

تأثیر ۱۲ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید و استقامتی با شدت متوسط بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی AMPK و ERR α در رت‌های سالمند ماده

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۰۵- تاریخ پذیرش: ۴۰۰/۰۱/۲۵

خلاصه

مقدمه: فعالیت ورزشی باعث افزایش پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و کارایی میتوکندری در نمونه‌های انسانی و حیوانی می‌شود. هدف پژوهش حاضر مقایسه ۱۲ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) و تداومی (CT) بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی AMPK و ERR α در عضله دوقلو رت‌های سالمند ماده بود.

روش کار: در این مطالعه تعداد ۳۶ رت نژاد ویستار سالمند ۱۸ ماهه (۳۵۰-۲۵۰ گرم) تصادفی به سه گروه HIIT، تمرین تداومی با شدت متوسط با CT و گروه کنترل تقسیم شدند. تمرین ورزشی در گروه HIIT در هفته اول ۱۶ دقیقه (۲ دقیقه با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO $_{2max}$ و ۲ دقیقه بازیافت) با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد (VO $_{2max}$ آغاز شد و در هفته دوازدهم به ۲۸ دقیقه رسید. برنامه تمرینی در گروه CT با ۳۰ دقیقه (با شدت ۶۵ تا ۷۰ درصد VO $_{2max}$ آغاز و در هفته دوازدهم به ۶۰ دقیقه رسید. مقادیر بیان پروتئین‌های AMPK و ERR α عضله دوقلو به روش وسترن بلات سنجیده شد. از روش آماری تحلیل واریانس-یک راه برای تجزیه تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج: بیان پروتئین AMPK در دو گروه HIIT ($p < 0.001$) و CT ($p > 0.01$) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت. همچنین، مقادیر پروتئین AMPK در گروه HIIT در مقایسه با گروه CT افزایش معناداری داشت ($p < 0.01$). ($p > 0.01$) بیان پروتئین ERR α در گروه HIIT ($p > 0.01$) و ($p > 0.05$) در CT در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت.

نتیجه‌گیری: HIIT در مقایسه با CT به افزایش بیشتر بیان پروتئین‌های AMPK و ERR α در عضله دوقلوی رت‌های سالمند شده است.

واژه‌های کلیدی: بایونز میتوکندریایی، سالمندی، تمرین تناوبی خیلی شدید، تمرین استقامتی

علی بختیاری^۱

پریسا پورنعمتی^{۲*}

^۱ دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
^۲ استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

Email: pournemati@ut.ac.ir

مقدمه

در قرن حاضر، بهتر شدن شرایط زندگی، ارتقای سلامت جامعه و افزایش امید به زندگی و کاهش آهنگ تولد باعث شده است جمعیت سالمندان تا حد زیادی افزایش یابد. سالمندی^۱ یکی از پدیده‌های مطرح در عرصه بهداشت و سلامت جهانی به‌شمار می‌رود. سالمندی^۲ فرایندی جهانی، ذاتی، پیش‌رونده و آسیب‌رسان است که با انباشت تدریجی آسیب‌های مختلف و کاهش کارایی عملکردی و هموستاز سلول‌ها و بافت‌ها، در گذر زمان همراه است (۱،۲). بسیاری براین باورند که کاهش ظرفیت بایوژنزمیتوکندریایی در دوران سالمندی یک عامل کلیدی در پیشرفت بیماری‌های وابسته به سالمندی است (۳).

پروتئین کیناز فعال شده AMP یا AMPK آنزیمی است که در هموستاز انرژی سلول نقش دارد و نشان داده شده است که در بایوژنزمیتوکندری نقش مهمی ایفا می‌کند. یکی از پروتئین‌های پایین دستی آن، PGC-1 α یا پروتئین فعال‌کننده گیرنده تکثیر گامای پراکسیزوم یک الفا پروتئین نسخه برداری با چندین عملکرد است که به عنوان یک مولکول سوئیچ عمل می‌کند، می‌باشد. گزارش‌ها نشان می‌دهند که پروتئین PGC-1 α از راه داستیلاسیون مستقیم بر فعالیت پروتئین NRF1/2 تاثیر می‌گذارد (۴).

خانواده PGC با فعال کردن عوامل رونویسی مثل عوامل تنفسی هسته‌ای ۱ و ۲ (NRF-1/2) و گیرنده آلفای وابسته به استروژن (ERR- α) بایوژنزمیتوکندریایی را تنظیم می‌کند. فعال شدن این عوامل رونویسی باعث افزایش بیان بسیاری از پروتئین‌های میتوکندریایی همانند Tfam و ERR α عوامل رونویسی میتوکندری B1 و B2 (TFB1/2M) می‌شود. NRF1/2 برای تکثیر، رونویسی و نگهداری mtDNA ضروری است (۵،۶). مقادیر پروتئین

AMPK در رت‌های سالمند در مقایسه با رت‌های جوان کاهش می‌یابد (۷).

