

تأثیر چهار شیوه تمرینی بر بیان ژن‌های کوپپتین و پروآدرنومدولین میانی در بطن چپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

محمد رضا اسد^۱، فائزه فرید مهنا^۲، علی برزگری^{۳*}

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۰۱/۳۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: با توجه به اهمیت پیشگیری از عوامل بروز بیماری‌های قلبی و نیز فقدان اطلاعات کافی در خصوص تأثیر تمرین‌های ورزشی بر بیان کوپپتین و پروآدرنومدولین میانی، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر چهار شیوه تمرینی بر بیان کوپپتین و پروآدرنومدولین میانی در بطن چپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 237 ± 33 گرم به‌طور تصادفی به ۵ گروه شامل گروه‌های کنترل، تمرین هوازی شدت متوسط، تمرین هوازی پرشدت، تمرین هوازی تناوبی پرشدت و تمرین شنا با شدت متوسط تقسیم شدند. برنامه‌های تمرینی در گروه‌های تجربی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. بیان ژن‌های مورد مطالعه در بافت قلب با روش PCR تعیین شد. جهت تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و بونفرونی در سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ استفاده گردید.

یافته‌ها: بیان کوپپتین و پروآدرنومدولین میانی در هر یک از گروه‌های ورزشی در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P=0/001$). همچنین افزایش معنی‌داری در بیان کوپپتین و پروآدرنومدولین میانی در گروه‌های HIIT و HIT نسبت به گروه‌های ST و MIT مشاهده شده است ($P=0/001$ ، $P=0/001$).

نتیجه‌گیری: هر چهار شیوه تمرینی توانست با بهبود بیان ژن‌های مورد مطالعه، تغییرات مطلوبی در کاهش پیامدهای ناشی از آسیب بافت قلبی ایجاد نماید. با این حال، به نظر می‌رسد که تمرینات شنا با توجه به ویژگی عدم تحمل وزن تأثیرات مطلوب‌تری داشته باشد، هرچند در این زمینه به تحقیقات بیشتری نیاز است.

واژگان کلیدی: کوپپتین، پروآدرنومدولین میانی، تمرین ورزشی و بطن قلب

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره سوم، ص ۲۱۹-۲۲۹، خرداد ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران تلفن: ۰۹۱۱۱۱۳۰۰۲۹

Email: ali_barzegari@pnu.ac.ir

مقدمه

می‌شود (۲). همان‌طور که استرس اکسیداتیو در آسیب عضلات اسکلتی ناشی از ورزش درمانده ساز مشاهده می‌شود، به‌وضوح در پاتوفیزیولوژی ریمادلینگ (تغییر شکل عضله قلبی)^۲ و نارسایی قلبی نیز وجود دارد (۳). ثابت شده است که انجام تمرینات ممکن است سبب تغییرات پاتوفیزیولوژیک در غلظت ادرار و سرم انواع پارامترهای آزمایشگاهی شود و ارزیابی آن‌ها می‌تواند کنترل آسیب در سطح بافت قلبی را امکان‌پذیر سازد، به‌طوری‌که استفاده از

بسیاری از فعالیت‌های بدنی از جمله دوهای ماراتن با آسیب بیومارکرهای عضلات قلبی مانند تروپونین‌های قلبی، همچنین با نتایج رادیولوژیک که نشان‌دهنده آسیب عضلات قلبی و فیبروز می‌باشد مرتبط است (۱). ورزش فزاینده یا حاد سبب افزایش نسبی گونه‌های اکسیژن واکنشی^۱ و به همین ترتیب استرس اکسیداتیو در عضله و سایر اندام‌ها می‌شود که در نهایت سبب آسیب سلولی

^۱ دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^۲ مربی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^۳ استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

¹ Reactive oxygen species

² Remodeling cardiac

افزایش کارایی برنامه‌های تمرینی در یک بازه زمانی محدود هستند. اما اینکه چه نوع فعالیت بدنی و از طریق چه مکانیسم‌های سلولی و مولکولی می‌تواند بهترین اثربخشی را داشته باشد هنوز به‌طور کامل و دقیق شناخته نشده است. مطالعات نشان داده است که تمرین هوازی می‌تواند با ایجاد مکانیسم حفاظتی، منجر به کاهش بیان سایتوکین‌های التهابی، سطح استرس اکسیداتیو، التهاب سیستمیک و در نتیجه بهبود پاسخ‌های ایمنی گردد (۱۷). توانایی برنامه‌های HIT^6 ، MIT^7 و $HIIT^8$ در بهبود سریع ظرفیت ورزشی و متابولیسم انرژی به‌وسیله محققان مختلف بررسی شده است (۱۸). باین‌حال گزارش شده است که از میان انواع تمرین‌های هوازی، تمرینات تناوبی شدید سبب بهبود سریع و هم‌زمان عوامل التهابی در مقایسه با تمرینات تداومی با شدت متوسط شده است (۱۹). استیسی^۹ و همکاران (۲۰۱۸) به دنبال یک دوره فعالیت بدنی در محیط گرم و دهیدراتاسیون، عدم تفاوت معنی‌دار کوپتین را نشان دادند (۲۰). هرچند لیبی^{۱۰} و همکاران (۲۰۱۵)، افزایش قابل‌ملاحظه‌ای را در سطوح کوپتین پس از ورزش‌های استقامتی گزارش نمودند (۱۶). همچنین بیلبو^{۱۱} و همکاران (۲۰۱۷) کاهش معنی‌دار MR-proANP را در افراد پس از انجام فعالیت بدنی گزارش نمودند (۲۱). در حالی که تربیل^{۱۲} و همکاران (۲۰۱۷) تفاوت معنی‌داری در مقادیر MR-proANP را در افراد مبتلا به نارسایی قلبی مشاهده نمودند (۲۲). اگرچه مکانیسم‌های احتمالی پیشنهاد شده است اما نتایج مطالعات در مورد ارتباط بین انواع شیوه‌های تمرینی و بیان ژن‌های کوپتین و پروآدرنومدولین متناقض است. بنابراین با توجه به اهمیت پیشگیری از عوامل بروز بیماری‌های قلبی و نیز فقدان اطلاعات لازم و مکفی در خصوص تأثیر تمرین‌های ورزشی بر بیان ژن‌های کوپتین و پروآدرنومدولین، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر چهار شیوه تمرینی بر بیان ژن‌های کوپتین و پروآدرنومدولین در بطن چپ موش‌های نر نژاد ویستار می‌باشد.

