DOI: 10.22122/jims.v39i652.14679 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و نهم/شماره‌ی ۶۵۲/هفته‌ی چهارم بهمن ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۸ تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۱۱/۲۸

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی

محمد رسول میرزائی[۱]، شهرام غلامرضائی[۲]، رامین شعبانی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (High-intensity interval training یا HIIT) و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های Drp1 و MFN2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر به صورت تصادفی به چهار گروه HIIT، مکمل، شاهد و مکمل + تمرین تقسیم شدند. گروه تمرین به مدت هشت هفته تحت HIIT قرار گرفتند. تمرین در دو گروه شدت بالا و تمرین + مکمل شامل اجرای ۱۰ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۹۰–۸۵ درصد حداکثر اکسیژن اشباع بود و در این زمان گروه مکمل برنامه‌ی تمرینی نداشت. بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی با استفاده از روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) به دست آمد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های Shapiro-Wilk و One-way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج آزمون One-way ANOVA نشان داد که بین میانگین گروه‌ها در بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. نتایج آزمون Tukey بیان‌کننده‌ی کاهش معنی‌دار بیان ژن Drp1 در دو گروه تمرین و تمرین + مکمل نسبت به گروه مکمل و شاهد و افزایش معنی‌دار بیان ژن MFN2 در دو گروه تمرین و تمرین + مکمل نسبت به گروه مکمل و شاهد بود.

نتیجه‌گیری: HIIT و مصرف کورکومین می‌تواند عملکرد میتوکندری‌های کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی را از طریق تعدیل فرایندهای همجوشی و شکافت بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی؛ کورکومین؛ بیان ژن

ارجاع: میرزائی محمد رسول، غلامرضائی شهرام، شعبانی رامین. **تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۵۲): ۹۲۱-۹۱۴.

مقدمه

در سال‌های اخیر، دید سنتی به میتوکندری‌ها به عنوان واحدهای مجزا و مستقل به طور قابل ملاحظه‌ای تغییر کرده و مدلی از شبکه میتوکندریایی ارایه شده است که در پاسخ به محرک‌های پاتوفیزیولوژیک متعدد، به طور مداوم در حال تجدید ساختار فعال می‌باشد. دینامیک میتوکندری به عنوان مؤلفه‌ی اصلی انعطاف‌پذیری متابولیکی سلولی محسوب می‌شود (۱). در بیماری‌های قلبی– عروقی، دینامیک میتوکندری‌های بافت عضله‌ی قلبی دستخوش تغییر می‌شوند (۲) و به نظر می‌رسد که هرگونه تأثیر عوامل درمانی همچون داروها و آثار مفید فعالیت بدنی به واسطه‌ی مکانیسم‌های مربوط به هم‌جوشی (Mitochondria fusion) و شکافت میتوکندری (Mitochondria Fission) اتفاق بیفتد (۳). همجوشی میتوکندریایی به هم پیوستن دو میتوکندری اشاره دارد؛ در حالی که شکافت میتوکندریایی تحت عنوان تقسیم یک میتوکندری به دو میتوکندری جداگانه تعریف می‌شود. شکافت و هم‌جوشی میتوکندریایی به طور عمده به عملکرد صحیح پروتئین مرتبط با دینامین ۱ (Dynamin-Related Protein 1 یا Drp1)، پروتئین‌های تخصص یافته میتوفیوزین‌های GTP آز مرتبط با دینامین (Dynamin-related GTPases Mitofusins Specialized Proteins) و پروتئین‌های آتروفی بصری بستگی دارد (۴). همچنین، این پروتئین‌ها مونتاژ و ثبات مجموعه‌های زنجیره‌ی تنفسی از جمله بازسازی کریستای میتوکندریایی را تنظیم می‌کنند و در نهایت، به مورفولوژی میتوکندریایی

۱- دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۳- استاد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: شهرام غلامرضائی: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

Email: gholamrezaei@iaurasht.ac.ir

در پاسخ به نیازهای انرژی سلول شکل می‌دهند که این امر به طور مستقیم تکامل و حفظ سیناپس‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵). در شرایطی که استرس سلولی رخ دهد، قسمتی از میتوکندری آسیب می‌بینند و برای حفظ و کنترل کیفیت عملکردی میتوکندری، قسمت آسیب دیده باید حذف گردد. به فرایند حذف انتخابی قسمت آسیب دیده میتوکندری که شکلی از اتوفاژی (Autophagy) است، فرایند میتوفاژی (Mitophagy) می‌گویند (۶).

