Mátyás C., Horváth E.M., Hidi L., Birtalan E. 2015. Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model. *International Journal of Cardiology*, 182: 258-266.
22. Paltasingh T., Tyagi R. 2012. Demographic transition and population ageing: building an inclusive culture. *Social Change*, 42(3): 391-409.
23. Parker L., Trewin A., Levinger I., Shaw C.S., Stepto N.K. 2018. Exercise-intensity dependent alterations in plasma redox status do not reflect skeletal muscle redox-sensitive protein signaling. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 21(4): 416-421.
24. Rice-Evans C. 1999. Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants in vitro for chemoprevention in humans. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine*, 220(4): 262-266.
25. Sheng R., Gu Z.L., Xie M.L., Zhou W.X., Guo C.Y. 2010. Epigallocatechin gallate protects H9c2 cardiomyoblasts against hydrogen dioxides- induced apoptosis and telomere attrition. *European Journal of Pharmacology*, 641(2-3): 199-206.
26. Sheng R., Gu Z.L., Xie M.L., Zhou W.X., Guo C.Y. 2009. EGCG inhibits proliferation of cardiac fibroblasts in rats with cardiac hypertrophy. *Planta Medica*, 75(2): 113-120.
27. Sheng R., Gu Z.L., Xie M.L. 2013. Epigallocatechin gallate, the major

The Effect of 12 Weeks of Green Tea Extract Consumption on Expression of Bax and bcl-2 Genes of Old 'Rats' Heart Tissue in Response to Acute Exhaustive Exercise

Ahmad Kazemi¹, Naser Behpoor^{1,2*}, Ahmad Hematfar¹

1- Department of Physical Education, Islamic Azad University, Boroujerd Branch, Boroujerd, Iran

2- Department of Sport Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

Abstract

The incidence of heart disease increases with age. Green tea is an antioxidant that can prevent cellular senescence. Mitochondria play a vital role in the intracellular pathway of apoptosis. Bax and bcl-2 proteins are the main regulators of mitochondrial apoptosis. Thus, the present study is aimed at investigating the effect of 12 weeks of green tea extract consumption on expression Bax and bcl-2 genes of old rats' heart tissue in response to acute exhaustive exercise. Thirty-two male rats were randomly assigned to two groups of supplement and non-supplement, each consisting of 16 rats. The supplement group received green tea extract for 12 weeks. At the end of the 12 weeks, each of these groups was further divided into two groups of rest and acute exhaustive exercise. The non-supplement with the rest group was called the control group. The non-supplement with exercise group was called exercise group, the supplement group with rest was called the supplement group and finally, the last group was entitled to supplement with exercise. After 12 weeks of taking green tea extract, one session of the acute exhaustive exercise was held on the treadmill. The real-time PCR method was used to measure the expression of Bax and bcl-2 genes. The results showed that 12 weeks of green tea extract consumption significantly reduced Bax gene expression and Bax to bcl-2 gene expression ratio and significantly increased cardiac tissue bcl-2 gene expression in response to acute exhaustive exercise. About acute exhaustive exercise session, it significantly increased Bax gene expression and Bax to bcl-2 gene expression ratio as well as significantly decreasing bcl-2 gene expression in heart tissue. The study concludes that 12 weeks of green tea extract can reduce Bax gene expression and Bax to bcl-2 gene expression ratio and significantly increase cardiac tissue bcl-2 gene expression at rest and after acute exhaustive exercise

Keywords: Green Tea, Exhaustive Exercise, Apoptosis, Bax, Bcl-2