

The Effect of Moderate and High Intensity Resistance Training on the Expression of PGC-1 α , TFAM and AMPK of Cardiomyocytes in Elderly Rats

Taheri Gandomani R¹, Mirzaei B^{*2}, Damirchi A²

1. Department of Exercise Physiology, University Campus 2, University of Guilan, Rasht, Iran

2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +989123215778, Fax: +98133369685, E-mail: bmirzaei2000@gmail.com

Received: Nov 30, 2021

Accepted: Mar 15, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: Age-related cardiovascular dysfunction is often accompanied by impaired mitochondrial biogenesis and function. Exercise training can improve mitochondrial function and content in muscle to meet the energy demands of the cells. The purpose of the present study was to investigate the effect of moderate-intensity (MRT) and high-intensity (HRT) resistance training on the expression of PGC-1 α , TFAM and AMPK of cardiomyocytes in elderly rats.

Methods: In this experimental study, 30 elderly male rats (23 months) were divided into 3 groups: control (C), MRT and HRT. Training groups exercised resistance training for eight weeks (5 days a week). The resistance training protocol consisted of climbing a 110-centimeter -long ladder, with a weight attached to a tail sleeve. In the MRT group, the training protocol with 60% MVCC, 14-20 times climbing the ladder; In the HRT group with 80% MVCC, 9-10 times climbing the ladder was performed. Data were tested using ANOVA at a significance level of $p < 0.05$.

Results: the expression of PGC-1 α , TFAM and AMPK was significantly increased in MRT and HRT groups compared to control group ($p = 0.000$). There was no significant difference between MRT and HRT groups on the expression of PGC-1 α , TFAM and AMPK ($p = 0.574$).

Conclusions: Eight weeks of MRT and HRT exercise improved mitochondrial biogenesis by increasing the expression of AMPK, PGC-1 α and TFAM Cardiomyocytes in Elderly Rats. Both types of exercise training may be considered an effective intervention to improve mitochondrial function.

Keyword: Exercise; Organelle Biogenesis; Cardiac and Aging

اثر تمرین مقاومتی با شدت متوسط و بالا بر بیان PGC-1 α ، TFAM و AMPK عضله قلب موش‌های صحرایی سالمند

روح الله طاهری گندمانی^۱، بهمن میرزایی^{۲*}، ارسلان دمیرچی^۲

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی پردیس دانشگاهی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۲۳۲۱۵۷۷۸ فکس: ۰۱۳۳۳۶۹۶۸۵ پست الکترونیکی: bmirzaei2000@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: اختلال در عملکرد قلبی عروقی ناشی از افزایش سن اغلب با اختلال در بیوژنز و عملکرد میتوکندری همراه است. تمرین ورزشی می‌تواند عملکرد میتوکندری و محتوای عضلات را بهبود بخشد تا انرژی مورد نیاز سلول‌ها را فراهم سازد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی با شدت متوسط (MRT) و بالا (HRT) بر بیان PGC-1 α ، TFAM و AMPK کاردیومیوسیت‌ها در موش‌های صحرایی سالمند بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۳۰ موش صحرایی نر سالمند (۲۳ ماهه) به طور تصادفی به سه گروه: کنترل (C)، MRT و HRT تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی هشت هفته (۵ روز در هفته) تمرین مقاومتی را اجرا کردند. تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان ۱۱۰ سانتی‌متری به همراه وزنه‌های بسته شده به دم موش بود. در گروه MRT، پروتکل تمرین با ۶۰ درصد حداکثر بار (MVCC) و با ۱۴-۲۰ بار صعود از نردبان؛ و در گروه HRT با ۸۰ درصد MVCC، ۱۰-۹ بار بالا رفتن از نردبان انجام شد. داده‌ها با استفاده از ANOVA در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ آزمون شد.

یافته‌ها: بیان PGC-1 α ، TFAM و AMPK در گروه‌های MRT و HRT نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($p = 0.0001$). بین دو گروه MRT و HRT بر بیان PGC-1 α ، TFAM و AMPK تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p = 0.574$).

نتیجه‌گیری: هشت هفته MRT و HRT با افزایش بیان AMPK و PGC-1 α و TFAM کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی سالمند منجر به بهبود بیوژنز میتوکندری می‌شود. به نظر هر دو نوع تمرین یک شیوه مداخله کارآمد برای بهبود عملکرد میتوکندری باشد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ورزشی، بیوژنز اندمک، قلب و سالمندی

پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۴

دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۹

مقدمه

در میان انبوهی از پدیده‌های بیولوژیکی که تحت تأثیر پیری قرار می‌گیرند، به نظر می‌رسد که عملکرد نادرست و کاهش عملکرد بیوژنز میتوکندری اثرات

مهمی را روی ارگان‌سم‌های مختلف دارد. کاهش عملکرد بیوژنز میتوکندری ناشی از پیری منجر به کندشدن فعالیت میتوکندری و تجمع لیپیدها، پروتئین‌ها شده و با تأثیر بر DNA، فعالیت ناقص

میتوکندری‌ها را در افراد پیر تشدید می‌کند [۱]. به نظر اختلال عملکرد میتوکندری ناشی از پیری یک عامل خطر برای ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی است [۲]. اخیراً بی‌نظمی ناشی از پیری سلولی در تولید میتوکندری جدید (بیوژنز میتوکندری) مورد توجه قرار گرفته است [۳].

