

تأثیر یک دوره بی تحرکی اندام تحتانی بر بیان برخی ژن‌های تنظیم کننده فرآیندهای میتوکندریایی عضله قلبی رت‌های تمرین کرده و بی تمرین

مطهره حاجتی مدارایی^۱، رضا نوری^{۲*}، عباسعلی گائینی^۳

۱- دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران پردیس کیش، کیش، ایران

۲- استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران پردیس کیش، کیش، ایران

۳- استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

* نشانی نویسنده مسئول: کیش، دانشگاه تهران پردیس کیش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی

Email: nuri_r7@ut.ac.ir.com

پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۴

دریافت: ۱۳۹۹/۶/۲۱

چکیده

مقدمه و هدف: بی تحرکی روی عضلات اسکلتی با کاهش فشار همودینامیک سازگاری‌های قلبی را مخدوش می‌کند و با افزایش فشار اکسایشی موجب کاهش عملکرد قلبی می‌شود. هدف پژوهش، بررسی تغییرات بیان ژن‌های تنظیم‌گر میتوکندریایی AMPK، PGC-1 α ، SIRT-1، 2 و NRF-1 به عنوان عوامل موثر در آتروفی قلبی متعاقب دوره بی تحرکی در رت‌های تمرین کرده و نکرده بود.

مواد و روش‌ها: ۱۸ نر به سه گروه تصادفی (تمرین، تمرین+بی تحرکی و کنترل+بی تحرکی) تقسیم شدند. گروه تمرین شش هفته، پنج جلسه/ هفته، ۱۵-۶۰ دقیقه، از سرعت ۱۷/۵ متر/ دقیقه در هفته اول تا سرعت ۳۰ متر/ دقیقه در هفته آخر، روی نوارگردان دویدند. اندام تحتانی رت‌های تمرین کرده ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، هفت روز با قالب‌گیری بی تحرک شد. عضله قلبی استخراج شده، وزن شد و میزان بیان ژن‌های مذکور به روش RT-PCR اندازه‌گیری گردید. آنوای یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معناداری ($\alpha \leq 0/05$) استفاده شد.

یافته‌ها: در گروه تمرین نسبت به تمرین+بی تحرکی و کنترل+بی تحرکی، بیان ژن‌های SIRT-1 ($F=38/24, P<0/01$)، SIRT-6 ($F=23/07, P<0/01$)، AMPK ($F=4/03, P<0/05$)، PGC1- α ($F=46/32, P<0/01$) و NRF-1 ($F=10/35, P<0/01$) به طور معناداری بیشتر بود، اما وزن قلب/ وزن بدن در گروه تمرین+بی تحرکی در حد معنادار بیشتر بود ($F=47/74, P<0/01$).

بحث و نتیجه‌گیری: بی تحرکی اندام‌ها با کاهش فشار همودینامیکی قلب و افزایش فشار اکسایشی موجب اختلال عملکرد میتوکندریایی و با تنظیم کاهشی ژن‌ها، سبب آتروفی قلبی می‌شود. فعالیت‌های هوازی شدید با تحریک AMPK اثر محافظتی در سلول دارند، اما موجب پیشگیری از تغییرات دوره بی تحرکی نمی‌شوند.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، آتروفی قلبی، فشار اکسایشی، PGC-1، میتوکندری، بی تحرکی

مقدمه

نورآدرنالین و افزایش اتساع‌پذیری بطنی، و از نظر ساختاری، تمرین‌های استقامتی به افزایش ضخامت دیواره بطنی، ضخامت دیواره داخلی بطن چپ و توده‌ی کلی قلب منجر می‌شوند (۱). در شرایطی چون کم‌تحرکی و قطع شدن فعالیت‌های بدنی به ویژه در عضلات بزرگ بدن یک استرس فیزیولوژیایی ناشی از راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی AMPK/FOXO^۲ به نام آتروفی

قلب اندام سازش‌پذیری است که در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی سازگاری‌هایی در آن ایجاد می‌شود، از جمله کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژنی، بهتر شدن کنترل کلسیم درون سلولی، افزایش رهایش نیتریک اکسید، افزایش بیان MHC^۱ عضله قلبی، افزایش اکسایش لیپیدی میوکارد و افزایش رهایش

2. AMP-activated protein kinase/ Forkhead box

1. Alpha myosin heavy chain

قلبی و اتوفازای دارند (۹). در سطح عروقی، عملکردهای فیزیولوژیایی SIRT1 و SIRT6 با استیل‌زدایی هیستون‌ها، عوامل نسخه‌بردار و آنزیم‌های درگیر در محافظت عروقی، انجام می‌شود. همچنین، SIRT1 با تنظیم eNOS^{۱۰} می‌تواند محافظت عروقی را به واسطه NO^۹ به همراه داشته باشد (۹). با این حال آثار بی‌تمرینی بر SIRT1 و SIRT6 در کاردیومیوست‌ها هنوز به خوبی روشن نشده است. از طرفی، نقش PGC1 α در برطرف کردن نیازهای انرژی عضله قلبی هنگام افزایش بار کار قلب مستند شده است. احتمالاً کاهش PGC1 α با کاهش اکسایش اسیدهای چرب و در نتیجه کاهش کارایی بازسازی ATP در عضله قلبی ارتباط است (۱۰). اینکه در اثر بی‌تمرینی چه تغییری در این متغیر مهم انرژی‌زایی زیستی رخ می‌دهد، مشخص نیست.

