

تأثیر دو نوع شدت تمرین تناوبی بر بیان ژن NRF1 و NRF2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۹

دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۲

مژده نداد فهمیده^۱، شهرام غلام‌مصطفایی^{۲*}، رامین شعبانی^۳

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران. ۲. استادیار، دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران. ۳. استاد، دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: بیوژنر میتوکندری یک چرخه پیچیده است که شامل هماهنگی بین بیان ژن‌های میتوکندری و ژن‌های هسته‌ای، سپس ورود محصولات به اندامک و تداوم گردش این چرخه می‌باشد. هدف از پژوهش حاضر تعیین تأثیر دو نوع شدت تمرین تناوبی بر بیان ژن NRF1 و NRF2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش نر مدل سکته قلبی مواجهه با ایزوپروترنول به صورت تصادفی به سه گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) و کنترل (C) تقسیم شدند. گروه‌های تمرین به مدت ۸ هفته تحت تأثیر تمرین تناوبی قرار گرفتند. تمرین در دو گروه شدت بالا و متوسط با مسافت طی شده همسان شامل اجرای ۱۰ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۰ و ۶۵-۷۰ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$ بود و در این زمان گروه کنترل برنامه تمرینی نداشت. بیان ژن NRF1 و NRF2 میتوکندریایی با استفاده از روش Real Time PCR بدست آمد.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری در بیان ژن NRF1 و NRF2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی در سه گروه تمرین و کنترل مشاهده شد ($p \leq 0.01$). نتایج آزمون توکی بیانگر افزایش معنی‌دار بیان ژن NRF1 و NRF2 در دو گروه تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل بود ($p \leq 0.01$). با این حال تمرینات HIIT اثرات بیشتری داشت.

نتیجه‌گیری: بهطور کلی به نظر می‌رسد که تمرینات تناوبی با شدت بالا و متوسط، به افزایش بیوژنر میتوکندری عضله قلبی منجر می‌شوند.

کلیدواژه‌ها: انفارکتوس قلبی، بیوژنر میتوکندری، تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تناوبی با شدت متوسط

* نویسنده مسئول: استادیار، دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
نامابر: ۰۱۳۳۳۴۴۷۰۵۶

تلفن: ۰۹۱۱۱۸۱۸۳۸۰

ایمیل: gholamrezaei@iaurasht.ac.ir

مقدمه

دستخوش تغییر می‌شوند و به نظر می‌رسد که هر گونه تأثیر عوامل درمانی از قبیل داروها و آثار مفید فعالیت بدنی به واسطه مکانیسم‌های مربوط به بیوژن میتوکندری اتفاق بیافتد (۱۰). همچو شی میتوکندریایی^۷ به بهم پیوستن دو میتوکندری اشاره دارد، در حالی که شکافت میتوکندریایی^۸ به تقسیم یک میتوکندری به دو میتوکندری جداگانه تعریف می‌شود. شکافت و همچو شی میتوکندریایی عمدهاً به عملکرد صحیح پروتئین مرتبط با داینامین GTP آز سیتوپلاسمی^۹ (Dlp1) پروتئین‌های تخصص یافته میتوفیوزین‌های GTP آز مرتبط با داینامین^{۱۰} (MFN) و پروتئین‌های آتروفی بصری^{۱۱} (OAP-1) بستگی دارد (۱۱). درمان غیر داروئی رایج بیماران پس از سکته قلبی، معمولاً شامل انجام فعالیت‌های ورزشی برای بازتوانی قلبی است (۱۲) و نشان داده شده است که تمرین ورزشی دارای اثرات سودمندی بر تغییر شکل بطن چپ پس از انفارکتوس میوکارد می‌باشد (۱۳). و گاً همکاران نیز نشان دادند که تمرین ورزشی بعد از انفارکتوس میوکارد باعث کاهش فیبروز میوکارد و بازیابی عملکرد قلب می‌شود (۱۴). در واقع تمرین ورزشی باعث بازیابی عملکرد میتوکندری از طریق مهار تغییر شکل پاتولوژیک^{۱۲} دینامیک میتوکندری می‌شود که می‌تواند باعث سازی سیگنالینگ ERK1/2-JNK-P53 و افزایش بیان PGC-1α مرتبط باشد (۱۵). در این راستا ورزش منظم اثرات مشتبی بر کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی دارد که به تازگی در پژوهش‌های زیادی تأثیر فعالیت بدنی به تنها یا در ترکیب با سایر مداخلات بر آپوپتوز کار迪ومیوسیت‌ها تأیید شده است (۱۶).

