تاثیر تمرین هوازی رت‌های پدر و مادر قبل از بارداری و فعالیت بدنی رت مادر حین بارداری بربیان ژن *p53* و *Bcl2* بافت رحم فرزندان ماده آن‌ها

فاطمه اوصانلو[۱]، علی سیاح *[۲]، اکرم کریمی اصل[۳]

۱ کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه زنجان، *f.osanloo73@gmail.com*

۲ استادیارگروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه زنجان، *alisayyah@znu.ac.ir*

۳ استادیار گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه زنجان، *karimiasl@znu.ac.ir*

چکیده

ورزش و فعالیت بدنی به‌عنوان یک عامل تأثیرگذار در پیشگیری و بهبود بیماری‌هایی از جمله سرطان شناخته‌شده است. از سویی، بررسی پژوهش‌ها نشان می‌دهد فعالیت ورزشی می‌تواند موجب اصلاح ژن‌ها از طریق اپی ژنتیک گردد و سبب انتقال به نسل های بعدی شود. در رابطه با تغییرات اپی‌ژنتیک روی اپی ژنوم بافت رحم هر چند منابع و مدارک کافی جهت اثبات تاثیرگذاری مستقیم تغییرات اپی ژنتیکی بر بافت رحم وجود ندارد ولی با این‌حال، پژوهش‌های اخیر نشان داده است که تغییرات اپی‌ژنتیک ناشی از فعالیت بدنی فعالیت ژن‌ها را در بافت‌های مختلف تنظیم می‌کند. بااین‌وجود، به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی به‌عنوان یک عامل تأثیرگذار در دوران بارداری و قبل از بارداری خیلی کم مورد پژوهش قرار گرفته است. همچنین، با توجه به این نکته که سرطان رحم یکی از مهم‌ترین عوامل نگران‌کننده سلامتی در زنان است و به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی در کنترل آن نقش مهمی داشته باشد و از آن

جایی که پژوهشی درباره تأثیر اپی‌ژنتیک به همراه مداخله ورزشی بر روی پروتئین‌های *p53* و *Bcl-2* که در جلوگیری از ابتلا به سرطان رحم نقش دارند، یافت نشده است؛ لذا پژوهش حاضر باهدف بررسی تأثیر تمرینات هوازی مادران و پدران قبل از بارداری و فعالیت بدنی مادر حین بارداری از طریق اندازه‌گیری بیان ژن *p53* و *Bcl-2* می‌تواند برای جامعه ورزشی امروزی و همین‌طور نسل‌های آینده مفید و مثمرثمر واقع شود.

کلمات کلیدی: بارداری، تمرین هوازی، فعالیت بدنی، *Bcl2*، *P53*

مقدمه

اهمیت فعالیت ورزشی و تاثیر آن بر روی سلامت افراد به اثبات رسیده است. با توجه به اهمیت فعالیت ورزشی در جهان امروزی، تمام جوامع می‌کوشند فعالیت‌های ورزشی را به نحو گسترده‌ای جزوه برنامه‌های روزانه انسان قرار دهند و فعالیت ورزشی به عنوان یک بخش اساسی و جدایی‌ناپذیر افراد مورد توجه قرار گیرد[۱]. از طرفی دیگر، در مورد زنان به دلیل شرایط خاص قاعدگی، بارداری و یائسگی و با توجه به نقش اجتناب ناپذیر سلامت مادران در بقای نسل و سلامت فرزندان، انجام فعالیت ورزشی از اهمیت خاصی برخوردار است[۲]. در دوران بارداری سلامت و بهتر زیستن مادر، در زندگی فرد دیگری (جنین) تأثیر مستقیم دارد و جنین در این زمان نسبت به عوامل مختلف حساس و آسیب پذیر می باشد. لذا دوران بارداری به عنوان حساس‌ترین مرحله زندگی بانوان است و اقدام به فعالیت ورزشی در سنین باروری برای زنان به خصوص در دوران بارداری مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است[۱]. از سوی دیگر، فعالیت ورزشی در دوران بارداری بر رشد جنین نیز تاثیرگذار است. رشد و نمو مناسب جنین در طول بارداری اهمیت ویژه ای دارد زیرا کاهش یا افزایش غیر طبیعی آن با مرگ و میر و عوارض چشمگیر هنگام زایمان همراه است. افزایش حجم پلاسمای مادر و جنین، افزایش جریان خون رحمی - جفتی – جنینی در نتیجه فعالیت ورزشی از عوامل تاثیرگذار بر روی رشد جنین است[۳, ۴]. از سوی دیگر، این که آیا سبک زندگی والدین بر کیفیت سلامت فرزند تأثیر می‌گذارد، سال‌ها جای سوال بوده است. اپی‌ژنتیک نقش مهمی در انتقال پاسخ محیط و سبک زندگی والدین به ویژگی‌ها و سلامت فرزندان دارد[۵]. به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی

مادر یا پدر - قبل از باردار شدن مادر - یکی از منطقی‌ترین و اقتصادی ترین راه‌ها برای بهبود سلامت فرزندان باشد. واژه اپی ژنتیک به فرآیندهای مختلفی اشاره دارد که اثر طولانی مدتی از الگوی بیان ژن بدون تغییر در توالی ژن دارد .کنترل فرآیند اپی ژنتیک، مربوط به متیلاسون *DNA* ، تغییرات هیستونی، تغییر وضعیت کروماتینی *RNA* غیر کد کننده (*ncRNA*[1])، به ویژه میکرو *RNA* است[۶]. از سوی دیگر پژوهش‌ها نشان می دهد علاوه بر فعالیت ورزشی مادران، فعالیت‌های ورزشی انجام شده توسط پدران، متیلاسیون *DNA* در اسپرم آن‌ها را تغییر داده و بر سلامت فرزندان آن‌ها تأثیر می‌گذارد[۷]. بنابراین، با توجه به اثبات ارتباط مستقیم سلامت مادر با سلامت جنین و نسل آینده یکی از مباحثی که مدتی است مورد توجه پژوهشگران رشته علوم ورزشی قرار گرفته است، اثر فعالیت‌های ورزشی بر عملکرد سیستم تولیدمثل بدن انسان می‌باشد[۸]. با توجه به تأثیر فعالیت ورزشی منظم بر تغییرات هورمونی و فیزیولوژیکی، گزارش شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند اختلال‌های مربوط به رحم و تخمدان را کاهش دهد[۹]. رحم مهم‌ترین ساختار تناسلی در ارتباط با باروری است که از سه لایه تشکیل شده است: ۱. اندومتریوم[2] ۲. میومتریوم[3] ۳. پریمتریوم[4] [۱۰]. از سوی دیگر، باید به این نکته اشاره نمود که یکی از علل اصلی مرگ و میر در جهان سرطان و سومین عامل مرگ زنان در سراسر جهان، سرطان رحم است [۱۱] و در ایران پس از سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان بوده و پس از سرطان تخمدان دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان می‌باشد[۱۲]. سرطان معمولا با پیشرفت نابه‌جای چرخه سلولی و آپوپتوز ناقص به دلیل فعال شدن پروتوانکوژن‌ها و غیرفعال شدن ژن‌های سرکوب کننده تومور یا *TSG*[5] ایجاد می‌شود*[۱۳]* . در ایجاد سرطان، ژن‌های زیادی درگیر هستند، یافتن ژن‌های نامزد برای درمان سرطان بسیار مهم است. یکی از مهم‌ترین ژن‌های هدف، *p53* است که به دلیل مشارکت آن در پهنه بسیار وسیعی از تومورها (حدود ۵۵٪)، فوق العاده مورد توجه قرار گرفته است. این ژن، در واقع بیشترین هدف جهش در سرطان های انسانی است. ژن *p53* در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ *(p17)* واقع است و اطلاعات

[1] *non-coding RNA*
[2] *Endometrium*
[3] *Myometrium*
[4] *Perimetrium*
[5] *Tumor Suppressor Gene*

