

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال پنجم، شماره دوم؛
 پاییز و زمستان ۱۳۹۷
 صفحات ۹۵-۱۰۲

Original Article

 Open Access

تأثیر ۱۲ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی PGC1 α ، Sirt1 و ERR α رت‌های سالمند

علی بختیاری^۱، عباسعلی گائینی*^۲، سیروس چوبینه^۳، محمدرضا کردی^۴، مهدی هدایتی^۵
 تاریخ دریافت: ۹۷/۰۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۲۷

چکیده

تمرین ورزشی به بهبود آسیب عملکرد پروتئین‌ها و آنزیم‌های میتوکندری در سالمندی منجر می‌شود. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی SIRT1، PGC-1 α ، ERR α در رت‌های سالمند بود. مطالعه حاضر از نوع تجربی است و تعداد ۳۰ رت نژاد ویستار سالمند به صورت تصادفی به دو گروه HIIT و گروه کنترل (CTR) تقسیم شدند. تمرین ورزشی سه روز در هفته و به مدت هشت هفته اجرا شد. برنامه تمرینی در گروه HIIT در هفته اول ۱۶ دقیقه (۴ تناوب ۲ دقیقه با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و ۴ تناوب ۲ دقیقه با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد VO_{2max}) آغاز شد و به تدریج تا هفته دوازدهم به ۲۸ دقیقه رسید. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی پس از بیهوشی کامل عضله دوقلو برداشته شد. مقادیر بیان پروتئین‌های SIRT1، PGC-1 α و ERR α عضله دو قلو به روش وسترن بلات سنجیده شد. از روش آماری تی مستقل برای تجزیه تحلیل داده‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد وزن بدن و وزن عضله دو قلو بعد از ۱۲ هفته HIIT تفاوت معناداری نداشت. بیان پروتئین PGC-1 α و ERR α در گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت ($P < 0.001$). بیان پروتئین SIRT1 در گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت ($P < 0.01$). به نظر می‌رسد HIIT به وسیله شدت بالا و ماهیت تمرین تناوبی باعث افزایش بیان پروتئین‌های SIRT1، PGC-1 α ، ERR α عضله دوقلو رت‌های سالمند شده است.

واژه‌های کلیدی: سالمندی، تمرین تناوبی با شدت بالا، SIRT1، PGC-1 α



با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir مشاهده کنید

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران
 نویسنده مسئول: aagaecini@ut.ac.ir
۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران
۴. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران
۵. دانشیار، مرکز تحقیقات درمان و پیشگیری از چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، ایران

نحوه ارجاع: بختیاری علی، گائینی عباسعلی، چوبینه سیروس، کردی محمدرضا، هدایتی مهدی. تأثیر ۱۲ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی PGC1 α ، Sirt1 و ERR α رت‌های سالمند. مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۳۹۷؛ ۵(۲): ۹۵-۱۰۲.

The Effect of 12 Weeks High Intensity Interval Training and continues Training on Levels, PGC-1 α and Sirt1, ERR α of Aged Rats

Ali Bakhtiyari¹, Abbasali Gaeini ², Siroos Choobineh³, Mohammadreza Kordi⁴, Mehdi Hedayati⁵

Received 13 September 2018; Accepted 17 May 2019

Abstract

Exercise training improved impaired mitochondrial protein and enzymatic functional induced aging. The purpose of this study investigate of effect of 12-weeks high-intensity interval training on mitochondrial proteins of SIRT1, PGC-1 α and ERR α in gastrocnemius muscle in aged rats. In this study 30 aged Wistar rats were randomly divided into HIIT and control group. Exercise training was performed 3 days per week for 8-weeks. Exercise training in the HIIT group was started in the first week of 16 minutes (4 intervals 2 minutes at 85-90% VO₂max with 4 intervals 2 minutes' recovery period at 45-50% VO₂max), which reached 28 minutes in the 12th week. 48 h after last session of exercise training with anesthesia, gastrocnemius was removed. The expression levels of SIRT1, PGC-1 α and ERR α proteins in gastrocnemius muscles were assessed by Western blot method. Data analysis was done with t-independent test. There were no significant different in body weight and gastrocnemius muscle weight after 12-weeks HIIT. The protein expression of PGC-1 α and ERR α were significantly increased in the HIIT compared to control group (P<0.001). Expression of SIRT1 were significantly increased in the HIIT group compared to control group (P <0.01). It seems that HIIT through intensity and interval condition lead to increase in expression of SIRT1, PGC-1 α and ERR α proteins in the gastrocnemius muscle of aging model rats.

Keywords: Aging, High-intensity interval training, SIRT1, PGC-1 α



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. PhD Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Iran.
2. Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Iran
Corresponding author: aagaeini@ut.ac.ir
3. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Iran
4. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Iran
5. Associate Professor, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences Cellular and Molecular Biology Research center, Tehran, Iran

Cite as: Bakhtiyari Ali, Gaeini Abbasali, Choobineh Siroos, Kordi Mohammadreza, Hedayati Mehdi. The Effect of 12 Weeks High Intensity Interval Training and continues Training on Levels, PGC-1 α and Sirt1, ERR α of Aged Rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2018; 5(2): 95-102.

