

علوم زیستی ورزشی - زمستان ۱۳۹۸  
دوره ۱۱، شماره ۴، ص: ۴۶۲ - ۴۴۷  
تاریخ دریافت: ۰۶ / ۰۶ / ۹۸  
تاریخ پذیرش: ۰۳ / ۰۷ / ۹۸

## بررسی بیان ایزوفرم‌های PGC-1 آلفا در پاسخ به تمرینات مقاومتی اکسنتریک و کانسنتریک در افراد سالم

پژمان تقی بیک‌زاده بدر<sup>۱</sup> - فاطمه شبخیز\*<sup>۲</sup> - شهناز شهربانیان<sup>۳</sup>

۱. دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی گرایش عصبی - عضلانی دانشگاه تهران، تهران، ایران، ۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، ۳. استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

### چکیده

زمینه و هدف: هدف از پژوهش حاضر بررسی بیان ایزوفرم‌های PGC-1 آلفا در پاسخ به تمرینات مقاومتی اکسنتریک و کانسنتریک در افراد سالم بود. روش تحقیق: ۱۰ مرد سالم به صورت تصادفی در هر یک از گروه‌ها (گروه کانسنتریک ۵ نفر - گروه اکسنتریک ۵ نفر) تقسیم شدند. پروتکل‌های انقباض آیزوکینتیک شامل اکسنتریک و کانسنتریک اکستنشن زانو با حداکثر قدرت و سرعت زاویه‌ای ۶۰ درجه بر ثانیه بود. گشتاورهای تعیین شده برای هر آزمودنی به منظور همسان‌سازی بار کاری در هر دو پروتکل یکسان در نظر گرفته شد و سرعت رفت و برگشت ۶۰ درجه بر ثانیه بود. در ابتدا و انتهای مطالعه از بافت عضله پهن جانبی بایوپسی انجام گرفت. برای بررسی بیان ژن PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4، از تکنیک Real Time PCR استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آماری تی وابسته و آزمون کوواریانس در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد. نتایج نشان داد، تغییرات درون گروهی PGC1 $\alpha$ -1، در گروه اکسنتریک ( $P=0/168$ ) و کانسنتریک ( $P=0/959$ ) معنادار نبود. همچنین تغییرات درون گروهی PGC1 $\alpha$ -4 بعد از یک جلسه فعالیت، در گروه اکسنتریک ( $P=0/012$ ) و گروه کانسنتریک ( $P=0/022$ ) معنادار بود. همچنین تغییرات بین گروهی نشان‌دهنده عدم تفاوت بین دو گروه در هر دو متغیر بود ( $P \geq 0/05$ ). نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عدم تغییرات معنادار در متغیرهای مورد نظر ناشی از عدم فشار تمرینی کافی جهت تحریک افزایش PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4 باشد و با توجه به بررسی پاسخ به نظر می‌رسد در بحث سازگاری نتایج متفاوتی به دست آید که نیاز به بررسی دارد.

### واژه‌های کلیدی

انقباض اکسنتریک، انقباض کانسنتریک، PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4

**مقدمه**

PGC1 $\alpha$  عامل رونویسی است که اولین بار در بافت چربی قهوه‌ای تشخیص داده شد (۱). از زمان کشف آن، PGC1 $\alpha$  به‌عنوان تسهیل‌کننده سازگاری‌های سودمند مانند بیوژنز میتوکندریایی و افزایش رگ‌زایی در عضله اسکلتی متعاقب تمرینات هوازی شناخته می‌شود (۲). چندین آبخار سیگنالینگ به‌منظور فعال شدن رونویسی ژن PGC1 $\alpha$  تشخیص داده شده است (۳). اخیراً رواس<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۲) ایزوفرم‌های جدیدی از PGC1 $\alpha$  را تشخیص دادند که منتج از ژن تغییر یافته PGC1 $\alpha$  بود. به‌منظور تشخیص ایزوفرم‌های جدید از شکل ذاتی PGC1 $\alpha$ ، این ایزوفرم‌ها به‌عنوان PGC1 $\alpha$ -1، PGC1 $\alpha$ -2، PGC1 $\alpha$ -3 و PGC1 $\alpha$ -4 نامگذاری شدند (۴). به‌نظر می‌رسد در ایزوفرم‌های جدید PGC1 $\alpha$ ، ایزوفرمی که مرتبط با پلاستیسیته عضله اسکلتی به تمرینات قدرتی باشد، PGC1 $\alpha$ -1 است (۴). ایزوفرم‌های جدید PGC1 $\alpha$  را می‌توان به‌صورت یک پیوستار در نظر گرفت. جایی که در ابتدای این پیوستار PGC1 $\alpha$ -1 و در انتهای آن PGC1 $\alpha$ -4 قرار می‌گیرند. PGC1 $\alpha$ -1 درگیر در تغییرات اکسیداتیو و PGC1 $\alpha$ -4 درگیر در هایپرتروفی و قدرت عضلانی‌اند (۵). فعالیت PGC1 $\alpha$  بیان IGF-1 در عضله اسکلتی جوندگان را افزایش داد. IGF-1 پروتئینی است که به‌عنوان عامل آنابولیکی در عضله اسکلتی شناخته می‌شود (۶، ۴). علاوه بر آن مشخص شده است که PGC1 $\alpha$ -4، بیان میواستاتین را سرکوب می‌کند (۷، ۴). بیان PGC1 $\alpha$ -4 موجب هایپرتروفی عضله اسکلتی در شرایط آزمایشگاهی و غیر آزمایشگاهی - هر دو- شد. همچنین بیان بیش‌ازحد PGC1 $\alpha$  در موش‌های ترانسژنیک مقاومت عضله اسکلتی را به تأثیرات از دست دادن عضله متعاقب سرطان افزایش داد (۴).

