مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۲۱، فروردین ۱۴۰۱، ۷۰-۴۹

اثر تمرینات ورزشی تناوبی شدید و کم‌شدت بر بیان ژن‌های TRF1 و TRF2 در عضلات اسکلتی کندانقباض و تندانقباض موش‌های نر نژاد C57BL/6: یک مطالعه تجربی

مصطفی خدادوست[۱]، سعید شاکریان[۲]، ساره ارجمند[۳]، مسعود نیکبخت[۴]

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۸/۱۸ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱۴۰۰/۰۹/۲۸ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: فرآیند بیماری‌های مزمن و پیری با کاهش طول تلومر مرتبط است. هدف از انجام این تحقیق تعیین اثر تمرینات تناوبی شدید و کم‌شدت بر بیان ژن‌های عامل تکرار اتصال تلومری ۱ و ۲ (Telomere repeat binding factor 1 and 2; TRF1 and TRF2) در عضلات اسکلتی کند انقباض و تند انقباض موش بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش نر نژاد C57BL/6 به‌صورت تصادفی به چهار گروه ۶تایی شامل: کنترل پایه، کنترل، تمرینات تناوبی شدید (High-intensity interval training; HIIT) و تمرینات تناوبی کم‌شدت (Low-intensity interval training; LIIT) تقسیم شدند. تمرینات برای ۸ هفته (۵ جلسه در هفته) انجام شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های بافت‌های عضلانی به روش Real-time PCR انجام شد و داده‌ها با آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: با مقایسه عضلات کند و تند انقباض (P=۰/۷۹۱)، مقایسه گروه‌های HIIT و LIIT (P=۰/۱۶۴) و نیز اثر تعاملی نوع عضله و شدت تمرین (P=۰/۹۲۹) در میزان بیان ژن TRF1 تفاوت معناداری مشاهده نشد. بین میزان بیان ژن TRF2 عضلات کند و تند انقباض در شدت‌های مختلف اثر متقابل معناداری مشاهده نشد (P=۰/۸۶۸)، اما از نظر میزان بیان ژن TRF2، گروه HIIT (P=۰/۰۳۱) و LIIT (P=۰/۰۳۵) در مقایسه با گروه کنترل افزایش بیش‌تری داشت.

نتیجه‌گیری: انجام تمرینات تناوبی HIIT و LIIT به‌طور مشابه موجب بهبود سیستم تلومری در عضلات اسکلتی هر دو نوع عضله شد و این سیستم، بیش‌تر از اثر طویل‌کنندگی طول تلومر توسط TRF2 تأثیر پذیرفته است.

واژه‌های کلیدی: تمرینات تناوبی، عضلات اسکلتی کند و تند انقباض، TRF1، TRF2

۱- دانشجوی دکتری، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲- (نویسنده مسئول) دانشیار، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
تلفن: ۰۶۱-۵۳۳۶۰۱۱۱، دورنگار: ۰۶۱-۵۳۳۶۰۱۱۱، پست الکترونیکی: sashakeryan@gmail.com
۳- استادیار، مرکز تحقیقات پروتئین، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران
۴- دانشیار، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

مقدمه

در طول دهه گذشته پیشرفت‌هایی در درک از وقایع سلولی تنظیم کننده کلی سلول عضلانی روی داده است [۱]. عضله اسکلتی بافتی پس میتوزی است که از سلول‌های چند هسته‌ای به نام تار عضلانی تشکیل شده است که توسط ادغام میوبلاست‌ها در طول تکامل تشکیل می‌شود [۲]. در درون هسته و در انتهای کروموزوم‌ها ساختار ویژه‌ای به نام تلومر قرار دارد. تلومر در انسان از ۲ الی ۲۰ هزار باز تکرارهای دو رشته‌ای TTAGGG تشکیل شده است که در یک برآمدگی تک رشته‌ای از ۵۰۰-۵۰ نوکلئوتیدی نمایان می‌شود [۳]. تلومرها عناصر کروموزومی ضروری هستند که رونویسی کافی و حفاظت از انتهای کروموزوم را تضمین کرده و نقشی اساسی در ثبات ژنوم ایفاء می‌کنند. البته هنگام تکثیر سلولی، تلومرها کوتاه‌تر شده و منجر به توقف برگشت‌ناپذیر رشد می‌شود، فرآیندی که به آن پیری تکثیر شونده گفته می‌شود [۴].

دسترسی به تلومرها توسط چندین عامل تنظیم می‌شود که شامل تانکیراز ۱ tankyrase1 و نیز مجموعه شلترین Shelterin است که کلاهک تلومری Deoxyribonucleic acid (DNA) را به وجود می‌آورد. از جمله عوامل مربوط به این مجموعه می‌توان به عامل تکرار اتصال تلومری ۱ و ۲ (Telomere repeat binding factor 1 and 2; TRF1 and TRF2) اشاره کرد که از مهم‌ترین پروتئین‌های مجموعه شلترین به شمار می‌روند. پروتئین TRF1 با رونویسی تلومر، حفاظت از طول تلومر به وسیله توقف فعالیت آنزیم تلومراز مرتبط است، درحالی‌که TRF2 مربوط به حفظ تلومر است [۵]. کوتاه شدن طول تلومر با عوامل متعددی از جمله مصرف سیگار، چاقی، رژیم غذایی ناسالم، شرایط افزایش دهنده استرس اکسایشی و التهاب مرتبط است و می‌توان آن را به عنوان نشان‌گر سن زیستی سلول در نظر گرفت [۶]. هرچند در سال‌های ابتدایی زندگی اثر توارث بر طول تلومر، اثری قوی است، اما احتمالاً با افزایش طول عمر، این اثر کاهش پیدا می‌کند [۷]. مطالعات انسانی و حیوانی موجود تاکنون نشان داده‌اند که فرسایش تلومر در عضله اسکلتی در خلال زندگی پس از بلوغ ممکن است به وسیله دو عامل اصلی، احتمالاً مرتبط به هم و غیر ژنتیکی تعدیل شود: تغییر تعادل اکسیداسیون- احیاء و سبک زندگی فعال/ غیرفعال [۹].