مربوط به فسفوپروتئین هسته ای *p53* را در خود جا دارد که موجب بیان ژن‌های هدف می‌شود[۱۴]. نقش *p53* از جنبه‌های متعدد به ویژه در پایداری ژنومی و سرکوب توموری عمدتا با القای آپوپتوز، توقف چرخه سلولی، پیری و مهار رگ زایی چشمگیر است[۱۴]. همچنین، *p53* برای مجموعه‌ای از پروتئین‌های پروآپوپتوزی از خانواده *Bcl-2* *(Puma[1] _ Noxa _Bid[2] _Bax)* به عنوان عامل رونویسی عمل می کند که موجب افزایش بیان این پروتئین ها می‌شود[۱۵]. *Bcl-2* ، یک پروتئین آنتی آپوپتوزی است که در مسیر داخلی آپوپتوز را مهار می‌کند و مانع فعالیت کاسپازها می‌شود، بنابراین افزایش مقادیر *Bcl-2* در جهت بقا و ترمیم سلول است و آپوپتوز را مهار می کند[۱۶].

از سوی دیگر شواهد اخیر حاکی است تمرین‌های ورزشی می‌توانند فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و حتی کند شدن روند رشد تومور را تحت تأثیر قرار دهند. کی[3] و همکاران اشاره داشتند که هشت هفته تمرین هوازی منظم به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در روز و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه موجب کاهش میزان پروتئین *p53* و افزایش بیان آنزیم‌های ضد اکسایشی عضله اسکلتی در موش‌های تمرین کرده در مقایسه با موش‌های تمرین نکرده شد[۱۷]. با این حال و بر خلاف نتایج پژوهش‌های مذکور، برخی از پژوهش‌ها اشاره به افزایش بیان پروتئین *p53* متعاقب تمرین‌های ورزشی دارند. به طوری که وینشتین[4] و همکاران اشاره داشتند که ۱۰ هفته تمرین روی چرخ گردان موجب افزایش بیان این ژن در عضله نعلی موش های صحرایی نر تمرین کرده در مقایسه با موش های صحرایی کنترل شد[۱۸]. به علاوه، کیم[5] و همکاران اشاره داشتند که شش ماه تمرین هوازی موجب افزایش قابل توجه پروتئین *p53* میتوکندریایی و پیوند بین پروتئین *p53* و *DNA* میتوکندری شد[۱۹]. با این وجود به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی به عنوان یک عامل تأثیرگذار در دوران بارداری و قبل از بارداری خیلی کم مورد پژوهش قرار گرفته است. همچنین، با توجه به این نکته که سرطان رحم یکی از مهم‌ترین عوامل نگران‌کننده سلامتی در زنان است و به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی در کنترل آن نقش مهمی داشته باشد و از آن جایی که

---

[1] *P53-upregulated modulator of apoptosisPUMA*
[2] *BH3 interacting-domain death agonist*
[3] *Key*
[4] *Vainshtein*
[5] *Kim*

پژوهشی درباره تأثیر اپی‌ژنتیک به همراه مداخله ورزشی بر روی پروتئین‌های *p53* و *Bcl-2* که در جلوگیری از ابتلا به سرطان رحم نقش دارند، یافت نشده است؛ لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرینات هوازی مادران و پدران قبل از بارداری و فعالیت بدنی مادر حین بارداری از طریق اندازه‌گیری بیان ژن *p53* و *Bcl-2* می‌تواند برای جامعه ورزشی امروزی و همین‌طور نسل‌های آینده مفید و مثمرثمر واقع شود.

روش‌شناسی

به منظور اجرای پژوهش حاضر ۴۸ سر موش صحرایی ماده و ۴۸ سر موش صحرایی نر با سن ۸ هفته بر اساس وزن و به‌صورت تصادفی به چهار گروه (دو گروه رت نر هرکدام ۲۴ سر و دو گروه رت ماده هرکدام ۲۴ سر) تقسیم شدند. هرکدام از گروهای نر و ماده، یک گروه تمرینی و یک گروه کنترل شد. پس از آشناسازی و تقسیم‌بندی، گروه‌های تمرینی نر و ماده، روی نوار گردان جانوری به مدت شش هفته به تمرین هوازی فزاینده پرداختند. برنامهٔ تمرینی با سرعت ۱۰-۱۸ متر در دقیقه معادل ۷۰-۶۰ درصد *VO2max* اجرا شد. رت‌های نر و ماده گروه تمرینی، به مدت شش هفته و پنج روز در هفته بر روی نوارگردان، تمرین هوازی انجام دادند. برنامهٔ تمرینی در هفته اول با سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه درشیب صفر درجه اجرا شد. در هفته‌های بعد سرعت و مدت‌زمان دویدن روی نوارگردان افزایش‌یافته به‌طوری‌که حیوانات در هفته دوم با سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، در هفته سوم با سرعت ۱۴-۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، در هفته چهارم با سرعت ۱۵-۱۴متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه و هفته پنجم و ششم با سرعت ۱۸-۱۷متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه روی نوارگردان دویدند (جدول ۱)[۲۰, ۲۱] .

