مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هجدهم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، صفحات ۱۸-۱۱

اثر تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل زالزالک بر پروتئین‌های بیوژنز میتوکندریایی بافت عضلانی موش‌های صحرایی نر سالمند

فاطمه ساعدی[۱]، محمود نیک‌سرشت[۲]، عبدالحسین طاهری کلانی[۳]

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران. پست الکترونیک: nikserasht@gmail.com

۳- استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: نشان داده شده است که اختلال در عملکرد و بیوژنـز میتوکندریایی عضله ناشی از سالمندی می‌تواند زمینه‌ساز بروز بیماری‌های مختلف گردد. هدف این مطالعه تعیین اثر ۸ هفته تمرین تناوبی شـدید (HIIT) و مصرف مکمل زالزالـک بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی PGC-1α و TFAM عضله دراز انگشتان پا (EDL) در موش‌های صحرایی سالمند بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی نر سالمند به‌طور تصادفی در چهار گروه (هر گروه ۹ سر) کنترل، تمرین، مصرف مکمل و تمرین+ مصرف مکمل (ترکیبی) تقسیم شدند. برنامه HIIT شامل اجرای ۶ تا ۹ نوبت یک دقیقه‌ای دویدن بر روی نوارگردان با سرعت ۱۶ تا ۲۵ متر/دقیقه و فواصل استراحتی یک دقیقه‌ای بین نوبت‌ها بود. در طی مداخله، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز عصاره زالـزالک به گروه‌های مصرف مکمل و ترکیبی به صـورت گـاواژ داده شد. میزان پروتئین‌های PGC-1α و TFAM در عضله EDL با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: میزان پروتئین PGC-1α گروه ترکیبی در مقایسه با گروه‌های کنترل (p=۰/۰۰۰۱)، تمرین (p=۰/۰۰۸)، مصرف مکمل (p=۰/۰۰۰۱) و در گروه‌های تمرین (p=۰/۰۰۰۱) و مصرف مکمل (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به گروه کنترل به‌طور معنـی‌داری بالاتر بود. هم‌چنین میزان پروتئین TFAM گروه ترکیبی نسبت به گروه‌های کنترل (p=۰/۰۰۰۱)، تمرین (p=۰/۰۱۴)، مصرف مکمل (p=۰/۰۰۰۱) و گروه تمرین در مقایسه با گروه‌های کنترل (p=۰/۰۰۰۱) و مصرف مکمل (p=۰/۰۰۰۱) افزایش معنی‌داری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهد اجرای HIIT همراه با مصرف مکمل زالزالک از راه هم‌افزایی آثار این دو مداخله، می‌تواند افزایش بیشتری در برخی از پروتئین‌های درگیر در بیوژنز میتوکندریایی ایجاد نماید.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی شدید، زالزالک، PGC-1α، TFAM، عضله اسکلتی

• مقدمه

در قرن حاضر، از یک‌سو بهبود شرایط زندگی، ارتقاء سطح تندرستی و افزایش امید به زندگی و از سوی دیگر کاهش نرخ تولد موجب شده است که جمعیت سالمندان به‌طور فزاینده‌ای گسترش یابد. سالمندی فرایندی است که با انباشت تدریجی آسیب‌های مختلف و کاهـش کارایی عملکردی و هموستاز سلول‌ها و بافت‌ها در گـذر زمان همـراه است (۱). سالمندی تأثیـر زیادی بر دستگاه عضـلانی می‌گذارد و خطرات مرتبط با کاهش تدریجی توده عضلانی(Sarcopenia) و کاهش تدریجی قدرت عضلانی (Dynapenia) را افزایش می‌دهد (۲). علاوه بر کاهش توده و قدرت عضلانی، سالمندی اغلب با افزایش توده چربی و در نتیجه چاقی همراه است که هر دو به کاهش بیشتر ظرفیت عملکردی منجر می‌شوند (۳). بسیاری بر این باورند که کاهش ظرفیت بیوژنز میتوکندریایی در دوران سالمندی یکی از

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]

عوامل اصلی در پیشرفت بیماری‌های وابسته به سالمندی است (۴).

