Journal of Sport and Exercise Physiology
Summer 2022/Vol.15/No.2/10-19

The effect of training on mitochondrial mitophagy factors in obese male rats

Mozhgan Ahmadi [1*], Neda Aghaei Bahman Begloo[2]

1 Department of Physical Education and Sport Sciences Yadegar-e- Imam Khomeini (RAH) Shahr-e Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran,Iran

2 Faculty of Physical Education, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul Branch, Iran

Original Article

Abstract

Purpose: Mitophagy can assist in mitochondrial quality control. The aim of this study was to investigate the effect of training on mitochondrial mitophagy factors in obese male rats.

Methods: In this experimental study, 40 male rats (weight 120±20 g) after inducing obesity with high fat diet (for 10 weeks), eight rats from the high-fat diet group (O) and eight rats of the standard dietary group (C) to investigate the induction of obesity were described and other obese rats were randomly divided into three groups: obesity control (OC), moderate intensity continuous training (MICT) and high intensity interval training (HIIT). The HIIT protocol includes 10 bouts of 4-minute activity with intensity of 85-90% vo2max and 2-minute active rest periods and MICT protocols performed 5 sessions per week, with intensity of 65-70% VO2max for 12 weeks. Bcl2 and parkin levels were measured by gel electrophoresis and western blotting. Data were analyzed by One-way ANOVA and post hoc Tukey at $P \leq 0.05$.

Results: The results showed that both HIIT and MICT training significantly increased bcl2 and PARKIN of Soleus muscle in comparison with the control group ($P<0.05$). However, there was no significant difference between the two groups of HIIT and MICT in bcl2 and PARKIN levels of Soleus muscle in obese male rats ($P>0.05$).

Conclusion: According to the results, it seems that HIIT and MICT can help reduce mitochondrial degradation and impairment in skeletal muscle during obesity.

Keywords: Interval training, Continuous training, Bcl2, PARKIN, Obesity.

How to cite this article: Ahmadi M, Aghaei Bahman Begloo N. The effect of training on mitochondrial mitophagy factors in obese male rats. Journal of Sport and Exercise Physiology 2022;15(2):10-19

*Corresponding Author; E-mail: mahmadi1376@gmail.com
DOI: 10.52547/joeppa.15.2.10

Received: 07/04/2020 Revised: 13/05/2020 Accepted: 19/05/2020

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
تابستان ۱۴۰۱/ دوره ۱۵/ شماره ۲/ صفحه‌های ۱۰-۱۹

تأثیر یک دوره تمرین بر عوامل میتوفاژی میتوکندری در موش‌های صحرایی نر چاق

مژگان احمدی[1*]، ندا آقایی بهمن بگلو[2]

۱ گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران
۲ دانشکده تربیت بدنی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران

مقاله پژوهشی

چکیده

هدف: میتوفاژی می‌تواند به کنترل کیفیت میتوکندری کمک کند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر یک دوره تمرین بر عوامل میتوفاژی میتوکندری در موش های صحرایی نر چاق بود.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر (میانگین وزن۲۰±۱۲۰ گرم) پس از القاء چاقی با رژیم غذایی پرچرب (به مدت ۱۰ هفته)، ۸ سر موش صحرایی از گروه رژیم غذایی پرچرب (O) و ۸ سر موش صحرایی گروه رژیم غذایی استاندارد (C) برای بررسی القای چاقی تشریح شدند و سایر موش‌های صحرایی چاق به‌طور تصادفی به ۳ گروه کنترل چاق (OC)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. HIIT شامل ۱۰ وهله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد VO_2max و وهله‌های استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای و برنامه MICT نیز ۵ جلسه در هر هفته با شدت ۷۰-۶۵ درصد VO_2max به مدت ۱۲ هفته اجرا شد. سطوح bcl2 و پارکین با استفاده از روش الکتروفورز ژل و وسترن بلات اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری P≤۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: نتایج نشان داد هر دو مداخله تمرین HIIT و MICT به افزایش معنا دار bcl2 و پارکین عضله نعلی نسبت به گروه کنترل منجر شدند(P<۰/۰۵). تفاوت معناداری بین دو گروه HIIT و MICT در سطوح bcl2 و پارکین رت‌های چاق وجود نداشت (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد که HIIT و MICT می‌توانند به کاهش تخریب و اختلال میتوکندری در عضله اسکلتی طی چاقی کمک کنند.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی، تمرین تداومی، bcl2، پارکین، چاقی.

* نویسنده مسئول: رایانامه: mahmadi1376@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۹ تاریخ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۳۰

