علوم زیستی ورزشی – زمستان ۱۳۹۹
دورهٔ ۱۲، شمارهٔ ۴، ص: ۴۹۲ – ۴۷۳
تاریخ دریافت : ۲۰ / ۰۵ / ۹۹
تاریخ پذیرش : ۲۹ / ۰۹ / ۹۹

مقایسهٔ اثر چهار برنامهٔ تمرینی به مدت هشت هفته بر بیان برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت قلب موش‌های صحرایی

محمدرضا اسد[۱] – زینب ترابی[۲] – علی برزگری*[۳] – حسن عموزاد مهدیرجی[۴]

۱. دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران ۲. کارشناس ارشد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران ۳. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران ۴. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

با توجه به اهمیت پیشگیری از عوامل بروز بیماری‌های قلبی و نیز اطلاعات متناقض در خصوص تأثیر تمرین‌های ورزشی بر بیان ژن‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT)، هدف مطالعهٔ حاضر مقایسهٔ اثر ۴ هفته برنامهٔ تمرینی به مدت ۸ هفته بر بیان GPX و CAT در بافت قلب موش‌های صحرایی بود. بدین‌منظور ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار ۸ هفته‌ای به‌طور تصادفی به ۵ گروه شامل گروه‌های کنترل، تمرین هوازی با شدت متوسط، تمرین هوازی شدید (HIT)، تمرین هوازی تناوبی شدید (HIIT) و تمرین شنا با شدت متوسط (MIST) تقسیم شدند. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یکطرفه و توکی استفاده شد. نتایج نشان داد، افزایش معناداری در بیان ژن‌های GPX وCAT متعاقب هر چهار پروتکل ورزشی در مقایسه با گروه کنترل (P=۰/۰۰۱) و همچنین افزایش معناداری در بیان GPX میان گروه‌های HIIT و HIT نسبت به گروه‌های MIT و MIST (P=۰/۰۰۱) مشاهده شد. همچنین افزایش معناداری در بیان CAT، میان گروه MIST نسبت به گروه‌های MIT و HIIT (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۳۰) و بین گروه HIT نسبت به گروه‌های MIT و HIIT مشاهده شد (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۴۱). ضمن اینکه بین گروه‌های MIT و HIIT نیز اختلاف معناداری وجود داشت (P=۰/۰۰۱). هر چهار شیوهٔ تمرینی با بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی، تغییرات مطلوبی در بافت قلب رت‌های ویستار ایجاد کرد. به‌نظر می‌رسد تمرینات HIT، HIIT و MIST با ایجاد سازگاری مفید در سیستم آنتی‌اکسیدانی، بدن را در مقابل فشار اکسایشی مقاوم‌تر ساخته و تأثیر مطلوب‌تری بر بافت قلبی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی

بطن چپ، تمرین ورزشی، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز.

* **نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۹۱۱۱۱۳۰۰۲۹** Email: **ali_barzegari@pnu.ac.ir**

مقدمه

فعالیت‌های ورزشی، اصلی‌ترین شیوه‌های کنترل و پیشگیری از بیماری‌های مزمن غیرواگیر مانند بیماری‌های قلبی عروقی، اختلالات متابولیکی، پیری، آلزایمر و سرطان محسوب می‌شوند (۱). فعالیت بدنی با وجود فواید گوناگونی که برای سلامتی عمومی انسان دارد، می‌تواند به‌دلیل افزایش فشار اکسایشی از طریق افزایش تولید گونه‌های واکنش‌پذیر، موجب آسیب بافت‌های مختلف بدن از جمله آسیب عضلات اسکلتی، عضلات قلبی و دورهٔ نقاهت بیماری‌ها شود (۲). طی فعالیت‌های ورزشی شدید میزان مصرف اکسیژن ۱۰ تا ۲۰ برابر حالت استراحت افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که در پی کم‌خونی ناشی از فعالیت بدنی، عضلات فعال محیط هایپوکسی را تجربه می‌کنند که می‌تواند موجب برهم‌خوردن توازن میان گونه‌های اکسیژن واکنشی (Reactive oxygen species: ROS) و اجزای آنتی‌اکسیدانی بدن شود. در پی آن افزایش فشار اکسایشی، پراکسیداسیون لیپید و تغییرات اکسایشی در سطح پروتئین و DNA رخ می‌دهد که در نهایت به تخریب غشا و سخت شدن دیوارهٔ سلول‌ها منجر می‌شود (۳). افزایش فشار اکسایشی ممکن است در پاتوژنز بیماری‌های قلبی عروقی نیز مؤثر باشد. مطالعات بالینی و تجربی نشان داده‌اند که این بیماری‌ها با افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد یا کاهش دفاع ضداکسایشی سبب آسیب اکسایشی در سلول‌های قلبی و آئورت و نیز تصلب شرایین، هیپرتروفی قلب، نارسایی قلبی و پرفشاری خون می‌شود (۲). به‌طوری‌که شواهد حاکی از افزایش تولید ROS در بافت قلبی افراد است (۴). سلول‌های قلب به‌دلیل فعالیت اکسایشی مداوم و قابلیت تکثیر محدود، بیشتر از بافت‌های دیگر در معرض آسیب ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد قرار دارد (۳)، به‌طوری‌که امروزه کاهش عملکرد قلب را به آسیب ناشی از فشار اکسایشی و کاهش تودهٔ سلولی قلب به‌دلیل مرگ سلولی ناشی از این آسیب نسبت می‌دهند (۱). به‌طور کلی می‌توان گفت که بیماری‌های قلبی عروقی از مهم‌ترین نگرانی‌های بهداشت عمومی در دهه‌های اخیر است و شواهد نشان می‌دهد رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در فرایندهای سلولی دخیل در این بیماری‌ها دارند. ازاین‌رو شناخت مسیرهای آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی مؤثر واقع شود (۴).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase: GPX) و کاتالاز (Catalase: CAT) اولین خط دفاعی در برابر آسیب بافت قلب ناشی از گونه‌های اکسیژن واکنشی‌اند (۵). GPX آخرین آنزیمی است که وارد واکنش‌های ضداکسایشی می‌شود و نقش آن محافظت ارگانیسم از آسیب اکسایشی به‌واسطهٔ تبدیل پرواکسید هیدروژن به آب است، سپس آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز سبب

تبدیل گلوتاتیون اکسید به گلوتاتیون احیا خواهد شد (۶). آنزیم CAT به‌عنوان اهداکنندهٔ هیدروژن، واکنش تبدیل پرواکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند (۷). عمل این آنزیم‌های ضداکسایشی در مقابل فشارهای اکسایشی از جمله H2O2 قرار می‌گیرد (۵).

