مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v13i2.1892

مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن‌های foxo1 و foxo3a بافت قلب موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

صدف کارائی[۱*]، علی‌اصغر رواسی[۲]، مجید قلی‌پور[۳]

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور استان البرز واحد کرج، ایران.
۲- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- استادیار، عضو هیأت علمی تربیت بدنی دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۲، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۴/۱۷

چکیده

مقدمه: *هدف از تحقیق حاضر، مقایسه دو نوع تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید بر میزان بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a در بافت قلب موش‌های صحرایی نر بود.*

مواد و روش‌ها: *۱۸ سر موش صحرایی در شرایط استاندارد مورد مطالعه قرار گرفتند. پروتکل تمرین تداومی هوازی شامل پنج جلسه در هفته باشدت ۷۰ درصد سرعت بیشینه و پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل سه جلسه فعالیت با تکرار اینتروال با شدت بالابمدت دو دقیقه با شدت۹۰درصد سرعت بیشینه درهفته اول و دوم و سپس ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه تا پایان دوره تمرین بود، تکرار اینتروال با شدت پایین بمدت دو دقیقه با شدت ۴۰ درصد سرعت بیشینه ازهفته اول تا پایان هفته سوم و ۳۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته چهارم تا پایان دوره تمرین بود. در نهایت میزان بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a به‌وسیله روش Real time – PCR و با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج با استفاده از آزمون کروسکال-والیس در سطح معنی‌داری آماری $P<0/05$ ارزیابی شد.*

نتایج: *یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرینی تداومی هوازی، نسبت‌به گروه کنترل، باعث کاهش معنی‌داری در بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a شد (هر دو $P=0/004$) تمرین تناوبی شدید باعث کاهش معنی‌دار در بیان ژن foxO3a شد ($P=0/004$) اما بر کاهش سطح بیان ژن foxO1 تأثیر معنی‌داری نداشت ($P=0/055$) سطح بیان ژن ها در دو گروه تجربی تفاوت معنی‌داری داشت (هر دو $P=0/002$).*

نتیجه‌گیری: *با توجه به نتایج، دو پروتکل تمرینی تحقیق حاضر می‌توانند باعث سازگاری‌های مؤثر تمرینی شوند.*

واژه‌های کلیدی: تمرین تداومی هوازی، تمرین تناوبی شدید، بیان ژن، foxO1، foxO3a

***نویسنده مسئول:** پاسداران- خیابان دولت- چهار راه قنات- انتهای کوچه ارم- پلاک ۱۷، **تلفن:** ۰۹۱۲۷۹۰۴۷۱۵، **نمابر:** ۰۲۱۲۲۲۵۸۰۱۹،
Email: 100af.kara@gmail.com

ارجاع: کارائی صدف، رواسی علی اصغر، قلی پور مجید. تأثیر هشت هفته تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن‌های foxo1 و foxo3a بافت قلب موش های صحرایی نر نژاد ویستار. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۷؛۱۳(۲): ۶۲-۷۰.

مقدمه

سالیان مدیدی است که درباره دلائل و روش‌های پیشگیری از بیماری‌های قلبی مطالعات فراوانی به‌عمل می‌آید که به واسطه آنها اطلاعات جدیدی به‌دست آمده است. طی چند دهه اخیر تصور می‌رفت که چربی اشباع شده و کلسترول عوامل اصلی در ابتلا به بیماری شریان کرونری هستند. از این رو به افراد توصیه می‌شد که تا حد امکان این دو عامل را در رژیم غذایی خود محدود کنند. اما بر اساس مطالعات جدید و با در نظر گرفتن دیگر شرایط سلامتی، ایجاد محدودیت شدید در دریافت اسیدهای چرب اشباع شده یا جایگزینی آنها با اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه، اقدام چندان مناسبی محسوب نمی‌شود. در روش‌های پیشگیرانه از بیماری‌های قلبی، بسته به ژنتیک افراد، تغذیه از ۵۰ درصد اهمیت برخوردار است. در جهت پیشگیری از اینگونه بیماری‌ها فعالیت بدنی نیز برای همگان مفید واقع می‌گردد (۱).

فعالیت بدنی که در مقابل بیماری‌های قلبی- عروقی راه‌حل کاربردی مناسبی به شمار می‌رود باعث کاهش عوامل خطرزای قلبی، جلوگیری از تخریب میوکارد و افزایش عملکرد قلب می‌شود. سازگاری سلولی به فعالیت بدنی می‌تواند به عوامل اندوژنز و اگزوژنز مربوط باشد: ۱) فعالیت بدنی با ایجاد هایپرتروفی و تجدید کاردیومیوسیت‌ها منجر به رشد قلبی می‌شود و ۲) همچنین باعث تکثیر، تفکیک و جابه‌جایی سلول‌های اندوتلیال نابالغ به سلول‌های اندوتلیال بالغ شده که در نتیجه موجب احیاء اندوتلیال و آنژیوژنز (تشکیل عروق جدید) می‌شود (۲).