تجزیه‌ی قسمت آسیب دیده، نیازمند جدا شدن آن قسمت از شبکه‌ی میتوکندریایی است که توسط فرایند تقسیم یا تکه‌تکه شدن میتوکندری انجام می‌شود. این فرایند توسط دو عامل Mitochondrial fission 1 protein (FIS1) و Drp1 تنظیم می‌شود. Drp1 گروهی از پروتئین‌های محافظتی است که قادر هستند خود را جمع کنند و به شکل حلقه به دور میتوکندری بپیچند (۷). بیان و بروز عوامل مربوط به میتوفاژی تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد. در این میان، تمرین ورزشی باعث بازیابی عملکرد میتوکندری از طریق مهار تغییر شکل پاتولوژیک (Pathological deformity) دینامیک میتوکندری می‌شود که می‌تواند با فعال‌سازی سیگنالینگ ERK1/2-JNK-P53 و افزایش بیان Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha یا PGC-1α) مرتبط باشد (۸). PGC-1α به عنوان تنظیم‌کننده‌ی درون سلولی عوامل رونویسی مربوط به هم‌جوشی و شکافت میتوکندریایی، تحت تأثیر نوع پروتکل ورزشی قرار می‌گیرد و به نظر می‌رسد که شدت فعالیت ورزشی، عامل مؤثری بر تحریک و فعال سازی PGC-1α باشد. بر این اساس، افزایش شدت فعالیت ورزشی با تحریک فعال‌سازی AMP-activated protein kinase (AMPK)، منجر به بیان بیشتر PGC-1α می‌شود (۱۰-۹). اگرچه مکانیسم تنظیم PGC-1α عضله‌ی قلبی در اثر فعالیت ورزشی هنوز مشخص نیست، با این حال شواهد موجود نشان می‌دهد که PGC-1α مسیرهای متابولیکی انرژی قلب را در پاسخ به عوامل استرس‌زا کنترل می‌کند. در این راستا، بین ظرفیت تنفسی میتوکندری با سطوح mRNA پروتئین‌های MFN2 و Drp1 آزمودنی‌ها در اثر تمرین، همبستگی مشاهده گردید که نشان از نقش بارز دینامیک میتوکندریایی بر بهبود ظرفیت تنفسی دارد (۱۱). این نتایج توسط Powers و همکاران نیز تأیید شد؛ به طوری که افزایش Mfn1,2 و Fis1 را ۲۴ ساعت پس از فعالیت ورزشی مشاهده کردند (۱۲). علاوه بر این، چهار هفته تمرین هوازی، میزان PGC-1α را افزایش می‌دهد و مسیر اتوفاژی میتوکندریایی را با تبدیل Light chain 3 (LC3-I) به LC3-II و سایر شاخص‌های درگیر، بهبود می‌بخشد (۱۳).

نتایج پژوهشی نشان داد که کورکومین دارای اثرات ضد استرس اکسایشی و ضد التهاب می‌باشد و به واسطه‌ی برهم‌کنش آن با مسیرهای پیام‌دهی درون سلولی، در فرایندهای تکثیر، تمایز و مهاجرت سلولی نقش مهمی ایفا می‌کند (۱۴). در سلول‌های سرطانی، کورکومین می‌تواند مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با شاخص‌های رشد مانند کینازهای خارج سلولی و پروتئین کیناز C (Protein kinase C یا PKC) را مهار کند (۱۵). همچنین، گزارش شده است که کورکومین عملکرد ورزشی را بهبود می‌دهد و خستگی ناشی از تمرین را به تأخیر می‌اندازد (۱۶). نتایج مطالعات اثر ترکیبی تمرین و کورکومین نشان می‌دهد که تمرین منظم و مصرف کورکومین، موجب افزایش عملکرد بطن چپ و عملکرد اندوتلیال عروق می‌شود (۱۷).

تحقیقات مختلفی به صورت جداگانه و یا در تعامل با یکدیگر گزارش کرده‌اند که تمرینات ورزشی و مصرف مکمل کورکومین، باعث ارتقای سلامتی دستگاه قلبی- عروقی می‌شود و می‌تواند پس از ابتلا به سکته‌ی قلبی نیز مؤثر باشد، اما پژوهش‌های کمی در زمینه‌ی بررسی اثر همزمان تمرین تناوبی با شدت بالا (High-intensity interval training یا HIIT) و مصرف کورکومین بر دینامیک میتوکندری صورت گرفته است و نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود. بنابراین، به منظور پاسخ به ابهامات موجود، پژوهش حاضر به بررسی اثر تعاملی HIIT و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی پرداخت.

