

## The effect of 8-weeks of High-intensity Interval Training and Hawthorn Extract on PGC-1 $\alpha$ and TFAM Proteins Levels in the Soleus Muscle of Aged Rats

Saedi F, Nikseresht M\*, Taheri Kalani AH

Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran.

\* *Corresponding author.* Tel: +989183433019, Fax: +988432227526, E-mail: nikserasht@gmail.com.

Received: Feb 6, 2023 Accepted: Apr 18, 2023

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Maintaining the capacity of mitochondrial biogenesis during aging is considered a key factor to prevent the development of age-related diseases. this study aimed to investigate the effect of 8-weeks of high-intensity interval training (HIIT) and hawthorn extract on the peroxisome proliferator- activated receptor- $\gamma$  gamma coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) and mitochondrial transcription factor A (TFAM) proteins levels in the soleus muscle of aged rats.

**Methods:** Thirty-six aged rats were randomly and equally assigned into control (CON), HIIT, extract or combined (COM, HIIT+ extract) groups. The HIIT protocol consisted of 6 to 9 sets $\times$ 5-min of running on a treadmill, which was performed 4 minutes at 16 m/min and one minute at a speed velocity of 25 m/min, 5 times a week for 8 weeks. Over the intervention period, rats in the extract and COM groups received 100 mg/kg per day hawthorn. After the interventions, TFAM and PGC-1 $\alpha$  protein expression levels were detected in the soleus muscle using the western blotting method.

**Results:** There was a significant increase in PGC-1 $\alpha$  for all interventions when compared to the CON, although this increase in the COM was significantly higher than the other groups. After 8 weeks, there was a significant increase in TFAM level in extract group compared to CON, also, the training groups had more effects on this marker in comparison to the former intervention ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that, 8-weeks of the HIIT+ intake hawthorn is a more efficient approach in improving mitochondrial oxidative capacity compared to HIIT and extract alone.

**Keywords:** Hawthorn; High Intensity Interval Training; Mitochondrial Biogenesis; Rat; Aging

## اثر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و عصاره زالزالک بر میزان پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$ و TFAM عضله نعلی در رت‌های سالمند

فاطمه ساعدی، محمود نیک‌سرشت\*، عبدالحسین طاهری کلانی

گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام، ایلام، ایران.

\* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۸۳۴۳۰۱۹ فاکس: ۰۸۴۳۲۲۷۵۲۶ پست الکترونیک: nikserasht@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** حفظ ظرفیت بیوژنز میتوکندری در دوران سالمندی یک عامل کلیدی جهت جلوگیری از پیشرفت بیماری‌های وابسته به سالمندی به شمار می‌رود. هدف از این مطالعه تعیین اثر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و دریافت عصاره زالزالک بر بیان پروتئین‌های فعال‌کننده گیرنده تکثیری گامای پراکسی‌زوم (PGC-1 $\alpha$ ) و عامل نسخه‌برداری A میتوکندریایی (TFAM) در عضله نعلی رت‌های سالمند بود.

**روش کار:** ۳۶ سر رت سالمند به صورت تصادفی در چهار گروه (هر گروه ۹ سر) کنترل، تمرین، عصاره و تمرین + عصاره (ترکیبی) تقسیم شدند. پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل اجرای ۶ تا ۹ ست ۵ دقیقه‌ای دویدن بود که ۴ دقیقه آن با سرعت ۱۶ متر/دقیقه و یک دقیقه پایانی هر ست با سرعت ۲۵ متر/دقیقه با رعایت اصل اضافه‌بار اجرا شد. در طی مداخله، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز عصاره زالزالک به رت‌های گروه‌های دریافت عصاره و ترکیبی داده شد. سطح پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  و TFAM در عضله نعلی با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  پس از ۸ هفته به ترتیب در گروه‌های ترکیبی، تمرین تناوبی و سپس گروه عصاره به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود. مقادیر پروتئین TFAM پس از ۸ هفته، در گروه عصاره به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل و در گروه‌های تمرین و ترکیبی بالاتر از سایر گروه‌ها بود ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که اجرای تمرین تناوبی به همراه دریافت عصاره زالزالک در مقایسه با سایر مداخله‌ها به تنهایی، رویکرد کارآمدتری برای بهبود ظرفیت اکسایشی میتوکندریایی است.