برخی از مهمترین تغییرات در پاسخ به عدم استفاده از عضله و بی‌حرکی عبارتند از: کاهش عملکرد ساختاری قلب، کاهش اندازه‌ی حفره‌ی بطن‌ها، کاهش ضریب قلب استراحت و احتمالاً آنزیم‌های میتوکندریایی قلبی. از منظر میتوکندریایی، عدم استفاده از عضله، سبب کاهش محتوای میتوکندریایی در هر گرم عضله‌شده که منجر به کاهش استقامت عضلانی می‌شود و پیام‌رسانی آپوپتوزی ناشی از میتوکندری را افزایش می‌دهد. همانطور که مطالعه سیاجیان و همکارانش (۲۰۱۵) نیز تایید کرد چهار هفته بی‌تمرینی می‌تواند سبب کاهش بیان کاسپاز ۳- در کاردیومیوسیت‌های بطنی شود (۱۱). با این وجود، بر اساس یافته‌ها، انقباض عضلانی طولانی مدت اثر محافظتی بر این مسیر دارد و با افزایش محتوای میتوکندریایی و آنزیم‌های آن، رهایش این عوامل را کاهش می‌دهد (۱۲). کاهش محتوای میتوکندریایی هنگام عدم استفاده از عضلات و بی‌تمرینی ممکن است تاحدی بر اثر آتروفی ناشی از ROS^{۱۱} باشد. در شرایط فشار اکسایشی زیاد، پروتئین‌های اتوفازای به سمت میتوکندری‌ها جابه‌جا می‌شوند و آن‌ها را هدف تجزیه‌ی اتوفازای قرار می‌دهند، فرایندی که میتوفازای نام دارد (۱۳). در این شرایط با حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده تقسیمات میتوکندریایی مرتبط با PGC1 α کاهش یافته و محتوای میتوکندریایی و عملکرد سلول‌ها کاهش می‌یابد.

عضلانی موجب اختلال در عملکرد و در نهایت تغییرات ساختاری در عضله قلبی می‌شود (۲،۳). یافته‌های یانگ بایو و همکارانش (۲۰۱۸) موند آن است که ۸ هفته بی‌تمرینی می‌تواند پروتئین‌کیناز فعال‌شده با AMP و PGC1 α ^۱ را که با هشت هفته تمرین هوازی افزایش یافت، کاهش دهند (۴). سازوکار احتمالی دیگری که برای اثر بی‌تمرینی بر بافت قلبی پیشنهاد شده است، فعال شدن FOXO می‌باشد. همچنین، بی‌تمرینی می‌تواند مسیر پیام‌رسان AKT را غیر فعال کند که غیرفعال شدن این مسیر، آتروفی و کاهش عملکرد را با فعال‌سازی FOXO به همراه دارد (۵). بنابراین، زمانی که دو فاکتور AKT و PGC-1 α با بی‌تمرینی مهار می‌شود و بیان PGC-1 α نیز در دوره‌ی عدم استفاده عضلانی و بی‌تمرینی کاهش می‌یابد، FOXO فعال می‌شود که پیامد آن ضعف عملکرد و تحلیل بافت عضلانی-اسکلتی و قلبی است (۶) در نتیجه، بی‌تمرینی با تضعیف دفاع آنتی‌اکسیدانی و از راه افزایش عوامل آتروفی وابسته به عملکرد میتوکندریایی می‌تواند آتروفی را افزایش و تقویت کند.

ارتباط مستقیمی بین فعالیت بدنی و بی‌تمرینی با عوامل تنظیم‌کننده رونویسی وجود دارد (۷). این عوامل عبارتند از کمک فاکتورهای خانواده‌ی PPAR- γ ^۱، NFE2L2^۲ و خانواده‌ی SIRT^۳ ها. SIRT1 باعث افزایش بایوژنز میتوکندریایی، بیان پروتئین‌های زنجیره‌ی انتقال الکترونی و القای عوامل مسیر بایوژنز مانند PGC1 α ^۴، NRF1/2^۵، ERR^۶ و TFAM^۷ می‌شود (۸). در واقع به نظر می‌رسد، بی‌تمرینی می‌تواند با مهار مسیر بالادستی AMPK یا با کاهش خانواده‌ی SIRT و پس از آن مهار افزایش PGC1 α و در نهایت کاهش NRF1 به عنوان مسیر پایین دست این آشبار سلولی، بایوژنز میتوکندریایی را هم در عضله قلبی و هم در عضله اسکلتی مهار کند. در این مسیر، فشار اکسایشی به عنوان یک عامل آتروفی عضلانی می‌تواند با مهار خانواده‌ی SIRT بایوژنز را محدود و آتروفی را افزایش دهد. SIRT1 و SIRT6 در قلب آثار محافظتی در برابر هایپرتروفی پاتولوژیایی قلبی، آسیب فشار اکسایشی، سکنه

1. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha
2. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ
3. Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2
4. Sirtuin
5. Nuclear Factor Erythroid Related Factor
6. Estrogen Related Receptors
7. Transcription Factor A, Mitochondrial

8. Endothelium-derived nitric oxide
9. Nitric Oxide
10. Reactive oxygen species

در بی‌حرکی قدرت سلول برای افزایش بایوژنز و حذف بخش‌های آسیب‌دیده میتوکندری کاهش می‌یابد (۱۳). پژوهش‌ها نشان می‌دهند کاهش بیان خانواده $PGC1\alpha$ اصلی‌ترین عامل آن و مهم‌تر از خانواده SIRT و NRF است (۸). این کاهش به سرعت پس از قطع فعالیت رخ می‌دهد و با قطع مسیر بایوژنز موجب کاهش بیان میانجی‌های سنتز میتوکندری می‌شود (۶) که احتمالاً عملکرد قلبی را تضعیف می‌کند. لذا توجه به این مسیر مهم می‌تواند در دوره بی‌حرکی یا بی‌تمرینی ناشی از آسیب یا عوامل دیگر بسیار کلیدی‌تر به نظر برسد.