تشخیص PGC1 $\alpha$ -4، مسیر جدیدی را که ممکن است عضله به‌واسطه آن هایپرتروف شود، آشکار ساخت. با این حال رواس و همکاران (۲۰۱۲) تغییری در بیان PGC1 $\alpha$ -4 پس از تمرینات استقامتی مشاهده نکردند. البته تمرین مقاومتی و استقامتی - مقاومتی به افزایش ۱/۵ و ۳ برابر - به‌ترتیب - در بیان PGC1 $\alpha$ -4 منجر شدند (۴). همچنین کریستینا و همکاران (۲۰۱۶) تغییری در بیان PGC1 $\alpha$ -4 متعاقب یک جلسه تمرین مقاومتی مشاهده نکردند (۵). از طرفی نیل و همکاران (۲۰۱۶) تغییرات معناداری در تمامی ایزوفرم‌های PGC-1 آلفا و MHC بر روی مردان سالم پس از تمرین مقاومتی کوتاه‌مدت گزارش کردند. در این پژوهش PGC1 $\alpha$ -1 پس از تمرین کاهش و بقیه ایزوفرم‌های PGC-1 آلفا

در مقایسه با شرایط پایه افزایش نشان دادند (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر نیز پس از یک جلسه تمرین اکسنتریک تغییرات معناداری در PGC1 $\alpha$ -1 مشاهده نشد (۵). البته چنین یافته‌هایی نباید موجب بی‌اعتبار شدن نقش بالقوه PGC1 $\alpha$ -1 در سازگاری‌های تمرینات قدرتی شود. برای مثال PGC1 $\alpha$ -1 از طریق سرکوب عامل رونویسی FOXO3، به حفظ حجم عضله کمک می‌کند (۸). علاوه بر آن با توجه به تشریح فیلیپس<sup>۱</sup> (۲۰۰۷)، انعقاد میتوکندریایی در برخی مطالعات مرتبط با تمرینات مقاومتی گزارش شد، اما بیشتر مطالعات، تغییری را در چگالی میتوکندریایی یا مویرگی گزارش نکردند (۹). ونگ<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۲) افزایش در بیان PGC1 $\alpha$ -1 را ۶ ساعت پس از پروتکل تمرین مقاومتی شامل حرکت جلوپا با ۳۰ درصد یک تکرار بیشینه (بدون در نظر گرفتن زمان تنش) نشان دادند (۱۰).

از طرفی امروزه نقش دستکاری نوع انقباض عضلانی در تمرینات مقاومتی نیز مسئله مهمی تلقی می‌شود، زیرا بیشتر برنامه‌های تمرینی و بازتوانی شامل هر دو انقباض کانسنتریک و اکسنتریک طی هر تکرارند (۱۱). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت اکسنتریک از نظر متابولیک در سطح پایین‌تری از فعالیت کانسنتریک است، اما همواره به آسیب بیشتر تار عضلانی و پاسخ‌های التهابی بیشتر منجر می‌شود (۱۲). هورتوباگی<sup>۳</sup> و همکاران (۱۹۹۶) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که فعالیت‌های برون‌گرا به درون‌گرا سازگاری‌های بیشتری ایجاد می‌کنند (۱۳). در صورتی که کی<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۰) در تحقیق خود به سازگاری‌های عصبی یکسانی در هر دو نوع تمرین دست یافتند (۱۴). علاوه بر این PGC1 $\alpha$ -4 نشان‌دهنده مسیر جدیدی است که از طریق آن اندازه عضله به نسبت افزایش در قدرت ممکن است رخ دهد. با توجه به اینکه PGC1 $\alpha$  با سازگاری‌های تمرینات هوازی مرتبط است، تنها اهمیت آن در تمرینات مقاومتی می‌تواند تنظیم مثبت بیوژنز میتوکندریایی باشد، به طوری که متابولیسم اکسیداتیو هنگام افزایش حجم عضله و به تبع آن قابلیت تولید نیرو، به اندازه کافی باقی بماند. بنابراین تحقیق در مورد بیان متفاوت ایزوفرم‌های آن مهم است. از منظر درمانی، پژوهش‌ها ممکن است در آینده نشان‌دهنده این موضوع باشند که ایزوفرم‌های PGC1 $\alpha$  می‌توانند کاندیدای توانمندی برای درمان کاهش عضلانی مرتبط با پیری و بیماری باشند. به‌ویژه برای افرادی که توانایی شرکت در برنامه‌های تمرینات ورزشی قدرتی را ندارند (۱۵). در همین زمینه داده‌های موجود انسانی در مورد بیان mRNA ی PGC-1ALPHA4 نشان از همبستگی

1. Phillips
2. Wang
3. Hortobagyi
4. Kay

بیان آن با تنظیم منفی مایوستاتین، ۴۸ ساعت پس از تمرین مقاومتی و تمرین ترکیبی (مقاومتی - استقامتی) - هر دو - دارد. علاوه بر این، PGC-1 $\alpha$ -4 به طور شایان توجهی با عملکرد پرس پا ارتباط داشت. چنین ارتباطی در مورد IGF-1 مشاهده نشد (۱۶). با توجه به این داده‌ها، نقش بالقوه PGC-1 $\alpha$ -4 در تنظیم توده عضلانی اسکلتی انسانی و سازگاری‌های قدرت در پاسخ به تمرینات مقاومتی مورد توجه قرار دارد. بنابراین پژوهشگر در پژوهش حاضر در نظر دارد بیان PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4 را در پاسخ به تمرینات اکسنتریک و کانسنتریک بررسی کند.