مشخص شده است که بین سالمندی در هسته و میتوکندری رابطه وجود دارد و کاهش بیوژنز میتوکندریایی و عملکرد آن، نقشی کلیدی در سالمندی دارد (۱). حفظ محتوا و عملکرد میتوکندری‌ها نه تنها برای سلامتی ضروری است؛ بلکه اختلال در پویایی، عملکرد و بیوژنز میتوکندری‌های عضلانی می‌تواند زمینه‌ساز بروز بیماری‌های مختلف گردد (۵). به هرگونه افزایش در تعداد و توده میتوکندری، بیوژنز میتوکندریایی اطلاق می‌شود (۶). به‌طور کلی، دو دسته عوامل رونویسی در فرایند بیوژنز میتوکندریایی درگیر هستند. گروهی از این عوامل در کنترل رونویسی و تکثیر DNA میتوکندری نقش دارند و عوامل دیگر ژن‌های میتوکندری کدگذاری شده در DNA هسته را تنظیم می‌کنند (۷). پروتئین فعال‌کننده مشترک گیرنده گاما یک آلفای فعال‌شده با تکثیرکننده پراکسی‌زوم (PGC-1α) یک عامل رونویسی است که نقش مهمی در تنظیم عملکرد میتوکندری و ظرفیت اکسایشی (۸) از راه تقویت بیان پروتئین‌های مسئول رونویسی ژن‌ها و DNA میتوکندری دارد (۹). PGC-1α از راه فعال‌کردن گروهی از عوامل انتقالی سبب افزایش بیوژنز میتوکندریایی شده و خود نیز تحت تأثیر عوامل دیگری است (۱۰). عامل نسخه‌برداری A میتوکندری (TFAM) از دیگر عوامل رونویسی مرتبط با پروتئین PGC-1α است که بیان ژن میتوکندری را از راه تعامل مستقیم با ژنوم میتوکندری تنظیم می‌کند (۱۱). پروتئین TFAM پس از ورود به هسته میتوکندری، سبب تنظیم DNA و ژن‌های میتوکندری کدگذاری شده در هسته و بیوژنز میتوکندریایی می‌گردد (۱۲). درواقع، دو پروتئین PGC-1α و TFAM نقشی کلیدی در تنظیم بیوژنز میتوکندریایی دارند.

با توجه به گسترش سالمندی و افزایش پیامدهای ناشی از آن، ارائه راهکارهای مطلوب جهت تعدیل و کاهش عوارض ناشی از سالمندی ضروری به نظر می‌رسد. در این زمینه، راهبردهای ورزشی و مداخله‌های غذایی با هدف بهبود ویژگی‌های عضلانی و ترکیب بدنی افراد سالمند پیشنهاد شده است. تمرینات تناوبی شدید (HIIT)، به اجرای نوبت‌های تکراری فعالیت‌های نسبتاً کوتاه و با شدت تمام یا شدتی نزدیک به اکسیژن مصرفی اوج (VO_{2peak}) اطلاق می‌شود که با چند دقیقه استراحت یا فعالیت با شدت پایین از هم جدا می‌شوند. شواهد زیادی وجود دارد که HIIT جایگزین مؤثری برای تمرینات استقامتی سنتی است که می‌تواند به بهبود آمادگی قلبی‌تنفسی و تندرستی منجر شود (۱۳). نشان داده شده است که اجرای HIIT باعث افزایش تراکم و عملکرد میتوکندری و در نتیجه تقویت دفاع ضداکسایشی و کاهش گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود (۱۴). در این راستا، HIIT افزایش سطح پروتئین‌های PGC-1α و TFAM را در بافت عضله اسکلتی (۱۷-۱۵) و قلب (۱۸) موش‌های صحرایی سالمند به همراه داشته است.

زالزالک (Hawthorn) تیره بزرگی از درختچه‌ها و درختان خاردار متعلق به خانواده رزاسه (Rosaceaeo) است که تقریباً شامل ۲۸۰ گونه و بومی مناطقی با آب‌وهوای معتدل در آسیا، اروپا و آمریکای شمالی است. زالزالک برای قرن‌ها در سراسر جهان به عنوان غذا و داروی گیاهی مورداستفاده قرار گرفته است (۱۹). با افزایش علاقه جهانی، مطالعات جدید وجود فعالیت‌های بیولوژیکی و دارویی متعدد در عصاره، میوه، برگ‌ها و گل‌های زالزالک از جمله قابلیت حفاظت قلبی‌عروقی، بهبود عملکرد سلول‌های اندوتلیالی، کاهش چربی خون، تغذیه و ظرفیت ضداکسیداسیون و ضدالتهابی را نشان دادند (۲۰، ۱۹). هم‌چنین، بررسی‌ها نشان داده است که عصاره زالـزالک موجب افزایش توان انقباضی میوکارد (۲۱) و جریان خون کرونری و مصرف بیشتر اکسیژن توسط کاردیومیوسیت‌ها (۲۲) می‌شود. با توجه به آثار ضداکسایشی زالزالک، به‌نظر می‌رسد که بتواند در کاهش ROS و افزایش بیوژنز میتوکندریایی اثرگذار باشد. با این وجود، در پژوهش‌های پیشین به آثار مستقل و ترکیبی تمرین ورزشی و مصرف میوه زالزالک بر عملکرد میتوکندریایی توجهی نشده است. لذا این مطالعه با هدف تعیین اثر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف مکمل زالزالک بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی PGC-1α و TFAM عضله دراز انگشتان پا (EDL) موش‌های صحرایی نر انجام شد.