روش‌ها

این تحقیق تجربی بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر هفت ماهه‌ی نژاد ویستار ۱۴۸۴۸ که از مؤسسه‌ی پاستور ایران خریداری شده بود، صورت گرفت. شرایط نگهداری برای همه‌ی نمونه ها یکسان بود و دما، رطوبت محیط و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی نیز به صورت ۱۲:۱۲ ساعته کنترل شد. جهت جلوگیری از فشار و تغییر شرایط فیزیولوژیک، موش‌ها به مدت دو هفته در حیوانخانه‌ی مرکزی آزمایشگاه، تحت شرایط جدید قرار گرفتند. در پژوهش حاضر کلیه‌ی قوانین و نحوه‌ی رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان بر اساس AAALAC رعایت گردید. جهت ایجاد آنفارکتوس تجربی میوکارد، از تزریق درون صفاقی ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ایزوپروترنول به صورت محلول در نرمال سالین در دو روز متوالی و با فاصله‌ی ۲۴ ساعت استفاده شد. برای اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد تجربی، تروپونین I قلبی اندازه گیری گردید که با ریختن مستقیم نمونه‌ی خونی با قطره‌چکان روی نوار اندازه‌گیری و مثبت شدن جواب، موش‌های صحرایی واجد شرایط وارد مطالعه شدند (۱۵).

پس از اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد، ۸ سر از موش‌های صحرایی جهت بررسی شاخص‌های پایه و لحاظ شدن به عنوان گروه مرجع در روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR)، از بقیه جدا شدند و بقیه‌ی ۲۴ سر موش صحرایی جهت آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی نوار گردان الکترونیکی هوشمند حیوانی در برنامه‌ی آشنایی شرکت داده شدند. ابتدا موش‌های صحرایی به مدت یک هفته طی پنج جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه روی نوار گردان به فعالیت پرداختند. لازم به ذکر است، به منظور آشنا کردن موش‌ها با پروتکل‌های اصلی، شیب نوار گردان به تدریج در هر جلسه افزایش پیدا کرد تا در جلسات چهارم و پنجم به شیب ۲۵ درجه رسید. موش‌های صحرایی پس از آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی نوار گردان، به صورت تصادفی به چهار گروه (هر گروه ۸ سر) HIIT، مکمل (مصرف کورکومین)، HIIT + مکمل و شاهد» تقسیم شدند. ۴۸ ساعت پس از تزریق دوم ایزوپروترنول، مداخلات تمرینی و مصرف مکمل آغاز گردید.

تجویز کورکومین: ۱۵ میلی‌گرم کورکومین خالص و دی‌متیل سولفوکساید (Dimethyl sulfoxide یا DMSO) (شرکت Sigma، آلمان) با غلظت ۱۰ درصد به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، ۵ روز در هفته و به صورت گاواژ به گروه‌های مکمل و تمرین + مکمل داده شد. برای خنثی‌سازی اثرات حلال، دز مشابه حلال به صورت گاواژ به همه‌ی حیوانات دو گروه دیگر نیز داده شد.

پروتکل HIIT پروتکل مورد استفاده، برنامه‌ی تمرینی تعدیل شده توسط Hafstad و همکاران بود که به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوارگردان اجرا شد. پروتکل HIIT شامل اجرای ۱۰ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد حداکثر اکسیژن اشباع و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای بود که به صورت پیش‌رونده تا هفته‌ی ششم، سرعت نوار گردان افزایش یافت و دو هفته‌ی پایانی (هفتم و هشتم) سرعت نوار گردان حفظ شد. بر این اساس، سرعت نوار گردان از ۲۵ متر بر دقیقه در هفته‌ی اول به ۳۲ متر بر دقیقه در هفته‌ی ششم رسید و دو هفته‌ی پایانی این سرعت حفظ شد. همچنین، دوره‌های استراحت فعال از سرعت ۱۱ متر بر دقیقه در هفته‌ی اول به سرعت ۱۶ متر بر دقیقه در هفته‌ی هشتم رسید و دو هفته‌ی پایانی این سرعت حفظ گردید. توان هوازی از پروتکل غیر مستقیم با استفاده از نوار گردان برآورد شد. بر این اساس، پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن، آزمون دویدن رت‌ها شروع و سرعت نوار گردان هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. سرعتی که در آن حداکثر اکسیژن اشباع به دست آمد، به عنوان سرعت بیشینه تعریف گردید (۱۶).

جراحی حیوانات آزمایشگاهی و استخراج نمونه: در تحقیق حاضر سعی شد تا حیوانات مورد بررسی در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار کشته شوند. همه‌ی موش‌های صحرایی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، توسط تزریق درون صفاقی ۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم زایلازین بیهوش شدند. جراحی انجام گرفت و موش‌های صحرایی تشریح شدند و در ادامه، پس از شکافتن و کنار زدن بافت‌های سطحی، بافت قلب خارج گردید. استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموژن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر انجام شد. نمونه‌های هموژن به مدت ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه روی یخ سانتریفوژ شدند. سپس بخش سطحی سانتریفوژ جمع‌آوری و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. بافت عضله‌ی قلبی نمونه‌برداری شده پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردید و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های شاخص‌های مورد نظر از بافت عضله‌ی قلبی به روش Real-time PCR سنجش و پس از کمی‌سازی مقادیر، بیان ژن با استفاده از فرمول $ctΔΔ$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با PCR Master Mix و SYBR Green در دستگاه Applied Biosystems (Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ارایه شده است.