### روش تحقیق

#### جامعه آماری، نمونه آماری و نحوه انتخاب

در این پژوهش دانشجویان مرد دانشگاه تهران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز ۱۸ تا ۳۰ سال که به صورت تفریحی تمرین قدرتی انجام می‌دهند (افرادی که به منظور سلامت عمومی بدن و ارتقای ترکیب بدنی ۳ تا ۶ روز در هفته تمرین می‌کنند)، جامعه آماری مورد نظر را تشکیل دادند. ۱۰ مرد سالم به صورت تصادفی در هر یک از گروه‌ها (گروه کانسنتریک ۵ نفر - گروه اکسنتریک ۵ نفر) قرار گرفتند. در این پژوهش برای به حداقل رساندن تأثیر بین جنسی در بیان ژن، تنها از مردان استفاده شد. به منظور تعیین سلامتی آزمودنی‌ها و به حداقل رساندن خطرهای مرتبط با سیستم قلبی عروقی از راهنمای سلامت دانشکده پزشکی ورزشی آمریکا استفاده شد (۲۴). از طرفی افراد حاضر در پژوهش با توجه به خوداظهاری، در شش ماه منتج به تمرین از هیچ مکمل ورزشی استفاده نکرده بودند. همچنین کد اخلاق این پژوهش IR.UT.SPORT.REC.1397.029 که توسط دانشگاه تهران صادر و در سایت وزارت بهداشت جمهوری اسلامی ایران موجود است. آزمودنی‌ها دو جلسه در آزمایشگاه حضور پیدا کردند. هدف از جلسه اول آشنایی با محیط آزمایشگاه، سیستم آیزو کینتیک (دستگاه دینامومتر آیزو کینتیک ساخت کمپانی Biodex آمریکا) و اندازه‌گیری قد، وزن، توضیح پرسشنامه درک فشار تمرین بورگ و تعیین گشتاور بود. در جلسه دوم، آزمودنی‌ها به صورت تصادفی یکی از پروتکل‌های اکسنتریک یا کانسنتریک را در ساعت ۸ تا ۹ صبح انجام دادند.

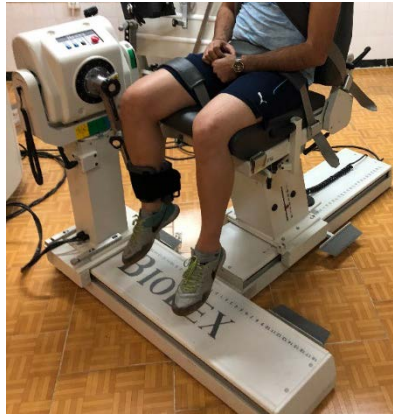
#### پروتکل تمرین

آزمودنی‌ها در هر جلسه ابتدا پس از مراجعه به آزمایشگاه به مدت ۱۰ دقیقه به حالت نشسته استراحت کردند و مراحل کار بار دیگر برای آنها به منظور اطمینان از درک آنها از نحوه اجرای تمرین مرور شد. پس

از آن آزمودنی بر روی صندلی دینامومتر نشسته و تنظیمات برای آماده‌سازی دستگاه صورت گرفت. این تنظیمات شامل جهت‌گیری دینامومتر ۹۰ درجه، تیلت دینامومتر صفر درجه، جهت‌گیری صندلی ۹۰ درجه، تیلت پشتی صندلی ۸۵ درجه، دامنه حرکت ۰ تا ۹۰ درجه و محور چرخش دینامومتر در صفحه ساجیتال در راستای خطی که از کندیل خارجی محور می‌گذرد، انتخاب شد. گرم کردن اختصاصی با سیستم آیزوکینتیک شامل ۲ ست ۵ تایی و زمان استراحت بین هر ست ۳۰ ثانیه بود. آزمودنی‌ها سپس یکی از دو پروتکل مختلف انقباض عضلانی آیزوکینتیک را که از قبل و به صورت تصادفی برای آنها تعیین شده بود، با پای راست اجرا کردند. پس از اتمام فعالیت پای تمرین کرده بدون هیچ فشاری تا زمان انجام بایوپسی ثابت نگاه داشته شد. بایوپسی از هر آزمودنی ۳ تا ۴ ساعت پس از اتمام پروتکل تمرینی انجام گرفت. طی اجرای پروتکل در انتهای هر ست میزان درک فشار با استفاده از مقیاس ۲۰ نمره‌ای بورگ (RPE) تعیین شد. مقیاس بورگ همبستگی بالایی با میزان HR، میزان تنفس و تجمع اسید لاکتیک دارد و یکی از راه‌های تعیین شدت فعالیت بدنی است. از آزمودنی‌ها خواسته شد که پس از اتمام هر ست عدد مربوط به مقیاس بورگ را اعلام کنند. زمانی که آزمودنی عدد ۲۰ را اعلام می‌کرد، با تشویق کلامی ۲ ست دیگر تمرین ادامه پیدا می‌کرد و هنگامی که توانایی اجرای کامل پروتکل توسط آزمودنی وجود نداشت، تمرین متوقف می‌شد. پروتکل‌های انقباض آیزوکینتیک شامل اکسنتریک و کانسنتریک اکستنشن زانو با حداکثر قدرت و سرعت زاویه‌ای ۶۰ درجه بر ثانیه بود. گشتاورهای تعیین شده برای هر آزمودنی به‌منظور همسان‌سازی بار کاری در هر دو پروتکل یکسان در نظر گرفته شد و سرعت رفت و برگشت ۶۰ درجه بر ثانیه بود. انقباض‌ها شامل حداکثر ۱۲ ست ۱۰ تکراری برای پای راست، زمان استراحت بین هر ست ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد. بدیهی است که زمان اجرای تمرینات اکسنتریک بیشتر از تمرینات کانسنتریک بود.

