مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۹، شماره ۴، زمستان ۸۸، صفحات ۲۲۳ تا ۲۲۹

Original Article

بررسی میزان آپوپتوزیس طی افزایش سن در کاردیومیوسیت‌های بطنی موش صحرایی

یوسف دوستار[۱]، فرهاد قدیری صوفی[۲]، ناصر احمدی اصل[۲]، محمدرضا علیپور[۲]

[۱]استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
[۲]استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

چکیده

سابقه و هدف: *افزایش میزان استرس اکسیداتیو یکی از عوامل آسیب‌رسان در ساختار و عملکرد سلولی می‌باشد و بافت‌هایی نظیر قلب که تقسیم سلولی ندارند، نسبت به سایرین بیشتر به آسیب‌های حاصله از استرس‌های اکسیداتیو حساس هستند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات آپوپتوزیس طی افزایش سن در کاردیومیوسیت‌های موش صحرائی بود.*

روش بررسی: *در این پژوهش تجربی چهل و هشت موش صحرایی (رت) نر سه ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزن۱۴±۲۳۰ گرم بصورت تصادفی انتخاب و در چهار گروه ۱۲ تایی و در سنین ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ ماهگی تقسیم شدند. قلب ۶ رت جهت بررسی آپوپتوزیس به روش تانل جدا گردیده و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید. قلب ۶ رت دیگر نیز جدا شده و با Ice-cold saline شستشو و سپس هوموژنیزه گردیده و سوپرناتانت جهت بررسی میزان آپوپتوزیس با استفاده از روش الایزا مورد استفاده قرار گرفت.*

یافته‌ها: *نتایج حاصل از بررسی آپوپتوزیس به روش الایزا و تانل حاکی از افزایش میزان سلول‌های آپوپتوتیک با افزایش سن در دو گروه ۱۲ و ۱۵ماهه در مقایسه با گروه ۶ ماهه بود (به ترتیب $p<0/05$ و $p<0/01$). در بررسی آپوپتوزیس به روش تانل، افزایش معنی‌دار میزان آپوپتوزیس در گروه ۹ ماهه در مقایسه با گروه ۶ ماهه مشاهده شد ($p<0/05$).*

نتیجه‌گیری: *یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که سن حیوانات فاکتور مهمی در افزایش آپوپتوزیس بافت قلب می‌باشد.*

واژگان کلیدی: *آپوپتوزیس، قلب، موش صحرائی، پیری.*

مقدمه

آپوپتوزیس فرآیندی بیولوژیک است که اساساً از کرم‌ها به پستانداران رسیده است (۳-۱) و به شدت توسط یک برنامه خودکشی کدگذاری شده داخلی که مستلزم تنظیم هماهنگ ژن‌های اختصاصی است، تنظیم می‌شود (۴). چندین ویژگی مورفولوژیکی مشخص آپوپتوزیس را تعریف می‌کنند که شامل چروکیدگی سلول، متراکم شدن کروماتین، تجزیه DNA در فواصل بین نوکلئوزومی و تشکیل اجسام آپوپتوتیک است (۵).

ضرورت رخداد آپوپتوزیس در ارگانیسم‌های پرسلولی بطور گسترده‌ای پذیرفته شده است، زیرا این فرآیند برای هوموستازسلولی مورد نیاز بوده و بدین شکل نقش غیرقابل اجتنابی در رشد جنینی، تجدید شرایط پایدار بافت و دفاع ایمونولوژیک ایفا می‌کنند (۶). به علاوه ثابت شده است که در چندین حالت پاتولوژیک نظیر تومورژنز، بیماری‌های خودایمنی، بیماری‌های دژنراتیو عصبی، عفونت‌های ویروسی و ایدز اختلالاتی در تنظیم آپوپتوزیس رخ می‌دهد (۹-۶).

