علوم زیستی ورزشی - زمستان ۱۳۹۶
دورهٔ۹، شمارهٔ ۴، ص: ۵۷۱ – ۵۵۷
تاریخ دریافت : ۲۴ / ۰۷ /۹۶
تاریخ پذیرش : ۱۸ / ۱۰ / ۹۶

تأثیر هشت هفته فعالیت هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن‌های سوپراکسیددسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز بافت قلب موش‌های صحرایی نر ویستار

مهسا دهقان منشادی*[۱]- محمدرضا اسد [۲] - سعید نقیبی[۳]
۱.کارشناس‌ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام نور، تهران-ایران ۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام نور، تهران-ایران ۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام نور، تهران-ایران

چکیده

تمرین و فعالیت ورزشی فواید زیادی در جهت بهبود سلامتی، پیشگیری و درمان بیماری‌ها دارد. اما تمرینات ورزشی عوارضی نیز دارند که باید کنترل شود و افزایش فشار اکسایشی یکی از آنهاست. ازاین‌رو در این مطالعه سطح سازگاری دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب موش‌های ویستار پس از تمرینات تداومی و تناوبی پرشدت بررسی می‌شود. بدین منظور تعداد ۱۸ سر رت نر ویستار در سه گروه تمرین تناوبی شدید (۶ رت)، تمرین هوازی (۶ رت) و گروه کنترل (۶ رت) به‌صورت تصادفی در یک دوره تمرینات ورزشی هشت‌هفته‌ای قرار گرفتند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی نمونه‌برداری بافت قلب انجام گرفت. سپس مقادیر بیان ژن SOD و GPX بافت قلب با روش RT-PCR بر مبنای فلوروسنت تولیدی از مولکول تعیین شد. با توجه به غیرطبیعی بودن توزیع مقادیر بیان ژن در برخی گروه‌ها، از روش آماری غیرپارامتریک برای تحلیل آماری استفاده شد. نتایج پژوهش نشان داد که میزان بیان ژن SOD در هر دو گروه تمرین تناوبی و استقامتی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۳). اما میزان بیان ژن GPX تنها در گروه تمرین HIT افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۳). تمرینات ورزشی تغییرات مطلوبی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت قلب رت‌های ویستار ایجاد کرد. این تأثیرات در هر دو روش تمرینی تداومی و تناوبی پرشدت مشاهده شد. اما به‌نظر می‌رسد که تمرینات تناوبی پرشدت تأثیرات مطلوب‌تری بر دفاع آنتی‌اکسیدانی در رت‌های ویستار داشته باشد، اما در این زمینه به تحقیقات بیشتری نیاز است.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن تمرین تناوبی شدید، تمرین هوازی، سیستم آنتی‌اکسیدان.

---

* نویسندهٔ مسئول : تلفن: ۰۹۱۲۶۰۰۸۷۹۶ Email: sduaghibi@yahoo.com

مقدمه

در دهه‌های اخیر پژوهش‌های بسیاری نشان داده‌اند تمرین و فعالیت ورزشی فواید زیادی در جهت بهبود سلامتی، پیشگیری و درمان بیماری‌ها دارد (۲، ۱). سازگاری‌های متعددی پس از تمرین‌های ورزشی در بدن ایجاد می‌شود که به کاهش آمار مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های قلبی‌عروقی و بهبود اجرای ورزشی کمک می‌کند. اما فعالیت ورزشی مواد مضری نیز در بدن ایجاد می‌کند که می‌تواند موجب بروز آسیب‌های بیشتر در دستگاه‌های بدن شود. یکی از آنها فشار اکسایشی است که از روی آسیب به پروتئین‌ها، لیپیدها، DNA، RNA[1]، غشای سلول‌ها و گلبول‌های قرمز قابل شناسایی است (۳). براساس نتایج چند تحقیق استرس اکسایشی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها از جمله آترواسکلروز، فشار خون، ایسکمی قلبی[2]، دیابت، سرطان، آرتریت روماتوئید و التهاب، بیماری‌های سیستم عصبی و همچنین فرایند پیری دخالت دارد (۴). اما در شرایط طبیعی دفاع آنتی‌اکسیدانی از سلول‌ها در برابر تأثیرات زیان‌بار ROS جلوگیری به‌عمل می‌آورد (۵). در واقع بین دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن و تولید رادیکال‌های آزاد در داخل سلول تعادلی دقیق و حساس موسوم به وضعیت اکسیداسیون و احیا یا رداکس[3] سلولی برقرار است که نقش مهمی در بهینه‌سازی عملکرد سلول دارد (۶).