جدول ۱. پروتکل تمرین در گروه‌های اکسنتریک و کانسنتریک

گروه	تعداد ست	تعداد حرکت	استراحت بین ست
اکسنتریک	حداکثر ۱۲ ست	۱۰ تکرار	۳۰ ثانیه استراحت بین ست‌ها با سرعت پایین
کانسنتریک	حداکثر ۱۲ ست	۱۰ تکرار	۳۰ ثانیه استراحت بین ست‌ها با سرعت بالا



شکل ۱. آزمودنی در حال اجرای پروتکل تمرینی

### نمونه برداری بافت عضله

در ابتدا و انتهای مطالعه از بافت عضله پهن جانبی بایوپسی انجام گرفت. بایوپسی در دو جهت دیستال و پروگزیمال عضله پهن جانبی انجام شگرفت. نمونه بایوپسی در شرایط پایه برای بار اول و ۳ تا ۴ ساعت پس از انجام تمرین در شرایط کاملاً استریلیزه و در بیمارستان فوق تخصصی بقیه‌الله و توسط فوق تخصص جراحی ارتوپد انجام گرفت (۵). بایوپسی‌های عضلانی پوستی (۱۵ تا ۲۰ میلی گرم) از قسمت میانی عضله پهن جانبی در نقطه میانی بین کشکک و تروکانتر بزرگتر ران در عمق بین ۱ تا ۲ سانتی‌متر براساس روش‌های قبلاً تأیید شده به دست آمد. برای تمامی آزمودنی‌ها از پای راست استفاده شد. ناحیه بایوپسی تمیز شده و موهای پا در آن ناحیه کاملاً برداشته شد و با صابون ضد عفونی شسته و با الکل ضد عفونی شد. علاوه بر این، مکان بایوپسی با سم‌زدایی با بتادین (آنتی‌سپتیک مایع) ضد عفونی شد. یک ناحیه کوچک از پوست تمیز شده، تقریباً ۲ سانتی‌متر قطر، با تزریق زیر جلدی ۰/۱ میلی لیتر موضعی لیدوکائین بی‌حس شد. پس از بی‌حسی، یک نمونه بایوپسی آسپیراسیون سوزنی با اندازه ۱۶ اینچی (Tru-Core I Biotec Instrument, Gainesville, FL) در عمق تقریبی ۱ سانتی‌متر برای استخراج نمونه عضلانی قرار گرفت. پس از بایوپسی اولیه، بایوپسی بعدی، با استفاده از نشانه‌های پیش بایوپسی و نشانه‌های عمق روی سوزن، بافت عضلانی مجدداً استخراج شد. پس از استخراج عضله، بافت چربی از نمونه‌های عضلانی برداشته شد. نمونه‌ها بلافاصله در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. در هر یک از دو جلسه آزمون، دو نمونه عضلانی به دست آمد که در مجموع ۱۰ نمونه

عضلانی طی دوره مطالعه برای هر گروه و در کل ۲۰ نمونه به دست آمد. نمونه‌های عضلانی در زمان پایه و ۳ تا ۴ ساعت پس از تمرین به دست آمد.



شکل ۲. انجام بیوپسی در بیمارستان فوق تخصصی بقیه‌الله توسط فوق تخصص جراحی ارتوپد

#### اندازه‌گیری بیان PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4 بافتی

برای بررسی بیان ژن‌های PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4، در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک Real PCR Time استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام گرفت و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل شد. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده بررسی شد. از تکنیک RT-qPCR برای تأیید بیان ژن‌های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کیازول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل سیناژن استخراج شد و به منظور اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض (DNase I Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNAهای استخراج شده با دستگاه اسپکتروفتومتری (DPI-1, Kiagen) ارزیابی شد. به منظور تهیه cDNA تک‌رشته‌ای از پرایمر (Oligo dt MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (Fermentas) و براساس پروتکل مربوطه انجام گرفت. هر واکنش PCR با استفاده از Applied Biosystems, Sequences) ABI Step One و SYBER Green در دستگاه (Applied Biosystems, Sequences) ABI Step One طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار

Melting به منظور بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام گرفت و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش ارزیابی شد. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) ارزیابی شدند. با قرار دادن داده‌ها در فرمول:

$$R=2^{-(\Delta\Delta CT)}$$

$$\Delta\Delta CT = [(Ct - target - CT - reference) - (Time X)] - [(CT - target - CT - reference) - (Time 0)]$$

منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن با استفاده از حداقل ۵ غلظت لگاریتمی به ترتیب رقیق‌شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم شد. میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta CT_{\text{target}}}}{(E_{\text{reference}})^{\Delta CT_{\text{reference}}}}$$

$$\begin{aligned} (\Delta CT_{\text{reference}} = Ct_{\text{control}} - Ct_{\text{treatment}}) & \Delta CT_{\text{target}} \\ & = Ct_{\text{control}} - Ct_{\text{treatment}} \end{aligned}$$

در فرمول بالا E معرف Efficiency است و با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای ژن به دست می‌آید.

جدول ۲. توالی پرایمرهای استفاده شده در تکنیک RealTime PCR

Gene	Forward/Reverse	Primer (5' → 3')
PGC1 $\alpha$ -1	F	GTTTAGGGGAAGTATGTGTGGGT
	R	TGGTTGGTTGGTTGGTTGTTAG
PGC1 $\alpha$ -4	F	CAAGCAGAAGAAGGAGTTGGAG
	R	CGAGATGAGTTAGAAGTTGATG
hGAP	F	GCA GGG ATG ATG TTC TGG
	R	CTT TGG TAT CGT GGA AGG AC



پس از جمع‌آوری داده‌ها برای تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش از روش‌های آماری توصیفی و استنباطی استفاده شد. از آمار توصیفی برای محاسبه میانگین و انحراف استاندارد داده‌ها و از آمار استنباطی برای مقایسه گروه‌ها با هم استفاده شد. همچنین برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌های درون‌گروهی از روش آماری تی وابسته در سطح معناداری ( $P < 0.05$ ) استفاده شد. برای مقایسه دو گروه از آزمون کوواریانس استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS21 و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Exell 2013 استفاده شد.

### یافته‌ها

در این بخش ابتدا داده‌های توصیفی مرتبط با شاخص‌های دموگرافیک آزمودنی‌ها ارائه شده است (جدول ۳).