در ارتباط با تأثیر فعالیت‌های استقامتی بر فرایند بیوژن میتوکندریایی، مطالعات گسترش‌های انجام شده که اغلب آنها به تأثیر مثبت فعالیت‌های استقامتی بر این فرایند اشاره دارند (۱۲، ۱۹، ۲۰)، به تازگی، تمرینات تناوبی خیلی شدید مورد توجه پژوهشگران حیطه سلامت قرار گرفته است. این تمرین، محركی قوی برای سازگاری‌های قلبی-عروقی و عضلانی می-

آنفارکتوس میوکارد^۱ به علت از بین رفتن جریان خون و وقوع یک ایسکمی شدید در بخشی از عضله قلب و انسداد عروق تغذیه کننده عضله قلب، روی می‌دهد (۱). انسداد رگ‌ها و اختلال در عملکرد خون‌رسانی و انتقال اکسیژن، در نتیجه سکته قلبی، بافت‌های گوناگونی از جمله عضله اسکلتی را تحت تأثیر قرار داده و با کاهش حجم میتوکندری‌ها باعث آتروفی عضلانی می‌شود (۲). بیوژن میتوکندریایی با توانایی خود در ایجاد میتوکندری جدید و افزایش تراکم میتوکندری می‌تواند این عوارض را به حداقل برساند (۳). مهمترین عاملی که به عنوان نشانه‌ای از بیوژن میتوکندریایی سنجیده می‌شود^۲ PGC-1α است که تنظیم‌کننده متابولیسم اکسیداتیو بوده و بیان آن در شرایط هیپوکسی افزایش می‌یابد (۴). این پروتئین در میوکارد بیماران مبتلا به آنفارکتوس، کمتر بیان می‌شود و فعال کننده نسخه‌برداری و فاکتور اصلی در بیوژن میتوکندریایی است و رونویسی عامل تنفس هسته‌ای^۳ (NRF1^۴) و^۵ (NRF2^۵) را تحريك کرده و منجر به افزایش بیان عامل رونویسی میتوکندریایی A (TFAM^۶) و سایر زیر واحدهای میتوکندریایی زنجیره انتقال الکترون می‌شود. TFAM ژن هدف NRF1 است که نقش مهمی را در انسجام واکنش‌های متقابل بین میتوکندری و هسته ایفا می‌کند (۵، ۶). این ژن نیز یک فاکتور رونویسی میتوکندری است که فال‌کننده کلیدی در رونویسی میتوکندری می‌باشد و تنظیم‌کننده اصلی در متابولیسم طبیعی بیوژن میتوکندریایی و آنزیوژن بوده و به عنوان یک میانجی پیام‌رسان در پاسخ به کمبود اکسیژن و مواد غذایی، عامل رشد اندوتیال عروقی و سایر فاکتورهای آثربوژنیک را به طور مؤثری فرا می‌خواند و از این طریق موجب رگ‌زایی می‌شود (۸).

با توجه به نقش کلیدی PGC-1α در بیوژن میتوکندری، هر گونه تغییر در بیان و یا عملکرد این مولکول باعث نقص عملکرد یا پاتوژن بیماری‌ها خواهد شد (۹). در بیماری‌های قلبی‌عروقی، دینامیک میتوکندری‌های بافت عضله قلبی