یکی از سازوکارهای درگیر در آسیب بافت قلب پیشرفت و افزایش فشار اکسایشی است. ممکن است سازوکار احتمالی آن بدین‌گونه باشد که سلول‌ها مقدار زیادی رادیکال آزاد اکسیژن تولید می‌کنند که می‌تواند به تغییر شکل چربی‌ها، پروتئین‌ها و DNA منجر شود؛ مانند ($O2^{-}$•) که به‌صورت تسهیم نامتناسب بر روی اتم اکسیژن اتفاق می‌افتد و یک اکسیژن با الکترون اضافهٔ فعال و اکسایشی ایجاد می‌کند. این مولکول‌ها با اتصال به مولکول‌های زیستی فعال مثل پروتئین و آنزیم سبب تخریب آنها می‌شوند (۸). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1]) با اتصال به مولکول آب موجب به‌وجود آمدن آب اکسیژنه (H2O2) می‌شود که مولکولی سمی و به‌شدت اکسیدکننده است و اثر تخریبی بسیاری بر روی غشا سلول دارد (۷). آب اکسیژنه با ترکیب شدن با مولکول آب از طریق آنزیم GPx وCAT مجموعه‌ای از واکنش‌های جفتی را به‌وجود می‌آورد که به احیای چربی‌های اکسیدشده منجر می‌شوند. وقتی تولید ROS افزایش یا توانایی آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد، پیشرفت و افزایش فشار اکسایشی یا عدم تعادل بین عوامل پیش‌اکسیدان و آنتی‌اکسیدان که به نفع عوامل اکسیدانی است، رخ می‌دهد، ازاین‌رو بازسازی قلب و افزایش فشار خون را تشدید می‌کند (۸). در این شرایط فشار اکسایشی با عدم تعادل بین تولید ROS یا نقص در سطوح آنتی‌اکسیدانی درونی و بیرونی ایجاد می‌شود. حضور ROS برای مدت طولانی با بیماری‌های مختلفی مانند بیماری‌های قلبی همراه است که این شرایط عدم تعادل وخیم است و می‌تواند به آسیب سلولی و تخریب بافت قلبی منجر شود. این امر موجب به‌وجود آمدن و توسعهٔ بیماری‌های قلبی با اثر منفی بر روی لیپیدها، پروتئین‌ها و به همان اندازه تولید التهاب و اختلالات شریانی می‌شود (۶). همچنین براساس مطالعات، فشار اکسایشی، بسیاری از مسیرهای پیام‌رسان مرتبط با تکثیر سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که از آنها می‌توان به مسیر گیرندهٔ فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR[2]) اشاره کرد که پروتئین‌هایی همچون فاکتور وابسته به فاکتور هسته‌ای اریتروئید (Nrf2[3]) و Raf در این مسیر درگیر می‌شوند (۴). افزون‌بر آن پروتئین کینازهای فعال‌کنندهٔ میتوژن (MAPKs[4])، فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-

1. Reactive Oxygen Species
2. Epidermal Growth Factor Receptor
3. Nuclear factor erythroid 2
4. Mitogen-Activated Protein Kinase

کیناز (PI3K)، فسفولیپاز C و پروتئین کیناز C تحت تأثیر فشار اکسایشی قرار می‌گیرند. ROS، ژن سرکوبگر P53 دخیل در مرگ برنامه‌ریزی‌شده را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. به این ترتیب فشار اکسایشی با تغییر در بیان ژن‌ها، تکثیر سلولی، مرگ برنامه‌ریزی‌شده و رگ‌زایی، در پیدایش و پیشرفت آسیب‌های سلولی در بافت‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند (۵) و می‌تواند موجب تشدید شرایط در بیماری‌های قلبی-عروقی شود. ازاین‌رو تقویت دفاع ضداکسایشی می‌تواند در برابر بیماری‌های قلبی و نیز التهابی مؤثر واقع شود (۷). می‌توان گفت افزایش سطوح اکسایشی می‌تواند به توسعهٔ بیماری‌های قلبی در افراد منجر شود، ازاین‌رو شناخت راه‌های کاهش آن از طریق آنزیم‌های مؤثر بر کاهش سطوح اکسایشی در بافت‌ها حائز اهمیت است.

با توجه به اینکه بافت قلب دارای تعداد میتوکندری بیشتری نسبت به سایر بافت‌هاست، سوخت‌وساز آن، هنگام فعالیت ورزشی به چندین برابر می‌رسد. این شرایط می‌تواند بافت قلبی را پس از یک جلسه فعالیت ورزشی مستعد آسیب اکسایشی سازد. آسیب‌های برگشت‌ناپذیر ناشی از فشار اکسایشی در بافت قلب می‌تواند به اختلالات شدیدتر مانند اختلال در سلول‌های طبیعی قلب، آسیب به سلول‌های میوکارد و ایجاد و پیشرفت نارسایی قلبی منجر شود (۳)، ازاین‌رو در این مطالعه سازوکارهای تغییرات سطوح آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب بررسی شد.

امروزه مداخلات بسیاری از جمله ورزش منظم به‌عنوان روشی غیردارویی به‌منظور پیشگیری و کنترل شرایط اکسایشی در قلب و بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط با آن به‌کار می‌رود (۱). از طرفی بافت‌هایی کـه به مدت طولانی در معرض افزایش فشار اکسایشی قرار دارند، دچار تطابق در سیستم آنتی‌اکسیدانی از طریق تحریک فعالیت آنزیماتیک می‌شوند که شامل افزایش فعالیت آنزیم‌های CAT و GPX در موش‌های صحرایی ورزش‌کرده نسبت به موش‌های ورزش‌نکرده است. تمرینات منظم ورزشی به‌عنوان راهبرد اصلی برای مقابله با بیماری‌های قلبی عروقی درنظر گرفته شده است که سلول‌های قلبی را از آسیب اکسیدان‌ها محافظت می‌کنند (۴). در این زمینه محمدی و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعهٔ خود اظهار داشتند که وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام و کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز متعاقب ۸ هفته تمرین استقامتی فزاینده در موش‌های نر نژاد ویستار افزایش معنادار داشتند (۹). همچنین نتایج مطالعهٔ افرونده و همکاران (۱۳۹۸) بیانگر آن بود که تمرین هوازی با شدت متوسط به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت قلبی

1. Phosphoinositide 3-kinases

رت‌ها منجر شد (۱۰). دهقان و همکاران (۱۳۹۶) نیز افزایش معناداری در میزان بیان ژن GPX در بافت قلب رت‌ها پس از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید گزارش کردند (۱۱). همچنین پایس[1] و همکاران (۲۰۲۰) افزایش معناداری در سطوح GPX و کاتالاز و نیز VEGF در بافت میوکارد موش صحرایی ویستار متعاقب تمرین تناوبی شدید مشاهده کردند (۱۲). همین‌طور نادری و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند در پی یک دورهٔ شش‌هفته‌ای تمرین اختیاری دویدن رت‌های دیابتی روی نوار گردان، افزایش معنادار آنزیم‌های CAT و GPX در سطوح سرمی و بافت قلب مشاهده شد (۵). نتایج تحقیق گروسارد[2] و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان داد که فعالیت بدنی می‌تواند آنزیم‌های ضداکسایشی را در بافت قلب موش‌های چاق افزایش زیادی دهد (۱۳). درحالی‌که پس از یک دوره تمرین تناوبی شدید تغییر معناداری در سطوح GPX موش‌ها در مطالعهٔ دگو[3] و همکاران (۲۰۲۰) (۱۴) و سطح CAT در مطالعهٔ اکگل[4] و همکاران (۲۰۱۹) (۱۵) و جکلجویک[5] و همکاران (۲۰۱۹) (۱۶) گزارش نشد. همچنین لاهر[6] و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند تمرینات ورزشی کوتاه‌مدت، فشار اکسایشی را در موش‌های هشت‌ماهه به‌وسیلهٔ حذف گلوتاتیون افزایش می‌دهد (۱۷). یافته‌های جاج[7] و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان داد در وضعیت سطح فشار اکسایشی بالا، عدم تغییر در فعالیت آنزیم‌های CAT و GPX در بافت قلبی موش‌های صحرایی مشاهده شده است (۱۸). شواهد نشان می‌دهد تمرین تناوبی شدید، سازگاری‌های قابل مقایسه‌ای را با تمرین تداومی با شدت متوسط با وجود زمان کم و کاهش حجم کل فعالیت ایجاد می‌کند (۱). از سوی دیگر نشان داده شده است که پس از فعالیت‌های شدید بدنی، ROS افزایش می‌یابد و عدم تعادل میان فشار اکسایشی و دفاع ضداکسایشی به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام منجر می‌شود (۴). در این زمینه، لو[8] و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تمرین تناوبی شدید در مقایسه با تمرین هوازی تداومی سبب افزایش بیشتر در ظرفیت تمرینی، کارکرد قلبی و غلظت آنزیم‌های CAT و GPX در رت‌های مدل القای سکته شده است (۱۹). مشاهده شده یک جلسه تمرین، بسته به شدت و مدت آن، می‌تواند سبب شدت‌های متفاوت آسیب اکسایشی و بهبود نشانگرهای ضداکسایشی شود و نوع فعالیت ورزشی از اصلی‌ترین متغیرهایی است که

