

Original Article

The Effect of high-intensity interval training with coenzyme Q10 supplementation on the Nrf2 and NQO1 in soleus muscle of older rats

Zahra Noruzi^{ID}, Javad Nemati^{ID}, Mohsen Salesi^{ID}, Rasul Rezai^{ID}, Mohammad Hemmatinfar^{ID}

Sport Science Department, Education and Psychology Faculty, Shiraz University, Shiraz, Iran

Abstract

Background and Purpose: Increased oxidative stress is the main characteristic of all types of age-related injuries. Based on the role of physical activity in adaptive responses to oxidative stress and importance of nutritional supplements, the aim of this study was to investigate the effect of six weeks of high-Intensity interval training along with the consumption of coenzyme Q10 supplements on the values of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), NAD (P)H quinone dehydrogenase1 (NQO1) in the soleus muscle of elderly rats.

Materials and Methods: The current research was an experimental and basic, which was conducted in the animal laboratory of Shiraz University. Forty-four elderly male Wistar rats were used to carry out the research. After a one-week familiarization with the training environment, the animals were randomly divided into high-intensity interval training group, supplement group, high-intensity interval training group with supplementation, and a control group (n=11). Subjects in the training groups performed high-intensity interval training for six weeks. In the first week, three interval repetitions were performed, in the second week, 5 interval repetitions, in the third week, 7 interval repetitions, and from the beginning of the fourth week to the end of the sixth week, nine interval repetitions were performed. Subjects in the supplement groups also consumed 200 mg of coenzyme Q10 per kilogram of body weight daily. After completing the training and supplementation period, the animals were anesthetized by injecting ketamine and xylazine and their soleus muscle was removed by open surgery, and after being transferred to a nitrogen tank, they were kept in a -80 freezer for western blotting. Data analyses were performed by using, a one-way analysis of variance, and Tukey's post hoc test.

Results: High-intensity interval training along with Q10 supplementation had no significant effect on the Nrf2 values of the soleus muscle in elderly rats ($P>0.05$). However, high-intensity interval training with and without coenzyme Q10 supplementation, as well as coenzyme Q10 supplementation, only significantly decreased the NQO1 values of the soleus muscle in elderly rats ($P<0.001$).

Conclusion: Considering the lack of effect of high-intensity interval training on Nrf2 and NQO1 in elderly rats, in order to determine the mechanism of the effect of high-intensity interval training on antioxidant pathways, the conditions of the exercise program such as duration, intensity, repetition and exercise sets should be taken into consideration, as well as the other standard dosages of coenzyme Q10 supplementation.

Keywords: Training, Aging, Coenzyme Q10, Nrf2, NQO1

How to cite this article: Noruzi Z, Nemati J, Salesi M, Rezai R, Hematinfar M. The effect of high-intensity interval training with coenzyme Q10 supplementation on the Nrf2 and NQO1 in soleus muscle of older rats. *J Sport Exerc Physiol.* 2023; 16(3):25-33.

*Corresponding Author's E-mail: msalesi@shirazu.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2023.103749>

Received: 18/01/2023

Revised: 10/06/2023

Accepted: 12/06/2023



مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل کوآنزیم Q10 بر مقادیر Nrf2 و NQO1 عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند

زهرا نوروزی^(b)، جواد نعمتی^(b)، محسن ثالثی^{(b)*}، رسول رضایی^(b)، محمد همتی نفر^(b)

گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: افزایش فشار اکسایشی، مشخصه اصلی انواع آسیب‌های وابسته به سالمندی است. با توجه به نقش فعالیت بدنی در پاسخ‌های انطباقی به فشار اکسایشی و اهمیت مکمل‌های تغذیه‌ای، هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف مکمل کوآنزیم Q10 بر مقادیر Nrf2 و NQO1 عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند است.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی بود که در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه شیراز انجام گرفت. به منظور اجرای پژوهش از ۴۴ سر موش صحرایی سالمند نر نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات پس از یک دوره یک هفته‌ای آشنایی با محیط تمرین به طور تصادفی به گروه‌های تمرین تناوبی با شدت بالا، گروه مکمل، گروه تمرین تناوبی با شدت بالا به همراه مکمل و گروه کنترل (هر گروه ۱۱ سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرین به مدت شش هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا به صورت فرآینده انجام دادند، به طوری که در هفته اول سه تکرار تناوبی، هفته دوم پنج تکرار، هفته سوم هفت تکرار و از ابتدای هفته چهارم تا پایان هفته ششم ۹ تکرار اینتروال اجرا شد. آزمودنی‌های گروه‌های مکمل نیز روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مکمل مصرف کردند. حیوانات در انتهای دوره با تزریق کتامین زایلازین بی‌هوش شدند، عضله نعلی آن‌ها خارج و پس از انتقال به تانک نیتروژن جهت انجام آزمایش وسترن بلات در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. داده‌های پژوهش با استفاده از تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی بررسی شد.