یکی از مکانیسم‌های درگیر در آسیب بافت قلب در بیماری‌های قلبی عروقی پیشرفت استرس اکسیداتیو یا عدم تعادل بین عوامل پیش‌اکسیدان (pro-oxidants) و آنتی‌اکسیدان به نفع عوامل اکسیدانی است، که بازسازی (remodeling) قلب و افزایش فشار خون را تشدید می‌کند (۷). در این شرایط استرس اکسیداتیو با عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[4] یا نقص در سطوح آنتی‌اکسیدانی درونی و بیرونی ایجاد می‌شود. حضورROS برای مدت طولانی با بیماری‌های مختلفی مانند بیماری دیابت نوع دو همراه است (۸). این شرایط عدم تعادل وخیم است و می‌تواند به آسیب سلولی و بافتی منجر شود. همچنین می‌تواند موجب تشدید شرایط در بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های تخریب نرونی[5] و سرطان شود (۹).

1. Ribonucleic acid
2. Ischemia
3. Redax
4. reactive oxygen species
5. neurodegenerative

در مطالعات دارای پروتکل ورزشی طولانی‌مدت، یک تنظیم افزایشی در فعالیت و بیان پروتئین MnSOD ملاحظه شده است (۱۰). علاوه‌بر این در زمینهٔ سازگاری محافظت قلبی ناشی از ورزش به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت یا محتوای پروتئین MnSOD به مقدار زیادی به شدت فعالیت ورزشی وابسته باشد، به‌طوری‌که دویدن روی تردمیل با شدت پایین (۱۱) و دویدن اختیاری (۱۲) ظاهراً به افزایش سطح این آنزیم در میوکارد منجر نمی‌شوند. دربارهٔ نقش MnSOD مطالعات پیشین نتیجه‌گیری کرده‌اند که افزایش فعالیت این آنزیم برای دستیابی به سازگاری محافظت قلبی ناشی از ورزش در برابر شرایط آریتمی و انفارکتوس قلبی حیاتی است (۱۳). یکی از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدان درون‌سلولی، که سلول‌ها را قادر می‌سازد با گونه‌های فعال اکسیژنی مقابله کنند، آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) است (۱۴). گلوتاتیون پراکسیداز نام عمومی برای خانواده‌ای از آنزیم‌ها با فعالیت پراکسیدازی است که نقش بیولوژیکی اصلی آنها محافظت از ارگانیسم‌ها در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو است.

ورزش ابزاری اثربخش است که قادر است استرس اکسیداتیو طولانی‌مدت را کاهش دهد. گال و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی اثر تمرین استقامتی دویدن به مدت ۹۰ دقیقه در روز و برای ۵ روز در هفته در یک دورهٔ هشت‌هفته‌ای بر روی سیستم آنتی‌اکسیدانی قلب رت‌ها مشاهده کردند که تغییرات ژن مالون دی الدهید تفاوتی با گروه کنترل بدون تمرین ندارد، همچنین کاهش معناداری در سطوح ژن سوپراکسیددسموتاز در گروه کنترل بدون تمرین مشاهده شد (۱۵). مطالعات انسانی بیشتر به بررسی تغییرات سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان شاخصی از تولید این آنزیم‌ها در بافت‌ها پرداخته‌اند، چراکه در انسان به‌سبب مشکلات اخلاقی برداشتن نمونه از بافت‌هایی که دارای میتوکندری زیادند مانند قلب و کبد برای پژوهش تقریباً ناممکن و غیرمنطقی به‌نظر می‌رسد. آروو و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعهٔ اثر تمرین تناوبی شدید و استقامتی تداومی بر سطوح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افراد دیابتی نوع دو تفاوت معناداری را در سطوح سوپراکسید دسموتاز در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نکردند. در گروه تمرین تناوبی شدید کاهش در مالون دی‌آلدهید نسبت به مقادیر پیش‌آزمون و گروه کنترل مشاهده شد. این پژوهشگران عنوان کردند که تمرینات تناوبی شدید اثربخشی بیشتری در نرمال‌سازی استرس اکسیداتیو با اثرگذاری مثبت بر عوامل پیش‌اکسیدانی[1] و آنتی‌اکسیدان‌ها دارند (۸). نادری و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعهٔ سازگاری سیستم آنتی‌اکسیدانی در سرم و بافت قلب رت‌های دیابتی به شش هفته تمرین ارادی دویدن روی چرخ دوران، به این نتیجه رسیدند که کاهش معناداری

1. pro-oxidant markers

در سطوح سرمی و بافت قلب آنزیم مالون دی آلدهید پس از شش هفته تمرین ارادی رخ می‌دهد. علاوه‌بر این ورزش ارادی افزایش معنادار در سطوح سرمی و بافت قلب سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز ایجاد می‌کند. بنابر این نتایج محققان عنوان کردند ورزش ارادی در کاهش استرس اکسیداتیو در دیابت نقش مفیدی دارد (۱۴). همچنین ارتباط بین ورزش و استرس اکسیداتیو بی‌نهایت پیچیده است و به نوع، شدت و مدت ورزش بستگی دارد. به‌نظر می‌رسد تمرین‌های ورزشی منظم اثرات مفیدی بر استرس اکسیداتیو و سلامت دارند. در مقابل ورزش حاد[1] به افزایش استرس اکسیداتیو منجر می‌شود، اگرچه این‌چنین محرک‌هایی برای بالا بردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ضروری به‌نظر می‌رسند (۹). بنابراین نوع فعالیت ورزشی از اصلی‌ترین متغیرهایی است که پاسخ و سازگاری بافت‌های بدن به ورزش را مشخص می‌کند (۱۲، ۱۱). با توجه به اهمیت موضوع نوع ورزش در سازگاری‌های قلبی و عروقی و شناسایی مکانیسم‌های درگیر در آن، در این پژوهش سازگاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددسموتاز و گلوتاتیون پراکسید در بافت قلب پس از هشت هفته تمرین هوازی و هشت هفته تمرین تناوبی شدید بررسی شد.

