

تأثیر سه شیوه تمرینات ورزشی بر بیان ژن‌های $TGF\beta_1$ و VASH-1 در بطن چپ قلب رت‌های نر ویستار

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۳۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۱

خلاصه

مقدمه: فعالیت ورزشی منظم یک شیوه غیر دارویی مؤثر در سلامت و تندرستی می‌باشد و تعیین نوع فعالیت، شدت و مدت آن به عنوان الگویی مناسب کمک شایانی به پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی می‌نماید. این مطالعه با هدف مقایسه تأثیر سه شیوه تمرینی بر بیان ژن $TGF-\beta_1$ و VASH-1 در بافت بطن چپ رت‌های ویستار انجام شده است.

روش کار: روش پژوهش از نوع تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل بود ۴۰ سر موش ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزن 237 ± 23 گرم در محیطی کنترل شده نگهداری و به صورت تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی گروه کنترل (CO)، کنترل ۸ هفته (CO₈)، تمرین هوازی با شدت متوسط (MIT)، تمرین هوازی پرشدت (HIT)، و تمرین هوازی تناوبی پرشدت (HIIT) قرار گرفتند. برنامه‌های تمرینی به مدت ۸ هفته و هفته‌ای ۳ جلسه با شدت مشخصا انجام گردید. تمرینات هوازی با شدت متوسط شامل ۴۷ دقیقه دویدن با شدت $65\% VO_2MAX$ بر روی تردمیل بود. تمرین با پر شدت شامل دویدن با سرعت ۲ متر در دقیقه با شیب فزاینده بر روی نوار گردان و تمرین هوازی تناوبی پرشدت شامل ۴ وهله تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_2MAX و چهار وهله تناوبی کم شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2MAX انجام شد. گروه کنترل پایه در هفته اول، جراحی و مورد بافت برداری قرار گرفت گروه‌های دیگر پس از آخرین جلسه تمرینی تشریح و بافت قلب خارج شد. تغییرات برون گروهی توسط آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی جیمز هوئل در سطح معنی داری $P \leq 0,05$ مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان می‌دهد ۸ هفته تمرین شدت متوسط (MIT)، شدت بالا (HIT) و اینتروال پرشدت (HIIT) باعث افزایش معنادار بیان $TGF-\beta_1$ در بافت بطن چپ موش‌های نر ویستار شد ($P=0/001$) اما اختلاف معنی داری بین دو گروه کنترل و گروه کنترل ۸ هفته مشاهده نگردید ($P=1/000$). همچنین این تمرینات منجر به کاهش معنی دار بیان ژن VASH-1 در گروه‌های پژوهش شد ($P=0/0001$) که بیشترین تغییرات مربوط به تمرین HIT می‌باشد.

نتیجه گیری: می‌توان از یافته‌های این تحقیق نتیجه گرفت انواع تمرینات منظم پتانسیل اثر گذاری در هایپرتروفی قلب با افزایش $TGF-\beta_1$ و کاهش VASH-1 در رت‌های نر نژاد ویستار را دارد و این اثر گذاری بیشتر تحت تمرینات HIT می‌باشد.

کلمات کلیدی: تمرین کم شدت، HIT، HIIT، قلب، $TGF-\beta_1$ ، VASH-1، موش نر ویستار

بی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

امیر دلشاد^{۱*}

فرشته احدی^۲

محمد رضا اسد^۳

^۱استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی

دانشگاه قم، ایران

^۲کارشناسی ارشد، فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه پیام نور کرج،

کرج، ایران

^۳دانشیار، گروه علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور کرج، ایران

Email: Ah_delshad@gmail.com

مقدمه

هایپرتروفی قلب به عنوان رشد میوسیت‌ها در طول یا عرض در نظر گرفته شده است، که منجر به افزایش وزن قلب بدون افزایش تعداد کاردیو میوسیت‌ها می‌شود. در ابتدا، چنین رشدی یک پاسخ تطبیقی برای حفظ عملکرد پمپ قلب و کاهش تنش دیواره‌ی بطن است (۱). با این حال، پاسخ به استرس یا آسیب دیدگی عضله قلب موجب تغییر پاتولوژیکی، ساختاری و تغییرات فیزیولوژیکی از جمله التهاب ماتریکس خارج سلولی (ECM) و افزایش حجم مویرگ‌ها می‌گردد. همچنین تنظیم دقیق رگ‌زایی در اکثر بافت‌های سالم تا حدی نتیجه تأثیر مهارکننده‌های طبیعی است که از ایجاد عروق جدید جلوگیری می‌کنند. (۲). این تغییرات باعث افزایش بیش از اندازه عملکرد قلبی در نهایت منجر به خستگی قلب می‌شود. $\beta 1$ TGF- در بازسازی هموستاز بافت و تنظیم سیگنالیک و عملکرد سلولهای آندوتلیال (ECs) و سلولهای دیواره‌های عروق و مویرگ‌ها و عروق سلولهای صاف (VSMCS) عروق بزرگتر و همچنین در بافت قلب نقش مهمی دارد (۳) و به دلیل وجود در سلول‌های اپیتلیال و عضلات صاف عروق، میوفیبروبلاست‌ها و ماکروفاژها به عنوان ایزوفرم و فاکتور اصلی در سیستم قلبی عروقی شناخته شده است و می‌تواند به واسطه تخریب MYOD (پروتئین میوژنی در تمایز سلولی) و کاهش بیان ژن میوژن در سلول‌های اقماری فرآیند میوژن را کاهش دهد (۴). در نقطه مقابل افزایش بیش از اندازه، منجر به فیروز عضلانی می‌شود که عملکرد بهینه عضلانی را دچار اختلال می‌کند. افزایش آن در عضله، فاکتوری منفی به شمار می‌رود و در سلولهای آندوتلیال با ایجاد کلاژن و فیبرونکتین از طریق سیگنالینگ غیر متعارف (۵) موجب کاهش تولید و تنظیم پروتیناز و تحریک ECM و تولید مهارکننده پروتیناز و افزایش بیان اینتگرین و چسبندگی ماتریکس سلولی می‌شود (۶). به نظر

میرسد پیام رسائی $\beta 1$ TGF- و میوستاتین برای فراخوانی و حفظ فیروبلاست‌ها در طول تکامل از اهمیت زیادی برخوردار است. مطالعات متعددی وجود دارند که توانایی این سایتوکاینها در القای تکثیر فیروبلاست و سنتز کلاژن نوع I را در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهند (قدرت نما و همکاران، ۲۰۲۲). مطالعات نشان می‌دهد $\beta 1$ TGF- یک واسطه مزانشیمی گذرا و بیان آن موجب افزایش گیرنده‌های بتا آندرژیک در میوکارد شده و منجر به هایپرتروفی فیروز قلبی در موش‌ها می‌شود (۷) و سیگنالینگ آن با $\beta 1$ TGF- و SMAD به طور قابل توجهی موجب بی‌نظمی در محل آسیب دیدگی پس از سکنه قلبی می‌گردد. (۸). پروتئازها، اینتگرین‌ها، تغییرات PH، گونه‌های اکسیژن فعال از عوامل شناخته شده هستند که می‌توانند $\beta 1$ TGF- را فعال کنند (۹). بررسی‌ها نشان می‌دهد ۱۲ هفته تمرین روی تردمیل موجب افزایش سایتوکاین‌های التهابی و گیرنده‌های ژن $\beta 1$ TGF- می‌شود (۱۰) همچنین شدت و مدت فعالیت‌های ورزشی حاد در مقابل با فعالیت‌های ورزشی درازمدت می‌تواند پارامترهای مختلف ایمنی مرتبط با بیماری‌های التهابی مزمن را تحت تأثیر قرار دهد (۱۱). محمد نژاد و همکاران (۲۰۲۰) نتیجه گرفتند بیان mRNA $\beta 1$ TGF- در عضلات LED و نعلی موش‌های نر ویستار پس از شش هفته تمرین هوازی به طور معنی‌داری افزایش یافت (۱۲) در مقابل مطالعه‌ی سلطانی و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد یک برنامه تمرین ۸ هفته‌ای در آب باعث کاهش سطوح $\beta 1$ TGF- در بیماران می‌شود. هر چند این کاهش معنی‌دار نبوده است (۱۳) در همین رابطه لیاو (۲۰۱۵) نتیجه گرفت تمرین ملایم و با شدت متوسط نقش حفاظتی در قلب موش‌ها دارد و این اثر از راه تنظیم منفی بر عوامل التهابی و تغییر شکل قلب انجام شده است (۱۴) مطالعات اخیر نشان می‌دهد فعالیت بدنی منظم پتانسیل پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی را دارد و رابطه معکوس