سحین^۳ و همکارانش (۲۰۱۱) گزارش کرده اند که اختلال در عملکرد میتوکندری رت‌های مبتلا به اختلال تلومر با مقادیر سرکوب AMPK و PGC-1 α همراه بوده است (۸). بین سالمندی در هسته و میتوکندری رابطه وجود دارد و از این فرضیه حمایت می‌کند که کاهش زیست-زایی میتوکندریایی و عملکرد آن، نقشی کلیدی در سالمندی دارد (۱). تمرین‌های ورزشی منظم می‌تواند به بهتر شدن بیماری‌های قلبی-تنفسی، دیابت، جلوگیری از کاهش توده عضلانی، افزایش ظرفیت اکسایشی میتوکندریایی کمک کند (۹).

یکی از عوامل مهم و موثر در افزایش بایوژنزمیتوکندریایی شدت تمرینی است (۱۰). گزارش شده است که شدت تمرین ورزشی از راه افزایش ADP و AMP نسبت به ATP باعث فعال شدن و افزایش بیان ژن و پروتئین آدنوزین منوفسفات کیناز (AMPK) می‌شود. به علاوه، گزارش‌ها نشان می‌دهند نوع تمرین ورزشی، شدت و مدت فعالیت ورزشی بر بیان پروتئین‌های بایوژنزمیتوکندریایی تاثیر دارد (۱۰، ۱۱). فعالیت ورزشی استقامتی کوتاه مدت با شدت کم و زیاد-هر دو- باعث افزایش پروتئین PGC-1 α در عضله نعلی شده است (۱۲). مطالعه ای نشان داد که تمرینات استقامتی، ۳ جلسه در هفته باعث افزایش ۱/۸ و ۲/۸ برابری mRNA و پروتئین PGC-1 α عضله نعلی رت‌های سالمند در مقایسه با رت‌های سالمند غیرفعال و جوان غیر فعال شده است (۱۳). از طرفی تنها ۶ جلسه تمرین شدید (در دو هفته) ظرفیت اکسایشی و عملکرد استقامتی عضله را افزایش داده است و باعث بهتر شدن کنترل متابولیکی شده است (۱۴). همچنین گزارش شده

به صورت تصادفی به ۳ گروه تمرین تناوبی شدید (HIIT)، تمرین استقامتی (CT) و کنترل (CTR) تقسیم شدند. حیوانات در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی و میانگین درجه حرارت 23 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت ۴۵ درصد) با دسترسی آزاد به آب و غذا در حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران نگهداری شدند.

آزمون فعالیت ورزشی: رت‌ها به مدت ۵ روز با شرایط زندگی در آزمایشگاه و نحوه دویدن روی تردمیل آشنا شدند. حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها با استفاده از نوارگردان شیب‌دار (شش لاین، شرکت دانش سالار ایرانیان) ارزیابی شد و VO_{2max} آن‌ها با استفاده از پروتکل فزاینده مطالعات گذشته انجام شد. در این آزمون فعالیت ورزشی ابتدا رت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه گرم کردن را اجرا کردند. سپس وارد مرحله اجرای آزمون شدند و به ازای هر دو دقیقه سرعت نوارگردان به میزان $0.3/0$ متر در ثانیه افزایش می‌یافت تا جایی که رت‌ها قادر به ادامه آزمون نبودند (عدم توانایی دویدن روی نوارگردان و رفتن به فضای انتهایی نوارگردان). بعد از آن که آزمون ورزشی به انتها رسید سرعتی که رت در آن دوید (آخرین سرعت در مرحله واماندگی) ثبت شد و با استفاده از معادله $y = 162x - 1$ میزان VO_{2max} اندازه‌گیری شد (y، نمایانگر اکسیژن مصرفی میلی‌لیتر در دقیقه به ازای کیلوگرم وزن بدن، x، بیانگر سرعت دویدن متر در ثانیه) (۱۷).

پروتکل تمرینی: پروتکل HIIT شامل سه قسمت گرم کردن، بدنه اصلی مشکل از تکرارهای تناوبی و سرد کردن و پروتکل CT نیز مطابق جدول شماره ۱ بود. شیب

است که بیان پروتئین‌های بایوژنمیتوکندریایی به ویژه PGC1 α و MAPK, NRF1-2, Tfam SIRT1 در افراد جوان به دنبال HIIT در مقایسه با CT افزایش بیشتری به همراه داشته است (۱۵).

میکنس و گیبالا (۲۰۱۷)، در مطالعه‌ای مروری نشان دادند اگرچه نقش شدت تمرینی بسیار مهم است اما مدت تمرینی نیز به همان اندازه می‌تواند مهم باشد. به گونه‌ای که HIIT با دوره زمانی کوتاه در مقایسه با CT با مدت زمان بیشتر آثار یکسانی در بایوژنمیتوکندریایی دارند (۱۶).