تاکنون مطالعات کمی به بررسی وقوع آپوپتوزیس در عضلات قلبی افراد بالغ پرداخته‌اند و جهت توجیه قطعی نقش عملکردی یا فیزیولوژیک آپوپتوزیس در سلول‌های عضلانی در افراد سالم جوان انجام نپذیرفته است (۱۲-۱۰). به همین

آدرس نویسنده مسئول: تبریز: گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، دکتر یوسف دوستار (email: vetdoustar@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۱۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۵/۱۸

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-09-06]

شکل هنوز مشخص نیست به چه اندازه‌ای آپوپتوزیس در چنین بافت‌هایی رخ می‌دهد. با اینحال آپوپتوزیس در حالات متعدد فیزیولوژیک و پاتولوژیک عضله قلبی نظیر پیری(۱۳-۱۱)، استرس‌های فیزیکی شدید (۱۴)، ایسکمی- خونرسانی مجدد (۱۶،۱۵) و نارسایی قلبی (۱۸،۱۷) رخ می‌دهد.

با پیشرفت سن از پتانسیل ضربانی و میزان کارایی بافت قلب (تغییرات فشار سیستولیک و کاهش پتانسیل ترمیمی) کاسته می‌گردد. اغلب در سنین پیری، بطن چپ دچار هیپرتروفی گشته و این امر باعث کاهش قطر داخلی بطن چپ و برون ده قلب می‌گردد. تجمع فراوان ماتریکس خارج سلولی در بافت قلب متعاقب مرگ سلول‌های قلبی اتفاق میافتد و این موضوع باعث می‌شود سلول‌های باقی‌مانده دچار یک هیپرتروفی جبرانی گردند، در این حالت بر خلاف قلب ورزشکاران تعداد سلول‌های قلبی کمتر شده و این موضوع باعث کاهش قابل توجهی در برون‌ده قلب و کارایی آن می‌گردد (۱۹). پیری یک موضوع بسیار مهم و مرتبط با کارایی ارگان‌های بدن موجودات زنده می‌باشد و با پیشرفت سن موجود زنده تحت تاثیر فاکتورهای مختلف نظیر پرتوها، مواد شیمیائی و مخصوصا استرس‌های اکسیداتیو با منشا، داخلی و خارجی قرار می‌گیرد (۲۳-۲۰) و احتمال اینکه تعداد کثیری از سلول‌های قلبی دچار آپوپتوزیس گردند وجود دارد، بطوری که نتایج مطالعات کاژسترا نشانگر افزایش۲۰۰ درصدی آپوپتوزیس در قلب موش‌های ۲۴ ماهه در مقایسه با رت‌های ۱۲ ماهه بود (۲۴). بنابراین بررسی تغییرات مرگ سلولی در بافت قلب متعاقب پیشرفت سن از اهمیت بالائی برخوردار است. هدف از این بررسی تعیین میزان آپوپتوزیس طی افزایش سن در کاردیومیوسیت‌های بطنی قلب موش صحرایی بود.

