پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش
دورهٔ ۱۱، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۸
ص ص : ۸۵- ۷۵

اثر تمرین ورزشی تناوبی شدید بر سطوح سرمی و بیان ژن Tfam و PGC1α در هیپوکمپ رت‌های نر

فیروز شرفی دهرحم*[۱] – رحمان سوری [۲] – صادق عباسیان[۳]– مهسا رستگار مقدم منصوری[۴]

۱. استادیار گروه تربیت بدنی دانشگاه آزاد واحد اسلامی واحد خرم‌آباد، خرم‌آباد ۲.دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران ۳.دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران ۴.دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش، دانشکدهٔ علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، خراسان رضوی، ایران

(تاریخ دریافت : ۰۶/ ۰۴ / ۱۳۹۷، تاریخ تصویب : ۱۷/ ۰۷ / ۱۳۹۷

چکیده

Tfam نقش کلیدی در حفظ تعداد کپی و فعالیت نسخه‌برداری mtDNA میتوکندریایی دارد. هدف از تحقیق حاضر، تعیین اثر تمرین ورزشی تناوبی شدید (HIIT) بر فاکتورهای بایوژنز میتوکندریایی در هیپوکمپ رت‌های نر بود. در تحقیق حاضر ۲۰ سر رت نژاد ویستار در دو گروه HIIT و کنترل قرار گرفتند. HIIT به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه و به مدت چهار جلسه در هفته انجام گرفت. گروه تمرین ورزشی، ۱۵ وهلهٔ ۴ دقیقه‌ای را با ۹۰ – ۸۵ درصد VO_{2max} با سه دقیقه ریکاوری با شدت ۷۰ درصد VO_{2max} (بین وهله‌های HIIT) اجرا کرد. سپس، نمونه‌گیری خونی و بافت‌برداری از هیپوکمپ رت‌ها انجام گرفت. PGC1α و Tfam با استفاده از کیت‌های تجاری و بیان ژن آنها با استفاده از روش Real-Time PCR ارزیابی شدند. نتایج بیانگر افزایش معنادار VO_{2max} و سطوح سرمی PGC1α و Tfam بود (P<۰/۰۵). همچنین، مقادیر بیان ژنی PGC1α و Tfam در هیپوکمپ رت‌های گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته بود (P<۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد استفاده از پروتکل سه‌هفته‌ای HIIT روی تردمیل در رت‌های نر قادر باشد تا مقادیر سرمی و هیپوکمپی PGC1α و Tfam را در رت‌ها به‌طور معناداری افزایش دهد. به‌علاوه، این احتمال می‌رود که افزایش معنادار Tfam به‌دلیل تغییرات افزایشی و معنادار PGC1α باشد.

واژه‌های کلیدی

تمرین ورزشی، فاکتورهای نسخه‌بردار میتوکندریایی، هیپوکمپ.

*- نویسنده مسئول : تلفن: ۰۹۱۶۳۹۸۱۰۵۵ Email : firuz.sharafi@yahoo.com

مقدمه

شناخت سازوکارهای سلولی و مولکولی سازگاری با تمرینات ورزشی در دههٔ اخیر گسترش یافته است. بسیاری از مسیرهای پیام‌رسان و سازوکارهای نسخه‌بردار ژنی در سازگاری به تمرین ورزشی شناسایی شده‌اند که از جملهٔ آنها می‌توان به فاکتور PGC1[1] اشاره کرد. فاکتور PGC1 به‌عنوان عضوی از خانوادهٔ هم‌فعال‌کننده‌های نسخه‌بردار، به‌عنوان تنظیم‌کنندهٔ مرکزی متابولیسم شناخته می‌شود. خانوادهٔ PGC شامل سه عضو PGC1α، PGC1β و هم‌فعال‌کنندهٔ مرتبط با PGC (PRC)[2] هستند که با گیرنده‌های هسته‌ای و فاکتورهای نسخه‌بردار عمل متقابل انجام می‌دهند تا اعمال بایولوژیکی‌شان را انجام دهند. شناخته‌شده‌ترین و مورد مطالعه‌ترین خانوادهٔ PGC، همان PGC1α است. PGC1α تنظیم‌کنندهٔ مثبت تنفس و بایوژنز میتوکندریایی، ترموژنز سازشی، گلوکونئوژنز و بسیاری از فرایندهای متابولیکی دیگر است (۱-۳). یکی از این فاکتورهای نسخه‌بردار میتوکندریایی که در ارتباط با PGC1α عمل می‌کند، Tfam[3] است. به‌طور کلی، نشان داده شده که شروع فرایند نسخه‌برداری از پیشرانه‌های زنجیره‌سبک و سنگین میتوکندریایی جهت انجام عمل بایوژنز میتوکندریایی، منحصراً به Tfam RNA پلیمرازِ میتوکندریایی وابسته است. با این حال، TFB1m و TFB2m دو ایزوفرم ویژهٔ Tfam میتوکندریایی هستند که اخیراً شناسایی شده‌اند و نشان داده شده که نقش مهمی در شروع نسخه‌برداری دارند.