با وجود این، مطالعه‌ای مقایسه همزمان HIIT و CT را در افراد سالمند بررسی نکرده‌اند، اگرچه CT نقش مهمی در سلامتی و بهتر شدن عوامل سوخت و سازی در سالمندان دارد. با این وجود، یکی از چالش‌های اصلی قرن اخیر، کوتاه بودن مدت زمانی است که به فعالیت ورزشی اختصاص داده می‌شود. در همین راستا، هنوز مشخص نیست آیا شدت زیاد و مدت کوتاه می‌تواند سازگاری‌های تمرینی شدت متوسط و طولانی مدت را به همراه داشته باشد یا خیر. این پژوهش بر آن است که به این سوال پاسخ دهد که آیا تمرین تناوبی شدید و تدامی با شدت متوسط آثار یکسانی بر مقادیر AMPK، ERR α عضله دوقلو در رت‌های سالمند دارد؟

روش کار

این مطالعه آزمایشی تجربی (توسعه‌ای) و با توجه به راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام و در کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران با کد (IR.UT.SPORT.REC.1397.021) تصویب شد. در این پژوهش، ۳۶ سر رت ماده نژاد ویستار موش‌های صحرائی ۱۸ ماهه (۳۵۰-۲۵۰ گرم، انستیتو پاستور ایران)

در همه هفته ها ۱۰ درجه ثابت بود. برای یکسان سازی شدت و بار تمرینی از فرمول‌های زیر استفاده شد. زمان کل تمرین \div {دقیقه \times شدت تناوب استرات فعال} + {دقیقه \times شدت تمرین تناوبی خیلی شدید} کل زمان تمرین \div {دقیقه \times شدت تمرین تداومی} **وسترن بلات:** ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت ها با استفاده از اتر، بی هوش و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش؛ عضله دوقلو سمت چپ آنها استخراج شد و بلافاصله در ازت مایع منجمد و برای انجام آزمایش های سلولی مولکولی در یخچال ۸۰- نگهداری شدند.

به منظور مطالعه بیان پروتئین‌های AMPK و ERR α از روش وسترن بلات استفاده شد. در ابتدا ۱۰۰ میلی گرم بافت عضله دوقلو با ۲۰۰ میکرولیتر Rippa lysis buffer ترکیب و هموژن و سپس، نمونه ۲۰ دقیقه با ۱۳۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. سوپرناتانت (Supernatant) بدست آمده به یک میکروتیوپ ۱ cc دیگر منتقل و ۰/۵ ml آن برای تعیین غلظت پروتئین با استفاده از نانودراپ در یک میکروتیوپ دیگر ریخته و نیز غلظت پروتئین در همه نمونه ها با یک نسبت مشخص رقیق سازی شد. ژل‌های آگارز مورد نیاز وسترن بلات (stacking gel و separating gel) با مواد مورد نیاز تهیه شدند. سپس، چاهک‌هایی برای ریختن نمونه ایجاد شد. نمونه‌ها در درون چاهک‌ها ریخته و در

درون بافر الکتروفورز ۱X قرار داده شد. پس از اتمام این مرحله، پروتئین از ژل به کاغذ PVDF منتقل شد. در ادامه آنتی بادی اولیه AMPK (Ab191838, Cambridge Science Park, UK) و ERR α (Ab131607, Cambridge Science Park, UK) به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ رقیق و استفاده شد. پس از اتمام ۲۴ ساعت شیک شدن کاغذ PVDF، آنتی بادی ثانویه رقیق شده به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ مورد استفاده قرار گرفت. همچنین از GAPDH به عنوان پروتئین کنترل استفاده شد و در انتها در اتاق تاریک سوبسترای رنگی (ECL) به کاغذ PVDF اضافه گردید. پس از چند ثانیه، فیلم‌های ظهور بر روی کاغذ قرار داده گرفت. بلافاصله فیلم ظهور به محلول‌های ثبوت و ظهور منتقل شدند. پس از اینکه باندهای پروتئینی مورد نظر روی نوارهای فیلمی ظهور کردند، از فیلم‌ها عکس تهیه شد و با استفاده از نرم افزار Image J اندازه هر باند محاسبه گردید (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل آماری: با آزمون شاپیروویلیک طبیعی بودن داده‌ها مشخص گردید. اختلاف معناداری مقادیر ERR α و AMPK سه گروه از روش آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون‌های تعقیبی توکی، سطح معناداری نیز کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

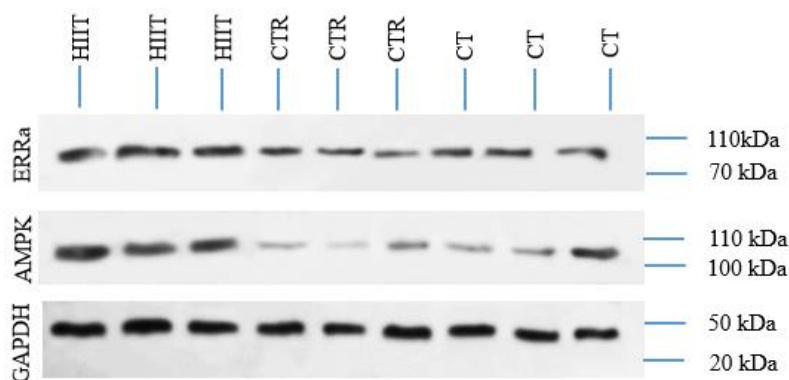
جدول ۱- برنامه تمرین تناوبی خیلی شدید

سرد کردن	استراحت فعال	تمرین شدید	گرم کردن	هفته‌های تمرینی
۳ دقیقه با شدت	۴ تکرار ۲ دقیقه‌ای - ۴۵	۴ تکرار ۲ دقیقه‌ای - تمرینی	۳ دقیقه -	دو هفته اول
۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	۵۰ VO ₂ max درصد	۸۵-۹۰ VO ₂ max درصد	۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	