⁷ Mitochondria Fusion

⁸ Mitochondria Fission

⁹ Cytoplasmic GTPase Dynamin Related Protein 1

¹⁰ Dynamin-related GTPases Mitofusins Specialized Proteins

¹¹ Optic Atrophy Protein 1

¹² Pathological deformity

¹ MI or infarction Myocardial

² Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

³ Nuclear respiratory factor

⁴ Nuclear factor-erythroid factor 1-related factor 1

⁵ Nuclear factor-erythroid factor 2-related factor 2

⁶ Mitochondrial transcription factor

شد. شرایط نگهداری برای همه نمونه‌ها یکسان و با دمای 22 ± 2 سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ($50\pm5\%$) و چرخه‌ی روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ کنترل شد. جهت جلوگیری از فشار و تغییر شرایط فیزیولوژیک، موش‌ها به مدت دو هفته در حیوان خانه مرکزی آزمایشگاه، تحت شرایط جدید قرار گرفتند. در پژوهش حاضر کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات (آشنازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) بر اساس AAALAC رعایت گردید. جهت ایجاد آنفارکتوس تجربی میوکارد از تزریق درون صافی ایزوپروتونول به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به صورت محلول در نرمال سالین در دو روز متوالی و با فاصله ۲۴ ساعت استفاده شد (۱۱). برای اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد تجربی، از اندازه‌گیری تروپونین I (قلبی cTnI) با استفاده از کیت شرکت *vidas* (TNHS) استفاده شد که با ریختن مستقیم نمونه خونی با قطره‌چکان روی نوار اندازه‌گیری و مشبت شدن جواب، موش‌های صحرایی واجد شرایط وارد تحقیق شدند (۱۵). در واقع کیت سریع تروپونین برای تشخیص آنفارکتوس حد میوکارد (AMI) به صورت کلی مورد استفاده قرار می‌گیرد و با تشخیص میزان گردش cTnI در تشخیص حملات قلبی بسیاری کاربردی است. پس از اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد، ۲۴ سر موش صحرایی جهت آشنازی با نحوه فعالیت روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی در برنامه آشنازی شرکت داده شدند. ابتدا موش‌های صحرایی به مدت یک هفته در طی پنج جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان به فعالیت پرداختند. گفتنی است به منظور آشنازکردن موش‌های صحرایی با پروتکل‌های اصلی، شیب نوار گردان به تدریج در هر جلسه افزایش پیدا کرد تا در جلسه‌های چهارم و پنجم به شیب ۲۵ درجه رسید. موش‌های صحرایی پس از آشنازی با نحوه فعالیت روی نوارگردان، به طور تصادفی به ۳ گروه (هر گروه ۸ سر)، تمرین تناوبی با شدت بالا، تمرین تناوبی با شدت متوسط و کنترل تقسیم شدند. ۴۸ ساعت پس از تزریق دوم ایزوپروتونول، مداخلات تمرینی آغاز شد.

پروتکل‌های تمرین تناوبی

موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین به مدت ۸ هفته در برنامه‌ی تمرینی تناوبی روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند

باشد و باعث افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی، متابولیسم، افزایش عملکرد ورزشی، کاهش استفاده از کربوھیدرات و اتکا به چربی، بهتر شدن عملکرد انسولین و کاهش فشار خون می‌شود (۱۸). با توجه به تأثیر این شیوه تمرینی بر افزایش توده‌ی عضله‌ی اسکلتی و هایپرتروفی عضلانی، احتمال می‌رود بتواند بر فرایند بیوژنر میتوکندریایی و افزایش چگالی و تراکم میتوکندری‌ها مؤثر باشد (۱۸). در رابطه با نقش تمرینات تناوبی با شدت بالا^۱ HIIT در ایجاد بیوژنر میتوکندریایی اطلاعات کمی در دست است و تحقیقی مبنی بر تأثیر دو روش تمرین تناوبی بر عوامل بالادستی PGC-1α در عضله‌ی قلبی مبتلا به آنفارکتوس میوکارد انجام نگرفته است. لذا سنجش تعامل بین عوامل مؤثر در این فرایند و همچنین سازوکار احتمالی تأثیرگذاری HIIT بر آن و افزایش تراکم میتوکندری جهت ارتقاء عملکرد قلبی و عروقی بیماران یک مزیت سازش یافته می‌باشد و می‌تواند در ارتقاء کیفیت زندگی بیماران مبتلا به سکته قلبی مؤثر باشد (۱۹). از سویی، HIIT با دارا بودن فواید استراحتی مناسب، حجم کمتر و بهره‌وری زمانی بیشتر، انتخاب بهتری در مقایسه با تمرین‌های تداومی سنتی برای بیماران هستند و نشان داده شده است که تمرینات تناوبی شدید اگرچه سبب بهبودی در بازیافت میوکارد آسیب دیده می‌شود اما هنوز چگونگی اثرات این تمرین‌ها بر تغییر شرایط بیوژنر میتوکندری میوکارد در شرایط پاتولوژیک شفاف سازی نشده است (۱۸).