پس از یک دوره فعالیت ورزشی سازگاری‌های عضلانی و قلبی - عروقی زیادی ایجاد می‌شود و از منظر میتوکندریایی نیز تغییرات مطلوبی رخ می‌دهد، با این وجود در اثر آسیب و بی‌حرک شدن یک اندام به سرعت روند کاهش توده عضله و کاهش استقامت قلبی عروقی همزمان با آن رخ می‌دهد (۱۴). با این وجود، براساس جستجوهای انجام‌شده در پایگاه‌های داده‌های علمی، هنوز سازوکارهای سلولی محتمل، مسیرها و آبشارهای پیام‌رسان این کاهش در اثر بی‌تمرینی به خوبی تبیین نشده است. از آنجایی که فعالیت‌های منظم هوازی اثر محافظت‌کنندگی در دستگاه‌های فیزیولوژیایی بدن به ویژه میتوکندری‌های سلول‌های قلبی دارند اما اثر بی‌تمرینی بر تغییرات میتوکندریایی سلولی بیان ژن‌های $PGC-1\alpha$ ، $AMPK$ ، $SIRT-1$ ، $NRF-1$ در بافت قلبی مشخص نشده است، هدف پژوهش حاضر این است که مشخص کند، آیا در شرایطی که فعالیت‌های ورزشی سازگاری‌های مطلوبی ایجاد کرده‌اند، دوره بی‌حرکی می‌تواند موجب کاهش عملکرد میتوکندریایی از طریق تغییر در بیان ژن‌های درگیر شوند یا خیر؟ از اینرو هدف پژوهش حاضر تعیین تأثیر یک دوره بی‌حرکی اندام تحتانی بر بیان برخی ژن‌های تنظیم‌کننده ($AMPK$ ، $PGC-1\alpha$ ، $SIRT-1$ ، $NRF-1$) فرآیندهای میتوکندریایی عضله قلبی رت‌های تمرین کرده و بی‌تمرین است.

روش‌شناسی

پژوهش حاضر از نوع توسعه‌ای و به روش تجربی بود. تعداد ۱۸ رت نر نژاد اسپراگ داوولی در سن هشت هفتهگی با میانگین وزنی 20 ± 20 گرم از مرکز آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و به آزمایشگاه حیوانات منتقل و تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲

ساعت تاریکی) و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد و درجه حرارت 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد به مدت دو هفته نگهداری شدند. رت‌ها در طول دوره، دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و غذای آن‌ها از خوراک استاندارد حیوانات آزمایشگاهی شرکت جوانه خراسان تهیه شد. مجوز ملاحظات اخلاقی به شماره IR.SUMS.REC.1396.S444 از دانشگاه علوم پزشکی شیراز دریافت شد. رت‌ها ابتدا تصادفی به دو گروه کنترل (تعداد=۶) و تمرین (تعداد=۶) تقسیم شدند تا گروه تمرین در مرحله دوم (القای بی‌حرکی) به دو گروه (۱) تمرین، (۲) تمرین+بی‌حرکی (تعداد=۶) تقسیم شوند. در ابتدا رت‌ها به دو گروه کلی تقسیم شدند: گروه کنترل و گروه تمرین. هر دو گروه دو هفته آشناسازی را پشت سر گذاشتند به این صورت که چهار روز در هفته روی تردمیل با سرعت ۵ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه دویدند. شش هفته بعدی برای گروه تمرین با افزایش بار تمرین همراه بود و گروه کنترل در این مدت سه روز در هفته روی تردمیل با سرعت ۵-۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه دویدند. بعد از آخرین جلسه تمرین، اندام تحتانی همه گروه‌ها به مدت یک هفته کست شد.

گروه کنترل به دو گروه (کنترل استاندارد) و (کنترل+بی‌حرکی) تقسیم شدند. تمرین‌ها در بازه زمانی ۱۵ الی ۱۸ انجام شد. در طول دوره تمرین از دستگاه شوک الکتریکی برای شرطی‌سازی حیوانات به دلیل انتقال استرس منفی به حیوان استفاده نشد، بلکه شوک‌بادی بود.

مداخله‌های تمرین: رت‌های گروه ورزش به مدت شش هفته (پنج روز در هفته) تمرین استقامتی انجام دادند. پیش از تمرین اصلی حیوانات به منظور آشناسازی، یک هفته (پنج روز در هفته) و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه و از سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه روی نوارگردان دویدند. تمرین اصلی بعد از دو روز استراحت از سرعت ۱۷/۵ متر بر دقیقه در هفته اول/ به مدت ۱۵ دقیقه، به سرعت ۳۰ متر در دقیقه در هفته آخر/ به مدت ۶۰ دقیقه رسید و نحوه افزایش زمان نیز به صورت هفتگی بود (جدول ۱). برای القای تأثیرات تماس با نوارگردان گروه کنترل با سرعت پنج متر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه تجربه قرارگیری روی نوارگردان را داشتند.

فرآیند بی‌حرک‌سازی اندام تحتانی: برای بی‌حرک‌سازی اندام تحتانی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، تمامی رت‌ها با ترکیبی از کتامین/زایلازین بی‌هوش شدند. سپس هر

اندازه‌گیری سطح بیان ژن‌های این پژوهش از روش Real PCR Time-PCR (qRT-PCR) با کمک آنزیم RealQ Plus 2x Master Mix Green Ampliqon A/S (Stenhuggervej Denmark) و با استفاده از دستگاه applied Bio systems Step One™ (فاستر سیتی، کالیفرنیا) صورت گرفت. مخلوط واکنش بر اساس پروتکل پیشنهادی بدین صورت آماده شد. ۲ میکرولیتر از cDNA الگو، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۶/۸ 10X PCR Buffer و ۰/۴ میکرولیتر از هر دو پرایمر Forward و Reverse و ۰/۴ میکرولیتر از Tag DNA Polymerase برای به دست آوردن بهترین دما مورد استفاده قرار گرفت و آب که حجم نهایی واکنش به ۲۵ میکرولیتر رسید. برنامه زمانی - گرمایی دستگاه طبق مراحل زیر انجام شد. پروتکل دمایی به صورت دنا تورا سیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه‌ی متوالی به صورت دنا تورا سیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در مرحله‌ی آخر ضمن بررسی نمودار ذوب، محصولات توسط الکتروفورز در سطح ژل آگارز ارزیابی شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش نرم افزار آنالین Primer-BLAST (NCBI) طراحی شدند (جدول ۲) و همچنین از ژن Beta 2 Microglobulin (B2M) به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد.

