

## آثار تمرین استقامتی و مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرایی در معرض بولدنون

مریم اکبری<sup>۱\*</sup>، لیدا مرادی<sup>۲</sup>، رستم علی‌زاده<sup>۳</sup>، آسیه عباسی دلویی<sup>۴</sup>

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.
۲. استادیار، دکترای فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت‌بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.
۳. استادیار، دکترای فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۴. استادیار، دکترای فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت‌بدنی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۱۱

### چکیده

**مقدمه:** هدف این تحقیق، بررسی آثار تمرین استقامتی و مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرایی در معرض بولدنون بود.

**مواد و روش‌ها:** نمونه‌های این مطالعه تجربی شامل ۴۲ سر موش صحرایی نر ویستار با سن ۸ تا ۱۲ هفته و میانگین وزن  $195 \pm 7/94$  گرم بود که به‌طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. برنامه تمرین استقامتی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا شد. گالیک‌اسید به‌صورت خوراکی به مقدار ۵ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن به مدت هشت هفته (۷ روز در هفته) به موش‌ها داده شد. بولدنون یک‌بار در هفته، در یک روز مقرر و در عضله خلف رانی موش‌ها به‌صورت عمیق تزریق شد. پس از بی‌هوشی، نمونه‌ها کالبدشکافی شدند و بافت قلب آن‌ها برداشته شد. داده‌ها به‌روش تی همبسته، تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری  $P < 5\%$  تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** بین میانگین انکسین-۵ و کاسپاز-۳ بافت قلب در گروه‌های مختلف، تفاوت وجود داشت. میانگین مقادیر بیان ژن انکسین-۵ در گروه بولدنون ( $1/27 \pm 0/27$ ) بود که نسبت به گروه‌های اسیدگالیک - بولدنون ( $0/40 \pm 0/21$ )، تمرین ( $0/38 \pm 0/07$ )، تمرین - بولدنون ( $0/766 \pm 0/24$ ) و تمرین - اسیدگالیک - بولدنون ( $0/71 \pm 0/27$ ) افزایش معنی‌دار یافت. میانگین مقادیر بیان ژن کاسپاز-۳ در گروه بولدنون ( $2/14 \pm 0/16$ ) بود که نسبت به گروه‌های اسیدگالیک - بولدنون ( $0/92 \pm 0/77$ )، تمرین ( $0/59 \pm 0/35$ )، تمرین - بولدنون ( $1/19 \pm 0/42$ ) و تمرین - اسیدگالیک - بولدنون ( $0/94 \pm 0/60$ ) افزایش معنی‌دار یافت.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد بولدنون موجب آپوپتوز بافت قلبی می‌شود و تمرین استقامتی و اسیدگالیک ممکن است آپوپتوز بافت قلبی را کاهش دهند.

**کلیدواژه‌ها:** بولدنون؛ اسیدگالیک؛ تمرین استقامتی؛ بافت قلب؛ آپوپتوز.

\*نویسنده مسئول: E.mail: akbarimaryam370@gmail.com

## مقدمه

میوسیت‌های قلب مرتبط است (۱۴-۱۲). در همین راستا، حبیبی و همکاران گزارش کردند ۸ هفته شنا موجب کاهش آپوتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی شد (۱۵). در تحقیق دستار و همکاران، چون سطح آپوتوز متعاقب تمرینات مقاومتی (۴ هفته، ۵ روز در هفته، ۱۲ بار تکرار) در موش‌های صحرایی تغییر نکرد، آسیبی به قلب نرسید (۱۶). در مقابل، کواک و همکاران گزارش کردند چون سطح آپوتوز در بطن چپ افزایش می‌یابد تمرین (۱۲ هفته، ۵ روز در هفته، ۱۵ متر در دقیقه، با شدت  $VO_{2max}$  ۷۵٪) ممکن است افراد را مستعد آسیب میوکارد کند (۱۷).

شواهد نشان می‌دهد مصرف برخی از داروهای گیاهی در کاهش آپوتوز نقش دارد (۱۸). اسیدگالیک یا تری هیدروکسی بنزوئیک اسید یک اسید فنولی است که در گیاهان مختلف از جمله بلوط، چای، سماق، دانه انگور و سیب وجود دارد. اسیدگالیک با کاهش استرس اکسیداتیو از آسیب‌های سلولی جلوگیری می‌کند. خواص آنتی‌اکسیدانی آن از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند، علاوه بر آن، با فعال کردن مسیرهای سیگنال‌دهی بر شاخص‌های پیش‌آپتوزی و آپتوزی اثر می‌گذارد (۱۸ و ۱۹). باین‌حال، تأثیر اسیدگالیک بر شاخص‌های آپتوزی بافت قلب به دنبال استفاده از استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک مشخص نشده است.

ارتباط بین آپوتوز با دوزهای بالای استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک و تمرینات ورزشی به‌طور تجربی در مدل‌های حیوانی ارزیابی شده است (۲۰). تحقیقات نشان می‌دهد تجویز استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک با دوز بالا در رابطه با ورزش شدید منجر به هیپرتروفی قلب، افزایش سطح سایتوکاین‌های التهابی و تحریک معنی‌دار دستگاه عصبی سمپاتیک می‌شود (۲۱)؛ بنابراین، ترکیبی از این عوامل ممکن است سبب آسیب میوکارد در افراد شود. از سوی دیگر، به‌طور ضعیفی، سازگاری عضله قلبی به قرار گرفتن در معرض دوز بالای استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک و استفاده از مکمل‌های گیاهی و ارتباط آن با فعالیت‌های بدنی درک شده است.

استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک، مشتقات مصنوعی مربوط به هورمون جنسی مردانه (تستوسترون) هستند که نقش مهمی در رشد بدن ایفا می‌کنند (۱). فعالیت‌های بیولوژیکی آن‌ها شامل اثر آنابولیک و افزایش رشد عضلانی، اثر رفتاری، ایجاد پرخاشگری و اثر هماتوپوئیک است. این کار با افزایش تولید پروتئین عضلانی باعث افزایش دوام و استقامت ورزشکاران می‌شود (۲). بولدنون یکی از استروئیدهای اندروژنی است که موج افزایش اندازه عضلات از طریق تحریک تولید پروتئین و کاهش تخریب آن می‌شود (۳). گزارش شده سوءاستفاده از استروئیدهای اندروژنی می‌تواند منجر به آپوتوز بیش‌ازحد بافت قلب شود (۳). آپوتوز نوعی مرگ سلولی است که موجب از بین رفتن سلول‌های غیرعملکردی، غیرطبیعی و یا آسیب‌دیده و سلول‌های مضر می‌شود. باین‌حال، هنگامی که بیش‌ازحد باشد (به‌عنوان مثال در بیماری‌های پاتولوژیک و استفاده از تستوسترون و مشتقات آن)، می‌تواند تغییرات غیرطبیعی در ساختار و عملکرد قلب ایجاد کند (۴). نتایج مطالعات نشان می‌دهد کاسپاز-۳ و انکسین-۵، به‌عنوان عوامل پیش‌آپتوتیک، در کاهش ناپایدار عملکرد قلب و آسیب میوفیبریل‌ها نقش مؤثری دارند (۵). فعال‌سازی کاسپاز-۳ طی آپوتوز با بیان فسفاتیدیل‌سرین طی آپوتوز در سلول‌ها مرتبط است (۶). انکسین-۵ نیز یک پروتئین سیتوزولی است که در بسیاری از اعمال فیزیولوژیکی از جمله تثبیت غشای فسفولیپید، تنظیم انعقاد خون و آپوتوز سلول یا مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده نقش دارد (۷-۹). فعالیت ورزشی یکی از روش‌های مهم برای پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی است (۱۰). ورزش و تمرین با توجه به نوع و شدت آن می‌تواند موجب تأثیر مثبت بر فیزیولوژی و مورفولوژی بافت قلب از جمله قدرت انقباض میوکارد، افزایش اندازه حفره بطن چپ، ضخامت دیواره و افزایش توده قلب شود که به‌عنوان «قلب ورزشکار» شناخته می‌شود (۱۱). مطالعات نشان می‌دهد فعالیت ورزشی با تعدیل مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده (آپوتوز)

صحرائی ساخت کارخانهٔ خوراک گرگان بود. جهت تزریق بولدنون از سرنگ انسولین مدرج استفاده شد؛ بدین صورت که یک بار در هفته، رأس ساعت ۱۱ صبح و در عضلهٔ خلف رانی به صورت عمیق به حیوان تزریق شد. گروه کنترل نیز محلول فیزیولوژیک نرمال سالین یا محلول سدیم کلراید ۹٪ را دریافت کردند.

پروتکل تمرین استقامتی:

گروه استقامتی به مدت ۸ هفته (۵ روز در هفته) روی تردمیل جوندگان در آزمایشگاه حیوانات دانشکدهٔ فیزیولوژی شاهرود تمرین کردند. برنامه تمرین شامل ۱۰ روز آشناسازی حیوان با محیط و دستگاه تردمیل بود که به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر در دقیقه و شیب صفر درصد انجام شد. به صورت هفتگی به مدت و سرعت تمرین اضافه شد تا در هفتهٔ چهارم به زمان ۵۰ دقیقه و سرعت ۲۴ متر در دقیقه رسید. با احتساب ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین از هفتهٔ هشتم به بعد ۶۳ دقیقه شد. به منظور گرم کردن، در هر جلسه تمرین ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع و به آرامی به سرعت دستگاه اضافه می‌شد؛ به این صورت که هر ۲ دقیقه، ۳ متر در دقیقه به سرعت دستگاه اضافه می‌شد. از هفتهٔ چهارم به بعد، در دقیقهٔ ۱۰ سرعت دستگاه به ۲۴ متر در دقیقه و در هفتهٔ آخر در دقیقهٔ ۱۰، به ۳۰ متر در دقیقه رسید. مدت ۳ دقیقه نیز به منظور سرد کردن، سرعت دستگاه به آرامی کاهش یافت (۲۲). مطابق جدول شماره ۱ شدت و مدت تمرین افزایش یافت. در این مرحله برای رعایت اخلاق، برای وادار کردن حیوان به دویدن به جای شوک الکتریکی از میلهٔ پلاستیکی استفاده شد.

مکمل‌دهی گالیک‌اسید:

گروه‌های مصرف‌کنندهٔ گالیک‌اسید مقدار ۵۰ میلی‌گرم به ازای ۱ کیلوگرم (۵ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم از وزن موش صحرائی) مادهٔ صنعتی گالیک‌اسید با نام تجاری سیگمای آمریکا را به مدت هشت هفته (۷ روز در هفته) از طریق گاوژ دریافت کردند (۲۳).