مقدمه

اکسیداسون اسیدهای چرب، چرخه کربس، فسفوریلاسیون اکسیداتیو و در نهایت بایوژنز را تنظیم می‌کند. عمدتاً در بافت‌هایی با ظرفیت اکسیداسیون اسیدهای چرب بیان می‌شود و باعث افزایش بیان ژن آسپل کوآ-دهیدروژناز می‌شود. به طور کلی ERR α از طریق هندلینگ لیپید، گلوکونوژنز، گلیکولیز و تنفس میتوکندریایی کنترل هموستاز انرژی را تنظیم می‌کند (۱۱). مطالعات این فرضیه را مطرح کرده‌اند که خانواده پروتئین PGC-1 (آلفا و بتا) ارتباط مستقیمی با سالمندی دارد. کاهش بیان PGC-1 α یکی از مهم‌ترین علت اختلال عملکرد میتوکندریایی در بیماری‌های وابسته سالمندی به شمار می‌آید. به علاوه، به تازگی هوانگ^۱ و همکارانش (۲۰۱۶) نشان داده‌اند اختلال در عملکرد میتوکندری موش-های صحرایی با اختلال تلومر-پدیده پیشنهادی ناشی از سالمندی- با مقادیر سرکوب PGC-1 α و PGC-1 β همراه بوده است (۱۲).

دانشمندان علوم ورزشی به دنبال یافتن ابعاد جدیدی از تاثیر فعالیت‌های ورزشی بر فرآیند سالمندی، در این راه گام بر می‌دارند. پژوهش‌ها هرچند اهمیت SIRT1، PGC-1 α و ERR α را نشان داده‌اند و ارتباط آن‌ها با سالمندی را بررسی کرده‌اند، اما مطالعات کمی تغییر این عوامل و ارتباط آن‌ها با یکدیگر را در فعالیت‌ورزشی بررسی کرده‌اند. مطالعات نشان داده‌اند، شدت تمرینی یکی از عوامل مهم و موثر در افزایش بایوژنز میتوکندریایی می‌باشد (۱۱،۷). به علاوه، گزارش‌ها نشان می‌دهد نوع، شدت و مدت فعالیت ورزشی همبستگی مثبتی با بیان پروتئین‌های بایوژنز میتوکندریایی دارد (۷، ۱۱، ۱۳). تمرین ورزشی استقامتی کوتاه مدت با شدت کم و زیاد- هر دو- باعث افزایش پروتئین‌های SIRT1 و PGC-1 α در عضله نعلی شده است (۱۴). هم‌چنین، گزارش شده است ۱۲ هفته تمرین هوازی شنا، مقادیر بیان SIRT1 و PGC-1 α را در موش‌های با سنین مختلف (موش‌های ۳ ماهه، موش‌های ۱۲ ماهه، موش‌های ۱۸ ماهه) در عضلات نعلی و دوقلو را افزایش می‌دهد (۱۴). در پژوهشی دیگر تاثیر ۱۲ هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط، ۳ جلسه در هفته در سه گروه موش‌های صحرایی جوان غیرفعال (۴ ماهه)، سالمند غیرفعال (۲۲ ماهه)، سالمند فعال (۲۲ ماهه) نشان می‌دهد mRNA و پروتئین PGC-1 α عضله نعلی هر دو موش‌های سالمند غیرفعال در مقابل جوان غیرفعال کاهش یافت. mRNA و پروتئین PGC-1 α عضله نعلی موش‌های سالمند فعال افزایش ۱/۸ و ۲/۸ برابری نسبت به موش‌های سالمند غیرفعال و جوان غیرفعال داشت (۵).

به تازگی، نوعی برنامه‌های تناوبی خیلی شدید معرفی شده‌اند که در مقایسه با تمرین‌های سنتی تاثیرگذاری زیادی در استفاده از ظرفیت قلبی تنفسی دارد. تمرین‌های تناوبی خیلی شدید (HIIT)، تناوب‌های بار کاری خیلی شدید و تناوب‌های استراحتی کم شدت دارد. این برنامه تمرینی از دوره‌های تناوبی فعالیت ورزشی شدید با دوره‌ای بازیافت غیرفعال یا فعال کم شدت تا متوسط تشکیل شده است. یکی از مهم‌ترین فواید این نوع برنامه‌های تمرینی آن است که این امکان را فراهم می‌سازد تا فعالیت ورزشی شدید در دوره طولانی‌تری در مقایسه با فعالیت ورزشی تناوبی حفظ شود. بنابراین، HIIT باعث محرک تمرینی زیادتری می‌شود که در اثر آن حداکثر ظرفیت هوازی افزایش می‌یابد. فواید فیزیولوژیایی