روش‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس مقایسه‌ی چرخه‌ی آستانه (CT) انجام شد. منحنی تکثیر هر واکنش PCR با منحنی تکثیر ژن مرجع B2M مربوطه نرمالیزه شد. تفاوت CT به دست آمده از نمونه‌های مورد آزمایش و نمونه‌های کنترل محاسبه و با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ نسبت ژن هدف به ژن مرجع محاسبه شد. از آب به عنوان کنترل منفی واکنش PCR در هر دور از واکنش PCR برای هر ژن استفاده شد. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS-19 و کلیه نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان و در سطح معناداری ($\alpha \leq 0/05$) پردازش و سپس تحلیل شد. برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون کلموگروف - اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه‌ی تفاوت بین گروه‌ها نیز آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (آنوا) و آزمون تعقیبی توکی بکار رفت.

دو پای همه با استفاده از چسب ضد حساسیت و لوکوپلاست از مفاصل ران، زانو (در حالت اکستنشن) و مچ پا (در حالت پلانتر فلکشن) برای هفت روز فیکس شدند. لازم به ذکر است اندام تحتانی رت‌ها بی‌حرکت شد و توانایی مصرف آزادانه آب و غذا را داشتند (۱۵).

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری‌ها: ۲۴ ساعت پس از آخرین روز بی‌حرکی (هفت روز)، همه رت‌ها پس از ناشتایی شبانه نمونه‌برداری شدند. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا وزن حیوان اندازه‌گیری شد و سپس با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. سپس، قلب حیوان برداشته و در سرم فیزیولوژیایی شستشو داده و در ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن‌کشی، سپس بلافاصله بطن چپ از قلب جدا و با ترازو وزن شد. نسبت وزن قلب به وزن بدن با تقسیم کردن وزن قلب بر وزن مطلق آن‌ها محاسبه گردید. بافت بطن چپ با استفاده از ازت مایع منجمد و برای سنجش‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بافت‌ها با استفاده از یک میلی‌مول محلول تریزول (Invitrogen) لیز شده و با دستگاه همگن‌کننده بافت کاملاً هموژن شده و در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲۵ میلی‌لیتر نیتروژن انجام پذیرفت و استخراج RNA با ۵۰ میلی‌گرم بافت که با استفاده از RNX-Plus لیز شده بود، توسط کیت شرکت یکتا تجهیزآزما ساخت ایران (تهران) (YT9065) و براساس دستورالعمل کیت انجام گرفت. برای جداسازی RNA از کلروفرم و ایزوپروپانول و شستشوی آن از اتانول ۷۵ درصد استفاده گردید. برای از بین بردن آلودگی‌های DNA از RNase-DNase-free استفاده شد. کل نمونه‌ها با دستگاه پیکودراپ (picodrop limited, Hinxton, United Kingdom) برای اندازه‌گیری RNA و سنجش غلظت در طول موج‌های ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۳۰/۲۸۰ سنجیده شدند. سنتز cDNA با استفاده از کیت RevertAaid™ First Strand cDNA Synthesis، شرکت فریمنتاز آمریکا (Waltham, Massachusetts, USA) به شماره K1622) و بر اساس پروتکل سنتز cDNA کیت انجام شد. با اضافه کردن RNase inhibitor برای از بین بردن آلودگی سنتز cDNA در دستگاه ترموسایکلر (Cleaver Scientific Ltd, Warwickshire, United Kingdom) انجام شد. به منظور

جدول ۱. طرح پروتکل تمرین هوازی تداومی

سرد کردن	بدنه اصلی تمرین						گرم کردن	مراحل تمرین مؤلفه تمرین
	هفته ۶	هفته ۵	هفته ۴	هفته ۳	هفته ۲	هفته ۱		
۱۵	۶۰	۵۰	۴۰	۳۰	۲۰	۱۵	۱۵	زمان تمرین (دقیقه)
۵	۳۰	۲۷/۵	۲۵	۲۲/۵	۲۰	۱۷/۵	۵	سرعت (متربردقیقه)

جدول ۲. پرایمرهای Real-time PCR (ژن Beta 2m c به عنوان ژن خانه بان با نرم افزار ال ای دی ۶)

Primer Sequences	Genes
5'- ATGAAAAGGTTGAGACTTTTCA -3':Forward 5'- GCAAAGTGGCAGAACAATG -3':Reverse	AMPK
5'- CCCAACAAGCTCTGCCTG -3':Forward 5'- GGGAGCATAGTTGACCTGAAAC -3':Reverse	PGC-1 α
5'- CTCTAACATCTCCCATCTCTC-3':Forward 5'- TTCAAGAAGTCACATAGGCAG-3':Reverse	SIRT-1
5'- TTCGCAAGGACCCAATGA -3':Forward 5'- TCCAAGCTCCCATTGAACAT -3':Reverse	NRF-1

یافته‌ها

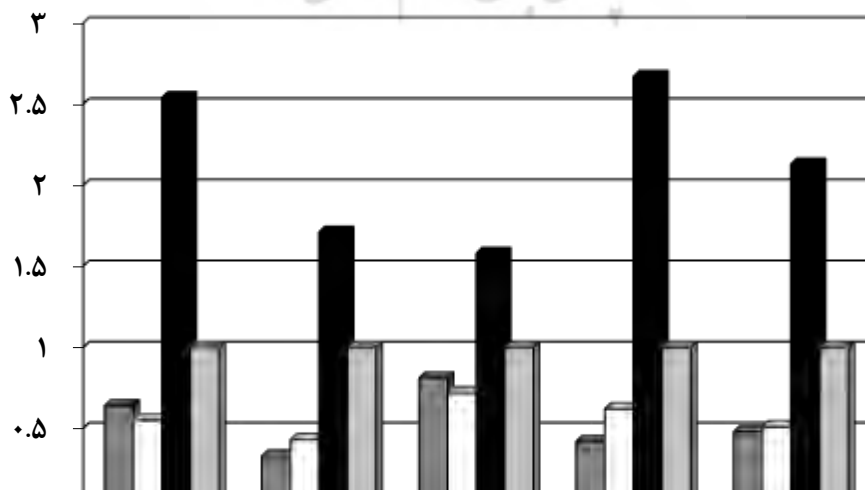
نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد در گروه تمرین نسبت به دو گروه تمرین + بی- تحرکی و کنترل + بی تحرکی بیان ژنهای (F=۳۸/۲۴, P<۰/۰۱) SIRT-6 (F=۲۳/۰۷, P<۰/۰۱), SIRT-1 (F=۴/۰۳, P<۰/۰۵) و PGC1- α (F=۴۶/۳۲, P<۰/۰۱) و AMPK (F=۱۰/۳۵, P<۰/۰۱) و NRF-1 به طور معنی دار بالاتر بود.