مقدمه

چاقی، با افزایش وزن بدن در نتیجه انباشت بیش از حد چربی مشخص می‌شود، این پدیده در همه گروه‌های سنی با شدت بالا در حال افزایش است (۱). چاقی با اختلالات متابولیک قابل توجهی همراه است و منجر به آسیب شدید در تعدادی از اندام‌ها، از جمله عضله اسکلتی می‌شود (۲). مصرف بیش از حد چربی باعث انعطاف‌پذیری متابولیکی برای تولید ATP توسط میتوکندری عضلات اسکلتی می‌شود که ممکن است منجر به آسیب و التهاب سلولی شده و عامل اصلی در پاتوژنز تعدادی از بیماری‌ها باشد (۳). مطالعات متعدد در موش‌ها و در انسان ارتباط نزدیک بین اختلالات در عملکرد میتوکندری عضلات و توسعه چاقی و مقاومت به انسولین را نشان داده اند. به طوری که اختلال فعالیت ناشی از فسفوریلاسیون اکسایش میتوکندری می‌تواند به چاقی و مقاومت به انسولین منجر شود (۴،۵). میتوکندری‌ها اندامک‌های حیاتی هستند که نیاز به نظارت مداوم به منظور حفظ یکپارچگی عملکردی آن‌ها می‌باشد که از طریق عمل میتوفاژی صورت می‌گیرد (۸-۶). میتوفاژی شامل تخریب میتوکندری‌های آسیب دیده در عضله اسکلتی می‌باشد به طور مشخص، میتوفاژی فرایند کاتابولیسم و حذف میتوکندری‌های آسیب دیده یا غیر ضروری است. میتوفاژی نقش مهمی در کنترل کیفی میتوکندری برای حفاظت در مقابل اختلال عملکرد میتوکندری تحت شرایط فسفوریلاسیون اکسایش ناکارآمد و تولیدات جانبی اکسایش بیشتر دارد (۹). میتوکندری‌های آسیب‌دیده پتانسیل غشای خود را از دست می‌دهند و فاگوسیتوز خودکار انتخابی، فرآیندهای کاتابولیک را پیش می‌برد (۱۰،۱۱).

بر اساس یک مطالعه اخیر، میتوفاژی متشکل از دو مسیر پیام‌رسانی است که شامل میتوفاژی وابسته به پارکین، که در مرکز پروتئین پارکین قرار دارد و میتوفاژی مستقل از پارکین که صرف نظر از بیان پروتئین پارکین رخ می‌دهد (۱۲). پارکین یک لیگاز یوبیکیوتین E3 سیتوزولی است که به طور انتخابی به کار گرفته می‌شود برای میتوکندری آسیب دیده که میتوفاژی را توسعه می‌دهد (۱۵-۱۳). همچنین، مطالعات اخیر نشان می‌دهند که اعضای پروتئین‌های خانواده BCL-2 علاوه بر نقش آپوپتوزی، میتوفاژی میتوکندری را تنظیم می‌کنند (۱۶،۱۷). پروتئین BCL-2 با تنظیم کننده بکلین-۱ میتوفاژی را مهار می‌کند (۱۸). پروتئین‌های خانواده Bcl-2 نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری طی آپوپتوز را تنظیم می‌کنند. همچنین، می‌توانند با استفاده از واکنش با بکلین-۱ به وسیله اتوفاژی نفوذ کنند. میتوفاژی وابسته به پارکین با اعضای خانواده Bcl-2 مستقل از بکلین-۱ متأثر می‌شود. پروتئین Bcl-2 از طریق مهار انتقال پروتئین به میتوکندری، دپولاریزه میتوکندری را مهار می کند. با توجه به نقش پروتئین های خانواده Bcl-2 به‌عنوان تنظیم کننده‌های نفوذپذیری میتوکندری وابسته به آپوپتوز و همچنین پویایی شکافت- همجوشی میتوکندری، پروتئین‌های خانواده Bcl-2 به عنوان کنترل‌کننده مهم هومئوستاز میتوکندری عمل می‌کنند (۱۹).

فعالیت ورزشی برای حفظ میتوفاژی پروتئین‌ها مؤثر است و حتی ممکن است بیان پروتئین میتوفاژی عضله اسکلتی را تسهیل کند که حاکی از نقش مفید تمرینات ورزشی بر عملکرد میتوکندری می‌باشد (۲۰). در حمایت از این مفهوم، نشان داده شده است که تمرینات ورزشی می‌توانند باعث القاء میتوفاژی عضله اسکلتی طبیعی شوند (۲۰،۲۱). تمرین تناوبی پر شدت (HIIT) از انواع مختلف فعالیت‌های ورزشی و شامل دوره‌های تمرین تناوبی همراه با دوره‌های بازیافت است که همه افراد به ویژه آزمودنی‌های چاق را قادر به افزایش شدت تمرینات ورزشی می‌کند (۲۲). این نوع تمرین عموماً به وهله‌های تکراری یا فعالیت‌های تناوبی نسبتاً کوتاه با شدت بالا همراه با وهله‌های استراحت گفته می‌شود. مطالعات نشان داده است که این نوع تمرینات مانند تمرینات تداومی با شدت متوسط (MICT) باعث افزایش ظرفیت سوخت‌وسازی، بهبود دستگاه‌های هوازی و بی‌هوازی و همچنین افزایش کارایی ورزشی و متابولیسم انرژی می‌شود. اختلال در تنظیم میتوفاژی طی چاقی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌های مزمن، از جمله بیماری‌های نوروژنیک، اختلالات متابولیک و نارسایی قلبی نقش دارد (۲۵-۲۳). مطالعات اندکی نقش ورزش در میتوفاژی ناشی از چاقی را بررسی کرده‌اند. اخیراً یک مطالعه کنترل کیفی میتوکندری مرتبط با چاقی را مورد بررسی قرار داده است که نتایج آن پیشنهاد می‌کند اختلال میتوفاژی ناشی از چاقی توسط فعالیت بدنی محافظت می‌شود (۲۶). اکسلورد و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرینات ورزشی هوازی (۵ روز در

هفته، ۸۵٪ HRmax) باعث کاهش پارکین عضله اسکلتی در نمونه‌های بیوپسی بزرگسالان غیرفعال می‌شود (۲۷). با این‌حال، جیو و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که محتوای پروتئین پارکین عضله اسکلتی موش به دنبال تمرین استقامتی شنا (یک ساعت تمرین شنا در روز به مدت ۸ هفته) تغییر معناداری نشان نداد (۲۸). نتایج سیاه‌کوهیان و همکاران (۲۰۱۸) نیز حاکی از آن است که پس از ۱۲ هفته تمرینات استقامتی میزان پروتئین Bcl-2 عضله اسکلتی موش‌های ویستار کاهش یافت (۲۹).