با توجه به مصرف گستردهٔ استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک از سوی ورزشکاران و آثار جانبی آن روی آپوپتوز بافت قلب و به دلیل تجویز وسیع و بدون نظارت این داروها به ورزشکاران و جوانان توسط افراد بی‌صلاحیت، این تحقیق با هدف معرفی بهتر آثار این داروها به ورزشکاران انجام شد. همچنین اطلاعات کمی در مورد آثار استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک بر پاسخ ساختار بافت قلب طی تمرین و استفاده از مکمل‌های گیاهی طبیعی وجود دارد؛ بنابراین تحقیق در این زمینه ضروری است. بنابراین تحقیق حاضر برای بررسی آپوپتوز بافت قلبی در پاسخ به اسیدگالیک طی یک دوره تمرین استقامتی در موش‌های صحرائی مسموم‌شده با بولدنون انجام شد.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است و جامعهٔ آماری آن موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار پژوهشکدهٔ علمی - کاربردی دامغان بود که از میان آن‌ها تعداد ۴۲ سر موش با سن ۸ تا ۱۲ هفته و وزن اولیهٔ  $195 \pm 7/94$  گرم به عنوان آزمودنی انتخاب شد. روش نمونه‌گیری، انتخاب هدف‌دار با توجه به شرایط وزنی و سنی آزمودنی‌ها بود. نمونه‌ها به صورت تصادفی در ۶ گروه هفت‌تایی «کنترل، بولدنون (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن)، اسیدگالیک - بولدنون، تمرین استقامتی، تمرین استقامتی - بولدنون و تمرین استقامتی - اسیدگالیک - بولدنون» قرار گرفتند. در این مطالعه از جدول کرجسی و مورگان برای تعیین حجم نمونه بر اساس جامعهٔ آماری استفاده شد. گروه‌ها در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس PVC با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، جا داده شدند. دمای اتاق  $22 \pm 1/4$  درجهٔ سانتی - گراد با رطوبتی معادل ۶۵ تا ۷۵٪ بود. نمونه‌ها طبق چرخهٔ ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگهداری شدند. آب و غذا به صورت آزاد در دسترس آن‌ها بود. آب مصرفی آن‌ها، آب تصفیه‌شدهٔ شهری بود که در ظرف آبخوری از جنس PVC هر روز صبح در دسترس آن‌ها قرار می‌گرفت و غذای آن‌ها، غذای فشرده و آمادهٔ مخصوص موش

## یافته‌ها

در جدول شماره ۳ میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه آنکسین و کاسپاز-۳ بافت قلبی در گروه‌های مختلف نشان داد برای آنکسین میزان  $F$  جدول ۴ با درجه آزادی ۵ و ۳۰ برابر با ۱۲/۲۱ و مقدار  $P=0/0001$  است. از آنجا که مقدار  $P$  کمتر از ۵٪ است بین ۶ گروه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد. علاوه بر این مقادیر کاسپاز-۳ بافت قلبی - همان‌طور که مشاهده می‌شود - میزان  $F$  جدول ۴ با درجه آزادی ۵ و ۳۰ برابر با ۷/۴۷ و مقدار  $P=0/0001$  است. از آنجا که مقدار  $P$  کمتر از ۵٪ است بین ۶ گروه تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول شماره ۴). میانگین مقادیر بیان ژن آنکسین-۵ در گروه بولدنون ( $0/27 \pm 1/27$ ) نسبت به گروه‌های اسیدگالیک + بولدنون ( $0/21 \pm 0/40$ )، تمرین ( $7\% \pm 0/38$ )، تمرین + بولدنون ( $0/24 \pm 0/766$ ) و تمرین + اسیدگالیک + بولدنون ( $0/27 \pm 0/71$ ) افزایش معنی‌دار یافت (جدول شماره ۳). نتایج نشان داد میانگین مقادیر بیان ژن کاسپاز-۳ در گروه بولدنون ( $0/16 \pm 2/14$ ) نسبت به گروه‌های اسیدگالیک + بولدنون ( $0/77 \pm 0/92$ )، تمرین ( $0/35 \pm 0/59$ )، تمرین + بولدنون ( $0/42 \pm 1/19$ ) و تمرین + اسیدگالیک + بولدنون ( $0/60 \pm 0/94$ ) افزایش معنی‌دار یافت (جدول شماره ۳). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در جدول‌های شماره ۵ و ۶ نشان داده شده است.

## بحث

در تحقیق حاضر تأثیر تمرین استقامتی و مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرایی در معرض بولدنون بررسی شد. نتایج نشان داد مکمل بولدنون موجب آپوپتوز بافت عضله قلبی با افزایش بیان ژن آنکسین-۵ و کاسپاز-۳ شد. مطالعات قبلی نشان داد دوزهای بالای استروئیدهای آندروژنی آنابولیک، موجب آپوپتوز عضله قلبی می‌شود (۲۰، ۲۴ و ۲۵). در تحقیق حاضر نیز آپوپتوز بافت عضله قلبی در گروه‌های مصرف‌کننده بولدنون مشاهده شد. مکانیسم‌های عمل

مراحل نمونه‌گیری بافت و اندازه‌گیری تغییرات آپوپتوزی در بافت قلب:

نمونه‌ها در پایان مداخله پس از ۱۲ ساعت ناشتایی وزن شدند. سپس با استفاده از محفظه شیشه‌ای دردار (دسیکاتور) حاوی پنبه آغشته به کلروفرم، محصول شرکت مرک آلمان، بی‌هوش شدند. با گذشت ۴۰ تا ۵۰ ثانیه آزمودنی‌ها در بی‌هوشی مناسب قرار گرفتند. پس از ثابت کردن آن‌ها روی تخته جراحی جوندگان، کالبدشکافی شدند و بلافاصله بافت قلب آن‌ها برداشته شد. نمونه‌ها ابتدا وزن‌کشی شدند و پس از جداسازی در فرمالین ۱۰٪ ثابت، جهت اندازه‌گیری تغییرات آپوپتوزی آماده شدند. در این تحقیق، اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات رعایت شد. همه آزمایش‌ها بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد و در کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی (شماره ۳/۱۹۷۵۳) تأیید شد. بیان ژن‌های فاکتورهای موردنظر از بافت قلب با تکنیک  $Real\ time - PCR$  - سنجیده و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن با فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  تجزیه و تحلیل شد. واکنش  $PCR$  با استفاده از  $PCR\ master\ mix$  (Applied Biosystems) و  $SYBR\ Green$  (Applied Biosystems) در دستگاه  $ABI\ Step\ One$  (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems, Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده اجرا شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر در جدول شماره ۲ درج شده است.

جهت بررسی نرمال بودن متغیرها از آزمون شاپیرو - ویلک استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. داده‌های آماری با نرم‌افزار  $SPSS$  نسخه ۲۲ و سطح معنی‌داری  $P < 5\%$  تجزیه و تحلیل شد.