روش‌شناسی

این تحقیق با روش تجربی در شهر تهران و در حیوان‌خانهٔ دانشگاه تهران انجام گرفت. بدین منظور ۱۸ سر رت نر نژاد ویستار با وزن ۳۵۰-۲۵۰ گرم در ۳ گروه تمرین تناوبی شدید (۶ رت)، تمرین هوازی (۶ رت) و گروه کنترل (۶ رت) به‌صورت تصادفی تقسیم شدند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها براساس دستورالعمل کمیتهٔ اخلاقی حیوانات دانشگاه شهید بهشتی انجام گرفت. حیوانات در قفس‌های ساخته‌شده از جنس پلی‌اتیلن شفاف با در فلزی و مشبک به‌صورت کاملاً مجزا و نشانه‌گذاری‌شده قرار گرفتند. آب حیوانات از طریق ظروف پلاستیکی مخصوص بر روی در قفس قرار گرفت. حیوانات با چرخهٔ روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. همچنین در هر قفس چهار رت نگهداری شد.

حداکثر اکسیژن مصرفی با آزمون فزایندهٔ استاندارد بیدفورد و همکاران (۱۹۷۹) ارزیابی شد، که به‌وسیلهٔ کارول گویز ریندلو و همکاران (۲۰۰۷) به‌منظور رت‌های نژاد ویستار استانداردسازی شده بود.

1. acute exercise

آزمون شامل ۱۰ مرحلهٔ سه‌دقیقه‌ای است. سرعت در مرحلهٔ اول ۰/۳ کیلومتر بر ساعت است و در مراحل بعدی ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوار گردان اضافه می‌شود.

در گروه تمرین استقامتی رت‌ها ابتدا به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوار گردان گرم شدند و سپس با شدت ۶۰ درصد سرعت بیشینه در هفتهٔ اول؛ ۶۵ درصد سرعت بیشینه در هفتهٔ دوم؛ ۷۰ درصد سرعت بیشینه از هفتهٔ سوم به بعد تمرین تداومی را انجام دادند. مسافت دویدن موش‌ها در گروه تمرین تداومی به‌گونه‌ای بود که با مسافت تمرین گروه تناوبی برابر باشد. ازاین‌رو زمان تمرین در شدت ۷۰ درصد سرعت بیشینه با توجه به مقدار جابه‌جایی پروتکل تمرین تناوبی (بدون محاسبهٔ جابه‌جایی در مرحلهٔ گرم کردن و سرد کردن) محاسبه شد. همچنین زمان تمرین بین ۱۶ تا ۴۰ دقیقه در هفتهٔ اول تا آخر تمرین بود. در پایان موش‌ها پنج دقیقه سرد کردن را در شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه انجام دادند.

پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا شامل سه قسمت گرم کردن، تمرین شامل تکرارهای اینتروال و سرد کردن بود. رت‌ها ابتدا با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد بیشینه به مدت ۵ دقیقه بر روی نوار گردان گرم کردند، سپس تمرین تناوبی و پس از آن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه سرد کردن را انجام دادند. تمرین تناوبی شامل ترکیب تکرارهای اینتروال با شدت بالا و پایین بود. تکرار اینتروال با شدت بالا شامل دو دقیقه با شدت ۸۰ درصد بیشینه در هفتهٔ اول؛ ۹۰ درصد بیشینه در هفتهٔ دوم، ۱۰۰ درصد بیشینه در هفتهٔ سوم و ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفتهٔ چهارم، تا پایان تمرین بود. تکرار اینتروال با شدت پایین شامل دو دقیقه با شدت ۴۰ درصد بیشینه از هفتهٔ اول تا پایان سوم و ۳۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفتهٔ چهارم به بعد بود. تمرین تناوبی به‌گونه‌ای بود که پس از گرم کردن رت‌ها ابتدا اینتروال با شدت بالا و پس از آن اینتروال با شدت پایین را انجام دادند، پس از انجام آخرین تکرار اینتروال با شدت بالا رت‌ها به‌جای تمرین در شدت ۴۰ درصد بیشینه به مدت پنج دقیقه با شدت ۵۰ درصد سرعت بیشینه سرد کردن را انجام دادند. تعداد تکرار اینتروال با شدت بالا با توجه به هفتهٔ تمرینی رت‌ها تعیین شد. به‌صورتی که در هفتهٔ اول دو تکرار اینتروال؛ هفتهٔ دوم چهار تکرار اینتروال؛ هفتهٔ سوم شش تکرار اینتروال و از ابتدای هفتهٔ چهارم به بعد شامل هشت تکرار اینتروال بود. ازاین‌رو زمان کل زمان تمرین شامل تکرار اینتروال با شدت بالا، تکرار اینتروال با شدت پایین به‌همراه گرم کردن و سرد کردن در هفتهٔ اول ۱۶ دقیقه، در هفتهٔ دوم ۲۴ دقیقه، هفتهٔ سوم ۳۲ دقیقه و از ابتدای هفتهٔ چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود (۱۶).