نتایج: تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف مکمل Q10 بر مقادیر Nrf2 عضله نعلی موش‌های سالمند تغییر معناداری بین گروه‌ها ایجاد نکرد ($P > 0.05$). ولی تمرین تناوبی شدید با و بدون مصرف مکمل کوآنزیم Q10 همچنین مصرف مکمل کوآنزیم Q10 به تنهایی مقادیر NQO1 عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند را به طور معناداری در گروه‌های تمرینی کمتر کرد ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: با توجه به عدم تأثیر تمرین تناوبی شدید بر مسیر Nrf2 و کاهش NQO1 در رت‌های سالمند، به منظور مشخص شدن سازوکار تأثیرگذاری تمرین تناوبی شدید بر مسیرهای ضد اکسایشی باید شرایط برنامه تمرینی مانند مدت، شدت، تکرار و نوبت‌های تمرین را مدنظر قرار داد؛ همچنین توصیه می‌شود سایر مقادیر استاندارد مصرف مکمل کوآنزیم Q10 بررسی شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین، سالمندی، کوآنزیم Q10، Nrf2، NQO1.

نحوه استناد به این مقاله: نوروزی ز، نعمتی ج، ثالثی م، رضایی ر، همتی نفر م. تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل کوآنزیم Q10 بر مقادیر Nrf2 و NQO1 عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. 1402؛ 16(3): 25-33.

* رایانامه نویسنده مسئول: msalesi@shirazu.ac.ir

مقدمه

اکسیداز و ردوکتاز (NQO1) است. در این بین NQO1 که ژن بیان‌کننده آنزیم اکسید ردوکتاز است و در سم‌زدایی نقش دارد و همچنین از تولید بنیان‌های آزاد که منشأ آن مشتقات کینون است جلوگیری می‌کند، مهم‌ترین آن‌هاست (۱۰). تحقیقات نشان داده‌اند که یک دوره تمرین حاد در موش‌های نوع وحشی موجب افزایش بیان ژن Nrf2 و آنزیم‌های ضد اکسایشی وابسته به آن از جمله NQO1 در عضله اسکلتی می‌شود (۱۱). در تحقیقی برای اولین بار تأثیر تمرین بدنی حاد بر میزان پروتئین Nrf2 در سطح سلول اندازه‌گیری و مشاهده شد Nrf2 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در مردان جوان و مسن افزایش یافت (۱۲). از سوی دیگر، تمرین موجب فعال شدن مسیرهای ضد اکسایشی درون‌زا می‌شود، لیکن از آنجا که مواد آنتی‌اکسیدانی درون‌زا در مقابله با فشار اکسایشی و به‌طور کارآمد عمل نمی‌کند، مکمل‌های ضد اکسایشی در چند دهه اخیر مورد توجه قرار گرفته که یکی از این ضد اکسایشی‌ها کوآنزیم Q10 (COQ10) است. با افزایش سن غلظت کوآنزیم Q10 در اندام‌ها کاهش می‌یابد و در صدمات اکسایشی ناشی از سالمندی تأثیرگذار است. در این زمینه برخی پژوهشگران بر این باورند که مکمل‌یاری کوآنزیم Q10 موجب کاهش فشار اکسایشی و افزایش عملکرد ضد اکسایشی می‌شود (۱۳). برخی مطالعات که آثار مکمل‌یاری COQ10 را بررسی کرده‌اند، افزایش سطح روی شرکت‌کنندگان در فعالیت هوازی، مشاهده شد که مصرف مکمل کوآنزیم Q10 موجب افزایش ظرفیت ضد اکسایشی پایه و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (۱۵). از سوی دیگر، برخی پژوهشگران اشاره کرده‌اند که مکمل کوآنزیم Q10 نمی‌تواند بر ظرفیت ضد اکسایشی تام تأثیر داشته باشد. پژوهشگران گروه لکسونن نیز نشان دادند که مکمل‌سازی کوآنزیم Q10 نمی‌تواند با افزایش ظرفیت ضد اکسایشی تام از تغییرات نامطلوب مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص اصلی پراکسیداسیون غشاهای زیستی جلوگیری کند (۱۵). از این‌رو با توجه به اینکه با افزایش سن تجمع آسیب اکسیداتیو و تحلیل بافت اتفاق می‌افتد، باید در پی راه‌هایی به‌منظور کاهش این صدمات در سالمندان بود در این بین راهکارهای تغذیه‌ای و فعالیت بدنی از عوامل مؤثرند و از میان روش‌های تمرینی گوناگون،