گیرنده فعال‌کننده توسط پراکسیزوم ۱ آلفا^۱ (PGC-1 α) یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های بیوژنز میتوکندری است. PGC-1 α باعث افزایش فعالیت فاکتور تنفسی هسته‌ای ۱ و ۲ (NRF1 و NRF2)^۲ شده، که منجر به تحریک چندین ژن کدکننده پروتئین‌های اختصاصی میتوکندری در زنجیره تنفسی، رونویسی و تکثیر DNA میتوکندری^۳ (mtDNA)، ورود و ساخت پروتئین می‌شود [۴]. NRF1 بیان فاکتور رونویسی میتوکندری A^۴ (TFAM) که یک فعال‌کننده کلیدی برای تکثیر، رونویسی و تثبیت mtDNA است، را تنظیم کرده [۵] و به بیوژنز میتوکندری کمک می‌کند. حذف NRF1 و TFAM اختصاصی قلب، با کاهش محتوای عملکرد میتوکندری همراه است [۶]. اختلال در بیان PGC-1 α با هیپرترافی پاتولوژیک، کاردیومیوپاتی مزمن و سایر آسیب‌های قلبی همراه است [۷، ۸]. میزان پروتئین PGC-1 α در موش‌های مسن نیز کاهش یافته و از دست دادن PGC-1 α یک عامل مهم برای اختلال عملکرد میتوکندری ناشی از پیری پیشنهاد شده است [۹]. علاوه بر این چندین آنزیم بالادستی مثل پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن p38 (MAPK p38) پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK)^۵ و SIRT1^۶ باعث فعال شدن PGC-1 α می‌شوند. گزارش شده که AMPK و SIRT1 به طور مستقیم

بر فعالیت PGC-1 α از طریق فسفوریلاسیون تاثیر دارند [۱۰]. فعالیت ورزشی یکی از راهکارهایی است که امروزه برای تحریک بهبود عملکرد میتوکندری پیشنهاد می‌شود. فعالیت ورزشی باعث افزایش سرعت میتوکندری شده و منجر به افزایش سرعت متابولیسم، مصرف انرژی و استفاده از چربی می‌شود [۱۱]. این تغییرات متابولیسم کل بدن را افزایش داده و از اختلالات متابولیکی جلوگیری می‌کند. انقباض عضلانی در طول تمرین باعث سازگاری عضلانی، از جمله تغییر در سیگنال‌دهی داخل سلولی، توده و بهبود عملکرد میتوکندری و تنظیم متابولیکی می‌شود [۱۲]. مطالعات نشان دادند که انقباض عضلانی با شدت بالا باعث افزایش نسبت AMP/ATP و شارژ^{۲+} Ca^{۲+} شده و در نهایت منجر به فعال شدن PGC-1 α از مسیر AMPK، پروتئین وابسته به کلسیم/کالمودولین (CaMK) و کلسی‌نورین A می‌شود [۱۳]. AMPK و p38 MAPK فعالیت رونویسی PGC-1 α را از طریق اتصالات به ناحیه پروموتور توسط فاکتور تحریکی بالادست-۱^۷ (USF-1) و پروتئین اتصال دهنده عنصر پاسخ^۸ (CREB) (cAMP) فاکتور رونویسی فعال‌کننده^۹ (ATF-2) تنظیم می‌کنند [۱۴]. میزان پروتئین NRF-1 و TFAM (۱۴)، سازگاری میتوکندری را افزایش داده که با افزایش تنفس سلولی (مصرف اکسیژن)، افزایش بیان واسطه‌های چرخه کربس و آنزیم‌های چرخه کربس، افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب و تغییرات مورفولوژیکی میتوکندری همراه است [۱۵]. علیرغم همه این موارد به نظر پیری و افزایش سن با کاهش محتوا و عملکرد میتوکندری همراه است و اثرات پیری بر مسیر سیگنالینگ PGC-1 α و بیوژنز میتوکندری در عضلات قلبی به خوبی بررسی نشده است. علاوه بر این، هر چند اثر فعالیت ورزشی بر بیوژنز میتوکندری مورد