مواد و روش کار

حیوانات:

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود، بدین منظور ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 237 ± 23 گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. معیار ورود به مطالعه حاضر شامل: نر بودن موش‌ها، قرار گرفتن در محدوده وزنی موردنظر، سلامت

بیومارکرهای سنتی آسیب بافتی توسط متخصصین بالینی و فیزیولوژیست‌های ورزشی افزایش یافته است (۴).

کوپتین^۳، بخش C ترمینال پروآزوپرسین می‌باشد و یک گلیکوپپتید با ۳۹ اسیدآمینه است که در طی شکسته شدن آزوپرسین آرژنین یا هورمون ضد ادراری تولید می‌شود (۵). این موضوع اهمیت دارد که کوپتین با سطح استرس فردی و تروپونین-های قلبی ارتباط داشته و در بیماران مبتلا به درد قفسه سینه ممکن است تشخیص زود هنگام سندرم حاد کرونر را بهبود بخشد (۶). علاوه بر این، کوپتین اطلاعات پیش‌آگهی قابل‌اطمینانی را در بیماران پس از انفارکتوس حاد قلب یا نارسایی مزمن قلب فراهم می‌کند (۷). همچنین افزایش سطوح این نشانگر زیستی ممکن است خطر ابتلا به دیابت را به‌طور مستقل از عوامل خطرزای سنتی پیش‌بینی نماید (۹). ارزش پیش‌آگهی کوپتین در سایر بیماری‌های شدید از جمله پنومونی، عفونت‌های دستگاه تنفسی پایین و سکتة مغزی به‌خوبی شناخته شده است (۸).

آدرنومدولین (ADM^4) یک پپتید وازواکتیو با ۵۲ اسیدآمینه است که نقش مهمی در اختلال خون‌رسانی و عملکرد اندوتلیال دارد. پری پروآدرنومدولین ($preproADM^5$) توسط انسولین، هایپوکسی و چندین محرک التهابی رونویسی شده و پس از تجزیه پپتید فعال آن به‌صورت پروآدرنومدولین N ترمینال پپتید ۲۰ (PAMP)، آدرنومدولین پپتید کناری و پایانه COOH فعال می‌شود (۱۰). بخش میانی پرو آدرنومدولین (MR-proADM) در گردش خون با ثبات‌تر از ADM است و از این‌رو برای استفاده در کار بالینی مناسب‌تر است (۱۱). شواهد اخیر نشان داده است که MR-proADM به‌عنوان یک پیش‌بینی کننده مستقل در بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر (۱۲)، بیماری‌های قلبی عروقی (۱۳)، نارسایی قلبی حاد (۱۴) و سکتة قلبی (۱۵) است. اگرچه هر دو $MR-proADM$ و $copeptin$ به‌عنوان نشانگرهای احتمالی قلبی-عروقی محسوب می‌شوند، باین‌حال در مورد تأثیر فعالیت‌های بدنی بر غلظت آن‌ها به‌درستی شناسایی نشده است (۱۶).

هدف پژوهش‌های آینده تسریع در شناسایی نشانگرهای زیستی جدید است که نظارت بهتر بر عملکرد ورزشی، تشخیص آسیب‌های ورزشی، پیش‌بینی بیش تمرینی و حتی شناسایی مناسب‌ترین دوره جهت بازگشت به فعالیت پس از آسیب را امکان‌پذیر می‌سازد. در این راستا، متخصصین علم ورزش در تلاش برای یافتن راه‌هایی برای

^۸ High-Intensity Interval Training

^۹ Stacey

^{۱۰} Lippi

^{۱۱} Billebeau

^{۱۲} Trippel

^۳ Copeptin

^۴ Adrenomedullin

^۵ Preproadrenomedullin

^۶ High-Intensity Training

^۷ Moderate-Intensity Training

کامل موش‌ها و عدم استفاده از هرگونه دارو بود. معیار خروج از مطالعه نیز شامل: عدم اجرای پروتکل تمرینی، مؤنث بودن، عدم تناسب وزنی موش با مطالعه، بیماری و آسیب حین اجرای تمرین بود. این حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه جانوری، به صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی در ۵ گروه کنترل (۸ سر)، تمرین هوازی با شدت متوسط (MIT) (۸ سر)، تمرین هوازی پرشدت (HIIT) (۸ سر)، تمرین هوازی تناوبی پرشدت (HIIT) و تمرین شنا با شدت متوسط (ST^{12}) (۸ سر) تقسیم شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد. حیوانات از غذای پلت و آب که به صورت آزاد در اختیار قرار می‌گرفت، تیمار شدند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن کشتی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داشت.