سالمندی فرایندی جهانی، ذاتی، پیش‌رونده و آسیب‌رسان است (۱) که با انباشت تدریجی آسیب‌های مختلف و کاهش کارایی عملکردی و هموستاز سلول‌ها و بافت‌ها، در گذر زمان همراه است (۲،۱). از میان تئوری‌های سالمندی، تئوری رادیکال‌های آزاد، تئوری میتوکندریایی و تغییرات ناشی از سن توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده‌است. کاهش عملکرد میتوکندری یکی از مهم‌ترین عوامل در فرایند سالمندی است که با تغییرات مورفولوژیکی میتوکندری مثل کاهش DNA میتوکندری، افزایش موتاسیون، کاهش فعالیت زنجیره تنفی و اختلال در بایوژنز میتوکندریایی همراه است (۳،۴). کاهش بایوژنز میتوکندریایی به کاهش نوسازی اجزای میتوکندری می‌انجامد که ریشه در انباشت اکسایش لیپید، پروتئین و DNA دارد (۵). اما بسیاری بر این اعتقادند که حفظ ظرفیت بایوژنز میتوکندریایی در دوران سالمندی یک عامل کلیدی در جلوگیری از پیشرفت بیماری‌های وابسته به سالمندی است (۶). عوامل زیادی در توسعه و مهار بایوژنز میتوکندری درگیرند. یکی از پروتئین‌هایی که توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است خانواده سیرتوئین است. خانواده سیرتوئین یک طبقه محافظت شده نیکوتین امید دی نوکلئوتید (NAD⁺) وابسته به دی استیلاسیون و پروتئین‌های ریبوزوم ترانسفراز ADP هستند. این خانواده ۷ عضو دارد. سیرتوئین-۱ (SIRT1) یکی اعضای این خانواده است که در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی گوناگونی مانند خاموش کردن ژن‌ها، مقاومت استرسی، آپوپتوز، التهاب و هم-چنین پتانسیل با رویکرد درمانی نقش دارد. پژوهشگران نشان داده‌اند علاوه بر کاهش بیان پروتئین سیرتوئین-۱ ناشی از افزایش سن (۷،۸)، سرکوب و یا حذف SIRT1 در موش‌های سالمند به اختلال در بیان پروتئین‌های درگیر در بایوژنز میتوکندریایی مانند فعال‌کننده گیرنده تکثیر گامای پراکسیزوم (PGC1- α) و گیرنده آلفا وابسته به استروژن (ERR- α) منجر می‌شود (۹). گزارش شده است SIRT1 از راه داستیلاسیون مستقیم بر فعالیت پروتئین PGC-1 α تاثیر می‌گذارد (۷،۸).

PGC-1 α یک پروتئین رونویسی چند عملکردی است که به عنوان یک مولکول سوئیچ عمل می‌کند و ژن‌های درگیر در متابولیسم انرژی را تنظیم می‌کند (۱۰). این پروتئین یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی بایوژنز میتوکندریایی، متابولیسم اکسایشی و همچنین دفاع آنتی‌اکسیدانی است. خانواده PGC-1 بایوژنز میتوکندریایی را با فعال کردن عوامل رونویسی مثل عوامل تنفسی هسته‌ای ۱ و ۲ (NRF-1/2) و گیرنده آلفای وابسته به استروژن (ERR- α) تنظیم می‌کند که پروتئین‌های میتوکندریایی کدگذاری شده توسط DNA هسته‌ای را بیان می‌کنند (۸،۹). ERR α عضو اصلی خانواده کوچک گیرنده‌های هسته‌ای است که چند زیر رده دارد. ERR α در بافت‌های متابولیکی فعال همانند عضله اسکلتی، قلب، کلیه و کبد به فراوانی یافت می‌شود (۱۰). گیرنده‌های وابسته به استروژن به عنوان گیرنده‌های هسته‌ای معرفی می‌شوند که گیرنده مشخص و اختصاصی ندارند. در میان آن‌ها، ERR α گیرنده‌ای است که به وسیله هم‌فعالی با PGC-1 α فعال می‌شود و باعث بیان ژن‌های هدف زیادی در بتا

برنامه تمرینی

پروتکل HIIT شامل سه قسمت گرم کردن، تمرین شامل تکرارهای تناوبی و سرد کردن بود. رت‌ها ابتدا با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد VO_{2max} به مدت ۳ دقیقه روی نوارگردان گرم کردند. برنامه تمرین HIIT در هفته‌های اول تا چهارم شامل ۴ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد VO_{2max} و ۴ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۴۵-۵۰ درصد VO_{2max} بود. هفته پنجم و ششم شامل ۵ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد VO_{2max} و ۵ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۴۵-۵۰ درصد VO_{2max} استراحت بود. برنامه تمرینی در هفته هفتم و هشتم شامل ۶ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد VO_{2max} و ۶ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۴۵-۵۰ درصد VO_{2max} استراحت بود. در بخش چهارم برنامه تمرینی که شامل هفته‌های نهم تا دوازدهم بود، برنامه HIIT شامل ۷ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد VO_{2max} و ۷ تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۴۵-۵۰ درصد VO_{2max} بود. پروتکل تمرینی ۳ روز در هفته و به مدت هشت هفته اجرا شد. شیب در تمام هفته‌ها ۱۰ درجه ثابت بود (۱۷).