به لحاظ متابولیکی، بافت مغز جزء بافت‌هایی است که نیاز زیادی به فرایندهای متابولیکی دارد و نورون‌های سیستم عصبی مرکزی تقاضای زیادی به میتوکندری‌ها برای برآوردن کردن این نیازهای متابولیکی دارند. با این حال، نشان داده شده است که حدود ۵ تا ۲۰ درصد از اکسیژن مصرفی میتوکندریایی در زنجیرهٔ تنفس میتوکندریایی با فرایندهای تولید ATP جفت نمی‌شود، بنابراین به تولید رادیکال‌های آزاد می‌انجامد. افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد به افزایش سطح التهاب و بیماری‌های تخریب‌گر عصبی وابسته به آن مانند آلزایمر، هانتینگتون، پارکینسون و ...) وابسته است (۴). در این خصوص، روش‌های دارویی و غیردارویی بسیار زیادی برای پیشگیری از موارد مطرح‌شده با هدف افزایش سطح عملکرد و تعداد میتوکندری‌ها وجود دارد. یکی از این مداخلات غیردارویی انجام فعالیت ورزشی است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که بیان Tfam در عضلهٔ اسکلتی متعاقب تمرین استقامتی افزایش می‌یابد. ازاین‌رو افزایش در بیان Tfam طی تمرینات ورزشی اساساً به بایوژنز میتوکندریایی در عضلهٔ اسکلتی نسبت داده می‌شود (۳). با این حال، معدود مطالعاتی اثر تمرین ورزشی بر بایوژنز میتوکندریایی در مغز و به‌ویژه هیپوکمپ را بررسی کرده‌اند. در خصوص تمرینات ورزشی و اثر آنها بر میتوکندریایی به‌خوبی مشخص شده است که تمرین ورزشی، میتوکندری عضله را در نتیجهٔ تمرین مقاومتی و به‌ویژه عملکرد استقامتی افزایش می‌دهد (۵). با وجود این، مطالعات معدودی بر پاسخ‌ها و سازگاری‌های میتوکندریایی به تمرین ورزشی تمرکز کرده‌اند. برای مثال، دربر و همکاران (۲۰۱۲) اثر تمرین ورزشی با شدت ۷۵ درصدVO2max [4] را بر پاسخ PGC1α و بایوژنز میتوکندریایی رت‌های نر ارزیابی کردند. نتایج بیانگر افزایش بیان PGC1α، NRF-1 [5] و سیتوکروم C پس از تمرین با شدت ۷۵ درصد VO2max بود (۶). گراناتا و همکاران (۲۰۱۶) اثر تمرینات تناوبی سرعتی، HIIT و تمرین زیر آستانهٔ لاکتات را به مدت چهار هفته بر

1. peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 (PGC1)
2. PGC related coactivator (PRC)
3. Mitochondrial transcription factor A (Tfam)
4.maximal oxygen consumption
5. Nuclear respiratory factor 1

بایوژنز میتوکندریایی عضلهٔ اسکلتی ارزیابی کردند. آنها نشان دادند که شدت تمرین عامل اصلی در تنظیم تغییرات میتوکندریایی است و به‌نظر می‌رسد افتراقی بین تغییرات وابسته به تمرین در محتوا و تنفس میتوکندریایی وجود دارد (۷). با این حال، مطالعاتی که اثر تمرینات ورزشی را بر بایوژنز میتوکندریایی در مغز ارزیابی کرده‌اند، حداقل است. استینر و همکاران (۲۰۱۱) اثر هشت هفته تمرین روی تردمیل را در موش‌ها ارزیابی کردند. نتایج آنها بیانگر افزایش معنادار PGC1α، سیترات سنتاز و mtDNA بود (۵). همچنین، دای‌تریچ و همکاران (۲۰۰۸) اثر چهار هفته تمرین اختیاری بر روی چرخ گردان را بر سازگاری میتوکندری مغزی ارزیابی کردند که نتایج بیانگر افزایش بیان پروتئین جفت‌نشدهٔ نوع ۲ (UCP2)[1] مصرف اکسیژن میتوکندریایی و تعداد میتوکندری مغزی بود (۸). در این مطالعات نیز اولاً اثر HIIT بررسی نشده بود و در ثانی مقادیر Tfam در آنها ارزیابی نشده بود. ازاین‌رو براساس دانش محققان و جست‌وجوهای انجام‌گرفته در پایگاه‌های اطلاعاتی علمی، احتمالاً تاکنون مطالعه‌ای اثر HIIT را بر PGC1α و Tfam در هیپوکمپ رت‌ها ارزیابی نکرده است. بنابراین هدف از این تحقیق تعیین اثر HIIT بر سطوح سرمی و بیان ژن Tfam و PGC1α در هیپوکمپ رت‌های نر بود.

روش کار

در این مطالعه، بیست سر رت نر نژاد ویستار سه‌ماهه انتخاب شدند. رت‌ها در شرایط کنترل‌شده به لحاظ روشنایی (دوازده ساعت روشنایی - تاریکی)، دمایی (۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد) و رطوبتی (۵۵ درصد) نگهداری شدند. سپس به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین (تعداد = ۱۰) و کنترل (تعداد = ۱۰) تقسیم شدند. با این حال، دو سر رت از گروه تمرین به‌دلیل عدم تحمل تمرین ورزشی از روند کار خارج شدند (تعداد = ۸). وزن رت‌ها در دامنهٔ ۳۰۰-۲۷۰ گرمی در شروع پروتکل تمرین بود. همچنین، رت‌ها به مدت ۵ روز با شرایط زندگی در حیوان‌خانه و نحوهٔ دویدن روی نوار گردان آشنا شدند (۹). همچنین، کلیهٔ قوانین و نحوهٔ رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بی‌هوشی و کشتن حیوان) براساس AAALAC[2] و زیر نظر کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران رعایت شد.