جدول ۱ : برنامه تمرینی هوازی فزاینده.

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
مدت‌زمان تمرین	۱۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۳۰ دقیقه
سرعت تردمیل (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۵-۱۴	۱۵-۱۴	۱۸-۱۷	۱۸-۱۷

پس از اتمام تمرینات، رت‌های ماده هر گروه (کنترل - تمرین) برای جفت‌گیری در کنار رت‌های نر هر گروه (تمرین-کنترل)، یک‌به‌یک در قفسه‌های جداگانه‌ای قرار گرفتند. پس از مشاهده اولین پلاک واژینالی، رت‌های باردار از رت‌های نر جدا و مجدد به دو گروه تمرینی و بی تمرین تقسیم شدند. گروه رت‌های باردار تمرینی، وارد برنامهٔ تمرین هوازی به مدت حدوداً ۲۱ روز شدند. شدت فعالیت متوسط (۳۵-۴۵ درصد VO_{2max}) بر اساس سرعت دویدن روی نوارگردان مشخص شد. فعالیت هوازی به مدت تقریبی ۲۱ روز، پنج روز در هفته انجام شد. پس از اتمام دورهٔ بارداری و به دنیا آمدن فرزندان، بعد از ۲۱ روز نوزادان از شیر گرفته شدند. فرزندان ماده در ۶ هفتگی برای تهیه نمونه بافتی بی‌هوش شده و بافت رحم آنها جدا شد. اندازه‌گیری میزان بیان ژن *P53* و *Bcl2* بافت رحم با استفاده از روش ریل تایم *PCR* صورت گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی *Games-Howell* توسط نرم‌افزار *SPSS* نسخه ۲۶ در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ مورد تحلیل قرار گرفت.

نتایج

بیان ژن *P53*، در بافت رحم فرزندان ماده در گروه تمرین هوازی پدر و مادر قبل از بارداری و فعالیت بدنی مادر حین بارداری *(p=0/026)* نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌داری بالاتر بود. بیان ژن *P53*، در بافت رحم فرزندان ماده در گروه تمرین هوازی مادر - فعالیت بدنی مادر در حین بارداری *(p=0/47)*، تمرین هوازی پدر و مادر قبل از بارداری *(p=0/28)*، تمرین هوازی مادر قبل از بارداری *(p=0/63)*، تمرین هوازی پدر - فعالیت بدنی مادر حین بارداری *(p=0/53)*، فعالیت بدنی مادر *(p=0/99)*، تمرین هوازی پدر *(p=0/80)*، نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. بیان ژن*Bcl2*، در بافت رحم فرزندان ماده در گروه تمرین هوازی پدر - فعالیت بدنی مادر حین بارداری *(p=0/01)* نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری پایین تر بود. بیان ژن*Bcl2*، در بافت رحم فرزندان ماده در گروه تمرین هوازی پدر و مادر قبل از بارداری و فعالیت بدنی مادر حین بارداری *(p=0/92)*، تمرین هوازی مادر - فعالیت بدنی مادر حین بارداری *(p=0/76)* تمرین هوازی پدر و مادر قبل از بارداری *(p=0/52)* تمرین هوازی مادر قبل از بارداری *(p=0/55)* ، تمرین هوازی پدر *(p=0/73)* نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی پدر و مادر در دوران قبل از بارداری و فعالیت بدنی مادر حین بارداری می‌تواند اثرات قابل‌توجهی بر روی بیان ژن‌های آپوپتوزی بر جای بگذارد. این تغییرات احتمالاً از تغییرات متابولیکی محیط رحم و وضعیت متابولیکی مادر حاصل می‌گردد که می‌تواند نقش قابل‌توجهی بر روی فرزندان داشته باشد. همین عامل نشان‌دهندهٔ آن است که ورزش و فعالیت بدنی در دوران بارداری و حتی پیش از آن موجب تغییراتی در بیان ژن‌های آپوپتوزی در فرزندان نسل اول گردد. با این وجود برای تأیید و روشن‌شدن سازوکارهای اثربخشی این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتر است.