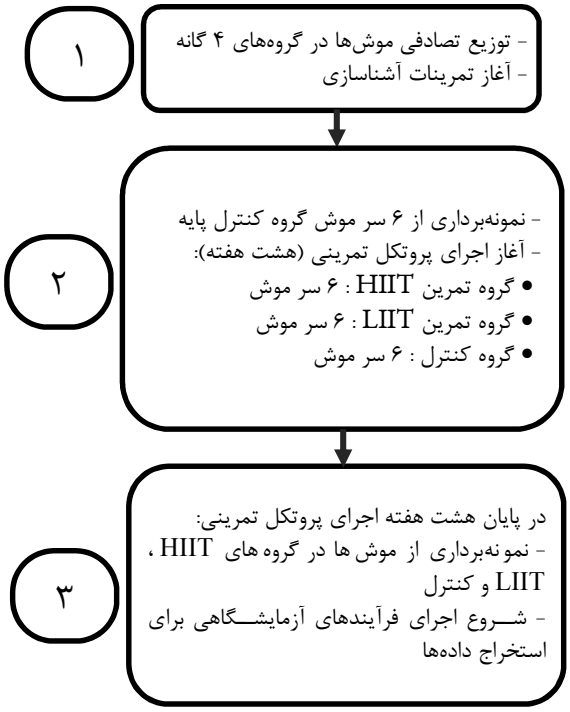
برخی مطالعات مقطعی، ارتباط بین فعالیت جسمانی یا تمرینات ورزشی با طول تلومر را در سلول‌های ایمنی توصیف نموده و سه نوع رابطه مختلف را گزارش کرده‌اند که شامل رابطه مثبت، بدون رابطه و دارای رابطه U وارونه می‌باشد. در رابطه U وارونه افراد غیرفعال و افراد دارای فعالیت‌های شدید هر دو دارای تلومرهای کوتاه‌تری نسبت به افراد دارای فعالیت جسمانی متوسط بوده‌اند [۸]. اغلب مطالعات موجود نشان می‌دهد که در مقایسه با سبک زندگی غیرفعال، افزایش فعالیت جسمانی دارای رابطه مثبت با افزایش طول تلومر در لکوسیت‌ها و عضله اسکلتی است. با این وجود، نتایج متناقضی گزارش شده است که به طور بالقوه‌ای ناشی از اجرای پروتکل‌های تمرینی مختلف (مانند مدت و شدت فعالیت‌های جسمانی) است [۹]. برخی محققین در بررسی‌های خود نشان

دادند که سطوح بالای فعالیت جسمانی و ورزش با کاهش کوتاه شدن طول تلومر در افراد مختلف به ویژه افراد سالمند ارتباط دارد [۱۲-۱۰]. در حالی‌که برخی دیگر نشان دادند که در ابتدا تمرینات ورزشی حاد ممکن است منجر به از دست رفتن طول تلومر عضله اسکلتی گردد [۱۳]. از طرفی، مشخص شده است که انجام تمرینات طولانی مدت ارتباطی با کوتاه‌شدن طول تلومر سلول‌های عضله اسکلتی ندارد [۱۵]، در حالی‌که برخی گزارش دادند که کوتاه شدن طول تلومر این سلول‌ها با انجام تمرینات طولانی مدت مرتبط است [۱۳]. به علاوه، آشکار شده است که در عضله اسکلتی سن تقویمی تأثیری بر پیری سلولی ندارد [۱۶].

در مجموع، با عنایت به این‌که مطالعه‌ای که وضعیت سیستم تلومری را در شدت‌های مختلف تناوبی و با توجه به تفاوت ساختاری و عملکردی بافت عضلانی مورد بررسی قرار دهد، یافت نشد، هدف از مطالعه حاضر تعیین اثر تمرینات تناوبی شدید و کم شدت بر بیان ژن‌های TRF1 و TRF2 در عضلات اسکلتی کند انقباض نعلی Soleus (SOL) و تند انقباض باز کننده دراز انگشتان Extensor Digitrum Langus (EDL) بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی است که در دانشگاه علوم پزشکی آبادان و از آذر تا اسفند ۱۳۹۹ انجام شد (شکل ۱). این مطالعه دارای کد اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه جندی شاپور اهواز به شناسه EE/98.24.3.26525/scu.ac.ir می‌باشد.



شکل ۱- فرآیند کلی اجرای تحقیق

نمونه‌های این پژوهش را ۲۴ سر موش نر نژاد C57BL/6 که از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه جندی شاپور، اهواز خریداری شدند (دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران) تشکیل دادند (جدول ۴). موش‌ها پس از انتقال به مرکز نگه داری حیوانات برای سازگاری با محیط مرکز به مدت ۳ روز در محیطی با دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۳۰ تا ۷۰ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگه‌داری شدند. نمونه‌های این پژوهش در مرکز نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی آبادان و در ۴ قفس مجزا نگه‌داری شدند. موش‌ها در گروه‌های مختلف به شکل مساوی تقسیم و فرآیند تحقیقاتی بر روی آن‌ها آغاز شد.

پس از وزن‌کشی، همه گروه‌ها تمرینات آشنا سازی را بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان با سرعت ۶ متر در دقیقه، به مدت ۸ دقیقه، اجرا کردند و هر جلسه یک دقیقه به زمان تمرین آنان اضافه شد [۱۷]. نمونه‌برداری از موش‌های مربوط به گروه کنترل پایه در آغاز فرآیند تحقیق انجام شد (n=۶). بنابراین، تعداد ۱۸ سر موش باقی‌مانده در سه گروه تمرین تناوبی شدید (High-intensity interval training; HIIT) (n=۶)، گروه تمرینی تناوبی کم‌شدت (Low-intensity interval training; LIIT) (n=۶)، و گروه کنترل (n=۶) جهت تکمیل مطالعه حاضر، فرآیند تحقیق را طی کردند.