1. Paes
2. Groussard
3. Guo
4. Akgul
5. Jakovljevic
6. Laher
7. Judge
8. Lu

پاسخ و سازگاری بافت‌های بدن به ورزش را مشخص می‌کند (۱۴). بنابراین، به‌نظر می‌رسد که شدت، مدت و نوع تمرین، آثار متفاوتی بر بروز آسیب‌های اکسایشی و نیز فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی به‌همراه داشته باشد. ازاین‌رو، لازم است تا پژوهش‌های بیشتری در این زمینه صورت گیرد. اگرچه تحقیقات متعددی در خصوص تمرینات ورزشی و سیستم آنتی‌اکسیدانی صورت گرفته و سازوکارهای محتملی پیشنهاد شده است، نتایج مطالعات در مورد ارتباط میان انواع شیوه‌های تمرینی و بیان نشانگرهای زیستی CAT و GPXدر بافت قلب متناقض است. همچنین ارتباط بین ورزش و فشار اکسایشی بی‌نهایت پیچیده است و به نوع، شدت و مدت ورزش بستگی دارد (۱۵). به‌نظر می‌رسد تمرین‌های ورزشی منظم اتأثیرات مفیدی بر فشار اکسایشی و سلامت دارند. در مقابل ورزش حاد به افزایش فشار اکسایشی منجر می‌شود (۱۳)، اگرچه این‌چنین محرک‌هایی برای بالا بردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ضروری به نظر می‌رسند. بنابراین نوع فعالیت ورزشی از اصلی‌ترین متغیرهایی است که پاسخ و سازوکاری بافت‌های بدن به ورزش را مشخص می‌کند. به‌طور کلی، مطالعات فعالیت ورزشی در زمینهٔ تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر شدت‌های مختلف ورزشی به نتیجهٔ واحدی نرسیده‌اند (۱۶، ۱۱)، اما برخی مطالعات نشان داده‌اند که تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد آنها همبستگی مثبت بالایی با شدت و مدت فعالیت ورزشی دارد (۲۰، ۱۲) و بیشتر مطالعات انجام‌گرفته در خصوص تمرینات با شدت متوسط و کوتاه‌مدت بوده است و تحقیقاتی که منحصراً مقایسهٔ چهار شیوهٔ تمرینی با شدت‌های مختلف تمرینی و تغییرات میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بررسی کرده باشند، اندک هستند. بنابراین، هدف از پژوهش پاسخگویی به این پرسش است که آیا شدت‌های گوناگون تمرین هوازی بر بیان CAT و GPX قلبی در موش‌های صحرایی تأثیر دارد؟

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی

روش تحقیق

روش پژوهش از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون بود که به‌صورت ۵ گروهی و مداخله‌ای به‌منظور مقایسهٔ اثر چهار برنامهٔ تمرینی به مدت ۸ هفته بر بیان برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت قلب موش‌های صحرایی انجام گرفت. بدین‌منظور تعداد ۴۰ سر رت بالغ نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۳۳±۲۳۷ گرم از انستیتو پاستور خریداری و به مرکز پژوهش منتقل شدند. حیوانات در محیطی با میانگین دمای ۱/۴±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخهٔ روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی

سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیهٔ هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام گرفت (۲۱). حیوانات از آب و غذای پلت استاندارد (شرکت تولید خوراک دام به‌پرور کرج) که به‌صورت آزاد در اختیار قرار می‌گرفت، تیمار شدند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن‌کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داشت (۲۲). پروتکل این تحقیق براساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.PNU.REC.1398.013 انجام و در کمیتهٔ اخلاق دانشگاه پیام نور به تصویب رسید. حیوانات تصادفی در ۵ گروه کنترل (۸ سر)، تمرین هوازی با شدت متوسط (Moderate-Intensity Training or MIT) (۸ سر)، تمرین هوازی خیلی شدید (High-Intensity Training or HIT) (۸ سر)، تمرین هوازی تناوبی خیلی شدید (High-Intensity Interval Training or HIIT) و تمرین شنا با شدت متوسط (Moderate-Intensity Swim Training or MIST) (۸ سر) تقسیم شدند. در تعیین حجم نمونه، با توجه به فرمول حجم نمونه برای نمره‌های پیوسته، درصورتی‌که تفاوت‌های مورد انتظار برابر با ۱/۵باشد، با توان آزمون ۸۰ درصد در سطح معناداری ۰/۰۵ =α، تعداد آزمودنی‌های هر گروه برابر ۸ است (۲۳).

پروتکل‌های تمرین

به‌منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوار گردان، رت‌ها به مدت ۲ هفته، ۵ روز در هر هفته و در هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان دویدند. حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به دسترسی نداشتن به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوار گردان مطابق با پروتکل هلگرود[1] و همکاران (۲۰۰۷) ارزیابی شد (۲۴). به‌طوری‌که ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد VO2max انجام گرفت. سپس رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۲ متر بر دقیقه تا سر حد واماندگی سرعت افزایش یافت. با توجه نتایج به پژوهش‌ها، ارتباط بالایی بین سرعت نوار گردان و VO2max رت‌ها وجود دارد (۰/۹۴-۰/۹۸ =r، ۰/۰۵>p)، ازاین‌رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن، میزان VO2max رت‌ها را برآورد کرد (۲۵).

پروتکل MIT بدین‌صورت اجرا شد که در هفتهٔ اول ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه بدنهٔ اصلی تمرین شامل دویدن با شدت ۶۵ درصد VO2max با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه انجام

1. Helgerud

گرفت و به‌صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد (جدول ۱)، به‌طوری‌که در هفتهٔ ششم زمان تمرین به ۳۷ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. همچنین سرعت تمرین از هفتهٔ اول تا هفتهٔ هشتم بدون تغییر و معادل ۲۰ متر بر دقیقه بود (۲۵).

پروتکل HIT در هفتهٔ اول، شامل ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه تمرین دویدن با ۶۵ درصد VO2max با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و با شیب فزاینده نوار گردان بود. به صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد (جدول ۱)، به طوری که در هفتهٔ ششم زمان تمرین به ۳۰ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. از سوی دیگر، شیب نوار گردان در هفته‌های اول و دوم ۲ درصد بود و هر ۲ هفته ۲ درصد به شیب افزوده شد تا در هفته‌های هفتم و هشتم به ۸ درصد برسد. همچنین سرعت تمرین از هفتهٔ اول تا هفتهٔ هشتم نیز ۲۰ متر بر دقیقه بود و ثابت نگه‌داشته شد (۲۶).