مواد و روشها

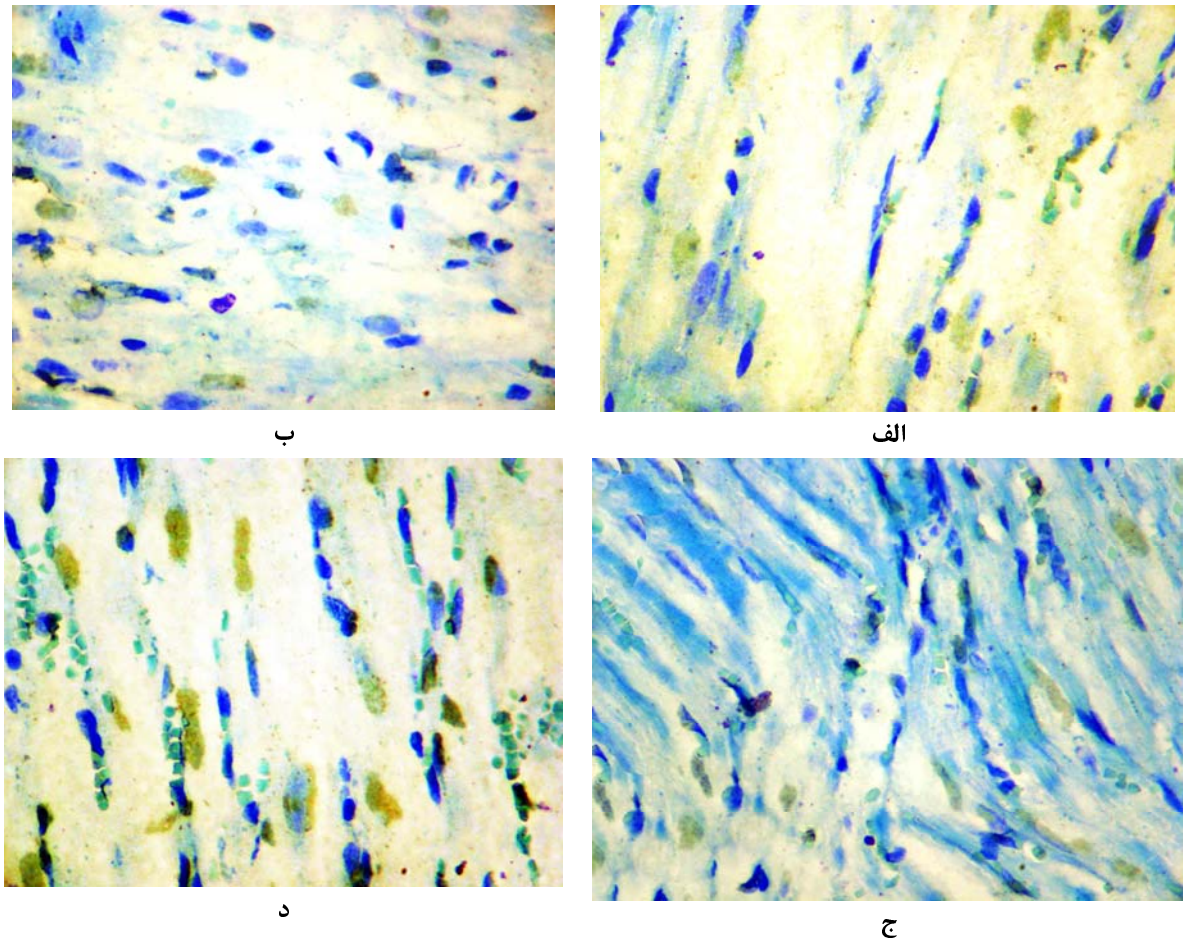
دراین مطالعه تجربی، ۴۸ موش صحرایی نر سه ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزن ۱۴±۲۳۰ گرم بصورت تصادفی انتخاب و در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و بدون محدودیت در آب و غذا نگهداری و قبل از دوره ۱۲ ساعته تاریکی-روشنایی (دوره روشنایی از ۸ تا ۲۰) سازگار شدند. مطالعه در چهار گروه ۱۲تایی و در سنین ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ ماهگی انجام شد. بطوری که در سنین مورد نظر، موش‌ها ابتدا بیهوش و سپس سر آنها جدا و بسرعت قفسه سینه باز گردید. قلب ۶ عدد از هر گروه جهت بررسی آپوپتوزیس به روش تانل جدا و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس و جهت انجام مرحله بعد ابتدا از عضله بطن برش عرضی تهیه و جهت بررسی‌های پاتولوژیک به آزمایشگاه ارسال گردید (۲۵). قلب ۶ رت دیگر هر گروه نیز جدا، با Ice-cold saline شستشو و سپس هوموژنیزه و سوپرناتانت جهت بررسی میزان آپوپتوزیس با استفاده از روش الایزا مورد استفاده قرار گرفت. هوموژنیزاسیون و آماده نمودن بافت طبق روش روترمال و همکاران (۲۶) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. بطوری که۵۰ میلی‌گرم از عضله بطن روی یخ در ۱ میلی‌لیتر از بافر لیز کننده سلولی(10mM NaCl، 20% glycerol، 1.5mM $MgCl_2$ ،20mM HEPES ، 0.1% Triton X-100، 1mM dithiothreitol و pH 7.4) هوموژنیزه شده و سپس برای یک دقیقه در۴ درجه سانتی‌گراد و در ۱۰۰۰ rpm سانتریفوژ و سوپرناتانت جدا گشته و به آن کوکتل مهارکننده‌های پروتئاز(104mM AEBSF، 0.08mM aprotinin، 2 mM leupeptin، 4mM bestatin، 1.5mM pepstatin A و 1.4mM E-64) محصول Sigma-Aldrich, St Louis, MO با شماره کاتالوگ P8340 اضافه گردید و تا زمان استفاده در۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