پیشرفت فناوری و افزایش سطح مراقبت‌های پزشکی در عصر جدید موجب افزایش جمعیت سالمند در سراسر جهان شده است. در ایران نیز بر اساس سرشماری‌های انجام‌گرفته جمعیت سالمند رو به افزایش است (۱،۲). افزایش سن با مشکلات عدیده‌ای در ساختار و عملکرد بدنی انسان همراه است. در این بین افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) از مواردی است که در پیری رخ می‌دهد و به نوبه خود موجب افزایش جهش‌های mtDNA میتوکندری و اختلال عملکرد در زنجیره انتقال الکترون می‌شود و در نهایت تولید بیشتر ROS را موجب می‌شود. میتوکندری نقش اساسی در آسیب‌شناختی بسیاری از بیماری‌ها در سالمندی دارد. تعدادی از پژوهشگران افزایش وابسته به سن در mtDNA در عضله اسکلتی را گزارش کرده‌اند (۳-۷). سالمندی تعداد میتوکندری‌ها، وضعیت عملکردی، بیوژنز میتوکندریایی، شکاف، همجوشی و میتوفاژی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، که این بی‌نظمی‌ها موجب کاهش چگالی و ظرفیت اکسایشی میتوکندری می‌شود. هماهنگی بین این فرایندها در میتوکندری توسط چندین آبخار پیام‌رسان تنظیم می‌شود که یکی از مهم‌ترین آن‌ها آبخار مسیر Nrf2 (Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor) است (۸،۹). Nrf2 یک عامل رونویسی متعلق به گروه پروتئینی زیپ لوسینی بازی (bZip) است که توسط ژن NFE2L2 کد می‌شود. Nrf2 در همه بافت‌ها وجود دارد، ولی بیشتر در مغز، کلیه، عضلات، ریه، قلب و کبد است. هنگامی که از ظرفیت‌های دفاعی سلولی بیش از توان آن استفاده می‌شود و فشار اکسایشی نقشی در این افزایش نداشته باشد، ممکن است اختلالی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی، عصبی یا تسریع در سالمندی ایجاد شده باشد. نشان داده شده است که Nrf2 در پاسخ به افزایش ROS، که محصولی از سوخت‌وساز انرژی و مانند واکنش محافظ آنتی‌اکسیدان است، فعال می‌شود. Nrf2 موجب بیان بیش از ۲۰۰ ژن محافظتی می‌شود که اثر سم‌زدایی سلولی و دفاع ضد اکسایشی دارند. از سوی دیگر ژن‌های کدکننده آنزیم‌های ضد اکسایشی از هدف‌های پایین دست مسیر Nrf-ARE هستند که شامل آنزیم‌هایی مانند SOD، کاتالاز، گلوکوتایون، آنزیم پراکسی‌رودکسین، آنزیم هم اکسیژناز و آنزیم کینون

روش اجرای پژوهش: پس از یک هفته آشناسازی، موش‌ها به‌طور تصادفی به گروه‌های تمرین تناوبی با شدت بالا، گروه مکمل، گروه تمرین تناوبی با شدت بالا به‌همراه مکمل و نیز گروه کنترل تقسیم شدند (هر گروه ۱۱ سر). پس از آشناسازی با محیط نگهداری و نحوه انجام تمرین‌ها، حیوانات به مدت شش هفته تمرین انجام دادند و در روزهای تمرین گروه‌های تمرینی، گروه کنترل و گروه مکمل هیچ تمرینی انجام ندادند.

به‌منظور تعیین اکسیژن مصرفی بیشینه از آزمون فزاینده استاندارد بیدفورد و همکاران (۱۹) استفاده شد که توسط لیندرو و همکاران (۲۰) برای موش‌های نژاد ویستار استانداردسازی شده است. آزمون فزاینده به این صورت بود که موش‌ها روی نوارگردان با سرعت ۵ m/min شروع به دویدن می‌کردند و هر سه دقیقه سرعت نوارگردان ۵ m/min افزایش می‌یافت. آزمون تا لحظه رسیدن موش‌ها به واماندگی ادامه یافت. سرعت نهایی موش‌ها به‌عنوان سرعت بیشینه در زمان رسیدن به اکسیژن مصرفی بیشینه برای محاسبه شدت‌های تمرینی موش‌ها استفاده شد. برای تهیه مکمل کوآنزیم Q10 نیز ابتدا ۴۰۰ میلی‌گرم از پودر مکمل کوآنزیم Q10 از شرکت بولک ساپلمنت آمریکا (Bulk supplements) با ترازو با دقت ۰۰۱/ وزن شده و در ظرف مدرج قرار داده شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر روغن زیتون که از آن به‌عنوان حلال استفاده می‌شود، به آن اضافه شد. تهیه مکمل به‌صورت هفته‌ای بود تا از تخریب مکمل که امکان دارد در طول مدت بر اثر عواملی مانند گرما (بیش از ۴۰ درجه سانتی‌گراد) و قرار گرفتن در معرض نور مستقیم آفتاب ایجاد شود، ممانعت به‌عمل آید. سپس مقدار مکمل مصرفی روزانه هر رت مخلوط شد تا یکدست شود. در ادامه به‌وسیله سرنگ انسولین و سوزن گاوآژ، مکمل به معده موش‌ها گاوآژ می‌شد. مقدار مصرف روزانه مکمل Q10 ۲۰۰ mg/kg از وزن بدن موش‌ها بود که ابتدای هر هفته محاسبه و گاوآژ شد (۲۱). تهیه مکمل به‌صورت هفته‌ای بود تا از خراب شدن مکمل که امکان داشت بر اثر عواملی چون گرما (بیش از ۴۰ درجه سانتی‌گراد) و قرار گرفتن در معرض نور خورشید به‌وجود بیاید، ممانعت به‌عمل آید. در این پژوهش از روش تمرینی رضایی و همکاران (۲۲) استفاده شد.