مکانیسم‌های درگیر در تنظیم پروتئین‌های آنژیواستاتیک در پاسخ به تمرین ورزشی نیاز به بررسی بیشتری دارند. البته کاملا واضح است که حفظ تعادل میان عوامل آنژیواستاتیک در آغاز آنژیوژنز ناشی از فعالیت بدنی بسیار مهم می‌باشد. قابلیت تأثیر پروتئین‌های foxO در کنترل رشد و توسعه سلول‌های قلبی-عروقی، آنژیوژنز و تکثیر سلول‌های عضلانی صاف جهت حفظ عملکرد دستگاه قلبی-عروقی ضروری است (۳). در این خانواده foxO1 و foxO3a در سلول‌های اندوتلیال فراوان‌ترین‌اند (۴). عوامل رونویسی foxO1 و foxO3a حین تمرین ورزشی بطور موقت تنظیم می‌شوند که با تغییرات در بیان پروتئین قشری آنژیواستاتیک ترومبوزپوندین (THBS1) همسو می‌باشند. براساس شواهد، حذف foxO1/3a/4 اندوتلیال، افزایش در THBS1 mRNA ناشی از فعالیت بدنی را از بین برده و موجب تسریع پاسخ آنژیوژنیک به فعالیت ورزشی می‌شوند. بر این اساس، پروتئین‌های foxO تنظیم‌کنندگان فیزیولوژیکی THBS1 در عضله اسکلتی هستند و از همه مهمتر تنظیم منفی پروتئین‌های foxO ی اندوتلیال در پاسخ به فعالیت بدنی، ظرفیت شبکه مویرگی برای وقوع آنژیوژنز را بالا می برند (۵). foxOها در بی‌مهرگان تا پستانداران وجود دارند بدین ترتیب که جانداران بی‌مهره از یک ژن foxO و پستانداران از چهار ژن foxOشامل(fxHR)foxO1، (fk HRL1)foxO3a، oxO4 (AFx) و foxO6 برخوردارند که به ترتیب دارای ۶۵۵، ۶۷۳، ۵۰۵ و ۴۹۲ اسید آمینه می‌باشند. فعالیت رونویسی foxO توسط اصلاحات و سپس رونویسی پیچیده اما منظمی چون فسفریلاسیون، استیلاسیون و یوبی کوئی تیناسیون تنظیم می‌شود (۶ و ۷). این اصلاحات می‌توانند فعال‌کننده و یا بازدارنده باشند و از طریق آن‌ها کنترل دقیق عوامل FoxO در پاسخ به محرک بیرونی با تغییرات در جایگاه سلولی انجام می‌پذیرد (۸ و ۹).

اسلوپک و همکاران (۲۰۱۴) اولین افرادی بودند که نقش فاکتورهای رونویسی foxO را در آنژیوژنز عضله اسکلتی در پاسخ به تمرین استقامتی مورد بررسی قرار دادند (۱۰). به‌تازگی foxO به عنوان تنظیم‌کننده‌ی تعادل بین عوامل پیش آنژیوژنز و آنتی آنژیوژنیک در پاسخ به فعالیت بدنی شناخته شده است (۱۱). هونگ و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی تأثیر تمرین شنا بر SIRT1 در عضله اسکلتی و سطوح بیان PGC-1α در موش‌هایی با سنین مختلف، دریافتند که سطوح foxO3a در عضله‌ی دوقلوی موش‌های ۱۲ ماهه و ۱۸ ماهه تمرین کرده نسبت به موش‌های هم سن خود در گروه کنترل (بدون تمرین) به‌طور چشمگیری افزایش داشت و این در حالی است که مقادیر آن در عضله نعلی کاهش یافت (۱۲). لی و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی با بررسی تأثیر تمرین ورزشی مقاومتی برفعالیت AKT-eNOS و بیان Ref-1 توسط فعالیت foxO1 در آئورت موش‌های F344 به این نتیجه رسیدند که فسفریلاسیون foxO1 در گروه تمرین کرده در مقایسه با گروه کنترل به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد (۱۳). مارف و همکاران (۲۰۱۲) پس از یک وهله فعالیت بدنی طولانی مدت تا رسیدن به درماندگی در بافت عضله قلب و اسکلتی موش‌ها، کاهش رونویسی foxO3a را مشاهده کردند (۱۴).

از آنجایی که ارتباط بین عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک در سازگاری بهینه با فعالیت بدنی از اهمیت زیادی برخوردار است از این رو دستیابی به شیوه‌های تمرینی مناسب و شدت‌های متفاوت، در سال‌های اخیر مورد توجه محققان حوزه فیزیولوژی ورزشی قرار گرفته است. همچنین بر اساس اطلاعات ما، اثرات سازگاری با تمرین ورزشی بر عوامل foxO در بافت قلبی انجام نشده است. با توجه به مطالب فوق، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات دو نوع روش تمرینی تداومی هوازی و تناوبی شدید، روی بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a و مقایسه اثرات این دو روش انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. با توجه به تحقیقات انجام شده بر بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a (۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۶)، ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای به عنوان نمونه تحقیق از مؤسسه انستیتو رازی خریداری و به سه گروه‌های شش تایی تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در محیطی با میانگین دمای ۱/۴±۲۲ درجهسانتی گراد،رطوبت ۴±۵۵٪ و چرخه روشنایی–تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. غذای آزمودنی‌های این پژوهش، تولید شرکت خوراک دام پارس بود. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌های صحرایی براساس کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه شهید بهشتی انجام شد.