جهت بررسی میزان آپوپتوزیس به روش الایزا، از (Cell death detection ELISA kit (Cat. No: 1544675, Roche, Germany بر اساس دستور کارخانه سازنده کیت استفاده گردید. بطور خلاصه از هوموژن نمونه بعنوان منبع آنتی‌ژن در ساندویچ الایزا با یک آنتی‌بادی مونوکلونال اولیه آنتی‌هیستون موش پوشیده شده در میکروتیتر پلیت و یک آنتی بادی مونوکلونال ثانویه آنتی DNA موش مزدوج شده با پراکسیداز استفاده شد. مقدار پراکسیداز در ایمنوکمپلکس بصورت فتومتریک با انکوباسیون با-2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfonate] (ABTS) بعنوان یک سوبسترا برای ۱۰ دقیقه در ۲۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. تغییر در رنگ در طول موج ۴۰۵ نانومتر با استفاده از دستگاه Dynex MRX plate reader اندازه‌گیری شد. همه اندازه‌گیری‌ها به‌صورت دوتایی (Duplicate) و در یک روز انجام شد. جهت نشان دادن سطوح مونو و اولیگونوکلئوزوم‌های سیتوزولی، مقادیر به‌صورت OD405.mgProtein-1 بیان گردید.

تکنیک تشخیصی آپوپتوز با استفاده از کیت تانل (insitu cell death detection kit, POD، کمپانی Roche، ساخت کشور آلمان) به روش زیر انجام شد:

۱- ابتدا مقاطع تهیه شده پس از پارافین‌زدائی و آب‌دهی با پروتئیناز K مجاور و پس از انکوباسیون بمدت ۳۰ دقیقه

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-09-06]



شکل ۱- نمای ریزبینی بافت قلب موش صحرائی. در این شکل سلول‌های تانل مثبت مشاهده می‌شوند. الف: ۶ ماهه؛ ب: ۹ ماهه؛ ج: ۱۲ ماهه؛ د: ۱۵ ماهه. (رنگ‌آمیزی تانل و بزرگنمایی ۴۰)

دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشوگردیدند.

۲- مقاطع بافتی با محلول واکنش‌گر تانل به میزان ۵۰ میکرولیتر به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد مجاور گردیدند. سپس با محلول فسفات بافر شستشوداده شدند.

۳-در این مرحله مقاطع بافتی پس از انکوباسیون با محلول کانورتر (۵۰ میکرو لیتر) بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو و سپس با محلول دی آمینو بنزیدین تتراکلراید نیز مجاور گشته و بمدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۵ سانتی گراد مجددا انکوبه گردیدند.

۴- سپس برش‌ها با فسفات بافرشستشو و با تولوئیدین‌بلو رنگ‌آمیزی شدند (۱۰،۱).

جهت بررسی کمی سلول‌های آپوپتوتیک، در ۵ میدان میکروسکوپی بطور تصادفی تعداد سلول‌های آپوپتوتیک تعیین و میانگین آنها بعنوان نسبت سلول‌های آپوپتوتیک به کل سلول‌های بطن چپ قلب بیان شد.

داده‌های گروه‌های چهارگانه با کمک نرم‌افزار SPSS 13.0 و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون Tukey تحلیل شدند.