ضدآپوپتوزی میوکارد در مقایسه با گروه کنترل شد (۳۰). با توجه به اینکه در پژوهش حاضر از برنامه هشت‌هفته‌ای (۵ روز در هفته) استفاده شد احتمال دارد سازگاری‌های ناشی از تمرین سبب فعال‌سازی مسیرهای ضدآپوپتوزی شده باشد. لذا این مسیرها می‌تواند زمینه‌ساز تنظیم کلسیم و در نتیجه تعدیل بیان ژن انکسین در تحقیق حاضر باشد؛ به طوری که تجمع این پروتئین به شدت در حضور منیزیم، باریم یا استرانسیم انجام نمی‌گیرد، اما توسط کلسیم فعال می‌شود (۳۱). اگرچه عملکرد انکسین A5 قلبی ناشناخته است، نشان داده شده است بنزودیازپین مشتق از K201 که فعالیت کانال‌های  $Ca^{2+}$  انکسین A5 را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند، از قلب در برابر آثار سمی  $Ca^{2+}$  مرتبط با آسیب ایسکمی - خون‌رسانی مجدد محافظت می‌کند (۳۲). تمرین می‌تواند با تنظیم بیان انکسین و کاسپاز-۳ - همان‌طور که در مطالعه حاضر مشخص شد - به بهبود شرایط قلب و پیشگیری از آسیب آن کمک کند. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد هشت هفته تمرین هوازی (۵ روز در هفته) موجب کاهش معنادار در بیان ژن کاسپاز-۳ بافت قلب شد. در تحقیقات قبلی مشاهده شد فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضدآپوپتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود. کاسپاز ۹ نیز با فعال‌سازی کاسپاز-۳ می‌تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود (۳۳). حسن و کمال نشان دادند فعالیت کاسپاز ۳ عضله قلبی، متعاقب پنج هفته تمرین شنا در موش‌های صحرایی کاهش یافت (۲۴). سئو و همکاران نیز کاهش معنادار کاسپاز-۳ در موش‌های صحرایی متعاقب چهار هفته تمرین دویدن اختیاری را گزارش کردند (۳۴). مکانیسم‌های حفاظت در برابر آپوپتوز به علت پیشگیری ممکن است به وسیله NF- $\kappa$ B متاثر شود که مانع از حساسیت به آپوپتوز می‌شود و می‌تواند تنظیم افزایشی سلول‌های ضدآپوپتیک را تقویت کند (۳۵). مشاهده شده فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغازگر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر

فیزیولوژیک و دارویی استروئیدهای آندروژنی آنابولیک بر ساختار و عملکرد قلب به‌طور واضحی مشخص نشده است. استروئیدهای آندروژنی آنابولیک به گیرنده‌های آندروژنی در قلب و شریان‌های اصلی متصل می‌شوند و سطوح فیزیولوژیک (به‌عنوان مثال تستوسترون) ممکن است روی عروق کرونر از طریق رهایش نیتریک‌اکساید اندوتلیال و مهار تون عضلانی عروق صاف تأثیر مثبت داشته باشد (۲۳). مطالعات حیوانی نشان داده است سوءاستفاده از استروئیدهای آندروژنی آنابولیک مانند ناندرولون با دوز بالا ممکن است پاسخ گشادکننده عروق را معکوس کند و منجر به پیشبرد آثار رشد آن بر بافت قلب، به‌عنوان کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک، شود و به دنبال آن موجب مرگ برنامه‌ریزی شده سلول شود (۲۷). این آثار به احتمال زیاد به وسیله آبخارهای پیام‌برگیرنده ثانویه غشاء که جریان  $Ca^{2+}$  داخل سلولی و فراخوان  $Ca^{2+}$  از شبکه سارکوپلاسمی را افزایش می‌دهند، تعدیل می‌شوند (۲۸). افزایش  $Ca^{2+}$  نفوذپذیری میتوکندری را تحت تأثیر قرار می‌دهد و منجر به رهایش عوامل اپوپتوژنیک مانند سیتوکروم C، عامل القاکننده آپوپتوز و کاسپاز ۹ می‌شود. قابل ذکر است دوز استروئیدهای آندروژنی آنابولیک با مرگ ناگهانی قلبی، MI، بازسازی بطن و کاردیومیوپاتی به آپوپتوز مربوط می‌شود (۲۹). این یافته‌ها ممکن است مشاهدات بالینی را توضیح دهد که استروئیدهای آندروژنی آنابولیک بدون ترومبوز کرونر می‌توانند به مرگ یا تصلب شریان قلبی منجر شوند. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین هوازی (۵ روز در هفته) موجب کاهش معنادار بیان ژن انکسین و کاسپاز-۳ بافت قلب شد. نتایج تحقیق حاضر با مطالعه حبیبی و همکاران که نشان دادند ۸ هفته شنا موجب کاهش آپوپتوز در بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود (۱۵) همخوان است. کای و همکاران نیز دو روش تمرینی اینتروال با شدت بالا و تمرینات تداومی با شدت متوسط بر فرایند آپوپتوز موش‌های مبتلا به انفارکتوس قلبی را مقایسه کردند. در این پژوهش آنان هر دو روش تمرینی موجب افزایش معنادار پروتئین‌های

تخریب بافت قلبی ناشی از بولدنون در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد به دنبال تجویز بولدنون، در گروه مصرف گالیک اسید آثار آپوتوز بافت قلبی کاهش یافت. به نظر می‌رسد درمان با گالیک اسید می‌تواند آثار آپوتوز بافتی عضله قلبی ناشی از تجویز بولدنون را کاهش دهد.