تمرین تناوبی شدید (HIIT) با دوره‌های کوتاه‌مدت و متناوب فعالیت شدید و فواصل استراحت بین آن‌ها، جایگزین مؤثری برای تمرینات استقامتی سنتی برای سالمندان ارائه شده است (۱۶، ۱۷). به‌طوری‌که عنوان می‌شود HIIT با افزایش بسامد تمرینات سازوکارهای مؤثر در افزایش محتوای میتوکندریایی است. همچنین تمرین تناوبی ممکن است تغییرات پیام‌رسانی Nrf2 وابسته به سن را کاهش دهد، ولی هنوز این پرسش مطرح است که تمرین بدنی همراه با یک مکمل ضد اکسایشی می‌تواند اختلال پیام‌رسانی Nrf2 در سن بالا را رفع کند؟ (۱۸). با وجود علاقه روزافزون به بررسی این مسیر مطالعات محدودی در مورد نقش فعالیت ورزشی و تغذیه به‌صورت توأمان بر مسیر Nrf2 و فعل و انفعالات آن که تنظیم‌کننده اصلی بیوتنز است، وجود دارد. از این‌رو هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مصرف مکمل کوآنزیم Q10 بر مقادیر Nrf2، NQO1 در عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند بود.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: آزمودنی‌های پژوهش حاضر ۴۴ سر موش صحرایی سالمند نر نژاد ویستار هشت‌ماهه بودند. در ابتدا و پیش از اجرای برنامه تمرینی یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری و روش تمرین در نظر گرفته شد. محل نگهداری حیوانات در آزمایشگاه حیوانات بخش علوم ورزشی دانشگاه شیراز بود. قفس نگهداری موش‌ها از جنس پلی‌کربنات شفاف در ابعاد ۲۰×۱۵×۱۵ بود. حیوانات در محیطی با دمای ۲±۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ۵±۵ درصد نگهداری می‌شدند و برای ایجاد تهویه و جریان هوا از دستگاه تهویه استفاده شد. فضای نگهداری حیوان و همین‌طور کل محیط آزمایشگاه با یک روش روزانه بدون خطر برای حیوان و انسان نظافت می‌شد. این تحقیق با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی) و با تأیید کمیته اخلاق در دانشگاه شیراز با کد IR.US.REC.۱۴۰۱.۰۲۵ به تصویب رسیده است.

جدول ۱. تمرین تناوبی با شدت بالا

هفته	گرم کردن	تناوبی با شدت بالا	تکرار	تناوبی با شدت پایین	تکرار	سرد کردن	زمان
اول	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲ دقیقه با ۶۰ درصد VO2max	۳	۲ دقیقه با ۴۰ درصد VO2max	۲	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲۰ دقیقه
دوم	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲ دقیقه با شدت ۷۰ درصد VO2max	۵	۲ دقیقه با ۴۰ درصد VO2max	۴	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲۸ دقیقه
سوم	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲ دقیقه با ۸۰ درصد VO2max	۷	۲ دقیقه با ۴۰ درصد VO2max	۶	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۳۶ دقیقه
چهارم	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲ دقیقه با ۹۰ درصد VO2max	۹	۲ دقیقه با ۴۰ درصد VO2max	۸	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۴۴ دقیقه
پنجم	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲ دقیقه با ۹۰ درصد VO2max	۹	۲ دقیقه با ۴۰ درصد VO2max	۸	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۴۴ دقیقه
ششم	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۲ دقیقه با ۹۰ درصد VO2max	۹	۲ دقیقه با ۴۰ درصد VO2max	۵	۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد VO2max	۴۴ دقیقه

برای بررسی دقیق تفاوتها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معناداری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. تمام روش‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام گرفت و از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

نتایج آزمون شاپیروویلیک حاکی از توزیع طبیعی اده‌هاست که در نتیجه همه فرضیه‌های پژوهش با روش تحلیل واریانس یکطرفه بررسی شدند. نتایج توصیفی نشان داد با اینکه مقادیر Nrf2 عضله نعلی موش‌های سالمند در گروه مکمل، گروه تمرین و گروه مکمل به همراه تمرین نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۱/۱، ۸/۱ و ۴۵/۵ درصد افزایش پیدا کرد ($P > 0/05$)، این تغییرات از لحاظ آماری معنادار نبود (جدول ۲).

روش‌های آزمایشگاهی: عضله نعلی موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی پس از تزریق کتامین و زایلازین به ترتیب ۷۵ میلی‌گرم و ۱۰ میلی‌گرم و بی‌هوشی کامل، روش جراحی باز خارج و پس از انتقال به تانک نیتروژن جهت انجام آزمایش وسترن بلات در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و لاشه آن‌ها به صورت بهداشتی در همان روز دفن شد. از روش وسترن بلات برای سنجش میزان پروتئین Nrf2 و NQO1 از بافت عضله نعلی موش‌ها استفاده شد.