وزن بدن در گروه کنترل + بی تحرکی از گروه تمرین + بی تحرکی و تمرین بالاتر بود و در گروه تمرین بیشتر از گروه تمرین + بی تحرکی بود. وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن گروه تمرین + بی تحرکی نسبت به گروه کنترل + بی تحرکی و تمرین از لحاظ آزمون آماری به طرز معناداری بیشتر بود (جدول ۳). بیان نسبی ژنهای مورد بررسی در نمودار ۱ ارائه شده است.

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد وزن و نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه

تحلیل واریانس یکطرفه	تمرین	تمرین + بی تحرکی	کنترل + بی تحرکی	
---	۳۴۱/۵±۳۳	۲۸۶/۷±۸۳/۱۳	۳۳۷/۴±۵۰/۲۳	وزن بدن (گرم)
P<۰/۰۱, F=۲۰/۷۲	۱/۰±۱۱/۰۶*	۱/۰±۴۰/۱۴	۱/۰±۱۷/۱۲*	وزن قلب (گرم)
P<۰/۰۱, F=۴۷/۷۴	۳/۰±۱۱/۳۴*	۴/۰±۸۸/۴۹	۳/۰±۴۶/۰۴*	وزن قلب/وزن بدن (میلی گرم/گرم)

* تغییرات معنادار نسبت به گروه تمرین + بی تحرک



نمودار ۱. تغییرات سطح بیان ژن گروه‌ها

بحث

هایپرتروفی فیزیولوژیایی عضله قلبی با توسعه عملکرد میتوکندریایی همراه است و بالعکس در زمان آتروفی عضله قلبی، اختلال در میتوکندری و آنزیم‌های وابسته رخ می‌دهد که این فرآیند می‌تواند معکوس هم شود، یعنی اختلال در کارکرد میتوکندری موجب افزایش عوامل اکسایشی شود (کارکرد نامناسب میتوکندری) و در نهایت با شروع فرآیند آپوپتوز، آتروفی عضله قلبی کلید می‌خورد (۱۶). همانگونه که در مطالعات آمده است که بعد از یک ماه بی‌تمرینی توده بطن چپ کاهش داشت (۱۷، ۱۱). در این پژوهش نشان داده شد عضله قلبی و نسب وزن عضله قلبی به وزن رت‌ها در گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل+بی‌حرکی افزایش یافته است که اثرات مثبت فعالیت هوازی را مشخص می‌کند. این نوع فعالیت‌ها در مطالعات گذشته اثرات خود را بر کارکرد و هایپرتروفی عضله قلبی نشان داده‌اند (۱۸). اما اینکه همراه با اندازه‌گیری ژن‌های تنظیم‌کننده عملکرد میتوکندریایی گزارش شوند تاکنون مطالعه‌ای دیده نشده است. با توجه به اثرات وضعیت اکسیدانی و اینکه عملکرد نامناسب میتوکندری از عوامل مهم این وضعیت اکسیدانی است، در این مطالعه به این موضوع پرداخته شد که آیا تغییرات ژن‌های تنظیم‌گر عملکرد میتوکندریایی می‌تواند در دوره بی‌حرکی رت‌ها دچار تغییرات متفاوتی باشد و با توده عضلانی بافت قلب مرتبط باشد یا خیر.

مهم‌ترین یافته پژوهش حاضر این بود که در گروه تمرین نسبت به دو گروه بی‌حرکی بیان تمام ژن‌های SIRT-1، SIRT-6، AMPK، PGC1- α و NRF-1 مقادیر بیشتر و معناداری داشتند. این یافته‌ها در گروه تمرین تاییدکننده‌ی اثرات مثبت فعالیت ورزشی بر توده بافت عضلانی قلب است که همراه با بهبود ژن‌های مداخله‌گر عملکرد میتوکندری است. این سازگاری‌ها، بخشی به افزایش ناشی از تمرین در پروتئین‌های درگیر در انتقال و اکسایش سوسترهای متابولیک و نیز افزایش محتوای میتوکندریایی مربوط است (۱۹). شواهد حاکی از آن است در عضله قلبی PGC-1 α در تنظیم و تعدیل ژن‌های رمزگذار میتوکندریایی و هسته‌ای مورد نیاز در سازگاری‌های متابولیک و انقباضی ضروری باشد (۲۰).

در گروه تمرین+بی‌حرکی مقادیر این ژن‌ها نسبت به گروه تمرین کاهش معناداری یافته است که این کاهش شبیه به

گروه کنترل+بی‌حرکی می‌باشد. این پدیده تاییدکننده اصل بازگشت‌پذیری تمرینی در گروه‌های بی‌حرک است، به گونه‌ای که پس از پایان جلسات تمرینی و تنها گذشت یک هفته از بی‌حرکی، سازگاری‌های بدست آمده شروع به کاهش می‌کنند و این کاهش به طور خاص با حرکت اندام‌ها ارتباط دارد (برخلاف شیوه قطع عصب و سالمندی).