^۷ Upstream Transcription Factor 1

^۸ cAMP Response Element-binding Protein

^۹ Activating Transcription Factor 2

^۱ Peroxisome Proliferator-activated Receptor- γ Coactivator- α

^۲ Nuclear Respiratory Factor 1, 2

^۳ Mitochondrial DNA

^۴ Mitochondrial Transcription Factor A

^۵ AMP-activated Protein Kinase

^۶ Sirtuin 1

توجه بوده است، با این حال سوالی که مطرح می‌شود این است که آیا تغییرات بیوژنز میتوکندری مرتبط با سن می‌تواند تحت تاثیر فعالیت مقاومتی قرار گیرد؟ در محدود پژوهشی که انجام شده، نشان داده شده که فعالیت ورزشی استقامتی باعث معکوش شدن روند کاهش پروتئین‌های مربوط به بیوژنز میتوکندری در عضلات اسکلتی در موش‌های مسن می‌شود [۱۶]. همچنین در دو پژوهش دیگر بیان شده که فعالیت بدنی منظم هوازی، اختلالات ناشی از پیری را در عملکرد میتوکندری عضلات اسکلتی به تاخیر انداخته و یا از آن جلوگیری می‌کند [۱۷، ۱۸]. با این حال، مکانیسم‌های مولکولی تمرینات ورزشی بر پیشگیری از اختلال عملکرد میتوکندری طی دوران پیری به طور کامل شناخته نشده است. همچنین شدت فعالیت ورزشی مقاومتی نیز می‌تواند در این رابطه مهم باشد. لذا در این مطالعه به بررسی اثر تمرین مقاومتی با شدت بالا و متوسط بر بیان TFAM، AMPK و PGC-1 α کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی سالمند پرداخته شد.

روش کار

نمونه‌های پژوهش

این پژوهش از نوع تجربی بوده و همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. همچنین این پژوهش با تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت با کد IR.IAU.M.REC.1400.012 به تصویب رسیده است. تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر ۲۳ ماهه نژاد ویستار و میانگین وزن ۴۳۳/۰۵ گرم از انستیتو پاستور رازی تهیه شد و به آزمایشگاه حیوانی دانشگاه شهر کرد منتقل شدند. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی‌داری ۵ درصد

(خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵٪ (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم افزار Medcalc 18.2.1 (۱۰ سر در هر گروه) تعیین شد. معیار ورود به مطالعه حاضر برای حیوانات شامل نر بودن موش‌ها و عدم استفاده از هرگونه دارو بود. معیار خروج از مطالعه عدم اجرای پروتکل تمرینی، مونث بودن و آسیب حین اجرا تمرین بود. حیوانات مورد آزمایش در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت 55 ± 6 درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش‌ها به سه گروه کنترل ($n=10$ ، C)، تمرین مقاومتی با شدت متوسط ($n=10$ ، MRT) و تمرین مقاومتی با شدت بالا ($n=10$ ، HRT) تقسیم شدند.

پروتکل تمرین

پس از یک هفته آشنایی موش‌های صحرایی با نردبان برنامه تمرینی آغاز شد. برنامه تمرینی شامل بالا رفتن از یک نردبان تمرینی مخصوص (طول ۱۱۰ سانتی‌متر، شیب ۸۰ درجه، ۲۶ پله و ۲ سانتی‌متر فضای بین هر پله) با وزنه‌های متصل به دم موش‌ها و شامل دو نوع برنامه تمرینی HRT و MRT بود. در تمرین مقاومتی با شدت متوسط، پروتکل اصلی تمرین با ۶۰ MVCC و ۵ روز در هفته انجام شد و موش‌های صحرایی ۲۰-۱۴ بار از نردبان صعود کردند و بین هر صعود، یک دقیقه استراحت داشتند [۱۹]. در تمرین مقاومتی با شدت زیاد، گروه‌های تمرینی، ۸ هفته تمرین مقاومتی نردبان را با ۸۰ درصد حداکثر بار (MVCC)، ۱۰-۹ بالارفتن در هر جلسه و ۵ روز در هفته انجام دادند [۲۰]. در جدول ۱ برنامه تمرینی آورده شده است. برای گرم کردن در شروع تمرین سه تکرار بدون وزنه، و در انتهای تمرین نیز سه تکرار بدون وزنه برای سرد کردن انجام شد. در هفته آشنایی به منظور انجام تمرین مقاومتی از ترکیب شوک الکتریکی، لمس کردن و مالیدن دم موش‌ها

برای اجرای تمرین استفاده شد تا موش‌ها شرطی شوند. به دنبال آن در دوره تمرین اصلی به منظور از بین رفتن اثرات استرس شوک الکتریکی، فقط از

لمس کردن و مالیدن دم برای اجرای تمرین استفاده شد.

جدول ۱. پروتکل تمرین

گروه	جلسه/هفته	شدت فعالیت	وهله‌های فعالیت	استراحت بین وهله‌ها	تعداد هفته
MRT	۵	۶۰ درصد MVCC	۲۰-۱۴ بار	۲ دقیقه	۸
HRT	۵	۸۰ درصد MVCC	۱۰-۹ بار	۱ دقیقه	۸

آزمون تعیین حداکثر ظرفیت حمل ارادی (MVCC)

جهت تعیین حداکثر ظرفیت حمل ارادی، وزنه ۷۵ درصد وزن بدن حیوان به دم آنها متصل و حیوان شروع به بالارفتن از نردبان با حمل این بار کردند، سپس به ازای هر تکرار موفق ۳۰ گرم به بار تمرینی تکرار شده قبلی اضافه شد. در بالای نردبان دو دقیقه استراحت بین هر صعود وجود داشت. این روش تا زمانی که موش صحرایی موفق به صعود کل طول نردبان در ۳ تلاش متوالی نشد، تکرار شد. اندازه‌گیری حداکثر ظرفیت حمل ارادی در شروع هفته اول و چهارم و در پایان هفته هشتم انجام شد [۲۱].