**واژه‌های کلیدی:** زالزالک، تمرین تناوبی شدید، بیوژنز میتوکندریایی، رت، سالمند

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۲۹

### مقدمه

سالمندی ظرفیت قلبی-عروقی، حجم توده عضلانی و در نهایت کیفیت زندگی را کاهش می‌دهد [۱]. نشان داده‌شده است که این تغییرات منفی ناشی از مکانیسم‌های مختلفی مانند کاهش کارایی میتوکندریایی، کاهش سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد [۲]. با توجه به گسترش سالمندی و افزایش پیامدهای ناشی از آن،

ارائه راه‌کارهای مطلوب جهت تعدیل و کاهش

عوارض ناشی از آن ضروری به‌نظر می‌رسد. مطالعات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی یکی از عوامل اصلی در پیشگیری از روند سالمندی است. استراتژی دیگر جهت کاهش فرایند پیری، تغذیه مناسب برای این دوران است. تمایل مردم جهان به مصرف گیاهان دارویی در سال‌های اخیر بسیار چشمگیر بوده است. استفاده از داروهای گیاهی همانند

داروهای شیمیایی نیز در سراسر جهان رواج داشته؛ اما عوارض جانبی آنها کمتر و ارزان تر است. زالزالک<sup>۱</sup> گیاهی برگریز از خانواده رزاسه<sup>۲</sup> با حدود ۲۸۰ گونه مختلف است که بومی نواحی مدیترانه، شمال آفریقا، اروپا و آسیای مرکزی می باشد [۳]. خواص دارویی زالزالک به پلی فنل ها، فلاونوئیدها، پروآنتوسیانیدین های اولیگومریک موجود در آن نسبت داده می شود [۴]. زالزالک به عنوان یک عصاره گیاهی دارای آثار بیولوژیکی متعددی از قبیل آنتی اکسیدانی، کاهش چربی، ضد التهاب و محافظت از آندوتلیال عروق می باشد [۳].

تمرینات تناوبی شدید<sup>۳</sup> (HIIT) شامل نوبت های تمرینی با شدت بالا با دوره های استراحت فعال کوتاه مدت است [۵]. به طور معمول، مدت اجرای این برنامه تمرینی از ۱۵ ثانیه تا ۴ دقیقه به طول می انجامد و شدت آن از ۸۰ تا ۹۵ درصد ضربان قلب بیشینه ( $HR_{max}$ ) است. فواصل بازیافت معمولاً برابر یا بیشتر از مدت زمان اجرای فعالیت شدید است و شامل استراحت غیرفعال یا فعالیت ورزشی با شدت پایین (۴۰ تا ۵۰ درصد  $HR_{max}$ ) است [۶]. به دلیل افزایش ۸ تا ۱۰ برابری مصرف اکسیژن در حین فعالیت ورزشی شدید، تولید گونه های اکسیژن فعال<sup>۴</sup> (ROS) نیز افزایش می یابد. باین وجود، اجرای منظم HIIT از راه تقویت دفاع آنتی اکسیدانی منجر به کاهش ROS می شود [۷]. یکی از سازگاری های مرتبط با کاهش ROS، افزایش بیوژنز میتو کندریایی است [۸].

پروتئین فعال کننده گیرنده تکثیری گامای پراکسی زوم<sup>۵</sup> ( $PGC-1\alpha$ ) یک پروتئین چند عملکردی است که نقش مهمی در تنظیم عملکرد میتو کندری و

ظرفیت اکسیداتیو دارد [۹]، از راه تقویت بیان پروتئین های مسئول رونویسی ژن ها و DNA میتو کندری ایفاء می کند [۱۰]. گزارش شده است پروتئین  $PGC-1\alpha$  از راه داستیلاسیون مستقیم بر فعالیت فاکتور رونویسی میتو کندریایی<sup>۶</sup> (TFAM) تأثیر می گذارد [۱۱]. هم چنین، خانواده  $PGC-1\alpha$  با فعال کردن عوامل رونویسی مثل عوامل تنفسی هسته ای<sup>۷</sup> (NRF) و گیرنده آلفای وابسته به  $(ERR-\alpha)$  زیست زایی میتو کندریایی را تنظیم می کند. فعال شدن این عوامل رونویسی باعث افزایش بیان بسیاری از پروتئین های میتو کندریایی همانند TFAM و عوامل تنفسی هسته ای-۱، ۲<sup>۸</sup> (NRF-1,2) می شود [۱۲]. TFAM بیان شده در هسته، سنتز پروتئین های زنجیره انتقال الکترونی میتو کندری را افزایش می دهد که اهداف پایین دست NRF-1,2 هستند [۱۳]. مشخص شده است که تمرین ورزشی می تواند منجر به تحریک بیوژنز جهت افزایش میزان و کیفیت میتو کندری شود [۱۴]. در این زمینه افزایش سطح پروتئین های  $PGC-1\alpha$  و TFAM به دنبال تمرین HIIT در بافت عضله اسکلتی [۱۷-۱۵]، قلب [۱۸] و هیپوکمپ [۱۹] دیده شده است. از طرفی، مطالعات دیگر تغییری را در سطح پروتئین های  $PGC-1\alpha$  [۲۰] و TFAM [۲۱] عضلانی رت ها گزارش نکردند.