آزمودنی‌ها پس از سه روز آشنایی با محیط آزمایشگاه به صورت تصادفی ساده به سه گروه ۶ تایی: تمرین تداومی هوازی (CET)، تناوبی شدید (HIIT)، کنترل (C) تقسیم شدند. این روش‌های تمرینی با توجه به اثرات مؤثری که بر بافت قلب دارند انتخاب شدند. جهت تعیین سرعت بیشینه از آزمون فزاینده استاندارد بیدفورد و همکاران (۱۹۷۹) استفاده شد که به‌وسیله کارول گویز ریندلو و همکاران (۲۰۰۷) جهت موش‌های صحرایی نژاد ویستار استانداردسازی گردیده است (۱۷). آزمون شامل ۱۰ مرحله سه یا چهار دقیقه‌ای بود. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر بر ساعت بود که در مراحل بعدی حدود ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوارگردان اضافه می‌شد. پروتکل تمرین تناوبی شدید بدین گونه بود که موش‌های صحرایی ابتدا با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه به مدت ۵ دقیقه بر روی نوارگردان گرم کردند و بلافاصله، تکرار اینتروال باشدت بالا را انجام دادند که شامل دو دقیقه با شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه درهفته اول و دوم و۱۱۰ درصد سرعت بیشینه تاپایان هفته هشتم بود، تکرار اینتروال با شدت پایین شامل دو دقیقه با شدت ۴۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اول تا پایان هفته سوم و ۳۰ درصد سرعت بیشینه ازابتدای هفته چهارم به بعد بود. اینتروال با شدت بالا در هفته اول، دو مرتبه، در هفته دوم، چهار مرتبه، در هفته سوم، شش مرتبه و در هفته چهارم به بعد هشت مرتبه تکرار شد. از این رو کل زمان تمرین در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ و از ابتدای هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود. درگروه تمرین تداومی هوازی موش‌های صحرایی ابتدا به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوارگردان گرم کرده سپس با شدت ۷۰ درصد سرعت بیشینه، بدنه تمرین را انجام دادند. مسافت دویدن موش‌های صحرایی در گروه تمرین تداومی به گونه‌ای بود که با مسافت تمرین گروه تناوبی برابر باشد. درپایان هر دو پروتکل، موش‌های صحرایی پنج دقیقه سرد کردن را با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه انجام دادند. موش‌های صحرایی گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند و سپس در معرض صدای تردمیل قرار گرفتند.

از آنجا که تغییرات در میزان بیان هر دو ژن، تحت تأثیر عوامل بالادستی موجود در خون، مانند AKT قرار دارند، لذا به منظور از بین بردن اثرات حاد این عوامل، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، نمونه‌گیری در هر دو گروه انجام شد. موش‌های صحرایی با تزریق درون‌صفاقی زایلازین و کتامین بی‌هوش و بافت قلب جدا و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد. سپس بطن چپ، با توجه به تأثیر به سزای آن در عاملیت برون‌ده قلبی و فشار زیادی که هنگام انجام فعالیت‌های ورزشی، به طور عمده بر آن وارد می شود، جدا و بلافاصله در میکروتیوب قرار داده شده و با استفاده از ازت مایع منجمد و برای سنجش‌های بعدی به فریزر ۸۰- انتقال داده شد.

بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a با روش Real-time PCR (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems) مورد بررسی قرار گرفت. استخراج RNA بصورت RNX-Pluse و به‌منظور بررسی کیفیت و کمیت آن از روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز استفاده شد. توالی mRNAی مربوطبه ژن foxO1 و foxO3a با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم‌افزارکامپیوتری Allel ID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت (شرکت سیناژن). آزمایشات جهت بررسی هر ژن، دو بار انجام شد.

برای کمی سازی مقادیر بیان ژن موردنظر از فرمول ۲-ΔΔct استفاده شد. اطلاعات موردنیاز پس از جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ پردازش و تحلیل شدند و کلیه نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان گردیدند. ابتدا طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو ویلک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به طبیعی نبودن توزیع داده‌ها از آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس و آزمون تعقیبی من ویتنی استفاده گردید.