روش نمونه‌گیری از بافت قلب و اندازه‌گیری بیان ژن‌ها

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی و شستشو با سالیین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تاثیر آهنگ شبانه روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و ۱۱:۳۰ به اتمام رسید. بافت‌ها با استفاده از یک میلی‌مول محلول تریزول لیز و با دستگاه همگنکننده بافت، هموژن شدند. در

مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲۵ میلیلیتر کلروفرم صورت گرفت. RNA استخراج شده با یک میلیلیتر اتانول سرد ۷۰ درصد شستشو و خشک شد. سپس به آن آب استریل (۱/۵ میکرولیتر بر میلی گرم بافت) اضافه شد. برای سنجش کمی RNA استخراج شده از دستگاه بایوفتومر با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده بود. استخراج cDNA برای هر نمونه سه مرحله ساخت cDNA انجام گرفت. بدین ترتیب که در ابتدا ۸ میکروگرم از RNA استخراج شده را با ۰/۸ میکرولیتر از آنزیم Dnase I و ۲ میکرولیتر از بافر ۱۰x آن و آب DEPC خورده مخلوط کرده و حجم نمونه به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. محصول ایجاد شده را بدون ورتکس کردن و به آرامی مخلوط کرده و سپس با برنامه ریز در دستگاه ترموسایکر انکوبه شد. ۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد، ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد، ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد. پس از اتمام مراحل ترموسایکلر ۲۸۰ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد و برای استفاده در QPCR در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای هر نمونه cDNA نیز، یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر b2m به عنوان کنترل داخلی، برای آزمون حضور cDNA تهیه شد. نمونه‌ها به آرامی و بدون ورتکس مخلوط شده و در دستگاه RT-PCR با برنامه‌ریز PCR شد. برنامه زمانی واکنش زنجیره‌ای

پلیمرز شامل ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد و به دنبال آن ۴۰ چرخه شامل: ۱۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و ۳۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد بود. Cts مربوط به واکنش‌ها توسط نرم افزار دستگاه RT-PCR استخراج و در نهایت Mean CT سه مرتبه ثبت شد. پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش در جدول ۲ آورده شده است. کمیسازی مقادیر بیان ژن هدف

مورد نظر از فرمول ۲ به توان منفی $CT\Delta\Delta$ استفاده شد [۲۲].

تحلیل آماری

پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک و همگنی واریانس‌ها از آزمون لون، برای تجزیه و تحلیل آماری از آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-26 انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

جدول ۲. توالی پرایمرها به همراه ژن کنترل

Genes	Primer Sequences
b2m	Forward: GCGGGGTCATGAAATCCAGT
	Reverse: AGTGATGTGGGGACAAAACGA
AMPK	Forward: ACTATCAAAGACATACGAGAGCA
	Reverse: CTTGAGGGTCACCACTGTATAA
TFAM	Forward: CTCCGCAGGCTAGAGGATTG
	Reverse: CAGCTTTCCTGCGGTGAAT
PGC-1 α	Forward: GACCGGCTGGTAGCAAGATT
	Reverse: TAGAGACGGCTCTTCTGCCT

یافته‌ها

خصوص وزن نشان داده که تفاوت معنی‌داری در تغییرات وزن بین گروه‌ها وجود ندارد ($p=0.772$).

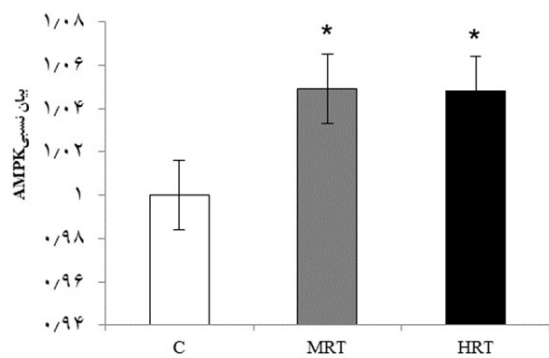
میانگین وزن گروه‌ها قبل و پس از چهار و هشت هفته در جداول ۳ ارائه شده است. نتایج تحلیل داده‌ها در

جدول ۳. نتایج وزن در گروه‌های مختلف

وزن (گرم)			متغیر	گروه
پس از ۸ هفته	پس از ۴ هفته	پیش‌آزمون		
441.87 ± 23.9	452 ± 36.92	445.50 ± 33.19	C	
426 ± 38.7	425 ± 38.9	432 ± 37.9	MRT	
424.6 ± 35	434.37 ± 39.2	434.1 ± 37.8	HRT	

همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان TFAM کاردیومیوسیت‌ها بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=15.749$, $p=0.0001$) (نمودار ۲). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان TFAM در گروه‌های MRT ($p=0.0001$) و HRT ($p=0.0001$) نسبت به گروه C مشاهده شد (نمودار ۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان PGC-1 α کاردیومیوسیت‌ها بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($p=0.0001$), ($F=18.671$) (نمودار ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان PGC-1 α در گروه‌های MRT ($p=0.0001$) و HRT ($p=0.0001$) نسبت به گروه C مشاهده شد (نمودار ۱).