تحلیل آماری: پس از جمع‌آوری اطلاعات، داده‌ها با استفاده از روش‌های آمار توصیفی و استنباطی تجزیه و تحلیل شد. در قسمت آمار توصیفی از میانگین، انحراف معیار و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی به منظور تعیین نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. از آزمون لون برای بررسی همگنی واریانس‌ها، از تحلیل واریانس یکطرفه و در ادامه

جدول ۲. میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای پژوهش

متغیر	گروه	تعداد	میانگین	انحراف استاندارد	درصد تغییرات
	کنترل	۳	۱	۰/۰	۰
Nrf2	مکمل	۳	۱/۰۱۱	۰/۲۰۵	۱/۱
(ng/ml)	تمرین	۳	۱/۰۸۱	۰/۳۰۹	۸/۱
	مکمل+تمرین	۳	۱/۴۵۵	۰/۴۱۸	۴۵/۵
	کنترل	۳	۱	۰/۰	۰
NQO1	مکمل	۳	۰/۷۴۶	۰/۰۲۴	-۲۵/۴
(ng/ml)	تمرین	۳	۰/۸۹۰	۰/۰۶	-۱۱
	مکمل+تمرین	۳	۰/۸۲۸	۰/۰۱۷	-۱۷/۲

یافته‌های پژوهش در زمینه مقادیر NQO1 نشان داد که تفاوت معنادار بین گروه‌های مورد بررسی در عضله نعلی رتهای سالمند وجود دارد ($P=۰/۰۰۱$). تمرین تناوبی شدید بدون مصرف مکمل ($P=۰/۰۱۶$) و با مصرف مکمل کوآنزیم Q10 ($P=۰/۰۰۱$) و همچنین مصرف مکمل کوآنزیم Q10 به تنهایی به طور معناداری ($P=۰/۰۰۱$) موجب کمتر شدن مقادیر NQO1 عضله نعلی رتهای سالمند شد. میزان تغییرات در گروه مکمل، گروه تمرین و گروه مکمل

به همراه تمرین نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۱۱، ۲۵/۴ و ۱۷/۲ درصد بود (جدول ۳). یافته‌های تحلیل واریانس نشان می‌دهد که تفاوت معنادار بین گروه‌های مورد بررسی در رابطه با مقادیر NQO1 در عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند وجود دارد ($P<۰/۰۰۱$). به منظور بررسی مکان معناداری تفاوت‌های گروهی دو به دو از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳. نتایج آزمون توکی به منظور مقایسه دو به دو تغییرات مقادیر NQO1 بین گروه‌های پژوهش

گروه‌های مورد مقایسه	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد	معناداری
کنترل × مکمل	۰/۲۵۴	۰/۰۲۷	۰/۰۰۱
کنترل × تمرین	۰/۱۱۰	۰/۰۲۷	۰/۰۱۶
کنترل × مکمل+تمرین	۰/۱۷۲	۰/۰۲۷	۰/۰۰۱
مکمل × تمرین	-۰/۱۴۴	۰/۰۲۷	۰/۰۰۳
مکمل × مکمل+تمرین	-۰/۰۸۲	۰/۰۲۷	۰/۰۶۵
تمرین × مکمل+تمرین	-۰/۰۶۳	۰/۰۲۷	۰/۱۷۴

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مصرف مکمل COQ10 بر مقادیر Nrf2 و NQO1 عضله نعلی موش‌های صحرایی سالمند بود. پس از شش هفته تمرین مشاهده شد تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف مکمل Q10 بر مقادیر Nrf2 عضله نعلی موش‌های سالمند تأثیر معناداری نداشت. ولی تمرین تناوبی شدید با و بدون مصرف مکمل کوآنزیم Q10 و همچنین مصرف مکمل

با توجه به نتایج جدول ۳ تمرین تناوبی شدید با و بدون مصرف مکمل کوآنزیم Q10 و همچنین مصرف مکمل کوآنزیم Q10 به تنهایی به طور معنادار موجب کاهش مقادیر NQO1 عضله نعلی موش‌های سالمند شد. میزان تغییرات در گروه مکمل، گروه تمرین و گروه مکمل به همراه تمرین نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۱۱، ۲۵/۴ و ۱۷/۲ درصد بود.