جدول ۳. شاخص‌های دموگرافیک آزمودنی‌ها در دو گروه

گروه‌ها	متغیر	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد
گروه فعالیت کانسنتریک	وزن (کیلوگرم)	۷۱/۸ $\pm$ ۵۰/۱۶
گروه فعالیت اکسنتریک		۷۲/۹ $\pm$ ۱۰/۶۱
گروه فعالیت کانسنتریک	BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	۲۳/۲ $\pm$ ۴۵/۲۶
گروه فعالیت اکسنتریک		۲۴/۱ $\pm$ ۲۶/۹۷
گروه فعالیت کانسنتریک	قد (سانتی‌متر)	۱۷۸/۴ $\pm$ ۸۰/۲۶
گروه فعالیت اکسنتریک		۱۷۶/۴ $\pm$ ۲۶/۶۷
گروه فعالیت کانسنتریک	سن (سال)	۲۶/۳ $\pm$ ۷۶/۴۵
گروه فعالیت اکسنتریک		۲۵/۲ $\pm$ ۱۵/۶۸

طبق نتایج جدول ۴ بین مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون PGC1 $\alpha$ -1 گروه فعالیت کانسنتریک و گروه فعالیت اکسنتریک تفاوت معنادار وجود ندارد ( $P \geq 0.05$ ). اما بین مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون PGC1 $\alpha$ -4 گروه فعالیت کانسنتریک و گروه فعالیت اکسنتریک تفاوت معنادار وجود دارد ( $P \leq 0.05$ ).

جدول ۴. نتایج آزمون T وابسته جهت مقایسه میانگین‌های پیش‌آزمون و پس‌آزمون PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4 در دو گروه

متغیر	گروه	اختلاف میانگین	T	درجات آزادی	مقدار P (معناداری)
PGC1 $\alpha$ -1	گروه فعالیت کانسنتریک	-۰/۲۴۸	-۱/۶۸۴	۴	۰/۱۶۸
	گروه فعالیت اکسنتریک	-۰/۰۰۷	-۰/۰۵۴	۴	۰/۹۵۹
PGC1 $\alpha$ -4	گروه فعالیت کانسنتریک	-۰/۰۳۷	-۴/۳۲۰	۴	۰/۰۱۲
	گروه فعالیت اکسنتریک	-۰/۰۵۳	-۳/۶۱۶	۴	۰/۰۲۲

از آزمون کوواریانس به منظور بررسی اثرات بین‌گروهی استفاده شد. نتایج جدول ۵ پیش‌فرض همگنی شیب خط رگرسیون را نشان می‌دهد.

مطابق با جدول مقدار F تعامل پیش‌آزمون PGC1 $\alpha$ -1 ۱/۱۱۷ است ( $P \geq ۰/۰۵$ ) که معنادار نیست و می‌توان نتیجه گرفت که پیش‌فرض همگنی شیب رگرسیون رعایت شده است.

مطابق با جدول مقدار F تعامل پیش‌آزمون PGC1 $\alpha$ -4 ۰/۶۶۷ است ( $P \geq ۰/۰۵$ ) که معنادار نیست و می‌توان نتیجه گرفت که پیش‌فرض همگنی شیب رگرسیون رعایت شده است.

جدول ۵. نتایج مربوط به تحلیل تعامل گروه و مقادیر پیش‌آزمون PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4

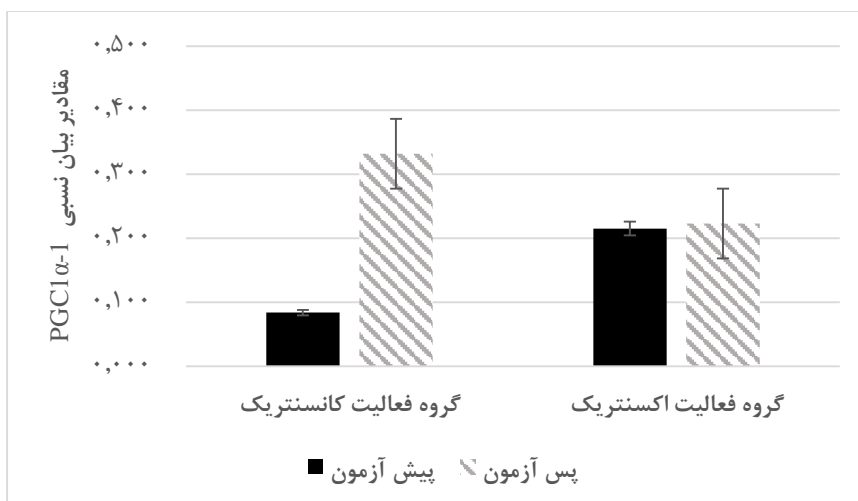
متغیر	منبع	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P (معناداری)
PGC1 $\alpha$ -1	مدل تصحیح‌شده	۳	۰/۰۴۱	۰/۵۵۳	۰/۶۶۵
	تعامل گروه * پیش‌آزمون	۱	۰/۸۲	۱/۱۱۷	۰/۳۳۱
	انحراف	۶	۰/۰۷۴		
	کل	۱۰			
PGC1 $\alpha$ -4	مدل تصحیح‌شده	۳	۰/۰۰۱	۲/۰۲۴	۰/۲۱۲
	تعامل گروه * پیش‌آزمون	۱	۰/۰۰۰	۰/۶۶۷	۰/۴۴۵
	انحراف	۶	۰/۰۰۱		
	کل	۱۰			

۱. با توجه به نتایج جدول ۶، مقدار F متغیر مداخله‌گر (پیش‌آزمون PGC1 $\alpha$ -1) برابر با ۰/۱۳۷ و میزان معناداری P= ۰/۷۲۲ است، بنابراین می‌توان گفت که متغیر به‌درستی انتخاب شده است. همچنین نتایج حاصل از جدول تحلیل کوواریانس نشان می‌دهد که بین گروه‌های مختلف در مقادیر پس‌آزمون PGC1 $\alpha$ -1 اختلاف معناداری وجود ندارد (P= ۰/۶۸۱ و F= ۰/۱۸۴).