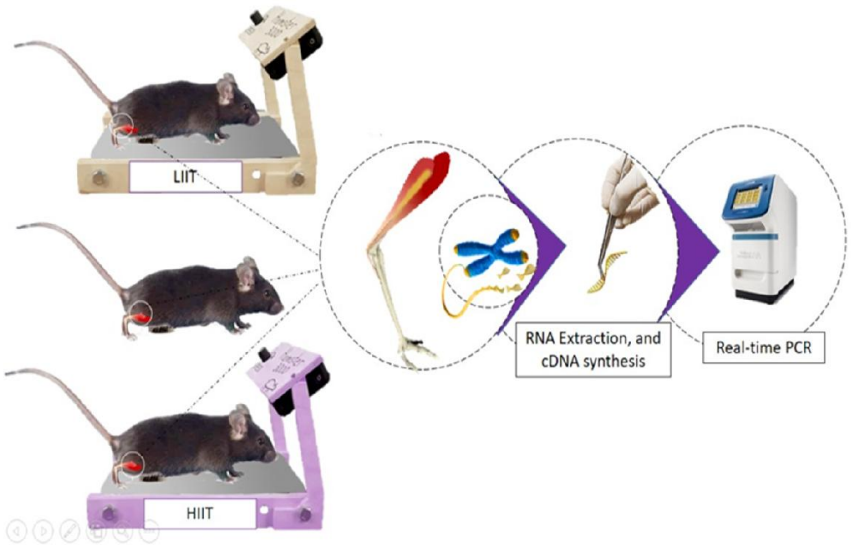
در انتهای هفته آشناسازی آزمون حداکثر سرعت دویدن موش‌ها با توجه به پروتکل تمرینات ورزشی برحسب متر در دقیقه تعیین شد. به این صورت که برای سنجش حداکثر سرعت موش‌ها بر روی نوارگردان، ۴ سر موش به عنوان گروه پایلوت انتخاب و آزمون تمرین ورزشی فزآینده بر روی نوارگردان با شیب صفر درجه جهت سنجش حداکثر سرعت دویدن اجرا شد. به این منظور موش‌ها با سرعت ۶ متر در دقیقه شروع به دویدن کردند، سپس سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه به میزان ۳ متر در دقیقه افزایش یافت تا زمانی‌که عدم توانایی آن‌ها برای ادامه دویدن به صورت برخورد به دیواره تعبیه شده در انتهای نوارگردان به مدت ۳۰ ثانیه (یا ۱۰ بار برخورد) مشاهده شد. میزان سرعت در آخرین مرحله تکمیل شده به عنوان حداکثر سرعت دویدن بر روی نوارگردان ثبت شد [۱۸]. لذا براین اساس پروتکل‌های مربوط به گروه‌های تمرینی طراحی گردید.

در این پژوهش تمرینات ورزشی به مدت هشت هفته و هر هفته ۵ روز انجام شد. شیب نوارگردان در طول اجرای پروتکل صفر در نظر گرفته شد. برای گروه تمرینات تناوبی کم شدت (LIIT) تمرین تناوبی با استفاده از تکرارهای با شدت ۵۵ الی ۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن به مدت ۲ دقیقه و با تناوب استراحت با شدت ۴۵ الی ۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن یعنی ۶ متر در دقیقه به مدت ۲ دقیقه اجرا شد. برای گروه تمرینات تناوبی شدید (HIIT) تمرین تناوبی با استفاده از تکرارهای با شدت ۸۵ الی ۹۵ درصد حداکثر سرعت دویدن به مدت ۲ دقیقه و با تناوب استراحت با شدت ۵۵ الی ۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن یعنی ۶ متر در دقیقه به مدت ۲ دقیقه اجرا شد. در ابتدا و انتهای تمرین ۳ دقیقه برای گرم کردن و ۳ دقیقه هم برای سرد کردن لحاظ گردید [۱۹]. اضافه بار مورد نظر به این صورت اعمال شد که در پایان هر دو هفته، آزمون فزآینده حداکثر سرعت مجدداً اجرا و شدت جدید تعیین می‌شد و علاوه بر سرعت بالاتر یک تکرار بیش‌تر هم به عنوان اضافه بار در نظر گرفته می‌شد (جدول ۱).

جدول ۱- پروتکل تمرینات LIIT و HIIT

مراحل تمرین	متغیرهای تمرینی	تعداد تکرار (تناوب)	زمان هر تکرار (دقیقه)	سرعت (متر/دقیقه)	زمان کلی (دقیقه)	زمان اصلی (دقیقه)	مسافت طی شده
	آشناسازی	۱	۸-۱۲	۶	۸-۱۲	۸-۱۲	۴۸-۷۲
LIIT	هفته اول و دوم	۲	۲	۹	۱۱	۴	۳۶
	هفته سوم و چهارم	۳	۲	۱۰	۱۴	۶	۶۰
	هفته پنجم و ششم	۴	۲	۱۱	۱۷	۸	۸۸
	هفته هفتم و هشتم	۵	۲	۱۲	۲۰	۱۰	۱۲۰
HIIT	هفته اول و دوم	۲	۲	۱۴	۱۱	۴	۵۶
	هفته سوم و چهارم	۳	۲	۱۵	۱۴	۶	۹۰
	هفته پنجم و ششم	۴	۲	۱۶	۱۷	۸	۱۲۸
	هفته هفتم و هشتم	۵	۲	۱۷	۲۰	۱۰	۱۷۰

قبل از اجرای پروتکل تمرینی، موش‌های گروه کنترل پایه به تعداد ۶ سر، پس از انجام فرآیند آشناسازی و قبل از انجام پروتکل تمرینی نمونه‌برداری شدند. پس از اجرای پروتکل تمرینی، موش‌های سایر گروه‌ها در آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی آبادان نمونه‌برداری شدند. به این منظور، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها با استفاده از اتر بیهوش و پس از آسان‌کشی، عضله باز کننده طویل انگشتان یا Extensor Digitrum Langus (EDL) به عنوان عضله تند انقباض و عضله نعلی یا Soleus به عنوان عضله کند انقباض تحت شرایط استریل برداشته شده و با نرمال سالین شستشو و خون و مواد زاید آن جدا گردید. بافت‌های مورد نظر بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب متناسب با نوع بافت، گروه و ساعت نمونه‌برداری جاسازی و وارد تانک نیتروژن شد و سپس به فریزر دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. پس از جمع‌آوری نمونه‌های بافتی مربوط به تمامی موش‌ها و ۲۴ ساعت پس از نمونه برداری، بافت‌های عضلانی به وسیله ترازوی sartorius ساخت کشور آلمان، مارک CPA224S با دقت یک هزارم گرم، وزن شدند و پس از جدا کردن تاندون‌های عضلات، از محدوده بطن هر عضله به میزان حدود ۱۰ میلی‌گرم نیز جهت استخراج RNA (جهت سنجش بیان ژن‌های TRF1 و TRF2) برداشته شد. بافت‌ها پس از اضافه نمودن بافر Phosphate-buffered saline (PBS) حاوی antiprotease به وسیله Scalpel مدل B Braun ساخت کشور آلمان خرد شدند و بافت برای انجام سایر فرآیندها آماده شد (شکل ۲) [۱۳].