PRL می‌شود. و به عنوان قطعاتی از هورمون‌های در گردش می‌توانند در طیف وسیعی از بافت‌ها تولید شوند (۱۸).
 تمرین و فعالیت ورزشی و سازگاری‌های ایجاد شده در پی آن، منجر به کاهش بروز بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود. از اصلی‌ترین این سازگاری‌ها، افزایش جریان خون عضلات از جمله قلب است که این افزایش با تغییر چگالی مویرگی و حداکثر اکسیژن مصرفی همراه است (۹) یکی از تغییراتی که هنگام انجام تمرینات ورزشی از جمله فعالیت ورزشی تناوبی شدید (HIIT) و استقامتی تداومی در ساختار عروقی عضله برای رفع شرایط استرسی رخ می‌دهد، آنژیوژنز (رگزایی) است که با تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال همراه است و به دو شکل جوانه زدن و دونیم شدن مویرگ‌های موجود است (۲۰). رومانس و همکاران (۲۰۱۵) در یک بررسی متا آنالیز نتیجه گرفتند آمادگی قلبی تنفسی (CRF) پس از ۱۲ هفته HIIT (سه بار در هفته) در مقایسه با MICT (به ترتیب ۱۴-۴۶ در مقابل ۵-۱۶ درصد) به میزان بیشتری بهبود میابد. همچنین مشخص شد که HIIT باعث افزایش قابل توجهی در وضعیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با MICT می‌باشد. کالری در بیماران نارسایی قلبی می‌شود. توانایی برتر HIIT برای بهبود عملکرد عروقی، نسبت به MICT، می‌تواند به دلیل توانایی آن در تحریک جریان خون بیشتر از طریق عروق تامین کننده اکسیژن به عضلات در حال کار باشد، که به نوبه خود می‌تواند باعث افزایش استرس برشی و فراهمی زیستی NO القا شده گردد (۲۱). تاثیر تمرینات ورزشی بر سازگاری‌های سلولی به خصوص در زمینه‌ی بایوژنز میتوکندریایی، سنتز پروتئین و تغییرات مرتبط با عوامل قلبی عروقی از جمله رگزایی در تحقیقات مختلفی بررسی شده‌اند. با این وجود تحقیقات بسیار کمی بر عواملی چون عامل رشد فیبرولاستی و عامل رشد تغییر شکل دهنده تمرکز کرده‌اند. در واقع نقش تمرینات ورزشی با شدت و مدت زمانهای گوناگون بر این عوامل تاکنون بررسی نشده است و از طرفی این دو فاکتور یاد شده هم در آنژیوژنز و هم در سنتز پروتئین و رشد سلولی نقش دارند. تحقیقات افزایش ناشی از ورزش را در غلظت‌های موضعی TGF-β1 در بافت پری تاندینوز انسان

بین فعالیت جسمانی و بیماری دیده می‌شود (۱۵). گزونی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند تمرینات مقاومتی باعث کاهش بیان ژن TGF-β1 و منجر به کاهش رسوب کلاژن ناشی از سن در قلب موش‌های مسن می‌شود. آن‌ها نتیجه گرفتند تمرینات مقاومتی با شدت بالا اثر محافظت کننده از تجمع کلاژن و حفظ عملکرد میوکارد ایجاد می‌کند (۱۶).

از جمله تغییرات ناشی از فعالیت‌های ورزشی در قلب، آنژیوژنز و رگ زایی است که منجر به بهبود عملکرد قلب می‌شود. اما برخی از پروتئین‌های درون‌زا، رگ‌زایی را مهار می‌کنند، که با عنوان VASH-1 (Vasohibin-1) شناسایی شده‌اند (۱۷). این پپتیدها به عنوان یک عامل محرک ضد رگزایی در پاسخ به محرک‌های رگ زایی بیان می‌شوند و پس از ترشح از اندوتلیوم به عنوان یک عامل بازدارنده رگ‌زایی ایفای نقش می‌کند بسیاری از این مولکول‌ها توسط پروتئازها از اجزای ماتریکس خارج سلولی یا از پروتئین‌های در گردش که عملکردهای غیرمرتبط با رگ زایی دارند، جدا شده‌اند. (۱۸). علاوه بر این، عوامل ضد رگ زایی مشتق شده از PRL یک خانواده از پپتیدها با جرم‌های مولکولی متفاوت هستند (۱۷) و بر اساس شباهت‌های عملکردی و ساختاری آن‌ها، به نام VASH-1 و پپتیدهای ضد رگ‌زایی حاوی ناحیه N ترمینال GH و PRL شناخته می‌شوند با مسدود کردن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، رگزایی را در بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی سرکوب می‌کنند علاوه بر این، می‌توانند با القای بیان بازدارنده فعال کننده پلاسمینوژن نوع ۱ (PAI-1) فعالیت پایه uPA را مسدود کنند، عملی که احتمالاً توانایی VASH-1‌ها را واسطه می‌کند و با تشکیل ساختارهای مویرگ مانند در ژل‌های تداخل می‌کند (۱۹). -
 VASH-1‌ها همچنین می‌توانند مستقل از فاکتورهای رشد برای القای آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال در کشت و رگ‌سیون رگ‌های خونی با واسطه آپوپتوز عمل کنند. کاهش عوامل ضد رگ زایی که محرک اصلی آن هیپوکسی است ممکن است به روشن کردن "سوئیچ رگ‌زایی" در تومورها کمک کند، که باعث کاهش

کرج) که به صورت آزاد در اختیار قرار می‌گرفت، در طی دوره پژوهش تیمار شدند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن کشتی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داشت (۲۴). موش‌ها به صورت تصادفی ساده به ۵ گروه ۸ تایی: گروه کنترل (CO)، کنترل ۸ هفته (8-week Moderate-control)، تمرین هوازی با شدت متوسط (Moderate-MIT: Intensity Training)، تمرین هوازی پر شدت (High-Intensity Training or HIT)، و تمرین هوازی - تناوبی پر شدت (High-Intensity Interval Training or HIIT) تقسیم شدند. همچنین در همین زمان موش‌ها در گروه‌های تمرین و کنترل با تردمیل آشنا شدند سپس حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان مطابق با پروتکل هویدال و همکاران و با پروتکل غیرمستقیم ارزیابی شد. ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد VO_{2max} انجام شد. سپس رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند، که هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۲ متر بر دقیقه تا سر حد و اماندگی سرعت افزایش می‌یافت

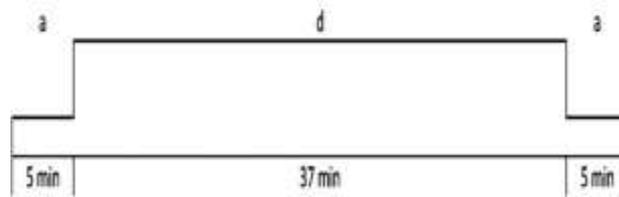
پروتکل تمرینی

پروتکلها براساس قوانین بین‌المللی درمورد حیوانات - آزمایشگاهی در کمیته پژوهش دانشگاه پیام نور به تصویب رسید و اجرا شد. تمرینات به مدت ۸ هفته و هفته‌ای ۵ جلسه پس از ۵ دقیقه گرم کردن (با سرعت ۵ متر بر دقیقه) اجرا می‌شد. پروتکل تمرین MIT شامل دویدن در ۶۵ درصد VO_{2max} در زمان-کل ۴۷ دقیقه، شامل ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن و ۳۷ دقیقه بدنه اصلی تمرین در ۶۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود (تصویر ۱).

مشاهده کردند. افزایش پس از تمرین در غلظت‌های سیستمیک $TGF-\beta 1$ نشان دهنده آزاد شدن سیتوکین در پاسخ به ورزش است و ممکن است نقش $TGF-\beta 1$ را در رابطه با سنتز کلاژن ناشی از ورزش در مناطقی که تحت بارگذاری مکانیکی قرار دارند، حمایت کند (۲۲). بیشتر مطالعات انجام گرفته در خصوص تمرینات با شدت متوسط و کوتاه مدت بوده است و تحقیقاتی که منحصرًا مقایسه سه شیوه تمرینی با شدت‌های مختلف تمرینی و تغییرات میزان ژن‌های رگ‌زایی و ضد رگ‌زایی را بررسی کرده باشند، اندک هستند. بنابراین هدف از این پژوهش مقایسه گونه‌های تمرینی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن $TGF-\beta 1$ و VASH-1 بافت قلب موش‌های صحرائی بود.