مراجع

[1] *Howells, D., Exercise in pregnancy. The Practising Midwife, 2002. 5(4): p. 12-13.*

[2] *Fujii, J., Y. Iuchi, and F. Okada, Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. Reproductive biology and endocrinology, 2005. 3: p. 1-10.*

[3] *Hickman, S., The effects of exercise during pregnancy and postpartum. Senior thesis-final draft, 2007. 11(2): p. 33-45.*

[4] *Clapp III, J.F., The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and feto-placental growth .European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2003. 110: p. S80-S85.*

[5] *Falcao-Tebas, F., et al., Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. British Journal of Nutrition, 2012. 107(3): p. 372-377.*

[6] *Delcuve, G.P., M. Rastegar, and J.R. Davie, Epigenetic control. Journal of cellular physiology, 2009. 219(2): p. 243-250.*

[7] *Vieira de Sousa Neto, I., W. Fontes, J. Prestes, and R. de Cassia Marqueti ,Impact of paternal exercise on physiological systems in the offspring. Acta Physiologica, 2021. 231(4): p. e13620.*

[8] *DiClemente, C.C. and J.C. Norcross, In search of how people change: Applications to addictive behaviors. American Psychologist, 1992. 47)9 :(p. 1102-1114.*

[9] *Tymchuk, C.N., S.B. Tessler, and R.J. Barnard, Changes in sex hormone-binding globulin, insulin, andserum lipids in postmenopausal women on alow-fat, high-fiber diet combined with exercise. Nutrition and cancer, 2000. 38(2): p. 158-162.*

[10] *TW, S., Third month to birth: The fetus and placenta. Langman's medical embryology, 2006: p. 89-119.*

[11] *Ahmadzadeh, N., N. Asghari Moghaddam, and Z. Keshtmand, The effect of synthetic silver nanoparticle from hydroalcoholic extract Digitalis nervosa on CDH١, Bax, Bcl ٢and P ٥٣ gene expressions in cervical cancer cell line) Hela. Iranian Journal of Biological Sciences, 2022. 17(1): p. 19-30.*

[12] *Momenimovahed, Z. and H. Salehiniya, Cervical cancer in Iran: integrative insights of epidemiological analysis. BioMedicine, 2018. (3)8.*
[13] *Hanahan, D. and R.A. Weinberg, The hallmarks of cancer. cell, 2000. 100(1): p. 57-70.*
[14] *NOORI, D.M. and R. Abdollahzade, Role of p53 in apoptosis and cancer therapy. 2014.*
[15] *Tewari-Singh, N., et al., Silibinin attenuates sulfur mustard analog-induced skin injury by targeting multiple pathways connecting oxidative stress and inflammation. 2012.*
[16] *Phaneuf, S. and C. Leeuwenburgh, Apoptosis and exercise. Medicine & Science in Sports & Exercise, 2001. 33(3): p. 393-396.*
[17] *Qi, Z., et al., Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. Free radical biology and medicine, 2011. 50(7): p. 794-800.*
[18] *Vainshtein, A., L. Kazak, and D.A. Hood, Effects of endurance training on apoptotic susceptibility in striated muscle. Journal of applied physiology, 2011. 110(6): p. 1638-1645.*
[19] *Kim, B., et al., Functional Study of Tumor Suppressor p53 Gene Variation: Effect on Cardiovascular Adaptation to Exercise Training. 2012, Wiley Online Library.*
[20] *Chae, C.-H., et al., Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. Journal of physiology and biochemistry, 2011. 67: p. 235-241.*
[21] *Chae, C., et al., RETRACTED: Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. 2009, Elsevier.*