• مواد و روش‌ها

روش پژوهش حاضر از نوع تجربی و طرح آن پس‌آزمون با گروه کنترل بود. در این پژوهش ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار مسن (۲۵- ۲۲ ماهه و وزن ۴۵۵- ۳۹۵ گرم) مورد استفاده قرار گرفت که پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه به‌طور تصادفی به چهار گروه (۹ سر موش) شامل کنترل، تمرین، مصرف مکمل و تمرین+ مصرف مکمل (ترکیبی) تقسیم شدند. حیوانات در قفسه‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری در شرایط کنترل شده‌ی محیطی با میانگین دمای ۳±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۴۵ درصد و چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. غذای حیوانات از شرکت خوراک دام پارس تهران تهیه شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام تأیید و تمام مراحل آن مطابق بیانیه‌ی هلسینکی انجام شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]

جدول ۱. برنامه تمرین HIIT

شاخص‌های تمرین	هفته‌های ۲-۱	هفته‌های ۴-۳	هفته‌های ۶-۵	هفته‌های ۸-۷
شدت (متر بر دقیقه)	۱۸-۱۶	۲۲-۲۰	۲۵-۲۲	۲۵
مدت (دقیقه)	۱	۱	۱	۱
نوبت (تعداد)	۶	۷	۸	۹

پروتکل تمرین

قبل از شروع برنامه تمرین، حیوانات طی ۵ روز و هر روز به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۵-۱۰متر/دقیقه با دویدن بر روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه HIIT استفاده شده در این پژوهش (جدول ۱) شامل ۸ هفته و پنج جلسه در هفته دویدن بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان بود (۲۳). قبل از شروع هر جلسه برنامه گرم کردن، به صورت دویدن بر روی نوارگردان به مدت ۴ دقیقه با سرعت ۱۲ تا ۱۵ متر/دقیقه اجرا شد. استراحت فعال بین نوبت‌ها شامل یک دقیقه دویدن با سرعت ۱۰ متر/دقیقه بود.

روش تهیه و مصرف زالزالک

پودر به دست آمده از عصاره گل و جوانه‌های تازه‌ی خالص زالزالک از شرکت دینه داروی قزوین تهیه شد. میزان ماده مؤثر فلاونوئید بر مبنای هایپروزید آن ۱۵ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌گرم بود. گروه‌های مصرف مکمل و ترکیبی روزانه مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن بدن هر موش صحرایی، پودر گاواژ شده عصاره زالزالک محلول در آب مقطر طی ۸ هفته و ۵ روز در هفته دریافت کردند (۲۴). زمان مصرف مکمل پس از اجرای هر جلسه تمرین بود.

روش بافت‌برداری و اندازه‌گیری متغیرها

چهل‌وهشت ساعت پس از مداخله‌ها، حیوانات با تزریق درون صفاقی مخلوط کتامین ۳۰ تا ۵۰ mg/kg و زایلازین ۳ تا ۵ mg/kg بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی با تشریح حیوانات، بافت عضله EDL (به عنوان عضله تندتنش) آنها جدا و در نیتروژن مایع منجمد و برای انجام آزمایش‌های سلولی مولکولی در یخچال ۸۰- درجه نگهداری شد.

از روش وسترن بلات جهت اندازه‌گیری پروتئین‌های PGC-1α و TFAM استفاده شد. به این‌صورت که نمونه‌های بافت عضله EDL ابتدا به بافر لیزکننده اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه هموژنایزر (Speed Mill, analytikjena، آلمان) و با دور ۱۴۰۰ دور در دقیقه هموژن شدند. لایزیس بافر شامل تریس پایه ۵۰ میلی‌مولار (۰/۳ گرم)، کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مولار (۰/۴۳ گرم)، تریتون x100 ۰/۱ درصد (۰/۰۲ میلی-لیتر)، سدیم داوکسی کولات ۰/۲۵ درصد (۰/۰۵ گرم)، SDS ۰/۱ درصد (۰/۰۲ گرم) و EDTA (۵/۸۴ گرم) بود که در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و PH آن بر روی ۷/۴ تنظیم گردید. به‌ازای هر ۱۰ میلی‌لیتر از محلول، یک قرص مهارکننده پروتئاز استفاده شد. محلول به‌دست‌آمده به‌وسیله کیت Bradford (شرکت کیا زیست، ساخت ایران) مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل SDS-PAGE (۱۰ درصد) بارگذاری شدند (ابتدا در ولتاژ ۶۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه و سپس در ولتاژ ۱۰۰ به‌مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد). سپس پروتئین‌ها طی فرایند انتقال به‌مدت ۱۰۵ دقیقه روی کاغذ نیتروسلولز انتقال داده شدند و درادامه کاغذ یک شب با آنتی-بادی‌های اولیه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سه مرتبه و هر بار پنج دقیقه با محلول PBS شستشو داده شد و کاغذ به مدت یک ساعت با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد. باندهای پروتئین در دستگاه پردازش‌گر X-RAY (LD-14، چین) با استفاده از کیت ECL (شرکت پارس طوس، ساخت ایران) ظاهر شدند. سپس با استفاده از دستگاه اسکنر JS 2000 (BonninTech، چین) دانسیته باندها محاسبه شد.