برای کاهش اضطراب در رت‌ها علاوه‌بر رعایت عوامل مذکور، در طول دورهٔ تحقیق، رت‌ها توسط یک فرد ارزیابی شده، تمرین داده شده و رسیدگی شدن (۱۰). حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) رت‌ها با استفاده از تردمیل شیبدار (چهارلاینه، شرکت سیستم‌های TSE، آلمان) با شیب مثبت ۲۵ درجه ارزیابی شد. VO_{2max} با استفاده از پروتکل رمپ براساس کار هویدال و همکاران (۲۰۰۷) ارزیابی شد. به‌طور خلاصه، پس از گرم کردن با سرعتی معادل ۰/۲ متر/ثانیه، سرعت به‌طور فزاینده در هر ۲ دقیقه، به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه افزایش می‌یافت تا جایی که رت‌ها قادر به ادامهٔ آزمون نبودند (نداشتن توانایی دویدن روی تردمیل و رفتن به فضای انتهایی لاین تردمیل) (۱۱). همچنین، ارزیابی VO_{2max} طبق پروتکل بیان‌شده، در انتهای هر هفته (چهار بار در مجموع) ارزیابی شد. در مطالعهٔ حاضر، پروتکل تمرینی HIIT به مدت سه هفتهٔ متوالی، چهار جلسه در هفته و ۶۰ دقیقه در هر جلسه انجام گرفت. شدت تمرینی در این مطالعه به‌نحوی طراحی شد که رت‌های گروه تمرینی پس از گرم کردن به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با شدت ۶۰ - ۵۰ درصد VO_{2max}، ۱۵ وهلهٔ ۴ دقیقه‌ای را با شدت ۹۰ - ۸۵ درصد VO_{2max} و سه دقیقه

1. Uncoupling Protein 2

۲ Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International

ریکاوری (با شدت ۷۰ درصد VO_{2max} بین وهله‌های تمرینی) اجرا می‌کردند. شایان ذکر است که وزن رت‌ها طی وهله‌های تمرینی بدون تغییر معناداری در قیاس با گروه کنترل افزایش یافته بود که حاکی از عدم اعمال فشار بیش‌ازحد تمرینی بود. گروه کنترل تا انتهای هفته‌های تمرینی آزادانه در قفس بود و هیچ نوع تمرینی را انجام نمی‌داد.

در این مطالعه، پس از اتمام هفته‌های تمرینی، نمونه‌گیری خونی از دم حیوان گرفته شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۷ دقیقه و در درجهٔ حرارت ۵ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ (مدل ۵۸۱۰، اپندورف، ساخت آلمان) و برای اندازه‌گیری متغیرهای سرمیِ PGC1α و Tfam (طی دو وهله پیش‌آزمون و پس‌آزمون) تا اتمام مرحلهٔ پس‌آزمون، در شرایط فریز ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۲). PGC1α سرمی به روش الایزای ساندویچی و با استفاده از کیت تجاری شرکت cloud-clone (کد: SEH337Ra، آمریکا) اندازه‌گیری شد. دقت درونی (CV) و دقت بیرونی کیت PGC1α به‌ترتیب کمتر از ۱۰ و ۱۲ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۰/۱۲۷ نانوگرم/میلی‌لیتر بود. همچنین، Tfam سرمی به روش الایزای ساندویچی و با استفاده از کیت تجاری شرکت Cusabio (کد: CSB-EL023413RA، ژاپن) اندازه‌گیری شد. دقت درونی (CV) و دقت بیرونی کیت Tfam به‌ترتیب کمتر از ۸ و ۱۰ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۵/۸ پیکوگرم/میلی‌لیتر بود.

سپس، رت‌ها با استفاده از سووفلوران ۵-۴ درصد بی‌هوش شدند و مایع PBS (۱۵۰ میلی‌لیتر، pH = ۷/۴) به درون بطن چپ رت‌ها تزریق شد و بلافاصله توسط فورمالدآلدئید (۲۰۰ میلی‌لیتر، ۴ درصد) جایگزین شد. سپس، مغز از جمجمه جدا شد (حدود ۴۵ تا ۶۰ دقیقه پس از تکمیل تزریقات PBS و فورمالدآلدئید) و درون قالب فلزی به قطعات حدود دو میکرومتری تقسیم شد. شایان ذکر است که در این مطالعه نواحی محدود به هیپوکمپ ارزیابی شدند. پس از آن اسلایزها در ترکیبی از ساکاروز (۳۰ درصد) و PBS (۷۰ درصد) برای مدت دوازده ساعت نگهداری شدند. سپس با استفاده از N2 مایع به‌سرعت فریز شدند و در دمای منفی ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از اتمام کامل مراحل مذکور و دریافت کیت‌ها و مواد آزمایشگاهی موردنظر، هیپوکمپ رت‌ها در اسلایزهای موردنظر نمونه‌برداری شد و پس از شست‌وشوی مجدد با PBS، در میکروتیوب‌های حاوی مایع RNAlater™[1] (۲۰ درصد) به‌منظور انجام آزمایش‌های بیان ژنی غوطه‌ور شد. همچنین، استخراج RNA PGC1α و Tfam تحت کدهای ژنیِ ۸۳۵۱۶ و ۸۳۴۷۴ با استفاده از کیت بالانویس (شرکت Qiagen، آلمان) انجام گرفت (۱۳). توالی پرایمرهای رفت‌وبرگشت برای فاکتورهای PGC1α و Tfam در جدول ۱ آورده شده است (۱۳).