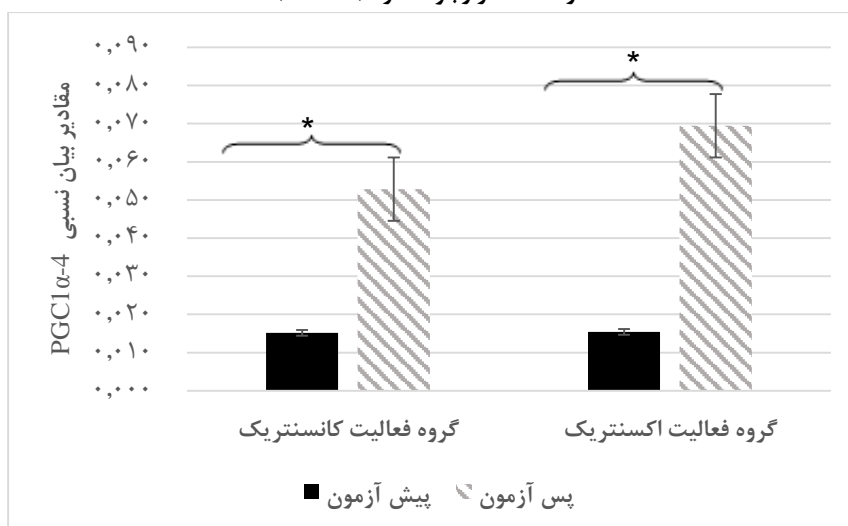
۲. با توجه به نتایج جدول ۶، مقدار F متغیر مداخله‌گر (پیش‌آزمون PGC1 $\alpha$ -4) برابر با ۴/۶۰۸ و میزان معناداری P= ۰/۰۶۹ است، بنابراین می‌توان گفت که متغیر به‌درستی انتخاب شده است. همچنین نتایج حاصل از جدول تحلیل کوواریانس نشان می‌دهد که بین گروه‌های مختلف در مقادیر پس‌آزمون PGC1 $\alpha$ -4 اختلاف معناداری وجود ندارد (P= ۰/۳۶۲ و F= ۰/۹۵۱).

جدول ۶. نتایج مربوط به تحلیل کوواریانس در مقادیر پس‌آزمون مقادیر PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4 جهت بررسی اثر گروه

متغیر	منبع	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P (معناداری)
PGC1 $\alpha$ -1	پیش‌آزمون PGC1 $\alpha$ -1	۱	۰/۰۱۰	۰/۱۳۷	۰/۷۲۲
	گروه	۱	۰/۰۱۴	۰/۱۸۴	۰/۶۸۱
	خطا	۷	۰/۰۷۵		
	کل	۱۰			
PGC1 $\alpha$ -4	پیش‌آزمون PGC1 $\alpha$ -4	۱	۰/۰۰۳	۴/۶۰۸	۰/۰۶۹
	گروه	۱	۰/۰۰۱	۰/۹۵۱	۰/۳۶۲
	خطا	۷	۰/۰۰۱		
	کل	۱۰			



شکل ۳. مقادیر بیان نسبی  $PGC1\alpha-1$  در پیش آزمون و پس آزمون دو گروه. مطابق با تحلیل آماری بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون  $PGC1\alpha-1$  گروه فعالیت کانستریک و گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود ندارد ( $P \geq 0.05$ )



شکل ۴. مقادیر بیان نسبی  $PGC1\alpha-4$  در پیش آزمون و پس آزمون دو گروه. مطابق با تحلیل آماری داده‌ها بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون  $PGC1\alpha-4$  گروه فعالیت کانستریک و گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود دارد ( $P \leq 0.05$ )

\* تفاوت معنادار پیش آزمون و پس آزمون ( $P \leq 0.05$ )

**بحث**

PGC-1 $\alpha$  یک کوآکتیور رونویسی است که با عوامل رونویسی زیادی که درگیر پاسخ‌های بیولوژیکی مختلفی هستند در تعامل است. این پاسخ‌ها شامل ترموژن سازشی بیوژن میتوکندریایی، متابولیسم گلوکز و اسیدهای چرب، تغییر نوع تار در عضله اسکلتی و رشد و نمو قلب است (۱۷). مسیرهای سیگنالینگ متفاوتی در عضله اسکلتی برای تنظیم PGC-1 $\alpha$  وجود دارد. در مطالعه‌ای، تمرینات استقامتی به مدت ۶ هفته روی تردمیل حاکی از افزایش PGC-1 $\alpha$  شده است (۱۸). از طرفی ایزوفرم‌های جدیدی از PGC1 $\alpha$  را تشخیص دادند که منتج از ژن تغییر یافته PGC1 $\alpha$  بود. به منظور تشخیص ایزوفرم‌های جدید از شکل ذاتی PGC1 $\alpha$ ، این ایزوفرم‌ها به‌عنوان PGC1 $\alpha$ -1، PGC1 $\alpha$ -2، PGC1 $\alpha$ -3 و PGC1 $\alpha$ -4 نامگذاری شدند (۴). به‌نظر می‌رسد در ایزوفرم‌های جدید PGC1 $\alpha$ ، ایزوفرمی که مرتبط با پلاستیسیته عضله اسکلتی به تمرینات قدرتی باشد، PGC1 $\alpha$ -1 است (۴). ایزوفرم‌های جدید PGC1 $\alpha$  را می‌توان به‌صورت یک پیوستار در نظر گرفت، جایی که در ابتدای این پیوستار PGC1 $\alpha$ -1 و در انتهای آن PGC1 $\alpha$ -4 قرار می‌گیرند. PGC1 $\alpha$ -1 درگیر در تغییرات اکسیداتیو و PGC1 $\alpha$ -4 درگیر در هایپرتروفی و قدرت عضلانی‌اند (۵).