۳ دقیقه با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	۵ تکرار ۲ دقیقه‌ای -۴۵- ۵۰ درصد VO ₂ max	۵ تکرار ۲ دقیقه‌ای - تمرینی ۸۵-۹۰ درصد VO ₂ max	۳ دقیقه - ۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	هفته سوم، چهارم و پنجم
۳ دقیقه با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	۶ تکرار ۲ دقیقه‌ای -۴۵- ۵۰ درصد VO ₂ max	۶ تکرار ۲ دقیقه‌ای - تمرینی ۸۵-۹۰ درصد VO ₂ max	۳ دقیقه - ۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	هفته ششم، هفتم و هشتم
۳ دقیقه با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	۷ تکرار ۲ دقیقه‌ای -۴۵- ۵۰ درصد VO ₂ max	۷ تکرار ۲ دقیقه‌ای - تمرینی ۸۵-۹۰ درصد VO ₂ max	۳ دقیقه - ۴۵ تا ۵۰ درصد VO ₂ max	هفته نهم-دهم یازدهم-دوازدهم

جدول ۲- برنامه تمرینی تداومی با شدت متوسط

سرد کردن	بدنه تمرینی	گرم کردن	هفته‌های تمرینی
۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	۶۵-۷۰ % VO ₂ max به مدت ۳۰ دقیقه	۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	دو هفته اول
۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	۶۵-۷۰ % VO ₂ max به مدت ۴۵ دقیقه	۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	هفته سوم، چهارم و پنجم
۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	۶۵-۷۰ % VO ₂ max به مدت ۵۰ دقیقه	۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	هفته ششم و هفتم
۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	۶۵-۷۰ % VO ₂ max به مدت ۶۰ دقیقه	۳ دقیقه -۴۵ تا ۵۰ % VO ₂ max	هفته هشتم، نهم، دهم، یازدهم، دوازدهم



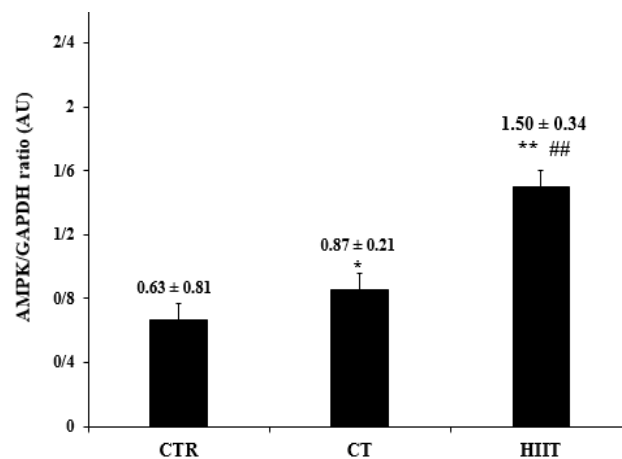
شکل ۱- باند وسترن بلات عضله دوقلو

نتایج

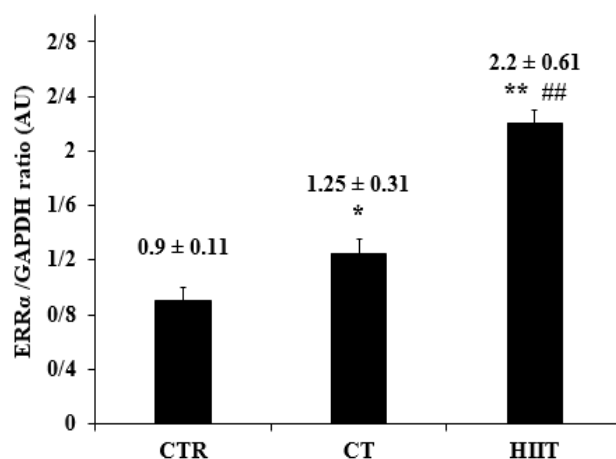
در انتهای پژوهش وزن حیوانات در همه گروه‌ها در مقایسه با آغاز مطالعه افزایش معناداری یافته بود ($p < 0.05$). این افزایش در گروه تناوبی در مقایسه با سایر گروه‌ها اختلاف معناداری داشت ($p < 0.05$). نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد مقادیر پروتئین AMPK در بافت عضله دوقلو رت‌های سالمند افزایش معنادار داشت ($P = 0.02$). برای تعیین این که کدام گروه ورزشی افزایش یافته است از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. آزمون تعقیبی توکی نشان داد.

