Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Effect of eight weeks high intensity interval training on NRF-1, 2 and Tfam gene expressione levels in ST muscles in rats with myocardial infarction

Mehran Gahramani[1*], Sara Karbalaeifar[2]

[1]Department of Exercise Physiology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
[2]Department of Physical Education University of Tehran, Kish International Campus, Kish, Iran
*Corresponding author; E-mail: Mehran.physiology@gmail.com

Received: 24 May 2019 Accepted: 14 July 2019 First Published online: 19 Dec 2019
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 February- March; 41(6):75-82

Abstract

Background: One of the side effects of myocardial infarction is the changes in slow contraction muscle phenotype to fast contraction due to decreased mitochondrial density. Mitochondrial biogenesis with its ability to create new mitochondria and increase mitochondrial density can minimize these complications. NRF-1,2 and Tfam are proteins that affect mitochondrial biogenesis that induces mitochondrial biogenesis by regulating mitochondrial DNA in the nucleus. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of high intensity interval training on expression of NRF-1,2 and Tfam genes in the rats with myocardial infarction.

Methods: In this experimental study, which was done experimentally, 12 Wistar male rats with myocardial infarction were divided into two experimental groups (30 minutes on a treadmill on a regular basis and 4 minutes running with a severity of 90-85% VO2max and two minutes of active recovery with 50% -60% VO2max three days a week for eight weeks) and control (without exercise). The expression of NRF-1,2 and Tfam genes was studied as an effective factor in downstream mitochondrial biogenesis. Statistical data were analyzed with independent T test in spss18 ($\alpha \geq 0.05$).

Results: The results showed that the expression of NRF-1, NRF-2 and Tfam genes increased significantly (in at all $P \leq 0.001$).

Conclusion: Generally, eight weeks of high intensity interval training increase mitochondrial biogenesis in slow muscle of myocardial infarction rats with effect on NRF-1, NRF-2 and Tfam genes.

Keyword: Gene expression, NRF-1,2, Tfam

How to cite this article: Gahramani M, Karbalaeifar S. [Effect of eight weeks high intensity interval training on NRF-1,2 and Tfam gene expressione levels in ST muscles in rats with myocardial infarction]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 February- March; 41(6):75-82. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن NRF-1,2 و Tfam عضله کند انقباض رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد

مهران قهرمانی[۱*]، سارا کربلایی‌فر[۲]

۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران
۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، پردیس بین‌الملل کیش، کیش، ایران
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: mehran.physiology@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۸/۳/۳ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۸/۹/۲۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی– درمانی تبریز. بهمن و اسفند ۱۳۹۸؛ ۴۱(۶):۷۵–۸۲

چکیده

زمینه: یکی از عوارض انفارکتوس میوکارد تغییر فنوتیپ عضلات اسکلتی کند به تند انقباض در اثر کاهش تراکم میتوکندری می‌باشد. بیوژنز میتوکندریایی با ایجاد و افزایش تراکم میتوکندری می‌تواند این عوارض را به حداقل برساند. NRF-1,2 و هم‌چنین Tfam از پروتئین‌های موثر بر بیوژنز میتوکندریایی بوده که با تنظیم DNA میتوکندری در هسته بیوژنز میتوکندریایی را القا می‌کنند. لذا هدف از این پژوهش بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر مقادیر بیان ژن‌های NRF-1,2 و Tfam عضله کند انقباض در رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد بود.

روش‌کار: در این پژوهش آزمایشگاهی و به روش تجربی ۱۲ رت نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای مبتلا به انفارکتوس میوکارد در دو گروه تجربی (۳۰ دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت ۸۵–۹۰ درصد VO2max و دو دقیقه بازیافت فعال با شدت ۵۰–۶۰ درصد VO2max سه روز در هفته و به مدت هشت هفته) و کنترل (بدون تمرین) قرار گرفتند. بیان ژن‌های NRF-1,2 و Tfam به‌عنوان عوامل موثر پایین دستی بیوژنز میتوکندریایی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با آزمون آماری تی مستقل و با استفاده از spss18 تجزیه و تحلیل شد (α≤۰/۰۵).

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد بیان ژن NRF-1 و NRF-2 و Tfam به طور معناداری افزایش یافت (در همه موارد. P=۰/۰۰۱)

نتیجه‌گیری: به طور کلی هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا با تاثیر بر ژن‌های NRF-1,2 و Tfam بیوژنز میتوکندریایی را در عضلات کند انقباض رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: بیان ژن، NRF-1,2، Tfam.