شکل ۲- نمای شماتیک طرح تحقیق

برای استخراج Ribonucleic acid (RNA) از بافت‌ها، از کیت استخراج cDNA سیناکلون شرکت سیناژن ساخت ایران استفاده شد. نخست مطابق دستورالعمل کیت، برای استخراج RNA از بافت‌های خرد شده، به ۱۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، میزان ۰/۵ میلی‌لیتر TRIzol® اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل (Pipetage) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری و سپس ۰/۲ میلی لیتر به آن chloroform سرد اضافه و پس از Pipetage (۱۵ ثانیه) حدود ۲ تا ۳ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری شد. در ادامه، میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (شرکت eppendorff آلمان) شد. سپس، مایع رویی به دقت برداشته و به میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد. از این مرحله به بعد با سرسمپلر فیلتردار (شرکت eppendorff آلمان) کار شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر isopropanol سرد اضافه شد و بعد از هم زدن ملایم در دمای ۲۰ - باقی ماند. روز بعد، میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه مجدداً سانتریفیوژ شد. در این مرحله رسوب سفید رنگی در ته اکثر میکروتیوب‌ها مشهود بود. با سمپلر مایع رویی با دقت خارج و ۱ میلی‌لیتر اتانول سرد به آن اضافه شد. بعد از تکان دادن مختصر به مدت دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۷۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه، مایع رویی به دقت تخلیه و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقی‌مانده اتانول تبخیر و داخل میکروتیوب خشک شود. بعد از این مرحله ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به آرامی پیپتاژ صورت گرفت. در پایان، غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری نانودراپ (Thrmosientific ساخت کشور آمریکا) در طول موج ۲۶۰

نانومتر ارزیابی شد. برای آشکارسازی خلوص RNA، نسبت جذب چگالی نوری 260/280(OD) نانومتر تعیین شد و نمونه ای با نسبت ۱/۸< برای سنتز cDNA استفاده شد. غیر از مراحلی که نیاز بود میکروتیوب‌های حاوی مواد سانتریفیوز شوند، تمام مراحل کار زیر هودی انجام می‌شد که از قبل آماده شده بود (استریل شده با الکل ۷۵ درصد و نور UV) [۱۴].

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت استخراج cDNA سیناکلون شرکت سیناژن ساخت ایران استفاده شد. تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. سایر فرآیندهای تخصصی آزمایشگاهی جهت اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌های TRF1 و TRF2 و سنجش طول تلومر با استفاده از روش Real time-PCR انجام شد [۱۴].

برای سنجش بیان ژنی از روش Real time-PCR استفاده شد. در این مطالعه، تکثیر ژن‌های TRF1، TRF2 و نیز ژن رفرنس (GAPDH) برای اندازه‌گیری بیان ژن توسط Real time PCR بر اساس روش استاندارد صورت گرفت. برای اندازه‌گیری کاهش یا افزایش بیان ژن‌های TRF1 و TRF2، بیان آن با بیان ژن‌های کنترل داخلی مقایسه شد. به این منظور از هرکدام از پرایمرهای F و R و cDNA به master mix اضافه شد و حجم نهایی برای واکنش Real time PCR، آماده شد [۱۳]. پرایمرهای مورد استفاده از شرکت سیناژن (ایران) تهیه شد (جدول ۲).

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

نام ژن	توالی پرایمر
TRF1-F	5-TCTAAGGATAGGCCAGATGCCAC-3
TRF1-R	5-CTGAAATCTGATGGAGCACGTCTG-3
TRF2-F	5-GTCTGTCGCGCATTGAAGAAGG-3
TRF2-R	5- CTTCTGAGTTGTGGGGTCCTTAG-3
GAPDH-F	5-CGACTTCAACAGCAACTCCCACTC-3
GAPDH-R	5-TGGTCCAGGGTTTCTTACTCCTTG-3

سپس فرآیند Real time PCR با برنامه دمایی مطابق جدول شماره ۳ تنظیم و با استفاده از دستگاه ABI مدل StepOne ساخت کشور آمریکا اجرا شد و هر واکنش به صورت duplicate انجام شد [۱۴].

پس از انجام واکنش، داده‌های خام به صورت آستانه چرخه (Ct)Cycle Threshold از دستگاه استخراج شد و محاسبه میزان بیان ژن‌ها با استفاده از روش $^{-\Delta\Delta Ct}$ ۲ انجام شد [۱۴].

جدول ۳- شرایط دمایی، زمان و تعداد چرخه هر مرحله از PCR برای تکثیر ژن‌ها

مرحله	دما (C^o)	مدت زمان	چرخه
Initial Denaturation	۹۵	۱۵ دقیقه	۱
Denaturation	۹۵	۲۰ ثانیه	
Annealing	۶۰	۶۰ ثانیه	۴۰
Extension	۷۲	۳۰ ثانیه	
Final extension	۷۲	۱۰ ثانیه	۱

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه۲۲ استفاده شد. نتایج داده‌ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین گزارش شده است. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و به منظور بررسی اثر تعاملی متغیرها از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) استفاده شد و برای مقایسه میانگین زوج گروه‌ها از آزمون‌های تعقیبی Tukey استفاده شد. به منظور بررسی نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌ها از آزمون Shapiro–Wilk استفاده گردید. سطح معناداری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

پس از اجرای پروتکل‌های تمرینی و در پایان ۴۰ جلسه تمرین، سنجش میزان بیان ژن‌ها انجام و داده‌های مربوطه استخراج گردید.