علت کاهش ژن‌های میتوکندریایی در گروه تمرین+بی‌حرکی را شاید بتوان سطوح بالاتر این ژن‌ها در گروه تمرین دانست که با ایجاد بی‌حرکی کاهش شدیدی را تجربه کرده‌اند. یعنی تمرین موجب افزایش بیان ژن‌ها شده است و آن را به مقادیر بالاتری از سطوح گروه کنترل+بی‌حرکی رسانده است و با ایجاد بی‌حرکی کاهش شدیدی یافته است. اما در گروه کنترل+بی‌حرکی که مقدار ژن‌ها در ابتدا نیز زیاد نبود، در دوره بی‌حرکی هم کاهش زیادی نیافته است هرچند که بی‌حرکی در این گروه هم موجب کاهش شده است. بطور کل این کاهش در گروه تمرین بیشتر از گروه کنترل+بی‌حرکی بود. این موارد نشان دهنده این است که بی‌حرکی در گروه ورزشی بیشتر از گروه کنترل+بی‌حرکی اثرگذار است و سازگاری‌های ایجاد شده را سریع‌تر کاهش می‌دهد. نظر به اینکه در مطالعه حاضر فعالیت پروتئین‌کیناز فعال شده با AMPK (AMPK) در اثر بی‌تمرینی کاهش داشت و از آنجایی که مهار AMPK فعالیت PGC-1 α را مهار می‌کند، لذا کاهش PGC1 α در اثر بی‌حرکی در بافت قلبی منطقی به نظر می‌رسد. پیشتر مستند شده است AMPK یک حسگر وابسته به انرژی است و در شرایطی که تقاضای انرژی در سلول کاهش یابد فعالیت آن نیز کاهش می‌یابد (۲۱). با توجه به اینکه در بی‌حرکی اندامی و بی‌تمرینی تقاضای انرژی کاهش می‌یابد لذا کاهش AMPK و به دنبال آن کاهش PGC1 α منطقی است. با توجه به اینکه PGC1 α بیان NRF1 را مستقیم تنظیم می‌کند (۱۸)، بنابراین کاهش PGC1 α کاهش NRF1 را به دنبال داشته است. از سویی تنظیم ژنی و پروتئینی PGC1 α توسط Sirt1 و Sirt6 نیز تنظیم می‌شود (۲۲). به لحاظ عملکردی در اثر سازگاری‌های حاصله با فعالیت ورزشی SIRT1 با داستیله کردن PGC1 α آن را فعال می‌کند که پیامد آن افزایش بایوزن میتوکندریایی است (۲۳، ۲۴) همچنین Sirt6 با تنظیم مسیرهای متابولیکی مهم مانند IGF1 و AMPK در کنترل متابولیسم درگیر است (۲۵). در نتیجه هر گونه تغییر در Sirt6 با تغییر AMPK و در نهایت

بیان PGC1 α موجب کاهش تخریب پروتئینی و آتروفی عضله می‌شود، زیرا بیان آن موجب افزایش بیان پروتئین، دفاع ضد اکسایشی و توده میتوکندریایی می‌شود (۳۰). در پژوهش حاضر در گروه تمرین بیان PGC1 α بیشتر از دو گروه بی‌حرکی بوده است و بی‌حرکی از عوامل اصلی کاهش بیان PGC1 α بوده که احتمالاً منجر به کاهش بایوژنز میتوکندریایی و آتروفی عضله قلبی می‌شود.

فشار اکسایشی تولیدی ناشی از بی‌حرکی و عدم تعادل در انرژی میتوکندریایی موجب سرکوب خانواده SIRT و کاهش محتوای درون عضلانی PGC1 α می‌شود. از آنجا که فعالیت‌های هوازی با توسعه مقادیر PGC1 α با آتروفی مقابله می‌کند، احتمالاً کاهش PGC1 α باعث شروع فرآیندهای مسبب آتروفی یعنی کاهش NRF1 و افزایش FOXO3 در عضله قلبی می‌شود. فعالیت ورزشی با تحریک آبشار سلولی وابسته به AMPK آثار خود را بر مسیرهای پایین دست بویژه PGC1 α می‌گذارد و موجب بایوژنز میتوکندریایی و تولید میتوکندری جدید و حذف میتوکندری‌های ناقص و ضعیف می‌شود تا فشار اکسایشی کاهش یابد و روند آتروفی معکوس شود. در زمان بی‌حرکی این مسیر نیز کاهش می‌یابد و آتروفی عضله قلبی با بیان کمتر ژن‌های تنظیم‌گر میتوکندریایی همراه می‌شود. در این پژوهش با سنجش عوامل بالا و پایین‌دستی آبشار سلولی آتروفی و اختلالات میتوکندریایی ناشی از بی‌حرکی در زمان تمرین و بی‌تمرینی و شرایط کنترل تا حدود زیادی روشن‌سازی صورت گرفته است. با این وجود با سنجش تراکم میتوکندریایی و عوامل اکسیدانی و همچنین عوامل آتروفی مانند FOXO می‌توان نتیجه‌گیری بهتری در این زمینه داشت که نیاز به مطالعات و بررسی‌های بیشتری می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد با وجود اثرات محافظت‌کنندگی ناشی از فعالیت‌های ورزشی هوازی در مقابل آتروفی ناشی از عدم تحرک، به دلیل سطوح بالای توانایی و آمادگی عضله قلبی، میزان اثرگذاری بی‌حرکی بیشتر خواهد بود و از طریق کاهش عوامل تحریکی هایپرتروفی و افزایش عوامل مهارتی از طریق کاهش دفاع انتی‌اکسیدانی بدست آمده و همزمان افزایش فشار اکسایشی و برداشتن نقش هورمون‌های بسیار مهم رشدی این فرایند ایجاد خواهد شد. ژن‌های تنظیم‌گر میتوکندریایی قلب که در این پژوهش بررسی شدند، با فعالیت‌های ورزشی هوازی