نحوه استناد به این مقاله: قهرمانی م، کربلایی‌فر س. تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن NRF-1,2 و Tfam عضله کند انقباض رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی– درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۶):۷۵–۸۲

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

سکته قلبی یا انفارکتوس میوکارد (MI or Myocardial infraction)، عبارت است از، انهدام و مرگ سلولی دائم و غیرقابل برگشت بخشی از عضله قلب که به علت از بین رفتن جریان خون و وقوع یک ایسکمی شدید در آن قسمت از قلب و درنتیجه انسداد عروق تغذیه کننده عضله قلب، روی می‌دهد (۱) و علاوه بر عضله قلبی بر عضله اسکلتی نیز تاثیر می‌گذارد (۲). جریان خون در عضلات اسکلتی در اثر انفارکتوس میوکارد کاهش می‌یابد و این کاهش با توجه به میزان و اندازه ناحیه مبتلا به MI متفاوت است.

بیوژنز میتوکندریایی (Mitochondrial biogenesis) با توانایی خود در ایجاد میتوکندی جدید و افزایش تراکم میتوکندری می‌تواند این عوارض را به حداقل برساند (۳).

بیوژنز میتوکندری به فرآیندی گفته می‌شود که به وسیله‌ی آن توده‌ی میتوکندریایی سلول با قرارگیری در بستر مناسب افزایش می‌یابد (۳). تحریک الکتریکی عضله، هورمون‌های تیروئیدی، رشد و نمو و فعالیت بدنی از عوامل موثر بر بیوژنز میتوکندری هستند (۴). بیوژنز میتوکندریایی تحت تاثیر دو دسته فاکتور رونویسی قرار می‌گیرد. یک دسته فاکتورهای رونویسی درگیر در فرایند بیوژنز میتوکندریایی که رونویسی و تکثیر DNA میتوکندری را تنظیم می‌کنند و دیگری فاکتورهای رونویسی که ژن‌های میتوکندری کدگذاری شده در DNA هسته را تنظیم می‌کنند (۴) که از جمله این عوامل می‌توان به NRF-1,2 (Nuclear respiratory factor ½)، گیرنده‌های مربوط به استروژن (ERR)، و PGC-1α (Peroxisome-proliferator activated receptor γ coactivator) و Tfam (Mitochondrial transcription factor A or mtTFA) اشاره کرد (۴).

PGC-1α فعال کننده نسخه برداری و فاکتور اصلی در بیوژنز میتوکندریایی است و در تولید NRF-1,2 و Tfam مستقیما دخالت دارد.

NRF-1 نقش حیاتی در هماهنگی بیان ژن میتوکندری و هسته دارد و منجر به بیان ژن‌های Tfam و TFB1M (Mitochondrial) و TFB2M (Transcription Factor B2, Mitochondrial) می‌شود (۵). NRF-2 نیز دومین فاکتور حیاتی رونویسی است و بیان پروتئین‌های درگیر در بیوژنز و عملکرد میتوکندری را تنظیم می‌کند. ژن هدف آن شامل تمام زیرمجموعه‌های کمپلکس IV تنفسی، Tfam و گروه پروتئینی درگیر در تکثیر و رونویسی میتوکندری می‌باشد (۵).

Tfam دیگر پروتئین موثر بر بیوژنز میتوکندریایی بوده که با ورود به میتوکندری باعث تنظیم DNA میتوکندری و ژن‌های میتوکندری کدگذاری شده در هسته می‌شود و در نهایت بیوژنز میتوکندریایی را القا می‌کند (۶).

نقش فعالیت بدنی منظم در سلامتی به‌خوبی اثبات شده است و هم‌چنین شواهد نشان می‌دهند شدت تمرین عامل اصلی فعال شدن PGC-1α به‌عنوان کانون اصلی بیوژنز میتوکندریایی در عضله اسکلتی می‌باشد (۷). اما هنوز شدت مناسب فعالیت و ساز و کار و مسیرهای سیگنالینگ تاثیرگذاری آن‌ها در پرده ابهام است به طوری‌که نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد PGC-1α در تمرین تداومی با شدت پایین افزایش می‌یابد (۷، ۸) که احتمالا ناشی از افزایش بیان ژن‌های هسته میتوکندری و چندین ژن میتوکندریایی می‌باشد (۹) هم‌چنین نتایج برخی پژوهش‌ها حاکی از تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر افزایش بیان PGC-1α mRNA می‌باشند (۹، ۱۰). در اغلب پژوهش‌های پیشین به بررسی نقش PGC-1α در افزایش تراکم میتوکندری پرداخته شده است و تاثیر سایر عوامل پایین دستی تحت تاثیر PGC-1α از جمله NRF-1,2 و Tfam که نقش مهمی در بیوژنز میتوکندریایی دارند مورد بررسی قرار نگرفته است.

