Original Article

# Investigating the effect of high intensity interval training (HIIT) with curcumin supplementation on mitochondrial cardiomyocyte PGC-1α and ERR-α gene expression in male stroke model rats

**Nadaf-Fahmideh M, Gholamrezaei Sh*, Shabani R**

Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, I.R. Iran.

Received: 2022/04/27 | Accepted: 2022/07/4

## Abstract:

**Background:** Myocardial infarction is an acute condition of myocardial necrosis. So, this study aimed the effect of high intensity interval training with curcumin supplementation on mitochondrial cardiomyocyte PGC-1α and ERR-α gene expression rats.

**Materials and Methods:** Thirty two male rats were randomly divided into 4 groups of HIIT, supplement, control and HIIT with supplement training in the two groups of high intensity and HIIT with supplement included performing 8 weeks of 4-minute activity with an intensity of 85-90% VO2max. Curcumin was also used at 15 mg/kg. Mitochondrial PGC-1α and ERR-α gene expression was obtained by real-time PCR. Data were analyzed by ANOVA and Shapiro-Wilk at $P \leq 0.05$.

**Results:** One-way analysis of variance test showed a significant difference in the expression of mitochondrial cardiomyocyte PGC-1α and ERR-α genes in male myocardial infarction mice in the study groups ($P$=0.001). The results of Tukey test showed a significant increase in PGC-1α and ERR-α gene expression in the HIIT and HIIT groups with supplementation compared to the control and supplement groups ($P$=0.001). There was no significant difference between the control and complement groups.

**Conclusion:** The results of this study showed that interval training alone and in interaction with curcumin increases the expression of ERRα and PGC-1α in the heart tissue of male stroke model mice. It seems that interval training and consumption of curcumin can be considered a good way to increase mitochondrial biogenesis and improve heart function.

**Keywords:** High intensity interval training, Curcumin, PGC-1α, ERR-α

*Corresponding Author
**Email:** gholamrezaei@iaurasht.ac.ir
**Tel:** 0098 313 342 2153
**Fax:** 0098 313 344 7060

Conflict of Interests: ***No***

***Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2022; Vol. 26, No 3, Pages 264-272***

***Please cite this article as:*** Nadaf-Fahmideh M, Gholamrezaei Sh, Shabani R. Investigation the effect of high intensity interval training (HIIT) with curcumin supplementation on mitochondrial cardiomyocyte PGC-1α and ERR-α gene expression in male stroke model rats. ***Feyz*** 2022; 26(3): 264-72.

# بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف کورکومین بر بیان ژن PGC-1α و ERR-α میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی

مژده نداف فهمیده[۱]، شهرام غلامرضائی[۲*]، رامین شعبانی[۳]

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** آنفارکتوس میوکارد یک وضعیت نکروزی حادّ عضله قلب است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف کورکومین بر بیان ژن PGC-1α و ERR-α میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی بود.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه تجربی حاضر، ۳۲ سر موش صحرایی نر مبتلا به آنفارکتوس میوکارد به‌صورت تصادفی به چهار گروه تمرین تناوبی با شدت بالا، مکمل، کنترل و تمرین به همراه مکمل تقسیم شدند. تمرین در دو گروه شدت بالا و تمرین به همراه مکمل شامل اجرای هشت هفته فعالیت ۴دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد $VO_2max$ بود. کورکومین نیز به میزان ۱۵ mg/kg استفاده شد. بیان ژن PGC-1α و ERR-α میتوکندریایی با استفاده از روش Real-time PCR به‌دست آمد. داده‌ها از طریق آزمون شاپیرو - ویلک و تحلیل واریانس یک‌طرفه آنالیز شدند.

**نتایج:** آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، تفاوت معنی‌داری در بیان ژن PGC-1α و ERR-α میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی در گروه‌های پژوهش نشان داد ($P$=۰/۰۰۱). نتایج آزمون توکی بیانگر افزایش معنی‌دار بیان ژن PGC-1α و ERR-α در گروه تمرین و تمرین به همراه مکمل نسبت به دو گروه کنترل و مکمل بود ($P$=۰/۰۰۱). بین دو گروه کنترل و مکمل نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

**نتیجه‌گیری:** تمرین تناوبی به‌تنهایی و در تعامل با کورکومین باعث افزایش بیان ERRα و PGC-1α در بافت قلب موش‌های نر مدل سکته قلبی می‌شود. به‌نظر می‌رسد تمرین تناوبی و مصرف کورکومین می‌تواند راه مناسبی برای افزایش بیوژنز میتوکندریایی و بهبود عملکرد قلب در نظر گرفته شود.

**واژگان کلیدی:** تمرین تناوبی با شدت بالا، کورکومین، PGC-1α، ERR-α

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۳، مرداد - شهریور ۱۴۰۱، صفحات ۲۷۲-۲۶۴

**مقدمه**

آنفارکتوس میوکارد (MI or infraction Myocardial) یک وضعیت نکروزی حادّ عضله قلب است [۱، ۲]. تغییر شکل عضله قلب (Cardiac Remodeling) بعد از آنفارکتوس میوکارد، شامل مجموعه‌ای از تغییرات در بطن چپ است که به کاهش عملکرد بطن چپ منجر می‌گردد [۳]. عوامل متعددی در سطح سلولی برای بروز بیماری‌های قلبی - عروقی مورد بررسی قرار گرفته‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به تغییرات ردوکس سیتوزولی، اختلالات عوامل التهابی - ایمنی، مولکول‌های چسبان، آپوپتوز و اختلالات میتوکندریایی اشاره کرد [۴].