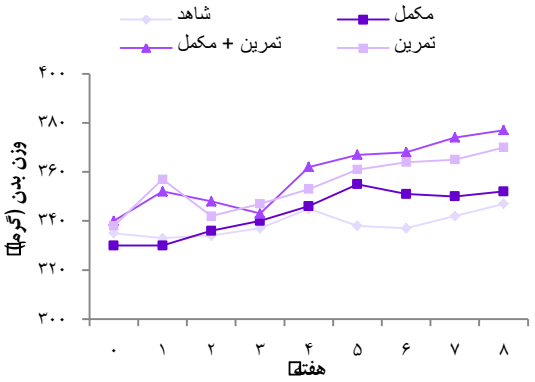
جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن	Forward/ Reverse	پرایمر (5 to 3)	Tm	طول محصول (جفت بازی)	شماره‌ی دسترسی
Drp1	Forward	TATATGGCCCCAGCATGCGA	۶۰/۴۵	۹۶	XM_007764288.2
	Reverse	GGCAGTGGGAGTCGACCTCA	۶۱/۲۱		
MFN2	Forward	ATCCAAGACCACATGGGCTG	۶۰/۵۹	۱۷۸	XM_018597844.1
	Reverse	CACAGTCCAAGGCAGTGGGA	۵۹/۱۴		

برای سنجش کمی بیان ژن‌های مورد نظر، از کیت SYBR-green Real Time RT-PCR, TAKARA، ژاپن) استفاده شد. غلظت های ۱/۲۰، ۱/۱۰ و ۱/۵۰ میکرولیتر از cDNA سنتز شده تهیه گردید. غلظت ۱/۲۰ به عنوان الگو برای Real-time PCR مورد استفاده قرار گرفت. cDNA با پرایمرهای مخصوص برای ژن‌های Drp1 و MFN2 تکثیر شد. طبق دستورالعمل کیت، واکنش تکثیری در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد که مشتمل بر ۱۰ میکرولیتر از محلول اصلی (Master Mix)، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Forward، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Reverse، دو میکرولیتر از cDNA سنتز شده و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر بود. در ادامه، دو میکرولیتر از cDNA رقیق‌سازی شده داخل میکروتیوپ‌های مخصوص RT-PCR ریخته شد. سپس ۰/۶ میکرولیتر از مخلوط پرایمر حاوی ۰/۳ میکرولیتر پرایمر Forward و ۰/۳ میکرولیتر پرایمر Reverse به داخل میکروتیوپ اضافه شد و در نهایت، ۱۰ میکرولیتر SYBER Green Master Mix و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر به محلول نهایی ریخته شد. سپس میکروتیوپ به مدت ۳۰ ثانیه بر روی دستگاه Shaker کاملاً تکان داده شد و میکروتیوپ به مدت ۳۰ ثانیه میکروفیوژ گردید و داخل دستگاه RT-PCR قرار گرفت. الگوی دمایی PCR برای ژن‌های مربوطه، دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه برای سیکل اول بود که با ۴۵ سیکل به صورت دو مرحله ای و دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. با استفاده از رنگ SYBR Green، میزان آمپلی فیکاسیون (Amplification) در هر چرخه دنبال شد. در چرخه‌ای که واکنش تکثیر، وارد مرحله‌ی لگاریتمی می‌شود و تحت عنوان Threshold cycle (Ct) گفته می‌شود، میزان افزایش محصولات اندازه‌گیری می‌شود. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس بر این اساس، Ct تعیین گردید. در پایان، منحنی ذوب (Melting curve) به دست آمده از هر واکنش Real-time PCR بررسی شد تا پیک مربوط به ژن مورد نظر و فقدان پرایمر دایمر تأیید شود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا ΔCt ژن در هر نمونه از افتراق Ct ژن مربوطه و Ct ژن β-actin به عنوان رفرنس محاسبه گردید (۱۲). داده‌ها با استفاده از آزمون‌های Shapiro-Wilk و One-way ANOVA در نرم‌افزار SPSS (IBM Corporation, Armonk, NY) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

میانگین وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف در طول مراحل پژوهش و اجرای تمرینات ورزشی نشان داد که وزن بدن رت‌ها به طور پیوسته در همه‌ی گروه‌ها افزایش یافته است (شکل ۱). مقادیر وزن بدن رت‌ها در گروه شاهد از ۱۱/۴۸ ± ۱۶۶/۲۰ گرم به ۱۰/۰۸ ± ۳۳۰/۰۰ گرم و در گروه‌های تجربی از ۱۷/۰۵ ± ۱۹۷/۲۵ به ۱۹/۲۷ ± ۳۷۷/۲۲ گرم رسید. آزمون One-way ANOVA نشان داد که وزن بدن گروه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نداشتند (F = ۲/۵۷ ،P = ۰/۰۰۱).