به تازگی، تمرینات تناوبی با شدت بالا (High intensity interval training or HIIT) مورد توجه پژوهشگران حیطه سلامت قرار گرفته‌اند. در رابطه با HIIT گزارش شده است، هنگام HIIT، هایپوکسی ایجاد می‌شود (۱۱). هم‌چنین Truijens و همکاران (۱۲) نیز در پژوهش خود ایجاد هایپوکسی را هنگام HIIT گزارش کرده است (۱۲). هایپوکسی از عوامل موثر در افزایش بیان مقادیر PGC-1α است (۱۳). از طرفی نقش HIIT بر هایپرتروفی عضله که از عوامل اصلی محرک افزایش بیان PGC-1α محسوب می‌شود نیز اثبات شده است (۱۴). این تمرین محرکی قوی برای سازگاری‌های قلبی–عروقی و عضلانی می‌باشند و باعث افزایش VO2max، متابولیسم، افزایش عملکرد ورزشی، کاهش استفاده از کربوهیدرات و اتکا به چربی، بهتر شدن عملکرد انسولین، کاهش فشارخون و در بیماران قلبی و پرفشار خونی باعث بهتر شدن آمادگی قلبی–عروقی می‌شوند (۱۵). با توجه به تاثیر این شیوه تمرینی بر افزایش توده عضله اسکلتی و هایپرتروفی عضلانی (۱۴) و مطالب ارائه شده در ارتباط با عوامل موثر بر فرایند بیوژنز میتوکندریایی هنگام فعالیت ورزشی و نتایج تحقیقات گذشته مبنی بر ارتباط مثبت و معنادار بین HIIT و این عوامل، می‌توان امیدوار بود این شیوه تمرینی بر تحریک عوامل موثر بر بیوژنز میتوکندریایی موثر باشد. در ارتباط با تاثیر فعالیت‌های هوازی بر فرایند بیوژنز میتوکندریایی، مطالعات گسترده‌ای انجام شده که اغلب آن‌ها به تاثیر مثبت فعالیت‌های هوازی بر این فرایند اشاره دارند (۱۶، ۱۷). در این بین، تاثیر HIIT با توجه به ماهیت این شیوه تمرینی بر فرایند بیوژنز میتوکندریایی در عضله کند انقباض و به‌طور خاص در مبتلایان به انفارکتوس میوکارد مستقیما پژوهشی انجام نشده است. Hoshino و همکاران (۱۸) به بررسی اثر چهار

هفته HIIT بر تغییرات آنزیم‌های میتوکندریایی در عضلات قرمز و سفید رت‌ها پرداختند. پروتکل تمرینی شامل پنج روز در هفته دویدن با شدت ۳۰ تا ۵۵ متر در دقیقه در ۱۰ ست تناوبی به مدت یک دقیقه و دو دقیقه استراحت به مدت چهار هفته و پنج روز در هفته با شدت ۳۰ تا ۵۵ متر در دقیقه بود. نتایج بیانگر افزایش بیشتر PGC-1α در عضله قرمز (۲۲ درصد) به نسبت عضله سفید (۶۶ درصد) بود (۱۸).

Little و همکاران (۹) نیز در پژوهش خود بیان کردند یک جلسه HIIT در قالب تست دوچرخه وینگیت (چهار ست ۳۰ ثانیه‌ای با چهار دقیقه استراحت بین هر ست) بیان ژن PGC-1α را در عضله اسکلتی بیوپسی شده آزمودنی‌های مرد سالم تا ۲۵درصد افزایش می‌دهد (۹). بیان PGC-1α در پاسخ به کلسیم و سیگنالینگ ناشی از تحریک عصبی است که از طریق فعال‌سازی CaMKIV و کلسی‌نورین A(canA) صورت می‌گیرد (۹). در داخل کشور نیز Azizi و همکاران (۱۹) در پژوهش خود بیان می‌دارد که دو ماه تمرین تناوبی شدید (سه روز در هفته) با شدت ۱۲۰ درصد سرعت بیشینه موجب افزایش معنی‌دار PGC-1α در سطح سرمی آزمودنی‌های زن دارای اضافه وزن می‌شود (۱۹).

در پژوهشی با عنوان اثر تمرین ورزشی تناوبی شدید بر بایومارکرهای بیوژنز میتوکندریایی عضلانی در رت‌های نر تاثیر سه هفته HIIT بر بیان ژن‌های PGC-1α و Tfam را مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از افزایش مقادیر بایومارکر بیوژنز میتوکندریایی PGC1-α و Tfam در رت‌ها به طور معناداری بود (۲۰).

با توجه به نتایج پژوهش‌های پیشین و با توجه به محدود بودن اطلاعات در مورد تغییرات عوامل محرک بیوژنز میتوکندریایی در اثر انفارکتوس میوکارد در عضله اسکلتی و هم‌چنین مبهم بودن ساز و کار احتمالی تاثیرگذاری تمرین‌های HIIT بر این فرایند و نیز عدم بررسی NRF-1,2 و Tfam به‌عنوان عوامل پایین دستی موثر در بیوژنز میتوکندریایی در هیچ یک از پژوهش‌های پیشین، ضرورت انجام این‌گونه پژوهش‌ها بیشتر آشکار می‌شود. لذا انتظار می‌رود نتایج چنین پژوهش‌هایی در گسترش دانش بشری و شناخت بهتر عوامل موثر بر بهبود عملکرد میتوکندریایی مبتلایان به MI کمک کننده باشد و زمینه‌ساز بهبود کیفیت زندگی آن‌ها شود. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی این موضوع است که:

آیا هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا به‌عنوان متغیر مستقل در رت‌های مبتلا به MI، بر ظرفیت بیوژنز میتوکندریایی عضله کند انقباض و برخی عوامل اصلی موثر بر آن مثل، NRF-1,2 و Tfam به‌عنوان متغیرهای وابسته موثر خواهد بود؟

روش‌کار

در این پژوهش آزمایشگاهی که به روش تجربی انجام شد، تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر میزان بیان ژن‌های NRF-1,2 و Tfam به‌عنوان عوامل منتخب بیوژنز میتوکندریایی در رت‌های نژاد ویستار پس از ابتلا به MI مورد بررسی قرار گرفت.

۱۲ رت نر نژاد ویستار با سن ۱۰ هفته به‌عنوان نمونه آماری از موسسه واکسن‌سازی رازی خریداری شدند. رت‌ها در قفس‌های مجزا با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی با توجه به اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH-publication) و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگه‌داری شدند. در ادامه رت‌ها تحت عمل جراحی قرار گرفته و شریان کرونری نزولی سمت چپ (Left artery descending or LAD) آن‌ها مسدود شد و به این ترتیب رت‌ها به انفارکتوس میوکارد شدید مبتلا شدند. برای اطمینان از مبتلا شدن به MI، رت به صورت بی‌هوش با دستگاه اکوکاردیوگرافی (با مارک GE Healtcare ساخت کشور آمریکا) اکوکاردیوگرافی داپلر شدند. طی این فرایند کسر کوتاه شدگی بطن چپ (Shortening fraction or FS) به‌صورت نسبی اندازه‌گیری گردید (جدول ۱). رت‌هایی که میزان FS≤35 درصد بود به عنوان رت‌های مبتلا به MI، برای این مطالعه انتخاب شدند. سپس رت‌ها به مدت دو هفته دوره بازیافت بعد از جراحی باز قلب را طی کردند. در هفته سوم و چهارم رت‌ها با تردمیل (با مارک دانش سالار ایرانیان ساخت کشور ایران) با راه رفتن آرام روی آن با سرعت پنج متر در دقیقه و به مدت پنج دقیقه در روز و چهار روز در هفته آشنا شدند. در این مرحله تمامی رت‌ها قادر به انجام فعالیت بودند و هیچ‌گونه تلفاتی نداشتند. VO2max رت‌ها توسط آزمون فعالیت ورزشی بیشینه، مطابق با فرمول و جدول مندرج در پژوهش Morten و همکاران (۲۱) Wisloff و همکاران (۲۲) و جهت برآورد سرعت اولیه دویدن رت‌ها، اندازه‌گیری شد (۲۱، ۲۲). سرعت دویدن هر رت روی تردمیل با توجه به حداکثر اکسیژن مصرفی آن به صورت انفرادی محاسبه شد. در نهایت رت‌ها به صورت تصادفی به دوگروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) گروه کنترل (CTRL) تقسیم شدند و هشت هفته پروتکل تمرینی در گروه تجربی اجرا شد. در مقابل، رت‌های گروه کنترل (مبتلا به انفارکتوس میوکارد) هیچ تمرینی انجام ندادند.

برنامه تمرینی شامل ۳۰ دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل بود که هر تناوب شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت ۸۵–۹۰ درصد VO2max و ۲ دقیقه بازیافت فعال با شدت ۵۰–۶۰ درصد VO2max بود (با توجه به پژوهش‌های پیشین در ارتباط با تاثیر HIIT بر رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد و عدم تلافات رت‌ها در مرحله اجرای پروتکل تمرین، قابل اجرا بودن این شیوه تمرینی در رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد اثبات شده است). تمرین سه روز در هفته و به مدت هشت هفته به همین شیوه اجرا شد و رت‌ها قبل از شروع فاز اصلی تمرین به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد VO2max گرم می‌کردند (۲۱). سرعت دویدن هر دو هفته تدریجی به میزان ۰.۲ متر در ثانیه (۱.۲ متر