توصیه به فعالیت بدنی بخش مهمی از مراقبت‌های مؤثر برای چاقی و اضافه وزن است. اهمیت حیاتی عضله اسکلتی برای سلامت عمومی و فعالیت‌های روزمره، به‌خوبی مشخص شده است. عضله اسکلتی دارای کارکردهای متعددی از جمله حفظ وضعیت بدن، حرکت و برآوردن نیازهای متابولیکی است. به طور ویژه، عضله اسکلتی تقریباً ۵۰- ۴۰ درصد کل وزن بدن را تشکیل می‌دهد و به صورت جایگاه اصلی متابولیسم گلوکز عمل کرده و نقش تعیین‌کننده‌ای نیز در مقدار متابولیسم پایه دارد (۳۰). ویژگی بارز عضله اسکلتی، توانایی ذاتی آن در سازگاری به دامنه وسیعی از محرک‌ها فیزیولوژیک، چون الگوهای تمرینی مختلف می‌باشد (۳۱). با این‌حال، ارتباط فیزیولوژیکی و عمل مولکولی سازوکارهای متیوفاژی هنوز معلوم نیست. از طرفی، انتخاب و تعیین نوع شیوه‌های تمرینی و تأثیر آن بر عوامل خطرزای بیماری‌های متابولیک احتمالاً می‌تواند یکی از راهکارهای بلندمدت در کنترل و درمان چاقی و اضافه وزن و عوارض ناشی از آن مانند دیابت نوع ۲ گردد. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین بر عوامل میتوفاژی میتوکندری در موش‌های صحرایی نر چاق می‌باشد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: این پژوهش یک مطالعه تجربی- آزمایشگاهی است. در این پژوهش اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، و شرایط نگهداری مناسب مد نظر قرار گرفت و چکونگی کشتار موش‌ها رعایت شد. در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر ۶ هفته‌ای با محدوده وزنی ۲۰±۱۲۰ گرم از مرکز تحقیقات حیوانی انستیتو پاستور (کرج، ایران) خریدار شدند. حیوانات پس از انتقال به دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان در قفس‌های ۴ تایی تحت شرایط استاندارد (چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعت، دمای ۲+۲۵) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. تمامی مداخلات حیوانی مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی مؤسسات ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مطابق با کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان تائید و با کد IR.GUMS.REC.1397.081 طراحی و اجرا شد. پس از ۲ هفته سازگاری با محیط جدید و تغذیه با رژیم غذایی استاندارد، ابتدا موش‌های صحرایی در ۲ گروه غذای استاندارد (۸ سر) و رژیم غذایی پرچرب (۳۲ سر) به مدت ۱۰ هفته قرار گرفتند. در پایان مرحله اول (القاء چاقی)، ۸ سر موش صحرایی گروه رژیم غذایی استاندارد (C) و ۸ سر موش صحرایی چاق از گروه رژیم غذایی پرچرب (O) برای بررسی اثر چاقی تشریح شدند. چاق بودن نمونه‌ها با استفاده از شاخص لی تأیید گردید. در ادامه موش‌های صحرایی چاق گروه رژیم غذایی پرچرب به‌طور تصادفی به ۳ گروه (هر گروه ۸ سر)، کنترل چاق (OC)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شده و در ادامه رژیم غذایی استاندارد را مصرف کردند. رژیم غذایی استاندارد شامل ۱۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین و رژیم غذایی پرچرب شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین بود (۳۲). پس از ۱۰ هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب، موش‌های صحرایی هر دو گروه تمرینی (HIIT، MICT) یک هفته آشنا سازی با دویدن روی نوارگردان را قبل از اجرای ۱۲ هفته تمرین ورزشی انجام دادند. برنامه‌های هم‌حجم شده HIIT و MICT به مدت ۱۲ هفته، هر هفته ۵ جلسه با شیب صفر درجه بر اساس برنامه‌های تمرینی اصلاح‌شده توسط هافستاد و همکاران (۲۰۱۳) اجرا شد (۳۳). همچنین، گروه OC در طول این ۱۲ هفته هیچ نوع برنامه تمرینی را دریافت نکردند.

روش اجرای پژوهش: تمرین تناوبی شدید (HIIT) شامل اجرای ۱۰ وهله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۹۰-۸۵ درصد VO_2max و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰-۴۵ درصد VO_2max بود که به‌صورت پیش‌رونده تا هفته دهم سرعت نوارگردان افزایش یافت و دو هفته پایانی (یازدهم و دوازدهم) سرعت نوارگردان حفظ شد. بر این اساس، سرعت

نوارگردان از ۱۷ متر بر دقیقه در هفته اول به ۲۶ متر بر دقیقه در هفته دهم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد (جدول ۱).