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین که رت‌ها به مدت ۲۴ ساعت ناشتا بودند، نمونه‌برداری از عضلهٔ قلب رت‌ها برداشته شد. برای جمع‌آوری بافت‌ها ابتدا حیوانات با ترکیب داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)و کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. سپس قفسهٔ سینه حیوان شکافته شد و برای اطمینان از کمترین آزار به حیوان، نمونه‌های خون به‌طور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد و سپس عضلهٔ قلب حیوان برداشته شد، در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شده و پس از جدا کردن بطن چپ، بلافاصله در میکروتوب گذاشته شد و با استفاده از ازت مایع منجمد و برای سنجش‌های بعدی به فریز (۸۰-) منتقل شدند.

بیان ژن‌های سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسید بافت قلب به‌وسیلهٔ روش Real-time -PCR انجام گرفت. به‌منظور استخراج RNA، براساس دستورالعمل کیت استخراج استرا تک (Stratec Kit) آلمان عمل شد. به مقدار ۲۵ میلی‌گرم از بافت چربی برداشته و توسط تیغ خرد و با شیکر هموژنیزه شد. مراحل استخراج تا دستیابی به RNA خالص ادامه داشت. به‌منظور تبدیل Total RNA به cDNA به‌دلیل بلندی طول توالی RNA، از رندوم هگزامر[1] به‌عنوان پرایمر استفاده شد و پس از اتصال پرایمرها به رشتهٔ RNA با کمک آنزیم ریورس ترانس کریپتاز [2] نسخه‌برداری معکوس از روی RNA انجام گرفت.

از پرایمرهای زیر (جدول ۱) به‌منظور تکثیر cDNA آمنتین-۱ استفاده شد. همچنین ژن میزبان[3] در این تحقیق از نوع GAPDH انتخاب شد.

جدول ۱. پرایمرهای سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسید و ژن کنترل

سوپراکسید دسموتاز	Forward-SOD Reverse-SOD	CGGTCCAGCGGATGAAGAGAGG GGCAATCCCAATCACACCACAAGA
گلوتاتیون پراکسید	Forward-GPX Reverse-GPX	AGTTCGGACATCAGGAGAA AGGGCTTCTATATCGGGTTC
GAPDH	Forward-GPX Reverse-GPX	5′GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′ 5′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3′

برای ساخت cDNA، براساس دستورالعمل کیت Fermentase مراحل زیر انجام گرفت. همچنین از RT-PCR برای بررسی ویژگی پرایمرها بر مبنای روش Syber Green استفاده شد. از روش ΔCt لیواک

1. Random hexamer
2. Reverse Transcriptase
3. Housekeeping gene

برای بررسی بیان کمی- نسبی۱ ژن آمنتین-۱ بر مبنای فرمول ذیل استفاده شد (۱۷):

$$\text{Relative fold change in gene expression} = 2^{-\Delta\Delta C_T}$$

$$\Delta C_T = C_{T\ \text{target gene}} - C_{T\ \text{reference gene}}$$

$$\Delta\Delta C_T = \Delta C_T\ \text{test sample} - \Delta C_T\ \text{Control sample}$$

با توجه به غیرطبیعی بودن توزیع داده‌ها، از روش آماری کروسکال والیس برای مقایسهٔ بین‌گروهی و برای مقایسهٔ بین‌گروهی از آزمون من‌ویتنی به‌عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد. کلیهٔ محاسبات آماری از طریق نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۲ انجام گرفت. نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار EXCEL ویرایش ۲۰۱۰ طراحی شد.

نتایج

در جدول میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن رت‌ها در هر گروه در دو مرحلهٔ پایه و قبل از کشته شدن ارائه شده است.

جدول ۲. وزن بدن رت‌ها در گروه‌ها

متغیر	گروه	کنترل ۸ هفته	فعالیت ورزشی استقامتی تداومی	فعالیت ورزشی HIIT
وزن بدن (gr)	پایه	۲۳۳/۲ ± ۷/۶۲	۲۳۲/۴ ± ۹/۳۷	۲۴۱/۳ ± ۸/۳۴
	۸ هفته	۲۹۱/۶ ± ۸/۶	۲۴۵/۶ ± ۸/۷	۲۶۰/۱ ±۹/۴۲

نتایج آزمون آماری کروسکال والیس نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن سوپراکسید دسموتاز بافت قلب موش‌های صحرایی نر تأثیر معناداری دارد (جدول ۳).