در دقیقه) افزایش یافت (۲۲) و شیب تردمیل در کل دوره‌ی تمرینی صفر درجه بود (۲۱). پروتکل تمرین در گروه تجربی در جدول ۲ ارائه شده است. در پایان پس از هشت هفته تمرین رت‌ها توسط داروی کتامین (۱۵۰mg/kg) و زایلازین (۱۵mg/kg) بی‌هوش شده و تحت عمل جراحی قرار گرفته و نمونه‌برداری بافت عضلانی کند انقباض (سلئوس) برای اندازه‌گیری مقادیر RNA ژن‌های NRF-1,2 و Tfam توسط روش qRT-PCR انجام و توسط روش ctΔΔ کمی‌سازی شدند. لازم به ذکر است تمامی مراحل پژوهش مطابق با رعایت اصول اخلاق در پژوهش و با کد اختصاص یافته ۱۵۳ از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه انجام شده است. نمونه‌ها پس از فریز به آزمایشگاه ژنتیک انتقال داده شدند و در آن‌جا اندازه‌گیری عوامل مذکور به روش ریل تایم پی‌سی‌ار (Real time PCR) زیر انجام گرفت. ابتدا نمونه‌های NRF-1,2 و Tfam تهیه شدند و سپس RNA نمونه‌ها استخراج و جذب نوری نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد. DNA حلقوی از روی RNA سنتز و واکنش ریل تایم پی سی ار انجام شد. میزان بیان ژن‌های NRF-1,2 و Tfam در نمونه‌های گروه تجربی و گروه کنترل (توسط کیت آزمایشگاهی با مارک بیونر (Biooneer) ساخت کشور کره و دستگاه ریل تایم پی سی آر با مارک استپ وان آ بی آی (Step one ABI) ساخت کشور امریکا و پرایمر ساخت کشور آلمان) با روش Real-time PCR بررسی و توسط روش ctΔΔ کمی‌سازی شدند. برای تعیین طبیعی بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف استفاده و در صورت طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون آماری تی مستقل در سطح معناداری ۰/۰۰۵ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. داده‌های آماری جمع‌آوری شده به کمک آماری SPSS18 تجزیه و تحلیل شدند.

توالی پرایمری مرد بررسی عبارت بود از:

NRF-1
Forward: 5′- TGGCTGAAGCCACCTTACAA -3′
Reverse: 5′- ATGAACTCCATCTGGGCCATT -3′

NRF-2
Forward: 5′- TGAAAATGGGAGTTATCGGG -3′
Reverse: 5′- TGTGTTCAAGGTGGGATTTG -3′

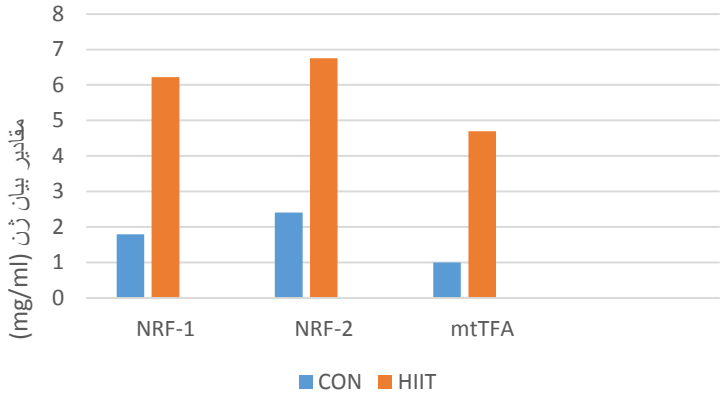
Tfam
Forward: 5′- GAAGGGAATGGGAAAGGTAGA -3′
Reverse: 5′- AACAGGACATGGAAAGCAGAT -3′

در این مطالعه از گلیسرآلدئیدفسفات‌دهیدروژناز به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد.

یافته‌ها

جدول ۱ تغییرات کسر تزریقی و کسر کوتاه شدگی در گروه‌های تجربی و کنترل را نشان می‌دهد و جدول ۲ تغییرات وزنی گروه‌های مورد مطالعه را در هر هفته از مداخله ده هفته‌ای نشان می‌دهد. میانگین شاخص NRF-1 در گروه تجربی ۳/۴۷۴ برابر بیشتر از گروه کنترل بود. میانگین NRF-2 نیز در گروه تجربی ۲/۸۱۳ برابر بیشتر از گروه کنترل بود. هم‌چنین همان‌طور که در شکل ۱ ملاحظه می‌شود میانگین شاخص Tfam در گروه تجربی ۴/۶۸ برابر بیشتر از گروه کنترل بود (شکل ۱).

جدول ۳ نشان می دهد که نتایج آزمون تی مستقل بین دو گروه کنترل و تجربی در شاخص NRF-1 اختلاف معناداری وجود دارد (**P**=۰/۰۰۱) و با توجه به جدول ۴، مقادیر NRF-1 در گروه تجربی بیشتر از گروه کنترل است و بین دو گروه کنترل و تجربی در شاخص NRF-2 نیز اختلاف معناداری وجود دارد (**P**=۰/۰۰۱) و با توجه به جدول ۴، مقادیر NRF-1 در گروه تجربی بیشتر از گروه کنترل است. همچنین بین دو گروه کنترل و HIIT در شاخص Tfam نیز تفاوت معناداری وجود دارد (**P**=۰/۰۰۱) با توجه به جدول ۴ مقادیر شاخص Tfam در گروه تجربی HIIT بیش‌تر از گروه کنترل است.