جدول ۱. روش تمرینی ۱۲ هفته ای HIIT آزمودنی‌ها

هفته	تکرارهای دو دقیقه‌ای (سرعت متر بر دقیقه)	وهله‌های تمرینی در روز (تعداد)	وهله‌های تمرینی (زمان-دقیقه)
اول	۱۷	۱۰	۴
دوم	۱۸	۱۰	۴
سوم	۱۹	۱۰	۴
چهارم	۲۰	۱۰	۴
پنجم	۲۱	۱۰	۴
ششم	۲۲	۱۰	۴
هفتم	۲۳	۱۰	۴
هشتم	۲۴	۱۰	۴
نهم	۲۵	۱۰	۴
دهم	۲۶	۱۰	۴
یازدهم	۲۶	۱۰	۴
دوازدهم	۲۶	۱۰	۴

تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT): برنامه MICT با شدت معادل ۶۵-۷۰ VO_2max بود که مسافت طی شده با برنامه HIIT همسان شد، به‌طوری‌که سرعت نوارگردان به‌صورت پیش‌رونده تا هفته دهم افزایش یافت و دو هفته پایانی حفظ شد (۳۳). بر این اساس، سرعت نوارگردان در هفته اول از ۱۲ متر بر دقیقه به ۱۶ متر بر دقیقه در هفته دهم رسید و دو هفته پایانی (یازدهم و دوازدهم) سرعت نوارگردان حفظ شد. همچنین، ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با شدت پایین در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرینی اجرا شد (۳۳).

روش‌های آزمایشگاهی: موش‌های صحرایی گروه‌های C و O پس از ده هفته مصرف رژیم غذایی و موش‌های صحرایی گروه‌های HIIT، MICT و OC پس از ۱۲ هفته برنامه‌های تمرین با استفاده از ترکیب داروی کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم) بی‌هوش شده و سپس، عضله نعلی با دقت برداشته‌شده و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و بلافاصله به میکروتیوب منتقل و در ازت مایع قرار داده و برای سنجش‌های بعدی به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت.

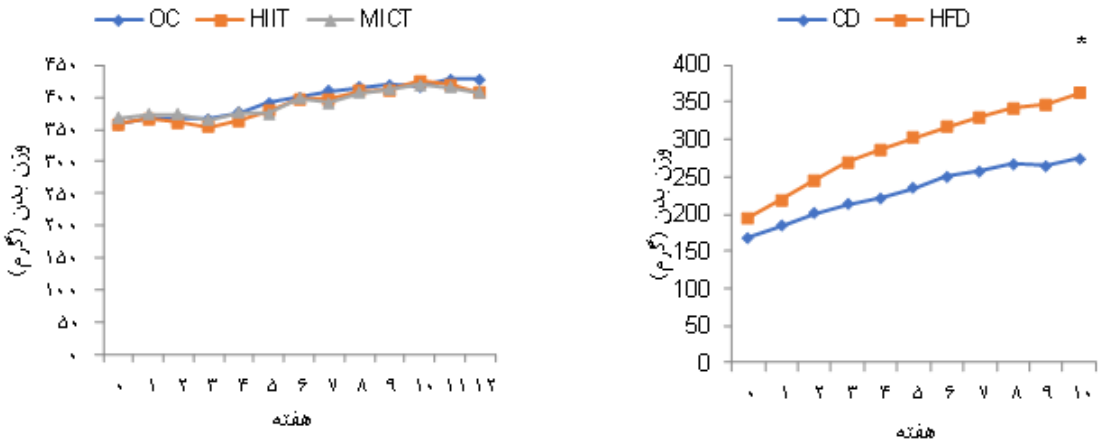
الکتروفورز ژل و وسترن بلات: پروتئین (۲۰ µg) نمونه‌های هموژن شده بوسیله الکتروفورز ژل سدیم-دودسیل سولفات- پلی اکریلامید (صفحه SDS) با استفاده ژل حل کننده ۵/۵٪ و ۱۰٪ جدا گردید. پروتئین های جدا شده بوسیله صفحه SDS به صورت الکتروفوریک به غشای پلی‌وینیلیدیم دی‌فلوراید منتقل شده و غشا با بافر بلوک‌کننده محلول کازئین (SP-5020, Vector Laboratories, Burlingame, SANTA CRUZ) به مدت یک ساعت در دمای اتاق یا طول شب در دمای ۴°C انکوبه شد. غشا آماده‌ی پروب با آنتی‌بادی‌های اولیه (anti bcl2؛ با شماره کاتالوگ ۰۵-۷۲۹ شرکت مرک آلمان و anti - PARKIN؛ با شماره کاتالوگ MAB5512 شرکت مرک آلمان) به مدت یک شب و پس از سه بار شستشو در دمای اتاق با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه با HRP نیزمجدداً به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه PARKIN (SC5815، SANTA CRUZ)، GAPDH (sc-32233، SANTA CRUZ)، goat anti-rabbit IgG-HRP (sc-2004، SANTA CRUZ) و Goat anti-mouse (sc-2005، SANTA CRUZ) مورد استفاده قرار گرفتند. باندهای روی غشا با استفاده

از تکنیک کمی لومینسانس مشخص شدند. در فاصله هر بار پروب غشاها STRIPING شد. چگالی باندها با استفاده از نسخه ۱/۶۲ بسته نرم افزاری دانسیتومتری JImage (National Institues of Health, Bethesda, Maryland, USA) تعیین گردید. از پروتئین بتا اکتین به‌عنوان لودینگ کنترل استفاده شد.