پروتکل تمرین:

به منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوار گردان، موش‌ها همه گروه‌های تمرینی به مدت ۲ هفته، ۵ روز در هر هفته و در هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان دویدند. حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان مطابق با پروتکل هلگروود و همکاران ارزیابی شد (۲۳). به طوری که ابتدا ۱۰

دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد VO_{2max} انجام شد. سپس رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۲ متر بر دقیقه تا سر حد واماندگی سرعت افزایش یافت. پروتکل تمرین MIT شامل ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۳۷ دقیقه بدنه اصلی تمرین با ۶۵ درصد VO_{2max} در زمان کل ۴۷ دقیقه بود (۲۴). پروتکل تمرین HIT شامل ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۳۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین دویدن با ۶۵ درصد VO_{2max} با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۴۰ دقیقه و با شیب فزاینده نوارگردان بود. شیب تردمیل در هفته اول صفر بوده و هر ۲ هفته ۲ درصد بر شیب افزوده شد تا در هفته هشتم به ۸ درصد رسید (۲۵). پروتکل تمرین HIIT در هفته اول تا چهارم شامل ۳ وهله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_{2max} در زمان ۴ دقیقه و ۳ وهله دویدن تناوبی کم شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} در زمان ۳ دقیقه بود و در مجموع ۳۱ دقیقه بطول انجامید که شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۲۱ دقیقه بدنه اصلی تمرین بود. تعداد تکرار در هفته پنجم تا هشتم افزایش یافته و در مجموع ۳۸ دقیقه بطول انجامید که شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۲۸ دقیقه بدنه اصلی تمرین بود (۲۶). پروتکل تمرین ST شامل شنا کردن (شنای آزاد و ماندن روی آب) به مدت زمان ۳۰ دقیقه بود. در ابتدا رت‌ها به مدت ۵ دقیقه بر روی نوارگردان گرم کردند و پس از شنا سرد کردن بصورت غیرفعال به مدت ۵ دقیقه در پوشال خشک انجام شد (۲۵) (جدول ۱).

جدول (۱): پروتکل برنامه تمرین ۸ هفته‌ای برای گروه‌های مختلف تحقیق

هفته	گروه ST	گروه HIIT	گروه HIT	گروه MIT
	مدت شنای آزاد (دقیقه)	تکرار	سرعت (متر/دقیقه)	سرعت (متر/دقیقه)
۱	۲۰	۳	۲۰	۲۰
۲	۲۲	۳	۲۰	۲۰
۳	۲۵	۳	۲۰	۲۰
۴	۲۵	۳	۲۰	۲۰
۵	۲۵	۴	۲۰	۲۰
۶	۳۰	۴	۲۰	۲۰
۷	۳۰	۴	۲۰	۲۰
۸	۳۰	۴	۲۰	۲۰

جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام گرفت. بدین منظور ابتدا حیوانات

آزمایشات تجربی:

به مدت ۱۰ دقیقه؛ مرحله دوم به صورت متناوب در طول ۴۰ چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد. در مرحله سوم به منظور رسم منحنی تفکیک یک چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه اعمال شد. در این مرحله کاهش دما از ۹۵ درجه سانتی‌گراد به ۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۰/۰۳ درجه سانتی‌گراد بر ثانیه انجام شد و حدوداً ۲۰ دقیقه طول کشید. پس از اتمام مرحله سوم، منحنی‌های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم افزار SDS ABI تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت ΔCt برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر مورد $\Delta\Delta Ct$ -۲ به دست آمد. علاوه بر این، در این آزمایش تجزیه و تحلیل منحنی ذوب جهت اطمینان از ویژگی محصول PCR انجام شد. در ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن‌های کوپپتین و پروآدرنومدولین از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها با استفاده از نرم افزار AlleleID و توسط شرکت CinnaGen ساخته شده و پس از آن هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST مورد ارزیابی قرار گرفت تا از قرارگیری جفتی پرایمرها اطمینان حاصل شود. در این تحقیق، ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه در نظر گرفته شد، به طوری که دمای هر چرخه برای ۱۵ ثانیه تا ۹۴ درجه سانتی‌گراد و برای ۳۰ ثانیه تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پرایمرهای مربوط به رت‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و بعد از عمل جراحی قفسه سینه، بافت قلب جدا شده و در میکروتیوب‌های مخصوص در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس برای نگه‌داری به فریزر دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. کیت سنتز cDNA توسط Thermo Scientific که با شماره کاتالوگ K1622 تولید شده است در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. استخراج RNA و سنتز cDNA با توجه به پروتکل‌های استاندارد شرکت سازنده انجام شد. پس از جداسازی و هموزن نمودن حدود ۵۰ میلی گرم از بطن چپ قلب رت‌ها، به کمک (QIAGEN, Germany) QIAzol Lysis Reagent لیز شدند و طبق دستورالعمل شرکت سازنده RNA کل سلول‌ها استخراج شد.