نتایج

توالی پرایمر ژن‌های مربوطبه متغیرهای تحقیق، منطبق با بانک ژن ها در جدول ۱ ارائه شده است. تغییرات سطح بیان ژن foxO1 در بافت بطن چپ قلب. یافته‌های به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که بعد از دوره تمرینی سطح بیان ژن foxO1 تنها در گروه

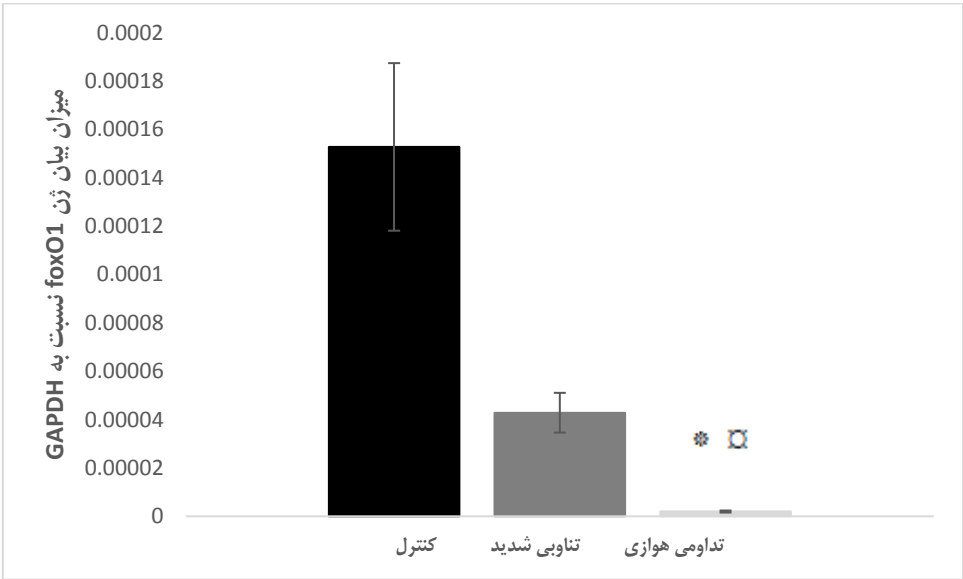
تمرینی تداومی هوازی نسبت‌به گروه کنترل کاهش معنی‌دار داشت (P=۰/۰۰۴) و این کاهش به حدی بود که بین دو گروه تجربی هم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P=۰/۰۰۲)، اگرچه کاهش این ژن در گروه تناوبی شدید هم قابل ملاحظه بود (P=۰/۰۵۵).

تغییرات سطح بیان ژن foxO3a در بافت بطن چپ قلب. بر اساس یافته‌های حاصل از تجزیه و تحلیل آماری، سطح بیان ژن foxO3a پس از هشت هفته انجام تمرینات تداومی هوازی و تناوبی شدید نسبت به گروه کنترل دچار کاهش معنی‌داری شد (هر دو P=۰/۰۰۴) میزان تغییرات بیان این دو ژن پس از گذشت هشت هفته انجام دو روش تمرینی مذکور در نمودارهای ۱ و ۲ ارایه شده است.

علاوه بر این، مقایسه دو گروه تمرینی نشان داد که بین تأثیر هشت هفته تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی تفاوت معنی‌دار وجود دارد (هر دو P=۰/۰۰۲) نتایج جدول ۲ و ۳ بیانگر آن است که تمرین تداومی هوازی بر کاهش foxO1 و تمرین تناوبی شدید بر کاهش foxO3a مؤثرتر بوده است.

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

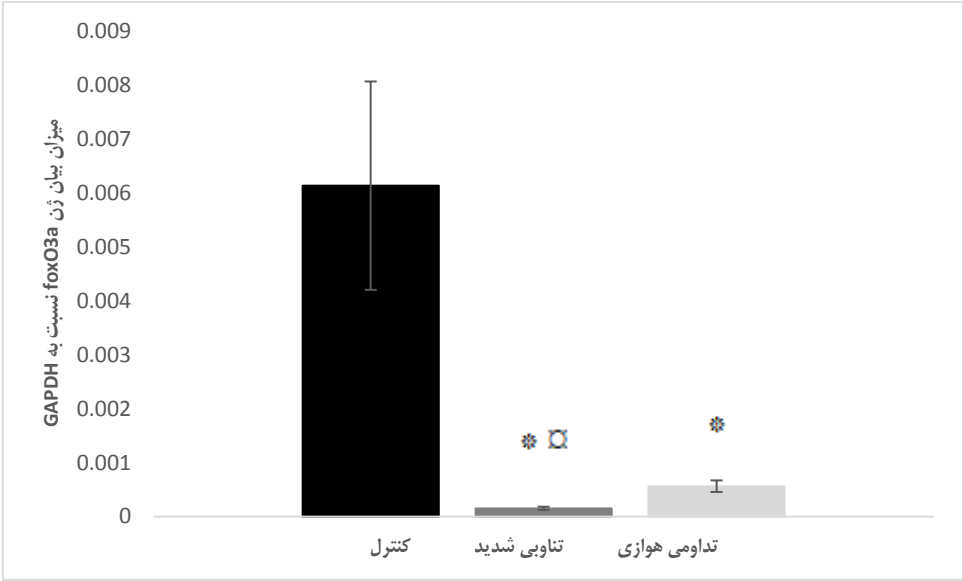
توالی پرایمر	نام ژن	میزبان
AACTGAGGAGCAGTCCAAAGATG	FoxO1 F	موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار
CTACACGAGCACATAACCTGT	FoxO1 R	
GCAACATGGGCTTGAGTGACTCC	FoxO3a F	موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار
TCCAACCCATCGGCATCCATGAG	FoxO3aR	



شکل ۱- مقدار تغییرات ایجاد شده در تکثیر ژن foxO1 در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی در سه گروه.