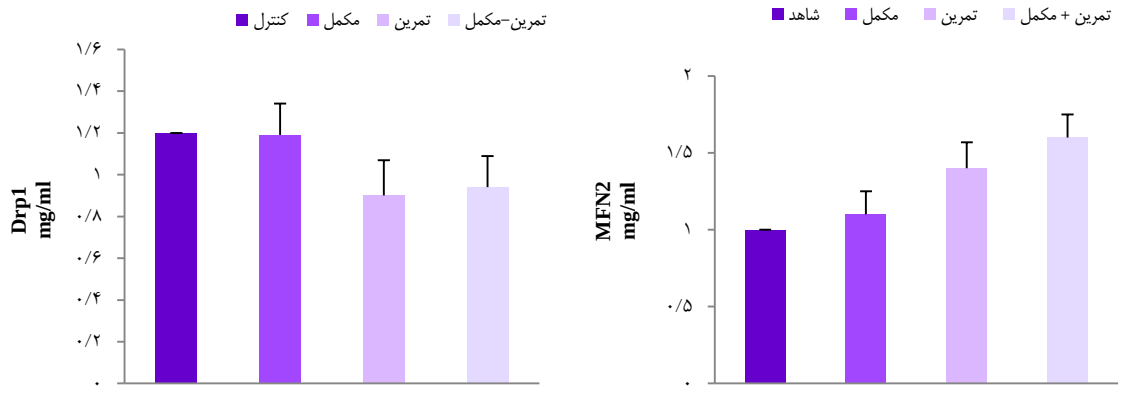


شکل ۱. وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

توزیع داده‌ها در همه‌ی متغیرها طبیعی بود. مقایسه‌ی بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی در چهار گروه HIIT، مکمل، شاهد و تمرین + مکمل با آزمون One-way ANOVA تفاوت معنی‌داری را بین میانگین گروه‌ها نشان داد (P = ۰/۰۰۱). نتایج آزمون Tukey بیان‌کننده‌ی کاهش معنی‌دار بیان ژن Drp1 در دو گروه تمرین و تمرین + مکمل نسبت به گروه شاهد و مکمل و افزایش معنی‌دار بیان ژن MFN2 در دو گروه تمرین و تمرین + مکمل نسبت به گروه شاهد و مکمل بود (P = ۰/۰۰۱) (شکل ۲).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌دار بیان ژن Drp1 و افزایش معنی‌دار بیان ژن MFN2 در دو گروه فعال مطالعه نسبت به گروه شاهد و مکمل بود (P = ۰/۰۰۱). به نظر می‌رسد که سازگاری با هشت هفته HIIT، باعث القای عوامل مؤثر در افزایش بیان ژن‌های MFN2 و کاهش بیان ژن Drp1 از جمله هایپوکسی و افزایش Reactive oxygen species (ROS) شده و به این وسیله بیوژنز میتوکندریایی را تحریک کرده است (۱۲). در واقع، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته HIIT و استفاده از کورکومین، منجر به افزایش عوامل مؤثر بر بیوژنز میتوکندریایی می‌شود. اگرچه پژوهشی که به طور مستقیم به بررسی تأثیر HIIT و مصرف کورکومین بر بیوژنز میتوکندریایی پرداخته باشد نه در داخل کشور و نه در خارج کشور یافت نشد، اما نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های مطالعات Little و همکاران (۱۸)، Hoshino و همکاران (۱۹) و عزیزی قوچان‌نژاد (۲۰) همسو بود.