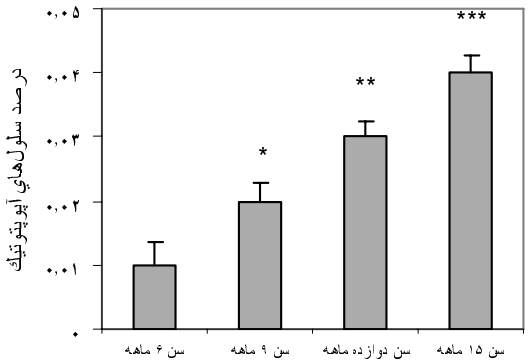
یافته‌ها

مطالعات میکروسکوپی در مقاطع بافتی گروه‌های مورد آزمایش نشان دادند که با پیشرفت سن روند مرگ سلولی از نوع آپوپتوزیس افزایش می‌یابد. این سلول‌ها از نظر دید میکروسکوپی دارای هسته متراکم، کاریورکتیک و شکل‌گیری هلال کروماتینی بودند. به علت شکل‌گیری فراگمانتاسیون DNA به صورت فراگمانت‌های ۲۰ الی ۱۸۰ جفت بازی، واکنش این سلول‌ها به ترکیب با دی‌آمینوبنزیدین تتراکلراید مثبت و به رنگ قهوه‌ای روشن مشاهده گردیدند. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با پیشرفت سن حضور سلول‌های تانل مثبت در مقاطع بافت قلب افزایش می‌یابد. آنچه که مسلم است احتمالا تغییرات دیگری نیز در ساختار سلول‌های

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-09-06]

قلبی وجود دارد، اما مطالعات فراساختاری نیاز است تا این موارد مشخص را نماید.

در روش الایزا، سطوح مونو و اولیگونوکلئوزوم‌های سیتوزولی با پیشرفت سن افزایش معنی‌داری را نشان داد (نمودار ۱). نتایج حاصل از بررسی آپوپتوزیس به روش الایزا، حاکی از رخداد بیشتر آپوپتوزیس با افزایش سن در هر دو گروه ۱۲ و ۱۵ ماهه در مقایسه با گروه ۶ ماهه بود (به ترتیب $p<0/05$ و $p<0/01$). بررسی آپوپتوزیس به روش تانل، افزایش معنی‌دار آپوپتوزیس گروه ۹ ماهه را در مقایسه با گروه ۶ ماهه نشان داد ($p<0/05$).



نمودار ۱- میزان آپوپتوزیس در قلب موش صحرائی بر اساس روش الایزا. مقادیر بصورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شده است. *($p<0/05$) در مقایسه با گروه ۶ ماهه.

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که با پیشرفت سن میزان مرگ سلول‌های قلبی افزایش می‌یابد. با مقایسه نتایج سایر مطالعات دلایل مختلف در بروز این تغییر بافتی تا حدودی قابل بحث و تفسیر می‌باشد. پیری پروسه بسیار پیچیده‌ای است و تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، تغییر در سیستم عروق کرونری و ماتریکس خارج سلولی همه در بروز دو الگوی مهم مرگ سلولی نظیر آپوپتوزیس و نکروزیس دخیل هستند.