بنابراین آنفارکتوس قلبی باعث مختل شدن بیوژنر میتوکندریایی در میوکارد می‌شود و تمرین ورزشی توانایی این را دارد که این اختلال را بهبود بخشد ولی در زمینه بررسی اثر NRF2 همزمان دو شدت تمرین تناوبی بر بیان ژن NRF1 و NRF2 تحقیقات کمی انجام گرفته است و نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود. لذا به منظور پاسخ به ابهامات موجود، به مقایسه دو نوع شدت تمرین تناوبی بر برخی از بیومارکرهای بیوژنر میتوکندریایی کار迪ومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی پرداخته شد.

روش کار

مطالعه تجربی حاضر بر روی ۲۴ سر موش صحرایی نر ویستار که از مؤسسه پاستور ایران خریداری شده بودند انجام

¹ High intensity interval training

و تشریح شدند و در ادامه پس از شکافت و کنار زدن بافت‌های سطحی، بافت قلب خارج شد. بافت عضله قلبی نمونه برداری شده پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰٪ غوطه‌ور گردیده و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های مورد نظر عضله قلبی به وسیله تکنیک PCR و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $\text{ct}_{\Delta\Delta}$ انجام شد. واکنش PCR با master mix (Applied Biosystems) PCR (Applied Biosystems, SYBR Green و Sequence ABI Step One Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

آنالیز آماری

در این بخش ابتدا توزیع توأم و بهنجار داده‌ها توسط آزمون شاپیرو ویلک مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس داده‌های حاصله توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعییبی توکی برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های موردنظر بین گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. محاسبات آماری در سطح معنی‌داری 0.05 و با استفاده از نرم افزار SPSS21 انجام شد.

حیوانی شرکت کردند. پروتکل HIIT مورد استفاده، برنامه تمرینی تغییر شده توسط هافستاد^۱ و همکاران (۲۰۱۳) بود که به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوارگردان اجرا شد. پروتکل HIIT شامل اجرای ۱۰ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت $85-90$ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$ و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای بود که به صورت پیش‌رونده تا هفته ششم، سرعت نوارگردان افزایش یافت و دو هفته پایانی (هفتم و هشتم) سرعت نوارگردان حفظ شد. بر این اساس، سرعت نوارگردان از ۲۵ متر بر دقیقه در هفته اول به 32 متر بر دقیقه در هفته ششم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد. همچنین، دوره‌های استراحت فعال از سرعت 11 متر بر دقیقه در هفته اول به سرعت 16 متر بر دقیقه در هفته هشتم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد (۲۰).

پروتکل MIIT شامل اجرای ۱۳ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت $65-70$ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$ و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای بود که مسافت طی شده با پروتکل HIIT همسان شد و به صورت پیش‌رونده تا هفته ششم، هر هفته سرعت نوارگردان افزایش یافت. بر این اساس، سرعت نوارگردان در هفته اول از 16 متر به 23 متر بر دقیقه در هفته ششم رسید و دو هفته پایانی (هفتم و هشتم) سرعت نوارگردان حفظ شد. لازم به ذکر است 10 دقیقه گرم کردن و 5 دقیقه سرد کردن در ابتداء و انتهای هر جلسه تمرینی اجرا شد (۲۰).

توان هوازی از پروتکل غیرمستقیم با استفاده از نوارگردان برآورد شد. بر این اساس، بعد از 10 دقیقه گرم کردن، آزمون دویden موش‌های صحرایی شروع و سرعت نوارگردان هر 2 دقیقه یک بار به میزان 0.03 m/s ($1/8 \text{ m/min}$) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویden نباشند. سرعتی که در آن $\text{VO}_{2\text{max}}$ بدست آمد به عنوان سرعت ماقریم تعريف شد (۲۰).