PGC-1 α بر بایوژنز میتوکندریایی سلول‌های عضله قلبی اثر دارد. بدیهی است با کاهش بیان ژن Sirt6 در اثر بی‌تمرینی باید همه‌ی این ژن‌های مهم تنظیمی بایوژنز میتوکندریایی نیز کاهش یابند. بنابراین احتمالاً بی‌تمرینی با کاهش Sirt1 و Sirt6 کاهش همه این ژن‌های مهم تنظیمی بایوژنز میتوکندریایی را موجب شده است (۲۶). از طرفی بی‌حرکی ممکن است با تغییر NAD⁺/NADH سبب کاهش Sirt1 و در نتیجه PGC1 α شود. افزون بر این کاهش AMPK که در مطالعه حاضر در اثر بی‌تمرینی مشاهده شد می‌تواند مقادیر NAD⁺ درون سلولی را تحت تأثیر قرار دهد که با تنظیم کاهشی هدف‌های پایین دست Sirt1 سبب کاهش PGC1 α (۲۷) و در نهایت کاهش بایوژنز میتوکندریایی شده است. به نظر می‌رسد این عوامل در کنار بی‌حرکی اندام‌های بزرگ و از طریق کاهش فشار همودینامیکی بر عضله قلب موجب کاهش توده عضلانی می‌شود که افت عملکرد قلب را به دنبال دارد. البته تأیید این موضوع به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد.

از آنجا که در مطالعات نشان داده شد بی‌تمرینی باعث کاهش بیان ژن AKT می‌شود (۲۸)، ممکن است این کاهش توده عضلانی در دوره بی‌حرکی مرتبط با عدم حرکت و فشارهای درونی و بیرونی باشد و احتمالاً با کاهش پیام‌رسانی IGF-1/ PI3K/ Akt ارتباط داشته باشد، زیرا کاهش اندازه تارهای عضلانی که در دوره سالمندی و در زمان‌های قطع اعصاب اتفاق می‌افتد، با این فرآیند بی‌حرکی متفاوت است و کاهش معناداری در کاهش پیام‌رسانی IGF-1 /PI3K /Akt دیده نشده است (۲۹). نشان داده شده فعالیت‌های هوازی می‌توانند با تحریک بیان PGC-1 α سبب هایپرتروفی در عضلات ناآماده و تمرین‌نکرده شود که اثر آن با مهار عوامل آتروفی انجام می‌شود و نسبت سنتز به تجزیه پروتئین را افزایش می‌دهد (۹). به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر، فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان ژن‌های تنظیم‌گر میتوکندریایی شده است که در دوره بی‌حرکی افت شدید نسبت به گروه تمرین را نشان داده است.

پژوهش‌ها نشان می‌دهند در دوره بی‌حرکی کاهش بیان خانواده PGC1 α اصلی‌ترین عامل کاهش قدرت سلول برای افزایش بایوژنز و حذف بخش‌های آسیب دیده میتوکندری است و مهم‌تر از خانواده SIRT و NRF می‌باشد. این کاهش به سرعت پس از قطع فعالیت رخ می‌دهد و با قطع مسیر بایوژنز موجب کاهش بیان میانجی‌های سنتز میتوکندری می‌شود.

توسعه می‌یابند در نتیجه بی‌حرکی هفت روزه سریعاً کاهش یافته و موجب ادامه روند آتروفی می‌گردد. به طور کلی به نظر می‌رسد که اثرهای محافظتی ایجاد شده در عضله قلبی ناشی از فعالیت ورزشی هوازی (آنتی‌اکسیدانی و توسعه میتوکندریایی) در دوره بی‌حرکی به شدت کاهش یافته و احتمالاً همراه با از دست دادن توده عضله قلبی و افت عملکرد قلبی خواهد بود.