تعیین بیان ژن‌های کوپپتین و پروآدرنومدولین به روش real-time PCR:

واکنش Real-Time PCR در دستگاه ای.بی. آی ۱ ساخت کشور آمریکا انجام شد. درون هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای، مخلوطی به حجم ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط اصلی سایبرگرین مسترمیکس ۲، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن، ۴ میکرولیتر از DNA ژنومی و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه شد. برنامه زمانی و دمایی واکنش انجام شده در دستگاه real-time PCR مدل ABI در سه مرحله عبارت بود از: مرحله اول در یک چرخه به منظور فعال‌سازی آنزیم Taq پلیمرراز شروع داغ (polymerase Taq start Hot) و دناتوره (Denaturation) اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد

جدول (۲): توالی پرایمرها و اندازه محصولات ژن‌های هدف با حجم نهایی ۱۰ μl

Genes	Sequence (5'→3')	رونویسی
کوپپتین	ATGCTGAGGAAGAAGATGTGGA3'	5'Copeptin (F)
	ATGAAACTGCGTGGATGGGA3'	5'Copeptin (R)
پروآدرنومدولین میانی	AGAAGAGGAAGGCAAGGATAGG3'	5'proADM (F)
	GAAGAGGGAGAAGATGAAGAGGA3'	5'proADM (R)

تجزیه و تحلیل آماری:

داده‌ها از آزمون پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معناداری $P \leq 0.05$ برای بررسی تغییرات بیان ژن‌های کوپپتین و پروآدرنومدولین استفاده شد. برای انجام کلیه امور آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد و برای رسم نمودار از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ استفاده گردید.

ملاحظات اخلاقی:

بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. سپس با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع

² SYBR green master mix

¹ Applied Biosystems (ABI)

این پژوهش در کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی وزارت علوم تحقیقات فن آوری تأیید شده است (کد اخلاق IR.SSRI.REC.1398.577).

جدول ۳ میانگین و انحراف معیار وزن موش‌های صحرای گروه‌های مختلف تحقیق را نشان می‌دهد. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری در وزن موش‌های گروه‌های مختلف تحقیق وجود ندارد ($p = 0/09$).

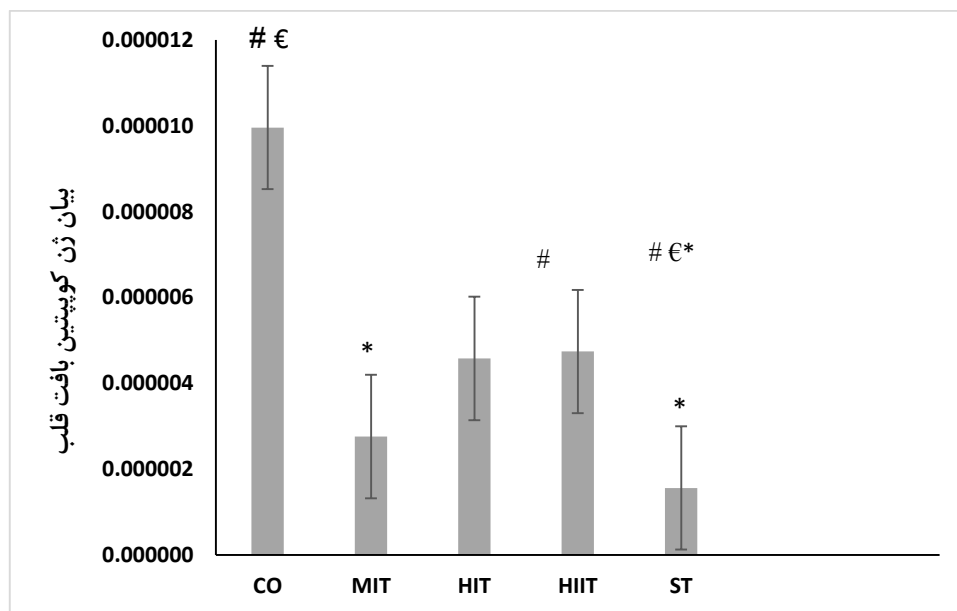
یافته‌ها

جدول (۳): میانگین و انحراف معیار وزن در گروه‌های مختلف تحقیق

گروه‌ها	CO	MIT	HIT	HIIT	ST
میانگین وزنی (گرم)	۳۱۲/۸±۲۵/۸	۳۱۳/۷±۲۸/۶	۳۱۰/۳±۳۱/۴	۲۹۵/۶±۲۷/۲	۳۱۷/۲±۲۰/۳