یکی از فرضیه های اصلی که با تسریع در روند سالمندی همراه است، نقص در عملکرد میتو کندری می باشد. طی این فرضیه با از بین رفتن میتو کندری، مقادیر و عملکرد آنزیم های زنجیره تنفسی میتو کندری کاهش و به دنبال آن مقادیر ROS در سلول افزایش می یابد. این وضعیت موجب تخریب سلولی و در نهایت کاهش طول عمر آن به دنبال کاهش بیوژنز میتو کندری می شود [۲۲]؛ با این حال اطلاعات محدودی در زمینه اثر تمرین ورزشی و

<sup>1</sup> Hawthorn

<sup>2</sup> Rosaceae

<sup>3</sup> High Intensity Interval Training (HIIT)

<sup>4</sup> Reactive Oxygen Species (ROS)

<sup>5</sup> Peroxisome Proliferator Activated Receptor- $\gamma$

Gamma Coactivator-1 $\alpha$  ( $PGC-1\alpha$ )

<sup>6</sup> Mitochondrial Transcription Factor A (TFAM)

<sup>7</sup> Nuclear Respiratory Factor (NRF)

<sup>8</sup> Estrogen-Related Receptor  $\alpha$  ( $ERR-\alpha$ )

<sup>9</sup> Nuclear Respiratory Factor- 1,2 (NRF-1,2)

دریافت عصاره زالزالک بر پروتئین‌های درگیر در بیوژنز میتوکندریایی وجود دارد. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مصرف عصاره میوه زالزالک همراه با اجرای تمرین تناوبی شدید بر سطح پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  و TFAM در عضله نعلی رت‌های سالمند بود.

## روش کار

روش پژوهش حاضر از نوع تجربی و طرح آن پس از آزمون با گروه کنترل بود. در این پژوهش ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار مسن بالای ۲۲ هفته سن مورد استفاده قرار گرفت که پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه به‌طور تصادفی به چهار گروه (۹ سری) شامل کنترل، تمرین، دریافت عصاره و تمرین+ دریافت عصاره (ترکیبی) تقسیم شدند. حیوانات در قفسه‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری (۴ سر در هر قفس) در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۴۵ درصد و چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. غذای رت‌ها از شرکت خوراک دام پارس تهران تهیه شد. در تمام مراحل پژوهش، حیوانات توسط یک نفر جابجا و دستکاری شدند این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام تأیید و تمام مراحل آن مطابق بیانیه هلسینکی انجام شد.

قبل از شروع برنامه تمرین، رت‌ها با دویدن بر روی نوارگردان آشنا شدند. این آشنایی به مدت ۵ روز و هر روز به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰-۱۵ متر/ دقیقه بود. برنامه گرم کردن، شامل دویدن بر روی نوارگردان به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۹ متر/ دقیقه قبل از شروع هر جلسه اجرا شد. پروتکل تمرین استفاده شده در این پژوهش شامل ۸ هفته/ پنج جلسه در هفته تمرین HIIT بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان بود. این پروتکل شامل اجرای ۹-۶

ست ۵ دقیقه‌ای با ۳ دقیقه استراحت فعال بین ست‌ها بود که برای ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته با رعایت اصل اضافه‌بار (هر دو هفته یک ست اضافه شد) اجرا گردید. چهار دقیقه ابتدایی هر ست با سرعت ۱۶ متر/ دقیقه و یک دقیقه پایانی با سرعت ۲۵ متر/ دقیقه اجرا شد. استراحت فعال بین ست‌ها شامل سه دقیقه فعالیت بر روی نوارگردان با سرعت ۱۰ متر/ دقیقه بود.

پودر به دست آمده از عصاره گل و جوانه‌های تازه خالص زالزالک از شرکت دینه داروی قزوین تهیه شد. سپس به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره زالزالک به ازای وزن بدن هر رت، در گروه‌های دریافت عصاره و ترکیبی به روش گاوآژ داده شد [۲۳]. زمان دریافت عصاره پس از اجرای هر جلسه تمرین بود (پنج روز در هفته و به مدت ۸ هفته). چهل و هشت ساعت پس از مداخله‌ها، رت‌ها با ماده بی‌هوشی با استفاده از مخلوط کتامین ۳۰ تا ۵۰ mg/kg و زایلازین ۳ تا ۵ mg/kg با تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی با تشریح رت‌ها، بافت عضله نعلی آنها جدا و در نیتروژن مایع منجمد و برای انجام آزمایش‌های سلولی مولکولی در یخچال ۸۰- درجه نگهداری شد.