روش کار

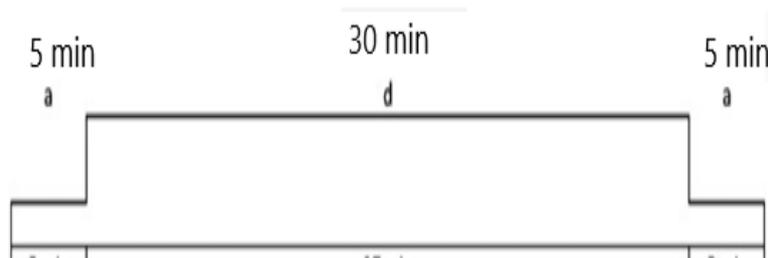
روش پژوهش از نوع تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل بود که به صورت ۵ گروهی و مداخله‌ای به منظور مقایسه اثر سه برنامه تمرینی به مدت ۸ هفته بر بیان ژن $TGF-\beta 1$ و VASH-1 بافت قلب موشهای صحرائی انجام گرفت. بدین منظور تعداد ۴۰ سر رت بالغ نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 237 ± 33 گرم با توجه تعداد نمونه در مقالات چاپ شده به عنوان نمونه آماری از انستیتو پاستور خریداری و به مرکز پژوهش کرج منتقل شدند. حیوانات در محیطی بامیانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری می‌شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام گرفت (۲۳). حیوانات از آب و غذای پلت استاندارد (شرکت تولید خوراک دام به پرور



تصویر ۱. پروتکل تمرینی MIT

بدنه اصلی تمرین در ۶۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود. شیب تردمیل در هفته اول صفر و هر هفته ۱ درصد بر شیب افزوده شد، تا در هفته هشتم به ۸ درصد رسید (۲۵) (تصویر ۲).

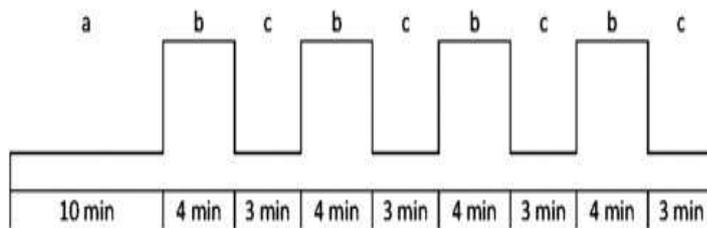
پروتکل تمرین HIT شامل دویدن در سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۴۰ دقیقه و با شیب فزاینده نوار گردان می‌باشد. همانند تصویر تمرین شامل ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن و ۳۰ دقیقه



تصویر ۲. پروتکل تمرینی HIT

که در مجموع ۳۸ دقیقه بطول می‌انجامد و شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۲۸ دقیقه بدنه اصلی تمرین بود. (تصویر ۳).

پروتکل تمرین HIIT شامل ۴ وهله تناوب شدید با زمان ۴ دقیقه دویدن با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_{2max} و ۴ وهله تناوب کم شدت با زمان ۳ دقیقه دویدن در ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} بود،



تصویر ۳. پروتکل تمرینی HIIT

این روش زمان خالص تمرین در هر گروه بر اساس زمان، شدت و تکرار وهله‌های کار محاسبه شد و یکسان گردید (۲۶).

برای اطمینان از ایزولود بودن تمرین در هر ۳ گروه تمرینات ورزشی بر اساس روش روگنمو و همکاران عمل شد. بر اساس

$$\text{مدت زمان تمرین در گروه نداوسی} = \frac{\left[\begin{array}{l} \text{شدت فعالیت} \\ \text{در تناوب های سنگین} \end{array} \times \begin{array}{l} \text{مجموع زمان فعالیت} \\ \text{در تناوب های سنگین} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{شدت فعالیت} \\ \text{در تناوب های سبک} \end{array} \times \begin{array}{l} \text{مجموع زمان فعالیت} \\ \text{در تناوب های سبک} \end{array} \right]}{\text{شدت مورد نظر فعالیت}} \\ \text{برای فعالیت نداوسی}$$

شدت مورد نظر فعالیت
برای فعالیت نداوسی

باقیمانده‌ی محلول که حاوی پروتئین و DNA است در دمای 4°C $20-$ برای استخراج DNA و پروتئین ذخیره می‌شود. به میکروتیوب‌های حاوی مایع شفاف به اندازه‌ی برابر با آن ایزوپروپانول برای افزایش رسوب RNA اضافه می‌کنیم این ترکیب را مخلوط کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 4°C انکوبه می‌کنیم. مخلوط را در 12000 RPM ، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ می‌کنیم. فاز رویی را به آرامی و با استفاده از سمپلر دور ریخته باید 1 ml اتانول 75% را به رسوب اضافه و ورتکس می‌کنیم. محلول را در 7500 RPM در دمای 4°C درجه سانتی گراد، به مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ می‌کنیم.

بررسی کمی استخراج RNA و تیمار آن با Dnase I

غلظت و خلوص RNA استخراج شده توسط اسپکتروفوتومتر نانودرا بررسی شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری و غلظت آن براساس ضریب رقت برحسب $\text{ng}/\mu\text{l}$ به دست آمد. نسبت $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ بیانگر میزان خلوص RNA استخراجی می‌باشد و رابطه‌ی مستقیم با آلودگی RNA به پروتئین دارد.

RNA استخراج شده معمولاً به DNA ژنومی آلوده می‌باشد برای از بین بردن این آلودگی از روش تیمار نمونه‌های RNA استخراج شده با Dnase I وجود استفاده می‌شود. به $1 \mu\text{g}$ از محلول RNA، $1 \mu\text{l}$ بافر Dnase I ($10\times$) و $0.5 \mu\text{l}$ آنزیم Dnase I ($0.5/50$) اضافه کرده و با آب DEPC آن را به حجم $10 \mu\text{l}$ می‌رسانیم. سپس میکروتیوب‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 37°C قرار داده، آنگاه به منظور خنثی‌سازی Dnase I، $1 \mu\text{l}$ EDTA به آن اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای

بنابراین با این روش مجموع ۲۸ دقیقه تمرین تناوبی در شدت‌های میانگین ۹۵ و ۵۵ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$ معادل ۳۸ دقیقه تداومی در شدت ۶۵ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$ محاسبه گردید. بر همین منوال شدت‌های تمرینات شنا و تداومی‌پرشدت نیز معادل سازی گردید.

نحوه نمونه برداری بافتی

برای حذف اثر حاد تمرین، نمونه برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام گرفت بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین ($30-50$ میلی گرم بر-کیلوگرم وزن موش) و زایلازین ($3-5$ میلی گرم برکیلوگرم وزن موش) بیهوش شده و بعد از عمل جراحی قفسه سینه، بافت قلب جدا و در میکروتیوب‌های مخصوص در مایع نیتروژن قرار داده و به فریزر دمای -70°C درجه سانتیگراد منتقل شد. کیت سنتز cDNA توسط Scientific Thermo که با شماره کاتالوگ K1622 تولیدی، در این مطالعه استفاده شد. استخراج RNA و سنتز cDNA با توجه به پروتکل‌های استاندارد شرکت سازنده انجام گرفت. جهت استخراج RNA 700 میکرولیتر از کپازول را روی نمونه لیز شده ریخته. ۵ تا ۱۰ ثانیه ورتکس کرده و آن را ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار دادیم سپس 200 میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه کرده و ۱۵ ثانیه مخلوط می‌کنیم (بدون ورتکس). میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه بر روی یخ یا دمای 4°C قرار داده و سپس آن را در 12000 RPM در 4°C به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ می‌کنیم با استفاده از سمپلر با دقت تمام محلول شفاف رویی را جدا کرده و به میکروتیوب دیگر انتقال می‌دهیم.

علاوه بر این، در این آزمایش تجزیه و تحلیل منحنی ذوب $\Delta\Delta CT$ شد. سپس برای هر مورد به منظور اطمینان از ویژگی- محصول PCR انجام گرفت این واکنش با حجم نهایی $10 \mu l$ و به صورت دوتایی برای نمونه‌های مورد ۱ و مورد ۲ و بصورت تکی برای نمونه‌های شاهد انجام شد. درون هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه یا مخلوطی به حجم ۱۰ میکرولیتر متشکل از ۵ میکرولیتر- مخلوط اصلی سایبرگرین (Mix Master Green SYBR)، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن (پیش رو و پس رو)، ۲ میکرولیتر از DNA ژنومی و ۲ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز تهیه شد.