روش آماری

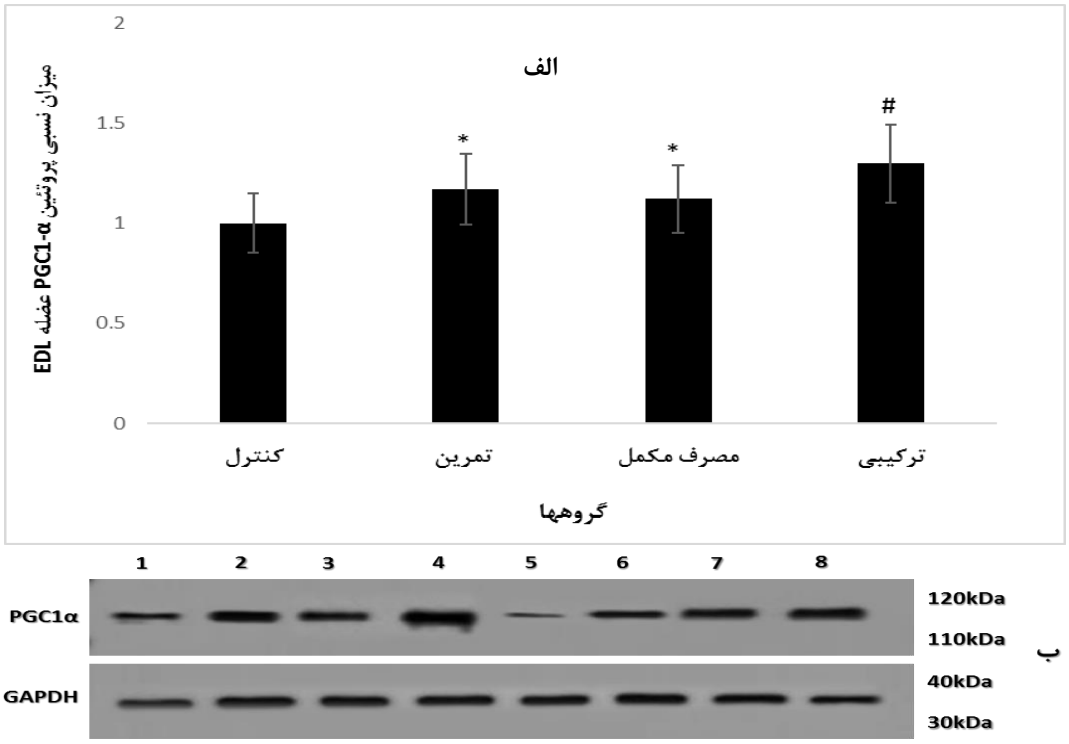
پس از تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، برای تحلیل تفاوت بین گروه‌ها از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تعقیبی توکی استفاده شد. میزان اندازه اثر (ES) با استفاده از رابطه cohen's d محاسبه شد. داده‌های گردآوری شده توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

• یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بیانگر تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین PGC-1α عضله EDL گروه‌های مورد بررسی بود (p=۰/۰۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، میزان پروتئین PGC-1α عضله EDL در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه‌های کنترل (ES=۳۹، p=۰/۰۰۰۱)، تمرین (ES=۲۴، p=۰/۰۰۸) و مصرف مکمل (ES=۲۸، p=۰/۰۰۰۱) به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. هم‌چنین میزان این پروتئین در گروه‌های تمرین (ES=۲۲، p=۰/۰۰۰۱) و مصرف مکمل (ES=۱۹، p=۰/۰۰۰۱) نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد، تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین TFAM عضله EDL بین گروه‌های مطالعه وجود دارد (p=۰/۰۰۰۱). آزمون تعقیبی توکی نشان داد، میزان پروتئین TFAM عضله EDL در گروه ترکیبی نسبت به گروه‌های کنترل (ES=۳۷، p=۰/۰۰۰۱)، تمرین (ES=۱۶، p=۰/۰۱۴) و مصرف مکمل (ES=۲۴، p=۰/۰۰۰۱) افزایش معنی‌داری را نشان داد. همین‌طور در میزان پروتئین TFAM گروه تمرین در مقایسه با گروه‌های کنترل (ES=۳۳، p=۰/۰۰۰۱) و مصرف مکمل (ES=۲۱، p=۰/۰۰۰۱) افزایش معنی‌داری دیده شد (شکل ۲).

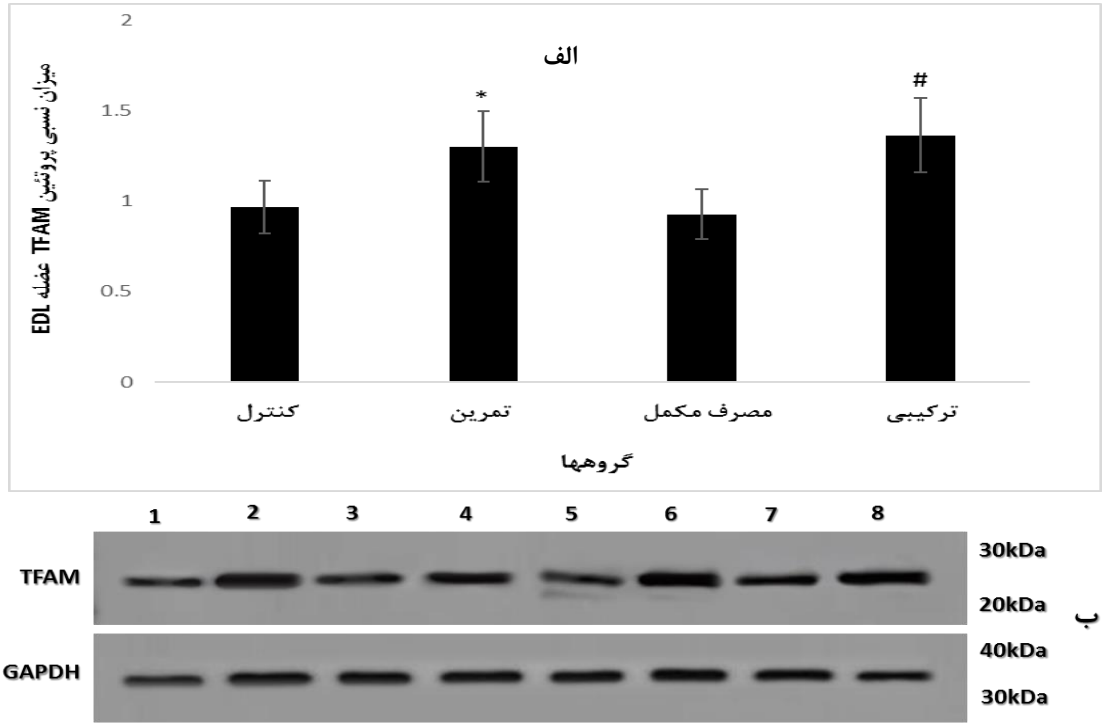
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]