وزن آزمودنی‌ها در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول ٤- وزن آزمودنی‌ها (موش‌های نر نژاد C57BL/6) طی فرآیند تحقیق به تفکیک گروه‌ها

	شروع تمرینات		پس از دوره تمرینی	
گروه‌ها	**تعداد**	**انحراف استاندارد ± میانگین (گرم)**	**تعداد**	**انحراف استاندارد ± میانگین (گرم)**
کنترل پایه	۶	۲۵/۱۶ ± ۲/۹۲	-	-
کنترل	۶	۲۶/۴۸ ± ۴/۱۷	۶	۲۹/۲۹ ± ۲/۹۷
تمرینات LIIT	۶	۲۶/۲۶ ± ۳/۸۸	۶	۲۷/۱۸ ± ۲/۹۱
تمرینات HIIT	۶	۲۷/۳۰ ± ۴/۹۵	۶	۳۰/۵۴ ± ۳/۴۹
مجموع	۲۴	۲۶/۵۱ ± ۴/۱۶	۱۸	۲۸/۸۵ ± ۳/۳۱

میزان بیان ژن TRF1 و TRF2 در گروه‌های مختلف در جدول ۵ گزارش شده است.

جدول ۵- میزان بیان ژن TRF1 و TRF2 گروه‌های تحقیق به تفکیک عضله پس از هشت هفته دوره تمرینی

گروه	نوع عضله	تعداد	TRF1		TRF2	
			میانگین (Fold (Change	انحراف استاندارد	میانگین (Fold (Change	انحراف استاندارد
گروه کنترل پایه	عضله SOL	۶	۱	۰/۳۳	۱/۰۰	۰/۸۷
	عضله EDL	۶	۱	۰/۵۰	۰/۹۱	۰/۸۵
	مجموع	۱۲	۱	۰/۴۱	۰/۹۶	۰/۸۲
گروه کنترل	عضله SOL	۶	۰/۴۵	۰/۱۲	۱/۷۸	۱/۰۷
	عضله EDL	۶	۰/۴۴	۰/۱۴	۱/۷۲	۰/۹۲
	مجموع	۱۲	۰/۴۵	۰/۱۲	۱/۷۵	۰/۹۲
گروه تمرینات LIIT	عضله SOL	۶	۰/۴۳	۰/۱۲	۴/۵۳	۱/۶۱
	عضله EDL	۶	۰/۳۷	۰/۰۹	۳/۷۹	۲/۳۴
	مجموع	۱۲	۰/۴۰	۰/۱۰	۴/۱۶	۱/۹۶
گروه تمرینات HIIT	عضله SOL	۶	۰/۵۷	۰/۳۶	۴/۰۹	۳/۴۶
	عضله EDL	۶	۰/۵۸	۰/۳۲	۴/۳۱	۲/۹۰
	مجموع	۱۲	۰/۵۷	۰/۳۳	۴/۲۱	۳/۰۴

SOL: عضله نعلی، EDL: عضله بازکننده دراز انگشتان، CON: گروه کنترل، LIIT: گروه تمرینات تناوبی کم شدت و HIIT: گروه تمرینات تناوبی شدید

با توجه به این‌که توزیع داده‌های مربوط به گروه‌های مورد آزمایش پس از هشت هفته اجرای پروتکل تمرینی با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk در فاکتورهای اندازه‌گیری TRF1 (P=۰/۲۰۲) و TRF2 (P=۰/۱۳۵) وضعیت نرمال را نشان می‌داد. برای مقایسه گروه کنترل پایه و گروه کنترل اصلی و نیز برای مقایسه گروه کنترل اصلی و گروه‌های تمرین از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد.

برای این‌که اثر احتمالی طول دوره زمانی هشت هفته‌ای و آثار فرآیند پیری بر نتایج حاصله کنترل شود، ابتدا گروه کنترل اصلی تحقیق با گروه کنترل پایه (که در ابتدای فرآیند اجرایی تحقیق نمونه‌برداری شدند) با توجه به نوع عضله با

استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه مورد مقایسه قرار گرفتند. از آن‌جا که تلومر در طول زمان دچار فرسایش Attrition می‌شود، این مقایسه ضرورت داشت. زیرا محققین سعی داشتند تا تغییرات احتمالی به علت اثر زمان و فرآیند پیری درگروه کنترل را پس از گذشت هشت هفته و در مقایسه با گروه کنترل پایه رصد کنند. بنابراین، تأثیر هشت هفته بی تحرکی بر متغیرهایی که در این دوره زمانی اندازه‌گیری شدند، نیز لحاظ گردید.

با توجه به نتایج آنالیز واریانس دوطرفه (جدول مربوطه نمایش داده نشده است)، نظر به آماره F و سطح معناداری به‌دست آمده، اثر اصلی بین گروه‌ها معنادار شد (P<۰/۰۰۱، ۱۸/۰۰۳=$F_{(۱ و ۲۰)}$) لذا، تفاوت معناداری بین میزان بیان ژن TRF1 عضلات در گروه‌های کنترل و کنترل پایه مشاهده شد. به عبارتی، با گذشت زمان هشت هفته‌ای، میزان بیان ژن TRF1 در گروه کنترل به شدت کاهش پیدا کرد. این کاهش در دو نوع عضله کند و تند انقباض مشابه بود و تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۹۷۸، ۰/۰۰۱ =$F_{(۱ و ۱۸)}$). در حالت بعدی اثر تعاملی نوع گروه کنترل و نوع عضله در میزان بیان ژن TRF1 بررسی شد. داده‌های به‌دست آمده از RT-PCR حاکی از آن بود که اثر تعاملی گروه‌ها (کنترل پایه و کنترل اصلی) و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF1 عضلات کند انقباض و تند انقباض معنادار نیست (P=۰/۹۷۸، ۰/۰۰۱ = $F_{(۱ و ۱۸)}$).