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲. استادیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۳. استاد، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

*نشانی نویسنده مسؤول:

رشت، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی

تلفن: ۰۱۳ ۳۳۴۲۲۱۵۳ دورنویس: ۰۱۳ ۳۳۴۴۷۰۶۰

پست الکترونیک: gholamrezaei@iaurasht.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۷ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۴/۱۳

میتوکندری در سیگنال‌دهی، تمایز سلولی، مرگ سلولی و کنترل رشد و حفظ سلول نقش دارد [۵]. میتوکندری می‌تواند در اختلالات میتوکندری و عملکرد قلبی تأثیر داشته باشد [۶]. بیوژنز میتوکندریایی با توانایی خود در ایجاد میتوکندری جدید و افزایش تراکم میتوکندری می‌تواند این عوارض را به حداقل برساند [۷]. مهم‌ترین عاملی که اغلب به‌عنوان نشانه‌ای از بیوژنز میتوکندریایی سنجیده می‌شود، PGC-1α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) است که تنظیم‌کننده متابولیسم اکسیداتیو بوده، بیان آن در شرایط هیپوکسی افزایش می‌یابد [۸]. این پروتئین کدگذاری، آنزیم‌های کلیدی در تمام برنامه‌های متابولیکی اصلی را که در تولید مؤثرتر ATP قلب نیازمند است، القا می‌کند [۹]. همچنین به‌عنوان یک میانجی پیام‌رسانی عامل رشد اندوتلیال عروقی و سایر فاکتورهای آنژیوژنیک را به‌طور مؤثری فرامی‌خواند [۱۰]. در شرایط ایسکمی PGC-1α از طریق گیرنده مرتبط با استروژن (ERRα)، VEGF و سایر فاکتورهای آنژیوژنیک را تحریک می‌کند و از طریق این مسیر موجب رگ‌زایی می‌شود [۱۱]. ناحیه فعال‌کننده PGC-1α با اتصال به تعدادی پروتئین باعث افزایش فعالیت آن‌ها گردیده، در نتیجه نسخه‌برداری افزایش می‌یابد [۱۲]. یکی از فاکتورهایی که

PGC-1α با اتصال به آن در فعال‌سازی آن مشارکت دارد ERR می‌باشد. ERRα یکی از سه عضو خانواده کوچک گیرنده‌های هسته‌ای است [۱۳]. با توجه به نقش کلیدی PGC-1α در بیوژنز میتوکندری، هرگونه تغییر در بیان و یا عملکرد این مولکول باعث نقص عملکرد یا پاتوژنز بیماری‌ها خواهد شد [۱۲]. همچنین بیوژنز میتوکندری یکی از روش‌های دفاعی سلول در برابر فشار اکسایشی است [۱۴]. در میان مکانیسم‌های مختلف، تجمع رادیکال‌های آزاد در پاتوفیزیولوژی آنفارکتوس حادّ میوکارد مؤثر قلمداد شده است [۱۵]. کورکومین در غلظت‌های بالا رادیکال‌های آزاد را جمع‌آوری می‌کند و در غلظت‌های پایین موجب فعال‌سازی یا مهار یک یا چند مسیر انتقال پیام در سلول می‌شود [۱۶]. کورکومین دارای اثرات پلیوتروپیک است و پارامترهای متعددی را کاهش می‌دهد که به افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی در پیری و همچنین در چاقی کمک می‌کند. براساس این یافته‌ها کورکومین باعث کاهش فشار اکسایشی و بهبود عملکرد میتوکندری می‌شود [۱۷]. همچنین اثر مفید کورکومین در تعدیل مسیرهای سیگنالینگ متعدد درگیر در فشار اکسایش، التهاب، آپوپتوز و تکثیر در قلب نشان داده شده است [۱۸]. مطالعات نشان داده است که تمرین منظم و مصرف کورکومین موجب افزایش عملکرد بطن چپ و همچنین عملکرد اندوتلیال عروق می‌شود [۱۹]. در ارتباط با تأثیر فعالیت‌های استقامتی بر فرآیند بیوژنز میتوکندریایی، مطالعات گسترده‌ای انجام شده که اغلب آن‌ها به تأثیر مثبت فعالیت‌های استقامتی بر این فرآیند اشاره دارند [۲۱-۱۳،۱۱]. طاهری گندمانی و همکاران گزارش کردند که هشت هفته تمرین با شدت متوسط و بالا با افزایش بیان AMPK، PGC-1α و TFAM کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی سالمند به بهبود بیوژنز میتوکندری منجر می‌شود [۲۲]. در همین راستا، تمرینات تناوبی خیلی شدید مورد توجه پژوهشگران حیطه سلامت قرار گرفته است. این تمرین باعث افزایش متابولیسم، حداکثر اکسیژن مصرفی، عملکرد ورزشی، کاهش استفاده از کربوهیدرات، بهتر شدن عملکرد انسولین و کاهش فشار خون می‌شود [۲۳]. با این‌حال در رابطه با تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا ( High intensity interval training: HIIT) بر عوامل بالادستی PGC-1α در عضله قلبی مبتلایان به آنفارکتوس میوکارد یافت نشده است. از سویی، تمرینات تناوبی شدید با دارابودن فواصل استراحتی مناسب، حجم کمتر و بهره‌وری زمانی بیشتر، انتخاب بهتری در مقایسه با تمرین‌های تداومی سنتی برای بیماران هستند؛ اگرچه بازیافت میوکارد آسیب‌دیده را بهبود می‌بخشند. هنوز چگونگی اثرات این تمرین‌ها بر تغییر شرایط بیوژنز میتوکندری میوکارد در شرایط پاتولوژیک شفاف‌سازی نشده است [۲۴]. بنابراین، به‌منظور پاسخ به برخی ابهامات موجود، تحقیق حاضر در قالب یک طرح تجربی انجام شد تا پاسخ بعضی از شاخص‌های بیوژنز میتوکندریایی در عضله قلبی متعاقب هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کورکومین را در موش‌های صحرایی نر مدل سکته قلبی مورد بررسی قرار دهد.