1. Relative quantification of gene expression

جدول ۳. آزمون آماری بیان ژن SOD در بافت قلب موش‌های صحرایی نر

متغیر	گروه	Mean±SD	df	Chi-Square	Asymp. Sig.
	کنترل	۰/۰±۰۰۰۱۴۹۶/۰۰۰۰۵۹۷	۲		
بیان ژن SOD	تمرین تناوبی شدید	۰/۰±۰۰۶۷۴۲۰/۰۰۴۷۳۴۴	۲	۱۱/۶۶۱	*۰/۰۰۳
	تمرین هوازی	۰/۰±۰۰۵۱۱۱۹/۰۰۷۱۴۲۱	۲		

* نشانهٔ تفاوت معنادار بین گروه‌ها

نتایج آزمون تعقیبی من‌ویتنی نشان داد که اختلاف معناداری بین گروه کنترل و گروه تمرین HIT (P=۰/۰۰۲) و همچنین گروه کنترل و گروه تمرین هوازی (P=۰/۰۰۲) در مقادیر بیان ژن SOD وجود دارد. اما اختلاف معنی‌داری بین دو گروه تمرین هوازی و HIT در مقادیر SOD مشاهده نشد (P=۰/۴۸۵).

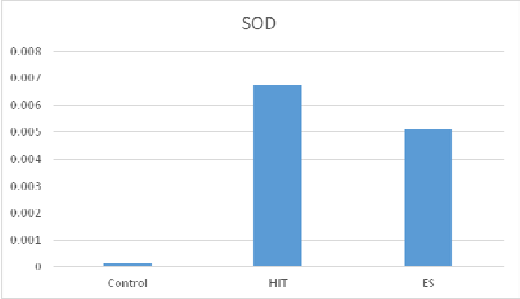
نتایج آزمون آماری کروسکال والیس نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن گلوتاتیون پراکسید در بافت قلب موش‌های صحرایی نر تأثیر معناداری دارد (جدول ۴).

جدول ۴. آزمون آماری بیان ژن GPX در بافت قلب موش‌های صحرایی نر

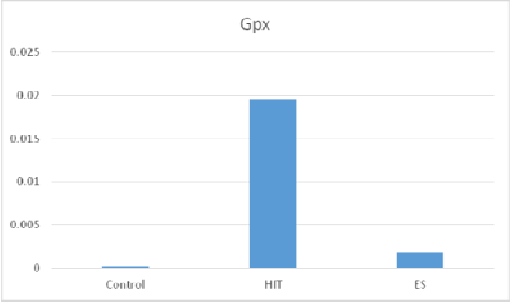
متغیر	گروه	Mean±SD	df	Chi-Square	Asymp. Sig.
بیان ژن GPX	کنترل	۰/۰±۰۰۰۱۷۷۵/۰۰۰۰۵۵۵	۲	۱۵/۱۵۸	*۰/۰۰۱
	تمرین تناوبی شدید	۰/۰±۰۱۹۴۸۵۸/۰۰۸۷۰۰۹	۲		
	تمرین هوازی	۰/۰±۰۰۱۸۴۱۵/۰۰۰۶۹۱۹	۲		

* نشانهٔ تفاوت معنادار بین گروه‌ها

نتایج آزمون تعقیبی من‌ویتنی نشان داد که اختلاف معنادار بین گروه کنترل و گروه تمرین HIT (P=۰/۰۰۲) و گروه کنترل و گروه تمرین هوازی (P=۰/۰۰۲) در مقادیر بیان ژن GPX وجود دارد. همچنین اختلاف معناداری بین دو گروه تمرین هوازی و HIT در مقادیر GPX مشاهده شد (P=۰/۰۰۲).



شکل ۱. میانگین تغییرات SOD



شکل ۲. میانگین تغییرات GPX

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از مکانیسم‌های درگیر در آسیب بافت قلب در بیماری‌های قلبی عروقی پیشرفت استرس اکسیداتیو، یا عدم تعادل بین عوامل پیش‌اکسیدان (pro-oxidants) و آنتی‌اکسیدان به نفع عوامل اکسیدانی است، که بازسازی (remodeling) قلب و افزایش فشار خون را تشدید می‌کند (۷). دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی از مهم‌ترین مکانیسم‌های دفاعی بدن در برابر این شرایط است. نتایج تحقیقات پیشین نشان داد که فعالیت ورزشی موجب تقویت این آنتی‌اکسیدان‌ها شامل SOD و GPX می‌شود. ازاین‌رو برای درک بهتر و دقیق‌تر از میزان پاسخ‌دهی و تغییرات این آنزیم‌ها، در این پژوهش پاسخ بیان ژن آنها به فعالیت ورزشی بررسی شد. همچنین همان‌طورکه در مقدمه بحث شد، افزایش فعالیت یا محتوای پروتئین MnSOD به مقدار زیادی به شدت فعالیت ورزشی وابسته است، به‌طوری‌که دویدن روی تردمیل با شدت پایین (۱۱) و دویدن اختیاری (۱۲) ظاهراً به افزایش سطح این آنزیم در میوکارد