علاوه بر این، نتایج نشان داد تجویز اسیدگالیک به همراه تمرینات استقامتی می‌تواند آسیب ایجاد شده به بافت قلبی و سلول‌های عضله قلبی را کاهش دهد. به طوری که اسیدگالیک به همراه تمرینات استقامتی تأثیر معنی‌داری بر کاسپاز-۳ و انکسین سلول‌های عضله قلبی در موش‌های صحرایی مسموم شده با بولدنون داشت. تمرینات ورزشی موجب بهبود سلامت و عملکرد قلبی - عروقی می‌شوند و یک ابزار سودمند برای درمان‌های قلبی - عروقی هستند. سوءاستفاده از استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک که معمولاً به منظور افزایش ورزشی عملکرد در ورزشکاران استفاده می‌شود (۳۸). با اختلالات قلبی - عروقی در ارتباط است. قلب اندامی است که به طور زیادی تحت تأثیر تجویز استروئیدها قرار می‌گیرد (۳۹). مطالعات محدودی به بررسی اثر تمرینات به همراه استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک بر آپوتوز پرداخته‌اند. شگری و همکاران اثر ترکیبی ۸ هفته فعالیت ورزشی و دوز بالای ناندرون (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در هفته) را بر آپوتوز (با ارزیابی سطوح کاسپاز ۳ و TUNEL) در موش‌های صحرایی بررسی کردند. در تحقیق آنان آپوتوز سلولی به دنبال تجویز دوز بالای ناندرون و کاهش معنی‌دار آن در گروه ناندرون تحت درمان با ورزش مشاهده شد. آنان اعلام کردند ورزش میزان تغییرات آپوتوز ناشی از دوزهای بالای ناندرون در موش‌ها را افزایش می‌دهد (۲۰). حسن و کمال نیز بیان کردند مزایای قلبی ناشی از ورزش به دلیل خطرات بالقوه استفاده از استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک به طور کامل حاصل نمی‌شود (۲۴) که با نتایج تحقیق حاضر همخوان است. سوءاستفاده از استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک از لحاظ بالینی با مرگ ناگهانی قلبی، انفارکتوس میوکارد و کاردیومیوپاتی مرتبط است. مکانیسم‌های مولکولی این

داخلی و خارجی مانع آپوتوز و قطعه‌قطعه شدن DNA شود (۱۷). نشان داده شده ورزش در کاهش آپوتوز و سیگنال‌دهی آپوتوتیک در پاسخ‌دهی به اختلالات حاد میوکارد مؤثر است (۳۶). این یک دیدگاه مهم است که اهمیت ورزش را برای بهبود سیگنال‌دهی آنتی‌اکسیدان به‌عنوان وسیله‌ای برای جلوگیری از آپوتوز در میوکارد برجسته می‌کند.

باین‌حال در تقابل با یافته‌های تحقیق حاضر، لی و همکاران نشان دادند فعالیت ورزشی میزان آپوتوز را با افزایش بیان پروتئین‌های کاسپاز-۳ در یک مدل موش‌های صحرایی دچار سکتة مغزی افزایش می‌دهد. این پژوهشگران بر تأثیر زمان تمرین در توان‌بخشی پس از سکتة مغزی تأکید کردند (۳۷). علاوه بر این، کواک و همکاران گزارش کردند ۱۲ هفته تمرین دویدن روی تردمیل به طور معنی‌داری آپوتوز در بطن چپ را افزایش می‌دهد (۱۷). باین‌حال، در تحقیق دستار و همکاران نیز سطح آپوتوز موش‌های صحرایی با چهار هفته تمرینات مقاومتی تغییر نکرد (۱۶). علت تناقض تحقیق حاضر با یافته فوق احتمالاً نوع و شرایط آزمودنی‌ها و نوع پروتکل تمرینی است. در تحقیق حاضر اسیدگالیک آپوتوز بافت عضله قلبی را کاهش داد و تغییرات نشانگرهای آپوتوزی بافت عضله قلبی در سطح پایین‌تری بود. به طوری که در گروه اسیدگالیک بیان ژن انکسین-۵ و کاسپاز-۳ به طور معنی‌داری کاهش یافت. اسیدگالیک از جمله ترکیبات پلی‌فنلی موجود در بسیاری از گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات است. گزارش شده مشتقات اسیدگالیک از جمله استرهای آلکیل دارای بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی و دارویی است (۱۸). برخی مطالعات تأثیر اسیدگالیک بر سلول‌های آپوتوزی را نشان داده‌اند (۱۸ و ۱۹). با توجه به تأثیر ضدآپوتوزی پلی‌فنلی بر بیان ژن عوامل رونویسی، تأثیر اسیدگالیک نیز که از ترکیبات فنلی است بر بیان ژن‌های درگیر در آپوتوز بافت قلبی که در این مطالعه دیده شده دور از انتظار نبود. در تحقیق حاضر نقش غلظت و مدت تجویز گالیک اسید، به‌عنوان عوامل حیاتی برای کاهش

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه خانم مریم اکبری، کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد واحد تهران شمال، است. بدین‌وسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این کار پژوهشی همکاری صمیمانه داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

وقایع به‌طور نزدیکی با آپوپتوز مربوط است (۲۱). در مطالعه حسن و کمال فعالیت کاسپاز ۳ عضله قلبی به‌عنوان یک نشانگر آپوپتوز در گروه استروئید نسبت به دیگر گروه‌ها افزایش یافت (۲۴). نتایج تحقیق حاضر با برخی یافته‌های مطالعات حیوانی که نشان دادند استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک منجر به ضایعات بافت‌های مختلف بدن به‌ویژه آپوپتوز قلبی می‌شوند همخوان است (۲۴،۴۰). در مطالعات اخیر نشان داده شد استروئیدهای آنابولیک - اندروژنیک به‌طور غیرمستقیم فرآیندهای آسیب میتوکندری، آپوپتوز و اختلال سارکومر را میانجی‌گری می‌کنند؛ به‌طوری‌که در گروه تمرین به همراه مکمل استروئید، فعالیت کاسپاز ۳ قلبی کاهش یافت و هیچ تغییر آپوپتوزی در بررسی بافت‌شناسی مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان داد ورزش قادر به کاهش میزان آپوپتوز در عضله قلب موش است (۲۴). با توجه به عدم تشابه تجویز دوز استروئیدهای اندروژنی آنابولیک و برنامه‌های تمرینات و مدت‌زمان درمان‌های تجربی در مطالعات مختلف، نتیجه‌گیری در مورد اثر واقعی دوز خاص استروئیدها در بافت قلب دشوار است. با این‌حال، از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر عوامل مرتبط با آپوپتوز اشاره کرد. علاوه بر این، یکی از محدودیت‌های این مطالعه عدم کنترل رژیم غذایی (اندازه‌گیری انرژی مصرفی و هزینه انرژی) بود.