شکل ۲. میانگین بیان ژن‌های Drp1 و MFN2 میتوکندریایی در چهار گروه مورد بررسی

شاید تنش ناشی از HIIT به عنوان محرکی قوی، باعث اتساع عروق و افزایش جریان خون در عضلات می‌شود و با تأثیر بر بهتر شدن رهایش کلسیم در اثر کاهش غلظت Adenosine triphosphate (ATP) میتوکندری، علاوه بر افزایش کلسیم سیتوزولی، سبب افزایش غلظت کلسیم ماتریکس میتوکندری نیز می‌شود که سطح کلسیم را به حد کافی افزایش می‌دهد و دهیدروژنازهای ماتریکس را فعال می‌کند (۱۳). یک کیناز اثرگذار فرودست بر مسیر پیام‌رسانی کلسیم یعنی پروتئین کیناز وابسته به کلسیم- کالمودولین، نسخه‌برداری از DNA میتوکندری و تولید میتوکندری به همراه بیش‌تنظیمی آنزیم‌های میتوکندری را افزایش می‌دهد. این اثر به وسیله‌ی PGC-1α انجام می‌گیرد (۲۰). PGC-1α فعال شده توسط تمرین استقامتی، به فاکتور رونویسی متصل می‌شود و بیان ژن‌های میتوکندری که در هسته واقع شده‌اند را تنظیم می‌نماید. همچنین، در فعال‌سازی NRF1,2 و Tfam مؤثر است. Tfam تولید شده، به میتوکندری وارد و منجر به تنظیم DNA میتوکندری و ژن‌های میتوکندری کدگذاری شده در هسته می‌شود (۱۸).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته HIIT و مصرف کورکومین، موجب جلوگیری از کاهش بیان ژنی تنظیم‌گرهای بایوژنز و ادغام میتوکندریایی و در مقابل، کاهش فرایند میتوفاژی در موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی می‌شود، اما مهم‌ترین یافته‌های پژوهش حاضر این بود که اگرچه پس از هشت هفته HIIT و مصرف مکمل کورکومین، افزایش بیان ژن‌های درگیر در تنظیم فرایندهای بایوژنز و ادغام میتوکندریایی و در مقابل، کاهش ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی تقسیم میتوکندریایی و میتوفاژی اتفاق افتاد، اما میزان تغییرات در گروه تمرین + مکمل نسبت به گروه تمرین، بهبودی بیشتری داشت و معنی‌دار نبود. این نتایج نشان دهنده‌ی تأثیر HIIT در محافظت از بروز نقص میتوکندریایی در دوران سکته‌ی قلبی است. اگرچه دلیل اصلی آن هنوز کامل مشخص نیست، اما سطح بالای PGC-1α در دوره‌ی تمرین ورزشی، می‌تواند از کیفیت میتوکندریایی در این دوران محافظت کند. Kang و همکاران (۱۰) و Sandri و همکاران (۵) عنوان کردند که سطح پایه بالای PGC-1α می‌تواند هدررفت میتوکندریایی و آتروفی عضلانی ناشی از انفارکتوس قلبی را کاهش دهد. اگرچه در مطالعه‌ی حاضر تأثیر HIIT بر بیان ژن‌های مربوط بررسی نگردید، اما Kang و همکاران تأثیر مثبت این پروتکل بر عملکرد و افزایش محتوای میتوکندریایی و به ویژه بیان PGC-1α را به اثبات رساندند (۱۰) و از طرف دیگر، افزایش ظرفیت هوازی رت‌ها تأیید کرد که بیان PGC-1α و محتوای میتوکندریایی به دنبال هشت هفته HIIT، افزایش یافته است (۱۹).

شواهد زیادی نشان می‌دهد که افزایش فعالیت جسمانی یا یک سبک زندگی فعال، تأثیر مثبتی بر سلامت قلب و عروق در انسان‌ها دارد (۱۵). ورزش می‌تواند به عنوان یک جایگزین مؤثر و بی‌خطر برای داروها جهت بهبود نارسایی‌های قلبی پس از آنفارکتوس قلبی در نظر گرفته شود (۱۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی با بهبودی معنی‌داری همراه می‌باشد که ناشی از افزایش دینامیک میتوکندری‌ها است. به طور قابل توجهی، تمامی فرایندهای رگ‌زایی، نورون‌زایی و سیناپس‌زایی که به واسطه‌ی ورزش نقش مهمی در بهبود نارسایی‌های قلبی- عروقی دارند، نیازمند تأمین انرژی فراوان از سوی میتوکندری‌های سلول‌های قلبی می‌باشند (۱۵). در واقع، اختلالات میتوکندریایی به عنوان یکی از فرضیه‌های رایج در فرایند بیماری‌های قلبی مطرح شده است و شواهد زیادی نشان می‌دهد که اختلال در پویایی میتوکندریایی و عدم تعادل بین شکافت و هم‌جوشی میتوکندریایی، در بیماری‌های قلبی دخیل است و در این حالت، قطعه قطعه شدن میتوکندری‌ها و بیان Drp1 افزایش می‌یابد