شکل ۱. الف) میزان نسبی پروتئین PGC-1α عضله EDL در گروه‌های پژوهش.

*: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، #: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل، تمرین و مصرف مکمل (p<۰/۰۰۸).

ب) باند وسترن بلات عضله EDL. شماره ۱ و ۵ مربوط به گروه کنترل، ۲ و ۶ مربوط به گروه تمرین، ۳ و ۷ مربوط به گروه مصرف مکمل و ۴ و ۸ مربوط به گروه ترکیبی است. از پروتئین GAPDH به عنوان کالیبراتور استفاده شد.



شکل ۲. الف) میزان نسبی پروتئین TFAM عضله EDL در گروه‌های پژوهش.

*: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل و مصرف مکمل، #: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل، تمرین و مصرف مکمل (p<۰/۰۱۴).

ب) باند وسترن بلات عضله EDL. شماره ۱ و ۵ مربوط به گروه کنترل، ۲ و ۶ مربوط به گروه تمرین، ۳ و ۷ مربوط به گروه مصرف مکمل و ۴ و ۸ مربوط به گروه ترکیبی است. از پروتئین GAPDH به عنوان کالیبراتور استفاده شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]

• بحث

در این مطالعه، آثار ۸ هفته HIIT و مصرف مکمل زالزالک بر سطح پروتئین‌های PGC-1α و TFAM عضله EDL در موش‌های صحرایی نر سالمند بررسی گردید. نتایج بیانگر افزایش سطح پروتئین PGC-1α و TFAM در گروه ترکیبی نسبت به سایر گروه‌ها بود. هم‌چنین، سطح پروتئین PGC-1α در دو گروه مصرف مکمل و تمرین در مقایسه با گروه کنترل و میزان TFAM در گروه تمرین نسبت به گروه‌های مصرف مکمل و کنترل افزایش داشت.

جستجوهای صورت گرفته نشان می‌دهد مطالعه حاضر جزء اولین پژوهش‌هایی است که در آن افزایش سطح نشانگرهای بیوژنز میتوکندریایی عضله اسکلتی به دنبال HIIT و مصرف مکمل زالزالک در مدل حیوانی دیده شده است. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج برخی مطالعات قبلی مبنی بر افزایش پروتئین‌های PGC-1α و TFAM عضله به دنبال HIIT هم‌خوانی دارد (۲۵، ۱۸، ۱۵). در این زمینه گزارش شده است که ۱۲ هفته HIIT با افزایش سطح پروتئین‌های PGC-1α و TFAM در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی سالمند همراه بود (۱۵). به‌طور مشابهی، ۸ هفته تمرین تناوبی سرعتی افزایش سطح پروتئین PGC-1α در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی سالمند را به دنبال داشت (۱۶). در مطالعه‌ی دیگری پس از ۴ هفته HIIT سطوح پروتئین PGC-1α در عضلات تند و کند انقباض موش‌های صحرایی افزایش یافت (۱۷). همین‌طور، ۳ هفته HIIT موجب افزایش معنی‌دار بیان ژنی PGC-1α و TFAM در عضلات نعلی و EDL موش‌های صحرایی نر شد (۲۵). هم‌چنین، ۱۲ هفته HIIT موجب افزایش معنی‌دار سطح پروتئین PGC-1α در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر چاق شد (۲۶). به نظر می‌رسد، مشابه بودن آزمودنی‌ها (موش صحرایی نر)، محل اندازه‌گیری (در بافت عضلانی) و پروتکل تمرینی (HIIT) از جمله دلایل دستیابی به نتایج هم‌خوان باشد. در بررسی عوامل تنظیم‌کننده نشانگرهای بیوژنز میتوکندریایی در عضله اسکلتی نشان داده شده است که حجم تمرین بیشترین تأثیر را در افزایش میزان PGC-1α دارد (۲۷). ازآنجایی‌که، برنامه‌های HIIT از حجم پایینی برخوردار هستند، بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان گفت که شدت بالای HIIT می‌تواند حجم پایین آن را جبران کرده و در تنظیم افزایشی پروتئین‌های درگیر در بیوژنز میتوکندریایی مؤثر باشد. طبق اطلاعات موجود، در مورد اثر مصرف مکمل زالزالک بر میزان پروتئین‌های بیوژنز میتوکندریایی مطالعه‌ای صورت نگرفته است. بنابراین، نمی‌توان در مورد افزایش میزان پروتئین PGC-1α در عضله EDL موش‌های صحرایی سالمند اظهارنظر نمود و به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