در پژوهش حاضر بیان ایزوفرم‌های PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی در مردان سالم را در پاسخ به یک جلسه فعالیت بدنی اکسنتریک و کانسنتریک ارزیابی کردیم. نتایج پژوهش نشان داد که ایزوفرم‌های PGC1 $\alpha$ -1 و PGC1 $\alpha$ -4 بین انقباض‌های مختلف اختلاف معناداری را نشان نداد ( $P \geq 0/05$ ). با این حال، افزایش معناداری در بیان PGC1 $\alpha$ -4 در پیش‌آزمون و پس‌آزمون اکسنتریک و کانسنتریک مشاهده شد ( $P \leq 0/05$ ). مطالعات زیادی PGC-1 $\alpha$  را در پاسخ به فعالیت حاد بدنی بررسی کرده‌اند (۲۰، ۱۹). در همین زمینه رواس و همکاران (۲۰۱۲) به‌طور مشابهی ایزوفرم‌های PGC-1 $\alpha$  را بررسی کردند. نتایج مطالعه آنها حاکی از افزایش بیان PGC1 $\alpha$ -4 و کاهش مایوستاتین در گروه تمرین مقاومتی و گروه ترکیبی (مقاومتی+استقامتی) بود. در مقابل نتایج ما نشان داد که ایزوفرم‌های PGC1 $\alpha$  بین گروه اکسنتریک و کانسنتریک اختلاف معناداری را نشان نداد (۴). به‌نظر می‌رسد عامل عمده اختلاف نتایج حاکی از بررسی سازگاری در پژوهش رواس و همکاران (۲۰۱۲) در مقابل پاسخ در پژوهش حاضر باشد. علاوه بر این مطالعات زیادی پاسخ حاد PGC1 $\alpha$  را به تمرین مقاومتی بعد از ۲ ساعت (۲۱)، ۳ ساعت (۲۰) و ۶ ساعت (۲۱) ارزیابی کردند. به‌نظر می‌رسد عدم تغییرات معنادار در مطالعه حاضر در مقایسه با پژوهش‌های پیشین ممکن است ناشی از عواملی مانند وضعیت تمرینی، همچون ویژگی‌های آزمودنی‌ها یا نوع فعالیت باشد. از طرفی برخی پژوهش‌ها نشان دادند که پاسخ ایزوفرم‌های PGC1 $\alpha$  وابسته به شدت است (۲۲).

۲۱). در همین زمینه، پاق<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۵) افزایش‌های بیشتری در PGC1 $\alpha$ -4 را در پاسخ به تمرینات ترکیبی مقاومتی و HIIT در مقابل تمرین مقاومتی به‌تنهایی نشان دادند (۲۱). همچنین افزایش وابسته به شدت را در مطالعه‌ای که موش‌ها ۳۰ دقیقه را سریع‌تر دویدند نیز نشان داده شده است (۲۲). بنابراین عمده تغییرات در PGC1 $\alpha$ -1 در پاسخ به فعالیت اکسنتریک و کانسنتریک در مطالعه حاضر ناشی از شدت کم تمرینات نسبت به سن و آمادگی آزمودنی‌ها است.

PGC1 $\alpha$ -4 به‌طور ویژه بیان IGF-1 را افزایش می‌دهد و مایوستاتین را در عضله اسکلتی مهار می‌کند. از طرفی PGC1 $\alpha$ -4 هایپرتروفی را در محیط آزمایشگاه افزایش می‌دهد. در همین زمینه مشخص شده که فعالیت ورزشی با سرعت و به‌طور چشمگیری بیان PGC-1 $\alpha$  را افزایش می‌دهد، اما این اثر گذراست، زیرا هم mRNA و هم سطوح پروتئینی PGC-1 $\alpha$  به‌سرعت به مقادیر پیش از ورزش بازمی‌گردد. از جمله مکانیسم‌های احتمالی این است که فعالیت ورزشی آنزیم پروتئین کیناز فعال‌شده با AMP یا AMPK (تنظیم‌کننده اصلی متابولیسم سلولی) را فعال می‌کند. AMPK نیز به‌طور مستقیم PGC-1 $\alpha$  را فسفریله می‌کند و این عمل برای القای PGC-1 $\alpha$  از پیش‌ساز آن ضروری است (۲۳). در مجموع مطالعه حاضر اهمیت نقش یکی از تنظیم‌کننده‌های هایپرتروفی را در عضله اسکلتی در پاسخ به فعالیت اکسنتریک و کانسنتریک نشان داد. نشان داده شده است تمرینات مقاومتی مسیرهای سیگنالینگ عضله اسکلتی را در جهت سنتز پروتئین دستخوش تغییر می‌کند. در همین زمینه شناسایی هدف‌های مایوژنیک ممکن است استراتژی برای آنابولیسم عضله فراهم کند که به‌طور ویژه‌ای برای جلوگیری از کاهش عضلات اسکلتی در جمعیت‌هایی همچون سالمندان و بیماران مفید باشد.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی آقای پژمان بیک‌زاده است. از این‌رو از مساعدت و همکاری صمیمانه مسئولان دانشگاه تهران و بیمارستان بقیه‌الله و تمام افرادی که موجب تسهیل اجرای رساله شدند، تقدیر و تشکر می‌شود. در ضمن تمامی هزینه‌های رساله شخصی بوده و هیچ سازمانی حمایت مالی نکرده است.