مانند آدنوزین منوفسفات حلقوی (cAmp)، کلسیم، فشار مکانیکی، پروتئین‌کنیاز فعال شده Amp (Ampk) را فعال می‌کند که به تغییرات رونویسی mRNA منجر می‌شود. فعالیت ورزشی موجب افزایش تولید ROS در عضله اسکلتی می‌شود که ابتدا مخرب معرفی شد، ولی بعد مشخص شد که موجب یک سری سازگاری‌ها می‌شود که به واسطه Nrf2 تنظیم می‌شود (۲۴، ۳۱-۳۳). در مجموع این پژوهش از نقش Nrf2 در ایجاد پیدایش میتوکندری ناشی از ورزش در انسان پشتیبانی می‌کند که به نظر می‌رسد افزایش مؤلفه شدت تمرین امری تأثیرگذار بر افزایش بیان Nrf2 باشد. مطالعات مربوط به پیام‌رسانی Nrf2 ناشی از تمرین هنوز بسیار محدود است. عدم تغییر معنادار Nrf2 و کاهش NQO1 در این پژوهش می‌تواند دلایل گوناگونی مانند شدت تمرین و نوع تمرین و همچنین گروه مورد بررسی داشته باشد. با این همه، مسیر Nrf2 هنوز به طور کامل مشخص نشده است. Nrf2 به عنوان یک هدف نهفته در پیشگیری از بیماری کاملاً واضح است، زیرا تأثیرات اکسایشی آن به محافظت از سلول منجر می‌شود. با مهار سطوح بیش از حد فشار اکسایشی و بازیابی هومئوستاز ردوکس، Nrf2 می‌تواند از اختلالات عضلانی ناشی از افزایش سن و سایر بیماری‌ها جلوگیری کند. ارتباط بین فعالیت ورزشی و مکمل‌های ضد اکسایشی مدت زیادی نیست که بررسی شده است، پژوهش‌ها نشان می‌دهد فعالیت بدنی Nrf2 را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این زمینه سازوکار دقیق سازگاری‌های مولکولی عضلات اسکلتی همچنان روشن نیست و در واقع سازگاری‌های عضله اسکلتی شامل یک کنش متقابل پیچیده بین مسیرهای پیام‌رسان و تنظیم‌کننده‌های پایین‌دستی است (۲۸).

برخی از محدودیت‌ها نیز ممکن است بر نتایج پژوهش حاضر تأثیرگذار باشد. برای نمونه در این پژوهش مقادیر Q10 در نمونه‌ها ارزیابی نشد. همچنین عدم اندازه‌گیری عوامل اصلی پژوهش در بافت‌های دیگر بدن مانند قلب و مغز که می‌تواند اطلاعات بیشتری در مورد مسیرهای مورد نظر بدهد، از دیگر محدودیت‌های پژوهش حاضر است.

روی هم‌رفته نتایج این تحقیق نشان داد که تمرین تناوبی شدید تأثیری بر مسیر Nrf2 در آزمودنی‌های سالمند ندارد ولی موجب کاهش NQO1 می‌شود. طور کلی ورزش می‌تواند مسیر Nrf2 را تحت تأثیر قرار دهد

کوآنزیم Q10 به‌تنهایی به‌طور معنادار موجب کاهش مقادیر NQO1 عضله نعلی موش‌های سالمند شد ($P < 0/001$). میزان تغییرات در گروه مکمل، گروه تمرین و گروه مکمل به‌همراه تمرین نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۱۱، ۲۵/۴ و ۱۷/۲ درصد بود. در مورد اثر تمرینات تناوبی شدید بر عملکرد عضلانی و شاخص‌های ضد اکسایشی سالمندان تحقیقات اندکی صورت گرفته است. نتایج این تحقیق با نتایج پاس و همکاران (۲۰۲۰) (۲۳)، عباسی و همکاران (۱۳۹۷) (۱۴) ناهمسو و با نتایج پژوهش لی و همکاران (۲۰۱۵) (۲۴) همسوست که بیان می‌کند افزایش در سیگنالینگ Nrf2 و آنزیم‌های مربوط مانند NQO1 به مدت زمان ورزش بستگی دارد که نشان داد تمرین هوازی که کمتر از یک ساعت طول می‌کشد، هیچ تغییری در Nrf2 MRNA یا بیان پروتئینی ایجاد نکرد. از سوی دیگر نتایج این پژوهش با نتایج تحقیق و نگ و همکاران (۱۱) در تضاد است که نشان داده شده یک دوره تمرین حاد در موش‌های نوع وحشی موجب افزایش بیان ژن Nrf2 و آنزیم‌های ضد اکسایشی وابسته به آن از جمله NQO1 در عضله اسکلتی می‌شود. وقتی در بدن ROS افزایش می‌یابد، اکسیداسیون بقای سیستمین در پروتئین Keap1 زیاد می‌شود که موجب یک سری تغییرات ساختمانی و جدا شدن Keap1 و Nrf2 می‌شود و در نتیجه انباشت Nrf2 در سیتوپلاسم و انتقال آن به داخل هسته و با MAF که پروتئینی کوچک است، هتروداایمر تشکیل می‌دهد و توالی ARE در ناحیه پروموتور ژن‌های مورد نظر اتصال می‌یابد و رونویسی را فعال می‌سازد. پروتئین سرکوبگر Nrf2، GSK3 است که بر خلاف بیشتر پروتئین‌کینازها در شرایط بدون تنش فعال است و می‌تواند Nrf2 را فسفوریله و در نتیجه انتقال آن را به هسته سرکوب کند. با این همه، این سرکوب می‌تواند توسط AKT مهار شود (۲۵-۲۷). تحقیقات گوناگون نشان می‌دهد فعالیت بدنی Nrf2 و NQO1 را تحت تأثیر قرار می‌دهد، ولی کشف مسیرهای سیگنالینگ آن به پژوهش‌های زیادی نیاز دارد (۳۰، ۲۸). پژوهش‌ها نشان می‌دهد ورزش منظم در الگوهای جوندگان Nrf2 در بافت‌هایی مانند عضله اسکلتی، کلیه، مغز، کبد و میوکارد افزایش می‌یابد و موجب تنظیم میزان پروتئین Nrf2 و فعالیت آنزیم‌های مربوط می‌شود. ورزش یک سری سازگاری‌های فیزیولوژیکی و سیگنالینگ سلولی را به‌همراه دارد و پیام‌رسان‌هایی