و هموستاز سلول های بنیادی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. چنین اثراتی می‌تواند به شدت با تخریب بافت ناشی از بیماری مرتبط باشد (۱۷). همچنین، پژوهش‌های دیگر بیان داشته‌اند که افزایش همجوشی میتوکندریایی، محرک اصلی بقا نیست، اما برای زنده ماندن حیوانات و عملکرد مناسب در طول عمر ضروری است (۲۱). مداخله‌ی HIIT می‌توانست میزان بیان Drp1 در بافت کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی را کاهش دهد. همچنین، میزان بیان MFN2 به شکل معنی‌دار و در اثر اجرای HIIT و مصرف مکمل کورکومین افزایش یافت (۲۲).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که آنفارکتوس قلبی منجر به کاهش قابل توجه در برخی شاخص‌های بیوژنز میتوکندریایی در مقابل افزایش فرایند میتوفاژی در رت‌های سالم می‌شود. نتایج مطالعات پیشین حاکی از آن است که اختلالات متابولیکی همراه با نارسایی‌های قلبی، با اختلال عملکرد میتوکندری میوکارد مرتبط می‌باشد. علاوه بر این، کاهش ژن‌های درگیر در فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی در نمونه‌های حیوانی مبتلا به آنفارکتوس قلبی نیز گزارش شده است. همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، کاهش بیان mRNA PGC-1α نیز به میزان قابل توجهی در عضلات بیماران قلبی گزارش شده است.

بنابراین، با توجه به اختلال عملکرد میتوکندری و تنظیم کاهشی بیان mRNA و سطوح پروتئینی PGC-1α، ممکن است که افزایش بیوژنز و بازسازی عملکرد میتوکندری به بیماران قلبی کمک کند تا وضعیت متابولیکی خود را بهبود بخشند. در بیماری‌های قلبی- عروقی، نقص عملکردی میتوکندریایی رخ می‌دهد. اگرچه برخی تحقیقات تأثیر مداخلات دارویی و درمانی در دوره‌ی بیماری را گزارش کرده‌اند، اما هنوز راهبرد مشخص و روشنی در مورد پیشگیری از بروز نقص میوکندریایی و آتروفی عضلانی در شرایط آنفارکتوس میوکارد وجود ندارد، اما با توجه به نتایج پژوهش حاضر، می‌توان عنوان کرد که HIIT و مصرف مکمل کورکومین، می‌تواند عملکرد میتوکندری‌های قلب را از طریق تعدیل فرایندهای همجوشی و شکافت، بهبود بخشد و به عنوان یک روش غیر دارویی مؤثر برای مقابله با بیماری‌های قلبی- عروقی در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح به شماره‌ی IR.IAU.RASHT.REC.1400.009، مصوب کمیته‌ی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت می‌باشد. بدین وسیله از تمامی دوستان و همراهان که در انجام این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Kuznetsov AV, Margreiter R. Heterogeneity of mitochondria and mitochondrial function within cells as another level of mitochondrial complexity. Int J Mol Sci 2009; 10(4): 1911-29.
2. Narendra D, Tanaka A, Suen DF, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. J Cell Biol 2008; 183(5): 795-803.
3. Adhihetty PJ, Uguccioni G, Leick L, Hidalgo J, Pilegaard H, Hood DA. The role of PGC-1alpha on mitochondrial function and apoptotic susceptibility in muscle. Am J Physiol Cell Physiol 2009; 297(1): C217-C225.
4. Ishihara N, Eura Y, Mihara K. Mitofusin 1 and 2 play distinct roles in mitochondrial fusion reactions via GTPase activity. J Cell Sci 2004; 117(Pt 26): 6535-46.
5. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1alpha protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103(44): 16260-5.
6. Iqbal S, Ostojic O, Singh K, Joseph AM, Hood DA. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. Muscle Nerve. 2013; 48(6): 963-70.
7. Aoi W, Naito Y, Mizushima K, Takanami Y, Kawai Y, Ichikawa H, et al. The microRNA miR-696 regulates PGC-1{alpha} in mouse skeletal muscle in response to physical activity. Am J Physiol Endocrinol Metab 2010; 298(4): E799-E806.
8. Kang C, Chung E, Diffee G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: Role of PGC-1alpha. Exp Gerontol 2013; 48(11): 1343-50.
9. Ono T, Isobe K, Nakada K, Hayashi JI. Human cells are protected from mitochondrial dysfunction by complementation of DNA products in fused mitochondria. Nat Genet 2001; 28(3): 272-5.
10. Kang C, Goodman CA, Hornberger TA, Ji LL. PGC-1alpha overexpression by in vivo transfection attenuates mitochondrial deterioration of skeletal muscle caused by immobilization. FASEB J 2015; 29(10): 4092-106.
11. Hadidi v, Kordi M, Gaeini A, hadidi v, Shafie A, Hajati modaraie M. Effect of eight weeks high intensity interval training on gene expression of PGC-1α, in male healthy rats fast-slow twitch muscles. Journal of Sport Biosciences 2015; 7(4): 661-73. [In Persian].
12. Powers SK, Wiggs MP, Duarte JA, Zergeroglu AM, Demirel HA. Mitochondrial signaling contributes to disuse muscle atrophy. Am J Physiol Endocrinol Metab 2012; 303(1): E31-E39.
13. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. Aging (Albany NY). 2012; 4(5): 330-49.