وسترن بلات

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها با استفاده از اتر بی‌هوش شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش؛ عضله دوقلو سمت چپ آنها استخراج شد و بلافاصله در ازلت مایع منجمد و جهت انجام آزمایشات سلولی مولکولی در یخچال ۸۰- نگهداری شدند. به منظور مطالعه بیان پروتئین‌های SIRT1، PGC-1 α و ERR α از روش وسترن بلات استفاده شد. در ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت دوقلو با ۲۰۰ میکرولیتر Rippa lysis buffer ترکیب و هموژن شدند. سپس نمونه به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۳۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سوپرناتانت (Supernatant) بدست آمده، به یک میکروتیوپ ۱ cc دیگر منتقل شد. برای تعیین غلظت پروتئین از تست Bradford استفاده شد. غلظت پروتئین در تمام نمونه‌ها با یک نسبت مشخص رقیق سازی شد. حدود ۲۵ μ g از پروتئین در هر نمونه آماده شد تا به کاغذ PVDF (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) منتقل شد. سپس به مدت ۴۵ دقیقه در سیستم نیمه خشک (Bio-Rad, Marnes-la-coquette, France) قرار گرفت. سپس کاغذ PVDF با بافر TBS-T حاوی ۵ درصد شیر خشک بدون چربی به صورت شبانه بلاک شد و سپس به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق با آنتی بادی اولیه SIRT1، PGC-1 α ، ERR α و GAPDH (Abcam, Cambridge) Science Park, Cambridge, UK) به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ رقیق شد و مورد استفاده قرار گرفت. سپس کاغذ PVDF سه مرتبه (۱۵ دقیقه) با بافر TBS-T شست و شو داده شد و با آنتی بادی ثانویه (goat anti-rabbit IgG-HRP; 1:5000 Abcam) انکوبه شد و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. در انتها در اتاق تاریک سوپسترای رنگی (ECL) به کاغذ PVDF اضافه شد. پس از چند ثانیه، فیلم‌های ظهور روی کاغذ قرار داده شد. بلافاصله فیلم ظهور به محلول‌های ثبوت و ظهور منتقل شدند. پس از این که باندهای پروتئینی مورد نظر روی نوارهای فیلمی ظهور کردند، از فیلم‌ها عکس تهیه شده و با استفاده از نرم افزار Image J اندازه هر باند محاسبه شد.

در مقایسه با تمرین‌های تداومی سنتی در مدت زمان کمتری محقق می‌شود. تمرین HIIT به افزایش VO_{2max} ، حداکثر ضربان قلب، افزایش بیان ناقل‌های گلوکز، آنزیم‌های اکسیداسیون اسیدهای چرب، افزایش هورمون‌های آنابولیکی می‌شود (۱۶). با توجه به پیشینه موجود می‌توان دریافت هنوز مطالعات درباره نقش فعالیت‌های ورزشی گوناگون و پروتئین SIRT1، PGC-1 α ، ERR α و بایوپتیز میتوکندریایی به ویژه در نمونه‌های سالمند در ابتدای راه است. نقش تمرین‌های تناوبی هر چند در مقایسه با سایر تمرین‌ها بر عوامل یاد شده و در نمونه‌های جوان بررسی شده است، اما بر سر زمان و شدت و آنکه کدام نوع تمرین می‌تواند عوامل یاد شده را بیشتر تحت تاثیر قرار دهد اتفاق نظری وجود ندارد. با توجه به اهمیتی که SIRT1 در فرآیند سالمندی و اختلالات و بیماری‌ها وابسته به آن دارند و نیز نقش تنظیم‌کنندگی SIRT1 بر پروتئین‌های بایوپتیز میتوکندریایی PGC-1 α ، ERR α ، این پژوهش می‌کوشد به این سوال پاسخ دهد که: آیا ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید تاثیر بر مقادیر SIRT1، PGC-1 α ، ERR α میتوکندریایی در رت‌های سالمند دارد؟

روش شناسی

این مطالعه تجربی در کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران تصویب شد (IR.UT.SPORT.REC.1397.021) و بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. رت‌های نر ویستار ۲۲ ماهه با دامنه وزنی ۳۷۵-۳۲۵ گرم مورد استفاده در این مطالعه از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. حیوانات در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی و میانگین درجه حرارت 23 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد) با دسترسی آزاد به آب و غذا در حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران نگهداری شدند. رت‌ها به صورت تصادفی و با استفاده از جدول تصادفی به دو گروه تمرین تناوبی شدید (HIIT) و کنترل (CTR) تقسیم شدند (هر گروه ۱۵ سر رت). رت‌ها به مدت ۵ روز با شرایط زندگی در حیوان خانه و نحوه دودیدن روی نوارگردان آشنا شدند. برای کاهش اضطراب در رت‌ها علاوه بر رعایت عوامل فوق، در طول دوره تحقیق، رت‌ها توسط یک فرد مورد ارزیابی قرار گرفتند.

روش اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی

رت‌ها به مدت ۵ روز با شرایط زندگی در حیوان خانه و نحوه دودیدن روی نوارگردان آشنا شدند. حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) رت‌ها با استفاده از نوارگردان شیب‌دار (شش ردیفه، شرکت دانش سالار ایرانیان) ارزیابی شد. VO_{2max} با استفاده از پروتکل فرآینده مطالعات گذشته انجام شد. در این آزمون فعالیت ورزشی ابتدا رت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برنامه گرم کردن را انجام دادند. سپس وارد مرحله اجرای آزمون شدند و به ازای هر دقیقه سرعت تردمیل به میزان ۰/۳ متر در ثانیه افزایش می‌یافت تا جایی که رت‌ها قادر به ادامه آزمون نبودند (عدم توانایی دودیدن روی نوارگردان و رفتن به فضای انتهایی نوارگردان). بعد از آن که آزمون ورزشی به انتها رسید سرعتی که رت در آن دوید (آخرین سرعت در مرحله واماندگی) ثبت شد و با استفاده از معادله $y = 162x - 1$ میزان VO_{2max} اندازه‌گیری شد (y، نمایانگر اکسیژن مصرفی میلی‌لیتر در دقیقه به ازای کیلوگرم وزن بدن، x، نمایانگر سرعت دودیدن متر در ثانیه) (۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین و خطای میانگین بیان شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۱۶ انجام شد. طبیعی بودن داده‌ها به وسیله آزمون شاپیروویلیک مشخص شد. برای بررسی اختلاف معناداری سطوح *SIRT1*، *PGC-1α* و *ERRα* در دو گروه از آزمون تی مستقل استفاده شد. سطح معناداری نیز $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