از روش وسترن بلات جهت اندازه‌گیری پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  و TFAM استفاده شد. به این‌صورت که نمونه‌های بافت عضله نعلی ابتدا به بافر لیزکننده اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه هموژنایزر (Speed Mill, analytikjena, آلمان) و با ۱۴۰۰ دور در دقیقه هموژن شدند. لایزیس بافر شامل تریس پایه ۵۰ میلی‌مولار (۰/۳ گرم)، کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مولار (۰/۴۳ گرم)، تریتون ۱۰۰ x ۰/۱ درصد (۰/۲ میلی‌لیتر)، سدیم دی‌اکسی کولات ۰/۲۵ درصد (۰/۰۵ گرم)، SDS ۰/۱ درصد (۰/۰۲ گرم) و EDTA (۵/۸۴ گرم) بود که در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و pH آن بر روی ۷/۴ تنظیم گردید. به‌ازای

جدول ۱. میانگین وزن رت‌ها در پایان دوره پژوهش

گروه	وزن (گرم)	F	P
کنترل	۴۵۰/۲۴ ± ۳/۶۵		
تمرین	# ۳۵۰/۴۶ ± ۱/۰۸	۹/۴۸۳	۰/۰۰۱
عصاره	۴۵۰/۴۵ ± ۳/۷۳		
ترکیبی	* ۴۰۰/۱۷ ± ۲/۲۵		

\* کاهش معنادار در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $P=۰/۰۱۸$ ) و عصاره ( $P=۰/۰۱۹$ ).  
# کاهش معنادار در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $P=۰/۰۰۴$ ), عصاره ( $P=۰/۰۰۴$ ) و ترکیبی ( $P=۰/۰۲۱$ )

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بیانگر تفاوت معناداری در میزان پروتئین PGC-1 $\alpha$  عضله نعلی گروه‌های مورد بررسی بود ( $p=۰/۰۰۰۱$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، میزان پروتئین PGC-1 $\alpha$  عضله نعلی در گروه‌های مداخله در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری بالاتر بود (همه،  $p<۰/۰۰۰۱$ ). همچنین در مقایسه بین مداخله‌ها مشخص شد، میزان این پروتئین در گروه ترکیبی بالاتر از سایر گروه‌ها و در گروه تمرین نیز بالاتر از گروه عصاره بود (همه،  $p<۰/۰۰۰۸$ ، شکل ۱).

شماره ۱ و ۵ مربوط به گروه کنترل، ۲ و ۶ مربوط به گروه تمرین، ۳ و ۷ مربوط به گروه عصاره و ۴ و ۸ مربوط به گروه ترکیبی است. از پروتئین GAPDH به عنوان کالیبراتور استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد، تفاوت معناداری در میزان پروتئین TFAM عضله نعلی بین گروه‌های مطالعه وجود دارد ( $F=۷۱۵/۳۳۵$ ,  $p=۰/۰۰۰۱$ ). آزمون تعقیبی توکی نشان داد، میزان پروتئین TFAM عضله نعلی در گروه عصاره به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود ( $p=۰/۰۰۰۱$ ). گروه‌های تمرین ( $p=۰/۰۰۰۱$ ) و ترکیبی ( $p=۰/۰۰۰۱$ ) نیز به‌طور مشابه نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معناداری را نشان دادند (شکل ۲).

شماره ۱ و ۵ مربوط به گروه کنترل، ۲ و ۶ مربوط به گروه تمرین، ۳ و ۷ مربوط به گروه عصاره و ۴ و ۸

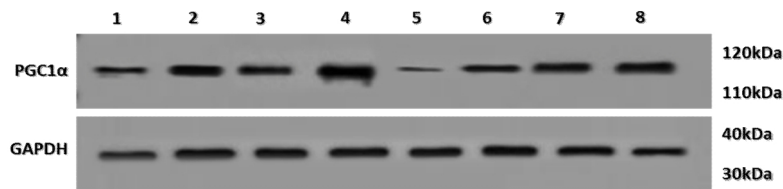
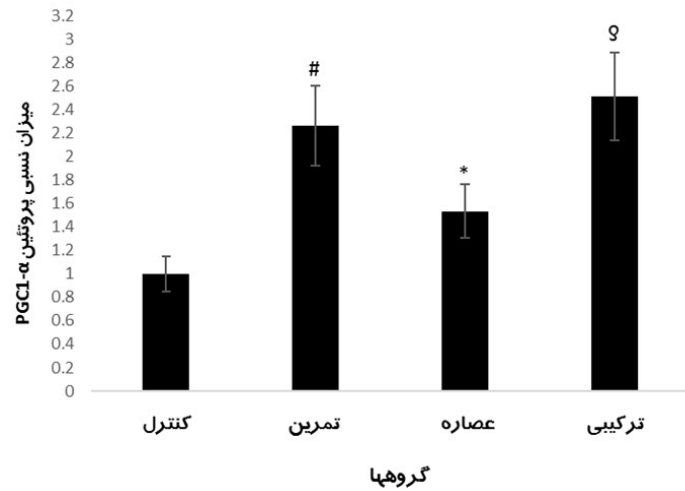
هر ۱۰ میلی‌لیتر از محلول، یک قرص مهارکننده پروتئاز استفاده شد. محلول به‌دست آمده به‌وسیله کیت بردفورت مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل SDS-PAGE (۱۰ درصد) بارگذاری شدند (ابتدا در ولتاژ ۶۰- به مدت ۱۵ دقیقه و سپس در ولتاژ ۱۰۰- به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد). سپس پروتئین‌ها طی فرایند انتقال روی کاغذ نیتروسولونز به مدت ۱۰۵ دقیقه انتقال داده شدند و در ادامه کاغذ یک شب با آنتی‌بادی‌های اولیه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سه مرتبه و هر بار پنج دقیقه با محلول PBS شستشو داده شد و کاغذ به مدت یک ساعت با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد. باندهای پروتئین در دستگاه پردازش گر X-RAY (LD-14، چین) با استفاده از کیت ECL ظاهر شدند. سپس با استفاده از دستگاه اسکنر JS 2000 (BonninTech، چین) دانسیته باندها محاسبه گردید.