منابع

- Fenning A, Harrison G, Dwyer D, Rose' Meyer R, Brown L. Cardiac adaptation to endurance exercise in rats, in biochemistry of hypertrophy and heart failure. *Mol. Cell. Biochem.* 2003; 251: 51-59.
- Sanchez AM, Candau RB, Bernardi H. Foxo transcription factors: their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *CMLS.* 2014; 71(9): 1657-1671.
- Liu, H, Xin BM, Liu JL, Liu Y, Li YZ, Wang JP. Inhibition of autophagy recovers cardiac dysfunction and atrophy in response to tail-suspension. *Life Sci.* 2015; 121: 1-9.
- Yong Bae, Woo J, Kang S, Shin KO. Effects of detraining and retraining on muscle energy-sensing network and meteorin-like levels in obese mice. *Lipids Health Dis.* 2018; 17:97
- Battiprolu, PK, Hojayeve B, Jiang N, Wang Z. Metabolic stress-induced activation of Foxo1 triggers diabetic cardiomyopathy in mice. *J. Clin. Investig.* 2012; 122(3): 1109-1118.
- Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing Foxo3 action and atrophy-specific gene transcription. *PNAS.* 2006; 103(44): 16260-16265.
- Cooper C, Vollaard N, Choueiri T. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem. Soc Trans.* 2002;30(2): 280-285.
- Sundaresan N, Pillai V, Wolfgeher D, Samant S, Vasudevan P, et al. The deacetylase SIRT1 promotes membrane localization and activation of Akt and PDK1 during tumorigenesis and cardiac hypertrophy. *Sci. Signal.* 2011; 4(182): 46.
- D'Onofrio N, Servillo L, LM Balestrier. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection. *ARS.* 2018; 28(8): 711-732.
- Radaka Z, Suzukib K, Posac A, Petrovskyc Z, Koltaia E, Boldoghd I. The systemic role of SIRT1 in exercise mediated adaptation. *Redox. Biol.* 2020; 35:101467.
- Siagian M, Lousiana M, Santoso D, Endardjo S. Effects of anaerobic exercise and detraining on the caspase-3 expression of rat ventricular cardiomyocyte. *Med J Indones.* 2015; 24: 84-90.
- Farrell PA, M Joyner, Caiozzo V. ACSM's advanced exercise physiology 2011; *Wolters Kluwer Health Adis (ESP).*
- Twig G, Shirihai OS. The interplay between mitochondrial dynamics and mitophagy. *ARS.* 2011; 14(10): 1939-1951.
- Cao DJ, Jiang N, Blagg A, Johnstone J, Gondalia R, Oh M, Luo X, et al. Mechanical unloading activates Foxo3 to trigger Bnip3 - dependent cardiomyocyte atrophy. *J. Am. Heart Assoc.* 2013; 2(2): e000016.
- Frimel, TN, Kapadia F, Gaidosh G, Li Y, Walter G, Vandenborne K. A model of muscle atrophy using cast immobilization in mice. *Muscle & nerve.* 2005; 32(5): 672-674.
- Goffart S, von Kleist-Retzow JC, Wiesner RJ. Regulation of mitochondrial proliferation in the heart: power-plant failure contributes to cardiac failure in hypertrophy. *Cardiovasc. Res.* 2004; 64(2): 198-207.
- Swoboda PP, Garg P, Levlet E, Broadbent DA, Foley AJR, Fent GJ, et al. Regression of left ventricle mass in athletes undergoing complete detraining is mediated by decrease in intracellular but not extracellular compartments. *Circ. Cardiovasc.* 2019; 12: e009417.
- Popov D, Zinovkin RA, Karger EM, Tarasova O, Vinogradova OL. The Effect of Aerobic Exercise on the Expression of Genes in Skeletal Muscles of Trained and Untrained Men. *Hum. Physiol.* 2013; 39(2): 190-195.
- Mirdar Sh, Arzani A, Arabzadeh E, Neyestani F, Baghban M, Ahmadi S. The effect of a period of interval training and step taper on performance indexes in male rats during puberty. *JSB.* 2016; 8(4):619-634. 34. [In Persian].
- Li F, Shi W, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, et al. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. *J Neurosci Res.* 2017; 95(4): 1017-24.
- Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1 α in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2008; 106(3): 929-934.
- Huang CC, Wang T, Tung YT, Lin WT. Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC1 α expression levels in rats of different age. *Int. J. Med. Sci.* 2016; 13(4):260-270
- Hadidi V, Daryanoosh F, Nemati J, Tanideh N. The effect of hind limb immobilization on expression of some genes involved in the regulation of mitochondrial processes in Soleus muscle of trained and untrained rats. *J. Arak Uni. Med. Sci.* 2019; 22(91): 51-61.
- Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell.* 2006; 127(6): 1109-1122.
- Cui x, Yao L, Yang X, Gao Y, Fan F, Zhang J, et al. SIRT6 regulates metabolic homeostasis in skeletal muscle through activation of AMPK. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2017. 313(4): 493-505.
- 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. *Metab.* 2008; 57(7):986-998.
- Gerhart-Hines Z, Rodgers JT, Bare O, Lerin C, Kim SH, Mostoslavsky R, et al. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 α . *EMBO.* 2007; 26(7): 1913-1923.
- Peere M and Azarbayjani MA. The effect of detraining high intensity interval training on the expression of AKT1 and mTORc1 genes in the left ventricle of diabetic rats. *IJDO.* 2020; 12(1): 37-46.
- Pillai VB, Sundaresan NR, Gupta MP. Regulation of Akt signaling by sirtuins: its implication in cardiac hypertrophy and aging. *Circ. Res.* 2014; 114(2): 368-378.
- Tryon LD, Vainshtein Memme JM, Crilly MJ, Hood DA. Recent advances in mitochondrial turnover during chronic muscle disuse. *Integr. Med. Res.* 2014; 3(4): 161-171.

The effect of lower extremity immobilization on expression of some genes involved in the regulation of mitochondrial processes in cardiac muscle of trained and untrained rats

Motahareh Hajati Mdaraei¹, Reza Nuri*², Abbas Ali Gaeini³

1. Phd of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran Kish International Campus, Kish, Iran
2. Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran Kish International Campus, Kish, Iran
3. Professor of Exercise Physiology, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 2020/09/11

Accepted: 2021/03/04

Abstract

*Correspondence:

Email:

nuri_r7@ut.ac.ir.com

Introduction and purpose: Skeletal muscle immobility distorts cardiac adaptations by reducing hemodynamic pressure and causes decrease in cardiac function by increasing oxidative pressure. The aim of was to investigate the expression-changes of mitochondrial regulatory genes, AMPK, PGC-1 α , SIRT-1,2 and NRF-1 as cardiac atrophy effective factors following a period of inactivity in trained/ not-trained rats.

Material and methods: 18male rats were divided into three random groups (exercise, exercise+inactivity, control+inactivity). The training group ran on the treadmill for six weeks, five sessions/week, 15-60 minutes, from 17.5 m/min in the first week to 30 m/min in the last. The trained rats' lower limb was immobilized by molding 48 hours after the last training session, for seven days. The cardiac muscle was extracted, weighed, and the expression level of the mentioned genes was measured (RT-PCR). One-way ANOVA and Tukey's post-hoc test were used (significant level ($\alpha < 0.05$)).

Results: In the exercise group compared to exercise+inactivity and control+inactivity, the expression of genes (F=24.38, P<0.01) SIRT-1, SIRT-6 (F=23.07, P<0.01) 0.01), AMPK (F=4.03, P<0.05), (F=32.46, P<0.01) PGC1- α and (F=35.10, P<0.01) NRF-1 was significantly higher, but heartweight/bodyweight was significantly higher in exercise+inactivity group (F=74.47, P<0.01).

Discussion and Conclusion: The immobility of the organs causes mitochondrial dysfunction by reducing the hemodynamic pressure of the heart and increasing the oxidative pressure, and causes cardiac atrophy by decreased regulation of genes. Aerobic activities have protective effect in cells by stimulating AMPK, but don't prevent changes in the period of inactivity.

Key words: Aerobic training, Cardiac atrophy, Oxidative stress, PGC-1, Mitochondria, Immobilization.