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بیان ژن‌های کوپیتین و پروآدرنومدولین میانی در بافت بطن چپ قلب رت‌های گروه‌های تحقیق، تفاوت آماری معناداری وجود دارد ($P < 0/001$). یافته‌های آزمون تعقیبی بونفرونی نیز نشان داد که کاهش معنی‌داری در بیان ژن کوپیتین در نتیجه تمرینات ورزشی در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد ($P = 0/001$)، به طوری که در گروه‌های HIIT و HIT نسبت به گروه ST افزایش معنی‌دار بیان

کوپیتین وجود داشته ($P = 0/001$) و همچنین اختلاف معنی‌داری در بیان کوپیتین بین گروه‌های HIIT و HIT نسبت به گروه MIT مشاهده شده است ($P = 0/001$). با این وجود اختلاف معنی‌داری میان گروه‌های تمرینی ST و MIT وجود نداشت ($P = 0/173$). ضمن این که یافته‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه HIT و HIIT وجود ندارد ($P = 0/124$).



نمودار (۱): بیان کوپیتین در بافت قلب موش‌های صحرایی

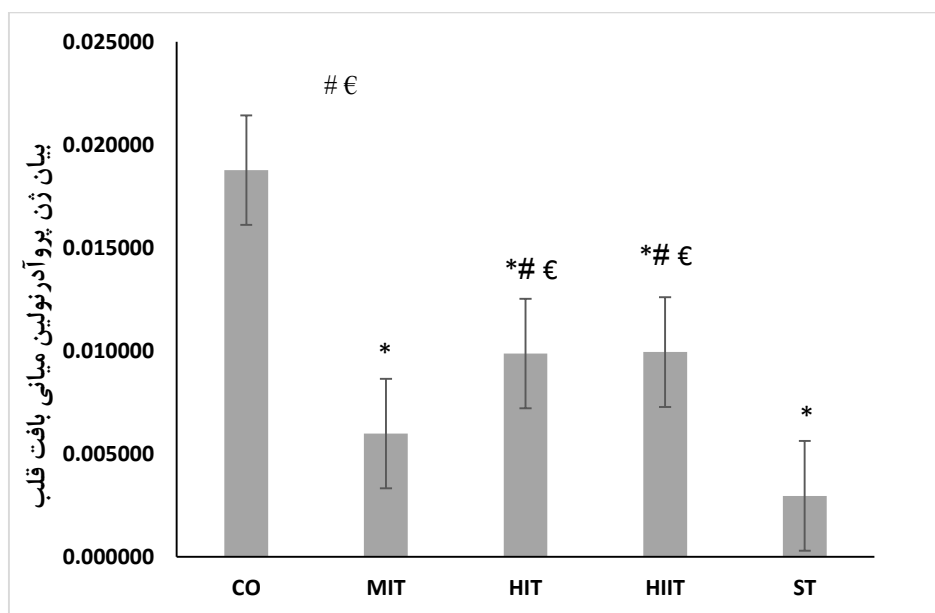
گروه ST (۸ سر)، HIIT (۸ سر)، HIT (۸ سر)، MIT (۸ سر) و CO (۸ سر) تحلیل واریانس یک طرفه و بونفرونی، * نشان دهنده تغییر معنادار نسبت به کنترل؛ # نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به گروه MIT؛ € نشان دهنده تغییر معنادار نسبت به ST

HIIT و HIT نسبت به گروه ST مشاهده شده است ($P = 0/001$). همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های HIIT و HIT نسبت

از سویی دیگر نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که افزایش معنی‌داری در بیان پروآدرنومدولین میانی در گروه‌های

به گروه MIT مشاهده شد ($P=0/001$). در حالی که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تمرینی ST و MIT وجود نداشت

ضمن این که یافته‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان دو گروه HIT و HIIT وجود ندارد ($P=0/211$) (نمودار ۲).



نمودار (۲): بیان پروآدرنومدولین میانی در بافت قلب موش‌های صحرایی گروه ST (۸ سر)، HIIT (۸ سر)، HIT (۸ سر)، MIT (۸ سر) و CO (۸ سر) تحلیل واریانس یک طرفه و بونفرونی، * نشان دهنده تغییر معنادار نسبت به کنترل؛ # نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به گروه MIT؛ € نشان دهنده تغییر معنادار نسبت به ST

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته برنامه‌های تمرینی سبب کاهش معنادار بیان ژن کوپیتین در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل گردید. هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر کروگ^۱ و همکاران (۲۰۱۳) پس از یک دوره سه ماه تمرین هوازی که هر هفته شامل ۳ جلسه با ۸۰ درصد حداکثر ضربان قلب بود، کاهش سطوح کوپیتین را بعد از تمرین گزارش نمودند (۲۷). مایر^۲ و همکاران (۲۰۱۵) به دنبال یک دوره ۴ هفته‌ای تمرین قایقرانی با شدت زیاد، کاهش معنی‌دار سطوح کوپیتین را در قایقرانان مرد و زن تیم ملی جوانان آلمان نسبت به زمان پیش از تمرین گزارش نمودند (۲۸). مکانیسم احتمالی کاهش سطوح کوپیتین به‌طور قابل توجهی مربوط به تنظیم اسمزی AVP^۳ در دوره‌های تمرینی است، در حالی که آزاد سازی