شکل ۱: میانگین مقادیر بیان ژن NRF-1 و NRF-2 و Tfam گروه تجربی و کنترل

جدول ۱: تغییرات کسر تزریقی و کسر کوتاه‌شدگی (میانگین±انحراف استاندارد) در گروه‌های تجربی و کنترل

متغیر و گروه	زمان اکوکاردیوگرافی	کسر تزریقی (٪)	کسر کوتاه‌شدگی (٪)
HIIT	یک هفته پس از جراحی	۵۹/۵۶۸±۵/۰۹۵	۲۷/۴۲۱±۳/۱۲۰
	ده هفته پس از جراحی	۷۷/۴۶۱±۷/۰۲۲	۴۱/۶۲۵±۶/۸۴۷
con	یک هفته پس از جراحی	۵۵/۸۵۰±۱۳/۷۵۸	۲۵/۶۴۳±۷/۹۶۶
	ده هفته پس از جراحی	۶۴/۴۸۳±۳/۶۹۵	۳۱/۳۲۰±۳/۴۶۰

جدول ۲: تغییرات وزنی به گرم (میانگین±انحراف استاندارد) در گروه کنترل و تجربی

گروه	HIIT	con
قبل از جراحی	۲۸۳/۳۳۳±۱۲/۹۰۹	۲۶۵/۰۰۰±۲۸/۵۰۴
هفته اول تمرین	۲۵۹/۱۶۶±۱۲/۴۱۶	۲۴۳/۰۰۰±۲۷/۲۹۴
هفته دوم تمرین	۲۸۰/۸۳۳±۹/۷۰۳	۲۵۸/۰۰۰±۲۵/۳۹۶
هفته سوم تمرین	۲۴۹/۱۶۶±۱۲/۰۰۶	۲۶۳/۰۰۰±۲۷/۷۴۸
هفته چهارم تمرین	۳۰۸/۳۳۳±۲/۴۱۲	۲۷۶/۰۰۰±۲۳/۸۲۲
هفته پنجم تمرین	۳۲۰/۸۳۳±۳۳/۲۲۹	۲۹/۰۰۰±۳۱/۴۲۴
هفته ششم تمرین	۳۲۳/۱۶۶±۲۹/۶۶۷	۳۰۱/۶۰۰±۲۴/۵۵۱
هفته هفتم تمرین	۳۳۷/۵۰۰±۳۱/۷۹۷	۳۱۱/۸۰۰±۱۸/۴۰۳
هفته هشتم تمرین	۳۵۵/۱۶۶±۲۸/۸۸۸	۳۲۱/۰۰۰±۱۷/۸۱۸

جدول ۳: نتایج آزمون تی مستقل گروه کنترل و تجربی در شاخص‌های NRF-1,2 و Tfam

شاخص	گروه	آماره آزمون (t)	درجه آزادی (df)	سطح معنی‌داری*
NRF-1	**HIIT /کنترل**	۲۱/۰۴۴	۱۰	۰/۰۰۱ *
NRF-2	**HIIT /کنترل**	۱۶/۹۶۴	۱۰	۰/۰۰۱ *
Tfam	**HIIT /کنترل**	-۱۹/۰۴۳	۵/۹۹۶	۰/۰۰۱ *

بحث

آتروفی (Atrophy) عضله اسکلتی در اثر اختلال عملکرد میتوکندری از مهم‌ترین عوارض انفارکتوس میوکارد در عضله اسکلتی و به‌ویژه تارهای کند انقباض و تغییر فنوتیپ آن‌ها به سمت تارهای تند انقباض می‌باشد (۲۳). نتایج پژوهش تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن NRF-1,2 و Tfam عضله کند انقباض رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد حاکی از تاثیر این پروتکل تمرینی بر افزایش عوامل موثر بر بیوژنز میتوکندریایی بود. گرچه پژوهشی که مستقیما به بررسی تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیوژنز میتوکندریایی در عضله کند انقباض بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد پرداخته باشد نه در داخل کشور و نه در خارج از کشور یافت نشد اما نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعات Little و همکاران (۹) و Hoshino و همکاران (۱۸) و Azizi و همکاران (۱۹) و Sharafi Dehrhm و همکاران (۲۰) همسو بود. به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر سازگاری با هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا باعث القای عوامل موثر در افزایش بیان ژن‌های NRF-1,2 و Tfam از جمله هایپوکسی و افزایش ROS شده و بدین‌وسیله بیوژنز میتوکندریای را تحریک کرده است. احتمالا تنش ناشی از تمرین تناوبی با شدت بالا به‌عنوان محرکی قوی باعث اتساع عروق و افزایش جریان خون در عضلات می‌شود و با تاثیر بر بهتر شدن رهایش کلسیم (Ca^{2+}) در اثر کاهش غلظت ATP میتوکندری، علاوه بر افزایش کلسیم سیتوزولی غلظت کلسیم ماتریکس میتوکندری را نیز سبب شده که سطح کلسیم را به حد کافی افزایش داده و دهیدروژنازهای ماتریکس را فعال می‌کند. یک کیناز اثرگذار فرودست بر مسیر پیام‌رسانی کلسیم یعنی پروتئین‌کیناز وابسته به کلسیم-کالمودولین نسخه‌برداری از DNA میتوکندری و تولید میتوکندری به همراه بیش تنظیمی آنزیم‌های میتوکندری را افزایش می‌دهد. این اثر به وسیله بیان ژنی PGC-1α انجام می‌گیرد. به‌طور کلی افزایش مقادیر CaMK و سطوح کلسیم شبکه رتیکولوم اندوساروکوپلاسمی با تاثیر بر عوامل بالادستی بیوژنز میتوکندریایی، میتوژن فعال شده با پروتئین کینازهایی از قبیل PGC-1α را توسط AMPK و CamK و NRF-1 و NRF-2 افزایش می‌دهد (۲۴). PGC-1α فعال شده توسط تمرین تناوبی با شدت بالا به فاکتور رونویسی متصل شده و بیان ژن‌های میتوکندری که در هسته واقع شده‌اند را تنظیم می‌کند و هم‌چنین در فعال‌سازی NRF-1,2 وTfam موثر بوده است (۵). Tfam تولید شده به میتوکندری وارد شده و