جدول ۱. توالی پرایمرهای رفت‌وبرگشت برای PGC1α، Tfam و بتا-اکتین

ژن	پرایمر رفت (۳' - ۵')	پرایمر برگشت (۳' - ۵')
PGC1α	TTCCACCAAGAGCAAGTAT	GAAGGGAATGGGAAAGGTAGA
Tfam	CGCTGTCCCATGAGGTATT	AACAGGACATGGAAAGCAGAT
بتا-اکتین	TGTCACCAACTGGGACGATA	AACACAGCCTGGATGGCTAC

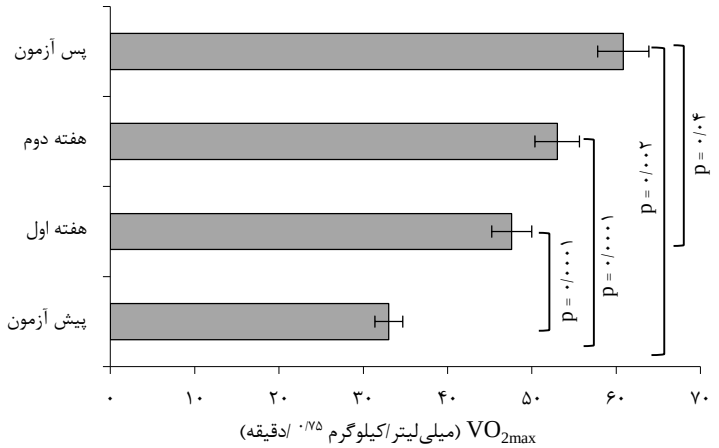
۱. RNA Stabilization reagent 50 mL

استخراج RNA به روش Real time-PCR و به‌وسیلهٔ سیستم روتورژن ۶۰۰۰ انجام گرفت. تجزیه‌وتحلیل منحنی ذوب به‌منظور تعیین اعتبار محصول PCR انجام پذیرفت. پروتکل چرخهٔ حرارتی مورد استفاده دستگاه روتوژن در Real time-PCR شامل ۴۰ چرخهٔ حرارتی از ۶۰ تا ۹۵ درجهٔ سانتی‌گرادی با زمان‌های ۲۰ دقیقه‌ای تا ۱۰ ثانیه‌ای بود. پس از مرحلهٔ PCR، به‌منظور مطالعهٔ ویژگی پرایمرها، از دماهای ۵۰ تا ۹۹ درجهٔ سانتی‌گراد برای تهیهٔ منحنی ذوب استفاده شد. از بتا-اکتین (β-actin) برای مقایسه و تعیین بیان ژن PGC1α و Tfam مطابق توالی پرایمرها استفاده شد. در نهایت، به‌منظور کمی‌سازی بیان mRNA، از روش ΔΔCT جهت مقایسه با ژن کنترلی β-actin استفاده شد. همچنین، توالی پرایمرهای رفت‌وبرگشت برای β-actin به‌ترتیب TGTCACCAACTGGGACGATA و AACACAGCCTGGATGGCTAC بود.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، آنها در بسته‌های نرم‌افزاری اکسل نسخهٔ ۲۰۱۳، نرم‌افزاری آماری Stata نسخهٔ ۱۲ و تعیین برچسب‌هایی برای متغیرهای وابسته تجزیه‌وتحلیل شدند. به‌نحوی که از مقادیر گرایش مرکزی و پراکندگی (میانگین و انحراف استاندارد) و همچنین ترسیم گراف به‌منظور برآورد آمار توصیفی تحقیق استفاده شد. سپس از آزمون تی مستقل و وابسته به‌ترتیب برای برآورد تفاوت‌های بین‌گروهی و درون‌گروهی استفاده شد. از آزمون اندازه‌های تکراری نیز برای تعیین تفاوت‌های درون‌گروهی متغیرهای وزن و VO_{2max} (طی چهار بازهٔ زمانی) استفاده شد. سطح معناداری P<۰/۰۵ نیز به‌عنوان ضابطهٔ تصمیم‌گیری به‌منظور رد یا قبول فرضیه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در خصوص تجزیه‌وتحلیل داده‌های وزن رت‌های دو گروه HIIT و کنترل، نتایج بیانگر نبود تفاوت‌های درون‌گروهی و بین‌گروهی معنادار بود (P>۰/۰۵). همچنین، یافته‌ها بیانگر افزایش معنادار مقادیر VO_{2max} گروه HIIT در هفتهٔ اول، هفتهٔ دوم و مرحلهٔ پس‌آزمون در مقایسه با مقادیر پیش‌آزمون بود (به‌ترتیب P= ۰/۰۰۰۱، P= ۰/۰۰۰۱، P= ۰/۰۰۲). همچنین، یافته‌ها بیانگر افزایش معنادار مقادیر VO_{2max} گروه HIIT در مرحلهٔ پس‌آزمون در مقایسه با مقادیر هفتهٔ اول بود (P= ۰/۰۴؛ نمودار ۲).