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

• تفاوت معنی‌دار با گروه تناوبی شدید P<۰/۰۵



شکل۲- مقدار تغییرات ایجاد شده در تکثیر ژن foxO3a در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی در سه گروه.

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

• تفاوت معنی‌دار با گروه تداومی هوازی P<۰/۰۵

جدول ۲- نتایج آزمون کروسکال والیس و آزمون تعقیبی من ویتنی در تغییرات بیان ژن foxO1

متغیر	گروه	میانگین ± انحراف معیار	معناداری
بیان ژن foxO1	کنترل	۰/۰۰۰۱۵۲۷۹ ± ۰/۰۰۰۰۸۴۹۲	
	تمرین تناوبی شدید	۰/۰۰۰۰۴۲۸۴ ± ۰/۰۰۰۰۲۰۱۵	P =۰/۰۵۵
	تمرین هوازی	۰/۰۰۰۰۰۱۹۷ ± ۰/۰۰۰۰۰۱۰۴	* P=۰/۰۰۴ • P=۰/۰۰۲

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

• تفاوت معنی‌دار با گروه تناوبی شدید

جدول ۳- نتایج آزمون کروسکال والیس و آزمون تعقیبی من ویتنی در تغییرات بیان ژن foxO3a

متغیر	گروه	میانگین ± انحراف معیار	معناداری
بیان ژن foxO3a	کنترل	۰/۰۰۶۱۳۴۷۷ ± ۰/۰۰۴۷۳۰۴۸	
	تمرین تناوبی شدید	۰/۰۰۰۱۵۴۴۷ ± ۰/۰۰۰۰۷۲۴۵	* P=۰/۰۰۴ • P=۰/۰۰۲
	تمرین هوازی	۰/۰۰۰۵۶۴۰۷ ± ۰/۰۰۰۲۶۳۰۷	* P=۰/۰۰۴

*تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

• تفاوت معنی‌دار با گروه تداومی هوازی

بحث

در پاسخ به فعالیت بدنی، تنظیم منفی پروتئین‌های foxO1ی اندوتلیال، ظرفیت شبکه مویرگی برای وقوع آنژیوژنز را بالا می‌برد (۵). بر اساس اطلاعات ما، پژوهش حاضر اولین مطالعه ای است که نقش دو نوع تمرین ورزشی تداومی هوازی و تناوبی شدید در تغییرات بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a در بطن چپ قلب را مورد مقایسه و بررسی قرار می‌دهد. نتایج نشان داد که هشت هفته اجرای هر دو پروتکل تمرینی باعث کاهش بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a در بطن چپ موش‌های صحرایی نر سالم شد که کاهش foxO1 بر اثر تمرین تناوبی شدید از نظر آماری معنی‌دار نبود. مقادیر foxO3a در گروه تداومی هوازی نسبت به گروه کنترل تا ۹۰ درصد کاهش داشته است که این کاهش در گروه تمرینی تناوبی شدید به بیش از ۹۰

درصد رسید. مقادیر foxO1 در گروه تناوبی شدید نسبت‌به گروه کنترل بیش از ۶۰ درصد کاهش داشته است که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نمی باشد و در گروه تمرینی تداومی هوازی نسبت‌به گروه کنترل بیش از ۹۰ درصد کاهش داشت. این تغییرات در دو گروه تمرینی تداومی هوازی و تناوبی شدید نسبت‌به یکدیگر معنی‌دار بود. در زمینه تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a مطالعات مشابهی که بتوان نتایج آن را با یافته‌های این پژوهش مورد مقایسه قرار داد، موجود نمی‌باشد. در زمینه تأثیر تمرین تداومی هوازی بر بیان این دو ژن می‌توان گفت که نتایج پژوهش حاضر با مطالعه‌ی کاوازیس و همکاران (۲۰۱۴) همسو می‌باشد که نشان دادند تمرین ورزشی کوتاه مدت، در اثر وجود دوکسوروبیسین (Dox)، منجر به کاهش حاد رونویسی foxO1 mRNA در عضله قلب و foxO3a mRNA در عضله نعلی می‌شود. هر چند که در حیوانات تمرین‌کرده‌ای که در حال Dox درمانی هستند، foxO3a mRNA قلب و foxO1 mRNA عضله نعلی بالا باقی می‌ماند (۱۵). اما از آنجایی که مطالعه‌ی حاضر تأثیر طولانی‌مدت اجرای تمرین تداومی هوازی بر بیان ژن‌های foxO1 و foxO3a در بافت قلب را مورد بررسی قرار داده است، نمی‌توان پژوهش کاوازیس و همکاران را بعنوان یک مطالعه مشابه با مطالعه حاضر به منظور مقایسه‌ی نتایج در نظر گرفت. از این رو نتایج این پژوهش با یافته‌های مطالعاتی که میزان بیان ژن‌های مذکور و یا محتوای پروتئینی آن‌ها را در عضله اسکلتی مورد بررسی قرار داده‌اند نیز مقایسه می‌شوند. کیتلو و همکاران (۲۰۱۴)، اسلوپک و همکاران (۲۰۱۴) و سانچز و همکاران (۲۰۱۵) هر سه در مطالعات همسویی دریافتند که foxO3a mRNA و foxO1 پس از یک وهله فعالیت بدنی به‌طور چشمگیری بالا می‌روند که این افزایش پس از تمرین مکرر تضعیف می‌گردد. آنها به این نتیجه رسیدند که کاهش foxO برای آنژیوژنز ناشی از تمرین، حیاتی است (۵، ۱۰، ۱۱). نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج به‌دست آمده از مطالعه لی و همکاران (۲۰۱۵)، ثاریگتون و همکاران (۲۰۱۰) و ویلیامسون و همکاران (۲۰۱۰) مغایر است (۱۳، ۱۶، ۱۸). احتمالا ناهمسو بودن نتایج حاصل از پژوهش این سه محقق با پژوهش حاضر بدلیل سنجش ژن‌های foxO1 و foxO3a پس از انجام یک دوره تمرین مقاومتی یا سنجش این عوامل رونویسی در نمونه‌های سالمندی است که به‌دلیل آتروفی عضلانی، ژن‌های مربوطبه شدت توسط foxO1 و foxO3a در حال رونویسی می‌باشند.