14. Kwak HB. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. J Exerc Rehabil 2013; 9(2): 212-9.
15. Lee Y, Min K, Talbert EE, Kavazis AN, Smuder AJ, Willis WT, et al. Exercise protects cardiac mitochondria against ischemia-reperfusion injury. Med Sci Sports Exerc 2012; 44(3): 397-405.
16. Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. J Appl Physiol (1985). 2008; 105(6): 1934-43.
17. Marzetti E, Lawler JM, Hiona A, Manini T, Seo AY, Leeuwenburgh C. Modulation of age-induced apoptotic signaling and cellular remodeling by exercise and calorie restriction in skeletal muscle. Free Radic Biol Med 2008; 44(2): 160-8.
18. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1alpha and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011; 300(6): R1303-R1310 .
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. Appl Physiol Nutr Metab 2013; 38(3): 326-33 .
20. Azizi Ghochannezhad Z. Effect of high intensity interval training (HIIT) on PGC-1α serum level and lipid profile of overweight women [MSc Thesis]. Mashhad, Iran: Ferdowsi University of Mashhad; 2013. [In Persian].
21. Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, Kuo CH, Chan YS, Lin YM, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2013; 23(6): 566-73 .
22. Marzetti E, Privitera G, Simili V, Wohlgemuth SE, Aulisa L, Pahor M, et al. Multiple pathways to the same end: mechanisms of myonuclear apoptosis in sarcopenia of aging. ScientificWorldJournal 2010; 10: 340-9.
23. Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: Conserved guardians of cellular energy. Nat Rev Mol Cell Biol 2007; 8(10): 774-85.
24. Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for high-intensity interval training: Optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. Sports Med 2002; 32(1): 53-73.
25. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LA, Carvalho RF, Oliveira Junior SA, Lima AR, et al. Chronic heart failure-induced skeletal muscle atrophy, necrosis, and changes in myogenic regulatory factors. Med Sci Monit 2010; 16(12): BR374-BR383.

DOI: *10.22122/jims.v39i652.14679* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 39, No. 652, 4th Week, February 2022**

Received: 05.04.2021 Accepted: 08.12.2021 Published: 26.02.2022

The Effect of 8 Weeks of High-Intensity Interval Training (HIIT) with Curcumin Supplementation on Expression of Mitochondrial Cardiomyocyte drp1 and MFN2 Genes in Male Stroke Model Rats

Mohamad-Rasoul Mirzaei[1], Shahram Gholamrezaei[2], Ramin Shabani[3]

Original Article

Abstract

Background: This study aimed to assess the effect of 8 weeks of high-intensity interval training (HIIT) with curcumin supplementation on expression OF mitochondrial cardiomyocyte drp1 and MFN2 genes in male stroke model rats.

Methods: In this experimental study, 32 male rats were randomly divided into 4 groups of HIIT, supplement, control and supplement + training. The exercise group was exposed to HIIT for 8 weeks. Training program in the two groups of HIIT and training + supplementation included performing 10 periods of 4-minute activities with an intensity of 85%-90% VO_2max, and at this time, the supplementary group did not have training program. The expression of mitochondrial drp1 and MFN2 genes was obtained by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Data were analyzed using one-way ANOVA and Shapiro-Wilk tests.

Findings: The results of one-way ANOVA showed a significant difference between the means of all of the groups in expression of mitochondrial Drp1 and MFN2 genes. The results of Tukey test showed a significant decrease in Drp1 gene expression in both training and exercise + supplement groups compared to the supplement and control groups and a significant increase in MFN2 gene expression in both training and supplement + supplement groups compared to the supplement and control groups.

Conclusion: HIIT with curcumin supplementation can improve the function of the cardiomyocytes' mitochondria of male myocardial infarction rats by modulating fusion and fission processes.

Keywords: High intensity interval training; Curcumin; Gene expression

Citation: Mirzaei MR, Gholamrezaei S, Shabani R. **The Effect of 8 Weeks of High-Intensity Interval Training (HIIT) with Curcumin Supplementation on Expression of Mitochondrial Cardiomyocyte drp1 and MFN2 Genes in Male Stroke Model Rats.** J Isfahan Med Sch 2022; 39(652): 914-21.

1- PhD Student, Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
2- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
3- Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
Corresponding Author: Shahram Gholamrezaei, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran; Email: gholamrezaei@iaurasht.ac.ir