5. Boengler, K., Kosiol, M., Mayr, M., Schulz, R., and Rohrbach, S. Mitochondria and ageing: role in heart, skeletal muscle and adipose tissue. *Journal of Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017;8(3):369-349.
6. Barrientos, A., Casademont, J., Cardellach, F., Estivill, X., Urbano-Marquez, A., and Nunes, V. Reduced steady-state levels of mitochondrial RNA and increased mitochondrial DNA amount in human brain with aging. *Journal of Brain Res Mol Brain Res*. 1997;52(2):284-289.
7. Onyango, I. G., Lu, J., Rodova, M., Lezi, E., Crafter, A. B., and Swerdlow, R. H. Regulation of neuron mitochondrial biogenesis and relevance to brain health. *Biochim. Journal of Biophys*. 2010;1802(1):228-234.
8. Conley, K. E., Jubrias, S.A. and Esselman, P.C.. Oxidative capacity and ageing in human muscle. *Journal of Physio*. 2000; 1(1):203-210.
9. Holmström, K. M., Kostov, R. V., and Dinkova-Kostova, A. T.). The multifaceted role of Nrf2 in mitochondrial function *Curr Opin. Journal of Toxicol jcotox*. 2016; 1(1): 80-91.
10. Aguiar A, Duzzioni M, Remor A, Tristão F, Matheus F, Raisman V, et al. Moderate-intensity physical exercise protects against experimental 6-hydroxydopamine-induced hemiparkinsonism through Nrf2- antioxidant response element pathway. *Journal of Neurochem. Res*. 2016; 41(1-2): 64-72.
11. Wang, L., Yang, S., Yan, L., Wei, H., Wang, J. Hypoxia preconditioning promotes endurance exercise capacity of mice by activating skeletal muscle Nrf2. *Journal of Applied Physiology*. 2019; 127(5): 1267-1277.
12. Done, A. J., Gage, M. J., Nieto, N. C., & Traustadóttir, T. Exercise-induced Nrf2-signaling is impaired in aging. *Journal of Free Radical Biology & Medicine*. 2016; 96: 130-8.
13. Raygan F, Rezavandi Z, Tehrani SD, Farrokhiyan A, Asemi Z. The effects of coenzyme Q10 administration on glucose homeostasis parameters, lipid profiles, biomarkers of inflammation and oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *Journal of Eur Nutr*. 2015;55(8):2357-2364. [In Persian]
14. Abasi, s , Avandy, M, Haghshnas, R. Effect of eight weeks of concurrent training on plasma levels of NRF2 in young men. *Journal of Applied health studies in exercise physiology*. 2(5):78-83. [In Persian]
15. Belardinelli R, Muçaj A, Lacialaprice F, Solenghi M, Seddaiu G, Principi F, et al. Coenzyme Q10 and exercise training in chronic heart failure. *Journal of Eur Heart*. 2006;27(22):2675-81.
16. Martin J., MacInnis T., Gibala K., Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *Journal of Physiology*.

و وجود تناقض‌های موجود بین یافته‌های گوناگون می‌تواند به دلیل کمبود شواهد پژوهشی مشابه، تفاوت در مقدار یا مدت مصرف مکمل، حجم، شدت و زمان فعالیت باشد. از این رو برای تعیین سازوکار اثر آن در سالمندی و نوع و شدت تمرینات بدنی نیاز به پژوهش‌های بیشتری است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل مطالعه آزمایشگاهی بخش علوم ورزشی دانشگاه شیراز است، بدین وسیله از همه کسانی که ما را در اجرای این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

حامی/حامیان مالی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری خانم زهرا نوروزی بخش علوم ورزشی دانشگاه شیراز است و هزینه پژوهش توسط پژوهشگران تأمین شد و از امکانات آزمایشگاه بخش علوم ورزشی دانشگاه شیراز استفاده گردید.

مشارکت نویسندگان

مقاله برگرفته از رساله دکتری خانم زهرا نوروزی است و هر یک از نویسندگان در پیشبرد آن تأثیرگذار و راهنما بوده‌اند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی در خصوص این مقاله وجود ندارد.