بنابراین، بین میزان بیان ژن TRF1 در عضلات کند انقباض و تند انقباض در بدو مطالعه در گروه کنترل پایه و نیز پس ۸ هفته در گروه کنترل اصلی تفاوت معناداری مشاهده شد. به این صورت که پس از گذشت هشت هفته زمان، میزان بیان ژن TRF1 در عضلات کند انقباض و تند انقباض تقریباً به طور مشابه در گروه کنترل اصلی تحقیق کاهشی پیدا کرده است.

با توجه به این‌که اثر زمانی گذشت هشت هفته طول دوره زمانی اجرای تحقیق موجب کاهش میزان بیان ژن TRF1 در گروه کنترل شد، لذا برای آزمون فرضیه اصلی جهت بررسی اثر شدت تمرین، نوع عضله و اثر تعاملی بین شدت تمرین و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF1 عضلات با استفاده از گروه کنترل از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. نتایج حاصل از این آزمون در جدول ۶ ارائه شده است.

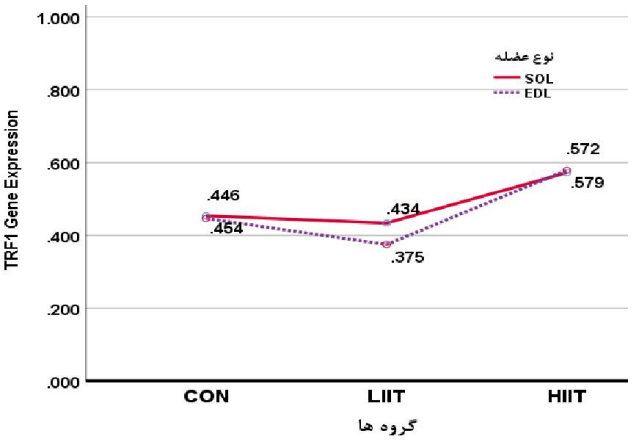
جدول ٦- نتایج آنالیز واریانس دوطرفه برای تعیین اثر تعاملی شدت تمرین و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF1

متغیر	منبع واریانس	نسبت F	مقدار P	اندازه اثر
بیان ژن TRF1	اثر اصلی شدت تمرینی	۱/۹۲۴	۰/۱۶۴	۰/۱۱۴
	اثر اصلی نوع عضله	۰/۰۷۱	۰/۷۹۱	۰/۰۰۲
	اثر تعاملی شدت تمرین*نوع عضله	۰/۰۷۴	۰/۹۲۹	۰/۰۰۵

P<۰/۰۵ اثر معنی‌دار

با توجه به نتایج آنالیز واریانس دوطرفه، نظر به آماره F و سطح معناداری به‌دست آمده، اثر اصلی بین شدت تمرین معنادار نشد (P =۰/۱۶۴، F (۲ و ۳۰)=۱/۹۲۴) به عبارتی، بین میزان بیان ژن TRF1 عضلات کند انقباض و تند انقباض تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرینات تناوبی شدید (HIIT) و کم شدت (LIIT) و گروه کنترل مشاهده نشد. اثر اصلی بین نوع عضله نیز معنادار نشد (P=۰/۷۹۱، F (۱ و ۳۰) = ۰/۰۷۱) یعنی تفاوت معناداری در میزان بیان ژن TRF1 بین عضلات کند انقباض و تند انقباض مشاهده نشد. با این وجود، داده‌های به‌دست آمده از RT-PCR حاکی از آن بود که اثر متقابل بین شدت تمرین و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF1 معنادار نیست (P =۰/۹۲۹، F (۱ و ۳۰)= ۰/۰۷۴). همان‌طور که در نمودار ۱ نیز نشان داده شده است، میزان بیان ژن TRF1 در عضلات کند انقباض و تند انقباض در گروه‌های مورد مطالعه پس از اجرای هشت هفته پروتکل تمرینی تفاوت معناداری مشاهده نمی‌شود، به نحوی که با وجود انجام برنامه تمرینی سطح بیان ژن TRF1 در هیچ‌کدام از عضلات کند انقباض و تند انقباض افزایش معناداری پیدا نکرد.

برای این‌که اثر احتمالی طول دوره زمانی ۸ هفته‌ای اجرای پروتکل تمرینی بر میزان بیان TRF2 بررسی شود، در این متغیر نیز ابتدا گروه کنترل اصلی تحقیق با گروه کنترل پایه که در ابتدای فرآیند اجرایی تحقیق نمونه‌برداری شدند، با توجه به نوع عضله با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه مورد مقایسه قرار گرفتند.



نمودار ۱- اثر متقابل شدت تمرین تناوبی بر میزان بیان ژن TRF1 عضلات کند انقباض و تند انقباض موش‌های نژاد C57BL/6. SOL: عضله نعلی، EDL: عضله بازکننده دراز انگشتان، CON: گروه کنترل، LIIT: گروه تمرینات تناوبی کم‌شدت و HIIT: گروه تمرینات تناوبی شدید

با توجه به نتایج آنالیز واریانس دوطرفه (جدول مربوطه نمایش داده نشده است)، نظر به آماره F و سطح معناداری به‌دست آمده، اثر اصلی بین گروه‌ها معنادار است (P=۰/۰۴۷، F (۱ و ۲۰)=۴/۴۸۳) لذا، تفاوت معناداری بین میزان بیان ژن TRF2 عضلات در گروه‌های کنترل و کنترل پایه مشاهده می‌شود. اثر اصلی بین نوع عضله معنادار نشد (P=۰/۸۵۰، F (۱ و ۲۰)=۰/۰۳۷)، لذا تفاوت معناداری بین میزان بیان ژن TRF2 عضلات کند انقباض و تند انقباض مشاهده نشد. در مجموع، داده‌های به‌دست آمده از RT-PCR حاکی از آن بود که اثر متقابل گروه‌های کنترل و کنترل پایه و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF2 عضلات کند انقباض و تند انقباض معنادار نیست (P=۰/۹۷۶، F (۱ و ۲۰) =۰/۰۰۱). بنابراین، بین میزان بیان ژن TRF2 در عضلات کند انقباض و تند انقباض

در بدو مطالعه در گروه کنترل پایه و نیز پس ۸ هفته اجرای پروتکل تمرینی طرح تحقیق در گروه کنترل اصلی تفاوت معناداری مشاهده شد. لذا پس از گذشت هشت هفته زمان، میزان بیان ژن TRF2 در عضلات کند انقباض و تند انقباض تقریباً به طور مشابه در گروه کنترل اصلی تحقیق افزایش پیدا کرد.