## مواد و روش‌ها

پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه آزاد واحد رشت به شماره مرجع IR.IAU.RASHT.REC.1400.010 به تأیید رسیده است. مطالعه تجربی حاضر بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر هفت‌ماهه ویستار ۱۴۸۴۸ که از مؤسسه پاستور ایران خریداری شده بود، انجام شد. شرایط نگهداری برای همه نمونه‌ها یکسان بود و دما، رطوبت محیط و چرخه‌ی روشنایی - تاریکی نیز به‌صورت ۱۲:۱۲ کنترل شد. جهت جلوگیری از فشار و تغییر شرایط فیزیولوژیک، موش‌ها به‌مدت دو هفته تحت شرایط جدید قرار گرفتند. در پژوهش حاضر کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان براساس AAALAC) رعایت گردید. جهت ایجاد آنفارکتوس تجربی میوکارد از تزریق درون‌صفاقی ایزوپروترنول به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به‌صورت محلول در نرمال‌سالین در دو روز متوالی و با فاصله ۲۴ ساعت استفاده شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق دوم ایزوپروترنول مداخلات تمرینی و مصرف مکمل آغاز شد. برای اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد تجربی، از اندازه‌گیری تروپونین I قلبی (cTnI) استفاده شد که با ریختن مستقیم نمونه خونی با قطره‌چکان روی نوار اندازه‌گیری و مثبت شدن جواب، موش‌های صحرایی واجد شرایط وارد تحقیق شدند [۱۴]. پس از اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد، موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه (هر گروه ۸ سر)، تمرین تناوبی با شدت بالا، مکمل (مصرف کورکومین)، تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل و کنترل تقسیم شدند. ۸ سر از موش‌های صحرایی جهت کنترل (به‌عنوان گروه کنترل) پارامترهای پایه و لحاظ شدن به‌عنوان گروه مرجع در روش RT-PCR از بقیه جدا شدند. ۸ سر موش به‌عنوان گروه مکمل انتخاب شدند. ۱۶ سر موش صحرایی باقیمانده (گروه تمرین تناوبی و گروه تمرین تناوبی + مکمل) جهت آشنایی با نحوه فعالیت روی نوار گردان الکترونیکی هوشمند حیوانی در برنامه آشنایی شرکت داده شدند. ابتدا موش‌های صحرایی به‌مدت یک هفته در طی پنج جلسه به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت هشت تا ۱۰ متر بر دقیقه روی نوار گردان به فعالیت

پرداختند. گفتنی است که به‌منظور آشناکردن رت‌ها با پروتکل‌های اصلی، شیب نوار گردان به‌تدریج در هر جلسه افزایش پیدا کرد تا در جلسه‌های چهارم و پنجم به شیب ۲۵ درجه رسید.

تجویز کورکومین: مقدار ۱۵ میلی‌گرم کورکومین خالص و دی‌متیل سولفوکساید با غلظت ۱۰ درصد ساخت شرکت سیگمای آلمان به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، پنج روز در هر هفته تا هفته هشتم و به‌صورت گاواژ به گروه‌های مکمل و تمرین به همراه مکمل داده شد. برای خنثی‌سازی اثرات حلّال، دوز مشابه حلّال به‌صورت گاواژ به همه حیوانات دو گروه دیگر نیز داده شد.

پروتکل تمرین تناوبی: پروتکل HIIT مورد استفاده، برنامه تمرینی تعدیل‌شده توسط Hafstad و همکاران (۲۰۱۳) بود که به‌مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوار گردان اجرا شد. پروتکل HIIT شامل اجرای ۱۰ وهله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد $VO_2max$ و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای بود که به‌صورت پیش‌رونده تا هفته ششم، سرعت نوار گردان افزایش یافت و دو هفته پایانی (هفتم و هشتم) سرعت نوار گردان حفظ شد. بر این اساس، سرعت نوار گردان از ۲۵ متر بر دقیقه در هفته اوّل به ۳۲ متر بر دقیقه در هفته ششم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد. همچنین، دوره‌های استراحت فعال از سرعت ۱۱ متر بر دقیقه در هفته اوّل به سرعت ۱۶ متر بر دقیقه در هفته هشتم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد. توان هوازی از پروتکل غیرمستقیم با استفاده از نوار گردان برآورد شد. بر این اساس، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن، آزمون دویدن رت‌ها شروع شد و سرعت نوار گردان هر ۲ دقیقه یک‌بار به‌میزان ۰/۰۳ m/s (۱/۸ m/min تا ۲) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. سرعتی که در آن $VO_2max$ به‌دست آمد، به‌عنوان سرعت ماکزیمم تعریف شد [۱۵].