منجر نمی‌شوند. بنابراین انجام تحقیقات دقیق و متمرکز بر شیوه‌های مختلف فعالیت ورزشی و شدت‌های متفاوت فعالیت یک ضرورت در مطالعات آینده‌نگر است. بی‌شک نتایج این پژوهش و پژوهش‌های همراستا با این پژوهش به روشن شدن مکانیسم‌های تأثیرگذار بر بدن و توصیهٔ دقیق‌تر فعالیت ورزشی به گروه‌های خاص کمک خواهد کرد.

نتایج این پژوهش نشان داد که هشت هفته تمرین ورزشی تداومی و تناوبی شدید موجب افزایش معنادار بیان ژن آنزیم SOD در بافت قلب رت‌های نر ویستار شد. این نتیجه بیانگر تأثیر مثبت فعالیت ورزشی بر تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی است. همان‌طورکه مشاهده شد، تمرینات تناوبی شدید تغییرات مطلوب‌تری ایجاد کرد. فرنچ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که هشت۸ روز دویدن رت‌ها روی تردمیل موجب بهبود محافظت قلبی و عملکرد آن شد، اما افزایش MnSOD نقشی در این محافظت نداشت (۱۸). همچنین گال و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که بیان ژن مالون دی الدهید و سوپراکسیددسموتاز پس از یک جلسه تمرین شدید در عضلهٔ قلب پس از یک دورهٔ هشت‌هفته‌ای تمرینات ورزشی تغییری نکرد (۱۵). آروو و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعهٔ اثر تمرین تناوبی شدید و استقامتی تداومی بر سطوح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افراد دیابتی نوع دو تفاوت معناداری در سطوح سوپراکسید دسموتاز در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نکردند (۸). اما کوکس و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که اجرای شش هفته تمرین استقامتی تداومی و تمرین تناوبی سرعتی در مردان غیرفعال اثربخشی برابری در افزایش تراکم مویرگی و فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (eNOS) با وجود تفاوت زیاد در حجم کلی تمرین دارد (۱۹). بنابراین با وجود مشاهدهٔ نتایج مطلوب اما تفاوتی در دو نوع تمرین گزارش نکردند که با نتایج این پژوهش همسوست. بنابراین احتمالاً تمرینات استقامتی متداول و منظم موجب افزایش مقاومت بافت‌ها در برابر پراکسیداسیون لیپید می‌شود و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها را افزایش می‌دهد. از این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که وجود متغیرهایی چون تمرین، احتمالاً از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن که در نتیجهٔ افزایش فعالیت SOD خارج‌سلولی به‌سبب شدت بالای برنامهٔ تمرینی در این دورهٔ زمانی صورت گرفته است (۲۰). اطلاعات موجود نشان می‌دهد اغلب افزایش فعالیت SOD با تمرین، توسط تغییرات بیوشیمیایی و هیستولوژیکی ناشی از رادیکال‌های آزاد در بافت رخ می‌دهد.

ورزش ابزاری اثربخش است که قادر است استرس اکسیداتیو طولانی‌مدت را کاهش دهد. امروزه تمرینات تناوبی شدید (HIT) به‌عنوان گزینه‌ای ارزشمند و کارامد در پیشگیری، کنترل و بازتوانی

بیماری‌های قلبی عروقی مطرح شده‌اند. چراکه به‌نظر می‌رسد HIT تأثیرات مثبتی بر سطوح استرس اکسیداتیو با افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدان درونی دارد (۸). همچنین برخی محققان اعتقاد دارند که تمرینات تناوبی شدید اثربخشی بیشتری در نرمال‌سازی استرس اکسیداتیو با اثرگذاری مثبت بر عوامل پیش اکسیدانی[1] و آنتی‌اکسیدانی دارند (۸). نتایج این پژوهش تأثیر مطلوب فعالیت ورزشی بر دفاع اکسایشی آنزیمی را تأیید کرد و نشان داد که احتمالاً این پاسخ ارتباطی با شدت فعالیت ورزشی ندارد. اما بر مبنای یافته‌های راداک و همکاران (۱۹۹۵) احتمالاً آثار تحریکی ورزش بر ترجمان ژن سوپراکسید دیسموتاز حاوی مس و روی و سوپراکسید دیسموتاز منگنزدار با توجه به آستانهٔ مورد نیاز و دورهٔ زمانی احیا ممکن است فرق کند (۲۱).