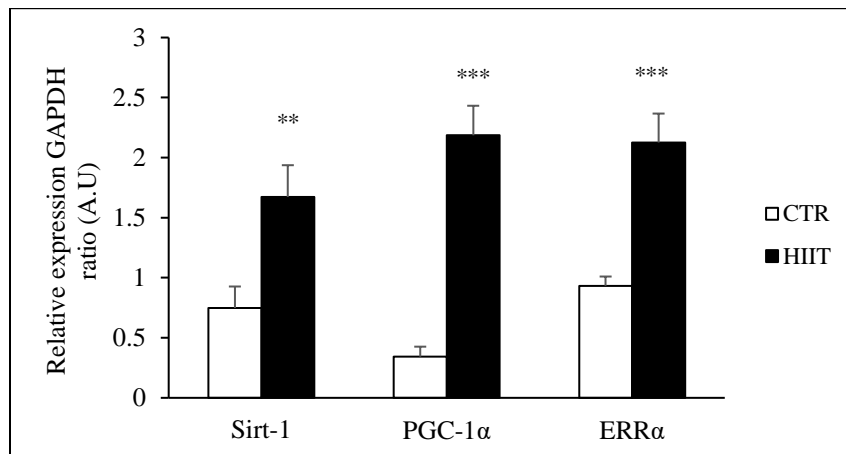
در انتهای مطالعه وزن بدن در دو گروه در مقایسه با آغاز مطالعه افزایش معناداری داشت ($P < 0/05$). با وجود این، نتایج آزمون تی مستقل نشان داد وزن بدن گروه HIIT در مقایسه با گروه CTR افزایش معناداری نداشت. به علاوه، وزن عضله دو قلو در گروه HIIT افزایش یافت ولی معنادار نبود.

جدول ۱. متغیرهای اولیه در گروه‌های مورد مطالعه

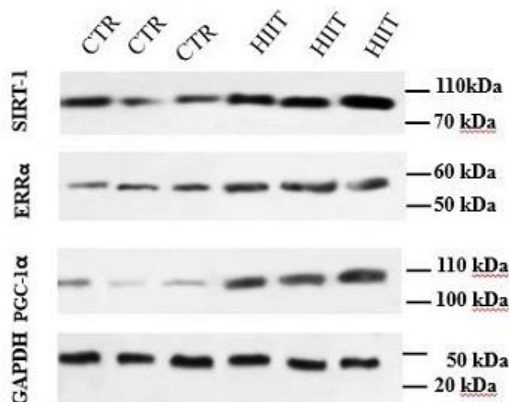
P	CTR	HIIT	
۰/۶۵۹	۳۵۱/۹ ± ۶/۳۷	۳۴۸/۱ ± ۶/۱۹	وزن بدن اولیه (گرم)
۰/۱۳۸	۳۸۰/۳ ± ۷/۸۱	۳۷۰/۵ ± ۷/۴۳	وزن بدن نهایی (گرم)
۰/۰۹۸	۱/۱۰ ± ۰/۰۰۷	۱/۱۲ ± ۰/۰۰۹	وزن عضله دو قلو (گرم)

نتایج باندهای حاصل از وسترن بلات پروتئین‌ها در شکل-۱ ارائه شده است. اعداد ارائه شده نشان دهنده وزن مولکولی است که پروتئین‌های مورد نظر در کاغذ PVDF به آنتی بادی اولیه متصل شده‌اند.

نتایج آزمون آماری تی مستقل نشان داد مقادیر پروتئین *SIRT1* در گروه HIIT در مقایسه با گروه CTR افزایش معناداری داشته است ($P = 0/008$). به علاوه، مقادیر پروتئین *PGC-1α* و *ERRα* در گروه HIIT در مقایسه با گروه CTR افزایش معناداری داشت ($P < 0/001$) (نمودار-۱).



نمودار-۱. مقادیر بیان پروتئین *SIRT1*، *PGC-1α* و *ERRα* نسبت به *GAPDH* (** $P < 0/01$ در مقایسه با گروه کنترل، *** $P < 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل)