پروتکل HIIT نیز شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن قبل از انجام تمرین بود، در هفتهٔ اول تا چهارم شامل ۳ وهله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO2max و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وهله دویدن تناوبی کم‌شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO2max و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود. از هفتهٔ پنجم تا هشتم نیز شامل ۴ وهله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO2max و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وهله دویدن تناوبی کم‌شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO2max و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود. زمان بدنهٔ اصلی تمرین در هر تکرار به مدت ۲۸ دقیقه بود (۲۶).

نوار گردان مورد استفاده در این تحقیق، نوار گردان مکانیکی- الکتریکی هفت‌کاناله، ویژهٔ جوندگان، ساخت ایران بود که در انتهای نوار گردان، یک شوک الکتریکی برای تحریک و وادار کردن آزمودنی‌ها به ادامهٔ اجرای برنامهٔ تمرینی، تعبیه شده بود. برای کاهش آثار احتمالی شوک الکتریکی بر نتایج تحقیق حاضر، سعی شد با شرطی کردن حیوانات نسبت به صدا، از استراحت آنها در بخش انتهایی نوار گردان جلوگیری شود.

در نهایت تمرینMIST شامل گرم کردن موش‌های صحرایی به مدت ۵ دقیقه بر روی نوار گردان بود و در ادامه بدنهٔ اصلی تمرین مربوط به پروتکل شنا کردن (شنای آزاد و ماندن روی آب) در مخزن آب به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی‌متری با درجهٔ حرارت ۳۲-۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت زمان ۲۰ دقیقه در هفتهٔ اول بود که به‌صورت هفتگی زمان تمرین افزوده می‌شد، به‌طوری‌که در هفتهٔ ششم زمان تمرین به ۳۰ دقیقه رسید و تا هفتهٔ هشتم نیز ثابت ماند. پس از هر جلسه تمرین شنا با شدت متوسط، سرد کردن

به‌صورت غیرفعال به مدت ۵ دقیقه در پوشال خشک انجام گرفت (۲۷، ۲۶) (جدول ۱). شایان ذکر است که تمرین شنا در این مطالعه، تمرین شنای اجباری بود، بدین‌معنی که موش‌های صحرایی به‌منظور حفظ شناوری خود می‌بایست در داخل آب دست و پا می‌زدند تا بتوانند شناوری خود را حفظ کنند (۲۸). در ضمن در این پروتکل تمرینی از صدا برای ایجاد تحریک به‌منظور انجام فعالیت استفاده شد (۲۵).

جدول ۱. پروتکل برنامهٔ تمرین ۸ هفته‌ای برای گروه‌های مختلف پژوهش

هفته	گروه MIST	گروه HIIT	گروه HIT			گروه MIT	
	زمان (دقیقه)	تکرار	سرعت (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)	شیب	سرعت (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)
۱	۲۰	۳	۲۰	۲۰	۲٪	۲۰	۲۰
۲	۲۲	۳	۲۰	۲۲	۲٪	۲۰	۲۲
۳	۲۵	۳	۲۰	۲۵	۴٪	۲۰	۲۵
۴	۲۵	۳	۲۰	۲۵	۴٪	۲۰	۲۵
۵	۲۵	۴	۲۰	۲۵	۶٪	۲۰	۳۰
۶	۳۰	۴	۲۰	۳۰	۶٪	۲۰	۳۷
۷	۳۰	۴	۲۰	۳۰	۸٪	۲۰	۳۷
۸	۳۰	۴	۲۰	۳۰	۸٪	۲۰	۳۷

نحوهٔ نمونه‌برداری بافتی

برای حذف اثر حاد تمرین و نیز با توجه به نیمهٔ عمر آنتی‌اکسیدان‌ها، نمونه‌برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی انجام گرفت (۲۰). بدین‌منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و بعد از عمل جراحی قفسهٔ سینه، بافت قلب جدا شده و در میکروتیوب‌های مخصوص در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس برای نگهداری به فریزر دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شد. کیت سنتز cDNA توسط Thermo Scientific که با شمارهٔ کاتالوگ K1622 تولید شده است، در این مطالعه استفاده شد. استخراج RNA و سنتز cDNA با توجه به پروتکل‌های استاندارد شرکت سازنده انجام گرفت. پس از جداسازی و هموژن کردن حدود ۵۰ میلی‌گرم از بطن چپ قلب رت‌ها، به کمک QIAzol Lysis Reagent (QIAGEN, Germany) لیز شدند و طبق دستورالعمل شرکت سازندهٔ RNA کل سلول‌ها استخراج شد.

تعیین بیان ژن‌های گلوتاتیون پراکسیداز کاتالاز به روش real-time PCR

واکنش Real-Time PCR در دستگاه ABI؛ (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems, Foster city, USA) انجام گرفت. درون هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای مخلوطی به حجم ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط اصلی سایبرگرین (SYBR Green Master Mix) (Applied Biosystems,UK)، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن، ۴ میکرولیتر از DNA ژنومی و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه شد. برنامهٔ زمانی و دمایی واکنش انجام‌گرفته در دستگاه real-time PCR مدل ABI در سه مرحله عبارت است از: مرحلهٔ اول در یک چرخه به‌منظور فعال‌سازی آنزیم Taq پلیمراز شروع داغ (polymerase Taq start Hot) و دناتوره (Denaturation) اولیهٔ DNA الگو با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه؛ مرحلهٔ دوم به‌صورت متناوب در طول ۴۰ چرخه با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه. در مرحلهٔ سوم به‌منظور رسم منحنی تفکیک یک چرخه با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه اعمال شد. در این مرحله کاهش دما از ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت ۰/۰۳ درجهٔ سانتی‌گراد بر ثانیه انجام گرفت و حدود ۲۰ دقیقه طول کشید. پس از اتمام مرحلهٔ سوم، منحنی‌های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم‌افزار SDS ABI تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت ΔCt برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر مورد $^{-\Delta\Delta CT}$۲ به‌دست آمد. علاوه‌بر این، در این آزمایش تجزیه‌وتحلیل منحنی ذوب به‌منظور اطمینان از ویژگی محصول PCR انجام گرفت. در ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن‌های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار AllelID و توسط شرکت CinnaGen ساخته شده و پس از آن هر پرایمر به‌وسیلهٔ نرم‌افزار BLAST ارزیابی شد تا از قرارگیری جفتی پرایمرها اطمینان حاصل شود. برای پی بردن به صحت محصولات حاصل از واکنش Real-Time PCR، از ژل الکتروفورز استفاده شد که استفاده از آن برای جداسازی مولکول‌های DNA است. مولکول‌های DNAبه‌صورت استخراج‌شده از سلول‌های مختلف یا به‌صورت محصول واکنش‌هایی مثل PCR و Real Time-PCR -و کلونینگ ژن، با استفاده از این تکنیک قابل جداسازی هستند. در این تحقیق، ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی به‌کار رفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه درنظر گرفته شد، به‌طوری‌که دمای هر چرخه به مدت ۱۵ ثانیه تا ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ ثانیه تا ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم شد. پرایمرهای مربوط به رت‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. توالی پرایمرها و اندازهٔ محصولات ژن‌های هدف

Genes	Sequence 55→-3))	رونویسی
گلوتاتیون پراکسیداز	GGT TTT TCC ATG ACG GTG T	5′GPX1 (F)
	CTG AGG GGA TTT TTC TGG	5′GPX1 (R)
کاتالاز	TTTGAGCAGATTGGGAAGAGG	5′CAT (F)
	GATGAAGAAGATAGGGGTGTTG	5′CAT (R)