نتایج پژوهش مؤید تأثیر معنادار تمرینات ورزشی تناوبی شدید در مقایسه با گروه بدون تمرین و تمرین تداومی بر بیان ژن آنزیم GPX در بافت قلب موش‌های نر ویستار بود. براساس نتایج این پژوهش تمرینات تداومی تأثیر چشمگیری بر تقویت آنزیم GPX نداشت و تنها تمرینات تناوبی شدید بودند که تأثیرات مثبتی ایجاد کردند. نادری و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعهٔ سازگاری سیستم آنتی‌اکسیدانی در سرم و بافت قلب رت‌های دیابتی پس از شش هفته تمرین ارادی دویدن روی چرخ دوران، گزارش کردند که ورزش ارادی موجب افزایش معنادار در سطوح سرمی و بافت قلبی مالون دی آلدئید، سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌شود (۱۴). این نتیجه همسو با نتایج این پژوهش است. اما رحیمی و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی اثر پنج روز فعالیت تناوبی شدید تغییری در میزان MDA و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPx و مجموع مقدار نیترات و نیتریت بافت قلب رت ها مشاهده نکردند (۲۲).

نتایج این پژوهش نشان داد که با وجود تأثیرات مثبت تمرینات ورزشی، به‌نظر می‌رسد که تمرینات تناوبی شدید تأثیرات مطلوب‌تری بر تقویت دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانی داشته باشد. به‌نظر می‌رسد تأثیرات مطلوب تمرینات ورزشی بر دفاع آنتی‌اکسیدانی وابسته به GPX تحت تأثیر شدت فعالیت ورزشی باشد. بنابراین در تقویت این آنزیم آنتی‌اکسیدان تمرینات پرشدت تناوبی برتری محسوسی نسبت به تمرینات تداومی داشتند. نتایج تحقیقات پیشین نشان داد که آنزیم GPX آخرین آنزیمی است که وارد واکنش‌های ضداکسایشی می‌شود (۲۳). با توجه به پایین بودن شدت تمرینات تداومی نسبت به تمرینات HIT احتمالاً دلیل این اختلاف مشاهده‌شده، خنثی شدن عوامل اکسایشی در این گروه با

1. pro-oxidant markers

گروه‌های آنتی‌اکسیدانی است که پیش از GPX وارد عمل شده و نیازی به عملکرد این آنزیم در این گروه نبوده است. همچنین نباید فراموش شود که بیشترین عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کبد مشاهده‌شده است (۲۴). بنابراین این احتمال وجود دارد که در تمرینات تداومی میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کبد در حدی بوده که واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی را خنثی کند و در نتیجه میزان این آنزیم در بافت قلب تغییری نکرده است.

با وجود این ارتباط بین ورزش و استرس اکسیداتیو بی‌نهایت پیچیده است و به نوع، شدت و مدت ورزش بستگی دارد. به‌نظر می‌رسد تمرین‌های ورزشی منظم تأثیرات مفیدی بر استرس اکسیداتیو و سلامت دارند. ورزش منظم با مکانیسم‌هایی همچون کاهش گونه‌های فعال اکسیژنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اثرات مفیدی بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان درونی بدن دارد (۹). فعالیت ورزشی با افزایش هورمون‌هایی مانند کاتکولامین‌ها، متابولیسم پروستانوئیدها، گزانتین اکسیداز، NADPH اکسیداز و فعالیت ماکروفاژها بر فرایندهای استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید تأثیر می‌گذارد و موجب افزایش آنها می‌شود (۲۵). همچنین روند کاهش جریان خون بافت‌های فعال در شروع فعالیت در اندام‌هایی مانند عضلات فعال، کبد، کلیه‌ها و طحال موجب افزایش روند پراکسیداسیون لیپید و آسیب بافتی می‌شود (۲۶). در نتیجه سلول شروع به تقویت عملکرد دفاعی خود و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌کند تا استرس اکسیداتیو و عوارض ناشی از آن را کاهش دهد.

براساس تحقیقات پیشین اطلاعات متناقضی در خصوص تأثیرات ورزش بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قلب وجود دارد، با وجود این براساس شواهد ورزش استقامتی بیان سوپراکسید دسموتاز را در میتوکندری عضلهٔ قلب افزایش می‌دهد. علاوه‌بر این یافته‌های اخیر نشان می‌دهند که با ورزش آنزیم‌های کمکی آنتی‌اکسیدان در بافت قلب افزایش می‌یابند. چنانکه تنها پنج روز ورزش استقامتی منجر به حفاظت قلبی در مقابل آریتمی‌های قلبی ناشی از ایسکیمی اکسیژن‌رسانی مجدد و انفاراکتوس قلبی می‌شود و یکی از مکانیسم‌های سلولی مولکولی اصلی که نقش کلیدی در این سازگاری‌ها ایجاد می‌کند، افزایش سوپراکسید دسموتاز در میتوکندری سلول‌های بافت قلب است (۲۷). دربارهٔ نقش MnSOD مطالعات متعدد نتیجه‌گیری کرده‌اند که نقش این آنزیم برای دستیابی به سازگاری‌های محافظت‌کنندهٔ قلبی ناشی از ورزش در مقابل آریتمی‌ها و انفارکتوس قلبی حیاتی است (۱۳).