تحلیل آماری: پس از اینکه توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک تأیید شد، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای تغییرات بین گروهی و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. تمام عملیات آماری پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد و سطح معنی داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

نتایج

میانگین وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف در طول مراحل چاق شدن و اجرای تمرینات ورزشی در شکل ۱ آمده است. نتایج تحلیل داده‌ها نشان داد که وزن بدن موش‌های صحرایی به‌طور پیوسته در همه گروه‌ها افزایش می‌یابد، بااین‌حال، ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش بیشتر وزن بدن نسبت به رژیم غذایی استاندارد شد (P<۰/۰۰۱). مقادیر وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه رژیم غذایی استاندارد از ۱۳/۳۰±۱۶۸/۱۳ گرم به ۱۲/۸۰±۲۷۴ گرم و در گروه رژیم غذایی پرچرب از ۱۸/۴۴±۱۹۳/۵۳ گرم به ۲۱/۱۴±۳۶۲/۲۵ گرم رسید. در انتهای پژوهش، تحلیل داده‌ها نشان داد که وزن بدن گروه‌های HIIT (۵ درصد) و MICT (۶ درصد) نسبت به گروه OC به‌طور غیر معناداری کمتر بود. همچنین تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرینی (HIIT و MICT) در انتهای پژوهش وجود نداشت (P=۰/۲۹، F=۱/۳۱).



شکل ۱. تأثیر تغذیه و تمرین بر وزن بدن موش‌های صحرایی؛ CD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، OC: کنترل چاق، MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا

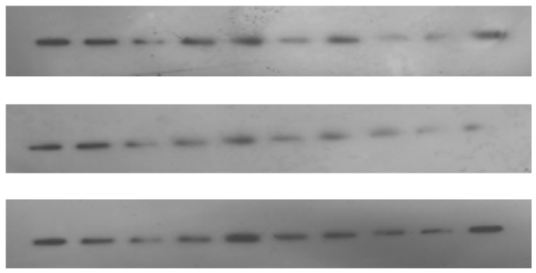
در جدول ۲ میانگین و انحراف معیار متغیرهای مورد مطالعه در گروه‌های مختلف نشان داده شده است.

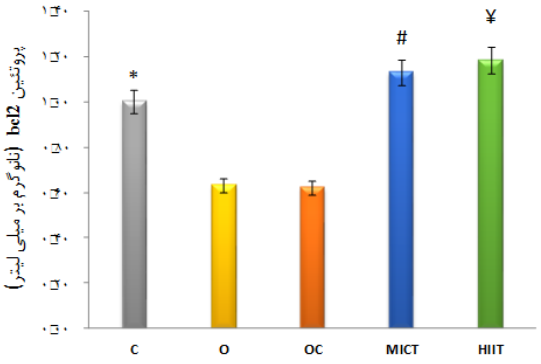
جدول ۲. میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه های مختلف

متغیر / گروه	کنترل	تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)	تمرین تناوبی شدید (HIIT)
bcl2 (µg)	۰/۶۲۱ ± ۰/۱۹	۱/۱۳ ± ۰/۰۸	۱/۱۸ ± ۰/۱۹
PARKIN (µL)	۰/۶۱۰ ± ۰/۲۱	۱/۲۹ ± ۰/۲۴	۱/۳۱ ± ۰/۴۰

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میانگین bcl2 عضله نعلی در گروه‌های مختلف، تفاوت معناداری وجود دارد (F(۱۷،۱)=۲۱/۲۰۴؛ P<۰/۰۰۱). همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان می‌دهد، بین گروه‌های پژوهش در مقادیر parkin عضله نعلی در گروه‌های مختلف تحقیق، اختلاف معناداری وجود دارد (F(۱۷،۱)=۱۰/۶۳۸؛ P=۰/۰۰۱).

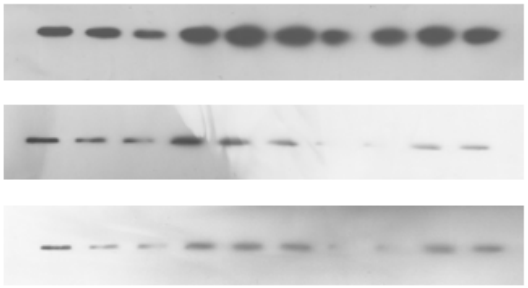
بر پایه یافته‌های آزمون تعقیبی توکی، هر دو مداخله تمرین HIIT (۱/۱۸±۰/۱۹ نانوگرم برمیلی‌لیتر؛ P<۰/۰۵) و MICT (۱/۱۳±۰/۰۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر؛ P<۰/۰۵) به افزایش معنادار bcl2 عضله نعلی نسبت به گروه کنترل (۱/۱۳±۰/۰۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر) منجر شدند. با این حال، تفاوت معناداری بین دو گروه HIIT و MICT در سطوح bcl2 وجود نداشت (P>۰/۰۵) (شکل ۲).

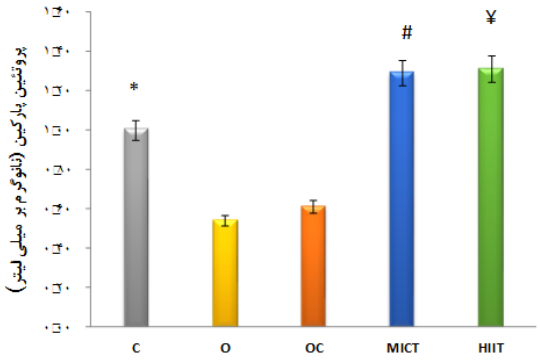




شکل ۲. تغییرات پروتئین bcl2؛ C: رژیم غذایی استاندارد، O: رژیم غذایی پرچرب، OC: کنترل چاق، MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT:تمرین تناوبی با شدت بالا ¥تفاوت معنادار نسبت به گروه OC؛ #تفاوت معنادار نسبت به گروه OC * تفاوت معنادار نسبت به گروه O (P≤۰/۰۵).