روش‌های آماری

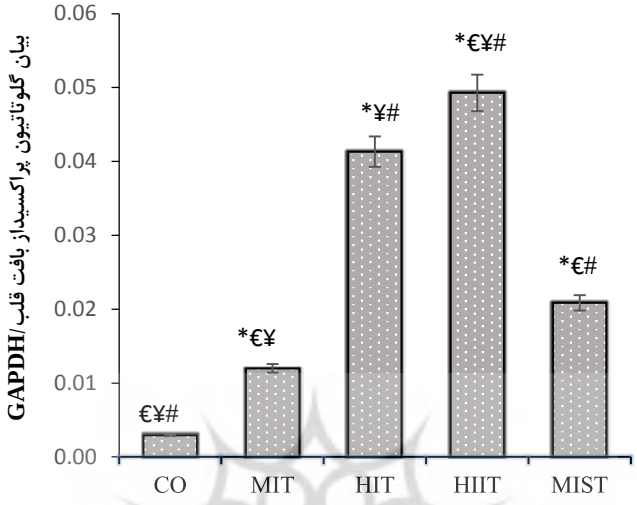
پس از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. سپس با توجه به طبیعی بودن نحوهٔ توزیع داده‌ها از آزمون پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری P≤۰/۰۵ برای بررسی تغییرات بیان ژن‌های GPX و CAT و تعیین محل دقیق تفاوت‌ها استفاده شد. برای انجام تمامی امور آماری از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۰ و برای رسم نمودار از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

یافته‌های پژوهش

در انتهای پژوهش مقادیر وزن بدن موش‌های صحرایی با استفاده از ترازوی دیجیتال، با دقت ۰/۰۱ گرم، مدل GE3002 ساخت سوئیس وزن‌کشی شدند که در گروه کنترل ۳۱۲/۸±۲۵/۸ گرم، گروه تمرین MIT ۳۱۳/۲۸±۷/۶ گرم، گروه تمرینHIT ۳۱۰/۳۱±۳/۴ گرم، گروه HIIT ۲۹۵/۲۷±۶/۲ گرم و گروه MIST ۳۱۷/۲۰±۲/۳ گرم بود که تفاوت معناداری میان گروه‌های مختلف تحقیق مشاهده نشد (P=۰/۰۹).

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که تفاوت معناداری در بیان ژن‌های GPX و CAT در بافت قلب رت‌های گروه‌های تحقیق وجود دارد (P<۰/۰۰۱). بررسی آزمون تعقیبی در گروه‌های تمرینی نشان داد که کاهش معناداری در بیان GPX در نتیجهٔ هر چهار پروتکل تمرینی در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد (P=۰/۰۰۱). همچنین مشاهده شد که با وجود افزایش معنادار در بیان GPX میان گروه HIIT نسبت به گروه‌های MIT و MIST (P=۰/۰۰۱) (به‌ترتیب ۳۱۳٪ و ۱۳۶٪)، اختلاف معناداری بین تغییرات گروه HIIT در مقایسه با گروه HIT وجود ندارد (P=۰/۶۲۲). از سوی دیگر، بیان GPX بافت قلب، بین گروه HIT نسبت به گروه‌هایMIT وMIST افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱)

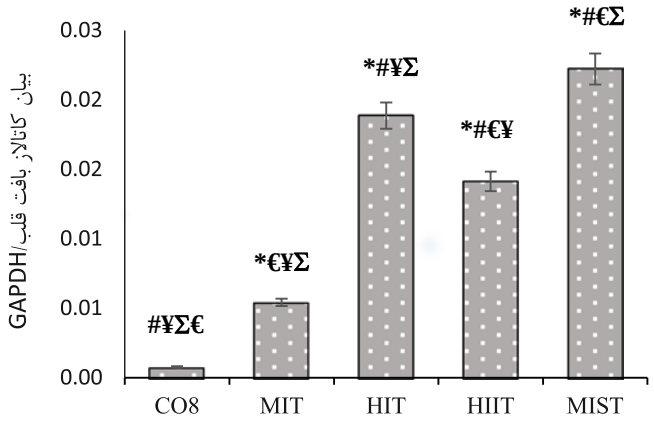
(به‌ترتیب ۲۴۷٪ و ۹۸٪). افزایش معناداری نیز در بیان GPX گروه MIST نسبت به گروه MIT مشاهده شد (P=۰/۰۰۱) (۷۴٪) (نمودار ۱).



نمودار ۱. بیان گلوتاتیون پراکسیداز در بافت قلب موش‌های صحرایی

تحلیل واریانس یکطرفه و توکی، * نشان دهندهٔ تغییر معنادار نسبت به کنترل؛ # نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار نسبت به گروه MIT؛ € نشان‌دهندهٔ تغییر معنادار نسبت به HIT ؛ ¥ نشان‌دهندهٔ تغییر معنادار نسبت به MIST

علاوه‌بر این نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزایش معناداری در بیان CAT بافت قلب در همهٔ گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل وجود دارد (P=۰/۰۰۱). با وجود افزایش معنادار بیان ژن CAT میان گروه MIST نسبت به گروه‌های MIT و HIIT (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۳۰) (به‌ترتیب ۳۱۱٪ و ۵۷٪)؛ با این حال اختلاف معناداری بین گروه‌های MIST و HIT وجود ندارد (P=۰/۵۴۲). همچنین افزایش معناداری در بیان CAT بافت قلب بین گروه HIT نسبت به گروه‌های MIT و HIIT مشاهده شد (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۴۱) (به‌ترتیب ۲۴۸٪ و ۳۳٪). از سوی دیگر بین گروه‌های MIT وHIIT نیز اختلاف معناداری وجود داشت (P=۰/۰۰۱) (۱۶۱٪) (نمودار ۲). شدت باندهای تشکیل‌شده بر روی ژل الکتروفورز نیز در تصویر ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۲. بیان کاتالاز در بافت قلب موش‌های صحرایی

تحلیل واریانس یکطرفه و توکی،* نشان‌دهندهٔ تغییر معنادار نسبت به کنترل؛ # نشان‌دهندهٔ تغییر معنادار نسبت به گروه MIT؛ € نشان‌دهندهٔ تغییر معنادار نسبت بهHIT؛ Σ نشان‌دهندهٔ تغییر معنادار نسبت بهHIIT؛ ¥ نشان‌دهندهٔ

تصویر ۱. بررسی الکتروفروزی بیان ژن‌های GPX و CAT در بافت قلب رت‌های ویستار با استفاده از تکنیک PCR-RT و الکتروفروز ژل آگاروز ۱ درصد

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر به‌منظور مقایسهٔ برنامه‌های تمرینی مختلف بر بیان ژن‌های GPX و CAT در بافت قلب موش‌های صحرایی نژاد ویستار انجام گرفت. نتایج نشان داد۸ هفته برنامه‌های تمرینی سبب افزایش