از طرفی، برخی پژوهش‌ها به نتایجی مغایر با مطالعه حاضر دست یافتند (۳۰-۲۸). برای مثال گزارش شده است که ۱۲ هفته HIIT (۱۰ نوبت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max}) تغییر معنی‌داری را در سطوح پروتئینی TFAM عضله نعلی موش‌های صحرایی دیابتی ایجاد نمی‌کند (۲۸). هم‌چنین، پس از ۱۰ هفته HIIT سطوح پروتئینی PGC-1α عضله نعلی موش‌های صحرایی دیابتی تغییر معنی‌داری نداشت (۲۹). تناقض در نتایج ممکن است ناشی از وضعیت بیماری نمونه‌ها (سالم در مقابل بیمار)، نوع تار عضلانی بررسی شده (تند انقباض در مقابل کند انقباض)، نوع پروتکل و تناوب‌های اجرا شده باشد. پژوهش دیگری نشان داد که ۸ هفته HIIT در بیان ژنی PGC-1α عضله قلبی موش‌های صحرایی سالم تغییر معنی‌داری ایجاد ننمود (۳۰). تفاوت در شیوه اندازه‌گیری متغیرها (سطح پروتئین در مقابل بیان ژن) و بافت مورد بررسی (عضله EDL در مقابل قلب) ممکن است مغایرت نتایج این دو مطالعه را توجیه نماید.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر و دیگر مطالعات مشابه، می‌توان علت احتمالی افزایش سطح PGC-1α در بافت عضلانی را به مدل تمرینی و تأثیر شدت تمرین نسبت داد. در این زمینه گزارش شده است که تمرینات شدید موجب فعال‌شدن آنزیم AMPK (AMP-activated protein kinase) می‌شود. این آنزیم به‌طور مستقیم پروتئین PGC-1α را فسفوریله کرده و القای PGC-1α از پیش‌ساز آن را میسر می‌کند (۳۱). به‌علاوه، این الگوی تحریکی باعث تحریک فعال‌سازی گیرنده‌های β2 آدرنرژیکی (Beta 2- adrenergic receptor) توسط کاتکولامین‌ها شده که به دنبال آن منجر به افزایش cAMP و در نتیجه فعال‌شدن فاکتورهای رونویسی پروتئین متصل به عناصر حساس به cAMP (cyclic AMP-responsive element-binding protein) شده و در نهایت بیان PGC-1α را افزایش می‌دهند (۳۲). هم‌چنین، نشان داده شده که HIIT افزایش بیشتری را در نسبت AMP/ADP/ATP ایجاد کرده و بنابراین با افزایش بیشتر AMPK همراه است. پیشنهاد شده است که این عامل می‌تواند موجب افزایش بیشتری در مقدار PGC-1α (به عنوان یک عامل بالادستی) شده (۲۷) و افزایش فعالیت TFAM را نیز به دنبال داشته باشد (۳۳).

هم‌چنین، نتایج این پژوهش نشان داد اجرای ۸ هفته HIIT همراه با دریافت عصاره زالزالک در مقایسه با آثار مستقل آن‌ها افزایش بیشتری در پروتئین‌های PGC-1α و TFAM در عضله EDL موش‌های صحرایی سالمند ایجاد نمود. در مورد آثار هم‌افزایی عصاره زالزالک و تمرینات ورزشی بر تنظیم افزایشی پروتئین‌های درگیر در بیوژنز میتوکندریایی اطلاعات زیادی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]

وجود ندارد. با توجه به آثار عصاره زالزالک بر حفاظت اندوتلیالی می‌توان به نقش آن در عملکرد میتوکندریایی پی برد. گزارش شده است که دریافت عصاره زالزالک منجر به کاهش عوامل انقباض عروقی مانند اندوتلین مازاد-۱ (Excess endothelin-1) و افزایش عوامل گشادکننده عروقی از قبیل نیتریک اکساید (Nitric oxide) در مدل‌های انسانی و حیوانی می‌گردد (۳۵، ۳۴). بنابراین، می‌توان گفت که عصاره زالزالک از راه افزایش خون‌رسانی به عضلات فعال، افزایش نشانگرهای بیوژنز میتوکندریایی مانند PGC-1α را به دنبال دارد. در واقع می‌توان انتظار داشت در گروه ترکیبی که از مزایای هر دو نوع مداخله (تمرین تناوبی و مکمل زالزالک) بهره‌مند بودند، سازگاری‌های فیزیولوژیکی بیشتری را در عضله اسکلتی نسبت به هر یک از این مداخله‌ها کسب نمایند. طبق یافته‌های این مطالعه مصرف مکمل زالزالک آثار محدودی بر عملکرد میتوکندری و به تأخیر انداختن عوارض سالمندی دارد، جهت تقویت آثار آن باید همراه با HIIT استفاده گردد. با این وجود، به دلیل گستردگی عوامل درگیر در عملکرد و بیوژنز میتوکندریایی عضلات، مطالعات بیشتری برای شناخت مکانیسم‌های مؤثر به دنبال مصرف مکمل زالزالک و تمرینات ورزشی نیاز است.