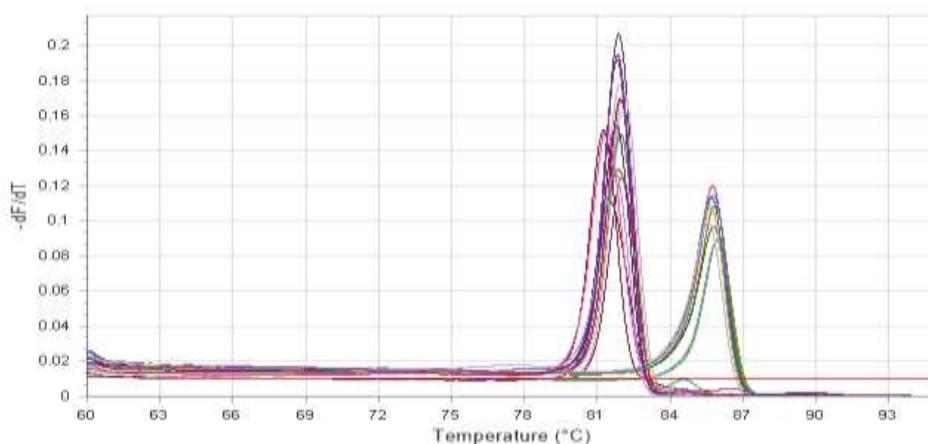
رسم منحنی ذوب

جهت رسم این نمودار دستگاه دما را با فواصل معین در یک بازه دمای بین ۹۵-۶۵ درجه به تدریج و با سرعت $0.3^\circ C/s$ افزایش داده و میزان فلورسانس را در هر نقطه اندازه‌گیری می‌نماید. منحنی Y در این نمودار سرعت تغییر در واحد فلورسانس متناسب با زمان و محور X تغییر دما را نشان می‌دهد. چنانچه قله‌های متعدد و متفاوتی در منحنی ذوب وجود داشته باشد نشانگر وجود آلودگی، دایمرهای پرایمر و همچنین DNA غیراختصاصی است در شکل زیر دمای ذوب یا T_m قله‌ی نمودار می‌باشد.

$65^\circ C$ قرار می‌دهیم، بعد از این نمونه‌ها را می‌توان برای ساخت cDNA بکار برد.

Real-Time PCR

واکنش Real-Time PCR در دستگاه (Systems Applied Biosystems, Sequence Detection) و در سه مرحله انجام گرفت. مرحله اول در یک چرخه به منظور فعالسازی آنزیم Taq پلیمرز شروع داغ (Hot start Taq polymerase) و دناتوره (Denaturation) اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه؛ مرحله دوم به صورت متناوب در طول ۴۰ چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه. در مرحله سوم به منظور رسم منحنی تفکیک یک چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه اعمال شد. در این مرحله کاهش دما از ۹۵ درجه سانتیگراد به ۶۰ درجه سانتیگراد با سرعت $0.3^\circ C/s$ درجه سانتیگراد بر ثانیه انجام گرفت و حدود ۲۰ دقیقه طول کشید. پس از اتمام مرحله سوم، منحنی‌های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم‌افزار ABI SDS تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن- رفرنس به صورت ΔCt برای هر نمونه محاسبه به دست آمد.



نمودار ۱. منحنی ذوب برای ۴ ژن $\beta 2M$, H2AFY, H2AFZ, H3F3

الکتروفورز محصولات Real-Time PCR

برای پی بردن به صحت محصولات حاصل از واکنش Real-Time PCR، طول قطعه‌ی محصولات مورد نظر را با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز کنترل کردیم. به منظور انجام این کار ژل آگارز را تهیه کرده و ۳μl از محصول را با ۱۱μl از بافر حاوی رنگ ترکیب کرده و در چاهک‌های تانک الکتروفورز وارد می‌کنیم. درون یکی از چاهک‌ها محلول تعیین‌کننده‌ی طول قطعات را ریخته و طول قطعات را با توجه به آن تعیین می‌کنیم. پیش از این باید طول محصولات مورد نظر هر جفت پرایمر را در سایت اینترنتی NCBI تعیین کرده و با توجه به آن صحت محصول خود را مشخص کردیم.

طراحی پرایمر و تعیین بیان ژن به روش PCR time-r

در ابتدا توالی mRNA مربوط به ژنهای β1-TGF و VASH 1- از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

TGFβ	For: 5'- ATGCTGAGGAAGAAGATGTGGA -3' Rev: 5'- ATGAAACTGCGTGGATGGGA -3'
VASH_1	For: 5'- AGAAGAGGAAGGCAAGGATAGG -3' Rev: 5'- GAAGAGGGAGAAGATGAAGAGGA -3'
GAPDH	For: 5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3' Rev: 5'- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3'

تحلیل آماری

روش‌های آماری پس از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. سپس با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری ۰/۵ P ≤ برای

بررسی تغییرات بیان ژنهای β1-TGF و VASH-1 و تعیین محل دقیق تفاوت‌ها استفاده شد. برای انجام تمامی امور آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ استفاده شد

نتایج

مشخصات توصیفی نمونه‌های پژوهش بصورت میانگین و انحراف معیار در ۲ گروه کنترل و ۳ گروه تجربی ارائه شده است (جدول ۲).

جدول ۲. مشخصات توصیفی نمونه‌های پژوهش

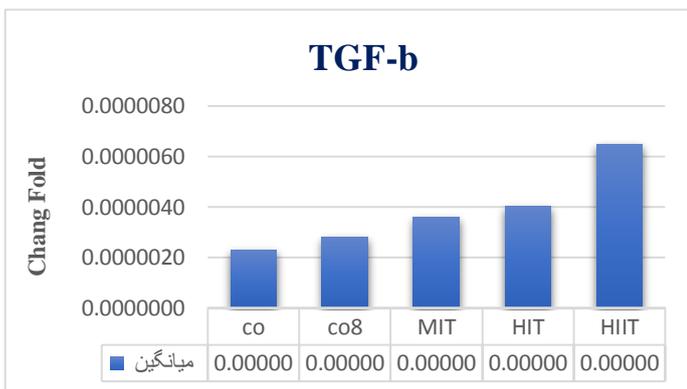
گروه	تعداد (سر)	سن (هفته)	وزن موش (kg)	اکسیژن مصرفی بیشینه (ml/kg/min)
گروه کنترل پایه	۸	۸	۲۳۶/۳±۳۴/۵	۵۰/۲±۳/۹
گروه کنترل ۸ هفته	۸	۸	۳۱۲/۸±۲۵/۸	۴۷/۷±۳/۲
گروه تمرین MIT	۸	۸	۳۱۳/۷±۲۸/۶	۶۹/۱±۳/۵*
گروه تمرین HIT	۸	۸	۳۱۰/۳±۳۱/۴	۶۴/۲±۴/۵*
گروه تمرین HIIT	۸	۸	۲۹۵/۶±۲۷/۲	۶۵/۷±۶/۹*

* نشانه اختلاف معنی دار با گروه کنترل ۸ هفته است

تأثیر گذاری فرآیند رشد و سن رت‌ها بر تغییرات بیان این ژن می‌باشد. تفاوت معنی داری بین گروه کنترل ۸ هفته و گروه‌های تمرینات ورزشی MIT ($P=0/002$)، HIIT ($P=0/003$) و HIT ($P=0/004$) مشاهده شد. همچنین اختلاف معنی داری در بیان ژن VASH-1 بین گروه تمرین ورزشی HIIT و ۲ گروه تمرینات ورزشی HIT و MIT و برترتیب و بر اساس اندازه اثر وجود داشت ($P=0/001$). اما بین گروه‌های تمرین HIT و MIT تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P=0/26$).

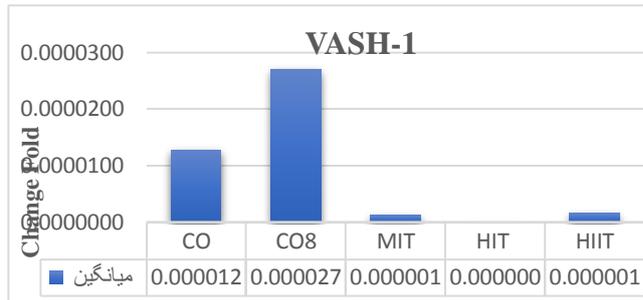
در انتهای پژوهش مقادیر وزن موشهای صحرایی با استفاده از ترازوی دیجیتال، با دقت ۰/۰۰۱ وزن کشی شد، که در گروه کنترل هشت هفته‌ای $312/8 \pm 25/8$ گرم، گروه تمرین MIT $313/7 \pm 28/6$ گرم، گروه تمرین HIT $310/3 \pm 31/4$ گرم، گروه تمرین HIIT $295/6 \pm 27/2$ گرم بود که تفاوت معناداری میان گروه‌های مختلف تحقیق مشاهده نشد ($P=0/09$).