منابع

1. Hosseinizare SM, Tajvar M, Abdi K, Esfahani P, Geravand B, Pourreza A. Leisure spending patterns and their relationship with mental health in the elderly in Iran. *Salmand: Journal of Iranian Ageing*. 2020; 15(3):366-79. [In Persian]
2. Miri N, Maddah M, Raghfar H. Aging and economic growth. *Salmand: Iranian Journal of Ageing*. 2019; 13(5):626-37. [In Persian]
3. Noorshahi M, Ahmadizad S, Imani F, Dehghan P. Effect of introverted-introverted isokinetic activity with blood flow restriction on serum VEGF levels in active elderly men. *Journal of Sport and Exercise Physiology*, 1400; 14(1): 49-58. [In Persian]
4. Gang Y, Blum A., Liu J, Finkel T. The role of mitochondria in aging. *Journal of Clin. Invest*. 2018;128(9):3662-3670.

- Nrf2-ARE pathway activation in mouse skeletal muscle. *Journal of Free Radic. Res.* 2015; 49 (10): 1269–1274.
25. Itoh K, Igarashi K, Hayashi N, Nishizawa M, Yamamoto M. Cloning and characterization of a novel erythroid cell-derived CNC family transcription factor heterodimerizing with the small Maf family proteins. *Journal of Mol Cell Biol.* 1995; 15(8): 4184-93.
 26. Wu, T., Zhao, F., Gao, B., Tan, C., Yagishita, N., Nakajima, T., et al. Emerging roles of Nrf2 and phase II antioxidant enzymes in neuroprotection. *Journal of Prog Neurobiol.* 2014; 100: 30-47.
 27. Tebay L, Robertson H, Durant S, Vitale S, Penning, T, 12. Sosa V, Mo. Oxidative stress and cancer: an overview. *Journal of Ageing Res Rev.* 2013;12(1):37690.
 28. Ferraro E, Giammarioli AM, Chiandotto S, Spoletini I & Rosano G. Exercise-induced skeletal muscle remodeling and metabolic adaptation: redox signaling and role of autophagy. *Journal of Antioxid Redox Signal.* 2014; 21(1): 154–176.3.
 29. Ogasawara R, Kobayashi K, Tsutaki A, Lee K, Abe T, Fujita S, Nakazato K & Ishii N. mTOR signaling response to resistance exercise is altered by chronic resistance training and detraining in skeletal muscle. *Journal of Appl Physio*2013; 114(7): 934–940.
 30. Camera D, Smiles W, Hawley J, Exercise-induced skeletal muscle signaling pathways and human athletic performance. *Journal of Free Radic Biol Med.* (2016); 98:131-143.
 31. V.G. Coffey, J.A. Hawley, The molecular bases of training adaptation. *Journal of Sports Med.* 2007; 37 (9): 731-763.
 32. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, J. Telser, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Journal of Int Biochem. Cell Biol.*2007; 39 (1): 44–84.
 33. Sosa v ,Teresa Moliné T,RosaSomoza , Paciucci R, Kondoh H, E LLeonart Oxidative stress and cancer: an overview. *Journal of Ageing Res Rev.*2013;12(1):376-90.
 - 2017;595(9) 2915-2930.
 17. Gounder S, Kannan S, Devadoss D, MillerC, K.J. Whitehead K, Odelberg S. Rajasekaran, Impaired transcriptional activity of Nrf2 in age-related myocardial oxidative stress is reversible by moderate exercise training. *Journal of PLoS One.*2012; 7 (9): 456-97.
 - 18.Rezaei, Alireza, Gaini, Abbasali, Chubineh, Siros, Nouri, Reza. The effect of six weeks of intense intermittent swimming training and resveratrol supplementation on the amount of SIRT3 in the left ventricular tissue of old rats. *Journal of Sports Physiology and Physical Activity.*1401; 15(3): 25-34. [In Persian]
 - 19 .Bedford T G, Tipton C. M, Wilson N. C, Oppliger R. A, Gisolfi C. V. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *Journal of jappl.*1979; 47(6): 1278-83.
 20. Leandro CG, de Lima T M, Carolina T, Loureiro A, do Nascimento E, de Castro R M, de Castro C MM B, Pithon-Curi T C, Curi R. Stress-Induced Downregulation of Macrophage Phagocytic Function Is Attenuated by Exercise Training in Rats. *Journal of Neuroimmunomodulation* 2007; 14:4–7.
 21. Pall, M. L., Levine, S. Nrf2, a master regulator of detoxification and also antioxidant, anti-inflammatory and other cytoprotective mechanisms, is raised by health promoting factors. *Journal of Acta Physiologica Sinica.* 2015; 67(1):1-10
 - 22.Rezaei R, Norshahi M, Bigdeli MR,KHodagholi.Fffect Of Eight Weeks Continues and HIIT Exercise On VEGF-A And VEGFR-2 Levels In Stratum, Hippocampus And Cortex Of Wistar Rat Brain. *Journal of Sport and Exercise Physiology.* 2016; 8(2):1213-1221. [In Persian]
 - 23 .Paes L, Lima D, Matsuura C, De So uza MDG, Cyrino F, Barbosa C, et al. Effects of moderate and high intensity isocaloric aerobic training upon microvascular reactivity and myocardial oxidative stress in rats. *Journal of PLoS One.* 2020; 15 (2): 218-228.
 24. Li T, He S, Liu S, Kong Z, Wang J, Zhang Y, Effects of different exercise durations on Keap1-