شکل-۱. باند وسترن بلات پروتئین‌ها در عضله دو قلو

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد هشت هفته تمرین HIIT باعث افزایش بیان پروتئین SIRT1، PGC-1 α و ERR α در عضله دوقلو رت‌های سالمند شد. همانطور که مشخص شده است سالمندی با کاهش عملکرد و عوامل ساختاری مانند کاهش DNA میتوکندری، فعالیت آنزیم‌های میتوکندری و اختلال در بایوژنز میتوکندریایی همراه است (۴،۳). کاهش ظرفیت بایوژنز میتوکندریایی در سالمندان یک عامل کلیدی در پیشرفت بیماری‌های وابسته به سالمندی است (۶). با این حال، تمرین ورزشی می‌تواند به افزایش ظرفیت اکسایشی و کارایی عضله اسکلتی منجر شود. به نظر می‌رسد این سازگاری ریشه در افزایش پروتئین‌ها و آنزیم‌های میتوکندریایی دارد. همانطور که پژوهش حاضر نشان داد هشت هفته HIIT به افزایش بیان پروتئین‌های درگیر در بایوژنز میتوکندری منجر شده است. هوانگ^۱ و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر تمرین ورزشی شنا بر بیان پروتئین SIRT1 و PGC-1 α عضله دوقلو و نعلی در رت‌های با سنین مختلف را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد بیان پروتئین SIRT1 در عضله دوقلو رت‌های ۱۸ ماهه کم‌تر حرکت در مقایسه با رت‌های ۱۲ و ۳ ماهه کم‌تر حرکت در حالت پایه بیشتر بوده است. درحالی که به دنبال ۱۲ هفته تمرین ورزشی شنا، بیشترین میزان افزایش پروتئین در گروه ۱۲ ماهه وجود داشت. مقادیر پروتئین SIRT1 عضله دوقلو در رت‌های ۱۸ ماهه بعد از ۱۲ هفته تمرین ورزشی شنا کاهش یافت. مقادیر PGC-1 α در گروه‌های ۱۲ و ۱۸ ماهه به دنبال تمرین ورزشی افزایش یافت ولی تغییری در گروه ۳ ماهه مشاهده نشد. از طرفی مشخص شد بیان پروتئین SIRT1 و PGC-1 α در عضله نعلی به مراتب بیشتر از عضله دوقلو بوده است (۱۰). نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین HIIT باعث افزایش بیان پروتئین SIRT1 و PGC-1 α در عضله دوقلو رت‌های ۲۲ ماهه شد. به نظر می‌رسد عواملی همچون بافت مورد سنجش، نوع برنامه تمرینی، مدت و سن تأثیر زیادی بر نتایج دارد. به نظر می‌رسد یکی از علل تناقض نتایج پژوهش حاضر با هوانگ و همکاران ریشه در شدت تمرین دارد. در این راستا، ماک اینیس^۲ و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند ۶ جلسه تمرین HIIT در مقایسه با تمرین ورزشی با شدت متوسط باعث افزایش بیشتر پروتئین‌های میتوکندریایی شد (۱۸). در مطالعه‌ای دیگر گراناتا و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که تمرین تناوبی با سرعت بالا در مقایسه با HIIT به افزایش بیشتر بیان پروتئین‌های زنجیره تنفس میتوکندریایی منجر شده است (۱۹). شرهی و همکاران نیز نشان دادند ۳ هفته تمرین ۴ وهله‌ای با شدت ۸۵-۹۰٪ VO_{2max} باعث افزایش بیان ژن و سرمی PGC1 α عضله بازکننده طویل انگشتان و عضله نعلی رت‌های ویستار سالمند شد (۲۰). شدت تمرین یکی از عوامل مؤثر در بهتر شدن وضعیت زیست زایی میتوکندریایی سالمندان است. تمرین شدید از جمله HIIT باعث افزایش زیادتر نسبت AMP/ADP/ATP می‌شود و بنابراین با افزایش بیشتر AMPK همراه است. به نظر می‌رسد این عامل بتواند باعث افزایش بیشتر PGC-1 α (به عنوان یک عامل بالا دستی) شود (۲۱).

همچنین لیتل و همکاران تأثیر دو هفته HIIT (شش جلسه تمرینی شامل هشت تا دوازده تکرار ۶۰ ثانیه‌ای با ۱۰۰ درصد VO_{2max} (رکاب زدن) و ۷۵ ثانیه بازیافت) را بر محتوای پروتئینی PGC-1 α در عضلات مردان جوان سالم بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد محتوای SIRT1 تقریباً تا ۵۶ درصد و PGC-1 α تا ۲۴ درصد افزایش یافت (۲۲).

پژوهش حاضر نشان داد ERR α به دنبال هشت هفته تمرین HIIT افزایش معناداری داشته است. افزایش ERR α به دنبال تمرین ورزشی ریشه در فراهمی انرژی در بافت‌هایی است که انرژی زیادی را مصرف می‌کنند (۲۳). کارتنی و همکاران نشان دادند میزان ERR α در دوچرخه سواران تایم تریل افزایش معناداری داشته است که موید سازگاری ایجاد شده با نیازهای متابولیک است (۲۴). افزایش انرژی مصرفی یکی از عوامل مهمی است که در افزایش بیان ERR α درگیر است.

اخیراً در طی یک مطالعه‌ای نشان داده شد که افزایش حجم تمرین HIIT (با افزایش فرکانس و مدت زمان تمرین) محتوای میتوکندریایی عضلات افزایش می‌یابد. این مساله از این مطلب حمایت می‌کند که افزایش حجم تمرین می‌تواند باعث افزایش محتوای میتوکندری شود (۱۷).