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه نشان داد که افزایش معنی داری در بیان ژن TGF- $\beta 1$ در بافت قلب رت‌های- گروه‌های تحقیق وجود دارد ($P=0/04$). نتایج آزمون تعقیبی جیمز- هوئل نشان داد در مطالعه حاضر ۸ هفته تمرین MIT ($P=0/001$)، HIT ($P=0/001$) و HIIT ($P=0/001$) باعث افزایش معنادار بیان TGF- $\beta 1$ در بافت بطن چپ موش‌های نروستار نسبت به گروه کنترل و کنترل ۸ هفته‌ای شد اما اختلاف معنی داری بین دو گروه کنترل و گروه کنترل ۸ هفته مشاهده نگردید ($P=1/000$). علاوه بر این نتایج تحقیق حاضر نشان داد کاهش معنی داری بین ۵ گروه پژوهش در مقادیر بیان ژن VASH-1 مشاهده شد ($P=0/001$). اما اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و کنترل ۸ هفته در بیان ژن VASH-1 وجود نداشت ($P=0/658$)، که بیانگر عدم

نمودار ۲- تغییرات بیان ژن TGF- β در بافت بطن چپ قلب

رت‌های نروستار در گروه‌های پژوهش

TGF- β 1 در عضلات اسکلتی رت‌ها شده و به عنوان یک سایتوکاین ضد التهابی عمل می‌کند با توجه به اینکه تمرین هوازی پر شدت و هوازی تناوبی پر شدت، تخریب فیبرها و پاسخ‌های التهابی را به همراه دارد. می‌تواند دلیل افزایش TGF- β 1 ناشی از التهاب بافتی متعاقب تمرینات شدید باشد (۳۰). محمد نژاد و همکاران (۲۰۲۰) نتیجه گرفتند بیان mRNA TGF- β 1 در عضلات LED و نعلی موش‌های نر ویستار پس از شش هفته تمرین هوازی به طور معنی داری افزایش یافت (۳۱) از دلایل افزایش سطح معنیداری TGF- β در این پژوهش که برخلاف نتایج سایر پژوهش‌ها بود. احتمالاً میتوان به علت قرارگیری TGF- β به صورت فرم غیر فعال در سلول دانست. از آنجایی که تمایل TGF- β به گیرنده‌هاش بالا است، نیاز به قرارگیری در فرم غیر فعال دارد. زیرا فعالسازی بخش کوچکی از آن، منجر به تغییرات وسیعی در سلول‌ها می‌شود و با اتصال به دو پلی پپتید تشکیل یک مجموعه پروتئین چندگانه بزرگ Large Latent Complex (LLC) می‌دهد که کمپلکس TGF- β پنهان نامیده می‌شود. تا نتواند با گیرنده‌های سطح سلولها ارتباط برقرار کرده و عملکرد خود را به راحتی اعمال کند. TGF- β پنهان از سلول به ماتریکس خارج سلولی ترشح شده و در آنجا ذخیره می‌شود. با اجزای دیگر ماتریکس خارج سلولی مانند فیبرونکتین، فیبرولین 1 - پیوند برقرار می‌کند و سبب فراهم شدن مخزنی از TGF- β پنهان در ماتریکس می‌شود. برای راهاندازی مکانیسم پیام رسانی TGF- β در مرحله اول باید فرم بالغ و فعال شده آن ایجاد گردد (۲۰۲۰) از طرفی فعالیت ورزشی منظم، میتواند تنظیم منفی یا مسدودکننده در آبخار سیگنالینگ TGF- β را با تأثیر بر عوامل فعال کننده آن پدید آورد (۳۳) و در درازمدت قدرت آنتی‌کسیدانی عضله را افزایش دهد درحقیقت، TGF- β 1 سایتوکاینی است که خاصیت



نمودار ۳- تغییرات بیان ژن VASH-1 در بافت بطن چپ قلب رت‌های نر ویستار در گروه‌های پژوهش

بحث

در مطالعه حاضر ۸ هفته تمرین HIT، MIT و HIIT باعث افزایش معنی‌دار بیان TGF- β 1 در بافت بطن چپ موش‌های نرویستار شد. در این رابطه، سرا و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند ۶ جلسه یک ساعته تمرین استقامتی منجر به فعال شدن گیرنده‌های بتا آدرنژیک و افزایش معنادار (۱۵/۶ برابر) TGF- β 1-mRNA در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل شده است که از دلایل هایپر تروفی قلبی در این موش‌ها می‌تواند باشد (۱۰). برخی از محققین نتیجه گرفتند افزایش TGF- β 1 را بعد از تمرین با توجه به نقش التهاب در پاتورنز بیماری‌های مختلف ورزش شدید منجر به تشدید التهاب می‌شود (۲۷) نتایج تحقیق فوق همسو با نتایج این تحقیق است از طرفی برخی دیگر از پژوهشگران از جمله، ستوده و همکاران بیان کردند ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی با شدت ۵۰ تا ۷۰ درصد توان بیشینه باعث کاهش TGF- β 1 و رشد بافت توموری می‌شود. (۲۸) همچنین بارانچی و اقالی نژاد (۲۰۲۱) نشان دادند ۴ هفته تمرین پر شدت تناوبی (HIIT) به عنوان روش مداخله‌ای غیر دارویی منجر به کاهش بیان ژن TGF- β 1 و اثرات محافظتی بر روی کلیه موش‌های دیابتی داشته است (۲۹) که مخالف نتایج این تحقیق می‌باشد زیرا نمونه‌های بارنچی و اقالی نژاد داری بیماری دیابت بودند اما نمونه‌های این پژوهش سالم بود همچنین تمرین پر شدت باعث کاهش معنادار

آنتی اکسیدانی دارد و در پاسخ به التهاب عضله افزایش می‌یابد. شواهد موجود بیانگر آن است که TGF- β 1 واسطه اصلی القای سنتز کلاژن در فیبرو بلاست‌ها از طریق بار مکانیکی می‌باشد (۳۴) و الگوی تغییرات بیان آن در سطح سرمی بافت عضله کاملاً متفاوت است و موید این نکته است که افزایش بیان TGF- β 1- در عضله اسکلتی و بافت تنها در اثر فعل و انفعالات فیزیولوژیکی موضعی در آن بافت ایجاد می‌شود. ترشح احتمالی سطوح سرمی TGF- β 1 از بافت‌های مختلف متعاقب تمرین هوازی پر شدت و پر شدت تناوبی گزارش شده است (۳۵). با افزایش سطوح لاکتات خون در حین تمرینات HIT این سوستر می‌تواند به راحتی از سد خون عبور کند و سبب افزایش لاکتات درون مغز شود و موجبات افزایش بیان TGF- β 1 فراهم آورد که نتایج این فرایند افزایش TGF- β 1 در خون و بافت خواهد بود. از طرفی افزایش لاکتات بیان TGF- β 1 را افزایش داده و متعاقب آن افزایش اکسیداسیون چربی ایجاد می‌شود (۳۶) که همسو با نتایج این پژوهش است. نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد استرس اکساید ها، و هایپوکسی ناشی از تمرین موجب افزایش بیان NADPH اکسیداز و کاهش بیان سوپراکسید دیسمو تاز و افزایش بیان TGF- β 1 در بافت قلبی و کلیوی می‌شود. به دلیل اینکه متعاقب تمرین شدید وضعیت اکسیدانها و آنتی اکسیدان‌های بافت تغییر می‌کند و با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی TGF- β 1 احتمالاً یکی از دلایل افزایش آن متعاقب تمرین و حمایت از وضعیت آنتی اکسیدانی در عضله قلب در این تحقیق باشد بعلاوه، نشان داده شده است که فعال سازی آبخار پیام رسانی ۲ ERK1 /NF-JNK- κ B از طریق ROS برای تنظیم مثبت فعال سازی MMP9 و مهاجرت سلولی ایجاد شده توسط - TGF- β 1 ضروری است (۳۶). ولی دلیل اصلی تر وقوع هایپوکسی در سلول‌های بافت است که منجر به افزایش

HIF-1 α می‌شود این فاکتور در بافت‌ها در پاسخ به هایپوکسی افزایش می‌یابد و اعمال بیولوژیکی متعددی را واسطه‌گری می‌کند. از طرفی انجام تمرینات در درازمدت قدرت آنتی اکسیدانی فعالیت‌های بدنی را افزایش داده و منجر به کاهش بیان mRNA ژن TGF- β 1 و متعاقب آن افزایش بیان پروتئین‌های این فاکتور پس از یک دوره تمرینی می‌گردد (۳۷) با بررسی مطالعات گذشته به نظر می‌رسد سیگنال‌های فعال شده با TGF برای تنظیم بیان اینتگرین بتا که برای تکثیر هپاتوبلاست‌ها ضروری می‌باشد، همگرا است. همچنین فاکتورهای مسئول افزایش mRNA فاکتورهای رشد، نیز می‌توانند از بافت منشأ گرفته و از طریق روش غدد درون ریز به بافت هدف برسند. از سویی شرایط استرس بر تنظیم پس از رونویسی تاثیر می‌گذارد. به عنوان مثال، گرسنگی گلوکز و اسید آمینه و افزایش اکسیداتیو، همگی همراه با ورزش بدنی، باعث ایجاد چنین تنظیمی، به ویژه در مرحله شروع ترجمه می‌شود (۳۸) همچنین می‌توانیم به این صورت تبیین کنیم که تمرین بدنی سیگنال‌هایی را القا می‌کند که بیان mRNA TGF- β را در بافت افزایش و تمرین بدنی به طور همزمان باعث ایجاد قوانین پیچیده پس از رونویسی می‌شود و بنظر می‌رسد شدت فعالیت ورزشی می‌تواند عاملی تاثیر گذار در بیان این ژن باشد در این رابطه میتوان عنوان کرد که TGF- β محرک قوی برای سنتز کلاژن در ماتریکس خارج سلولی قلب می‌باشد که باعث تنظیم مثبت بیان کلاژن در ECM قلب میگردد (۳۲) بنابراین کاهش بیان TGF- β و مهار مسیر پیام رسانی آن میتواند باعث کاهش بیان ژنهای دخیل در تولید کلاژن ماتریکس برون سلولی شود. مطالعات پیشین نیز موید این مطلب بودند و بیان داشتند ورزش هوازی باعث کاهش مقدار TGF- β و متعاقب آن کاهش مقدار کلاژن بافتی در ماتریکس برون سلولی قلب می‌شود که میتواند یک

مکانیسم محافظتی در برابر فیروزه شدن قلب در اثر افزایش سن باشد (۳۹).