معنادار بیان ژن GPX در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. همراستا با نتایج تحقیق حاضر، محمدی و همکاران (۱۳۹۹) نشان دادند که ۸ هفته تمرین استقامتی فزاینده و هر هفته ۵ جلسه در موش‌های نر نژاد ویستار (با سن ۱۰ هفته) به افزایش معنادار وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام و کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز منجر شد (۹). دهقان و همکاران (۱۳۹۶) در مقایسهٔ تأثیر تمرین استقامتی با شدت ۴۰ تا ۷۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوار گردان و تمرین HIT با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه بر بیان GPX در بافت قلب رت‌ها دریافتند که میزان بیان ژن GPX تنها در گروه تمرین HIT افزایش معناداری داشت (۱۱). پایس و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعهٔ تأثیرات تمرین هوازی با شدت‌های مختلف بر نشانگرهای زیستی فشار اکسایشی در بافت میوکارد موش صحرایی ویستار نشان دادند که تمرین تناوبی پرشدت به افزایش معنادار سطوح GPX و کاتالاز و نیز VEGF نسبت به تمرین تناوبی با شدت متوسط و موش‌های بی‌تحرک منجر می‌شود (۱۲). همچنین باربوسا[1] و همکاران (۲۰۱۲)، نشان دادند که تمرین ورزشی می‌تواند با کاهش فشار اکسیداتیو در موش‌های صحرایی چاق مبتلا به سکتهٔ قلبی، نقش حمایتی بر روی عضلات قلبی داشته باشد. تمرین ورزشی به کاهش آنیون سوپراکسید و کاهش درصد مرگ‌ومیر منجر شد که احتمالاً ناشی از افزایش فعالیت GPX بود (۲۹). سازوکارهای مسئول محافظت میوکارد ناشی از تمرین ورزشی همچنان به‌عنوان مسئله‌ای قابل بحث باقی مانده و سازوکارهای متعددی در مورد محافظت قلبی ناشی از ورزش در میوسیت قلبی ارائه شده است که شامل تحریک پروتئین‌های شوک گرمایی میوکارد، افزایش فعالیت سیکلواکسیژناز ۲ میوکارد، افزایش پروتئین‌های استرسی شبکهٔ آندوپلاسمی، بهبود عملکرد کانال‌های پتاسیمی سارکولما یا میتوکندریایی ATP و افزایش ظرفیت ضد اکسایشی میتوکندریایی میوکارد و تغییر فنوتیپ میتوکندریایی است (۴). هنگام تمرینات تناوبی شدید متابولیسم پورین با افزایش سطح گزانتین اکسیداز همراه می‌شود که منجر به بالارفتن فشار اکسایشی می‌شود و در زمان ریکاوری با فعالیت متابولیسم هوازی منجر به ایجاد سازگاری دفاع ضداکسایشی می‌شود. متابولیسم هوازی در زمان ریکاوری بین وهله‌های تناوبی شدید با تنظیم کاهشی سیتوکروم اکسیداز و افزایش استفاده از کوآنزیم Q به‌عنوان یک گیرندهٔ الکترون به کاهش استفاده از اکسیژن جهت تبدیل به رادیکال سوپراکسید منجر می‌شود. علاوه‌بر این، نشان داده شده است که تمرینات شدید با بالا رفتن فعالیت GPX از طریق کاهش گلوتاتیون

1. Barbosa

اریتروسیت‌ها همـراه می‌شود کـه نشان‌دهندهٔ حرکت آنزیم‌های ضداکسایشی از منابع ذخیره و تقویت دفاع ضداکسایشی اسـت. از طرفی اثـر بارزتر تمرینات تناوبی شدید بـر سیستم ضداکسایی را می‌توان به مسیرهای متابولیک نسبت داد، به‌گونه‌ای که تغییرات متابولیـک و بـا تـأثیر بـر مسـیرهای AMPK و PGC-1α با تقویت سیستم ضداکسایشی همراه می‌شود (۱۱). نتایج برخی مطالعات با نتایج تحقیق حاضر در تناقض است، به‌طوری‌که در تحقیق گو[1] و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شده است پس از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید، شدت تفاوت معناداری در سطوح GPX موش‌ها ایجاد نکرد (۱۴). همچنین سانگاستاد و همکاران (۲۰۱۵) پس از ۶ هفته تمرینات تناوبی شدید، تفاوت معناداری در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در بافت قلب مشاهده نکردند (۳۰). به‌نظر می‌رسد این عدم تغییر، ناشی از دفاع اکسایشی در اثر اجرای فعالیت بی‌هوازی منظم و پروتکل تمرینی متفاوت نسبت به پژوهش حاضر باشد. بافت‌های مختلف نیز نسبت به فعالیت ورزشی مشابه پاسخ‌های اکسایشی متفاوتی از خود نشان می‌دهند؛ به‌طوری‌که بافت قلب در مقایسه با گروه کنترل خود، بر اثر تمرین‌های تناوبی سرعتی بیشتر از بافت‌های کبد و عضلهٔ اسکلتی تحت فشار اکسایشی قرار می‌گیرد. ازاین‌رو به‌نظر می‌رسد که فعالیت بدنی شدید و نامنظم از طریق افزایش کاتکولامین‌ها، پروستانوئیدها و فعالیت ماکروفاژها بر عملکرد اکسایشی سلول‌ها و ساختمان غشای سلولی اثرگذار باشد و موجب افزایش فشار اکسایشی و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (۱۴)، هرچند کاهش جریان خون موضعی در ابتدای فعالیت بدنی در روند افزایش پراکسیداسیون لیپیدی محسوب می‌شود (۱۱)، با این حال اجرای تمرینات ورزشی منظم و مستمر، از طریق افزایش دفاع ضداکسایشی، موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و پروتئینی می‌شود (۱۲). در حال حاضر، تمرینات تناوبی شدید به‌عنوان گزینه‌ای ارزشمند و کارامد در پیشگیری، کنترل و بازتوانی بیماری‌های قلبی عروقی مطرح شده‌اند (۲۰)، چراکه به‌نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید تأثیرات مثبتی بر سطوح فشار اکسایشی با افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدان درونی دارد (۱۳). همچنین برخی محققان اعتقاد دارند تمرینات تناوبی شدید اثربخشی بیشتری در نرمال‌سازی فشار اکسایشی با اثرگذاری مثبت بر عوامل پیش‌اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی دارند (۱۱). نتایج این پژوهش تأثیر مطلوب فعالیت ورزشی بر دفاع اکسایشی آنزیمی را تأیید کرد و نشان داد که احتمالاً این پاسخ با شدت فعالیت ورزشی ارتباط دارد. به‌نظر می‌رسد تأثیرات مطلوب تمرینات ورزشی بر دفاع اکسیدانی وابسته به GPX تحت تأثیر شدت فعالیت ورزشی باشد. بنابراین

1. Guo

در تقویت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تمرینات تناوبی شدید، برتری محسوسی نسبت به تمرینات دیگر داشتند. با توجه به پایین بودن شدت پروتکل‌های تحقیق حاضر نسبت به تمرینات شدید، احتمالاً دلیل اختلاف مشاهده‌شده، خنثی شدن عوامل اکسایشی در این گروه در مقایسه با دیگر گروه‌هاست.