جراحی حیوانات آزمایشگاهی و استخراج نمونه

در این تحقیق سعی بر آن بود تا حیوانات مورد مطالعه در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار کشته شوند. تمامی موش‌های صحرایی، 48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، توسط تزریق درون‌صفاقی کتامین (90 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش

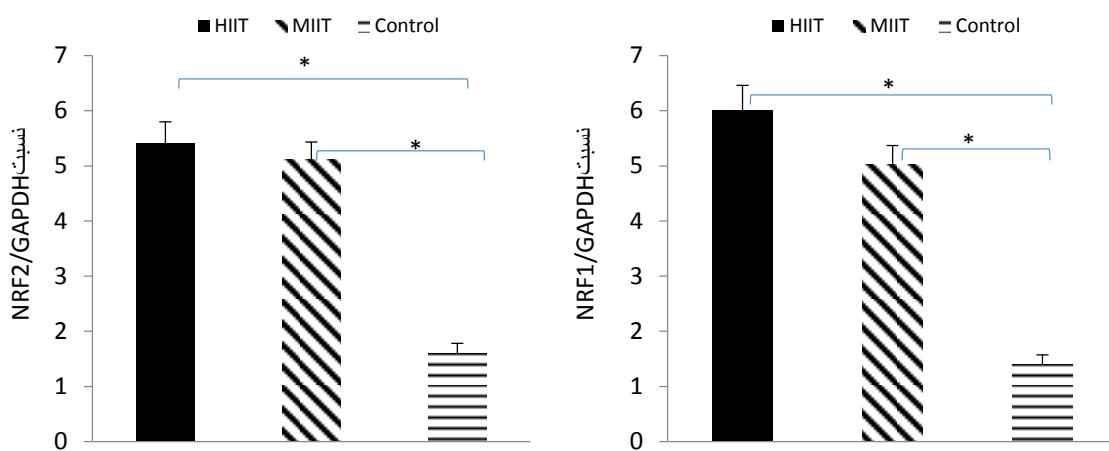
¹ Hafstad

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Gene	Forward/ Reverse	Primer(5 to 3)	tm	Product length	Accession Number
NRF1	Forward	TACATGGCCCCAGCATGCGA	61.14	95	XM_007254288.2
	Reverse	GGCGAAGTTGTCGACCTCA	61.21		
NRF2	Forward	ATCCAAGACCAGGGTGGCTG	61.07	176	XM_015478844.1
	Reverse	ACGAGTGCAAGGCAGTGGGA	59.28		

ژن NRF1 و NRF2 در دو گروه HIIT و MIIT نسبت به گروه کنترل بود ($p \leq 0.001$). هر چند بیان ژن‌های NRF1 و NRF2 در گروه HITT بیشتر از گروه MIIT بود اما از اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($p > 0.05$).

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه بیان ژن‌های NRF1 و NRF2 میتوکندریالی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی در سه گروه تمرین تناوبی با شدت بالا، متوسط و کنترل تفاوت معنی‌دار بین میانگین سه گروه را نشان داد ($p \leq 0.001$). نتایج آزمون توکی بیانگر افزایش معنی‌دار بیان



شکل ۱. تأثیر دو نوع شدت تمرین تناوبی بر بیان ژن‌های NRF1 و NRF2 میتوکندریالی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی. میانگین متغیرهای پژوهش در سه گروه به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است. (*) تفاوت معنی‌دار بین دو گروه. بر اساس یافته‌های پژوهش بین دو گروه تمرین تناوبی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p \leq 0.187$). بین هر دو گروه تمرین تناوبی با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p \leq 0.001$).

شده و بدین‌وسیله بیوژنر میتوکندریالی را تحریک کرده است. احتمالاً تنش ناشی از تمرین با شدت بالا به عنوان محركی قوی باعث اتساع عروق و افزایش جریان خون در عضلات می‌شود (۲۶) و با تأثیر بر بهتر شدن رهایش کلسیم در اثر کاهش غلظت ATP میتوکندری، علاوه بر کاهش غلظت 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 (۲۱). یک کیناز اثرگذار در فرودست

بحث

نتایج پژوهش حاضر بیانگر افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های NRF1 و NRF2 میتوکندریالی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی در دو گروه تمرین نسبت به گروه کنترل بود. نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعات Little و همکاران (۱۳) و Hoshino و همکاران (۱۵) همسو بود. به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر با نتایج هفت تمرین تناوبی باعث القای عوامل موثر در افزایش بیان ژن‌های NRF1 و NRF2 می‌شود.