برای مقایسه گروه‌ها از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تعقیبی توکی در سطح معناداری  $p<۰/۰۰۵$  استفاده شد.

## یافته‌ها

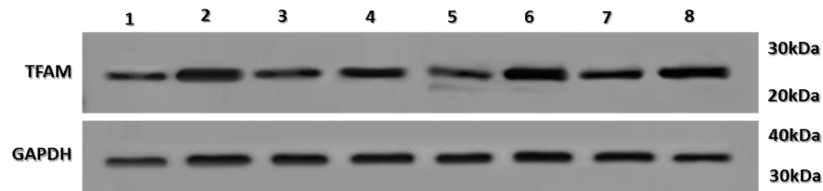
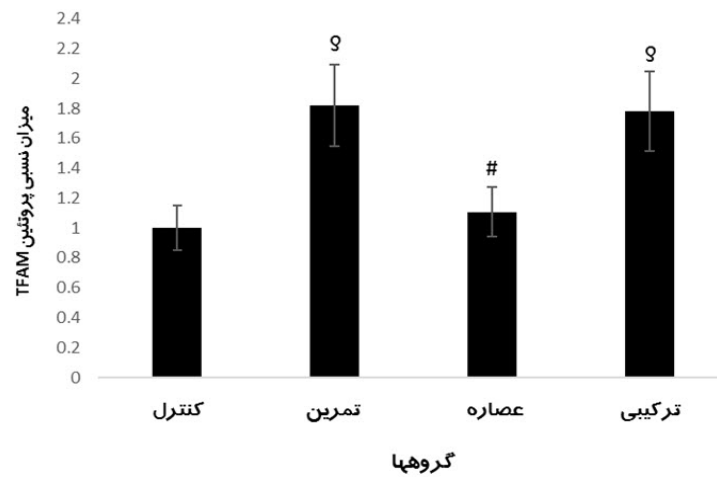
در جدول ۱ میانگین و خطای استاندارد میانگین (SEM) وزن رت‌ها در گروه‌های مطالعه در پایان مداخله نشان داده شده است. طبق اطلاعات جدول ۱، بین چهار گروه مطالعه تفاوت معناداری در میزان وزن وجود دارد ( $F=۹/۴۸۳$ ,  $p=۰/۰۰۱$ ). وزن بدن رت‌های گروه ترکیبی در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p=۰/۰۱۸$ ) و عصاره ( $p=۰/۰۱۹$ ) و در گروه تمرین نسبت به گروه‌های کنترل ( $p=۰/۰۰۴$ ), عصاره ( $p=۰/۰۰۴$ ) و ترکیبی ( $p=۰/۰۲۱$ ) کاهش معناداری را نشان داد.

مربوط به گروه ترکیبی است. از پروتئین GAPDH به عنوان کالیبراتور استفاده شد.



شکل ۱. میزان نسبی پروتئین PGC-1 $\alpha$  عضله نعلی در گروه‌های پژوهش

\*: افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل، #: افزایش معنادار نسبت به گروه‌های عصاره و کنترل، §: افزایش معنادار نسبت به همه گروه‌ها ( $P < 0.05$ )



شکل ۲. میزان نسبی پروتئین TFAM عضله نعلی در گروه‌های پژوهش

#: افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل، §: افزایش معنادار نسبت به گروه‌های کنترل و عصاره ( $P < 0.05$ )

## بحث

پژوهش حاضر، آثار همزمان تمرین تناوبی شدید و دریافت عصاره زالزالک را بر سطح پروتئین‌های بیوژنز میتوکندریایی (PGC-1 $\alpha$  و TFAM) عضله نعلی رت‌های سالمند بررسی نموده است. نتایج نشان داد، اجرای ۸ هفته تمرین تناوبی شدید همراه با دریافت عصاره زالزالک نسبت به دریافت عصاره یا تمرین تناوبی شدید افزایش بیشتری را در سطح پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  داشت و پاسخ TFAM در گروه‌های ترکیبی و تمرین مشابه بود.