۱۲ هفته CT در مقایسه با گروه CTR باعث افزایش معنادار ERR α شده است ($P = 0.028$). از طرف دیگر، مشخص شد مقادیر پروتئین ERR α در گروه HIIT در مقایسه با گروه CTR ($P = 0.006$) و CT ($P = 0.014$) افزایش معناداری داشت (شکل ۳).

در انتهای پژوهش وزن حیوانات در همه گروه‌ها در مقایسه با آغاز مطالعه افزایش معناداری یافته بود ($p < 0.05$). این افزایش در گروه تناوبی در مقایسه با سایر گروه‌ها اختلاف معناداری داشت ($p < 0.05$). نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد مقادیر پروتئین AMPK در بافت عضله دوقلو رت‌های سالمند افزایش یافت ($P = 0.011$). برای تعیین این که کدام روش تمرینی تاثیر گذاری داشته است از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. آزمون تعقیبی توکی نشان داد ۱۲ هفته CT در مقایسه با گروه CTR باعث افزایش معنادار AMPK شده است ($P = 0.021$). از طرف دیگر، مشخص شد مقادیر پروتئین AMPK گروه HIIT در مقایسه با گروه CTR



شکل ۲- مقادیر بیان نسبت پروتئین AMPK/GAPDH * $P < 0.05$ در مقایسه با گروه CTR، ** $P < 0.001$ در مقایسه با گروه CTR، ## $P < 0.01$ در مقایسه با گروه CT



شکل ۳- مقادیر بیان نسبت پروتئین ERRα/GAPDH. * p < 0.05 در مقایسه با گروه CTR، ** p < 0.01 در مقایسه با گروه CTR، # p < 0.05 در مقایسه با گروه CT

بحث

تمرینی در افزایش بیان پروتئین‌های میتوکندری تاثیر زیادی دارد (۱۵). در همین راستا گراناتا و همکارانش (۲۰۱۵) نشان دادند تمرین سرعتی تناوبی (Sprint interval training) در مقایسه با تمرین HIIT تاثیر زیادتری در زنجیره تنفس میتوکندریایی داشته است. به نظر می‌رسد SIT با حجم پائین می‌تواند باعث افزایش آستانه لاکتات شود. آستانه لاکتات یکی از متغیرهای محکم و قوی مرتبط با محتوای میتوکندری عضله اسکلتی باشد (۱۸).

بیان پروتئین‌های میتوکندریایی به دنبال HIIT در مقایسه با تمرین‌های با شدت کم افزایش زیادتری داشته است (۱۹). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد HIIT در مقایسه با CT باعث بیان بیشتر پروتئین‌های میتوکندریایی AMPK و ERRα عضله دوقلو رت‌های سالمند شد. شری و همکارانش (۱۳۹۶) نشان داده‌اند ۳ هفته تمرین ۴ وهله‌ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد VO_{2max} باعث افزایش بیان ژن و سرمی PGC-1α و Tfam و AMPK عضله بازکننده طویل انگشتان و عضله نعلی رت‌های ویتار سالمند شده است (۲۰). شدت تمرین یکی از عوامل موثر در بهتر شدن وضعیت

در این پژوهش، تاثیر HIIT و CT بر بیان پروتئین ERRα و AMPK عضله دوقلو رت‌های سالمند مقایسه شد. یافته مهم پژوهش حاضر نشان داد، HIIT در مقایسه با CT باعث افزایش بیشتر مقادیر پروتئین‌های ERRα و AMPK عضله دوقلو رت‌های سالمند شده است. فعالیت بدنی ظرفیت اکسایشی و عملکرد عضلات را افزایش می‌دهد. این سازگاری، در بخشی ریشه در افزایش ناشی از تمرین در پروتئین‌های درگیر در انتقال و اکسایش سوبستراهای سوخت و سازی و افزایش محتوای میتوکندریایی دارد. پژوهش حاضر نشان داد هر دو مدل HIIT و CT باعث افزایش مقادیر پروتئین‌های درگیر در بایوژنز میتوکندری شده است. بنابراین، این احتمال وجود دارد تمرین ورزشی بتواند باعث بهتر شدن متابولیسم سلولی شود. به نظر می‌رسد عوامل زیادی در افزایش پروتئین‌های درگیر در بایوژن میتوکندری موثر باشند. شدت تمرینی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای موثر در افزایش پروتئین‌های AMPK و ERRα عضلانی باشد. میکس و همکاران (۲۰۱۶)، ۶ جلسه تمرین ورزشی HIIT و CT را اجرا کردند. نتایج آن‌ها نشان داد شدت

حاضر در گروه تمرین استقامتی نیز افزایش پروتئین‌های میتوکندریایی رخ داد. در این راستا، کانگ^۸ و همکارانش (۲۰۱۳) نشان داده‌اند ۱۲ هفته تمرین هوازی (پنج روز در هفته، ۴۵ دقیقه، شیب ۱۰ درصد و ۱۷/۵ متر در دقیقه) باعث افزایش ۲/۳ برابر مقدار پروتئین AMPK، PGC-1 α در عضلات نعلی رت‌های سالمند نر در مقایسه با گروه کنترل شده است (۲۶).