نمودار ۱. تغییرات درون‌گروهی VO_{2max} (میلی‌لیتر/کیلوگرم $^{0/75}$ /دقیقه) رت‌های گروه HIIT به تفکیک مراحل مختلف

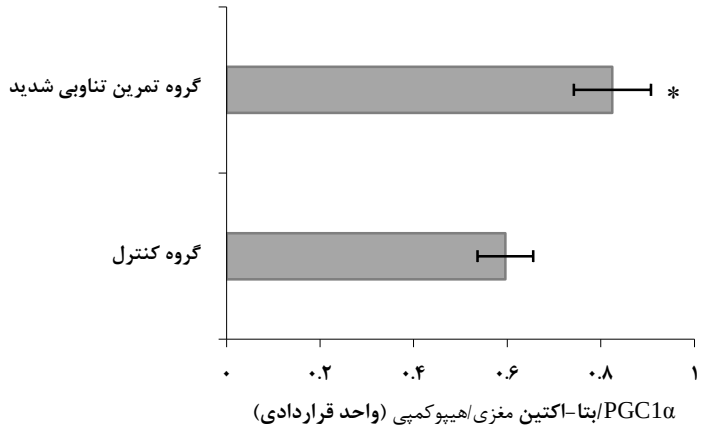
همچنین، یافته‌های تحقیق بیانگر آن بود که مقادیر سرمی PGC1α در رت‌های گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته بود (۱۰/۶ تا ۶/۳، CI = ۸/۵ ۱±/۰۲؛ جدول ۲). به‌علاوه، یافته‌ها نشان داد که مقادیر سرمی Tfam در رت‌های گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافت (۱۰/۳۳ تا ۵/۴۲، CI = ۷/۹ ۱±/۱۶؛ جدول ۲).

جدول ۲. مقادیر سرمی PGC1α و Tfam در رت‌های گروه HIIT (۸ سر رت) و گروه کنترل (۱۰ سر رت) پس از ۳ هفته مداخلهٔ HIIT

شاخص *	گروه	پیش‌آزمون (M±SD)	پس‌آزمون(M±S)	مقادیر t درون‌گروهی	سطح معناداری	مقادیر t بین‌گروهی	سطح معناداری
PGC1α (نانوگرم/میلی‌لیتر)	HIIT	۲/۱۳ ±۰/۸۳	۱۰/۹۴ ±۳/۱۹	-۷/۴۳	۰/۰۰۰۱ *	۸/۳	۰/۰۰۰۱ *
	کنترل	۲/۱ ±۰/۷۳	۲/۴۵ ±۰/۵۹	-۱/۲۵	۰/۲۴۲		
Tfam (نانوگرم/میلی‌لیتر)	HIIT	۱۳/۶۱ ±۲/۳۴	۲۱/۴۷ ±۳/۲۲	-۴/۴۱	۰/۰۰۳ *	۶/۸	۰/۰۰۰۱ *
	کنترل	۱۳/۱۷± ۱/۵۱	۱۳/۵۹± ۱/۶	-۱/۳۲	۰/۲۱۸		

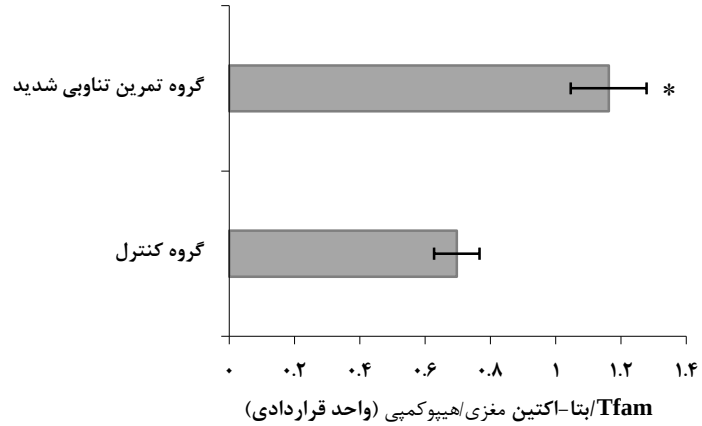
*- سطح معناداری پذیرفته‌شده در P<۰/۰۵، M: میانگین و SD: میزان انحراف معیار را نشان می‌دهد.

به‌علاوه، یافته‌های تحقیق بیانگر آن بود که مقادیر بیان ژن PGC1α هیپوکمپی در رت‌های گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل نیز به‌طور معناداری افزایش یافته است (P<۰/۰۵؛ نمودارهای ۲).



نمودار ۲. اثر مداخلهٔ HIIT بر بیان ژن PGC1α هیپوکمپی در رت‌های گروه HIIT و گروه کنترل. مقادیر t بین‌گروهی برابر ۵/۲۲ و سطح معناداری برابر ۰/۰۰۰۱ بود. *بیانگر سطح معناداری پذیرفته‌شده در P<۰/۰۵ است

همچنین، مقادیر بیان ژن Tfam هیپوکمپی در رت‌های گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته بود (P<۰/۰۵؛ نمودار ۳).



نمودار ۳. اثر مداخلهٔ HIIT بر بیان ژن Tfam هیپوکمپی در رت‌های گروه HIIT و گروه کنترل. مقادیر t بین‌گروهی برابر ۳/۶۷ و سطح معناداری برابر ۰/۰۰۲ بود. *بیانگر سطح معناداری پذیرفته‌شده در P<۰/۰۵ است

بحث

معدود مطالعات پیشین نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی تأثیرات مفیدی بر بیان ژن PGC1α دارد که با بهبود عملکرد فسفوریلاسیون اکسایشی و کاهش فرایند مایوپاتی میوکندریایی (به‌دلیل کاهش سیتئکروم اکسیداز C) همکاری می‌کند (۱۴). از طرف دیگر، نسخه‌برداری از فاکتورهای وابسته به بایوژنز میتوکندریایی منحصراً به Tfam RNA پلیمراز میتوکندریایی وابسته بوده و نیازمند افزایش هم‌فعالی PGC1α است. همچنین، مطالعه‌ای بیان کرده است که افزایش بایوژنز میتوکندریایی ممکن است به کاهش خستگی مرکزی و بهبود عملکرد ورزشی منجر شود (۵). ازاین‌رو هدف از تحقیق حاضر، تعیین اثر HIIT بر سطوح سرمی و بیان ژنیِ Tfam و PGC1α هیپوکمپی در رت‌های نر بود. نتایج تحقیق بیانگر افزایش معنادار مقادیر VO_{2MAX} پس از سه هفته مداخلهٔ HIIT بود. در خصوص مقادیر سرمی PGC1α و Tfam نتایج تحقیق به‌ترتیب بیانگر افزایش ۵ برابری و ۵۷/۷۵ درصدی در گروه HIIT بود. به‌علاوه، افزایش معناداری در مقادیر بیان ژن هیپوکمپیِ PGC1α و Tfam به میزان ۳۸/۵۵ و ۶۶/۷۲ درصد در قیاس با گروه کنترل مشاهده شد.