باعث تنظیم DNA میتوکندری و ژن‌های میتوکندری کدگذاری شده در هسته می‌شود (۶).

نتیجه‌گیری

در نهایت به نظر می‌رسد در اثر سازگاری با هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا اتصال سیس پروتئین به مجموعه جابجایی ترانس لوکاز در غشای خارجی میتوکندری (Translocase of the e or TOMouter membran) بهبود یافته است (۳، ۴). تعدادی از محافظ‌های سیتوزولی پروتئین‌های پیش‌ساز را به ترانس لوکازها هدایت کرده و مانع چین خوردگی آن‌ها شده‌اند. پس از عبور از مجموعه TOM، پروتئین‌هایی که به غشای داخلی میتوکندری و ماتریکس رسیده‌اند از ترانس لوکاز دیگری به نام ترانس لوکاز غشای داخلی میتوکندری (e Translocase of the inter membran or TIM) عبور کرده‌اند. TIM با دو مجموعه متفاوت TIM23 که مسئول انتقال پروتئین‌ها به درون ماتریکس بوده و TIM22 که به‌عنوان میانجی برای ورود پروتئین‌ها به غشای درونی میتوکندری عمل کرده است. گسترش شبکه میتوکندریایی در طی تولید میتوکندری نیازمند افزایش سنتز فسفولیپیدهای مختلف به‌عنوان اجزای سیستم غشایی نیز است. سنتز چربی در شبکه اندوپلاسمیک، در همبستگی با نسبت پروتئین صورت گرفته و به غشاهای خارجی و داخلی میتوکندری‌ها هدایت و ذخیره شده‌اند (۳، ۴). در نهایت عوامل مذکور در پاسخ به هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا با افزایش عوامل موثر بر بیوژنز میتوکندریایی همراه بوده و عملکرد میتوکندری را در عضلات کند انقباض رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد افزایش می‌دهند. با توجه با اینکه عوامل محرک و مهاری زیادی بر بیوژنز میتوکندریایی موثر هستند که پژوهشگران در این مطالعه قادر به سنجش تمامی این فاکتورها نبودند لذا پیشنهاد می‌شود علاقمندان به این حیطه در پژوهش‌های آتی به بررسی سایر عوامل پرداخته و تاثیر همزمان عوامل محرک و مهاری و هم‌چنین تاثیر سایر شدت‌های تمرینی بر این عوامل مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی با عنوان "تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر عوامل منتخب بیوژنز میتوکندریایی در عضلات کند و تند انقباض رت‌های نر نژاد ویستار مبتلا به انفارکتوس میوکارد" که اعتبار آن توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه تامین شده است، می‌باشد لذا از تمامی کسانی که ما را در این راه یاری نموده‌اند تشکر می‌کنیم.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته پژوهی دانشگاه آزاد اسلامی استان کرمانشاه به شماره مرجع ۱۵۳ به تایید رسیده است.

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی از طرف دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه صورت پذیرفته است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

م ق و س ک طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. هم‌چنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

References

1. Nordlie M A, Wold L E, Kloner R A. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2005; **39**(4): 667-679. doi :10.1016/j.yjmcc.2005.06.006

2. Zoll J, Monassier L, Garnier A, N'Guessan B, Mettauer Veksler V, ois Piquard F. ACE inhibition prevents myocardial infarction-induced skeletal muscle mitochondrial dysfunction. *J Appl Physio* 2006; **101**(2): 385-391. doi: 10.1152/japplphysiol.01486.2005

3. Dominy J E, Puigserver P. Mitochondrial Biogenesis through Activation of Nuclear Signaling Proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013; **5**(7): 1-18. doi: 10.1101/cshperspect.a015008