کاهش عوامل رونویسی foxO1 و foxO3a را می‌توان از دو منظر مورد بررسی قرار داد. از طرفی داده‌ها نشان می‌دهند که تمرین تناوبی شدید به‌عنوان یک روش تمرینی مناسب، منجر به بیان بیشتر آنزیم‌هایی مثل سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز می‌شود که این آنزیم‌ها ROS را تجزیه می‌کنند (۱۹). SIRT1 آنزیمی است که foxO3a را استیل‌زدا می‌کند (۲۰ و ۲۱). استیل‌زدایی foxO3a منجر به ایجاد اختلال در رونویسی و تنظیم پایین دست مرگ سلولی توسط پروتئین‌های التهابی می‌شود (۲۲). بنابراین فعالیت SIRT1 بقاء سلول را ارتقاء می‌بخشد (۲۳). تمرین تناوبی شدید با فعال‌سازی SIRT1 و کاهش Ros می‌تواند از قلب محافظت کند (۲۴) همچنین بیان PGC-1αدر عضله قلبی و اسکلتی، بیوژنز میتوکندری در عضلات قلبی و اسکلتی را تنظیم می‌کند (۲۷-۲۵). تنظیم افزایشی آنزیم‌های ذکر شده به‌علاوه‌ی PGC-1α در عضله قلبی و اسکلتی بر اثر این روش تمرینی، مکانیسم احتمالی بالا دستی است که می‌تواند سرکوبی بیشتر بیان ژن foxO3a نسبت به foxO1 بر اثر تمرین تناوبی شدید را توجیه کند. از طرف دیگر فعالیت بدنی باعث افزایش تقاضای مواد غذایی و اکسیژن در عضلات اسکلتی می‌شود. قرار گرفتن مکرر در معرض این تنش، سازگاری‌هایی را در عضله به‌وجود می‌آورد که شامل گسترش شبکه مویرگی به‌وسیله فرآیند آنژیوژنز است، بدین‌ترتیب ناحیه سطحی در دسترس برای تبادل، افزایش پیدا می‌کند (۳۰-۲۸). فعالیت بدنی بر عوامل مؤثر بر بیان ژن VEGFA تأثیر گذاشته که به‌دنبال آن فرآیند آنژیوژنز تحریک می‌شود. افزایش VEGFA منجر به فسفوریلاسیون foxO1 و foxO3a به‌وسیله‌ی فعال‌سازی AKT می‌شود که موجب تغییر جایگاه foxO از هسته به سیتوپلاسم و در نتیجه عدم فعالیت و کاهش foxOها می‌گردد. این تغییر در فعالیت foxOها توسط افزایش بیانVEGFA ، با روند کاهش بیان پروتئین قشری آنژیواستاتیک THBS-1 بر اثر فعالیت بدنی مشابه می‌باشد (۵).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر، اثرات احتمالی تمرینات ورزشی تداومی هوازی و تناوبی شدید را بر سطوح برخی عوامل تأثیرگذار بر فرآیند آنژیوژنز نشان می‌دهند که این دو نوع تمرین، از طریق کاهش عوامل رونویسی foxO1 وfoxO3a، باعث بهبود سازگاری‌های تمرینی می گردد. نتایج تحقیقات بیانگر آن است که کاهش این عوامل به بهبود فرآیند آنژیوژنز و عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها و در نتیجه کاهش ROS منجر می‌شود که به نوبه خود باعث حفاظت از قلب می‌شود. اگرچه تمرینات ورزشی باعث افزایش رگ‌زایی در سلول‌های اندوتلیال و بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود اما جهت روشن‌تر شدن موضوع، لازم است مطالعات وسیع‌تری در سطح مولکولی انجام شود. به منظور روشن‌تر شدن اثر کاهش foxO1 و foxO3a به دنبال انجام طولانی مدت تمرینات تداومی هوازی و تناوبی شدید بر بهبود فرآیند آنژیوژنز و عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها بهتر است در راستای بررسی این تغییرات، عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک قوی مثل VEGFA و THBS1 و همچنین فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مثل PGC-1α نیز اندازه گیری شود. از طرف دیگر به دلیل اینکه این پژوهش به‌منظور