در راستای این پژوهش، شرفی و همکاران نشان دادند که تنها سه هفته تمرین تناوبی شدید سطوح سرمی و بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و TFAM عضلات نعلی و بازکننده دراز انگشتان را افزایش داده است [۲۴]. همچنین، رفتی و همکاران نشان دادند ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید موجب افزایش معنادار سطح پروتئین PGC-1 $\alpha$  در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر چاق گردیده است [۱۶]. همین‌طور، ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید سطح پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  و TFAM در عضله دوقلوی رت‌های سالمند افزایش داد [۱۵]. هشت هفته تمرین تناوبی با افزایش سطح پروتئین PGC-1 $\alpha$  در عضله دوقلوی رت‌های سالمند همراه بود [۱۷]. مشابهت شیوه اندازه‌گیری و پروتکل تمرینی احتمالاً دلیل دستیابی به نتایج همسو است. گراناتا<sup>۱</sup> و همکاران، در بررسی تأثیر حجم تمرین به عنوان تنظیم‌کننده تغییرات در محتوای PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی مردان سالم نشان دادند که از بین سه پروتکل تمرینی با حجم نرمال، حجم بالا، و حجم پایین، تنها تمرین استقامتی با حجم بالا قادر به افزایش معناداری در مقادیر PGC-1 $\alpha$  بوده است. در حالی که این اتفاق در مورد دو پروتکل تمرینی دیگر رخ نداد [۲۵]، که نشان از اهمیت حجم تمرین بر تغییر در فعالیت میتوکندریایی ناشی از تمرین می‌باشد. نتایج

این مطالعه نشان می‌دهد که شدت بالای تمرین توانسته است که نبود حجم بالا را در تغییرات بیوژنز پروتئین‌های میتوکندریایی جبران کند. از آنجایی که سالمندی با کاهش پروتئین PGC-1 $\alpha$  همراه است (۱۲)؛ طبق نتایج این پژوهش اجرای تمرین HIIT و دریافت عصاره زالزالک می‌تواند کاهش این فاکتور را در اثر سالمندی جبران نماید.

در مقابل، تبری و همکاران، به دنبال ۱۲ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (۱۰ ست ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO<sub>2max</sub>) تغییر معناداری را در سطوح پروتئینی FTAM عضله نعلی رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو مشاهده نکردند [۲۱]. همچنین، برخلاف یافته پژوهش حاضر به دنبال ۱۰ هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط تغییر معناداری در سطوح پروتئینی PGC-1 $\alpha$  و TFAM عضله نعلی رت‌های دیابتی دیده نشد [۲۰]. از مهمترین دلایل عدم همخوانی این نتایج ممکن است به وضعیت بیماری، نوع تار عضلانی بررسی شده و نوع پروتکل تمرینی اجرا شده مرتبط باشد. در پژوهش دیگری گزارش گردید، ۸ هفته تمرین تناوبی شدید تغییر معناداری در بیان ژنی PGC-1 $\alpha$  در عضله قلبی رت‌های سالم ایجاد نکرد [۲۶]. تفاوت در نوع اندازه‌گیری این متغیر و بافت مورد بررسی ممکن است از جمله دلایل تفاوت این دو مطالعه باشد.

با توجه به نتایج مطالعات صورت گرفته، می‌توان گفت احتمالاً علت افزایش مقادیر PGC-1 $\alpha$  وابسته به الگوی تمرینی و نقش شدت تمرین می‌باشد. زیرا تمرینات شدید موجب فعال شدن آنزیم AMPK<sup>۲</sup> می‌شود. این آنزیم به‌طور مستقیم پروتئین PGC-1 $\alpha$  را فسفوریله می‌کند که این نقش برای القای PGC-1 $\alpha$  از پیش‌سازش ضروری است [۲۷]. همچنین، این الگوی تحریکی باعث تحریک فعال‌سازی گیرنده‌های  $\beta$ 2 آدرنژیک<sup>۳</sup> توسط کاتکولامین‌ها می‌شود که به دنبال

<sup>۲</sup> AMP-activated Protein Kinase

<sup>۳</sup> Beta(2)-adrenergic Receptor

<sup>۱</sup> Granta

هر دو نوع مداخله بهره‌مند بوده‌اند، می‌توان گفت که سازگاری‌های فیزیولوژیکی بیشتری را در عضله اسکلتی در مقایسه با هریک از این مداخله‌ها در خصوص این پروتئین کسب می‌کنند. یافته‌های این مطالعه شواهدی فراهم می‌کند که عصاره زالزالک می‌تواند به‌طور مستقل یا همراه با مداخله ورزشی (آثار بیشتر) از راه افزایش عملکرد میتو کندری در به تأخیر انداختن عوارض سالمندی مؤثر باشد. گرچه، به مطالعات بیشتری برای شناخت مکانیسم‌های احتمالی افزایش پروتئین‌های درگیر در بیوژنز میتو کندریایی به دنبال دریافت عصاره زالزالک نیاز هست.

### نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد اجرای تمرین تناوبی شدید همراه با دریافت عصاره زالزالک منجر به افزایش بیشتری در بیان پروتئین PGC-1 $\alpha$  (یکی از واسطه‌های مهم مسیر بیوژنز میتو کندریایی) در مقایسه با آثار تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره زالزالک به‌تنهایی در رت‌های سالمند می‌شود. هرچند که تمرین تناوبی شدید صرف نظر از مصرف عصاره زالزالک باعث افزایش پروتئین TFAM گردید. با این وجود، برای شناخت مکانیسم مؤثر بر عملکرد و بیوژنز میتو کندریایی عضلات متعاقب تمرینات ورزشی و مداخله‌های غذایی به مطالعات کنترل شده بیشتری نیاز است.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام با شناسه IR.IAU.ILAM.REC.1401.011 به تأیید رسیده و منتج از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. نویسندگان از تمامی هم‌راهانی که به ما در اجرای این پژوهش یاری رساندند، صمیمانه سپاس‌گزاری می‌نمایند.

آن منجر به افزایش cAMP و در نتیجه فعال‌شدن فاکتورهای رونویسی پروتئین متصل به عناصر حساس به cAMP $\alpha$  (CREB) شده و در نهایت بیان PGC-1 $\alpha$  را افزایش می‌دهند [۲۸]. افزون‌براین، گزارش شده است تمرین تناوبی شدید باعث افزایش بیشتری در نسبت AMP/ADP/ATP شده و بنابراین با افزایش بیشتر AMPK همراه است. به نظر می‌رسد این عامل بتواند موجب افزایش بیشتر PGC-1 $\alpha$  (به‌عنوان یک عامل بالادستی) شده [۲۶] و افزایش فعالیت TFAM را نیز به دنبال داشته باشد [۱۱].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اجرای تمرین تناوبی شدید همراه با دریافت عصاره زالزالک در مقایسه با آثار آن‌ها به‌تنهایی موجب افزایش بیشتری در پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  در عضله نعلی رت‌های سالمند شده است. هرچند، افزایش TFAM در دو گروه ترکیبی و تمرین تناوبی مشابه بود. در مورد آثار هم‌افزایی عصاره زالزالک و تمرینات ورزشی بر تنظیم مثبت پروتئین‌های بیوژنز میتو کندریایی اطلاعات زیادی در دسترس نیست؛ اما با توجه به آثار آن بر حفاظت اندوتلیالی می‌توان در مورد نقش آن بر عملکرد میتو کندریایی اظهار نظر نمود. در این زمینه نشان داده شده که دریافت عصاره زالزالک می‌تواند منجر به کاهش عوامل انقباض عروقی مانند اندوتلین مازاد-۱ (ET-1) و افزایش فاکتورهای گشادکننده عروقی از قبیل نیتریک اُکساید $\alpha$  (NO) در مدل‌های انسانی و حیوانی گردد [۲۹-۳۰]. مقادیر ET-1 و NO در این مطالعه اندازه‌گیری نشده که از محدودیت‌های این پژوهش به‌شمار می‌رود. از این‌رو، به‌نظر می‌رسد که عصاره زالزالک از راه افزایش خون‌رسانی به عضلات در حال انقباض به افزایش مارکرهای بیوژنز میتو کندریایی از قبیل PGC-1 $\alpha$  کمک نماید. از آنجایی که گروه ترکیبی از مزایای

<sup>1</sup> Cyclic AMP-responsive Element-binding Protein (AMPK)

<sup>2</sup> Nitric Oxide (NO)