AVP به شکل غیرمستقیم با تمرین مداوم کاهش می‌یابد. زمانی که افراد تمرین کرده با تمرین کرده مقایسه شدند، نتایج مشابهی در سطوح AVP به دست آمد، به‌طوری‌که افراد تمرین کرده رابطه اندکی از AVP نسبت به یک فعالیت بدنی ویژه نشان دادند (۲۹). نتایج برخی از مطالعات با نتایج تحقیق حاضر در تناقض است، به‌طوری‌که دوتاروی^۴ و همکاران (۲۰۱۵) پس از ۵ جلسه تمرین هوازی با شدت ۷۰ درصد VO2max و به مدت هشت هفته، تفاوت معنی‌داری در سطوح کوپیتین افراد مبتلا به بیماری عروق کرونری مشاهده نکردند (۳۰). تریپل و همکاران (۲۰۱۷) نیز اظهار داشتند که تفاوت معنی‌داری در سطوح کوپیتین یا CT-proAVP به دنبال یک دوره فعالیت بدنی در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی وجود ندارد (۲۲). از سوی دیگر مائدر^۵ و همکاران (۲۰۱۰) افزایش معنی‌دار سطوح کوپیتین را متعاقب فعالیت بدنی با شدت زیاد

⁴ DuttaRoy

⁵ Maeder

¹ Krogh

² Mayer

³ Arginine Vasopressin

گزارش کردند (۳۱). مکانیسمی که سبب افزایش سریع کوپیتین در طول فعالیت ورزشی شدید می‌شود ممکن است ناشی از انتشار اسمزی و غیر اسمزی AVP و انتشار AVP به هنگام پاسخ به استرس باشد. احتمالاً با توجه به وضعیت بیماری قلبی، داروهای قلبی زیادی به‌طور مستقل قادر به پیش‌بینی تغییرات زیاد در سطوح کوپیتین هستند. علاوه بر این مقادیر ظرفیت ورزشی تام (سرعت فعالیت) و شدت بالاتر تمرین (تعداد ضربان قلب و لاکتات) با درصد تغییر زیاد سطوح کوپیتین مرتبط است (۳۲)، همان‌طور که پروتکل‌های تمرینی تحقیق حاضر نیز منجر به کاهش بیان کوپیتین در بافت قلب موش‌های صحرایی پس از هشت هفته گردید. هوبوتلر^۶ و همکاران (۲۰۱۱) نیز افزایش معنی‌دار سطوح کوپیتین در پایان دویدن طولانی مدت را ناشی از تحریک وازوپرسین غیر اسمزی در طول فعالیت بدنی گزارش نمودند (۳۳). مکانیسم احتمالی دیگر مربوط به میزان شدت فعالیت است که با افزایش سطوح AVP در طول فعالیت و تغییرات در اسمولالیت پلاسما مرتبط است. در پاسخ به افزایش شدت فعالیت بدنی، متعاقب تجمع متابولیت‌ها در بافت عضلانی، حرکت مایع هیپوتونیک از فضای داخل عروقی تا فضای خارج عروقی رخ می‌دهد (۳۲). به نظر می‌رسد علت تناقض در مقادیر کوپیتین می‌تواند ناشی از زمان اندازه‌گیری سطوح کوپیتین، نوع نمونه‌های تحقیق و پروتکل‌های تمرینی مورد استفاده باشد، به‌طوری‌که در تحقیقات گذشته عمدتاً زمان اندازه‌گیری سطوح کوپیتین در حین تمرین یا بلافاصله پس از پایان تمرین بوده (۳۱)، (۳۲)، درحالی‌که اندازه‌گیری در تحقیق حاضر ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین بوده است. همچنین نمونه‌های تحقیق حاضر رت‌های سالم بودند درحالی‌که در تحقیقات ذکر شده، نمونه‌ها مبتلا به بیماری‌های قلبی بودند (۲۲، ۳۰).

از نتایج مهم دیگر تحقیق حاضر، کاهش معنادار بیان ژن پروآدرنومدولین میانی در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل بود. همسو با نتایج تحقیق حاضر، بیلبو و همکاران (۲۰۱۷) کاهش معنی‌دار سطوح پروآدرنومدولین میانی را متعاقب یک دوره ۴ تا ۶ ماهه تمرینات توان بخشی قلبی گزارش نمودند، به‌طوری‌که این تمرینات شامل دو جلسه در هفته تمرین استقامتی روی تردمیل یا دوچرخه توسط بیماران مبتلا به نارسایی قلبی بود (۲۱). مکانیسم کاهش پروآدرنومدولین میانی پس از یک دوره تمرین ورزشی، ناشی از همبستگی بالای پروآدرنومدولین میانی با حجم اکسیژن مصرفی بیشینه است. انجام تمرینات ورزشی با تعدیل پاسخ‌های هورمونی عصبی سبب کاهش ST2 (Soluble) و Gal-3

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که پروتکل‌های تمرینی تحقیق حاضر به‌طور موثری توانسته است سبب کاهش بیان ژن‌های کوپیتین و پروآدرنومدولین میانی شود. لذا تمرینات ورزشی می‌تواند از طریق کنترل فعالیت ژن‌های مورد مطالعه در کاهش پیامدهای ناشی از آسیب‌های قلبی کمک شایانی نماید. اگرچه نوع، شدت و مدت تمرینات هوازی می‌تواند در میزان پاسخ‌دهی مؤثر باشد ولی به نظر می‌رسد که احتمالاً تمرینات شنای تداومی با شدت

⁶ Hew-Butler

⁷ Sanchis-Gomar

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام نور حاصل شده است و بدین وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه که ما را در اجرای این طرح یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.
تعارض در منافع: وجود ندارد.