تأثیر کننده این بود که بتوان گفت بیان α PGC-1 و محتوی میتوکندریایی در پی ۸ هفته تمرین تنابوی افزایش یافته است. اصلی‌ترین محدودیت این پژوهش عدم وجود گروه کنترل سالم بود. در نتیجه نمی‌توان به صورت دقیق گفت که بیان ژن‌های α NRF1 و NRF2 تا چه اندازه بهبود یافته است.

نتیجه‌گیری

اختلالات میتوکندریایی به عنوان یکی از فرضیه‌های رایج در فرایند بیماری‌های قلبی، مطرح و شواهد زیادی نشان می‌دهند که اختلال در بیوژن میتوکندریایی و عدم تعادل بین شکافت و همچوشی میتوکندریایی در این بیماری دخیل است (۲۷). مهمترین یافته‌های تحقیق حاضر این بود که هر دو روش تمرین تنابوی با شدت بالا و متوسط پس از هشت هفته تمرین تنابوی منجر به افزایش بیان ژن‌های درگیر در تنظیم فرآیندهای بیوژن و ادغام میتوکندریایی می‌شود، اما میزان تغییرات در گروه HIIT نسبت به گروه MIIT، بهبودی بیشتری داشت اما معنی‌دار نبود. این یافته‌ها نشان دهنده تأثیر تمرین تنابوی در محافظت از بروز نقص میتوکندریایی در دوران سکته قلبی است. اگرچه دلیل اصلی آن هنوز کامل مشخص نیست، اما سطح بالای PGC-1 α در دوره تمرین تنابوی می‌تواند از کیفیت میتوکندریایی در این دوران محافظت کند.

تشکر و قدردانی

از تمامی دوستان و همراهان که در به ثمر نشستن این مقاله نویسنده‌گان را مورد مهربانی قرار دادند صمیمانه تشکر می‌نماییم. پروتکل این مطالعه در کمیته پژوهشی دانشگاه آزاد واحد رشت به شماره مرجع IR.IAU.RAST.REC.1400.010 و سامانه پژوهشیار به تأیید رسیده است.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی بین نویسنده‌گان وجود ندارد.

در مسیر پیام‌رسانی کلسیم یعنی پروتئین کیناز وابسته به کالmodولین نسخه‌برداری از DNA میتوکندری و تولید میتوکندری به همراه بیش‌تنظیمی آنزیم‌های میتوکندری را افزایش می‌دهد. این اثر به وسیله بیان ژنی α PGC-1 α انجام می‌گیرد (۲۴). به طور کلی افزایش مقدار CaMK و سطوح کلسیم شبکه رتیکولوم اندوسارکوپلاسمی با تأثیر بر عوامل بالادستی بیوژن میتوکندریایی، میتوژن فعال شده با پروتئین کینازهایی از قبیل PGC-1 α را توسط CaMK و AMPK و PGC-1 α و NRF1 و NRF2 افزایش می‌دهد (۲۵). توسط تمرین تنابوی با شدت بالا به فاکتور رونویسی متصل شده و بیان ژن‌های میتوکندری که در هسته واقع شده اند را تنظیم می‌کند و همچنین در فعال سازی NRF1 و NRF2 و Tfam موثر است. Tfam تولید شده به میتوکندری وارد شده و باعث تنظیم DNA میتوکندری و ژن‌های میتوکندری کدگذاری شده در هسته می‌شود (۲۶). اخیراً نشان داده شده است که پویایی میتوکندریایی در طول بیماری‌های مختلف تغییر می‌یابد، بدین صورت که قطعه قطعه شدن میتوکندری‌ها و بیان Drp1 افزایش می‌یابد و این حالت هموستاز سلول‌های بنیادی را متأثر می‌سازد. چنین اثراتی می‌تواند به شدت با تخریب بافت ناشی از انفارکتوس قلبی مرتبط باشد (۲۷). همچنین، مطالعات دیگر بیان داشته است که افزایش همچوشی میتوکندریایی محرک اصلی بقا نیست، اما برای زنده ماندن حیوانات در طول عمر طبیعی خود ضروری می‌باشد (۲۸). Kang و همکاران (۲۹) و Sandri و همکاران (۳۰) عنوان کردند سطح پایه‌ی بالای PGC-1 α می‌تواند هدر رفت میتوکندریایی و آتروفی عضلانی ناشی از بیماری قلبی را کاهش دهد. اگرچه در پژوهش حاضر تأثیر تمرین تنابوی بر بیان ژن‌های مربوطه بررسی نگردید، اما Kang و همکاران تأثیر مثبت این پروتکل بر عملکرد و افزایش محتوی میتوکندریایی و به ویژه بیان PGC-1 α را به اثبات رسانده بودند و از طرف دیگر افزایش ظرفیت هوایی رت‌ها