از نتایج مهم دیگر تحقیق حاضر، افزایش معنادار بیان ژن CAT در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل بود. همراستا با نتایج تحقیق حاضر افرونده و همکاران (۱۳۹۸) اظهار داشتند که ۶ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط به‌صورت فزاینده بر روی بافت قلب رت‌ها به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز منجر می‌شود (۱۰). گروسارد[1] و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرین تناوبی شدید و تمرین تناوبی با شدت متوسط به افزایش سطح کاتالاز در رت‌های چاق منجر می‌شود و این افزایش در تمرین تناوبی شدید بیشتر است (۱۳). در واقع علت افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند یک پاسخ جبرانی به‌منظور مقابله با افزایش فشار اکسایشی ناشی از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد باشد (۹)؛ به‌طوری‌که مبنی بر شواهد علمی، پراکسید هیدروژن که در سلول‌ها از طریق CAT خنثی می‌شود، در سطح عروق افزایش می‌یابد که می‌تواند نشان‌دهندهٔ قرارگیری طولانی‌مدت بافت قلبی در معرض فشار اکسایشی و دلیلی جهت افزایش فعالیت CAT جهت مقابله با آن باشد (۱۰). نتایج برخی مطالعات در تضاد با نتایج تحقیق حاضر است، به‌طوری‌که فرهنگی و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که انجام ۸ هفته تمرین ورزشی استقامتی روی نوار گردان تأثیری بر سطوح CAT بافت قلبی ندارد (۳۱). داسیلوا و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند دویدن پیوسته و دویدن در شیب (۴۵ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته) فعالیت CAT کبدی موش‌های تمرین‌کرده را کاهش می‌دهد (۳۲). ناهمخوانی نتایج این تحقیق با یافته‌های سایر پژوهشگران می‌تواند به‌دلیل عواملی همچون شدت، مدت، نوع فعالیت، جنسیت و سازگاری به فعالیت باشد (۱۳). جکلجویک[2] و همکاران (۲۰۱۹) نیز متعاقب ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته فعالیت ورزشی تناوبی شدید و تناوبی با شدت متوسط روی تردمیل (به مدت ۶۰ دقیقه) کاهش فعالیت CAT را در قلب رت‌های مبتلا به فشار خون گزارش کردند (۱۶). در این مطالعه رت‌های مبتلا به فشار خون حضور داشتند که ممکن است یک دلیل ناهمسو بودن نتایج این تحقیق با تحقیق حاضر باشد. همچنین در تحقیق اکگل[3] و همکاران (۲۰۱۹) پس از ۸ هفته

1. Groussard
2. Jakovljevic
3. Akgul

تمرین تناوبی شدید در شرایط کم‌اکسیژنی، سطوح CAT تغییر معناداری نداشت (۱۵)، که علت ناهمسویی با تحقیق حاضر می‌تواند شرایط پروتکل تمرین باشد. به‌طوری‌که نتایج برخی تحقیقات در این زمینه نشان داده است که هر اندازه فعالیت در مدت زمان بیشتری انجام گیرد و شدت آن فزاینده‌تر باشد، سطح رادیکال‌های آزاد نیز افزایش بیشتری خواهد یافت. از آنجا که محل تجمع اصلی CAT در پروکسی‌زوم‌هاست، با این حال منبع اصلی H2O2 هنگام ورزش‌های شدید میتوکندری است. بنابراین در اثر سازگاری به فعالیت‌های ورزشی سطوح کاتالاز نیز افزایش می‌یابد و در نتیجه افراد ورزشکار از فعالیت و سطح کاتالاز بیشتری نسبت به افراد غیرورزشکار برخوردار می‌شوند (۱۳).

هر دو حالت تمرین تناوبی خیلی شدید و تمرین تداومی با شدت کم سبب بهبود متغیرهای متابولیسم انرژی قلبی می‌شوند. علاوه‌بر این، تمرین تناوبی خیلی شدید موجب کاهش فشار اکسایشی قلبی، همراه با بهبود عملکرد دیاستولی می‌شود (۱۴). تمرین HIIT از طریق مسیرهای وابسته به فسفات و کلسیم و نیز فعالیت آنزیم‌های کیناز وابسته به AMPK و کالمودولین، سبب افزایش SIRT1 می‌شود و در پی آن، SIRT1 از طریق فعال‌سازی مسیر FOXO3 و AMPK سبب افزایش بیان ژن آنزیم‌های ضداکسایشی CATو کاهش فشار اکسایشی ناشی از ورزش شدید می‌شود. از سوی دیگر، رهایش کلسیم در پی انقباض عضلانی موجب فعال شدن کالمودولین، کلسی نورین و کالمودولین کیناز و نیز افزایش بیان ژن‌های SIRT1و PGC-1a و فعال‌کردن PPAR در بافت‌های مختلف بدن از جمله قلب شده و به افزایش تمایز و کاهش سایز آدیپوسیت‌ها، اکسایش لیپیدی و اسیدهای چرب در دسترس میتوکندری و نیز افزایش شبکهٔ مویرگی و چگالی میتوکندریایی و در نهایت، افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی و در نتیجه بهبود عملکرد ورزشی منجر می‌شود (۳۳). می‌توان گفت تمرینات منظم سبب ایجاد نوعی سازگاری در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترمیم می‌شوند که این امر افزایش مقاومت نسبت به فشار اکسایشی را موجب می‌شود و کاهش سطوح اکسایشی می‌تواند به کاهش بیماری‌های قلبی در افراد منجر شود.

براساس رابطهٔ مقدار- پاسخ می‌توان گفت با افزایش شدت فعالیت ورزشی هوازی، تواتر قلبی، نیروی انقباضی و در نتیجه تقاضاهای انرژتیکی عضلهٔ قلبی بیشتر افزایش می‌یابد. در واقع فعالیت ورزشی شدید به‌عنوان یک محرک قوی‌تر در مقایسه با فعالیت ورزشی کم‌شدت می‌تواند بر میزان ترشح کاردیوکاین‌هایی ضداکسایشی و بالطبع سازگاری‌های عملکردی و ترمیم عضلهٔ قلبی تأثیرگذار باشد (۱۰). بنابراین، لازم است این فرضیه در پژوهش‌های آینده بررسی و بازبینی شود. هرچند نتایج این پژوهش از آثار محافظتی تمرین تناوبی هوازی پرشدت بر بهتر شدن سیستم ضداکسایشی حمایت می‌کند، اما باید به برخی

محدودیت‌های این پژوهش نیز توجه داشته باشیم. استفاده از نمونه‌های حیوانی از محدودیت‌هایی است که تعمیم و بسط یافته‌های پژوهشی این پژوهش را به نمونه‌های انسانی با مشکل روبه‌رو می‌کند. تفاوت‌های فیزیولوژیکی و چرخهٔ زندگی برخی از دلایلی است که می‌تواند این محدودیت‌ها را توضیح دهد. همچنین، هرچند بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به انواع شدت تمرین هوازی تناوبی ارزشمند است، اما توجه به سایر عوامل مؤثر بر مسیر تأثیرگذاری آنها نظیر مسیر پیام‌رسانی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این پژوهش سنجیده نشده‌اند که می‌توان در پژوهش‌های بعدی با بررسی تغییرات آنها دانش موجود در این حوزه را تقویت کرد.

در کل، به‌نظر می‌رسد انجام تمرینات HIT، HIIT و MIST با اختصاص زمان کمتر و تأثیر بر رادیکال‌های آزاد و نیز مصرف اکسیژن حین دورهٔ ریکاوری پس از تمرین شدید به تقویت سیستم ضداکسایشی در بافت قلبی موش‌ها منجر می‌شود.

تشکر و قدردانی

مقالهٔ حاضر بخشی از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد رشتهٔ فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام نور مرکز کرج است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه که ما را در اجرای این طرح یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع و مآخذ

1. Silveira, E.M.S.d., et al., Age-related changes and effects of regular low-intensity exercise on gait, balance, and oxidative biomarkers in the spinal cord of Wistar rats. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2019. 52(7).
2. Ismaeel, A., et al., Resistance training, antioxidant status, and antioxidant supplementation. International journal of sport nutrition and exercise metabolism, 2019. 29(5): p. 539-547.
3. Margaritelis, N.V., et al., Antioxidants in personalized nutrition and exercise. Advances in Nutrition, 2018. 9(6): p. 813-823.
4. Ortiz-Franco, M., et al., Effect of melatonin supplementation on antioxidant status and DNA damage in high intensity trained athletes. International journal of sports medicine, 2017. 38(14): p. 1117-1125.
5. Naderi, R., et al., Voluntary exercise protects heart from oxidative stress in diabetic rats. Advanced pharmaceutical bulletin, 2015. 5(2): p. 231.