از دیگر نتایج تحقیق حاضر کاهش معنی دار در مقادیر بیان ژن VASH-1 بین ۵ گروه پژوهش می‌باشد. اما اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و کنترل ۸ هفته در بیان ژن VASH-1 وجود نداشت که بیانگر عدم تاثیرگذاری فرایند رشد و سن رت‌ها بر تغییرات بیان این ژن می‌باشد. اما تفاوت معنی داری بین گروه کنترل ۸ هفته و گروه‌های تمرینات ورزشی HIIT، MIT و HIT مشاهده شد. کیش لیانسکی و همکاران اثر یک دوره تمرین پر شدت کوتاه مدت را بر روی عضله قلب موش‌های صحرائی نر را مورد بررسی قرار دادند که نتایج حاکی از کاهش VASH-1 در عضله قلب بود اما در موش‌های دیابتی زوکر فعالیت بدنی منجر به افزایش VASH-1 شد جالب توجه است، سطح فیزیولوژیکی VASH-1 به طور مؤثر در حیوانات ZDF فعال خود به خود بازیابی شد که افزایش مویرگی شدن بافت حفظ می‌شود. از طرفی رگرسیون مویرگی و اختلال القای رگزایی عضلانی با موقعیت‌ها چاقی و اغلب بیماری‌های مزمن مرتبط می‌باشند یافته‌ها نشان می‌دهد که فعالیت دویدن داوطلبانه بر روی تردمیل قند خون را کنترل می‌کند و به طور مؤثری از دست دادن مویرگ‌ها را در موش‌های ZDF فعال را کاهش می‌دهد اما بیان پروتئین VASH-1 در موش‌های صحرائی ZDF کم تحرک به طور قابل توجهی بالاتر می‌باشد. در مقابل چنین افزایشی در یک سیگنال ضد رگ‌زایی ممکن است به این روند کمک کند در رگرسیون مویرگی پاتولوژیک فعالیت بدنی داوطلبانه به طور قابل توجهی بیان VASH-1 را ۳۷٪ در ZDF فعال کاهش داد (۴۰) که با یافته‌های این تحقیق همخوانی دارد تایج نشان می‌دهد تمرین HIIT، MIT و HIT منجر به کاهش VASH-1 در این موش‌ها شده است در همین راستا واتانبه و همکاران در بررسی بیماران ریه که نیاز به عمل جراحی داشتند نتیجه گرفتند که میزان VASH-1 در این افراد روند صعودی دارد و می‌توان از این شاخص به عنوان یک نشانگر زیستی و پیش آگهی خطر ناک برای بیماران کارسیوم ریه مورد

استفاده قرار داد. سوزوکی و همکاران (۲۰۱۶)، نتیجه گرفتند در بیماران مبتلا به آسیب عروق محیطی، تمرین شدید حاد باعث تغییر VASH-1 نمی‌گردد اما بعد از شش‌ماه تمرین هوازی باعث افزایش بیان VASH-1 در پلاسما می‌شود که خود حاکی از جلوگیری از آسیب بیشتر در عروق خونی این بیماران می‌باشد نتایج برخی از تحقیقات نشان می‌دهد که بیان پروتئین VASH-1 بیشتر در عضلات با سطوح بالاتر و کمتر در عروق ترشح می‌گردد. از طرفی بیان پروتئین VASH-1 در عضله اسکلتی موش صحرائی در پاسخ به ورزش حاد دویدن افزایش می‌یابد، در حالی که تمرین کوتاه‌مدت پاسخ‌دهی به VASH-1 به تحریک حاد ورزش را لغو می‌کند که نشان می‌دهد اثر مفید تمرین ورزشی در جلوگیری از دست دادن مویرگی در عضله اسکلتی ممکن است شامل کاهش سطح VASH-1 باشد (۴۱). یافته‌ها نشان می‌دهد ورزش می‌تواند غلظت VASH-1 پلاسما در بیماران مبتلا به بیماری عروق محیطی را افزایش دهد نکته مهم این است که این افزایش در افراد مسن بیشتر حاصل می‌شود و غلظت پلاسمایی آن در گروه مردان بیشتر از زنان می‌باشد. که ممکن است به دلیل تفاوت در فعالیت‌های بدنی بین زنان و مردان باشد. اما در افراد سالم بیان VASH-1 با افزایش سن کاهش می‌یابد و کاهش بیان VASH-1 می‌تواند یک عامل خطر برای پیشرفت بیماری‌های عروقی باشد (۴۲). همانطور که اشاره شد، سنتز VASH-1 می‌تواند القا رونویسی توسط محرک‌های رگ‌زایی یا پس از رونویسی توسط پروتئین متصل به RNA - HUR، جلوگیری نماید. علاوه بر این، VASH-1 از نظر پروتئولیتی پس از ترشح تجزیه و غیرفعال می‌شود (۴۳) در نتیجه، در حال حاضر مشخص نیست ورزش هوازی باعث افزایش سنتز- VASH-1 یا کاهش تخریب می‌شود که این نکته باید در مطالعه آینده روشن شود. یکی از مسائل مهم تمرین درمانی این است مقدار، شدت و مدت بهینه آن تعیین می‌کند که چه اثر سودمندی دارد. و چگونه باید انجام شود و باید نشانگرهای زیستی برای تجزیه و تحلیل اثر درمانی ورزش مورد بررسی قرار گیرد و پارامترهایی که مربوط به التهاب و متابولیسم پس از تمرین درمانی کاهش می‌یابد را مشخص نماید (۴۴). در مقابل، سطح VASH-

قوی‌تری در تقویت عملکرد عروقی و افزایش CRF است توانایی آن را برای داشتن یک محرک قوی‌تر در افزایش عملکرد عروقی در مقایسه با MICT توضیح دهد. با این حال، تنوع در یافته‌های مربوط به این معیارهای پیامد ثانویه، مستلزم تحقیقات بیشتر برای تأیید اثرات HIIT بر این موارد است. با این وجود، این بررسی نشان می‌دهد که تمرینات HIIT، سه بار در هفته به مدت حداقل ۱۲ هفته، می‌تواند بهبود عملکرد عروقی بیش از سایر نسخه‌های HIT یا MIT داشته باشد (۲۱).

نتیجه گیری

در نتیجه، یافته‌های پژوهش حاضر بیانگر نقش مطلوب تمرینات MIT (هوازی با شدت متوسط)، HIT (پر شدت) و HIIT (پر شدت تناوبی) با شدت و مدت کافی در فضای آزمایشگاهی در افزایش فاکتورهای آنژیوژنزی ($TGF-\beta 1$) و کاهش عوامل آنژیواستاتیکی (VASH-1) و تأثیرهمزمان بر دو فاکتور، با فعال سازی مؤثر مولکولی مخالف در بافت قلبی موش‌های نر شد که این نوع روش‌های تمرینی می‌تواند به عنوان منابع مهم و مناسب افزایش تحریک کلاژن وابسته به بار مکانیکی (ورزشی) و هایپر-تروفی قلب (ورزشکار) پس از تمرینات HIT، HIIT، MIT گردد. از طرفی تمرینات HIIT دارای اندازه اثر بیشتری نسبت به دیگر روش‌های تمرینی در این تحقیق بود که نشان می‌دهد این تمرین باعث سازگاری بهتر و سریع‌تر و احتمالاً رگ زایی به میزان بیشتر نسبت به تمرینات HIT و MIT می‌شود، که می‌تواند به دلیل زمان کمتر سازگاری مورد نیاز و ایجاد مسیرهای متعدد پیام‌رسان آنژیوژنزیکی در بهبود توانایی عضله قلب و توسعه هایپرتروفی قلبی (ورزشکاران) شود. یافته‌های قلبی بیانگر استرس و شدت مناسب تمرینات HIIT در تحریک آنژیوژنز و افزایش VO_{2max} نسبت به دیگر شیوه‌های تمرینی می‌باشد. این نوع تمرینات منجر به فعال سازی سریعتر مسیرهای وابسته به شیر استرس (فرایند ناشی از افزایش جریان خون در بافت و رگ) از طریق برخورد اصطکاکی با دیواره عروق بافتی توسط گیرنده‌های حساس به فشار می‌شود. بطور خلاصه یافته نشان داد تمام