لاکاتا و همکاران در سال ۱۹۸۷، اورابانک و همکاران در سال ۲۰۰۳ و لری و همکاران در سال ۲۰۰۳ به این نتیجه رسیدند که در سلول‌های پیر بافت قلب، میزان بیان ژن‌های P16/INK4A و P53 افزایش می‌یابد که بدلیل تغییرات در آنزیم تلومراز، سلول روند پیری گرفته و الگوی مرگ سلولی به شکل آپوپتوزیس بارز می‌گردد (۲۷-۲۵). بادی یاک و همکاران در سال ۲۰۰۲ به این نتیجه رسیدند که بیان ژن‌های مولد پروتئین‌های شوک حرارتی HSP70 و هموآکسیژناز افزایش یافته و باعث تغییرات عملکردی در طول زنجیره‌های تنفسی میتوکندریائی نظیر کاهش بیان سیتوکروم C و نشت الکترون‌ها و نهایتا آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد (۲۸). پارک و همکاران در سال ۲۰۰۵ به این نتیجه رسیدند که در سلول‌های پیر بافت قلب میزان سیگنال‌های القاگر مرگ مرتبط با میتوکندری‌ها افزایش می‌یابد (۲۹). پاندیا و همکاران در سال ۲۰۰۶ و ناگ و همکاران در سال ۱۹۸۶ بیان نمودند که در زمان پیری به علت کاهش بیان و عملکرد آنزیم- Sarcoplasmic Reticulum ca^{++} ATPase و کاهش بیان Survivin و BCL2 القاء آپوپتوزیس اتفاق می‌افتد (۳۱،۳۰). با توجه به نتایج سایر دانشمندان در زمینه استرس‌های اکسیداتیو و آپوپتوزیس بافت قلب در دوران پیری، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بطور قطع از حدود ۱۲ ماهگی یعنی حدود میانسالی، میزان آپوپتوزیس به شکل قابل توجهی در قلب افزایش می‌یابد که احتمالا به علت آفزایش استرس اکسیداتیو، افزایش بیان ژن‌های مولد P16/INK4A و P53 و کاهش بیان BCL2 می‌باشد (۳۳،۳۲). فانگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ ، یانگ، پورسل، تسوچیتا و همکارانشان در سال‌های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ (۳۲، ۳۶-۳۴) نیز نتایج مشابهی را بدست آوردند و بیان نمودند که متالوتیونین‌ها با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانتی در سلول‌های پیر بافت قلب کاهش یافته و باعث مرگ سلول قلبی از طریق افزایش میزان رادیکال‌های آزاد حاصله از واکنش فنتون می‌گردند. هم‌چنین کاهش آنزیم‌های PKC,AKT و AP1 و افزایش پروتئین‌های مهار کننده سیکل سلولی P21 و P16 باعث مرگ سلول‌های قلبی در زمان پیری می‌گردند. تغییرات در مورفولوژی هسته سلول‌های قلبی که به علت نقص در فیلامان‌های بینابینی C و A که جزء مهم داربست هسته سلول می‌باشد، باعث روشن شدن سیگنال‌های ترمیمی گشته و در اغلب موارد سیگنال‌های مرگ آپوپتوتیک غالب و مرگ سلول اتفاق می‌افتد (۳۸،۳۷). نقص و کاهش پروتئین CONNEXIN-43 که در اتصالات سلول‌های قلبی نقش بسیار تعیین کننده‌ای دارد، بلافاصله با از بین رفتن اتصال بین سلولی سیگنال‌های مرگ سلول از طریق ایجاد سیگنال‌های داخلی اتفاق می‌افتد (۳۲، ۳۶-۳۴). دامنی‌گتی و همکاران وی نیز در سال ۲۰۰۵ به این نتیجه رسیدند که تغییرات در غشاء سلول‌های پیر بافت قلب اعم از کاهش خاصیت ارتجاعی به همراه تغییر در سیگنال‌های آدرنرژیک و آنژیوتانسین نهایتا ممکن است سلول را در مسیر مرگ آپوپتوتیک با منشاء داخلی قرار بدهد، با اینکه در نتایج ما به بررسی سیگنال‌های آدرنرژیک،

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-09-06]

آنژیوتانسین و تغییرات غشاء سلول پرداخته نشده است، اما باید این نتایج را در تفسیر افزایش سلول‌های آپوپتوتیک با پیشرفت سن و پیری یادآور شد (۳۹). با مقایسه نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات لایسی و همکاران در سال ۲۰۰۵ این احتمال داده می‌شود که علت افزایش سلول‌های آپوپتوتیک در موش‌های مسن کاهش دفاع اکسیدانتی باشد که گاهی اوقات دلیل آن تغییر در تحت واحدهای پروتئین‌های P47 Phox و P91 Phox وابسته به NADPH OXIDASE سلول‌های قلبی می‌باشد (۳۳).