6. Noori, S., An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. Open access scientific reports, 2012. 1(8): p. 1-9.
7. Siti, H.N., Y. Kamisah, and J. Kamsiah, The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). Vascular pharmacology, 2015. 71: p. 40-56.
8. Leopold, J.A., Antioxidants and coronary artery disease: from pathophysiology to preventive therapy. Coronary artery disease, 2015. 26(2): p. 176.
9. Mohammadi, E. and F. Nikseresht, Effect of 8 Weeks of Incremental Endurance Training on Antioxidant Enzymes and Total Antioxidant Status of Cardiac Tissue in Experimental Diabetic Rats. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 2020.
10. Afroundeh, R., R. Mohammadi, and M. Khajehlandi, COMPARISON OF THE EFFECT OF 6 WEEKS AEROBIC TRAINING ON THE ACTIVITY OF CATALASE ENZYME AND MALONDIALDEHYDE IN HEART TISSUE OF HEALTHY AND STREPTOZOTOCIN-DIABETIC MALE WISTAR RATS (INTERVENTION: EXPERIMENTAL). The Journal of Urmia University of Medical Sciences, 2019. 30(5): p. 337-346.
11. Dehghan Manshadi, M., M. Asad, and S. Naghibi, Effect of 8 weeks of high intensity intermittent and aerobic training on gene expression of SOD and GPX of heart tissue in Wistar male rats. Journal of Sport Biosciences, 2017. 9(4): p. 571-577.
12. Paes, L., et al., Effects of moderate and high intensity isocaloric aerobic training upon microvascular reactivity and myocardial oxidative stress in rats. PloS one, 2020. 15(2): p. e0218228.
13. Groussard, C., et al., Tissue-specific oxidative stress modulation by exercise: A comparison between MICT and HIIT in an obese rat model. Oxidative medicine and cellular longevity, 2019. 2019.
14. Guo, S., et al., Impacts of exercise interventions on different diseases and organ functions in mice. Journal of sport and health science, 2020. 9(1): p. 53-73.
15. Akgul, M. and M. Koz, Effect of high intensity interval training under hypoxic conditions in a normobaric environment on moderately trained university students' antioxidant status. Physical education of students, 2019. 23(5): p. 217-222.
16. Jakovljevic, B., et al., The impact of aerobic and anaerobic training regimes on blood pressure in normotensive and hypertensive rats: focus on redox changes. Molecular and cellular biochemistry, 2019. 454(1-2): p. 111-121.
17. Laher, I., et al., Short-term exercise worsens cardiac oxidative stress and fibrosis in 8-month-old db/db mice by depleting cardiac glutathione. Free radical research, 2013. 47(1): p. 44-54.
18. Judge, S., et al., Exercise by lifelong voluntary wheel running reduces subsarcolemmal and interfibrillar mitochondrial hydrogen peroxide production in the heart. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2005. 289(6): p. R1564-R1572.

19. Lu, K., et al., Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. Molecular medicine reports, 2015. 12(2): p. 2374-2382.
20. Feng, R., et al., A systematic comparison of exercise training protocols on animal models of cardiovascular capacity. Life sciences, 2019. 217: p. 128-140.
21. Olfert, E.D., B.M. Cross, and A.A. McWilliam, Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 1. 1993: Canadian Council on Animal Care Ottawa.
22. 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.
23. Moher, D., C.S. Dulberg, and G.A. Wells, Statistical power, sample size, and their reporting in randomized controlled trials. Jama, 1994. 272(2): p. 122-124.
24. Helgerud, J., et al., Aerobic high-intensity intervals improve V̇ O2max more than moderate training. Medicine & Science in Sports & Exercise, 2007. 39(4): p. 665-671.
25. Khalafi, M., et al., The effect of two types of exercise on serum chemerin in diabetic male rats. Qom University of Medical Sciences Journal, 2016. 10(8): p. 27-35.
26. Haram, P.M., et al., Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovascular research, 2009. 81(4): p. 723-732.
27. Kregel, K.C., et al., Resource book for the design of animal exercise protocols. American Physiological Society, 2006. 152.
28. Drumond, L.E., et al., Differential effects of swimming training on neuronal calcium sensor-1 expression in rat hippocampus/cortex and in object recognition memory tasks. Brain Research Bulletin, 2012. 88(4): p. 385-391.
29. Barbosa, V.A., et al., Exercise training plays cardioprotection through the oxidative stress reduction in obese rats submitted to myocardial infarction. International journal of cardiology, 2012. 157(3): p. 422-424.
30. Songstad, N.T., et al., Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. PloS one, 2015. 10(11): p. e0143095.
31. Farhangi, N., F. Nazem, and F. Zehsaz, Effect of endurance exercise on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the heart of the streptozotocin-induced diabetic rats. SSU_Journals, 2017. 24(10): p. 798-809.
32. da Silva, L.A., et al., Effect of different models of physical exercise on oxidative stress markers in mouse liver. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, 2009. 34(1): p. 60-65.
33. Ghasemi, E., M.E. Afzalpour, and S. Nayebifar, Combined high-intensity interval training and green tea supplementation enhance metabolic and antioxidant status in response to acute exercise in overweight women. The Journal of Physiological Sciences, 2020. 70(1): p. 1-9.

Comparison of four exercise training protocol for eight weeks on expression of some antioxidant enzymes in heart tissue of rats

Mohammad Reza Asad[1] - Zeynab Torabi[2] - Ali Barzegari1[*3] - Hasan Amouzad Mahdiraji[4]

1.Associate Professor, Department of Physical Education and Sport, Payame Noor University, Tehran, Iran. 2. M.Sc, Department of Physical Education and Sport, Payame Noor University, Tehran, Iran. 3. Asisitant Professor, Department of Physical Education and Sport, Payame Noor University, Tehran, Iran. 4. Ph.D. candidate of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Tehran Central Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2020/08/10; Accepted: 2020/12/19)

Abstract

Considering the importance of preventing heart disease and conflicting information about the effect of exercise training on glutathione peroxidase and catalase gene expression, the aim of this study was to investigate the effect offour training methods on Glutathione peroxidase and catalase expression in heart tissue of rats. For this purpose, 40 male wistar rats with age of 8-weeks were randomly divided into 5 groups including control group, moderate intensity training, high intensity training, high intensity interval training and moderate-intensity swimming training. To analyze of the data, one-way ANOVA and Tukey was used. The results showed that there was a significant increase in the Glutathione peroxidase and catalase expression as a result of all four exercise training program compared to the control group (P=0.001), Also, a significant increase in GPX expression was observed between HIIT and HIT groups compared to MIT and MIST groups (P=0.001). On the other hand, there was a significant increase in CAT expression between MIST group compared to MIT and HIIT groups (P=0.001 and P=0.030, respectively) and between HIT group compared to MIT and HIIT groups. There was also a significant difference between MIT and HIIT groups (P=0.001). All four training methods were able to improve the antioxidant system, causing favorable changes in the heart tissue of Wistar rats. It seems that HIT ،HIIT & MIST by creating a beneficial adaptation in the antioxidant system, has made the body more resistant to the oxidative stress and has a more favorable effect on the heart tissue.

Keywords

Catalase, Exercise training, Glutathione peroxidase, Left ventricle.

* Corresponding Author: Email: ali_barzegari@pnu.ac.ir; Tel: +989111130029