یافتن روشی جهت پیشگیری از بروز بیماری قلبی بر موش‌های صحرایی سالم انجام شده است، پیشنهاد می‌شود تغییرات این فاکتورهای رونویسی بر اثر فعالیت‌های بدنی مناسب و تحت شرایط پاتولوژیکی مانند بیماری‌های قلبی–عروقی و دیابتی نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات خانم دکتر مظاهری و آقای اکرامی، مسئولین مرکز تحقیقات علوم پایه پزشکی بافت‌شناسی و ژن، جهت اعمال دقت و صرف وقت بسیار در انجام آزمایشات مربوطبه ژن‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Kelley D. heart disease: causes, prevention and current research. Jccc Honors Journal 2014;5:1-13.
2. Tao L, Bei Y, Zhang H, Xiao J, Li X. Exercise for the heart: signaling pathways. Oncotarget 2015;6:20773-84. doi:10.18632/oncotarget.4770
3. Maiese K, Chong ZZ, Shang YC, Hou J. FOXO proteins: cunning concepts and considerations for the cardiovascular system. Clin Sci (Lond) 2009;116:191-203.
4. Paik JH, Kollipara R, Chu G, Ji H, Xiao Y, Ding Z, et al. FoxOs are lineage-restricted redundant tumor suppressors and regulate endothelial cell homeostasis. Cell 2007;128:309-23. doi:10.1016/j.cell.2006.12.029
5. Slopack D, Roudier E, Liu ST, Nwadozi E, Birot O, Haas T. forkhead boxO transcription factor restrain exercise-induced angiogenesis. J physiol 2014;592: 4069-82. doi:10.1113/jphysiol.2014.275867
6. Maiese K, Chong ZZ, Shang YC. Sly as a FOXO: new paths with Forkhead signaling in the brain. Curr Neurovasc Res 2007;4:295–302.
7. Jagani Z, Singh A, Khosravi-Far R. FoxO tumor suppressors and BCR-ABL-induced leukemia: a matter of evasion of apoptosis. Biochim Biophys Acta 2008;1785:63-84. doi:10.1016/j.bbcan.2007.10.003
8. Wang Y, Zhou Y, Graves DT. FoxO transcription factors: their clinical significance and regulation. Biomed Res Int 2014;2014:925350. doi:10.1155/2014/925350
9. Calnan DR, Brunet A. The foxO code. Oncogene 2008;27:2276-88. doi:10.1038/onc.2008.21
10. Sanchez AMJ. foxO transcription factors and endurance training: a role for foxO1 and foxO3 in exercise_induced angiogenesis. J Physiol 2015;593(pt2):363-4. doi:10.1113/jphysiol.2014.285999
11. Liu ST. Regulation of exercise induced endothelial sprout formation. Unpublished thesis. Toronto: kinesiology and health science York Univ: 2014.
12. Huang CC, Wang T, Tung YT, Lin WT. Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC_1alpha expression levels in rats of different age. Int J Med Sci 2016;13(4):260-70. doi:10.7150/ijms.14586
13. Li M, Li W, Yoon JH, Jeon BH, Lee SK. Resistance exercise training increase activation of AKT-eNOS and ReF-1 expression by foxO-1 activation in aorta of F344 rats. J Exerc Nutr Biochem 2015;19(3):165-71. doi:10.5717/jenb.2015.15071702
14. Marfe G, Manzi V, Tafani M, Pucci B, Gambacurta A, Russo MA, et al. The modulation of sirtuins and apoptotic proteins in rats after exhaustive exercise. Journal of Molecular and Integrative Physiology 2012;2:65-74. doi:10.4236/ojmip. 2012. 23010
15. Kavazis AN, Smuder AJ, Powers SK. Effects of short_term endurance exercise training on acute doxorubicin_induced foxO transcription in cardiac and skeletal muscle. J Appl Physiol 2014;117:223-30. doi:10.1152/japplphysiol.00210.2014
16. Williamson DL, Raue U, Slivka DR, Trappe S. Resistance exercise, skeletal muscle foxO3a, and 85 year_old women. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2010;65(4):335-43. doi:10.1093/gerona/glq005
17. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol 1979;47:1278-83. doi:10.1152/jappl.1979.47.6.1278
18. Tharrington IH. skeletal muscle forkhead Box3A (foxO3a) response to acute resistance exercise in young and old men and women: relationship to muscle glycogen content and 5_AMP activated protein kinase(AMPK) activity. Unpublished thesis. East Carolina Univ.2010.
19. Tucker PS, Briskey DR, Scanlan AT, Coombes JS, Dalbo VJ. High intensity interval training favourably affects antioxidant and inflammation mRNA expression in early-stage chronic kidney disease. Free Radic Biol Med 2015;89:466-72. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.07.162
20. Frazzi R, Valli R, Tamagnini I, Casali B, Latruffe N, Merli F. Resveratrol-mediated apoptosis of Hodgkin lymphoma cells involves SIRT1 inhibition and FOXO3a hyperacetylation. Int J Cancer 2013;132:1013-21. doi:10.1002/ijc.27748
21. Li T, Zhang J, Feng J, Li Q, Wu L, Ye Q, et al. Resveratrol reduces acute lung injury in a LPS-induced sepsis mouse model via activation of Sirt1. Mol Med Rep 2013;7:1889-95. doi:10.3892/mmr.2013.1444
22. Oellerich MF, Potente M. FOXOs and sirtuins in vascular growth, maintenance, and aging. Circ Res 2012;110:1238-51. doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.246488
23. Zarzuelo MJ, López-Sepúlveda R, Sánchez M, Romero M, Gómez-Guzmán M, Ungvary Z,et al. SIRT1 inhibits NADPH oxidase activation and protects endothelial function in the rat aorta: implications for vascular aging. Biochem Pharmacol 2013;85:1288-96. doi:10.1016/j.bcp.2013.02.015
24. Ferrer MD, Tauler P, Sureda A, Tur JA, Pons A. Antioxidant regulatory mechanisms in neutrophils and lymphocytes after intense exercise. J Sports Sci 2009;27:49-58. doi:10.1080/02640410802409683
25. Arany Z, He H, Lin J, Hoyer K, Handschin C, Toka O, et al. Transcriptional coactivator PGC-1 alpha controls the energy state and contractile function of cardiac muscle. Cell Metab 2005;1:259-71. doi:10.1016/j.cmet.2005.03.002
26. Lehman JJ, Barger PM, Kovacs A, Saffitz JE, Medeiros DM, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. J Clin Invest 2000;106:847-56. doi:10.1172/JCI10268
27. St-Pierre J, Lin J, Krauss S, Tarr PT, Yang R, Newgard CB, et al. Bioenergetic analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivators 1alpha and 1beta (PGC-1alpha and PGC-1beta) in muscle cells. J Biol Chem 2003;278:26597-603. doi:10.1074/jbc.M301850200
28. Hudlicka O, Brown M, Egginton S. Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. Physiol Rev 1992;72:369-417. doi:10.1152/physrev.1992.72.2.369
29. Bloor CM. Angiogenesis during exercise and training. Angiogenesis 2005;8:263-71. doi:10.1007/s10456-005-9013-x