در خصوص تأثیر فعالیت ورزشی بر بایوژنز میتوکندریایی در مغز، تنها دو مطالعه به بررسی اثر تمرین ورزشی بر فاکتورهای بایوژنز میتوکندریایی در مغز موش‌ها پرداخته‌اند (۸، ۵). استینر و همکاران (۲۰۱۱) اثر تمرین روی تردمیل با سرعت ۲۵ متر/دقیقه و شیب ۵ درصد به مدت ۸ هفته، ۶ روز در هفته و ۱ ساعت را در موش‌ها ارزیابی کردند. نتایج آنها بیانگر افزایش معنادار PGC1α، سیترات سنتاز و mtDNA بود (۵). همچنین، دای‌تریچ و همکاران (۲۰۰۸) اثر ۴ هفته تمرین اختیاری بر روی چرخ گردان را بر سازگاری میتوکندری مغزی ارزیابی کردند که نتایج آنها بیانگر افزایش بیان پروتئین جفت‌نشدهٔ نوع ۲ (UCP2)[1] مصرف اکسیژن میتوکندریایی و تعداد میتوکندری مغزی بود (۸). با این حال، در تطابق یافته‌های این مطالعات با نتایج حاضر باید احتیاط لازم به‌عمل آید، زیرا در این مطالعات اثر تمرین استقامتی و نه HIIT بررسی شده بود. همچنین، شیب تردمیل در مطالعهٔ آنها کمتر از ۲۵ درصد بود که به نظر نمی‌تواند شدت نسبی مورد نیاز را طبق گفتهٔ هویدال و همکاران (۲۰۰۷) فراهم سازد که این موضوع در تحقیق حاضر رعایت شد (۱۱). همچنین، آنها

1. Uncoupling Protein 2

مقادیر Tfam را به‌عنوان عاملی نسخه‌بردار اصلی در بایوژنز میتوکندریایی، ارزیابی نکرده بودند.

در این خصوص، مطالعات دیگری وجود دارند که به بررسی اثر تمرینات ورزشی مختلف بر بایوژنز میتوکندریایی در عضلات رت‌ها پرداخته‌اند و نتایج آنها همراستای با نتایج تحقیق حاضر بیانگر افزایش بایوژنز میتوکندریایی در آزمودنی‌های حیوانی است (۱۹- ۱۵، ۶،۵). برای مثال، رایت و همکاران (۲۰۰۷) اثر ۶ ساعت فعالیت ورزشی شنا را بر بایومارکرهای ایجادکنندهٔ بایوژنز میتوکندریایی رت‌ها ارزیابی کردند. در این تحقیق مشخص شد که بیان پروتئین‌های نشانگر بایوژنز میتوکندریایی زودتر از افزایش PGC1α، افزایش می‌یابند (۱۷) که در تطابق با یافته‌های تحقیق حاضر بود. همچنین، دربر و همکاران (۲۰۱۲) اثر تمرین ورزشی با شدت ۷۵ درصد VO2max را بر پاسخ PGC1α و بایوژنز میتوکندریایی رت‌های نر ارزیابی کردند. پروتکل تمرینی شامل ۳ هفتهٔ تمرینی و ۵ روز در هفته و در هر جلسه ۲۵ (جلسات اول) -۶۰ دقیقه (جلسات آخر) با سرعت ۲۶/۸ متر/دقیقه (جلسات اول) تا ۳۰ متر/دقیقه (جلسات آخر) تمرین روی تردمیل با شیب ۱۵ درصد بود. نتایج بیانگر افزایش بیان PGC1α، NRF-1 و سیتوکروم C پس از تمرین با شدت ۷۵ درصد VO2max بود (۶). به‌علاوه، جنگ و همکاران (۲۰۱۰) اثر تمرین اختیاری روی چرخ گردان را بر بایوژنز میتوکندریایی در عضلهٔ اسکلتی موش‌ها بررسی کردند. آنها ۴ هفته تمرین اختیاری روی چرخ گردان را اجرا کردند. نتایج بیانگر افزایش معنادار PGC1α و آنزیم‌های میتوکندریایی (سیتوکروم اکسیداز نوع ۴ و سیتوکروم C) در سازگاری با تمرینات اختیاری در عضلهٔ اسکلتی بود (۱۵). کلتایی و همکاران (۲۰۱۱) اثر ۶ هفته برنامهٔ استقامتی روی تردمیل را بر ۱۲ رت نر ارزیابی کردند. تمرینات در دو هفتهٔ اول به‌صورت سه روز در هفته و از هفتهٔ دوم به بعد به‌صورت روزانه ۳۰ دقیقه تمرین با شدت ۶۰ درصد VO2max اولیه‌شان اجرا شد. در ادامه شدت به ۲۲ متر/دقیقه و شیب ۱۰ درصد افزایش یافت. نتایج آنها بیانگر افزایش عضلانی تودهٔ میتوکندریایی (سوکسینات دهیدروژناز، سیترات سنتاز، سیتوکروم C، DNA میتوکندریایی)، افزایش فعالیت PGC1α،SIRT1، AMPK و پروتئین‌های تجزیه‌کننده و ترکیب‌کنندهٔ میتوکندری (فیشن-۱ و میتوفیوژن-۱) بود (۱۶). با این حال، در این مطالعات با وجود مطابقت نتایج یافته‌ها در خصوص افزایش بایوژنز میتوکندریایی از HIIT استفاده نشده بود و هیچ‌کدام از آنها به بررسی مقادیر Tfam در رت‌ها نپرداخته بودند. به‌علاوه، هیچ‌یک از آنها از درصد شیب ۲۵ درصد برای تردمیل و شدت نسبی برای تمرین ورزشی استفاده نکرده بودند.