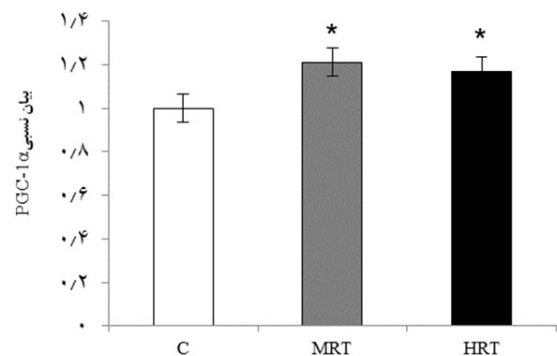


نمودار ۳. تغییرات بیان نسبی AMPK کاردیومیوسیت در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (در سطح $p < 0.05$).
* تفاوت با C: C: کنترل، MRT: تمرین مقاومتی با شدت متوسط، HRT: تمرین مقاومتی با شدت بالا

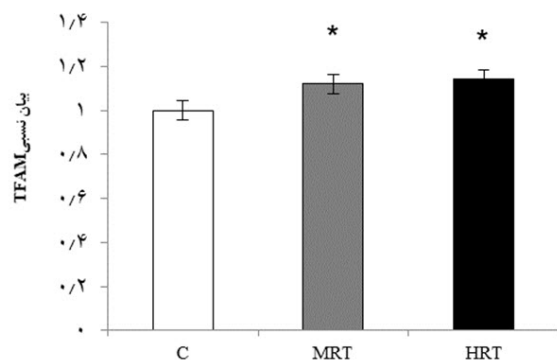
بحث

بیماری‌های قلبی عروقی مانند سکته مغزی، نارسایی قلبی و بیماری‌های عروقی، علیرغم پیشرفت‌هایی که در روش‌های پیشگیری و درمان صورت گرفته، علت اصلی مرگ و میر در سالمندان می‌باشد [۲۳]. بسیاری از این تغییرات مرتبط با افزایش سن با اختلال عملکرد میتوکندری در قلب مرتبط می‌باشد، زیرا میتوکندری‌ها منبع انرژی اولیه در قلب بوده و علاوه بر این در چندین فرآیند سلولی مانند تنظیم مرگ سلولی و تولید گونه‌های اکسیژن فعال^۱ (ROS) نقش دارند [۲۴]. همچنین پیری با اختلال در عملکرد قلبی و همچنین اختلال در بیوژنز میتوکندری کاردیومیوسیت‌ها همراه است. PGC-1 α نقش مهمی در تنظیم بیوژنز و عملکرد میتوکندری داشته و در بافت‌هایی که نیاز به انرژی بیشتری دارند از قبیل قلب، مغز و عضلات اسکلتی بیشتر بیان می‌شوند. همچنین مطالعات نشان داده که بیان PGC-1 α در موش‌های مسن کمتر از موش‌های جوان بوده [۹] و کاهش PGC-1 α و TFAM یکی از عوامل مهم در اختلال میتوکندری ناشی از پیری می‌باشد [۲۵] که باعث کاهش بیوژنز میتوکندری می‌شود. کاهش بیوژنز و ترن‌اور میتوکندری منجر به تجمع

در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین تغییرات بیان AMPK کاردیومیوسیت‌ها در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($F=11/553$ و $p=0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان AMPK در گروه‌های MRT ($p=0/0001$) و HRT ($p=0/0001$) نسبت به گروه C مشاهده شد (نمودار ۳).



نمودار ۱. تغییرات بیان نسبی PGC-1 α کاردیومیوسیت در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (در سطح $p < 0.05$).
* تفاوت با C: C: کنترل، MRT: تمرین مقاومتی با شدت متوسط، HRT: تمرین مقاومتی با شدت بالا



نمودار ۲. تغییرات بیان نسبی TFAM کاردیومیوسیت در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (در سطح $p < 0.05$).
* تفاوت با C: C: کنترل، MRT: تمرین مقاومتی با شدت متوسط، HRT: تمرین مقاومتی با شدت بالا