### نتیجه‌گیری

بولدنون موجب آپوپتوز بافتی عضله قلبی می‌شود. به نظر می‌رسد احتمالاً تمرین استقامتی و اسیدگالیک می‌توانند موجب کاهش تغییرات آپوپتوزی بافت قلب در موش‌های مصرف‌کننده بولدنون شوند. علاوه بر این، پیشنهاد می‌شود دیگر فاکتورهای آپوپتوزی جهت درک بهتر تأثیر تمرین و مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز اندازه‌گیری شود. همچنین پیشنهاد می‌شود با تغییر دوز مکمل اسیدگالیک و نوع تمرینات، اثر هم‌زمان این دو عامل بر فاکتورهای آپوپتوزی، استرس اکسایشی و آنزیم‌های بافت قلب بررسی شود.

جدول شماره (۱) پروتکل تمرینات استقامتی در بررسی مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرائی در معرض بولدنون

هفته	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
برنامه تمرین								
مدت تمرین (دقیقه/روز)	۳۰	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۰	۶۰
سرعت تردمیل (متر/دقیقه)	۱۲	۱۸	۱۸	۲۴	۲۴	۲۸	۳۰	۳۰

جدول شماره (۲) توالی پرایمرها در بررسی مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرائی در معرض بولدنون

طول amplicon	توالی	پرایمرها	نام ژن
104 bp	5' ACCACAGTCCATGCCATCAC3' 5' TCCACCACCCTGTTGCTGTA3'	Forward Reverse	GAPDH
123 bp	5'-CCTGATGGGTGTGTGATCTTGG-3' 5'-TTTCTTCATCCGTCCCCAC-3'	Forward Reverse	Annexin
123 bp	5'-CGGGTGCCAGTCATTCATCT-3' 5'-AACCGTCTTTGATTTCCACGC-3'	Forward Reverse	Caspase 3

جدول شماره (۳) میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف در بررسی مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرائی در معرض بولدنون

کاسپاز	انکسین	متغیر گروه‌ها
۱/۱۰ ± ۰/۲۲	۰/۵۵ ± ۰/۲۳	گروه کنترل
۲/۱۴ ± ۰/۱۶	۱/۲۷ ± ۰/۲۷	گروه بولدنون
۰/۹۲ ± ۰/۷۷	۰/۴۰ ± ۰/۲۱	گروه اسیدگالیک + بولدنون
۰/۵۹ ± ۰/۳۵	۰/۳۸ ± ۷%	گروه تمرین
۱/۱۹ ± ۰/۴۲	۰/۷۶۶ ± ۰/۲۴	گروه تمرین + بولدنون
۰/۹۴ ± ۰/۶۰	۰/۷۱ ± ۰/۲۷	گروه تمرین + اسیدگالیک - بولدنون



جدول شماره (۴) آزمون تحلیل واریانس یک طرفه آنکسین و کاسپاز-۳ بافت قلبی در گروه‌های مختلف در بررسی مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرایی در معرض بولدنون

مقدار p	مقدار F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع تغییرات	
*/۰۰۰۱	۱۲/۲۱	۰/۶۴	۵	۳/۲۲	بین گروه‌ها	انکسین بافت
		۵۳%	۳۰	۱/۵۸	داخل گروه‌ها	قلبی
			۳۵	۴/۸۰	جمع	
*/۰۰۰۱	۷/۴۷	۱/۶۷	۵	۸/۳۷	بین گروه‌ها	کاسپاز-۳ بافت
		۰/۲۲۴	۳۰	۶/۷۲	داخل گروه‌ها	قلبی
			۳۵	۱۵/۱۰	جمع	

\* نشانه معنی داری در آزمون تحلیل واریانس یک طرفه

جدول شماره (۵) آزمون تعقیبی بونفرونی آنکسین بین گروه‌های مختلف در بررسی مصرف اسیدگالیک بر آپوپتوز بافت قلب در موش‌های صحرایی در معرض بولدنون

سطح معناداری	اختلاف میانگین	گروه	گروه
۰/۰۰۰۱ ≠	-۰/۷۱	بولدنون	کنترل
۱	۰/۱۵	اسیدگالیک + بولدنون	
۱	-۰/۱۷۵	تمرین	
۱	-۰/۲۰۸	تمرین + بولدنون	
۱	-۰/۱۵	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	
۰/۰۰۰۱ ≠	۰/۸۶	اسیدگالیک + بولدنون	بولدنون
۰/۰۰۰۱ ≠	۰/۸۹	تمرین	
۰/۰۰۹ ≠	۰/۵۰	تمرین + بولدنون	
۰/۰۰۳ ≠	۰/۵۶	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	
۱	۰/۲۵	تمرین	اسیدگالیک + بولدنون
۰/۱۶۶	-۰/۳۵	تمرین + بولدنون	
۰/۴۴۱	-۰/۳۰	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	
۰/۱۰۶	-۰/۳۸	تمرین + بولدنون	تمرین
۰/۲۸۸	-۰/۳۲	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	
۱	۵۵%	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	تمرین + بولدنون

≠ بر اساس آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح  $P < 5\%$

جدول شماره (۶) آزمون تعقیبی بونفرونی کاسپاز-۳ بین گروه‌های مختلف در بررسی مصرف اسیدگالیک بر آپوتوز بافت قلب در موش‌های صحرایی در معرض بولدنون