جراحی حیوانات آزمایشگاهی و استخراج نمونه: در این تحقیق سعی بر آن بود تا حیوانات مورد مطالعه در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار کشته شوند. تمامی موش‌های صحرایی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، توسط تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند، جراحی انجام شد و موش‌های سپس ۰/۶ میکرولیتر از مخلوط پرایمر حاوی ۰/۳ میکرولیتر پرایمر Forward و ۰/۳ میکرولیتر پرایمر Reverse به داخل میکروتیوپ اضافه گردید و درنهایت ۱۰ میکرولیتر Syber green master mix و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر در محلول نهایی ریخته شد. سپس میکروتیوپ به‌مدت ۳۰ ثانیه بر روی دستگاه Shacker کاملاً تکان داده شد و میکروتیوپ به‌مدت ۳۰ ثانیه میکروفیوژ گردید و داخل صحرایی تشریح شدند و در ادامه پس از شکافتن و کنارزدن بافت‌های سطحی، بافت قلب خارج شد. استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموژن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر انجام شد. نمونه‌های هموژن به‌مدت ۴۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ روی یخ سانتریفیوژ شدند. سپس بخش سطحی سانتریفیوژ جمع‌آوری شد و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰ - درجه نگهداری شد. بافت عضله قلبی نمونه‌برداری‌شده پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردید و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای موردنظر از بافت عضله قلبی به‌وسیله تکنیک PCR–time Real سنجش و پس از کمّی‌سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول ctΔΔ تجزیه‌وتحلیل شد (شکل شماره ۱). واکنش PCR با استفاده از master mix (Applied PCR Biosystems) و SYBR Green در دستگاه (Applied Biosystems, Sequence ABI Step One Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ ارائه شده است. برای سنجش کمّی بیان ژن‌های موردنظر از کیت (SYBR-green Real Time RT-PCR, TAKARA) (ژاپن) استفاده شد. غلظت‌های ۱/۲۰، ۱/۱۰ و ۱/۵۰ میکرولیتر از cDNA سنتزشده تهیه شد. غلظت ۱/۲۰ به‌عنوان الگو برای Real-time PCR استفاده شد. cDNA با پرایمرهای مخصوص برای بیان ژن‌های PGC-1α و ERR-α تکثیر شد. طبق دستورالعمل کیت انجام شد.

جدول شماره ۱- محلول‌های موردنیاز برای بیان ژن

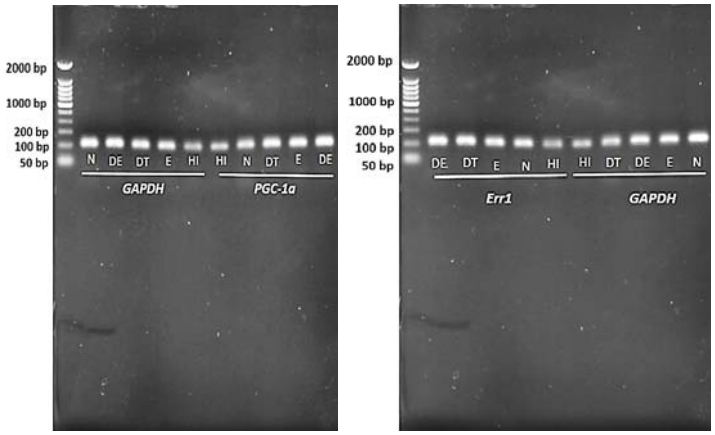
| نوع ماده شیمیایی | مقدار |
|---|---|
| محلول اصلی (Master Mix) | ۱۰ میکرولیتر |
| پرایمر Forward | ۰/۳ میکرولیتر |
| پرایمر Reverse | ۰/۳ میکرولیتر |
| cDNA سنتزشده | ۲ میکرولیتر |
| آب مقطر | ۷/۴ میکرولیتر |

دستگاه RT-PCR قرار گرفت. الگوی دمایی PCR برای ژن‌های مربوطه به‌صورت ۹۵ درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه برای سیکل اوّل بود که با ۴۵ سیکل به‌صورت دو مرحله‌ای ۹۵ درجه به‌مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه به‌مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. با استفاده از رنگ SYBR Green، میزان آمپلی فیکاسیون (Amplification) در

هر چرخه دنبال شد. در چرخه‌ای که واکنش تکثیر، وارد مرحله لگاریتمی می‌شود و تحت عنوان CT (Threshold cycle) بیان می‌گردد، میزان افزایش محصولات اندازه‌گیری می‌شود. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس بر این اساس CT تعیین شد. در پایان، قبل از آنالیز داده‌ها، منحنی ذوب (Melting curve) به‌دست‌آمده از هر واکنش Real-time PCR بررسی شد تا پیک مربوط به ژن موردنظر و فقدان پرایمر دایمر تأیید شود. برای آنالیز داده‌ها ابتدا، ΔCt ژن در هر نمونه از افتراق Ct ژن مربوطه و Ct ژن β-actin به‌عنوان رفرنس محاسبه شد [۱۲]. داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۸ و آزمون‌های آماری شاپیرو - ویلک و آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه‌وتحلیل شدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

جدول شماره ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

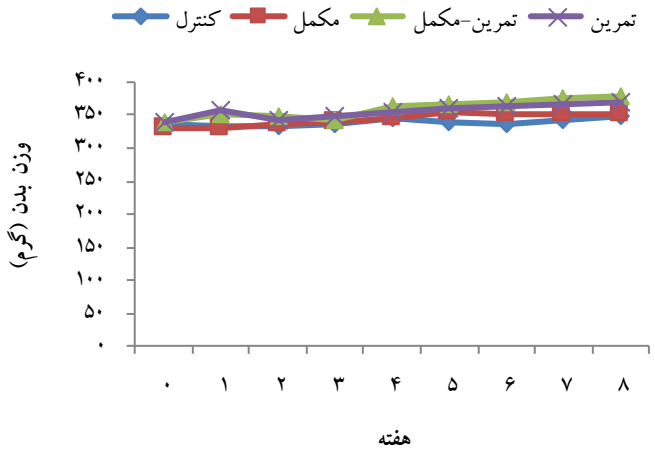
| Gene | Forward/ Reverse | Primer(5 to3) | tm | Product length | Accession Number |
|---|---|---|---|---|---|
| PGC-1α | Forward | TTCATGGCCCCAGCATGCGA | 61.14 | 95 | XM_007254288.2 |
| | Reverse | CGTTAAGTTTGTCGACCTCA | 61.21 | | |
| ERR-α | Forward | TCCGAAGACCAGGGAGGCTC | 61.07 | 176 | XM_015478844.1 |
| | Reverse | GCATTCGCAAGGCAGTGGGA | 59.28 | | |