¹ Reactive Oxygen Species

میتوکندری‌های آسیب دیده و قدیمی در سلول شده و اختلال عملکرد عضلات پیری را توضیح دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که MRT و HRT باعث افزایش بیان PGC-1 α و TFAM کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی سالمند شد. هم‌راستا با پژوهش حاضر احمدی و همکاران در پژوهشی نشان دادند که تمرین مقاومتی باعث بهبود بیوژنز میتوکندری از طریق افزایش در بیان PGC-1 α و TFAM بافت قلب موش‌های صحرایی نر می‌شود [۲۶]. با قدم و همکاران نیز در پژوهشی که به بررسی تاثیر تمرین مقاومتی بر بیان PGC-1 α عضله قلبی موش‌های دیابتی انجام دادند، بیان کردند که تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی‌دار PGC1 α می‌شود [۲۷]. همچنین بختیاری و همکاران نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط باعث افزایش معنی‌داری بیان PGC-1 α و TFAM عضله دوقلوی موش‌های صحرایی سالمند شد [۲۸]. با این وجود، خدابنده و همکاران (۱۴۰۰) نشان دادند که تمرین مقاومتی تاثیری بر بیان PGC-1 α بافت کبد موش‌های صحرایی سالمند ندارد [۲۹]. همچنین شعبانی و همکاران بیان کردند که تمرین مقاومتی بر PGC-1 α عضله قلبی موش‌های نر سالم تاثیر معنی‌داری ندارد [۳۰]. شاید تفاوت در بافت بررسی شده (بافت قلب در مقابل بافت کبد) و همچنین نوع حیوانات مورد بررسی (سالمند در مقابل سالم)، و همچنین تفاوت در پروتکل‌های تمرین مقاومتی باعث تفاوت در نتایج شده است.

PGC-1 α بیوژنز میتوکندری را با فعال کردن فاکتورهای رونویسی که بیان هسته DNA را تنظیم می‌کنند (از قبیل NRF1، NRF2 و ERR α)^۱، آغاز می‌کند [۳۱]. فعال شدن این فاکتورهای رونویسی بیان پروتئین‌های میتوکندری از جمله TFAM و زیر واحدهای زنجیره انتقال الکترون میتوکندری را افزایش می‌دهد [۳۲]. در پژوهش حاضر به دنبال

افزایش PGC-1 α میزان بیان TFAM نیز افزایش یافت. TFAM برای تکثیر، رونویسی و نگهداری mtDNA ضروری است [۳۲]. بنابراین، با تنظیم سطوح TFAM، فعال کننده‌های PGC-1 α می‌توانند بر بیان پروتئین‌های کدشده توسط mtDNA تاثیر داشته باشند. پروتئین‌های کدگذاری شده توسط DNA هسته‌ای به میتوکندری وارد شده، و برخی با پروتئین‌های کدگذاری شده توسط mtDNA ترکیب می‌شوند تا زیر واحدهای سیستم OXPHOS میتوکندری را تشکیل دهند. بنابراین، PGC-1 α بیوژنز میتوکندری را با هماهنگ کردن بیان پروتئین‌های میتوکندری که توسط ژنوم‌های هسته‌ای و میتوکندری کدگذاری می‌شوند، تنظیم می‌کند [۳۳]. مطالعات نشان می‌دهد فعالیت بدنی بیان PGC-1 α را از طریق گیرنده‌های بتا آدرنرژیک و مسیر cAMP افزایش می‌دهد [۳۴]. فعالیت ورزشی و افزایش تقاضا برای انرژی منجر به افزایش AMP، غلظت کلسیم درون سلولی و افزایش ROS می‌شود. این تغییرات باعث فعال شدن برخی از مسیرهای سیگنالینگ درون سلولی از جمله، پروتئین وابسته به کلسیم کالمودولین، AMPK و p38-AMPK شده که نقش اساسی در تنظیم افزایشی فعالیت PGC-1 α و به دنبال آن بیوژنز میتوکندری دارند [۳۵]. مطالعات نشان داده که با افزایش سن میزان AMPK نیز کاهش چشمگیر داشته و می‌تواند نقش مهمی در کاهش PGC-1 α داشته باشد [۳۶]. با این وجود، در پژوهش حاضر بیان AMPK کاردیومیوسیت‌ها به دنبال هر دو نوع تمرین افزایش معنی‌داری داشت. مطالعه معینی و همکاران نشان داد که به دنبال هشت هفته تمرین مقاومتی بیان AMPK در بافت قلب موش‌های صحرایی چاق افزایش معنی‌داری داشت [۳۷]. قمی و همکاران نیز نشان دادند که هر دو نوع تمرین هوازی و مقاومتی باعث افزایش بیان AMPK در عضلات موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود [۳۸]. با این وجود

^۱ Estrogen-related Receptor Alpha

گرونیك^۱ و همکاران بیان کردند که تمرینات مقاومتی علیرغم افزایش در بیوژنز میتوکندری و p38-MAPK، تاثیر معنی‌داری بر AMPK ندارد [۳۹]. افزایش فعالیت AMPK به علت اختلالات در وضعیت انرژی قلب است. AMPK به‌عنوان گیرنده انرژی سلولی شناخته شده، و زمانی که سطح AMP درون سلولی افزایش پیدا کند، فعال می‌شود. به طور کلی، فعال‌سازی AMPK مسیر متابولیکی را برای تولید ATP شروع کرده و تکثیر و بیوسنتز سلولی را کنترل می‌کند [۴۰]. به عنوان سنسور وضعیت انرژی سلولی، AMPK به افزایش نسبت AMP به ATP پاسخ می‌دهد، که می‌تواند در نتیجه گرسنگی، فعالیت ورزشی و انقباض عضلانی مشاهده شود [۴۱]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های MRT و HRT در میزان بیان AMPK، PGC-1 α و TFAM کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی سالمند مشاهده نشد. هرچند در مطالعات قبلی نشان داده شد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان PGC-1 α و TFAM در گروه تمرین تناوبی شدید نسبت به تمرین تداومی وجود دارد [۲۸]. به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر هر دو نوع شدت تمرین مقاومتی حداقل فشار لازم را برای سازگاری شاخص‌های بیوژنز میتوکندری در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی سالمند داشته است.