در خصوص مطالعات انجام‌گرفته بر روی اثر تمرینات تناوبی شدید (HIIT) بر بایوژنز میتوکندریایی، تعداد اندکی از مطالعات به بررسی این اثر در عضلات رت‌ها پرداخته‌اند. HIIT را می‌توان به‌عنوان دوره‌های تمرینی کوتاه‌مدت تا میان‌مدت (۳۰ ثانیه تا ۵ دقیقه) که با شدت بالا انجام می‌گیرد، تعریف کرد. اصل اساسی HIIT ایجاد فشار پیوسته بر مؤلفه‌های فیزیولوژیکی به‌منظور ایجاد سازگاری است. در همین زمینه، هوشینو و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر HIIT بر تغییرات آنزیم‌های میتوکندریایی در عضلات قرمز و سفید رت‌ها پرداختند. آنها ۱۰ وهلهٔ ۱ دقیقه‌ای همراه با ۲ دقیقه استراحت را به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته با شدت ۳۰-۵۵ متر/دقیقه اجرا کردند. نتایج آنها بیانگر افزایش بیشتر PGC1α پس از تمرینات و به‌ویژه در عضلهٔ قرمز (۲۲ درصد) به نسبت عضلهٔ سفید (۱۶ درصد) بود (۱۹). همان‌گونه‌که بیان شد، تنها شواهد اندکی در خصوص اثر فعالیت ورزشی در ایجاد بایوژنز میتوکندریایی در عضلات وجود دارد. به‌علاوه، راموس-فیلهو و همکاران (۲۰۱۵) اثر HIIT را بر تغییرات تنفس و

زنجیرهٔ میتوکندریایی در عضلات رت ارزیابی کردند. تمرین آنها ۶ هفته و ۳ جلسه در هفته و شامل وهله‌های ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه تناوب استراحتی بود. بار اعمال‌شدهٔ ابتدایی ۹ درصد وزن بدن بود که هر هفته ۱ درصد وزن بدن به آن افزوده می‌شد (در مجموع ۱۴ درصد تا انتهای برنامهٔ تمرینی). نتایج آنها بیانگر افزایش تنفس میتوکندریایی (آنزیم OXPHOS) در عضلات درشت‌نی قدامی و دوقلو و کاهش این تنفس در عضلهٔ نعلی بود. همچنین، تولید H2O2 در عضلات درشت‌نی قدامی و دوقلو افزایش و در عضلهٔ نعلی کاهش یافته بود. به‌علاوه، نشت الکترونی در درشت‌نی قدامی(گلیسرول ۳ فسفات) و دوقلو (گلیسرول ۳ فسفات، سوکسینات) و نه در عضلهٔ نعلی پس از HIIT بالاتر بود (۱۸). همان‌گونه‌که مشاهده شد، در مطالعات مذکور با وجود مطابقت نتایج یافته‌ها در خصوص تغییرات افزایشی PGC1α از تمرینات تناوبی شدید استفاده نشده بود و هیچ‌کدام از آنها به بررسی مقادیر Tfam در رت‌ها نپرداخته بودند. از جمله محدودیت‌های تحقیق می‌توان به عدم ارزیابی مقادیر پروتئینی هر دو عامل بایوژنز میتوکندریایی (PGC1α و Tfam) از طریق روش وسترن بلات و عدم ارزیابی بیان ژنی از عضلات دو طرف بدن به‌دلیل محدودیت‌های مالی تحقیق اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد انجام ۳ هفته HIIT با افزایش ۵ برابری مقادیر سرمی PGC1α نسبت به مقادیر هیپوکمپی همراه است. این یافته بیانگر آن است که اولاً PGC1α از اندام‌های متعدد دیگری نیز در پاسخ به فعالیت ورزشی وارد جریان خون عمومی می‌شود. در ثانی، به‌دلیل افزایش کمتر مقادیر بیان ژنی PGC1α نسبت به مقادیر سرمی، این احتمال وجود دارد که سایر پروتئین‌ها عامل ایجاد افزایش در بایوژنز میتوکندریایی در پاسخ به تمرین ورزشی باشند. به‌علاوه، مطالعهٔ حاضر نشان داد که Tfam در مقایسه با PGC1α با افزایش بیشتری همراه بود. این یافته ممکن است بیانگر این مطلب باشد که ممکن است سایر فاکتورهای نسخه‌نویسی عامل ایجاد افزایش در مقادیر بیان ژنی Tfam باشد. با این حال، به‌طور کلی استفاده از پروتکل HIIT روی تردمیل (با شدت و مدت یادشده) در رت‌های نر قادر باشد تا مقادیر سرمی و هیپوکمپیِ PGC1α و Tfam را در رت‌ها به‌طور معناداری افزایش دهد. همچنین، به‌نظر می‌رسد بخشی از افزایش معنادار Tfam به‌دلیل تغییرات افزایشی و معنادار PGC1α باشد (۳). با این حال، به مطالعات بیشتری برای تأیید این نتایج نیاز است.