امروزه مشخص شده است که در بافت‌های غیرقابل تجدید نظیر قلب، افزایش آپوپتوزیس با کاهش توده سلولی و کاهش عملکرد قلب همراه است (۴۰). از طرف دیگر مطالعات زیادی نشان داده‌اند که عوامل مختلفی نظیر سن، ورزش‌های سنگین و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها باعث افزایش استرس اکسیداتیو در قلب می‌شوند و می‌توانند باعث توسعه آپوپتوزیس گردند (۱۴-۱۱). اگرچه تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی میزان آپوپتوزیس طی روند افزایش سن صورت نگرفته است، ولی با استناد از نتایج سایر دانشمندان (افزایش و کاهش بیان ژن‌های مولد آپوپتوزیس در زمان پیری) و مقایسه نظرات آنها با نتایج مطالعه حاضر، بنظر می‌رسد علت افزایش میزان آپوپتوزیس طی روند افزایش سن بیشتر بدلیل افزایش میزان تاثیر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ضعف دفاع آنتی‌اکسیدانتی در زمان پیری باشد (۲۸،۴۰). با توجه به اینکه قلب یک بافت به شدت اکسیداتیو می‌باشد، لذا قابل توجیه است که احتمالاً وقوع آپوپتوزیس عضله قلب در مقایسه با بافت‌های دیگر بدن بیشتر باشد. بنابراین به علت افزایش معنی‌دار میزان آپوپتوزیس در بافت قلب از سنین میانسالی توجه بیشتر به مواد آنتی اکسیدان نظیر ویتامینA و E ضروری بنظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحدتبریز تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Ellis RE, Yuan JY, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. Ann Rev Cell Biol 1999;7:663–98.
2. Yuan J. Molecular control of life and death. Curr Opin Cell Biol 1995;7:211–14.
3. Yuan J. Evolutionary conservation of a genetic pathway of programmed cell death. J Cell Biochem 1996;60:4–11.
4. Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. Science 1995;267:1445–49.
5. Kerr JF, Wyllie AH, Currie A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972;26:239–57.
6. Thompson C B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995;267:1456–62.
7. Duke RC, Ojcius DM, Young JD. Cell suicide in health and disease. Sci Am 1996;275:80–87.
8. Williams GT. Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. Cell 1991;65:1097–98.
9. Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. Nature 2000;407:802–809.
10. Ye H, Cande C, Stephanou NC, Jiang S, Gurbuxani S, Larochette N, et al. DNA binding is required for the apoptogenic action of apoptosis inducing factor. Nat Struct Biol 2002;9:680–84.
11. Dirks A, Leeuwenburgh C. Apoptosis in skeletal muscle with aging. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2002;282:R519–R27.
12. Burgess DH, Svensson M, Dandrea T, Gronlund K, Hammarquist F, Orrenius S, et al. Human skeletal muscle cytosols are refractory to cytochrome cdependent activation of type-II caspases and lack APAF-1. Cell Death Differ 1999;6:256–61.
13. Pollack M, Phaneuf S, Dirks A, Leeuwenburgh C. The role of apoptosis in the normal aging brain, skeletal muscle, and heart. Ann N Y Acad Sci 2002;959:93–107.
14. Sandri M, Carraro U, Podhorska-Okolov M, Rizzi C, Arslan P, Monti D, et al. Apoptosis, DNA damage and ubiquitin expression in normal and mdx muscle fibers after exercise. FEBS Lett 1995;373:291–95.
15. Gottlieb RA, Burleson KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. J Clin Invest 1994;94:1621–28.
16. Suzuki H, Poole DC, Zweifach BW, Schmid-Schonbein GW. Temporal correlation between maximum tetanic force and cell death in postischemic rat skeletal muscle. J Clin Invest 1995;96:2892–97.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-09-06]

17. Adams V, Jiang H, Yu J, Mobius-Winkler S, Fiehn E, Linke A, et al. Apoptosis in skeletal myocytes of patients with chronic heart failure is associated with exercise intolerance. J Am Coll Cardiol 1999;33:959–65.

18. Sharov VG, Sabbah HN, Shimoyama H, Goussev AV, Lesch M, Goldstein S. Evidence of cardiocyte apoptosis in myocardium of dogs with chronic heart failure. Am J Pathol 1996;148:141–49.

19. Anversa P, Hiler B, Ricci R, Guideri G, Olivetti G. Myocyte cell loss and myocyte hypertrophy in the aging rat heart. J Am Coll Cardiol 1986;8: 1441-48.

20. Anversa P, Palackal T, Sonnenblick EH, Olivetti G, Meggs LG, Capasso JM. Myocyte cell loss and myocyte cellular hyperplasia in the hypertrophied aging rat heart. Circ Res 1990; 67: 871-85.