^۱ Groennebaek

از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان عدم اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسایشی و بافت‌شناسی قلب نام برد که می‌تواند در تحلیل نتایج بسیار موثر باشد. همچنین استفاده از نمونه‌های سالمند در پژوهش حاضر منجر به محدود شدن تعمیم نتایج به دیگر گروه‌های سنی خواهد شد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته MRT و HRT با افزایش بیان AMPK، PGC-1 α و TFAM کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی سالمند منجر به بهبود بیوژنز میتوکندری می‌شود. به نظر هر دو نوع تمرین می‌تواند یک شیوه مداخله کارآمد برای بهبود عملکرد سلولی بویژه عملکرد میتوکندری باشد. با این وجود برای درک مکانیزم‌های سلولی ناشی از این تغییرات نیاز به پژوهش‌های بیشتری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب رساله دکتری در دانشگاه گیلان انجام شد. بدینوسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این دانشگاه اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

در این پژوهش هیچ گونه تضاد منافی برای نویسندگان وجود ندارد.

References

- 1- López-Lluch G, Irusta PM, Navas P, de Cabo R. Mitochondrial biogenesis and healthy aging. *Exp Gerontol*. 2008 Sep;43 (9):813-9.
- 2- Almeida AJPOd, Ribeiro TP, Medeiros IAd. Aging: molecular pathways and implications on the cardiovascular system. *Oxid Med Cell Longev*. 2017 Aug;2017:1-19.
- 3- Gottlieb RA, Thomas A. Mitophagy and mitochondrial quality control mechanisms in the heart. *Curr Pathobiol Rep*. 2017 Jun;5(2):161-169.
- 4- Scarpulla RC, Vega RB, Kelly DP. Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis. *Trends Endocrinol Metab*. 2012 Sep;23(9):459-66.

- 5- Wang D, Zhang J, Lu Y, Luo Q, Zhu L. Nuclear respiratory factor-1 (NRF-1) regulated hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) under hypoxia in HEK293T. *IUBMB life*. 2016 Sep;68(9):748-55.
- 6- Huo L, Scarpulla RC. Mitochondrial DNA instability and peri-implantation lethality associated with targeted disruption of nuclear respiratory factor 1 in mice. *Mol Cell Biol*. 2001 Jan;21(2):644-54.
- 7- McDermott-Roe C, Ye J, Ahmed R, Sun X-M, Serafin A, Ware J, et al. Endonuclease G is a novel determinant of cardiac hypertrophy and mitochondrial function. *Nature*. 2011 Oct ;478(7367):114-8.
- 8- Quan N, Wang L, Chen X, Luckett C, Cates C, Rousselle T, et al. Sestrin2 prevents age-related intolerance to post myocardial infarction via AMPK/PGC-1 α pathway. *J Mol Cell Cardiol*. 2018 Feb;115:170-8.
- 9- Viña J, Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Froio T, Sanchis-Gomar F, Martinez-Bello VE, et al. Mitochondrial biogenesis in exercise and in ageing. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009 Nov;61(14):1369-74.
- 10- Cantó C, Auwerx J. PGC-1 α , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Curr Opin Lipidol*. 2009 Apr;20(2):98.
- 11- Chennamsetty I, Coronado M, Contrepais K, Keller MP, Carcamo-Orive I, Sandin J, et al. Nat1 deficiency is associated with mitochondrial dysfunction and exercise intolerance in mice. *Cell rep*. 2016 Oct;17(2):527-40.
- 12- Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, MacDonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J physiol*. 2008 Jan;586(1):151-60.
- 13- Wu H, Kanatous SB, Thurmond FA, Gallardo T, Isotani E, Bassel-Duby R, et al. Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by CaMK. *Science*. 2002 Apr;296(5566):349-52.
- 14- Irrcher I, Ljubcic V, Kirwan AF, Hood DA. AMP-activated protein kinase-regulated activation of the PGC-1 α promoter in skeletal muscle cells. *PloS one*. 2008 Oct ;3(10):e3614.
- 15- Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*. 1999 Jul;98(1):115-24.
- 16- Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 α . *Exp Gerontol*. 2013 Nov;48(11):1343-50.
- 17- Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Rizza RA, Coenen-Schimke JM, et al. Impact of aerobic exercise training on age-related changes in insulin sensitivity and muscle oxidative capacity. *Diabetes*. 2003 Aug;52(8):1888-96.
- 18- Menshikova EV, Ritov VB, Fairfull L, Ferrell RE, Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006 Jun;61(6):534-40.
- 19- Macedo AG, Krug AL, Herrera NA, Zago AS, Rush JW, Amaral SL. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Sep;143:357-64.
- 20- Krug AL, Macedo AG, Zago AS, Rush JW, Santos CF, Amaral SL. High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. *Muscle nerve*. 2016 May;53(5):779-88.
- 21- de Cássia Marqueti R, Almeida JA, Nakagaki WR, Guzzoni V, Boghi F, Renner A, et al. Resistance training minimizes the biomechanical effects of aging in three different rat tendons. *J Biomech*. 2017 Feb; 53:29-35.
- 22- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 $^{-\Delta\Delta CT}$ method. *methods*. 2001 Dec;25(4):402-8.
- 23- Volkova M, Garg R, Dick S, Boheler KR. Aging-associated changes in cardiac gene expression. *Cardiovasc Res*. 2005 May;66(2):194-204.
- 24- Lesnefsky EJ, Moghaddas S, Tandler B, Kerner J, Hoppel CL. Mitochondrial dysfunction in cardiac disease: ischemia-reperfusion, aging, and heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2001 Jun;33(6):1065-89.
- 25- Conley KE, Marcinek DJ, Villarin J. Mitochondrial dysfunction and age. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007 Nov;10(6):688-92.