طبق یافته‌های پژوهش حاضر، اجرای ۸ هفته HIIT و مصرف مکمل زالزالک به تنهایی موجب افزایش میزان پروتئین‌های PGC-1α و TFAM (واسطه‌های مهم مسیر بیوژنز میتوکندریایی) عضله اسکلتی موش‌های صحرایی سالمند شد، گرچه استفاده همزمان از این دو مداخله مؤثرتر بود. در واقع، اجرای HIIT توأم با مصرف مکمل زالزالک از راه هم‌افزایی آثار این دو مداخله، می‌تواند به عنوان روش مؤثری با هدف افزایش برخی از پروتئین‌های درگیر در عملکرد و بیوژنز میتوکندریایی و به تأخیر انداختن عوارض سالمندی استفاده گردد.

سپاس‌گزاری

مطالعه حا ضر در کمیته‌ی اخلاق دان شگاه آزاد ا سلامی واحد ایلام با شناسه IR.IAU.ILAM.REC.1401.011 به تأیید ر سیده و منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع کار شنا سی ار شد ر شته فیزیولوژی ورزشی گرایش فعالیت بدنی و تندرستی است. از تمامی همراهانی که به ما در اجرای این پژوهش یاری رســـاندند، صـــمیمانه سپاس‌گزاری می‌نماییم.

• References

1. Kim Y, Triolo M, Hood DA. Impact of aging and exercise on mitochondrial quality control in skeletal muscle. Oxidative Med Cell Longevity 2017;2017.
2. Bouchard DR, Janssen I. Dynapenic-obesity and physical function in older adults. J Gerontol Series A: Biomed Sci Med Sci 2010;65(1):71-77.
3. Stenholm S, Alley D, Bandinelli S, Griswold M, Koskinen S, Rantanen T, et al. The effect of obesity combined with low muscle strength on decline in mobility in older persons: results from the InCHIANTI study. Int J Obes 2009;33(6):635-644.
4. 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. Mech Ageing Dev 2015;146:28-41.
5. Menshikova EV, Ritov VB, Ferrell RE, Azuma K, Goodpaster BH, Kelley DE. Characteristics of skeletal muscle mitochondrial biogenesis induced by moderate-intensity exercise and weight loss in obesity. J Appl Physiol 2007;103(1):21-7.
6. Dominy JE, Puigserver P. Mitochondrial biogenesis through activation of nuclear signaling proteins. Cold Spring Harb Perspect Biol 2013;5(1-16).
7. Garesse R, Vallejo CG. Animal mitochondrial biogenesis and function: a regulatory cross-talk between two genomes. Gene 2001;263(1):1-16.
8. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1α. Cardiovascular Res 2008;79(2):208-217.
9. Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. Cell Metabol 2005;1(6):361-370.
10. Booth FW, Chakravarthy MV, Spangenburg EE. Exercise and gene expression: physiological regulation of the human genome through physical activity. J Physiol 2002;543(2):399-411.
11. Gleyzer N, Vercauteren K, Scarpulla RC. Control of mitochondrial transcription specificity factors (TFB1M and TFB2M) by nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) and PGC-1 family coactivators. Molecul Cell Biol 2005;25(4):1354-1366.
12. Jornayvaz FR, Shulman GI. Regulation of mitochondrial biogenesis. Essays Biochem 2010; 47:69-84.
13. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. J Physiol 2012;590(5):1077-1084.
14. Dai DF, Rabinovitch PS. Cardiac aging in mice and humans: the role of mitochondrial oxidative stress. Cardiovascular Med 2009;19(7):213-20
15. Bakhtiyari A, Gaeni A, Choobineh S, Kordi M, Hedayati M. The comparison of the influence of high-intensity interval training and continuous moderate intensity training on PGC-1α and Tfam mitochondrial proteins expressions in gastrocnemius muscle of elderly rats. J Animal Biol 2019;11(4):11-20. [in Persian]
16. Nourshahi M, Ebrahim K, Mousavi Mozafar M, Hedayati M. The effect of 8-week sprint interval training with consuming saffron extract on the factors

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]

affecting longevity in male rats. Iran J Nut Sci Food Technol 2019;14(1):19-26. [in Persian]

17. 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;38:326–333.

18. Taheri R, Mirzaei B, Demirchi A. The effect of 8 weeks of interval and resistance training on expression PGC 1α, AMPK, TFAM elderly rat heart cells. Med J Mashhad Univer Med Sci 2021;64(1). [in Persian]

19. Wu M, Liu L, Xing Y, Yang S, Li H, Cao Y. Roles and mechanisms of hawthorn and its extracts on atherosclerosis: A review. Front Pharmacol. 2020;11:118.

20. Pittler MH, Schmidt K, Ernst E. Hawthorn extract for treating chronic heart failure: meta-analysis of randomized trials. Ame J Med 2003;114(8):665-674.