شکل شماره ۱

## نتایج

تغییرات وزنی. میانگین وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف در طول مراحل پژوهش و اجرای تمرینات ورزشی نشان داد که وزن بدن رت‌ها به‌طور پیوسته در همه گروه‌ها افزایش می‌یابد (نمودار شماره ۱). مقادیر وزن بدن رت‌ها در گروه کنترل از ۱۶۶/۱۱±۲۰/۴۸ به ۳۳۰±۱۰/۰۸ و در گروه‌های تجربی از ۱۹۷/۱۷±۲۵/۰۵ به ۳۷۷/۲۲±۱۹/۲۷ رسید. در انتهای تحقیق، تحلیل داده‌ها با آزمون ANOVA نشان داد که وزن بدن گروه‌های تحقیق، تفاوت معنی‌داری نداشتند.

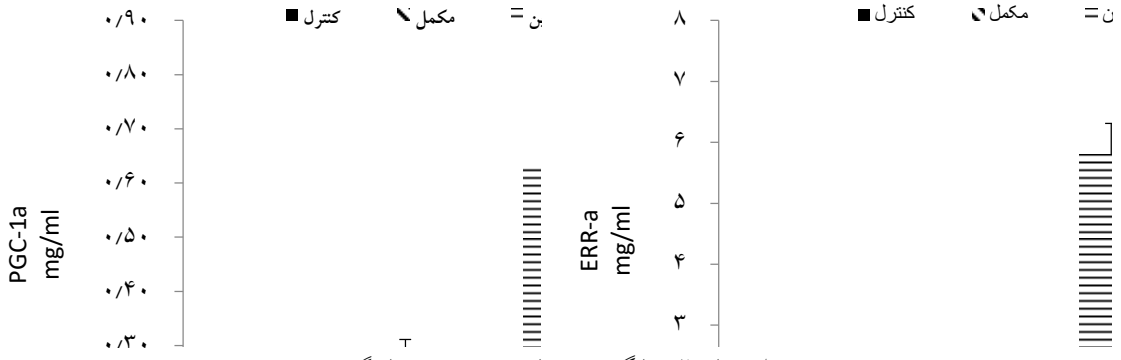



نمودار شماره ۱- میانگین تغییرات وزن موش‌های صحرایی

تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه بیان ژن PGC-1α و ERR-α میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی در چهار گروه پژوهش تفاوت معنی‌داری را نشان داد (نمودار شماره ۲). نتایج آزمون توکی بیانگر افزایش معنی‌دار بیان ژن PGC-1α و ERR-α در دو گروه تمرین و تمرین به همراه مکمل نسبت به گروه مکمل و کنترل بود ($P$=۰/۰۰۱). همچنین تفاوت معنی‌داری بین دو گروه تمرینی وجود نداشت؛ اما بیان ژن‌ها در گروه تمرین + مکمل بیشتر از گروه تمرین به‌تنهایی بود. بین دو گروه کنترل و مکمل از نظر بیان ژن PGC-1α و ERR-α تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳- نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بیان ژن‌های PGC-1α و ERR-α

| | کنترل | مکمل | تمرین | تمرین + مکمل | F | $P$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PGC-1α | ۰/۲۹±۰/۰۳ | ۰/۳۱±۰/۰۳ | ۰/۶۶±۰/۰۴ | ۰/۷۲±۰/۰۵ | ۱۴/۲۵۸ | ۰/۰۰۱ |
| ERR-α | ۱/۶±۰/۲ | ۱/۹±۰/۰۲ | ۵/۸۴±۰/۴۱ | ۶/۱±۰/۴۳ | ۱۲/۴۵۸ | ۰/۰۰۱ |