همچنین بر پایه یافته‌های آزمون تعقیبی توکی، هر دو مداخله تمرین HIIT (۱/۳۱±۰/۴۰ نانوگرم برمیلی‌لیتر؛ P<۰/۰۵) و MICT (۱/۲۹±۰/۲۴ نانوگرم برمیلی‌لیتر؛ P<۰/۰۵) به افزایش معنادار PARKIN عضله نعلی نسبت به گروه کنترل (۰/۶۱۰±۰/۲۱ نانوگرم برمیلی‌لیتر) منجر شدند. از طرفی، تفاوت معناداری در PARKIN عضله نعلی بین دو گروه HIIT و MICT مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (شکل ۳).





شکل ۳. تغییرات پروتئین PARKIN؛ C: رژیم غذایی استاندارد، O: رژیم غذایی پرچرب، OC: کنترل چاق، MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT:تمرین تناوبی با شدت بالا ¥تفاوت معنادار نسبت به گروه OC؛ #تفاوت معنادار نسبت به گروه OC * تفاوت معنادار نسبت به گروه O (P≤۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هر دو مداخله تمرین HIIT و MICT به افزایش معنادار bcl2 و PARKIN عضله نعلی منجر شدند. با این حال، تفاوت معناداری بین دو گروه HIIT و MICT در سطوح bcl2 و PARKIN عضله نعلی موش‌های صحرایی نر چاق وجود نداشت. مطالعات اندکی نقش بالقوه میتوفاژی طی ورزش را مورد بررسی قرار داده‌اند. افزایش میزان میتوفاژی عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی C57BL/6 به دنبال تمرین گزارش شده است، پژوهشگران اظهار داشتند که این افزایش میزان میتوفاژی وابسته به PGC-1α است (۳۴). بنابراین، احتمالاً در پژوهش حاضر نیز ۱۲ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط با تغییر سطوح PGC-1α به تغییر معنادار سطوح bcl2 و parkin میتوکندری شد. البته از آنجایی که در مطالعه

حاضر، با توجه به اینکه میزان بیان PGC-1α در دست نمی‌باشد، در این مورد به‌طور قطع نمی‌توان نظر داد. میتوفاژی در آزمودنی‌های تمرین کرده استقامتی افزایش می‌یابد. گزارش شده است که تمرینات ورزشی هوازی با شدت متوسط محتوای پروتئین پارکین در عضله اسکلتی انسان (۳۵،۳۶) و موش (۲۸،۳۷) را افزایش می‌دهد. تمرینات استقامتی با افزایش سازگاری ظرفیت اکسایشی عضله همراه است. برای تولید این فنوتیپ مفید، به تکرار وهله‌های ورزش به مدت بیش از ۶ تا ۸ هفته لازم است تا به صورت تدریجی ۵۰ تا ۱۰۰٪ افزایش در محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم‌ها در میتوکندری ایجاد شود (۳۸). در پژوهش حاضر نیز ۱۲ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط منجر به تغییر معنادار سطوح پروتئین‌های درگیر در میتوفاژی میتوکندری شد.

تمرینات ورزشی سازوکار کنترل کیفیت میتوکندری را تنظیم می‌کنند. این عمل در بخشی از طریق افزایش میتوفاژی با حذف انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده صورت می‌گیرد (۳۹). کیفیت میتوکندری در عضله اسکلتی بسیار مهم است، زیرا بزرگترین بافت متابولیک بدن است که ۴۰٪ از کل توده بدن را در برمی‌گیرد و عملکرد میتوکندری در آن حیاتی می‌باشد. ظرفیت میتوکندری عضلانی برای سوختن سوبستراهای اصلی (اسیدهای چرب و گلوکز) تعیین‌کننده حیاتی هومئوستاز متابولیک به شمار می‌رود (۴۰). مشخص شده است که فعالیت ورزشی کیفیت میتوکندری عضلانی و سوختن سوبستراها را افزایش می‌دهد در نتیجه به بهبود هومئوستاز متابولیک کل بدن منجر می‌شود (۴۱). بسیاری از مطالعات انجام شده تاکنون روی سازوکار مولکولی متمرکز شده‌اند که توسط میتوکندری‌های آسیب دیده توسط اتوفاگوزوم‌ها تشخیص داده شده‌اند. یک سازوکار شامل فراخوانی و فعال‌سازی فعالیت آنزیم پارکین E3 است که منجر به یوبی‌کیوتنه شدن لایه های میتوکندری می‌شود (۴۲). کشیدگی غشا فاگوزوم و پیوستگی میتوکندری یوبی‌کیوتنه شده به واسطه پروتئین‌های مرتبط با اتوفاژی، LC3 و مولکول آداپتور چندکار P62 تنظیم می‌شود. سپس، اتوفاگوزوم با لیزوزوم‌ها ترکیب شده و میتوکندری‌های آسیب‌دیده را تخریب می‌کنند (۴۳). میتوفاژی از طریق مسیر پیام‌رسانی PINK1-PARKIN یا از طریق گیرنده‌های NIX و BNIP3 و تعدیل‌کننده‌های همراه آن‌ها تنظیم می‌شود (۴۴). اکسلورد و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که تمرینات ورزشی هوازی نسبت پروتئین‌های شکافت و همجوشی میتوکندری را بهبود می‌بخشند، که این عمل به طور مثبت با بهبود در دفع گلوکز ارتباط دارد. این تغییرات ممکن است به بهبود حساسیت انسولین و استفاده از سوبسترا که پس از تمرینات مشاهده می‌شود، کمک کند (۲۷). نشان داده شده است که تمرینات ورزشی باعث بهبود کیفیت و پویایی میتوکندری می‌شود. شواهد نشان می‌دهد که میتوفاژی توسط AMPK تنظیم می‌شود. بنابراین، وقتی میتوکندری مختل می‌شود، AMPK با افزایش گیرنده p62 موجب فعال‌سازی دستگاه میتوفاژی به دو روش می‌شود؛ اول، با مهار mTOR از طریق موضعی‌سازی به لیزیوزوم، چرا که mTOR از طریق فسفوریلاسیون ULK1 را غیرفعال می‌کند. دوم، AMPK باعث پیشبرد میتوفاژی از طریق اثر مستقیم بر ULK1 می‌شود (۲۱). با این حال، هنوز مشخص نیست که چگونه دستگاه میتوفاژی می‌تواند اختلال میتوکندری در پاسخ به ورزش را تشخیص دهد. علاوه بر این، سازوکار افزایش Bcl-2 ممکن است توسط NF-kB متأثر شود، که مانع از حساسیت به آپوپتوز می‌شود و می‌تواند تنظیم افزایشی Bcl-2 را تقویت کند (۴۲). افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c، تنظیم کلسیم رهاشده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر ROS ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا می‌برد (۴۳). بنابراین، احتمال دارد سازگاری‌های ناشی از تمرین تناوبی پرشدت و تمرین تداومی با شدت متوسط سبب فعال‌سازی مسیرهای میتوفاژی میتوکندری شده باشد. مخالف با نتایج تحقیق حاضر کاهش میتوفاژی متعاقب تمرین گزارش شده است. اکسلورد و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرینات ورزشی هوازی (۵ روز در هفته، ۸۵٪ HRMAX) باعث کاهش پارکین عضله اسکلتی در نمونه‌های بیوپسی افراد بزرگسال مسن غیرفعال می‌شود (۲۷). تفاوت نتایج پژوهش‌های به‌عمل‌آمده در این راستا را می‌توان ناشی از تفاوت بین آزمودنی‌ها در مطالعات دانست، به طوری که در پژوهش فوق آزمودنی‌های مسن مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع، با توجه به اینکه مطالعات کمی رابطه بین تغییر میتوفاژی میتوکندری در شرایط چاقی و فعالیت