گروه	گروه	اختلاف میانگین	سطح معناداری
کنترل	بولدنون	-۱/۰۴	۱
	اسیدگالیک + بولدنون	۰/۱۸	۱
	تمرین	۰/۵۱	۱
	تمرین + بولدنون	-۰/۹۳	۱
	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	۰/۱۶۱	۱
بولدنون	اسیدگالیک + بولدنون	۱/۲۲	۰/۰۰۲ ≠
	تمرین	۱/۵۵	۰/۰۰۰۱ ≠
	تمرین + بولدنون	۰/۹۴	۰/۲۴
	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	۱/۲۰	۰/۰۰۲ ≠
اسیدگالیک + بولدنون	تمرین	-۰/۳۳	۱
	تمرین + بولدنون	-۰/۲۷	۱
	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	-۰/۱۸	۱
تمرین	تمرین + بولدنون	-۰/۶۰	۰/۵۲۷
	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	-۰/۳۴	۱
تمرین + بولدنون	تمرین + اسیدگالیک + بولدنون	۰/۲۵	۱

≠ بر اساس آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح  $P < 5\%$

**References:**

1. Kuhn CM, anabolic steroids. Recent Progress in Hormone Research. The Yale journal of biology and medicine. 2002; 57(1):411-434.
2. Kicman AT. Pharmacology of anabolic steroids. British journal of pharmacology. 2008;154(3):502-21.
3. Zaugg M, Jamali NZ, Lucchinetti E, Xu W, Alam M, Shafiq SA, Siddiqui MA. Anabolic-androgenic steroids induce apoptotic cell death in adult rat ventricular myocytes. Journal of cellular physiology. 2001; 187(1):90-5.
4. Thompson, CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science.1995; 267(5203):1456-62.
5. Condorelli G, Roncarati R, Ross J, Pisani A, Stassi G, Todaro M, et al. Heart-targeted overexpression of caspase3 in mice increases infarct size and depresses cardiac function. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001; 98(17):9977-82.
6. Narula J, Haider N, Arbustini E, Chandrashekhara Y. Mechanisms of disease: apoptosis in heart failure—seeing hope in death. Nature Reviews Cardiology. 2006 ;3(12):681.
7. Laohavisit A, Davies JM. Multifunctional annexins. Plant Science. 2009; 189(1):40-53.
8. Van Genderen H, Kenis H, Lux P, Ungeth L, Maassen C, Deckers N, Narula J, Hofstra L, Reutelingsperger C. In vitro measurement of cell death with the annexin A5 affinity assay. Nature protocols. 2006; 1(1):363.
9. Hofstra L, Liem IH, Dumont EA, Boersma HH, Van Heerde WL, Doevendans PA, et al. Visualisation of cell death in vivo in patients with acute myocardial infarction. Lancet. 2000; 356(9225):209-12.
10. Giallauria F, Acampa W, Ricci F, Vitelli A, Torella G, Lucci R, Del Prete G, et al. Exercise training early after acute myocardial infarction reduces stress-induced hypoperfusion and improves left ventricular function. European journal of nuclear medicine and molecular imaging. 2013; 40(3):315-24.
11. Haykowsky MJ. Left ventricular remodelling and the athlete's heart: time to revisit the Morganroth hypothesis. The Journal of physiology. 2011;589(24):5915-5923.
12. Huang CY, Yang AL, Lin YM, Wu FN, Lin JA, Chan YS, Tsai FJ, Tsai CH, Kuo CH, Lee SD. Anti-apoptotic and pro-survival effects of exercise training on hypertensive hearts. Journal of applied physiology. 2011; 112(5):883-91.
13. Santana ET, Serra AJ, Silva Junior JA, Bocalini DS, Barauna VG, Krieger JE, Tucci PJ. Aerobic exercise training induces an anti-apoptotic milieu in myocardial tissue. Motriz: Revista de Educação Física. 2014; 20(2):233-8.
14. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Always SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. FASEB Journal. 2004; 18(10):1150-52.
15. Habibi P, Alihemmati A, NourAzar A, Yousefi H, Mortazavi S, Ahmadiasl N. Expression of the Mir-133 and Bcl-2 could be affected by swimming training in the heart of

- ovariectomized rats. Iranian journal of basic medical sciences. 2016;19(4):381-393.[Persian]
16. Saber MM, Jafary A, Soufi FG, Ghiassie R, Doustar Y. Role of four-week resistance exercise in preserving the heart against ischaemia-reperfusion-induced injury: cardiovascular topic. Cardiovascular Journal of Africa. 2012;23(8):451-5.
  17. 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.
  18. Kaur M, Velmurugan B, Rajamanickam S, Agarwal R, Agarwal C. Gallic acid, an active constituent of grape seed extract, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-tumorigenic effects against prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. Pharmaceutical research. 2009; 26(9):2133-40.
  19. Liu Z, Li D, Yu L, Niu F. Gallic acid as a cancer-selective agent induces apoptosis in pancreatic cancer cells. Chemotherapy. 2012;58(3):185-94.
  20. Shokri S, Aitken RJ, Abdolvahabi M, Abolhasani F, Ghasemi FM, Kashani I, Ejtemaimehr S, Ahmadian S, Minaei B, Naraghi MA, Barbarestani M. Exercise and supraphysiological dose of nandrolone deconoate increase apoptosis in spermatogenic cells. Basic & clinical pharmacology & toxicology. 2010; 106(4):324-30.
  21. Riezzo I, Di Paolo M, Neri M, Bello S, Cantatore S, D'Errico S, et al. Anabolic steroid-and exercise-induced cardio-depressant cytokines and myocardial  $\beta 1$  receptor expression in CD1 mice. Current pharmaceutical biotechnology. 2011;12(2):275-84.
  22. Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M, Hedayati M, Rahimi M. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. Iranian journal of basic medical sciences. 2014;17(4):237-243. [Persian]
  23. Doroodi L, Edalatmanesh MA. The Histopathological Evaluation of Gallic Acid on Rat Purkinje Cells after Trimethyltin Intoxication. Shefaye Khatam. 2017; 5(2):11-18
  24. Hassan AF, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. International journal of health sciences. 2013;7(1):47-60.
  25. Fineschi V, Riezzo I, Centini F, Silingardi E, Licata M, Beduschi G, Karch SB. Sudden cardiac death during anabolic steroid abuse: morphologic and toxicologic findings in two fatal cases of bodybuilders. International journal of legal medicine. 2007 ;121(1):48-53.
  26. Rosano GM, Cornoldi A, Fini M. Effects of androgens on the cardiovascular system. Journal of endocrinological investigation. 2005;28(3 Suppl):32-8.
  27. Zaugg M, Jamali NZ, Lucchinetti E, Xu W, Alam M, Shafiq SA, Siddiqui MA. Anabolic-androgenic steroids induce apoptotic cell death in adult rat ventricular myocytes. Journal of cellular physiology. 2001;187(1):90-5.