21. Olivetti G, Giordano G, Corradi D, Melissari M, Lagrasta C, Gambert SR, et al. Gender differences and aging: effects on the human heart. J Am Coll Cardiol 1995; 26: 1068-79.

22. Olivetti G, Melissari M, Capasso JM, and Anversa P. Cardiomyopathy of the aging human heart. Myocyte loss and reactive cellular hypertrophy. Circ Res 1991; 68: 1560-68.

23. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Cytochrome c release from mitochondria in the aging heart: a possible mechanism for apoptosis with age. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2002; 282: R423-R30.

24. Kajstura J, Cheng W, Sarangarajan R, Lim P, Li B, Nitahara JA, et al. Necrotic and apoptotic myocyte cell death in the aging heart of Fischer 344 rats. Am J Physiol 1996; 271: H1215-H28.

25. Domenighetti AA, Wang Q, Egger M, RichardsSM, Pedrazzini T, Delbridge LM. Angiotensin II-mediated phenotypic cardiomyocyte remodeling leads to age-dependent cardiac dysfunction and failure. Hypertension 2005; 46: 426–32.

26. Li SY, Du M, Dolence EK, Fang CX, MayerGE, Ceylan-Isik AF, et al. Aging induces cardiac diastolic dysfunction, oxidative stress, accumulation of advanced glycation end products and protein modification. Aging Cell 2005; 4: 57–64.

27. Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fibre specific. Am J Physiol 1997; 272: R363–R69.

28. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 10440–45.

29. Leri A, Franco S, Zacheo A, Barlucchi L, ChimentiS, Limana F, et al. Ablation of telomeraseand telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53upregulation. EMBO J 2003; 22: 131–39.

30. Bodyak N, Kang PM, Hiromura M, SulijoadikusumoI, Horikoshi N, Khrapko K, et al. Gene expression profiling of the aging mouse cardiac myocytes. Nucl Acids Res 2002; 30: 3788–94.

31. Park SK, Prolla TA. Gene expression profiling studies of aging in cardiac and skeletal muscles. Cardiovasc Res 2005; 66: 205–12.

32. Fang CX, Doser TA, Yang X, Sreejayan N, Ren J. Metallothionein antagonizes aging induced cardiac contractile dysfunction: role of PTP1B, insulin receptor tyrosine phosphorylation and Akt. Aging Cell 2006; 5: 177–85.

33. Tsujita Y, Muraski J, Shiraishi I, Kato T, KajsturaJ, Anversa P, et al. Nuclear targeting of Akt antagonizes aspects of cardiomyocyte hypertrophy. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 11946–51.

34. Pandya K, Kim HS, and Smithies O. Fibrosis, notcell size delineates beta-myosin heavy chain reexpression during cardiac hypertrophy and normal aging in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 16864–69.

35. Nag AC, Cheng M. Biochemical evidence forcellular dedifferentiation in adult rat cardiac muscle cells in culture: expression of myosin isozymes. Biochem Biophys Res Commun 1986; 137: 855–62.

36. Yang X, Doser TA, Fang CX, Nunn JM, JanardhananR, Zhu M, et al. Metallothionein prolongs survival and antagonizes senescence-associated cardiomyocyte diastolic dysfunction: role of oxidative stress. FASEB J 2006; 20: 1024–26.

37. Jin H, Yang R, Li W, Lu H, Ryan AM, Ogasawara AK, et al. Effect of exercise training on cardiac function, gene expression and apoptosis in rat. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000; 279: H2994-H3002.

38. Rothermel B, Vega RB, Yang J, Wu H, Bassel-Duby R, Williams RS. A protein encoded within the Down syndrome critical region is enriched in striated muscles and inhibits calcineurin signaling. J Biol Chem 2000; 275: 8719–25.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-09-06]

39. Purcell NH, Wilkins BJ, York A, Saba-El-Leil MK, Meloche S, Robbins J, et al. Genetic inhibition of cardiac ERK1/2 promotes stress-induced apoptosis and heart failure but has no effect on hypertrophy invivo. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104:14074–79.

40. Lakatta EG. Why cardiovascular functionary decline with age. Geriatrics 1987; 42: 84–87.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-09-06]