نتیجه‌گیری کلی

تمرینات ورزشی تغییرات مطلوبی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت قلب ایجاد می‌کند. این تأثیرات در هر دو روش تمرینی تداومی و تناوبی پرشدت مشاهده شد. اما به‌نظر می‌رسد که تمرینات تناوبی پرشدت تأثیرات مطلوب‌تری بر دفاع آنتی‌اکسیدانی داشته باشند و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب وابسته به شدت فعالیت ورزشی است.

منابع و مآخذ

1.Booth FW, Lees SJ. Fundamental questions about genes, inactivity, and chronic diseases. Physiological genomics. 2007;28(2):146-57.

2.Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. Canadian medical association journal. 2006;174(6):801-9.

3.Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiological reviews. 2008;88(4):1243-76.

4. Meagher E, Rader DJ. Antioxidant therapy and atherosclerosis: animal and human studies. Trends in cardiovascular medicine. 2001;11(3):162-5.

5.Sen CK. Antioxidants in exercise nutrition. Sports Medicine. 2001;31(13):891-908.

6.Allen R, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. Free Radical Biology and Medicine. 2000;28(3):463-99.

7. De Andrade LHS, de Moraes WMAM, Junior EHM, de Moura EdOC, Antunes HKM, Montemor J, et al. Aerobic exercise training improves oxidative stress and ubiquitin proteasome system activity in heart of spontaneously hypertensive rats. Molecular and cellular biochemistry. 2015;402(1-2):193-202.

8.Poblete Aro CE, Guzmán R, Antonio J, Soto Muñoz ME, Villegas González BE. Effects of high intensity interval training versus moderate intensity continuous training on the reduction of oxidative stress in type 2 diabetic adult patients: CAT. Medwave. 2015;15(07).

9.Pingitore A, Lima GPP, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. Nutrition. 2015;3.۲۲-۹۱۶:(۷)۱

10. Rahimi M, Asgari AR, Khoshbaten A. The Role of Exercise Preconditioning in Cardioprotection against Ischemia Reperfusion Injury. Physiology and Pharmacology. 2014;18(2):122-43.

11. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu F, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 1993;265(6):H2094-H8.

12. Judge S, Jang YM, Smith A, Selman C, Phillips T, Speakman JR, et al. Exercise by lifelong voluntary wheel running reduces subsarcolemmal and interfibrillar mitochondrial hydrogen peroxide production in the heart. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2005;289(6):R1564-R72.
13. Kavazis AN. Exercise preconditioning of the myocardium. Sports Medicine. 2009;39(11):923-35.
14. Naderi R, Mohaddes G, Mohammadi M, Ghaznavi R, Ghyasi R, Vatankhah AM. Voluntary Exercise Protects Heart from Oxidative Stress in Diabetic Rats. Advanced pharmaceutical bulletin. 2015;5(2):231.
15. Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, et al. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 2006;143(2):239-45.
16. Jones JH. Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols. American Journal of Veterinary Research. 2007;68(6):583-.
17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. methods. 2001;25(4):402-8.
18. French JP, Hamilton KL, Quindry JC, Lee Y, Upchurch PA, Powers SK. Exercise-induced protection against myocardial apoptosis and necrosis: MnSOD, calcium-handling proteins, and calpain. The FASEB Journal. 2008;22(8):2862-71.
19. Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe AM, Barker TA, et al. Sprint interval and endurance training are equally effective in increasing muscle microvascular density and eNOS content in sedentary males. The Journal of physiology. 2013;591(3):641-56.
20. Thomas SR, Stocker R. Mechanisms of antioxidant action of ubiquinol-10 for low-density lipoprotein. CRC Press: Boca Raton, FL; 2001. p. 131-50.
21. Radak Z, Asano K, Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, et al. Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. Journal of applied physiology. 1995;79(1):129-35.
22. Rahimi M, Shekarforoush S, Asgari AR, Khoshbaten A, Rajabi H, Bazgir B, et al. The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. EXCLI journal. 2015;14:237.
23. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Belló-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. Canadian journal of applied physiology. 2005;30(6):723-34.
24. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. Free Radical Biology and Medicine. 2008;44(2):153-9.
25. Cunningham P, Geary M, Harper R, Pendleton A, Stover S. High intensity sprint training reduces lipid peroxidation in fast-twitch skeletal muscle. Journal of Exercise Physiology Online. 2005;8(6).

26. Chevion S, Moran DS, Heled Y, Shani Y, Regev G, Abbou B, et al. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003;100(9):5119-23.
27. Powers S, Sollanek K, Wiggs M, Demirel H, Smuder A. Exercise-induced improvements in myocardial antioxidant capacity: the antioxidant players and cardioprotection. Free radical research. 2014;48(1):43-51.