با توجه به این‌که اثر زمانی گذشت هشت هفته طول دوره زمانی اجرای تحقیق موجب افزایش میزان بیان ژن TRF2 در گروه کنترل شد، لذا برای آزمون فرضیه اصلی جهت بررسی اثر شدت تمرین، نوع عضله و اثر تعاملی بین شدت تمرین و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF2 عضلات با استفاده از گروه کنترل از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. نتایج حاصل از این آزمون در جداول ۷ ارائه شده است.

جدول ۷- نتایج آنالیز واریانس دوطرفه برای تعیین اثر تعاملی شدت تمرین و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF2

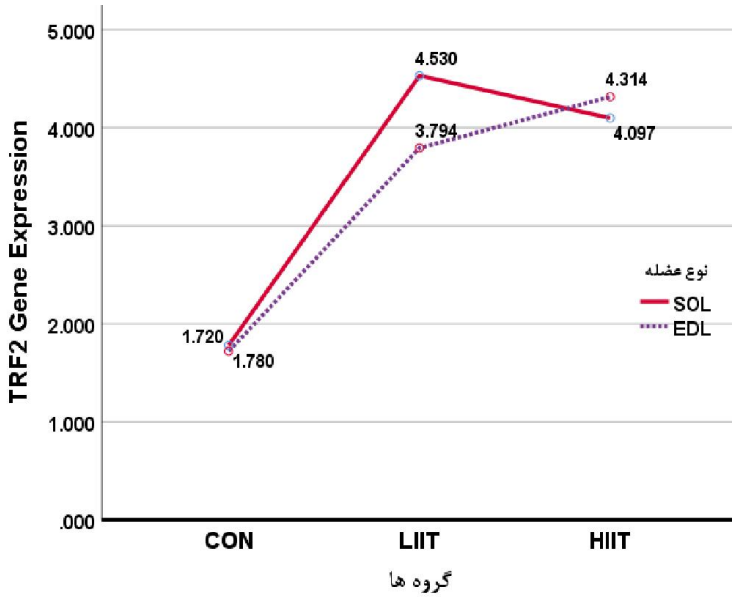
متغیر	منبع واریانس	نسبت F	مقدار P	اندازه اثر
بیان ژنTRF2	اثر اصلی شدت تمرینی	۴/۶۸۹	۰/۰۱۷	۰/۲۳۸
	اثر اصلی نوع عضله	۰/۰۶۶	۰/۷۹۹	۰/۰۰۲
	اثر تعاملی شدت تمرین*نوع عضله	۰/۱۴۳	۰/۸۶۸	۰/۰۰۹

P<۰/۰۵ اثر معنی‌دار

با توجه به نتایج آنالیز واریانس دوطرفه (جدول ۷)، نظر به آماره F و سطح معناداری به‌دست آمده، اثر اصلی بین شدت تمرین معنادار شد (P= ۰/۰۱۷، $F_{(۲ و ۳۰)}$= ۴/۶۸۹) به عبارتی، بین میزان بیان ژن TRF2 عضلات گروه‌های تمرینی و گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده شد. در حالی‌که، اثر اصلی بین نوع عضله معنادار نشد (P= ۰/۷۹۹، $F_{(۱ و ۳۰)}$ = ۰/۰۶۶) یعنی تفاوت معناداری بین میزان بیان ژن TRF2 بین عضلات کند انقباض و تند انقباض مشاهده نشد. در مجموع، داده‌های به‌دست آمده از RT-PCR حاکی از آن بود که اثر متقابل بین شدت تمرین و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF2 معنادار نیست (P= ۰/۸۶۸، $F_{(۲ و ۳۰)}$ =۰/۱۴۳). بنابراین، همان‌طور که در نمودار ۲ نیز نشان داده شده است، با وجود این‌که بین میزان بیان ژن TRF2 در عضلات کند انقباض و تند انقباض در گروه‌های مورد مطالعه پس از اجرای هشت هفته پروتکل تمرینی تفاوت معناداری مشاهده نشد، اما میزان بیان ژن TRF2 در هر دو نوع عضله در گروه‌های مختلف متفاوت است. به نحوی که در هر دو گروه HIIT و LIIT بر میزان بیان ژن TRF2 عضلات کند انقباض و تند انقباض میزان بیان ژن TRF2 به صورت چشم‌گیری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان می‌دهد.

در مجموع، با توجه به نتایج آزمون تعقیبی Tukey (جدول ۸) و تفاوت میانگین و سطح معناداری، پس از گذشت هشت هفته اجرای تمرین ورزشی به نظر می‌رسد در گروه تمرینات تناوبی کم‌شدت (LIIT) با اختلاف میانگین ۲/۴۱۲ (P= ۰/۰۳۵) در مقایسه با گروه کنترل، و نیز در گروه تمرینات تناوبی شدید (HIIT) با اختلاف میانگین ۲/۴۵۵ (P= ۰/۰۳۱)، در

مقایسه با گروه کنترل، بیان ژن TRF2 در هر دو نوع عضله کند انقباض و تند انقباض به طور معناداری افزایش یافته است. لازم به ذکر است که بین گروه تمرینات تناوبی HIIT و LIIT با اختلاف میانگین ۰/۰۷۲ تفاوت معناداری مشاهده نشد (P= ۰/۶۰۲). تفاوت بین گروه‌های مورد مطالعه در نمودار ۳ نشان داده شده است.