حجم تمرین یکی از ساوزکارهای مهم شناخته شده تمرین ورزشی در بایوژنز میتوکندری می‌باشد. افزایش مدت و تکرار تمرین مهم‌ترین راه افزایش حجم تمرینی است. گرین^۳ و همکاران (۲۰۱۳) تنشی متابولیکی هنگام تمرین ورزشی در حالت پایدار به دنبال ۱۰ روز تمرین دوچرخه سواری ۳۰ دقیقه با شدت ۶۰ و ۷۰ درصد VO_{2max} و ۶۰ دقیقه با شدت ۷۰ و ۸۶ درصد VO_{2max} را بررسی کردند. مقادیر تجمعی AMP، ADP، تخلیه فسفوکراتین و گلیکوژن در گروه ۶۰ دقیقه تمرین ورزشی با شدت ۸۶ درصد VO_{2max} کمتر از ۳۰ دقیقه بود. این نتایج نشان می‌دهد کاهش کمتر فسفوکراتین و گلیکوژن ریشه در محتوای بیشتر میتوکندری دارد. بنابراین، اثر دوره تمرینی در شدت بالاتر تقویت می‌شود (۲۵). فرکانس تمرینی نیز یکی از عوامل مؤثر در بایوژنز میتوکندری است. هاتل^۴ و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند تمرین ورزشی با تکرار بالا (۷-۸ جلسه در هفته) در مقایسه با تمرین ورزشی با فرکانس متوسط (۲-۳ جلسه در هفته) تأثیر بهتری بر شاخص‌های ظرفیت قلبی تنفسی و فعالیت سیترات سنتاز داشته است (۲۶). وضعیت آزمودنی و نوع تار عضلانی از جمله دلایل ناهمسو بودن نتایج پژوهش حاضر با سایر نتایج است. هوشینوه و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر HIIT بر تغییرات آنزیم‌های میتوکندریایی در عضلات قرمز و سفید را بررسی کردند. نتایج آنها افزایش بیشتر PGC-1 α در عضله قرمز در مقایسه با عضله سفید را نشان داد. به علاوه، آنزیم‌های میتوکندریایی (سیترات سنتاز، سیتوکروم اکسیداز نوع ۴ و بتا هیدروکسیل-کوآئیدروژناز) در هر دو عضله قرمز و سفید پس از HIIT افزایش یافته بود (۲۷). در نمونه‌های انسانی نشان داده شده است که بیان ژن PGC-1 α در تمرین‌های بالای آستانه لاکتات افزایش یافته است در حالی که در تمرین‌های زیر آستانه لاکتات تغییری نداشته است. از آنجایی که تارهای تند انقباض نیم‌رخ گلیکولیتیکی

- IUBMB life. 2017; 59(4):249.
- Wheeler HE, Kim SK. Genetics and genomics of human ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2011; 366(1561):43-50.
 - Khosravan SH, Alaviani M, Alami A, Tavakolizadeh J. Epidemiology of loneliness in elderly women. *Journal of Research & Health*. 2014; 1(4): 871-7.
 - Handschin, C. and Spiegelman, B. M. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. *Endocrine Reviews*. 2006; 27, 728-735.
 - Brenmoehl J, Hoeflich A. Dual control of mitochondrial biogenesis by sirtuin 1 and sirtuin 3. *Mitochondrion*. 2013; 13, 755-761.
 - Ungvari Z, Sonntag WE, Csiszar A. Mitochondria and aging in the vascular system. *Journal of Molecular Medicine*. 2010; 88, 1021-1027.
 - Kang C, Chung E, Diffeo G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: Role of PGC-1 α . *Arch. Experimental Gerontology*. 2013; 501, 79-90.
 - Bori Z, Zhao Z, Koltai E, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Douroudos II, et al. The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle. *Experimental Gerontology*. 2012; 47 (6): 417-424.
 - Asma Soleimani¹; Saeed Shakerian¹; Rohola Ranjbar¹; Mahmood Soleimani. Effect of aerobic exhaustion with six weeks low calorie diet with moderate carbohydrate on lactate dehydrogenase and liver enzymes in overweight boys. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. Volume 4, Issue 1, Autumn and Winter 2016; 54-59.
 - ZeynalAbedin Rahnama¹; Roghayeh Poozesh Jadidi¹; Mohammad Reza Nasir Zadeh. Effect of two month aerobic training and pomegranate peel extract (PPE) supplementation on Insulin resistance index levels in obese rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. Volume 4, Issue 1, Autumn and Winter 2016; 1-10.
 - Giguère V. Transcriptional control of energy homeostasis by the estrogen-related receptors. *Endocr Rev*. 2008; 29 (6):677-696.
 - Huang CC, Wang T, Tung YT, Lin WT. Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC-1 α expression levels in rats of different age. *International Journal of Medical Science*. 2016; 13(4):260-270.
 - Yazdan Foroutan¹; Abdol Hossein Parnow²; Saied Daneshyar. Independent and combined effects of intense aerobic training and detraining on serum levels of leptin, adiponectin and factors associated with overweight. *Biannual Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. Volume 4, Issue 2, Autumn and Winter 2016; 34-41.
 - Billat LV. Interval training for performance: a scientific and empirical practice. *Sports Medicine*. 2001; 31(1):13-31.
 - Seldeen KL, Lasky G, Leiker MM, Pang M, Personius KE, Troen BR. High Intensity Interval Training

دارند، بنابراین در هنگام تجمع لاکتات فراخوانی بیشتری داشته اند. حرکت از تارهای کند انقباض به تارهای تند انقباض به سازگاری متابولیکی عضله اشاره دارد (۲۸). پژوهش حاضر از عضله دوقلو استفاده شده است که ترکیبی از تارهای تند انقباض و کند انقباض دارد. واکنش تارهای تند انقباض در مقایسه با تارهای کند انقباض به افزایش محتوای پروتئین فرق می کند. هرچند ممکن است به دنبال تمرین ورزشی مقادیر PGC-1 α در تارهای کند انقباض افزایش یابد ولی به اندازه افزایش تارهای تند انقباض نبوده است. یکی از دلایل افزایش PGC-1 α ریشه در افزایش نسبت AMP/ADP/ATP دارد که باعث فعال شدن AMPK می شود (۲۹).