متوسط با توجه به ویژگی خاص خود که عدم تحمل وزن است می‌تواند مداخله مؤثرتری برای تعدیل این شاخص‌ها باشد. اما با توجه به عدم مطالعه کافی در این زمینه، برای نتیجه قطعی به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

سپاسگزاری

References:

1. Yared K, Wood MJ. Is marathon running hazardous to your cardiovascular health? The jury is still out. *Radiology* 2009; 251: 3-5.
2. Gomez Cabrera MC, Domenech E, Romagnoli M, Arduini A, Borrás C, Pallardo FV, et al. Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *J Clin Nutr* 2008; 87(1): 142-9.
3. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301(6): 2181-90.
4. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska A. Metabolic markers in sports medicine. *Adv Clin Chem* 2012; 56: 1-45.
5. Christ-Crain M. Vasopressin and Copeptin in health and disease. *Rev Endocr Metab Disord* 2019; 20(3): 283-94.
6. Lippi G, Aloe R, Dipalo M, Cervellin G. Combination of copeptin and highly sensitive troponin I for diagnosing acute myocardial infarction at emergency department admission. *Clin Lab* 2012; 58: 357-8.
7. Bosch A, Ott C, Schmid A, Kannenkeril D, Karg M, Ditting T, et al. Copeptin As A Research Marker In Cardiovascular Disease. *J Hypertens* 2018; 36: e35.
8. Kehl DW, Iqbal N, Fard A, Kipper BA, Landa ADLP, Maisel AS. Biomarkers in acute myocardial injury. *Transl Res* 2012; 159(4): 252-64.
9. Refardt J, Winzeler B, Christ-Crain M. Copeptin and its role in the diagnosis of diabetes insipidus and the syndrome of inappropriate antidiuresis. *Clin Endocrinol* 2019; 91(1): 22-32.
10. Tsuruda T, Kato J, Kuwasako K, Kitamura K. Adrenomedullin: Continuing to explore cardioprotection. *Peptides* 2019; 111: 47-54.
11. Garazzino S, Altieri E, Denina M. The Role of Pro-Adrenomedullin as a Marker of Severe Bacterial Infection in Children: A Review. *Reports* 2019; 2(3): 17.
12. Wild PS, Schnabel RB, Lubos E, Zeller T, Sinning CR, Keller T, et al. Midregional Proadrenomedullin for Prediction of Cardiovascular Events in Coronary Artery Disease: Results from the Athero Gene Study. *Clin Chem* 2012; 58(1): 226-36.
13. Brouwers FP, de Boer RA, van der Harst P, Struck J, de Jong PE, de Zeeuw D, et al. Influence of age on the prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin in the general population. *Heart* 2012; 98(18): 1348-53.
14. Von Haehling S, Filippatos GS, Papassotiriou J, Cicoira M, Jankowska EA, Doehner W, et al. Mid-regional pro-adrenomedullin as a novel predictor of mortality in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2010; 12(5): 484-91.
15. Katan M, Fluri F, Schuetz P, Morgenthaler NG, Zweifel C, Bingisser R, et al. Midregional pro-atrial natriuretic peptide and outcome in patients with acute ischemic stroke. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56(13): 1045-53.
16. Lippi G, Schena F, Salvagno GL, Sanchis-Gomar F, Guidi GC. Serum Copeptin and Midregion Proadrenomedullin (MR-proADM) After an Ultramarathon. *J Clin Lab Anal* 2015; 29(1): 15-20.