از دلایل دیگر ناهمسو بودن نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش‌های قبلی وضعیت آزمودنی و نوع تار عضلانی است. در پژوهش حاضر از عضله دوقلو استفاده شده است که ترکیبی از تارهای تند انقباض و کند انقباض دارد. پاسخ تارهای تند انقباض در مقایسه با تارهای کند انقباض به افزایش محتوای پروتئین فرق می‌کند. هرچند ممکن است به دنبال تمرین ورزشی مقادیر AMPK در تارهای کند انقباض افزایش یابد ولی به اندازه افزایش تارهای تند انقباض نبوده است. یکی از دلایل افزایش AMPK ریشه در افزایش نسبت AMP/ADP/ATP دارد که باعث فعال شدن آن می‌شود (۲۷). با این حال، معلوم شده است HIIT در مدل‌های جوان باعث افزایش زیادتر AMPK شده است (۲۸). یکی دیگر از مکانیسم‌های موثر در تاثیر گذاری بهتر تمرین HIIT در مقایسه با CT ریشه در افزایش بیشتر ظرفیت قلبی تنفسی است. مدل‌های تمرینی HIIT با حجم بالا در مقایسه با HIIT کم حجم با افزایش بیشتر ظرفیت قلبی تنفسی همراه است (۲۷). به نظر می‌رسد افزایش ظرفیت قلبی تنفسی به افزایش حجم ضربه‌ای و برون ده قلبی وابسته است. افزایش بیشتر حجم ضربه‌ای و برون ده قلبی به دلیل وجود تناوب‌های برنامه تمرین HIIT با چالش بزرگتر قلبی همراه است. به گونه‌ای که باعث تغییرات بیشتر در حجم ضربه‌ای و در نهایت بزرگتری را به همراه دارد (۲۹). افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی به معنای افزایش بیشتر ظرفیت اکسایشی و در نهایت محتوای بیشتر میتوکندری است. بنابراین، به نظر می‌رسد یکی از مهمترین علل افزایش بیشتر بیان پروتئین‌های AMPK و ERR α ریشه در افزایش بیشتر VO_{2max} ناشی از تمرین HIIT است.

بایوژنمیتوکندریایی سالمندان است. تمرین شدید از جمله HIIT باعث افزایش بیشتر نسبت AMP/ADP/ATP می‌شود و به دنبال آن با افزایش بیشتر AMPK همراه است. به نظر می‌رسد این عامل بتواند باعث افزایش بیشتر ERR α (به عنوان یک عامل بالا دستی) شود (۲۱).

یکی دیگر از مکانیسم‌های موثر در بایوژنمیتوکندری به مدت تمرین و فرکانس تمرین اشاره دارد. مشخص شده است که افزایش حجم تمرین از راه افزایش مدت زمان و فرکانس تمرین ورزشی باعث سازگاری‌های میتوکندریایی ناشی از تمرین هوازی می‌شود (۲۲). به نظر می‌رسد تاثیر گذاری حجم تمرین به شدت تمرین تاثیر دارد. در این راستا گرین^۶ و همکاران (۲۰۱۳) تنشی متابولیکی هنگام تمرین ورزشی در حالت پایدار به دنبال ۱۰ روز تمرین دوچرخه سواری ۳۰ یا ۶۰ دقیقه در شدت کم، متوسط و زیاد (۶۰، ۷۰ و ۸۶ درصد VO_{2max}) را بررسی کرد. به دنبال تمرین ورزشی با شدت بالاتر مقادیر تجمعی AMP و ADP و تخلیه فسفو کراتین و گلیکوژن در تمرین ۶۰ دقیقه کمتر از ۳۰ دقیقه بود. این نتایج نشان می‌دهد محتوای بیشتر میتوکندری یکی از عواملی است که باعث کاهش کمتر فسفو کراتین و گلیکوژن شده است (۲۳). بنابراین، اثر دوره تمرینی در شدت بالاتر تقویت می‌شود. فرکانس تمرینی نیز یکی از عوامل موثر در افزایش بایوژن میتوکندری است. در پژوهشی نشان داده شد که فعالیت سیرتات سنتاز در افراد تمرین کرده ۲ جلسه در روز در مقابل یک جلسه در روز با شدت بالا بیشتر بوده است (۲۴). در پژوهشی دیگر هاتل^۷ و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند هنگامی که آزمودنی‌ها در دو فرکانس بالا (۷-۸ جلسه در هفته) و متوسط (۲-۳ جلسه در هفته) تمرین کردند، فعالیت سیرتات سنتاز یکسان بوده است (۲۵). اخیراً در طی یک مطالعه‌ای نشان داده شد که افزایش حجم تمرین HIIT (با افزایش فرکانس و مدت زمان تمرین) محتوای میتوکندریایی عضلات افزایش می‌یابد. این مساله از این مطلب حمایت می‌کند که افزایش حجم تمرین می‌تواند باعث افزایش محتوای میتوکندری شود (۲۲). در پژوهش