## References

- 1- Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T Jr, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol*. 2004; 39(1):59-66.
- 2- Sakellariou GK, Pearson T, Lightfoot AP, Nye GA, Wells N, Giakoumaki II, et al. Mitochondrial ROS regulate oxidative damage and mitophagy but not age-related muscle fiber atrophy. *Sci Rep*. 2016; 6:33944.
- 3- Wu M, Liu L, Xing Y, Yang S, Li H, Cao Y. Roles and mechanisms of hawthorn and its extracts on atherosclerosis: A review. *Front Pharmacol*. 2020; 11:118.
- 4- Yao M, Ritchie HE, Brown-Woodman PD. A reproductive screening test of hawthorn. *J Ethnopharm*. 2008; 118(1):127-32.
- 5- Su L, Fu J, Sun S, Zhao G, Cheng W, Dou C, et al. Effects of HIIT and MICT on cardiovascular risk factors in adults with overweight and/or obesity: A meta-analysis. *PLoS One*. 2019; 14(1):e0210644.
- 6- Batacan RB, Duncan MJ, Dalbo VJ, Tucker PS, Fenning AS. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: A systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Br J Sports Med*. 2017; 51(6):494-503.
- 7- Bogdanis GC, Stavrinou P, Fatouros IG, Philippou A, Chatzinikolaou A, Draganidis D, et al. Short-term high intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol*. 2013; 61:171-7.
- 8- Dai DF, Rabinovitch PS. Cardiac aging in mice and humans: the role of mitochondrial oxidative stress. *Trends Cardiovasc Med*. 2009; 19(7):213-20.
- 9- Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1 $\alpha$ . *Cardio Res*. 2008; 79(2):208-17.
- 10- Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metab*. 2005; 1(6):361-70.
- 11- 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. *Exp Gerontol*. 2012; 47(6):417-24.
- 12- Brenmoehl J, Hoeflich A. Dual control of mitochondrial biogenesis by sirtuin 1 and sirtuin 3. *Mitochondrion*. 2013; 13(6):755-61.
- 13- Scarpulla RC. Transcriptional activators and coactivators in the nuclear control of mitochondrial function in mammalian cells. *Gene*. 2002; 286(1):81-9.
- 14- Hey-Mogensen M, Højlund K, Vind BF, Wang L, Dela F, Beck-Nielsen H, et al. Effect of physical training on mitochondrial respiration and reactive oxygen species release in skeletal muscle in patients with obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2010; 53(9):1976-85.
- 15- Bakhtiyari A, Gaeni A, Choobineh S, Kordi M, Hedayati M. The comparison of the influence of 12-week high-intensity interval training and continuous moderate intensity training on PGC-1 $\alpha$  and TFAM mitochondrial proteins expressions in gastrocnemius muscle of elderly rats. *J Animal Biol*. 2019; 11(4):11-20. [Full text in Persian]
- 16- Rafati Bonab M, Bashiri J, Poozesh Jadidi R, Pourrazi H. Effect of HIIT and Q10 supplementation on soleus muscle PGC-1 $\alpha$  level citrate synthase activity in obese male rats. *Sport Physiol*. 2021; 13(50):111-36. [Full text in Persian]
- 17- Nourshahi M, Ebrahim K, Mousavi Mozafar M, Hedayati M. The effect of 8-week sprint interval training with consuming saffron extract on the factors affecting longevity in male rats. *Iran J Nut Sci Food Technol*. 2019; 14(1):19-26. [Full text in Persian]
- 18- Taheri R, Mirzaei B, Demirchi A. The effect of 8 weeks of interval and resistance training on expression PGC 1 $\alpha$ , AMPK, TFAM Elderly rat heart cells. *Med J Mashhad Univer Med Sci*. 2021; 64(1):2512-28. [Full text in Persian]
- 19- Sharafi DF, Soori R, Abbasian S, Rastegar MM. The effect of high intensity interval training on serum levels and gene expression of TFAM and PGC-1 $\alpha$  in hippocampus of male rats. *Sport Physiol Manag Invest*. 2019; 11(2):75-85. [Full text in Persian]

- 20- Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Sci Rep*. 2017; 7(1):1-10.
- 21- Tabari E, Mohebbi, H. The effects of high and moderate intensity interval training on skeletal muscle of TFAM and NRF1 in type 2 diabetic male rats. *J Pract Study Biosci Sport*. 2022; 10(21):8-18. [Full text in Persian]
- 22- Sun N, Youle RJ, Finkel T. The mitochondrial basis of aging. *Mol Cell*. 2016; 61(5):654-66.
- 23- Zarrinkalama E, Ranjbar K, Salehic I, Kheiripour N, Komakic A. Resistance training and hawthorn extract ameliorate cognitive deficits in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother*. 2018; 97:503-510.
- 24- Sharafi Dehrhm F, Soori R, Rastegar MM, Sadegh A. The effect of high intensity interval training on muscular biomarkers of mitochondrial biogenesis in male rats. *J Babol Univer Med Sci*. 2017; 19(6):57-63. [Full text in Persian]
- 25- Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Mitochondrial adaptations to high-volume exercise training are rapidly reversed after a reduction in training volume in human skeletal muscle. *FASEB J*. 2016; 30(10):3413-23.
- 26- Shabani M, Choobineh S, Kordi MR, Afghan M. The effect of 8 weeks of high intensity interval training on the expression of PGC-1 $\alpha$  and VEGF genes in myocardial muscle of male healthy rats. *J Sport Biosci*. 2016; 8(2):169-76. [Full text in Persian]
- 27- 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 $\alpha$  in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2009; 106(3):929-34.
- 28- Egan B, Carson BP, Garcia-Roves PM, Chibalin AV, Sarsfield FM, Barron N, et al. Exercise intensity dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2010; 588(10):1779-90.
- 29- Asher GN, Viera AJ, Weaver MA, Dominik R, Caughey M, Hinderliter AL. Effect of hawthorn standardized extract on flow mediated dilation in prehypertensive and mildly hypertensive adults: a randomized, controlled cross-over trial. *BMC Complement Altern Med*. 2012; 12:1-7.
- 30- Zhang J, Liang R, Wang L, Yan R, Hou R, Gao S, et al. Effects of an aqueous extract of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. major N.E.Br. fruit on experimental atherosclerosis in rats. *J Ethnopharmacol*. 2013; 148(2):563-9.