نمودار شماره ۲- میانگین متغیرهای پژوهش در چهار گروه

## بحث

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف کورکومین بر بیان ژن PGC-1α و ERR-α میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی بود. نتایج پژوهش حاضر، بیانگر افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های PGC-1α و ERR-α میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی در دو گروه تمرین و تمرین به همراه مکمل نسبت به گروه کنترل و مکمل بود. افزایش چشمگیر این دو فاکتور در پی تمرینات HIIT می‌تواند نتیجه‌ای ارزشمند باشد؛ چراکه همکاری و فعال‌شدن متقابل PGC-1α و ERR-α، فرآیندهای متابولیکی بنیادی، مانند: تمایز آدیپوسیت‌های قهوه‌ای، آدیپوژنز و بایوژنز میتوکندریایی و آنژیوژنز را تنظیم می‌کنند [۲۳]. در مطالعات داخلی و خارجی انجام‌یافته، تحقیقی که بیان این دو فاکتور را به‌طور همزمان در بافت قلبی موش‌های مدل سکته قلبی در پی تمرینات ورزشی پر شدت بررسی کرده باشد، یافت نگردید و اکثر تحقیقات نقش دو فاکتور را در بافت عضله اسکلتی در شدت‌های متفاوت تمرین بررسی نموده‌اند. با این‌حال نتایج این تحقیق در افزایش بیان ژن PGC-1α در بافت قلبی با نتایج تحقیق Norheim و همکاران (۲۰۱۴) که بر روی همین بافت انجام گردیده، همسو می‌باشد. اما دو تحقیق از لحاظ روش تحقیق از جمله نوع تمرین، شدت و مدت تمرین و نوع نمونه متفاوت هستند [۱۶]. در تحقیقی دیگر خلفی و همکاران (۱۳۹۷) تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا را بر محتوای میتوکندری و PGC-1α رت‌های نر چاق‌شده با رژیم غذایی پر چرب در شدتی مشابه با تحقیق حاضر مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که HIIT به افزایش شایان توجه محتوی پروتئینی PGC-1α و بیان mtDNA منجر می‌گردد [۲۵]. با توجه به استاندارد بودن رژیم غذایی رت‌های مورد مطالعه این تحقیق نمی‌تواند مقایسه دقیقی انجام دهد. ولی احتمالاً پروتکل مشابه تمرینی می‌تواند عاملی مهم در افزایش بیان PGC-1α تلقی گردد. همچنین براساس نتایج تحقیق Rocha-Rodrigues و همکاران (۲۰۱۶) تمرین استقامتی به افزایش محتوای پروتئین‌های PGC-1α در هر دو گروه رژیم غذایی پرچرب و استاندارد منجر گردیده [۱۹] که میزان این افزایش کمتر از تحقیق حاضر بود. احتمالاً تمرین استقامتی به‌واسطه شدت پایین‌تر موجب افزایش کمتر PGC-1α نسبت به تحقیق گردیده است. از یافته‌های تحقیق حاضر این‌گونه برداشت

می‌شود که افزایش قابل‌توجه PGC-1α و ERRα به‌واسطه شدت تمرین می‌باشد. در رابطه با مکانیسم این تغییرات می‌توان این‌گونه توجیه کرد که تمرین شدید از جمله تمرینات HIIT باعث افزایش بیشتر نسبت AMP/ADP/ATP می‌شود و بنابراین احتمالاً با افزایش AMPK و SIRT1 به‌عنوان یک عامل بالادستی بیشتر همراه می‌باشد. دو فاکتور اخیر از جمله حسگرهای متابولیک داخل سلولی بوده که فعالیت و بیان آن‌ها به‌وسیله تمرین و در هنگام کمبود ذخیره انرژی افزایش می‌یابد [۱۹]. در مورد اثر کورکومین بر PGC-1α، یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج رئوفی و همکاران (۲۰۱۹) هم‌خوانی نداشت. در تحقیق آن‌ها افزایش معنادار PGC-1α در اثر هشت هفته مصرف کورکومین به‌تنهایی در بافت قلب موش‌های چاق، گزارش شده است [۲۶]. از دلایل متفاوت بودن نتایج می‌توان به دوز مصرفی کورکومین اشاره کرد. در تحقیق رئوفی و همکاران (۲۰۱۹) میزان مصرف کورکومین ۱۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن و در تحقیق ما ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بود. رئوفی و همکاران (۲۰۲۰) در تحقیق دیگری نشان دادند که کورکومین به‌تنهایی و همچنین در ترکیب با ورزش باعث افزایش PGC-1α عضله اسکلتی در موش‌های چاق شده است. نتایج آن‌ها از نظر تأثیر کورکومین به‌تنهایی با یافته‌های حاضر (به‌دلیل دوز مصرفی متفاوت) همسو نبود؛ اما از نظر ترکیب اثر ورزش و کورکومین با یافته‌های حاضر همسو بود [۲۷]. به نظر می‌رسد کورکومین می‌تواند بیوژنز میتوکندری را به‌تنهایی و یا در ترکیب با ورزش از طریق SIRT-1، افزایش دهد. کورکومین با فعال کردن AMPK رونویسی PGC-1α را تحریک می‌کند [۲۷]. در تحقیق دیگری میرزایی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که HIIT در تعامل با مکمل کورکومین می‌تواند عملکرد میتوکندری قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به آنفارکتوس میوکارد را با تعدیل فرآیندهای همجوشی و شکافت بهبود بخشد [۲۸]. مطالعات دیگر نشان دادند که میزان ERRα در پی تمرینات ورزشی افزایش معنی‌داری داشته است که نشانگر سازگاری ایجادشده با نیازهای متابولیک می‌باشد [۱۹]. در تحقیق حاضر نیز افزایش قابل‌توجه ERRα در بافت قلبی، می‌تواند نشانگر افزایش پاسخ متابولیسمی این بافت به تمرینات ورزشی باشد. از جهتی دیگر در رابطه با مکانیسم توجیه این افزایش می‌توان این‌گونه اظهار داشت که انجام تمرینات با شدت بالا به افزایش سطح لاکتات و اپی‌نفرین خون و همچنین تخلیه ذخایر انرژی از جمله فسفوکراتین و ATP و افزایش رهایش کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی منجر گردیده که این سیگنال‌ها باعث تحریک و افزایش فعالیت PGC-1α می‌گردند [۲۹]. با توجه به افزایش معنی‌دار همزمان هر دو فاکتور مورد مطالعه، این‌گونه برداشت می‌شود که تمرینات HIIT با بالا بردن فعالیت PGC-1α باعث فعال‌سازی ERRα می‌شوند. همچنین از آن‌جایی که PGC-1α و ERRα باعث افزایش بیان VEGF و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز می‌شوند، این احتمال وجود دارد که تمرینات تناوبی با شدت بالا با افزایش PGC-1α و ERRα و درنتیجه افزایش چگالی مویرگ، موجب بهبود هموستاز گلوکز خون شده، از افزایش حجم سلول‌های چربی جلوگیری کنند و در نتیجه یک راه درمانی برای مبارزه با چاقی نیز در نظر گرفته شوند [۲۴]. نتایج مطالعات Yan و همکاران نشان داد که افزایش بیان فاکتور رشد و VEGF در بافت قلبی در پی تمرینات ورزشی به بهبود عروق و کاهش هیپوکسی، فیبروز و التهاب منجر می‌شود که به‌نوبه خود، ممکن است خطر سرطان پستان پس از یائسگی را کاهش دهد [۳۰]. همچنین این امکان وجود دارد که فاکتور دیگری نیز در فرآیند رگ‌زایی در بافت قلبی نقش داشته باشد. با توجه به افزایش بیان ژن‌های PGC-1α و ERRα در تحقیق حاضر، انتظار می‌رود که سطح VEGF و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز نیز افزایش یافته باشند. با توجه به این‌که اندازه‌گیری VEGF در محدوده این تحقیق نبود؛ بنابراین پیشنهاد می‌گردد که در تحقیقات آتی همزمان با اندازه‌گیری PGC-1α و ERRα، سطح VEGF و میزان چگالی مویرگی در بافت قلبی نیز بررسی گردد. به‌نظر می‌رسد که تنش ناشی از تمرین با شدت بالا به‌عنوان محرکی قوی باعث اتساع عروق و افزایش جریان خون در عضلات می‌شود و با تأثیر بر بهتر شدن رهایش کلسیم در اثر کاهش غلظت ATP میتوکندری، علاوه‌بر کاهش غلظت کلسیم سیتوزولی، غلظت کلسیم ماتریکس میتوکندری را نیز سبب شده که سطح کلسیم را به حدّ کافی افزایش داده، دهیدروژنازهای ماتریکس را فعال می‌کند [۱۹]. در مورد اثر کورکومین بر ERRα در بافت قلب به‌تنهایی و یا در تعامل با ورزش تحقیق مستدلی یافت نشد؛ اما Chen و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که کورکومین با فعال کردن مسیر سیگنال miR-125a/ERRα به مرگ سلول‌های استئوسارکوم منجر می‌شود [۳۱]. نشان داده شد که مکمل کورکومین در موش‌های مسن به‌مدت ۴ هفته به بهبود اتساع عروق و کاهش سفتی شریان بزرگ مرتبط با سن منجر شد. این اثرات به بازیابی فراهمی زیستی NO، کاهش تولید سوپراکسید عروقی و فشار اکسایشی و همچنین به کاهش رسوب کلاژن I نسبت داده شد. علاوه‌بر این، کورکومین nuclear factor erythroid 2– related factor 2 (Nrf2) را در محافظت در برابر فشار اکسایشی با مکانیسم‌های متعدد فعال می‌کند [۱۷]. همچنین، گزارش شده است که کورکومین از طریق فعال‌سازی