8- Kang

6- Green

7- Hatle

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد عوامل دیگری در افزایش بیان AMPK درگیرند. به تازگی معلوم شده است شاخص‌هایی مانند SIRT1 و p53 به عنوان عوامل بالا دستی می‌توانند بر فعالیت و بیان AMPK تاثیر گذارند. PGC-1 α ، نقطه اتصالی در ناحیه پیش برنده ژنی دارد که تمایل به پیوند به p53 را دارد (۳۰). معلوم شده است فعالیت عضلانی کوتاه مدت از راه افزایش AMPK و p38MAPK باعث افزایش فسفوریلاسیون p53 می‌شود. با وجود این، معلوم شده است شدت فعالیت ورزشی عامل مهمی در افزایش بیان p53 در جهت افزایش بیان PGC-1 α است. به گونه‌ای که تنها تمرین تناوبی سرعتی باعث افزایش p53 شده است (۳۱، ۳۰). به نظر می‌رسد شدت زیاد گروه HIIT عامل مهمی در افزایش بیان p53 باشد که البته در این پژوهش سنجیده نشده است تا از این راه مقادیر بیان بیشتر PGC-1 α در مقایسه با CT را توجیه کند. به نظر می‌رسد HIIT از راه افزایش زیادتر مقادیر PGC-1 α و ERR α به بهتر شدن

mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 2012 Apr 1;112(7):1135-43.

8. Sahin E, Colla S, Liesa M, Moslehi J, Müller FL, Guo M, Cooper M, Kotton D, Fabian AJ, Walkey C, Maser RS. Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature*. 2011 Feb;470(7334):359-65.

9. Bori Z, Zhao Z, Koltai E, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Douroudos II, Terzis G, Chatziniolaou A, Sovatzidis A, Draganidis D, Boldogh I. The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle. *Experimental gerontology*. 2012 Jun 1;47(6):417-24.

10. Ramis MR, Esteban S, Miralles A, Tan DX, Reiter RJ. Caloric restriction, resveratrol and melatonin: Role of SIRT1 and implications for aging and related-diseases. *Mechanisms of ageing and development*. 2015 Mar 1;146:28-41.

11. Bai P, Cantó C, Oudart H, Brunyánszki A, Cen Y, Thomas C, Yamamoto H, Huber A, Kiss B, Houtkooper RH, Schoonjans K. PARP-1 inhibition increases mitochondrial metabolism through SIRT1 activation. *Cell metabolism*. 2011 Apr 6;13(4):461-8.

12. Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α protein expressions in rat skeletal muscle. *Metabolism*. 2008 Jul 1;57(7):986-98.

عملکرد میتوکندری‌ها منجر می‌شود. احتمالاً یکی از دلایل افزایش زیادتر پروتئین‌های میتوکندریایی در عضله دو قلو ریشه در ماهیت تمرینی HIIT (وهله‌های کوتاه مدت و شدید) دارد. بنابراین، با توجه به ویژگی‌های خاص و سازوکار تاثیر متفاوت HIIT بر بهتر شدن و تنظیم پروتئین‌های درگیر در بایوژن میتوکندریایی و نیز کم بودن زمان اجرای این نوع تمرین در مقایسه با پروتکل‌های تمرین تداومی، شاید بتوان اجرای این نوع تمرین را به عنوان یک مدل تمرینی در افراد سالمند پیشنهاد داد.

تشکر و قدردانی

از همه کسانی که به ما در انجام این پژوهش یاری رساندند؛ صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

References

- Kim Y, Triolo M, Hood DA. Impact of aging and exercise on mitochondrial quality control in skeletal muscle. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017 Oct;2017.
- Seo DY, Lee SR, Kim N, Ko KS, Rhee BD, Han J. Age-related changes in skeletal muscle mitochondria: the role of exercise. *Integrative medicine research*. 2016 Sep 1;5(3):182-6.
- Ramis MR, Esteban S, Miralles A, Tan DX, Reiter RJ. Caloric restriction, resveratrol and melatonin: Role of SIRT1 and implications for aging and related-diseases. *Mechanisms of ageing and development*. 2015 Mar 1;146:28-41.
- Jung S, Kim K. Exercise-induced PGC-1 α transcriptional factors in skeletal muscle. *Integrative medicine research*. 2014 Dec 1;3(4):155-60.
- Lanza IR, Short DK, Short KR, Raghavakaimal S, Basu R, Joyner MJ, McConnell JP, Nair KS. Endurance exercise as a countermeasure for aging. *Diabetes*. 2008 Nov 1;57(11):2933-42.
- Taanman JW. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1999 Feb 9;1410(2):103-23.
- Bartlett JD, Hwa Joo C, Jeong TS, Louhelainen J, Cochran AJ, Gibala MJ, Gregson W, Close GL, Drust B, Morton JP. Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1 α

13. Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 α . *Experimental gerontology*. 2013 Nov 1;48(11):1343-50.
14. Conley KE, Jubrias SA, Esselman PC. Oxidative capacity and ageing in human muscle. *The Journal of physiology*. 2000 Jul;526(1):203-10.
15. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak Z. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. *Sports Medicine and Health Science*. 2019 Dec 1;1(1):24-32.
16. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of physiology*. 2017 May 1;595(9):2915-30.
17. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2007 Dec 1;14(6):753-60.
18. 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. *The FASEB journal*. 2016 Oct;30(10):3413-23.
19. Khalafi M, Mohebbi H, Karimi P, Faridnia M, Tabari E. The Effect of High Intensity Interval training and Moderate Intensity Continuous Training on Mitochondrial Content and PGC-1 α of Subcutaneous Adipose Tissue in Male Rats with High Fat Diet Induced Obesity. *Journal of Sport Biosciences*. 2018 Nov 22;10(3):297-315.
20. Sharafi Dehrhm F, Soori R, Rastegar MM M, Sadegh A. The effect of high intensity interval training on muscular biomarkers of mitochondrial biogenesis in male rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2017 Jun 10;19(6):57-63.
21. Xia H, Dufour CR, Giguère V. ERR α as a bridge between transcription and function: role in liver metabolism and disease. *Frontiers in endocrinology*. 2019 Apr 5;10:206.
22. 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. *The FASEB journal*. 2016 Oct;30(10):3413-23.
23. Green HJ, Burnett M, Carter S, Jacobs I, Ranney D, Smith I, Tupling S. Role of exercise duration on metabolic adaptations in working muscle to short-term moderate-to-heavy aerobic-based cycle training. *European journal of applied physiology*. 2013 Aug;113(8):1965-78.
24. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011 Jun 1.
25. Hatle H, Støbakk PK, Mølmen HE, Brønstad E, Tjønnå AE, Steinshamn S, Skogvoll E, Wisløff U, Ingul CB, Rognmo Ø. Effect of 24 sessions of high-intensity aerobic interval training carried out at either high or moderate frequency, a randomized trial. *PloS one*. 2014 Feb 7;9(2):e88375.
26. Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 α . *Experimental gerontology*. 2013 Nov 1;48(11):1343-50.
27. Sharafi Dehrhm F, Soori R, Rastegar MM M, Sadegh A. The effect of high intensity interval training on muscular biomarkers of mitochondrial biogenesis in male rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2017 Jun 10;19(6):57-63.
28. Jäger S, Handschin C, Pierre JS, Spiegelman BM. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α . *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007 Jul 17;104(29):12017-22.
29. Bruseghini P, Calabria E, Tam E, Milanese C, Oliboni E, Pezzato A, Pogliaghi S, Salvagno GL, Schena F, Mucelli RP, Capelli C. Effects of eight weeks of aerobic interval training and of isoinertial resistance training on risk factors of cardiometabolic diseases and exercise capacity in healthy elderly subjects. *Oncotarget*. 2015 Jul 10;6(19):16998.
30. Bartlett JD, Hwa Joo C, Jeong TS, Louhelainen J, Cochran AJ, Gibala MJ, Gregson W, Close GL, Drust B, Morton JP. Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1 α mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 2012 Apr 1;112(7):1135-43.
- Saleem A, Adhietty PJ, Hood DA. Role of p53 in mitochondrial biogenesis and apoptosis in skeletal muscle. *Physiological genomics*. 2009 Mar;37(1):58-66.

Original Article

The effect of ginseng supplement consumption on the response of some immune system function indices to exhaustive aerobic exercise in active young males

Received: 25/12/2020 - Accepted: 14/04/2021

Ali Bakhtiyari¹
Parisa Pournemati^{2*}

¹ PhD, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Iran.

Email: pournemati@ut.ac.ir

Abstract

Introduction: Exercise activities increase the proteins, enzymes and mitochondrial functions in humans and animal samples. The purpose of this study was comparison of 12-weeks high-intensity interval training (HIIT) and continuous training (CT) on mitochondrial proteins of AMPK and ERR α in gastrocnemius muscle in elderly rats.

Methods: In this study 36 elderly Wistar rats 18 months (250-350g) were randomly divided into three groups: HIIT, CT, and control group. Exercise in the HIIT group was started in the first week of 16 minutes (2 minutes at 85-90% VO₂max and 2 minutes' recovery period at 45-50% VO₂max), which reached 28 minutes in the 12th week. The training program in the CT group was 30 minutes (at 65-70% VO₂max) and was reached to 60 minutes in the 12th week. The expression levels of AMPK and ERR α proteins in gastrocnemius muscles were assessed by Western blot method. One-way ANOVA was used to analyze the data.

Results: The protein expression of AMPK was significantly increased in the HIIT (P<0.001) and CT (P<0.01) group compared to control group. Also, the proteins of AMPK were significantly increased in the HIIT group compared to CT group (P<0.05). The expression of Tfam was significantly increased in the HIIT group (P<0.01) and CT group (P<0.05) compared to the control group.

Conclusion: HIIT compared to CT has a greater increase in expression of AMPK and ERR α proteins in the gastrocnemius muscle of elderly rats.

Keywords: Mitochondria biogenesis, Aging, High-intensity interval training, continuous training