21. Hosseinimehr SJ, Azadbakht M, Abadi AJ. Protective effect of hawthorn extract against genotoxicity induced bycyclophosphamide in mouse bone marrow cells. Environ Toxicol Pharmacol 2008;25(1):51–6. [in Persion]

22. Veveris M, Koch E, Chatterjee SS. Crataegus special extract WS(R) 1442 improves cardiac function and reduces infarct size in a rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion. Life Sci 2004;74(15):1945–55.

23. Constans A, Pin-Barre C, Molinari F, Temprado J-J, Brioche T, Pellegrino C, et al. High-intensity interval training is superior to moderate intensity training on aerobic capacity in rats: Impact on hippocampal plasticity markers. Behav Brain Res 2021;398:112977.

24. Zarrinkalam E, Ranjbar K, Salehi I, Kheiripour N, Komaki A. Resistance training and hawthorn extract ameliorate cognitive deficits in streptozotocin-induced diabetic rats. Biomed Pharmacother 2018; 97:503–510.

25. Sharafi DF, Soori R, Abbasian S, Rastegar MM. The effect of high intensity interval training on serum levels and gene expression of TFAM and PGC-1α in hippocampus of male rats. Sport Physiol Manag Invest 2019;19(6):75-85. [in Persian]

26. Rafati Bonab M, Bashiri J, Poozesh Jadidi R, Pourrazi H. Effect of HIIT and Q10 supplementation on soleus muscle PGC-1α level citrate synthase activity in obese male rats. Sport Physiol 2021;13(50):111-36. [in Persian]

27. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Mitochondrial adaptations to high-volume exercise training are rapidly reversed after a reduction in training volume in human skeletal muscle. FASEB J 2016;30(10):3413-23.

28. Tabari E, Mohebbi, H. The effects of high and moderate intensity interval training on skeletal muscle of TFAM and NRF1 in type 2 diabetic male rats. J Pract Study Biosci Sport 2022;10(21):8-18. [in Persian]

29. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. Sci Rep 2017;7(1):1-0.

30. Shabani M, Choobineh S, Kordi MR, Afghan M. The effect of 8 weeks of high intensity interval training on the expression of PGC-1α and VEGF genes in myocardial muscle of male healthy rats. J Sport Biosci 2016;8(2):169-176. [in Persian]

31. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1alpha in human skeletal muscle. J Appl Physiol 2009;106(3):929-34.

32. Egan B, Carson BP, Garcia-Roves PM, Chibalin AV, Sarsfield FM, Barron N, et al. Exercise intensitydependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. J Physiol 2010;588(10):1779-90.

33. Bori Z, Zhao Z, Koltai E, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Douroudos II, et al. The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle. Exp Gerontol 2012;47(6):417-24.

34. Asher GN, Viera AJ, Weaver MA, Dominik R, Caughey M, Hinderliter AL. Effect of hawthorn standardized extract on flow mediated dilation in prehypertensive and mildly hypertensive adults: a randomized, controlled cross-over trial. BMC Complement Altern Med 2012;12:26.

35. Zhang J, Liang R, Wang L, Yan R, Hou R, Gao S, Yang B. Effects of an aqueous extract of Crataegus pinnatifida Bge. var. major N.E.Br. fruit on experimental atherosclerosis in rats. J Ethnopharmacol 2013;148(2):563-9.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]

Effects of High-intensity Interval Training with Hawthorn Supplementation on Mitochondrial Biogenesis Proteins in Muscle Tissues of Elderly Male Rats

*Saedi F[1], Nikseresht M[*2], Taheri Kalani AH[3]*

1- *Master of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran*

2- **Corresponding author: Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran. E-mail: nikserasht@ gmail.com*

3- *Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran*

Received 12 Jul, 2023 **Accepted 9 Sep, 2023**

Background and Objectives: It has been shown that dysfunction in mitochondrial biogenesis of the skeletal muscles induced by elderly can cause various diseases. The aim of this study was to assess effects of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) with hawthorn (Haw) supplementation on PGC-1α and TFAM in extensor digitorum longus (EDL) muscles of elderly male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 36 elderly rats were randomly assigned into the following groups of control (CON), HIIT and Haw as well a combination of the two latter ones (COM, HIIT and Haw). The HIIT program consisted of 6 to 9 1-min bouts of running on a treadmill at a speed of 16 to 25 m/min with 1-m rests between the intervals. During the intervention, rats in Haw and COM groups were fed (roughly 100 mg/kg/body weight) via gavage. The PGC-1α and TFAM proteins in EDL muscles were assessed using western blot method.

Results: The PGC-1α protein in COM group was significantly higher than that in CON (p = 0.0001), HIIT (p = 0.008) and Haw (p = 0.0001) groups and was higher in HIIT (p = 0.0001) and Haw (p = 0.0001) groups than CON group. The TFAM protein increased significantly in COM group, compared to CON (p = 0.0001), HIIT (p = 0.014) and Haw (p = 0.0001) groups. Furthermore, this protein was higher in HIIT group, compared to CON (p = 0.0001) and Haw (p = 0.0001) groups.

Conclusion: These findings have indicated that combination of HIIT and Haw can cause greater increases in mitochondrial biogenesis proteins.

Keywords: High-Intensity Interval Training, Hawthorn, PGC-1α, TFAM, Skeletal muscle

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-04-20]