۱ بعد از تمرین درمانی در بیماران افزایش یافت. علاوه بر این، به دلیل فعالیت بیولوژیکی آن در ارتقای تحمل استرس ECها و ضد رگ زایی بودن، پیشنهاد می‌کنیم VASH-1 ارزش بررسی بیشتر را داشته باشد. اما در برخی از پژوهش‌ها VASH-1 در ابتدا به عنوان یک مهارکننده رگ زایی جدا شده بود (۳۶) به عبارت دیگر، افزایش سطح VASH-1 باید برای پیشگیری یا مهار بیماری‌های مرتبط با رگ‌زایی از جمله سرطان مفید باشد. گزارش‌های متعدد مزایای مثبت ورزش بدنی را در بیماران مبتلا به سرطان نشان می‌دهد، ورزش باعث افزایش سطح VASH-1 پلاسما در بیماران مسن مبتلا به بیماری عروقی محیطی می‌شود این افزایش VASH-1 پلاسما یی بیماران نه تنها برای سلامت قلب و عروق آنها بلکه برای پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رگ زایی نیز مفید است اما مکانیسم چنین فایده‌ای تعریف نشده است (۱۵).

با توجه به نتایج این پژوهش مکانیسم دیگری که می‌تواند توانایی برتر HIIT را برای افزایش عملکرد عروقی در مقایسه با MICT توضیح دهد تنش برشی تکراری القا شده است توسط HIIT است که تغییراتی را در سطح مولکولی ایجاد می‌کند که می‌تواند کانال‌های پتاسیم سلول‌های اندوتلیال را قادر می‌سازد تا نسبت به تنش برشی حساس‌تر شوند و در نتیجه باعث افزایش فعالیت eNOS شود. تنش برشی یک محرک مکانیکی برای فعال شدن هائل‌های پتاسیم است که هجوم کلسیم به سلول‌های اندوتلیال را تسهیل می‌کند. افزایش کلسیم داخل سلولی باعث فعال‌سازی و بیان eNOS می‌شود و باعث تولید NO و در نتیجه اتساع عروق می‌شود. HIIT با مدت زمان طولانی‌تر ممکن است ظرفیت بیشتری برای بهبود عملکرد عروق نسبت به HIIT کوتاه مدت داشته باشد (شکل ۲). این نتیجه امیدوارکننده می‌تواند ناشی از تمایل HIIT با مدت زمان طولانی‌تر برای تحمیل تأثیر مثبت بیشتر بر CRF، مقاومت به انسولین، اکسیداتیو باشد. استرس، التهاب و عوامل خطر سنتی CVD باشد. HIIT محرک

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

همه مراحل مربوط به کار با حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور کرج انجام شده است و نویسندگان مقاله هیچگونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

شیوه‌های تمرینی هوازی پر شدت، هوازی پر شدت تناوبی، هوازی با شدت متوسط منجر هایپر تروفی قلبی و توسعه شبکه مویرگی و تعادل بین عوامل آنژیوژنیکی و آنژیواستاتیکی با تمایل به سمت فاکتورهای آنژیوژنیکی می‌باشد و این می‌تواند به درک بهتر فرایند سازگاری به فعالیت‌های ورزشی گردد.

References

- Ghodratnama A, Shabani M, Sherafati Moghadam M. The Effect of Endurance and High-Intensity Interval Training on the Content MSTN and Follistatin Proteins in the Left Ventricular Tissue of The Heart of Type 1 and 2 Diabetic Rats. *ijdl* 2022; 21 (5):287-297.
- Kehat I, Molkenkin JD. Molecular pathways underlying cardiac remodeling during pathophysiological stimulation. *Circulation*. 2010 Dec 21;122(25):2727-35.
- Massagué J. TGF β signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012 Oct;13(10):616-30
- Burks, T.N., Cohn, R.D. Role of TGF- β signaling in inherited and acquired myopathies. *Skeletal Muscle* **1**, 19 (2011).
- Biernacka A, Dobaczewski M, Frangogiannis NG. TGF- β signaling in fibrosis. *Growth Factors*. 2011 Oct;29(5):196-202.
- Song W, Wang X. The role of TGF β 1 and LRG1 in cardiac remodelling and heart failure. *Biophys Rev*. 2015 Mar;7(1):91-104
- Van Meeteren LA, ten Dijke P. Regulation of endothelial cell plasticity by TGF- β . *Cell Tissue Res*. 2012 Jan;347(1):177-86.
- Kapur NK, Morine KJ, Letarte M. Endoglin: a critical mediator of cardiovascular health. *Vasc Health Risk Manag*. 2013;9:195-206.
- Asad, M., and Torabi, Z., and Barzegari, A., and Amuzad Mehdirji, H. Comparison of the effect of four training programs for eight weeks on the expression of some antioxidant enzymes in the heart tissue of rats. *Sports Biology Movement*. 2019, 12(4), 473-492. [Persian]
- Serra AJ, Santos MH, Bocalini DS, Antônio EL, Levy RF, Santos AA, Higuchi ML, Silva JA, Magalhães FC, Baraúna VG, Krieger JE, Tucci PJ. Exercise training inhibits inflammatory cytokines and more than prevents myocardial dysfunction in rats with sustained beta- drenergic hyperactivity. *J Physiol*. 2010 Jul 1;588(Pt 13):2431-42..
- Khedevi Borojni, Alireza, Marandi, Seyed Mohammad, Haqjovi Jovanmard, Shagaig,. The effect of 8 weeks of resistance training on some signaling factors affecting satellite cells in male Wistar rats. *Journal of Isfahan Medical School*. 2011, 30(207), 1511-150. [Persian]
- Mohammadnezhad G, Matin Homaei H, Ghazalian F. Effect of 6 Weeks of Aerobic Training on TGF-B1, Myostatin and Matrix Metalloproteinase 9 Genes Expression in the Tendon of Fast- and Slow-Twitch Muscles of Male Wistar Rats. *J Arak Uni Med Sci* 2020; 23 (3):278-291. [Persian]
- Soltani, Mahmoud, Fathi, Mehrdad, Moazzami, Mehtab, Golredi, Nasreen. The effect of water exercise program on cortisol and TGF- β levels in patients with multiple sclerosis. *Scientific-research journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 2014; 21(2): 207-216. [Persian]
- Liao PH, Hsieh DJ, Kuo CH, Day CH, Shen CY, Lai CH, Chen RJ, Padma VV, Kuo WW, Huang CY. Moderate exercise training attenuates aging-induced cardiac inflammation, hypertrophy and fibrosis injuries of rat hearts. *Oncotarget*. 2015 Nov 3;6(34):35383-94.
- Chyu C, Halnon N. Exercise Training in Cancer Survivors. *Curr Oncol Rep*. 2016 Jun;18(6):38.