30. Gustafsson T. Vascular remodeling in human skeletal muscle. Biochem Soc Trans 2011;39:1628-32. doi:10.1042/BST20110720

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2018; Vol 13, No 2

DOI: 10.22100/jkh.v13i2.1892

Original Article

The Effect of 8 Weeks Continuous Endurance and High Intensity Interval Training on Cardiac Tissue foxO1 and foxO3a Expression Levels in Male Rats

Sadaf Kara'i ()[1*], Ali Asghar Ravasi ()[2], Majid Gholipour ()[3]

1- Exercise Physiology MSc, Alborz Payam Noor University, Karaj Branch, Iran.
2- Dept. of Physical Education, Tehran University, Tehran, Iran.
3- Physical Education Center, Sharif University of Technology, Tehran, Iran.

Received: 3 March 2018**, Accepted:** 8 July 2018

Abstract:

Introduction: *The purpose of this study was to investigate the effect of continuous endurance training (CET) and high intensity interval training (HIIT) on the gene expression of foxO1 and foxO3 a in male rats'cardiac tissue.*
Methods: *18 rats were studied under standard condition. CET protocol was performed 5 sessions per week at 70% VO2 max and HIIT protocolwas performed 3 sessionsper week at 90% VO2 max for two minutes in the first and second weeks and then 110% VO2 max for the rest of the training period. Low intensity intervals were performed at 40% VO2 max for two minutes since the first week to the end of the third week and 30% VO2 max for the rest of the training period. Finally, foxO1 and foxO3a gene expression level were assessed by Real time - PCR and using the formula* $2^{-\square\square ct}$*. The results were evaluated using Kruskal-Wallis test with a significance level of* $P<0.05$*.*
Results: *The results show that compared to control group, CET caused a significant reduction in foxO1 and foxO3a gene expression (both P=0.004). HIIT caused a significant reduction in foxO3a gene expression (P=0.004) but had no significant effect on reduction of foxO1 gene expression level(P=0.055). The levels of genes expression were significantly differed in the two experimental groups (P=0.002).*
Conclusion: *According to the results, both training protocols of the presentstudy may lead to effective training adaptations.*

Keywords: Continuous endurance training, High intensity interval training, Gene expression, FoxO1, FoxO3a.

Conflict of Interest: No
***Corresponding author:** S. Kara'i, **Email:** 100af.kara@gmail.com*

Citation: Kara'i S, Ravasi AA, Gholipour M. The effect of 8 weeks continuous endurance and high intensity interval training on heart tissue foxO1 and foxO3a expression level in male rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2018;13(2):62-70.