مسیرهای PI3K-Akt و ERK1/2، فسفوریلاسیون GSK-3b را افزایش می‌دهد که به‌خاطر مهار باز شدن منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندری mitochondrial permeability transition pores (mPTP) باعث کاهش آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها می‌شود [۱۸]. بنابراین در تأثیر تعاملی مصرف کورکومین و ورزش تناوبی بر قلب می‌توان به این مکانیزم‌ها نیز توجه کرد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تمرین تناوبی به‌تنهایی و در تعامل با کورکومین باعث افزایش بیان ERRα و PGC-1α در بافت قلب موش‌های نر مدل سکته قلبی می‌شود. به‌نظر می‌رسد که تمرین تناوبی و مصرف کورکومین می‌تواند راه مناسبی برای افزایش بیوژنز میتوکندریایی و بهبود عملکرد قلب در نظر گرفته شود.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات تمامی دوستان و همراهان که در به ثمر نشستن این مقاله، نویسندگان را مورد تفقد و مهربانی قرار دادند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌شود.

## *References:*

[1] Frigolet ME, Gutiérrez-Aguilar R. The colors of adipose tissue. ***Gac Med Mex*** 2020; 156: 142-9.
[2] Ultimo S, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, McCubrey JA, Capitani S, et al. Cardiovascular disease-related miRNAs expression: potential role as biomarkers and effects of training exercise. ***Oncotarget*** 2018; 9(24): 17238.
[3] Shalaby RE, Iram S, Oropeza CE, McLachlan A. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator family members competitively regulate hepatitis b virus biosynthesis. ***Virology*** 2019; 526: 214-21.
[4] McKie GL, Wright DC. Biochemical adaptations in white adipose tissue following aerobic exercise: from mitochondrial biogenesis to browning. ***Biochem J*** 2020; 477(6): 1061-81.
[5] Cantó C, Auwerx J. PGC-1alpha, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. ***Curr Opin Lipidol*** 2009; 20(2): 98.
[6] Son YO, Chun JS. Estrogen-related receptor γ is a novel catabolic regulator of osteoarthritis pathogenesis. ***Bmb Reports*** 2018; 51(4): 165.
[7] Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2006; 103(44): 16260-5.
[8] Adhihetty PJ, O'Leary MF, Chabi B, Wicks KL, Hood DA. Effect of denervation on mitochondrially mediated apoptosis in skeletal muscle. ***J Appl Physiol*** 2007; 102(3): 1143-51.
[9] Hoshino D, Yoshida Y, Kitaoka Y, Hatta H, Bonen A. High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. ***Appl Physiol Nutr Metab*** 2013; 38(3): 326-33.
[10] Kang C, Chung E, Diffee G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1α. ***Exp Gerontol*** 2013; 48(11): 1343-50.
[11] Wicks KL, Hood DA. Mitochondrial adaptations in denervated muscle: relationship to muscle performance. ***Am J Physiol*** 1991; 260(4): C841-C50.
[12] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. ***Trends Plant Sci*** 2002;7(9):405-10.
[13] Youn JY, Zhang J, Zhang Y, Chen H, Liu D, Ping P, et al. Oxidative stress in atrial fibrillation: an emerging role of NADPH oxidase. ***J Mol Cell Cardiol*** 2013; 62: 72-9.
[14] Bach D, Pich S, Soriano FX, Vega N, Baumgartner B, Oriola J, et al. Mitofusin-2 determines mitochondrial network architecture and mitochondrial metabolism: a novel regulatory mechanism altered in obesity. ***J Biol Chem*** 2003; 278(19): 17190-7.
[15] Sacheck JM, Hyatt JPK, Raffaello A, Thomas Jagoe R, Roy RR, Reggie Edgerton V, et al. Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases. ***FASEB J*** 2007; 21(1): 1 40-55.
[16] Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1α, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. ***FEBS J*** 2014; 281(3): 739-49.
[17] Cox FF, Misiou A, Vierkant A, Ale-Agha N, Grandoch M, Haendeler J, et al. Protective effects of curcumin in cardiovascular diseases—Impact on oxidative stress and mitochondria. ***Cells*** 2022; 11(3): 342.
[18] Pourbagher-Shahri AM, Farkhondeh T, Ashrafizadeh M, Talebi M, Samargahndian S. Curcumin and cardiovascular diseases: Focus on cellular targets and cascades. ***Biome Pharma*** 2021; 136: 111214.
[19] Rocha-Rodrigues S, Rodríguez A, Gouveia AM, Gonçalves IO, Becerril S, Ramírez B, et al. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. ***Life Sci*** 2016; 165: 100-8.
[20] Baghaiee B, Bayatmakoo R, Karimi P, Pescatello L. Moderate Aerobic Training Inhibits

Middle-Aged Induced Cardiac Calcineurin-NFAT Signaling by Improving TGF-ß, NPR-A, SERCA2, and TRPC6 in Wistar Rats. ***CELL J (Yakhteh)*** 2021; 23(7): 756-62.
[21] Baghaiee B, Karimi P, Siahkouhian M, Pescatello LS. Moderate aerobic exercise training decreases middle-aged induced pathologic cardiac hypertrophy by improving Klotho expression, MAPK signaling pathway and oxidative stress status in Wistar rats. ***Iran J Basic Med Sci*** 2018; 21(9): 911-9.
[22] Taheri Gandomani R, Mirzaei B, Damirchi A. The Effect of Moderate and High Intensity Resistance Training on the Expression of PGC-1α, TFAM and AMPK of Cardiomyocytes in Elderly Rats. ***JAUS*** 2021; 21(1): 110-2. [in Persian]
[23] Langfort J, Viese M, Ploug T, Dela F. Time course of GLUT4 and AMPK protein expression in human skeletal muscle during one month of physical training. ***Scand J Med Sci Sports*** 2003; 13(3): 169-74.
[24] Cartoni R, Léger B, Hock MB, Praz M, Crettenand A, Pich S, et al. Mitofusins 1/2 and ERRα expression are increased in human skeletal muscle after physical exercise. ***J Physiol*** 2005; 567(1): 349-58.
[25] Khalafi M, Mohebbi H, Karimi P, Faridnia M, Tabari E. The Effect of High Intensity Interval training and Moderate Intensity Continuous Training on Mitochondrial Content and PGC-1α of Subcutaneous Adipose Tissue in Male Rats with High Fat Diet Induced Obesity. ***J Sport Bio*** 2018; 10(3): 297-315.
[26] Raoufi a, sirous f, Hoseini A. The Effect of Eight Weeks of Curcumin Supplementation on the Expression of Some Regulatory Genes of Atrophic Processes in the Heart Tissue of Fatty Adult Fatty Rats. ***JABS*** 2019; 9(2): 1425-32. [in Persian]
[27] Rauofi A, Farsi S, Hosseini SA. Effect of Resistance Training Along with Curcumin Supplementation on Expression of Some Regulator Genes Associated with Cardiac Muscle Structure in Obese Rats. ***Thrita*** 2020; 9(2).
[28] Mirzaei MR, Gholamrezaei S, Shabani R. The Effect of 8 Weeks of High-Intensity Interval Training (HIIT) with Curcumin Supplementation on Expression of Mitochondrial Cardiomyocyte drp1 and MFN2 Genes in Male Stroke Model Rats. ***JIMS*** 2022; 39(652): 914-21. [in Persian]
[29] Phillips S, Green H, Tarnopolsky M, Heigenhauser G, Grant S. Progressive effect of endurance training on metabolic adaptations in working skeletal muscle. ***Am J Physiol*** 1996; 270(2): E265-E72.
[30] Yan M, Audet-Walsh É, Manteghi S, Dufour CR, Walker B, Baba M, et al. Chronic AMPK activation via loss of FLCN induces functional beige adipose tissue through PGC-1α/ERRα. ***Genes Dev*** 2016; 30(9): 1034-46.
[31] Chen P, Wang H, Yang F, Chen H, He W, Wang J. Curcumin promotes osteosarcoma cell death by activating miR-125a/ERRα signal pathway. ***J Cell Biochem*** 2017; 118(1): 74-81.