4. Garesse R, Vallejo C G. Animal mitochondrial biogenesis and function: a regulatory cross-talk between two genomes. *Elsevier Science Inc* 2001; **263**(1-2): 1-16. doi: 10.1016/s0378-1119(00)00582-5

5. Virbasius J V, Scarpulla R C. Activation of the human mitochondrial transcription factor a gene by nuclear respiratory factors: a potential regulatory link between nuclear and mitochondrial gene expression in organelle biogenesis. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1994; **91**(4): 1309-1313. doi: 10.1073/pnas.91.4.1309

6. François R, Jornayvaz F R, Shulman G I. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays Biochem* 2010; **47**: 69-84. doi: 10.1042/bse0470069

7. Egan B, Carson B P, Garcia-Roves P M, Chibalin A V, Sarsfield F M, Barron N, et al. Exercise intensity-dependent regulation of PGC-1α mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signaling kinases in human skeletal muscle. *J Physiol* 2010; **588**: 1779-1790. doi: 10.1113/jphysiol.2010.188011

8. Norrbom J, Sundberg C J, Ameln H, Kraus W E, Jansson E, Gustafsson T. PGC-1α mRNA expression is influenced by metabolic perturbation in exercising human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2004; **96**: 189-194. doi: 10.1152/japplphysiol.00765.2003

9. Little J P, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky M A, Gibala M J. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; **300**(6): 1303-1310. doi: 10.1152/ajpregu.00538.2010

10. Gibala M J, McGee S L, Garnham A P, Howlett K F, Snow R J, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1α in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2009; **106**(3): 929-934. doi: 10.1152/japplphysiol .90880.2008

11. Laursen P B, Jenkins D G. The scientific basis for high-intensity interval training: optimizing training programmes and maximizing performance in highly trained endurance athletes. *Sports Med* 2002; **32**(1): 53-73. doi: 10.2165/ 00007256-200232010-00003

12. Truijens M J, Toussaint H M, Dow J, Levine B D. Effect of high-intensity hypoxic training on sea-level swimming performances. *Pub Med* 2002; **94**(2): 733-743. doi: 10.1152/japplphysiol.00079.2002

13. Fabregat-Andrés Ó, Tierrez A, Mata M, Estornell-Erill J, Ridocci-Soriano F, Monsalve M. Induction of PGC-1α Expression Can Be Detected in Blood Samples of Patients with ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction. *PLoS One* 2011; **6**(11): 26913. doi: 10.1371/journal.pone. 0026913

14. Rimbaud S, Garnier A, Ventura-Clapier R. Mitochondrial biogenesis in cardiac pathophysiology. *Pharmacol Rep* 2009; **61**(1): 131-138. doi: 10.1016/s1734-1140(09)70015-5

15. Khodai K, Badri N, Rastegar Moghadam Mansori S M. The effect of short-term high intensity interval training (HIIT) on some cardiovascular indices, anaerobic power output, jump and sprint performances in active female students. *Journal of Sport in Biomotor Sciences* 2013; **8**(2): 23-31. (In Persian).

16. Tao L, Bei Y, Zhang H, Zhou Y**,** Jiang J, Chen P, et al. Exercise Training Protects Against Acute Myocardial Infarction via Improving Myocardial Energy Metabolism and Mitochondrial Biogenesis. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2015; **37**(1): 162-175. doi: 10.1159/000430 342

17. Steiner J L, Murphy E A, McClellan J L, Carmichael M D, Davis J M. Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain. *J Appl Physiol* 2011; **111**(4): 1066-1071.

18. Hoshino D, Yoshida Y, Kitaoka Y, Hatta H, Bonen A. High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013; **38**(3): 326-333. doi: 10.1139/apnm-2012-0257

19. Azizi gGhochan Nezhad Z. Effect of high intensity interval training (HIIT) on PGC-1α Serum Level and Lipid Profile of Overweight Women (PhD thesis).Tehran, Pardis daneshgahi, 2013.(In Persian).

20. Sharafi Dehrhm F, Soori R, Rastegar Mogaddam Mansouri M, Abbasian S. The Effect of High Intensity Interval Training on Muscular Biomarkers of Mitochondrial Biogenesis in Male Rats. *J Babol Univ Med Sci* 2017; **19**(6): 57-63. (In Persian).

21. Morten A, Hoydal M A, Wisloff U, Kemi O J, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; **14**(6): 753-760. doi: 10.1097/hjr.0b013e3281eacef1

22. Wisloff U , Helgerud J , Kemi O J , Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO2 max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; **280**(3): 1301-1310. doi: 10.1152/ajpheart. 2001.280.3.h1301

23. Martinez P F, Okoshi K, Zornoff L A, Carvalho R F, Oliveira Junior S A, Lima A R, et al. Chronic heart failure-induced skeletal muscle atrophy, necrosis, and changes in myogenic regulatory factors. *Med Sci Monit* 2010; **16**(12): BR374-383. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.03.063

24. Hardie D G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; **8**(10): 774-785. doi: 10.1038/nrm2249