References

1. Weinberg F, Hamanaka R, Wheaton WW, Weinberg S, Joseph J, Lopez M, et al. Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107(19):8788-93.
2. Kuznetsov AV, Margreiter R. Heterogeneity of mitochondria and mitochondrial function within cells as another level of mitochondrial complexity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009; 10(4):1911-29.
3. Twig G, Shirihi OS. The interplay between mitochondrial dynamics and mitophagy. *Antioxidants Redox Signaling*. 2011; 14(10):1939-51.
4. Rojo M, Legros F, Chateau D, Lombès A. Membrane topology and mitochondrial targeting of mitofusins, ubiquitous mammalian homologs of the transmembrane GTPase Fzo. *Journal of Cell Science*. 2002; 115(8):1663-74.
5. Narendra D, Tanaka A, Suen DF, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *The Journal of cell biology*. 2008; 183(5):795- 803.
6. Adhiketty PJ, Uggioni G, Leick L, Hidalgo J, Pilegaard H, Hood DA. The role of PGC-1 α on mitochondrial function and apoptotic susceptibility in muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2009; 297(1):C217-25.
7. Santel A, Fuller MT. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *Journal of Cell Science*. 2001; 114(5):867-74.
8. Ishihara N, Eura Y, Mihara K. Mitofusin 1 and 2 play distinct roles in mitochondrial fusion reactions via GTPase activity. *Journal of Cell Science*. 2004; 117(26):6535-46.
9. Iqbal S, Ostojic O, Singh K, Joseph AM, Hood DA. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. *Journal of Muscle and nerve*. 2013; 48(6):963-70.
10. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006; 103(44):16260-5.
11. Adhiketty PJ, O'Leary MF, Chabi B, Wicks KL, Hood DA. Effect of denervation on mitochondrially mediated apoptosis in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2007; 102(3):1143-51.
12. Iqbal S, Ostojic O, Singh K, Joseph AM, Hood DA. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. *Muscle and Nerve*. 2013; 48(6):963-70.
13. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2011; 300(6): 1303- 1310.
14. Vega-Lugo JA, Parodi-Rullán RM, Soto-Prado J, Chapa-Dubocq X, Javadov S. The effects of myocardial infarction with or without subsequent reperfusion on respiratory function of mitochondria in rat heart. *The FASEB Journal*. 2017; 31(1):1080.8-8.
15. 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.
16. Kang C, Chung E, Diffee G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 α . *Experimental Gerontology*. 2013; 48(11):1343-50.
17. Pace C, Dagda R, Angermann J. Antioxidants Protect against arsenic induced mitochondrial cardio-toxicity. *Toxicology*. 2017;5(4):38-46.
18. Sun L, Sun S, Zeng S, Li Y, Pan W, Zhang Z. Expression of circulating microRNA-1 and microRNA-133 in pediatric patients with tachycardia. *Journal of Molecular Medicine Reports*. 2015;11(6):4039-46.
19. Zhao Y, Fu J, Gao B. Effects of different intensity exercise training on apoptosis-related microRNAs and the targeted proteins in cardiomyocytes. *Chinese Journal of Applied Physiology*. 2018;34(1):93-6.
20. Sangstad AD, Kaspersen K-HF, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G, Hafstad AD. Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. *Journal of PLoS One*. 2015;10 (11):e0143095.
21. Hall A, Burke N, Dongworth R, Hausenloy D. Mitochondrial fusion and fission proteins: novel therapeutic targets for combating cardiovascular disease. *British Journal of Pharmacology*. 2014;171(8):1890-906.
22. Sacheck, J. M., Hyatt, J. P. K., Raffaello, A., Jagoe, R. T., Roy, R. R., Edgerton, V. R. Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle

- wasting during systemic diseases. The FASEB Journal. 2007; 21 (1), 140-155.
23. Jiang H-K, Wang Y-H, Sun L, He X, Zhao M, Feng Z-H, et al. Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats post-myocardial infarction: roles of mitochondrial network dynamics. International Journal of Molecular Sciences. 2017; 15(4):5304-22.
24. Kang C, Goodman CA, Hornberger TA, Ji LL. PGC-1 α overexpression by in vivo transfection attenuates mitochondrial deterioration of skeletal muscle caused by immobilization. The FASEB Journal. 2015; 29(10):4092-106.
25. Faist V, König J, Höger H, Elmadfa I. Decreased mitochondrial oxygen consumption and antioxidant enzyme activities in skeletal muscle of dystrophic mice after low-intensity exercise. Annals of Nutrition and Metabolism. 2001; 45(2):58-66.
26. Disatnik M-H, Ferreira JC, Campos JC, Gomes KS, Dourado PM, Qi X, et al. Acute inhibition of excessive mitochondrial fission after myocardial infarction prevents long-term cardiac dysfunction. Journal of The American Heart Association. 2013; 2(5):e000461.
27. Hadidi V, Kordi M, Gaeini A, Nekoie A, Shafie A, Hajati Modaraie M. Effect of eight weeks high intensity interval training on gene expression of PGC-1 α , in male healthy rats fast-slow twitch muscles. Harkat Journal. 2015; 7(4): 661-673. (in Persian).

The Effect of Two Types of Interval Training Intensity on Mitochondrial NRF1 and NRF2 Mitochondrial Gene Expression in Male Rats Myocardial Infarction Models

Received: 11 Apr 2022

Accepted: 19 Jun 2022

Mojdeh Nadaf fahmideh¹, Shahram Gholamrezaei ^{2*}, Ramin Shabani³

1. PhD Student in Sports Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran 2. Assistant Professor, PhD in Sports Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht , Iran 3. Professor, PhD in Sports Physiology, Department of Physical Education and Sports Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Abstract

Introduction: Mitochondrial biogenesis is a complex cycle that involves the coordination between the expression of mitochondrial genes and nuclear genes, and then the entry of products into the organelle and the continuity of the circulation of this cycle. The purpose of this study was to investigate the effect of two types of interval training intensity on mitochondrial NRF1 and NRF2 mitochondrial gene expression in male rats' myocardial infarction models

Materials and Methods: In this experimental study, 24 male stroke rats exposed to isoproterenol, were randomly divided into three groups: high-intensity intermittent exercise (HIIT), moderate-intensity intermittent exercise (MIIT), and control (C). Exercise groups were influenced by periodic exercise for 8 weeks. Exercise in the two groups of high and medium intensity, with the same distance traveled, included 10-minute activities with an intensity of 85-90 and 70-65% VO_{2max}; at this time the control group did not have a training program. Mitochondrial NRF1 and NRF2 gene expression was obtained by real-time PCR.

Results: Significant differences were observed in the expression of mitochondrial NRF1 and NRF2 genes in cardiomyocytes of male myocardial infarction rats in three training and control groups ($p \leq 0.001$). The results of Tukey test showed a significant increase in NRF1 and NRF2 gene expression in the two interval training groups compared to the control group ($p \leq 0.001$). However, HIIT had more effects

Conclusion: In general, HIIT and MIIT appear to increase myocardial mitochondrial biogenesis..

Keywords: Myocardial infarction, Mitochondrial biogenesis, HIIT.MIIT

***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Email: gholamrezaei@iaurasht.ac.ir Tel: +989111818380 Fax: +9801333447056