16. Guzzoni V, Ribeiro MBT, Lopes GN, de Cássia Marqueti R, de Andrade RV, Selistre-de-Araujo HS, Durigan JLQ. Effect of Resistance Training on Extracellular Matrix Adaptations in Skeletal Muscle of Older Rats. *Front Physiol.* 2018 Apr 11;9:374
17. Robles JP, Zamora M, Velasco-Bolom JL, Tovar M, Garduño-Juárez R, Bertsch T, Martínez de la Escalera G, Triebel J, Clapp C. Vasoinhibin comprises a three-helix bundle and its antiangiogenic domain is located within the first 79 residues. *Sci Rep.* 2018 Nov 20;8(1):17111.21
18. Lenke L, Martínez de la Escalera G, Clapp C, Bertsch T, Triebel J. A Dysregulation of the Prolactin/Vasoinhibin Axis Appears to Contribute to Preeclampsia. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020. 9;10:893.
19. Clapp, c. Aranda, j. Gonza´lez, c.. Jeziorski, m.c and de la Escalera, g.m(2007) Vasoinhibins: endogenous regulators of angiogenesis and vascular function, *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* 2007; 17 (8).301-306.
20. Yazdanian, Narges, Asad, Mohammad Reza, Rahimi, Mustafa. The effect of intense intermittent exercise and moderate intensity continuous exercise on the expression of PGC1 α and VEGF genes in cardiac tissue of male Wistar rats. *Sports Physiology.* 2017, 10(38), 111-124. [Persian]
21. Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2015 May;45(5):679-92
22. Barzegari, A., Naghibi, S., Dashty, M. H., Karimi Zafarabadi, F. The effect of three different exercise methods HIIT, HIT and MIT on the expression of FGF and TGF genes in liver tissue of male Wistar rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology,* 2022; 9(1): 100-113. [Persian]
23. Olfert, E.D., B.M. Cross, and A.A. McWilliam. Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 1.: Canadian Council on Animal Care Ottawa.1993.
24. Hosseinzadeh, S., et al.The Interactive Effect of Lead Acetate and Endurance Training on the Brain-Derived Neurotrophic Factor and Malondialdehyde Levels in Rats Cortex. *Journal OF Babol University OF Medical Sciences,* 2012. 14(2): p. 7-15. [Persian]
25. Deschenes M, Maresh C, Crivello J, Armstrong L, Kraemer W, Covault J. The effects of exercise training of different intensities on neuromuscular junction morphology. *Journal of neurocyto logy.* 1993;22(8):603-15.
26. Rognmo Ø, Hetland E, Helgerud J, Hoff J, Slørdahl SA. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation.* 2004;11(3):216-22.
27. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartłomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The effect of acute and prolonged endurance exercise on transforming growth factor-beta1 generation in rat skeletal and heart muscle. *J Physiol Pharmacol.* 2009; 60(4): 157-62
28. Sotodeh, Vahid; Karakhanlou, Reza; Khaliqfard, Solmaz, Khaliqfard, Samaneh, Alizadeh, Alimohammed. The protective effect of 8 weeks of intermittent aerobic training on the expression of decorin, TGFB and tumor volume in an animal model of breast cancer, *biannual journal of research in sports medicine and Technology,* Year.2017; 7(14-15), 60-71. [Persian]
29. Baranchi M, Agha-alinejad H. The effects of high-intensity interval training on TGF- β and HSP72 gene expression in kidney tissue and selective renal serum biomarkers of type-II diabetic rats. *Daneshvar Medicine* 2021; 29(4):42-54. [Persian]
30. Jafari Sardoi, Sohail, Nikoyi, Rooh A..., Shibani, Vahid. "Effect of time series of resistance training on TGF- β 1 expression and muscle hypertrophy in male Wistar rats", *Applied Sports Physiology Research Journal,* 2014; 11(22), pp. 23-32. [Persian]

31. Mohammadnezhad G, Matin Homae H, Ghazalian F Effect of 6 Weeks of Aerobic Training on TGF-B1, Myostatin and Matrix Metalloproteinase 9 Genes Expression in the Tendon of Fast- and Slow-Twitch Muscles of Male Wistar Rats. *J Arak Uni Med Sci.*2020; 23 (3):278-291. [Persian]
32. Goodarzi F, Nikbakht H, AbednatanziH, Ebrahim Kh, Ghazaliyan F. Aerobic and resistance training on some oxidative parameters and TGF- β in cardiac tissue of elderly rats. *Razi J Med Sci.* 2020;27(3):93-100. [Persian]
33. Qolambar, Fatemeh, Abed Natanzi, Hossein, Gholami, Mandana, Ghazalian, Farshad. Comparison of the effect of an aerobic and resistance training course on some metalloproteins affecting cardiac fibrosis in elderly rats. *Plasma and Biomarkers Scientific Quarterly*, 2022; 15(4): 49-64.
34. Mohammadnezhad G, Matin Homae H, Ghazalian F Effect of 6 Weeks of Aerobic Training on TGF-B1, Myostatin and Matrix Metalloproteinase 9 Genes Expression in the Tendon of Fast- and Slow-Twitch Muscles of Male Wistar Rats. *J Arak Uni Med Sci.*2020; 23 (3):278-291. [Persian]
35. Kenney WL, Wilmore jH, Costill. *physiology of sport and exercise human kinetic 5th*;2012; 150-151
36. Yamda H, IwakiY, Kitaoka R, Fujitani M, Shibakusa T, Fujikawa T. Blood Lactate Functions as a Signal for Enhancing Fatty Acid Metabolism during Exercise via TGF- β in theBrain. *J Nutr Sci Vitaminol* 2012; 58: 88-95
37. Koitabashi N, Danner T, Zaiman AL, Pinto YM, Rowell J, Mankowski J, Zhang D,. Pivotal role of cardiomyocyte TGF- β signaling in the murine pathological response to sustained pressure overload. *J Clin Invest.* 2011 Jun;121(6):2301-12.
38. Abedi R, Naghibi S, Gholipour Barzegar M. Effect of three methods of training, moderate-intensity aerobic exercise training, high intensity training and highintensity interval training, on PLGF and HGF gene expression in adipose tissue in rat. *Daneshvar Medicine.* 2021;29(4):55-65. [In Persian]
39. Li S, Liang M, Gao D, Su Q, Laher I. Changes in titin and collagen modulate effects of aerobic and resistance exercise on diabetic cardiac function. *J Cardiovasc Transl Res.* 2019;12(5):404-14
40. Kishlyansky M, Vojnovic J, Roudier E, Gineste C, Decary S, Forn P, Bergeron R, Desplanches D, Birot O. Striated muscle angio-adaptation requires changes in vasohibin-1 expression pattern. *Biochem Biophys Res Commun.*2010; 399: 359–364.
41. Suzuki Y, Ito O, Kohzuki M, et al. Persistent physical exercise raises the plasma concentration of vasohibin-1 in patients with peripheral vascular disease. *Gen Int Med Clin Innov.*2016; 1:128-131
42. Takeda E, Suzuki Y, Sato Y Age-associated downregulation of vasohibin-1 in vascular endothelial cells. *Aging Cell.*2016; 15: 885-892.
43. Saito M, Suzuki Y, Yano S, Miyazaki T, Sato Y. Proteolytic inactivation of antiangio genic vasohibin-1 by cancer cells. *J Biochem.*2016; 160: 227-232.
44. Kietadisorn R, Juni RP, Moens AL Tackling endothelial dysfunction by modulating NOS uncoupling: new insights into its pathogenesis and therapeutic possibilities. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*2012; 302: 481-495

Original Article

The Effect of Three Types of Exercise Training on The Expression of 1β -TGF and WASH-1 Genes in The Left Ventricle Of Male Wistar Rats

Received: 22/07/2022 - Accepted: 23/10/2023

Amir Delshad^{1*}
Fereshte Ahadi²
Mohammad Reza Asad³

¹ Assistant Professor, Department of Sports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, University of Qom, Iran

² Masters in Sports Physiology, Payam Noor Karaj University, Karaj, Iran

³ Associate Professor, Sports Science Department, Payam Noor University, Karaj, Iran

Email: Ah_delshad@gmail.com

Abstract

Introduction

Regular sports activity is an effective non-pharmacological method in the prevention of diseases, and determining the type of activity, its intensity and duration as a suitable model helps to prevent cardiovascular diseases. The purpose of this research was to investigate the effect of three training methods on TGF β 1 and VASH-1 gene expression in the left ventricular tissue of Wistar rats.

Material and Method

The research method was an experimental type with a post-test design with a control group. 40 8-week-old Wistar rats with an average weight of 237±33 grams were kept in a controlled environment and randomly divided into 5 groups of 8 each, the control group (CO), the control group for 8 weeks. (CO8), moderate-intensity aerobic exercise (MIT), high-intensity aerobic exercise (HIT), and high-intensity interval aerobic exercise (HIIT). Training programs were carried out for 8 weeks and 3 sessions per week with specific intensity. Aerobic exercises with moderate intensity included 47 minutes of running with an intensity of 65% VO₂MAX on a treadmill. High-intensity training included running at a speed of 2 meters per minute with an increasing slope on the treadmill and high-intensity intermittent aerobic training including 4 intense intermittent bouts with an intensity of 90-100% VO₂MAX and four low-intensity intermittent bouts of 50-60% VO₂MAX. The basic control group underwent surgery and tissue removal in the first week, the other groups were dissected and heart tissue was removed after the last training session. Outgroup changes were analyzed by one-way analysis of variance and James Hoel's post hoc test at a significance level of $P \geq 0.05$.

Results

The results show that 8 weeks of moderate intensity (MIT), high intensity (HIT) and high intensity interval (HIIT) training significantly increased the expression of TGF- β 1 in the left ventricular tissue of Wistar rats ($P=0.001$), but No significant difference was observed between the two control groups and the 8-week control group ($P=1.000$). Also, these exercises led to a significant decrease in VASH-1 gene expression in the research groups ($P=0.0001$, which is the most significant change It is related to HIT exercise

Conclusion

From the findings of this research, it can be concluded that regular exercises have the potential to affect cardiac hypertrophy by increasing TGF- β 1 and decreasing VASH-1 in male Wistar rats, and this effect is more under HIT exercises.

Key words: low-intensity training, HIT, HIIT, heart, TGF- β 1, VASH-1, male Wistar rats

Acknowledgement: There is no conflict of interest