## منابع و مأخذ

1. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*. 1998;92(6):829-39.
2. Puigserver P, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocrine reviews*. 2003;24(1):78-90.
3. Olesen J, Kiilerich K, Pilegaard H. PGC-1 $\alpha$ -mediated adaptations in skeletal muscle. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 2010;460(1):153-62.
4. Ruas JL, White JP, Rao RR, Kleiner S, Brannan KT, Harrison BC, et al. A PGC-1 $\alpha$  isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell*. 2012;151(6):1319-31.
5. Dieli-Conwright CM, Kiwata JL, Tuzon CT, Spektor TM, Sattler FR, Rice JC, et al. Acute Response of PGC-1 $\alpha$  and IGF-1 Isoforms to Maximal Eccentric Exercise in Skeletal Muscle of Postmenopausal Women. *Journal of strength and conditioning research*. 2016;30(4):1161-70.
6. Adams G, Haddad F. The relationships among IGF-1, DNA content, and protein accumulation during skeletal muscle hypertrophy. *Journal of applied physiology*. 1996;81(6):2509-16.
7. Ma K, Mallidis C, Bhasin S, Mahabadi V, Artaza J, Gonzalez-Cadavid N, et al. Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2003;285(2):E363-E71.
8. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 $\alpha$  protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(44):16260-5.
9. Phillips SM. Resistance exercise: good for more than just Grandma and Grandpa's muscles. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2007;32(6):1198-205.
10. Wang L, Mascher H, Psilander N, Blomstrand E, Sahlin K. Resistance exercise enhances the molecular signaling of mitochondrial biogenesis induced by endurance exercise in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 2011;111(5):1335-44.
11. Franchi MV, Reeves ND, Narici MV. Skeletal muscle remodeling in response to eccentric vs. concentric loading: morphological, molecular, and metabolic adaptations. *Frontiers in physiology*. 2017;8:447.
12. Koskinen SO, Lehti M. Molecular and Cellular Markers in Skeletal Muscle Damage after Acute Voluntary Exercise Containing Eccentric Muscle Contractions. *Muscle Cell and Tissue: Current Status of Research Field*. 2018:19.
13. Hortobagyi T, Barrier J, Beard D, Braspeninx J, Koens P, Devita P, et al. Greater initial adaptations to submaximal muscle lengthening than maximal shortening. *Journal of applied physiology*. 1996;81(4):1677-82.

14. Kay D, St Clair Gibson A, Mitchell MJ, Lambert MI, Noakes TD. Different neuromuscular recruitment patterns during eccentric, concentric and isometric contractions. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology*. 2000;10(6):425-31.
15. Millay DP, Olson EN. Making muscle or mitochondria by selective splicing of PGC-1 $\alpha$ . *Cell metabolism*. 2013;17(1):3-4.
16. Ruas JL, White JP, Rao RR, Kleiner S, Brannan KT, Harrison BC, et al. A PGC-1 $\alpha$  isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell*. 2012;151(6):1319-31.
17. Cannon B, Houstek J, Nedergaard J. Brown Adipose Tissue: More Than an Effector of Thermogenesis? a. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1998;856(1):171-87.
18. Lira VA, Benton CR, Yan Z, Bonen A. PGC-1 $\alpha$  regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2010;299(2):E145-E61.
19. Ogborn DI, McKay BR, Crane JD, Safdar A, Akhtar M, Parise G, et al. Effects of age and unaccustomed resistance exercise on mitochondrial transcript and protein abundance in skeletal muscle of men. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2015;308(8):R734-41.
20. Wang L, Mascher H, Psilander N, Blomstrand E, Sahlin K. Resistance exercise enhances the molecular signaling of mitochondrial biogenesis induced by endurance exercise in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 2011;111(5):1335-44.
21. Pugh JK, Faulkner SH, Jackson AP, King JA, Nimmo MA. Acute molecular responses to concurrent resistance and high-intensity interval exercise in untrained skeletal muscle. *Physiological reports*. 2015;3(4).
22. Tadaishi M, Miura S, Kai Y, Kawasaki E, Koshinaka K, Kawanaka K, et al. Effect of exercise intensity and AICAR on isoform-specific expressions of murine skeletal muscle PGC-1 $\alpha$  mRNA: a role of beta(2)-adrenergic receptor activation. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2011;300(2):E341-9.
23. Jäger S, Handschin C, Pierre JS-, Spiegelman BM. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 $\alpha$ . *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(29):12017-22.
24. Schwarz NA, McKinley-Barnard SK, Spillane MB, Andre TL, Gann JJ, Willoughby DS. Effect of resistance exercise intensity on the expression of PGC-1 $\alpha$  isoforms and the anabolic and catabolic signaling mediators, IGF-1 and myostatin, in human skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016 Aug;41(8):856-63.



## **An Investigation of the Expression of PGC-1 $\alpha$ Isoforms in Response to Eccentric and Concentric Resistance Training in Healthy Subjects**

**Pezhman Taghi Beikzadeh Badr<sup>1</sup> - Fatemeh Shabkhiz\*<sup>2</sup> - Shahnaz Shahrbanian<sup>3</sup>**

**1. PhD of Exercise Physiology, neuromuscular Branch, University of Tehran, Tehran, Iran 2. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 3. Assistant professor, Department of Sport Science, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, IRAN**

**(Received: 2019/08/28; Accepted: 2019/09/25)**

### **Abstract**

The aim of the present study was to investigate the expression of PGC-1 alpha isoforms in response to eccentric and concentric resistance training in healthy subjects. 10 healthy men were randomly divided into two groups (5 subjects in the eccentric group and 5 subjects in the concentric group). Isokinetic contraction protocols included eccentric and concentric knee extension with maximum power and angular velocity of 60 degrees per second. The torques assigned to each subject was assumed to be equal to match the workload in both protocols with a rotational speed of 60 degrees per second. At the beginning and end of the study, biopsy of the lateral broad muscle tissue was performed. Real Time PCR was used to evaluate PGC1 $\alpha$ -1 and PGC1 $\alpha$ -4 gene expressions. Data were analyzed using dependent t test and covariance test at the significance level of 0.05. The results showed that within-group changes of PGC1 $\alpha$ -1 were not significant in eccentric ( $P=0.168$ ) and concentric ( $P=0.959$ ) groups. Also, within-group changes of PGC1 $\alpha$ -4 after one session of activity were significant in eccentric group ( $P=0.012$ ) and concentric group ( $P=0.022$ ). Also, intergroup changes showed no difference between the two groups in both variables ( $P\geq 0.05$ ). It seems that the lack of significant changes in the desired variables was due to the lack of sufficient training pressure to stimulate the increase of PGC1 $\alpha$ -1 and PGC1 $\alpha$ -4. With regard to reviewing the response, it seems that the compatibility debate has different results that need to be addressed.

### **Keywords**

Concentric contraction, eccentric contraction, PGC1 $\alpha$ -1, PGC1 $\alpha$ -4.

---

\* Corresponding author: Email: shabkhiz@ut.ac.ir ; Tel: +989122125428