بدنی را مورد بررسی قرار داده اند، مطالعات بیشتری در مورد اثرات مثبت یا منفی تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف بر سطوح میتوفاژی میتوکندری مورد نیاز است.

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط منجر به افزایش پروتئین‌های میتوفاژی عضله اسکلتی نمونه‌های چاق شد با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد که HIIT و MICT می‌توانند به کاهش تخریب و اختلال میتوکندری در عضله اسکلتی طی چاقی کمک کنند. از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان عدم اندازه‌گیری دیگر عوامل تنظیم‌کننده میتوفاژی مانند AMPK و PGC-1α در پاسخ به مداخله ورزشی تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط اشاره کرد. بنابراین توصیه می‌شود روش‌های تمرینی مختلف بر سطوح میتوفاژی میتوکندری همراه با تعیین عوامل فوق مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از یک پژوهش مستقل و بدون حامی مالی می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله حاضر مراتب تقدیر خود را از مسئولان آزمایشگاه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان اعلام می‌دارند.

منابع

1. Schell LM and Gallo MV. Overweight and obesity among North American Indian infants, children, and youth. Am J Hum Biol. 2012;24:302–13.
2. Collins KH, Herzog W, MacDonald GZ, Reimer RA, Rios JL, Smith IC, Zernicke RF, Hart DA. Obesity, Metabolic Syndrome, and Musculoskeletal Disease: Common Inflammatory Pathways Suggest a Central Role for Loss of Muscle Integrity. Front Physiol. 2018;23;9:112.
3. Mu Y, Yan WJ, Yin TL, Zhang Y, Li J, Yang J. Diet-induced obesity impairs spermatogenesis: A potential role for autophagy. Sci Rep. 2017;7:43475.
4. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. Science 2005;307:384–387.
5. Szendroedi J, Phielix E, Roden, M. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. Nat. Rev. Endocrinol. 2011;8: 92–103.
6. Liu L, Sakakibara K, Chen Q, Okamoto K. Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems. Cell Res. 2014;24: 787–795.
7. Okamoto K. Organellophagy: eliminating cellular building blocks via selective autophagy. J. Cell Biol. 2014;205: 435–445.
8. Pickrell AM, Youle RJ. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. Neuron 2015;85:257–273.
9. Pickles S, Vigié P, Youle RJ. Mitophagy and Quality Control Mechanisms in Mitochondrial Maintenance. Curr Biol. 2018; 28(4):R170-R185.
10. Twig G, Elorza A, Molina AJ, Mohamed H, Wikstrom JD, Walzer G, et al. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. EMBO J. 2008;27:433-446.
11. Campello S, Strappazzon F, Cecconi F. Mitochondrial dismissal in mammals, from protein degradation to mitophagy. Biochim Biophys Acta. 2014;1837:451-460
12. Ni HM, Williams JA, Ding WX. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control. Redox Biol. 2015;4:6-13.
13. Youle RJ, Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011;12:9–14.
14. Geisler S, Holmstrom KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. Nat Cell Biol. 2010;12:119–131.
15. Vives-Bauza C, Zhou C, Huang Y, Cui M, de Vries RL, et al. PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107: 378–383
16. Hollville E, Carroll RG, Cullen SP, Martin SJ. Bcl-2 family proteins participate in mitochondrial quality control by regulating Parkin/PINK1-dependent mitophagy. Mol Cell. 2014;55(3):451-66.
17. Hardwick JM, Soane L. Multiple functions of BCL-2 family proteins. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2013;5(2)31-44
18. Decuypere JP, Parys JB, Bultynck G. Regulation of the autophagic bcl-2/beclin 1 interaction. Cells. 2012;1(3):284-312.
19. Autret A, Martin SJ. Bcl-2 family proteins and mitochondrial fission/fusion dynamics. Cell. Mol. Life Sci. 2010;67, 1599-1606
20. Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality. Exerc Sport Sci Rev. 2012;40:159-164.
21. Ding H, Jiang N, Liu H, Liu X, Liu D, Zhao F, et al. Response of mitochondrial fusion and fission protein gene expression to exercise in rat skeletal muscle. Biochim Biophys Acta. 2010; 1800:250-256.
22. Türk Y, Theel W, Kasteleyn MJ, F Franssen ME, Hiemstra PS, Rudolphus AC. Taube, Braunstahl GJ. High intensity training in obesity: A Meta-analysis Obes Sci Pract. 2017; 3(3): 258–271.
23. Levine, B., Packer, M., and Codogno, P. Development of autophagy inducers in clinical medicine. J. Clin. Invest. 2015;125: 14–24.

24. Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease. N. Engl. J. Med. 2013;368: 651–662.
25. Kubli DA, Gustafsson AB. Mitochondria and mitophagy: the yin and yang of cell death control. Circ Res 2012;111: 1208–1221
26. Greene NP, Lee DE, Brown JL, Rosa ME, Brown LA, Perry RA, et al. Mitochondrial quality control, promoted by PGC-1α, is dysregulated by Western diet-induced obesity and partially restored by moderate physical activity in mice. Physiol Rep. 2015;3: e12470.
27. Axelrod CL, Fealy CE, Mulya A, Kirwan JP. Exercise training remodels human skeletal muscle mitochondrial fission and fusion machinery towards a pro-elongation phenotype. Acta Physiol (Oxf). 2019 Apr;225(4):e13216.
28. Ju JS, Jeon SI, Park JY, Lee JY, Lee SC, Cho KJ, et al. Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. J. Physiol. Sci. 2016;6:417–430.
29. Siahkohian M, Asgharpour-arshad M, Bolboli L, Jafari A, Sheikhzadeh hesari F. Effect of 12- Weeks Aerobic Training on Some Indices of Skeletal Muscle Apoptosis in Male Rats. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services 2018; 39(6):35-43.
30. Stewart CE, Rittweger J. Adaptive processes in skeletal muscle: Molecular regulators and genetic influences. J Musculoskelet Neuronal Interact 2006;6(1):73-86.
31. Dilger AC, Spurlock ME, Grant AL, Gerrard DE. Myostatin null mice respond differently to dietary-induced and genetic obesity. Anim Sci J. 2010;81(5):586-93
32. Evans CC, LePard KJ, Kwak JW, Stancukas MC, Laskowski S, Dougherty J, et al. Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. PloS one. 2014;9(3):e92193.
33. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. Diabetes. 2013;62(7):2287-94
34. Vainshtein A, Tryon LD, Pauly M, Hood DA. Role of PGC-1α during acute exercise-induced autophagy and mitophagy in skeletal muscle. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2015;308:C710–9.
35. Tarpey MD, Davy KP, McMillan RP, Bowser SM, Halliday TM, Boutagy NE, et al. Skeletal muscle autophagy and mitophagy in endurance-trained runners before and after a high-fat meal. Mol Metab. 2017;6(12):1597-1609.
36. Brandt N, Gunnarsson TP, Bangsbo J, Pilegaard H. Exercise and exercise training-induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. Physiol Rep. 2018;6(7):e13651.
37. Brandt, N., L. Nielsen, B. Thiellesen Buch, A. Gudiksen, S. Ringholm, Y. Hellsten, et al. Impact of b-adrenergic signaling in PGC-1a-mediated adaptations in mouse skeletal muscle. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2017;314: 1–20.
38. Hood DA. Invited review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. J Appl Physiol. 2001;90:1137–57
39. Drake JC, Wilson RJ, Yan Z. Molecular mechanisms for mitochondrial adaptation to exercise training in skeletal muscle. FASEB J. 2016;30:13–22.
40. Fu T, Xu Z, Liu L, Guo Q, Wu H, Liang X, et al. Mitophagy Directs Muscle-Adipose Crosstalk to Alleviate Dietary Obesity. Cell Rep. 2018;23(5):1357-1372.
41. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. Cell Metab. 2013;17:162–184.
42. Jin SM, Youle RJ. The accumulation of misfolded proteins in the mitochondrial matrix is sensed by PINK1 to induce PARK2/Parkin-mediated mitophagy of polarized mitochondria. Autophagy. 2013;9(11):1750-7.
43. Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. The Journal of pathology. 2010;221(1):3-12
44. Ploumi C, Daskalaki I, Tavernarakis N. Mitochondrial biogenesis and clearance: a balancing act. The FEBS journal. 2017;284(2):183-95
45. Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. FEBS Lett 2000;485:7-12.
46. Liu WY, He W, Li H. Exhaustive training increases uncoupling protein 2 expression and decreases Bcl-2/Bax ratio in rat skeletal muscle. Oxid Med Cell Longev. 2013;12:1-7