28. Lieberherr M, Grosse B. Androgens increase intracellular calcium concentration and inositol 1, 4, 5-trisphosphate and diacylglycerol formation via a pertussis toxin-sensitive G-protein. *Journal of Biological Chemistry*. 1994 ;269(10):7217-23.
29. Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. *Annual review of physiology*. 1998; 60(1):619-42.
30. Cai MX, Shi XC, Chen T, Tan ZN, Lin QQ, Du SJ, Tian ZJ. Exercise training activates neuregulin 1/ErbB signaling and promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model. *Life sciences*. 2016;149:1-9.
31. Creutz CE, Pazoles CJ, Pollard HB. Identification and purification of an adrenal medullary protein (synexin) that causes calcium-dependent aggregation of isolated chromaffin granules. *Journal of Biological Chemistry*. 1978;253(8):2858-66.
32. Hachida M, Kihara S, Nonoyama M, Koyanagi H. Protective effect of JTV519, a new 1, 4-benzothiazepine derivative, on prolonged myocardial preservation. *Echocardiography*. 1985;2(3):187-93.
33. Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 8(1):1-12.
34. Seo H, Park CH, Choi S, Kim W, Jeon BD, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2016;20(3):16.
35. Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. *FEBS letters*. 2000;485(1):7-12.
36. Kavazis AN, McClung JM, Hood DA, Powers SK. Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2008;294(2):928-35.
37. Li F, Shi W, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, Shen J, Wang S, Ding Y. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. *Journal of neuroscience research*. 2017;95(4):1017-24.
38. Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, Torella D. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. *Heart*. 2011; 98(1):5-10.
39. Riezzo I, De Carlo D, Neri M, Nieddu A, Turillazzi E, Fineschi V. Heart disease induced by AAS abuse, using experimental mice/rats models and the role of exercise-induced cardiotoxicity. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2011;11(5):409-24.
40. Belhani D, Fanton L, Vaillant F, Descotes J, Manati W, Tabib A, Bui-Xuan B, Timour Q. Cardiac lesions induced by testosterone: protective effects of dexrazoxane and trimetazidine. *Cardiovascular toxicology*. 2009;9(2):64-9.

## Investigating the Effects of Endurance Training and Gallic Acid on Annexin-5 and caspase-3 of Cardiac Tissue in Male Wistar Rats Undergoing Boldenone

Akbari M<sup>\*1</sup>, Moradi L<sup>2</sup>, Alizadeh R<sup>3</sup>, Abbassi Dalooi A<sup>4</sup>

1. MSc. in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Assistant Professor, PhD in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, PhD in Exercise Physiology, Department of Sports Sciences, School of Literature and Humanities, Ilam University, Ilam, Iran.
4. Assistant Professor, PhD in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Received: 17 March, 2018 :Accepted: 02 July, 2018

### Abstract

**Introduction:** This study aimed to investigate the effects of endurance training and Gallic acid on Annexin-5 and caspase-3 of cardiac tissue in male Wistar rats undergoing Boldenone.

**Methods:** In this experimental study, 42 male Wistar rats aged 8-12 weeks (weight:  $195 \pm 7.94$ g) were randomly divided into six groups of control, boldenone (5mg/kg), Gallic acid-boldenone, endurance training, endurance training-boldenone and endurance training-Gallic acid-boldenone. Moderate endurance training program was conducted for eight weeks and five sessions per week. Oral Gallic acid was taken by rats at a dose of 5 mg/100g of rat's weight for 8 weeks (7 days a week). Boldenone was injected deep into the quadratus femoris muscle of rats once a week on a predetermined day. After anesthesia, autopsy was performed and the cardiac tissue was isolated. The data were analyzed by paired samples t-test, one-way ANOVA and Bonferroni post-hoc test at significance level of  $P < 0.05$ .

**Results:** The results showed differences among the groups in terms of mean amount of Annexin-5 and caspase-3 in cardiac tissues ( $P = 0/001$ ). The mean value of anxin-5 gene expression in the boldenone group was  $1.27 \pm 0.27$ , which significantly increased compared to those in Gallic acid-boldenone ( $0.40 \pm 0.21$ ), endurance training ( $0.38 (0.07)$ ), endurance Training-boldenone ( $0.766 \pm 0.24$ ) and endurance Training-Gallic acid-boldenone ( $0.71 \pm 0.27$ ) groups. Also, the mean value of Caspase-3 gene expression in the boldenone group was  $2.14 \pm 0.16$ , which significantly increased compared to those in acid-boldenone ( $0.92 \pm 0.77$ ), endurance training ( $0.59 \pm 0.35$ ) endurance Training-boldenone ( $1.19 \pm 0.42$ ) and endurance Training-Gallic acid-boldenone ( $0.94 \pm 0.60$ ) groups.

**Conclusion:** According the findings, it seems that boldenone causes apoptosis of cardiac tissues and endurance training and Gallic acid may reduce the apoptosis of cardiac tissues.

**Keywords:** Boldenone, Gallic acid, Cardiac tissue, Apoptosis, Endurance training

\*Corresponding author: E.mail: akbarimaryam370@gmail.com