منابع و مآخذ

1. Austin S, St-Pierre J. PGC1a and mitochondrial metabolism-emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. J Cell Sci. 2012;125(21):4963-71.
2. Lin J, Handschin C, Spiegelman B M. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. Cell metabolism. 2005;1(6):361-70.
3. Handschin C, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor ³خ coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. Endocrine reviews. 2006;27(7):728-35.
4. Onyango IG, Lu J, Rodova M, Lezi E, Crafter AB, Swerdlow RH. Regulation of neuron mitochondrial biogenesis and relevance to brain health. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2010;1802(1):228-34.

5. Steiner JL, Murphy EA, McClellan JL, Carmichael MD, Davis JM. Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain. Journal of applied physiology. 2011;111(4):1066-71.
6. Derbre F, Gomez-Cabrera MC, Nascimento AL, Sanchis-Gomar F, Martinez-Bello VE, Tresguerres JA, et al. Age associated low mitochondrial biogenesis may be explained by lack of response of PGC-1a to exercise training. Age. 2012;34(3):669-79.
7. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Training intensity modulates changes in PGC-1a and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. The FASEB Journal. 2016;30(2):959-70.
8. Dietrich MO, Andrews ZB, Horvath TL. Exercise-induced synaptogenesis in the hippocampus is dependent on UCP2-regulated mitochondrial adaptation. The Journal of Neuroscience. 2008;28(42):10766-71.
9. Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henriksen EJ, Musch T, et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. American Physiological Society Bethesda. 2006:1-80.
10. Van Sluyters R, Obernier J. Guidelines for the care and use of mammals in neuroscience and behavioral research. Contemporary topics in laboratory animal science. 2004;43(2):48-+.
11. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, 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):753-60.
12. Khodadadi H, Rajabi H, Attarzadeh SR, Reza S, Abbasian S. The Effect of High Intensity Interval Training (HIIT) and Pilates on Levels of Irisin and Insulin Resistance in Overweight Women. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2014;16(3):190-6.
13. Safdar A, Little JP, Stokl AJ, Hettinga BP, Akhtar M, Tarnopolsky MA. Exercise increases mitochondrial PGC-1alpha content and promotes nuclear-mitochondrial cross-talk to coordinate mitochondrial biogenesis. J Biol Chem. 2011;286(12):10605-17.
14. Uittenbogaard M, Chiaramello A. Mitochondrial biogenesis: a therapeutic target for neurodevelopmental disorders and neurodegenerative diseases. Current pharmaceutical design. 2014;20(35):5574-93.
15. Geng T, Li P, Okutsu M, Yin X, Kwek J, Zhang M, et al. PGC-1a plays a functional role in exercise-induced mitochondrial biogenesis and angiogenesis but not fiber-type transformation in mouse skeletal muscle. Am J Physiol Cell Physiol 2010;298:572-9.
16. Koltai E, Hart N, Taylor AW, Goto S, Ngo JK, Davies KJ, et al. Age-associated declines in mitochondrial biogenesis and protein quality control factors are minimized by exercise training. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2012;303(2):R127-R34.

17. Wright DC, Han D-H, Garcia-Roves PM, Geiger PC, Jones TE, Holloszy JO. Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1± expression. Journal of Biological Chemistry. 2007;282(1):194-9.
18. Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Martinez CG, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, et al. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. PloS one. 2015;10(6):e0131766.
19. 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. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2013;38(3):326-33.

The Effect of High Intensity Interval Training on Serum Levels and Gene Expression of Tfam and PGC1α in Hippocampus of Male Rats

Firuz Sharafi Dehrahm[*1] - Rahman Soori [2] - Sadegh Abbasian [3] - Mahsa Rastegar Moghaddam Mansouri [4]

1.Instructor, Department of Physical Education, Islamic Azad University, Khorramabad Branch, Khorramabad, Iran 2.Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 3.PhD of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 4.PhD of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Khorasan Razavi, Iran

(Received: 2018/06/27; Accepted: 2018/10/01)

Abstract

Mitochondrial transcription factor A (Tfam) has a key role in keeping copy numbers and transcription activity of mtDNA. The aim of the present study was to determine the effect of high intensity interval training (HIIT) on mitochondrial biogenesis factors in hippocampus of male rats. In the present study, 20 Wistar rats were assigned to HIIT and control groups. Training protocol was performed 60 min. each session for four sessions a week. Training group carried out 15 × 4 min. bouts of training with 85-90% of VO2max with 3 min. recovery with 70% of VO2max (between HIIT bouts). Then, blood samples and tissue samples of hippocampus were collected. PGC1α and Tfam and their gene translations were evaluated by commercial kits and Real-Time PCR method respectively. Results illustrated that VO2max and serum levels of PGC1α and Tfam significantly increased ($P<0.05$). Also, the amounts of PGC1α and Tfam gene expressions in hippocampus significantly increased in training group compared with the control group ($P<0.05$). It seems that the present three-week HIIT protocol on the treadmill can significantly increase both hippocampus and serum levels of PGC1α and Tfam in male rats. Likewise, there is a likelihood that significant increase of Tfam is due to significant and increasing changes of PGC1α.

Keywords

Training, Mitochondria Transcription Factors Hippocampus.

[*]Corresponding Author: Email: firuz.sharafi@yahoo.com; Tel: +9809163981055