SIRT1 در عضله دو قلو بعد از ۱۲ هفته HIIT افزایش معناداری داشت. SIRT1 باعث داستیلاسیون و فعال کردن PGC-1 α می شود. SIRT1 یک تنظیم کننده کلیدی بایوژنز میتوکندریایی است که از راه داستیلاسیون PGC-1 α در سلول‌های عضلانی به آن کمک می کند. SIRT1 در سازگاری عضله اسکلتی به دنبال تمرین ورزشی نقش دارد که ممکن است به دلیل تغییرات سیتوزولی نسبت NAD⁺/NADH در هنگام انقباضات عضلانی باشد (۹). افزایش SIRT1 به شدت تمرین حساس است. زیرا به دنبال افزایش شدت تمرینی نسبت NAD⁺/NADH سیتوزولی تغییر می کند و احتمالاً استرس انرژیکی افزایش می یابد. از طرف دیگر، همانطور که میدانیم AMPK به عنوان یک حسگر استرس انرژیکی شناخته می شود و در هنگام افزایش استرس انرژیکی افزایش می یابد. به دنبال تمرین HIIT بیان پروتئین AMPK افزایش بیشتری در مقایسه با سایر برنامه‌های تمرینی داشته است (۲۹). از این رو به نظر می رسد شدت تمرین عامل موثری است که از طریق استرس انرژیکی به افزایش SIRT1 منجر شده است.

در مطالعه حاضر چند محدودیت وجود داشت. نخست، اگرچه در این مطالعه شاخص‌های بایوژنز میتوکندریایی سنجیده شد اما تعداد میتوکندری‌ها در تارهای تند انقباض و کند انقباض عضله دوقلو سنجیده نشد. دوم، با توجه به محدودیت‌های مالی از گروه‌های جوان و گروه‌های دریافت کننده عامل مهار کننده PGC-1 α استفاده نشد تا میزان بایوژنز در رت‌های جوان و سالمند با یکدیگر مقایسه شود.

نتیجه گیری

به نظر می رسد HIIT از طریق افزایش بیشتر مقادیر SIRT1، PGC-1 α و ERR α به افزایش بایوژنز میتوکندری منجر شده است. احتمالاً یکی از دلایل افزایش بیشتر پروتئین‌های میتوکندریایی در عضله دو قلو ریشه در ماهیت تمرینی HIIT (وهله های کوتاه مدت و شدید) دارد. بنابراین با توجه به ویژگی‌های خاص و مکانیسم اثر متفاوت HIIT بر بهبود و تنظیم پروتئین‌های درگیر در بایوژنز میتوکندریایی و همچنین کم بودن زمان اجرای این نوع تمرینات در مقایسه با پروتکل‌های تمرین تداومی، شاید بتوان اجرای این نوع تمرینات را به عنوان یک مدل تمرینی در افراد سالمند پیشنهاد داد.

منابع

- Vina J, Borrás C, Miquel J. Theories of ageing.

- Trial. *PLoS One*. 2014; 9, e88375.
27. Hoshino D, Yoshida Y, Kitaoka Y, Hatta H and 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**: 326-333.
 28. Godin R, Ascah A and Daussin FN. Intensity-dependent activation of intracellular signalling pathways in skeletal muscle: role of fibre type recruitment during exercise. *Journal of Physiology*. 2010; 588: 4073-4074.
 29. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1 α in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2009; 106(3), 929-934.
 - (HIIT) improves physical performance and frailty in aged mice. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2018; 73(4):429-437.
 16. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention Rehabilitation*. 2007; 14 (6):753-60.
 17. Christopher,H,. Kathryn L. Weston,. W.The effect of 12 weeks of combined upper- and lower-body high-intensity interval training on muscular and cardiorespiratory fitness in older adults” *Aging Clinical and Experimental Research*. 2019. 31:661–671.
 18. MacInnis MJ, Zacharewicz E, Martin BJ, Haikalis ME, Skelly LE, Tarnopolsky MA, et al. Superior mitochondrial adaptations in human skeletal muscle after interval compared to continuous single-leg cycling matched for total work. *Journal of Physiology*. 2017; 595(9): 2955-2968.
 19. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Training intensity modulates changes in PGC-1 α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *The FASEB Journal*. 2015; 30(2):959-70.
 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. *Journal of Babol University of Medical Science*. 2017; 19(6): 57-63.
 21. Bartlett JD, Hwa Joo C, Jeong TS, Louhelainen J, Cochran AJ, Gibala MJ, et al. Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1 α mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2012; 112(7):1135-43.
 22. Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low volume high - intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *Journal of Physiology*. 2010; **588** (6): 1011-22.
 23. Deblois G, Giguere V. Functional and physiological genomics of estrogen-related receptors (ERRs) in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2017; 1812(8): 1032-40.
 24. Cartoni R, Leger B, Hock MB, Praz M, Crettenand A, Pich S, et al. Mitofusins 1/2 and ERRalpha expression are increased in human skeletal muscle after physical exercise. *J Physiol* 2018; 567(1): 349-58.
 25. Green HJ, Burnett M, Carter S, Jacobs I, Ranney D, Smith I & Tupling S. Role of exercise duration on metabolic adaptations in working muscle to short-term moderate-to-heavy aerobic-based cycle training. *Eur J Appl Physiol*. 2013; 113, 1965–1978.
 26. Hatle H, Støbakk PK, Mølmen HE, Brønstad E, Tjønnha AE, Steinshamn S, et al . Effect of 24 sessions of high-intensity aerobic interval training carried out at either high or moderate frequency, a Randomized