17. Vieira RdP, Toledo AC, Silva LB, Almeida FM, Damaceno-Rodrigues NR, Caldini EG, et al. Anti-inflammatory effects of aerobic exercise in mice exposed to air pollution. *Med Sci Sports Exerc* 2012; 44(7): 1227-34.
18. Bayati M, Farzad B, Gharakhanlou R, Agha-Alinejad H. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces performance and metabolic adaptations that resemble 'all-out' sprint interval training. *J Sports Sci Med* 2011; 10(3): 571.
19. Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, MacDonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol* 2008; 586(1): 151-60.
20. Stacey MJ, Woods DR, Brett SJ, Britland SE, Fallowfield JL, Allsopp AJ, et al. Heat acclimatization blunts copeptin responses to hypertonicity from dehydrating exercise in humans. *Physiol Rep* 2018; 6(18): e13851.
21. Billebeau G, Vodovar N, Sadoune M, Launay J-M, Beauvais F, Cohen-Solal A. Effects of a cardiac rehabilitation programme on plasma cardiac biomarkers in patients with chronic heart failure. *Eur J Prev Cardiol* 2017; 24(11): 1127-35.
22. Trippel TD, Holzendorf V, Halle M, Gelbrich G, Nolte K, Duvinage A, et al. Ghrelin and hormonal markers under exercise training in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results from the Ex-DHF pilot study. *Esc Heart Fail* 2017; 4(1): 56-65.
23. Helgerud J, Høydal K, Wang E, Karlsen T, Berg P, Bjerkaas M, et al. Aerobic high-intensity intervals improve $\dot{V}O_2\text{max}$ more than moderate training. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39(4): 665-71.
24. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res* 2009; 81(4): 723-32.
25. Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henriksen EJ, Musch T, et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. 1st Ed. American Physiological Society; 2006.
26. Rognmo Ø, Hetland E, Helgerud J, Hoff J, Slørdahl SA. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2004; 11(3): 216-22.
27. Krogh J, Gøtze JP, Jørgensen MB, Kristensen LØ, Kistorp C, Nordentoft M. Copeptin during rest and exercise in major depression. *J Affect Disord* 2013; 151(1): 284-90.
28. Mayer CU, Treff G, Fenske WK, Blouin K, Steinacker JM, Allolio B. High incidence of hyponatremia in rowers during a four-week training camp. *Am J Med* 2015; 128(10): 1144-51.
29. Merry TL, Ainslie PN, Walker R, Cotter JD. Fitness alters fluid regulatory but not behavioural responses to hypohydrated exercise. *Physiol Behav* 2008; 95(3): 348-52.
30. DuttaRoy S, Nilsson J, Hammarsten O, Cider Å, Bäck M, Karlsson T, et al. High frequency home-based exercise decreases levels of vascular endothelial growth factor in patients with stable angina pectoris. *Eur J Prev Cardiol* 2015; 22(5): 575-81.
31. Maeder MT, Staub D, Brutsche MH, Arenja N, Socrates T, Reiter M, et al. Copeptin response to clinical maximal exercise tests. *Clin Chem* 2010; 56(4): 674-6.
32. Long TC, Errami M, George AC, Sun Z, Garner HR. Responding to possible plagiarism. *Science* 2009; 323(5919):1293.
33. Hew-Butler T, Hoffman MD, Stuempfle KJ, Rogers IR, Morgenthaler NG, Verbalis JG. Changes in copeptin and bioactive vasopressin in runners with

- and without hyponatremia. Clin J Sport Med 2011; 21(3): 211.
34. Sanchis-Gomar F, Bonaguri C, Aloe R, Pareja-Galeano H, Martinez-Bello V, Gomez-Cabrera MC, et al. Effects of acute exercise and xanthine oxidase inhibition on novel cardiovascular biomarkers. Transl Res 2013; 162(2): 102-9.
35. Vila G, Riedl M, Maier C, Struck J, Morgenthaler NG, Handisurya A, et al. Plasma MR-proADM Correlates to BMI and Decreases in Relation to Leptin After Gastric Bypass Surgery. Obesity 2009; 17(6): 1184-8.

THE EFFECT OF FOUR TRAINING METHODS ON THE COPEPTIN AND MID-REGIONAL PROADRENOMEDULLIN EXPRESSION IN THE LEFT VENTRICLE OF MALE WISTAR RATS

Mohammad Reza Asad¹, Faezeh Farbod mohana², Ali Barzegari^{3*}

Received: 19 Jan, 2020; Accepted: 19 Apr, 2020

Abstract

Background & Aims: Considering the importance of preventing the risk factors in heart disease and lack of sufficient information about the effect of exercise training on copeptin and mid-regional proadrenomedullin expression, this study aimed to investigate the effect of four training methods on the copeptin and mid-regional proadrenomedullin expression in the left ventricle of male Wistar rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats with the age of 8-weeks and an average weight of 237 ± 33 grams were randomly divided into 5 groups: control, moderate-intensity training, high-intensity training, high-intensity interval training, and moderate-intensity swimming training. The training programs in experimental groups were performed for 8 weeks (5 days a week). Expression of research genes was determined by real-time polymerase chain reaction. To analyze the data, one way ANOVA and bonferroni were used at a significance level of $p \leq 0.05$.

Results: Copeptin and mid-regional proadrenomedullin expressions in each training group decreased significantly compared to the control group ($p = 0.001$, $p = 0.001$). Also, Copeptin and mid-regional proadrenomedullin expression increased significantly in HIIT and HIT groups compared to ST and MIT groups ($p = 0.001$, $p = 0.001$).

Conclusion: All of the four exercise training methods were able to reduce the expression of the studied genes, and make favorable changes in reducing the consequences of cardiac tissue injury. However, swimming exercises seem to have more favorable effects with regard to non-weight bearing property, although further research is needed.

Keywords: Copeptin, Mid-regional proadrenomedullin, Exercise training, Heart ventricle

Address: Department of Physical Education and Sport, Payame Noor University, Tehran, Iran

Tel: +989111130029

Email: ali_barzegari@pnu.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(3): 229 ISSN: 2717-008X

¹ Department of Physical Education and Sport, Payame Noor University, Tehran, Iran

² Department of Physical Education and Sport, Payame Noor University, Tehran, Iran

³ Department of Physical Education and Sport, Payame Noor University, Tehran, Iran (Corresponding Author)