- 26- Ahmadi F, Siahkhouhian M, Mirdar S, Tapak L. The effect of a detraining after resistance training on the histochemical expression of potassium channels and mitochondrial biogenesis of heart tissue in male rats. *Horizon Med Sci*. 2021 Spring;27(2):230-45. [Full text in Persian]
- 27- Baghdadam M, Azizbeigi K. The effect of resistance training on IRISIN and gene expression of PGC1 α in the cardiac muscle in STZ-induced diabetic rats. *Com Health J*. 2018 Autumn;12(3):58-64. [Full text in Persian]
- 28- Bakhtiyari A, Gaeni A, Choobineh S, Kordi MR, Hedayati M. The comparison of the influence of 12-week high- intensity interval training and continuous moderate intensity training on PGC-1 α and Tfam mitochondrial proteins expressions in gastrocnemius muscle of elderly rats. *J Animal Biolo*. 2019 Summer;11(4):11-20. [Full text in Persian]
- 29- Khodabandeh M, Peeri M, Azarbayjani MA, Matinhomae H. Effect of resistance exercise and liposomal vitamin C on some factors of mitochondrial dynamics and biogenesis. *Complementary Med J*. 2021 Spring;11(1):82-97. [Full text in Persian]
- 30- Shabani M, Choobineh S, Kordi MR, Afghan M. The effect of 8 weeks of high intensity interval training on the expression of PGC-1 α and VEGF genes in myocardial muscle of male healthy rats. *J Sport Biosci*. 2016 Summer;8(2):169-76. [Full text in Persian]
- 31- Anderson R, Prolla T. PGC-1 α in aging and anti-aging interventions. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Oct;1790(10):1059-66.
- 32- Rebelo AP, Dillon LM, Moraes CT. Mitochondrial DNA transcription regulation and nucleoid organization. *J Inherit Metab Dis*. 2011 Aug;34(4):941-51.
- 33- Dillon LM, Rebelo AP, Moraes CT. The role of PGC-1 coactivators in aging skeletal muscle and heart. *IUBMB life*. 2012 Mar;64(3):231-41.
- 34- Hamidie RDR, Yamada T, Ishizawa R, Saito Y, Masuda K. Curcumin treatment enhances the effect of exercise on mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by increasing cAMP levels. *Metabolism*. 2015 Oct;64(10):1334-47.
- 35- Kang C, Ji LL. Role of PGC-1 α signaling in skeletal muscle health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2012 Oct;1271(1):110.
- 36- Handschin C, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. *Endocr Rev*. 2006 Dec;27(7):728-35.
- 37- Moini A, Farsi S, Hoseini S, Mehrzad M. The effect of resistance training on the expression of cardiac muscle growth regulator messenger genes in obese male rats. *Armaghane danesh*. 2019 Autumn-Winter;24(5):935-49. [Full text in Persian]
- 38- Arshadi S, Hasanghomi M, Banaeefar A, Kazemzadeh Y. The effect of eight weeks aerobic and resistance training on AMP-Activated protein kinase (AMPK) gene expression in soleus muscle and insulin resistance of STZ-induced diabetic drat. *J Med Council Iran*. 2019 Jun;37(2):81-7. [Full text in Persian]
- 39- Groennebaek T, Jespersen NR, Jakobsgaard JE, Sieljacks P, Wang J, Rindom E, et al. Skeletal muscle mitochondrial protein synthesis and respiration increase with low-load blood flow restricted as well as high-load resistance training. *Front Physiol*. 2018 Dec;9:1796.
- 40- Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde J-L, Bertrand L. AMP-activated protein kinase in the control of cardiac metabolism and remodeling. *Curr Heart Fail Rep*. 2012 Sep;9(3):164-73.
- 41- Arad M, Seidman CE, Seidman J. AMP-activated protein kinase in the heart: role during health and disease. *Circ Res*. 2007 Mar;100(4):474-88.