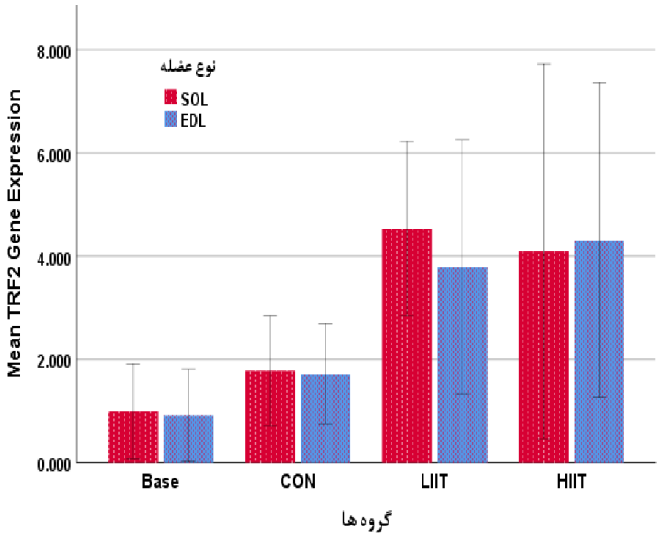


نمودار ۲- اثر متقابل شدت تمرین تناوبی بر میزان بیان ژن TRF2 در عضلات کند انقباض و تند انقباض موش‌های نژاد C57BL/6. SOL: عضله نعلی، EDL: عضله بازکننده دراز انگشتان، CON: گروه کنترل، LIIT: گروه تمرینات تناوبی کم‌شدت و HIIT: گروه تمرینات تناوبی شدید

جدول ۸- نتایج آزمون تعقیبی Tukey برای پی‌گیری اختلاف سطح بیان ژن TRF2 بین گروه‌ها

گروه	گروه	تفاوت میانگین‌ها	مقدار P
کنترل (CON)	تناوبی کم شدت (LIIT)	-۲/۴۱۲*	۰/۰۳۵
	تناوبی شدید (HIIT)	-۲/۴۵۵*	۰/۰۳۱
تناوبی کم شدت (LIIT)	کنترل (CON)	-۲/۴۱۲*	۰/۰۳۵
	تناوبی شدید (HIIT)	-۰/۰۴۳	۰/۹۹۹
تناوبی شدید (HIIT)	کنترل (CON)	-۲/۴۵۵*	۰/۰۳۱
	تناوبی کم شدت (LIIT)	-۰/۰۴۳	۰/۹۹۹

P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار



نمودار ۳- اثر هشت هفته تمرین تناوبی بر بیان ژن TRF2 عضلات کند انقباض و تند انقباض موش‌های نژاد C57BL/6. SOL: عضله نعلی، EDL: عضله بازکننده دراز انگشتان، CON: گروه کنترل، Base: گروه کنترل پایه، LIIT: گروه تمرینات تناوبی کم‌شدت، HIIT: گروه تمرینات تناوبی شدید

بحث

هدف از انجام این تحقیق تعیین اثر این تمرینات تناوبی شدید و کم‌شدت بر بیان ژن‌های عامل تکرار اتصال تلومری ۱ و ۲ (TRF1 و TRF2) در عضلات اسکلتی کند انقباض نعلی و تند انقباض بازکننده دراز انگشتان بود. این پژوهش اولین مطالعه‌ای است که به بررسی اثر شدت تمرین به روش تناوبی بر پروتئین‌های مجموعه شلترین shelterin در سیستم تلومر عضلات اسکلتی پرداخته است و در عین حال اثر متقابل شدت تمرین و نوع عضله را مورد توجه قرار داده است. یکی از پروتئین‌های واقع در سیستم تلومری TRF1 است که طویل شدن تلومر را با وابستگی به تلومراز به طور منفی تنظیم می‌کند [۲۱]. نتایج تحقیق حاضر آشکار ساخت که میزان بیان ژن TRF1 در عضلات کند انقباض و تند انقباض و نیز بین گروه‌های مورد مطالعه پس از اجرای هشت هفته اجرای پروتکل تمرینی تفاوت معناداری مشاهده نشد، به نحوی که با وجود انجام برنامه تمرینی سطح بیان ژن TRF1 در هیچ‌کدام از عضلات کند انقباض و تند انقباض افزایش و یا کاهش معناداری پیدا نکرد.

یکی دیگر از پروتئین‌های مهم سیستم تلومر TRF2 است که به عنوان یک محافظ مولکولی برای تلومر عمل می‌کند. حذف TRF2 بلافاصله باعث ایجاد همجوشی انتهایی و پیری سلول شده و یا از طریق فعال کردن واکنش‌های آسیب رسان DNA فلج کننده تلومر به مرگ سلولی منجر می‌شود [۲۰]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان بیان ژن TRF2 در عضلات کند انقباض و تند انقباض تقریباً به طور مشابه در گروه کنترل اصلی تحقیق افزایش پیدا کرد. هرچند، پس هشت هفته اجرای پروتکل‌های تمرینی و مقایسه گروه‌ها، اثر متقابل بین شدت تمرین و نوع عضله بر میزان بیان ژن TRF2 معنادار نشد، اما میزان بیان ژن TRF2 در هر دو نوع عضله و

در هر دو گروه تمرینات تناوبی شدید (HIIT) و کم‌شدت (LIIT) به صورت چشم‌گیری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. نتایج تحقیق حاضر با بیش‌تر تحقیقات قبلی با وجود انجام تحقیقات متنوع بر روی بافت‌های مختلف، همخوانی دارد. گزارش شده است که سه هفته دویدن تأثیری بر بیان ژن TRF1 ندارد، اما هم بر بیان ژن و هم بیان پروتئین TRF2 تأثیر مثبت دارد. هرچند اثرات دویدن داوطلبانه بر پروتئین‌های تثبیت کننده حلقه T عضله قلبی انسان مورد بررسی قرار گرفته بود [۲۲].

متعاقب تمرین ماراتن در ورزشکاران حرفه‌ای درPBMC افزایشی در سطوح mRNA پروتئین TRF1 و TRF2 آشکار می‌شود و غلظت‌های بالاتر پروتئین TRF2 در عضلات اسکلتی در مقابل PBMC در حالت استراحت گزارش شده است. این نتایج نشان‌گر این موضوع است که در انسان، پروتئین‌های درون و مرتبط با مجموعه شلترین shelterin در سطح mRNA در پاسخ به استرس فیزیولوژیکی در عضلات اسکلتی به شکل متفاوتی نسبت به PBMC افزایش می‌یابند [۲۰]. به علاوه، نتایج بررسی‌ها حاکی از آن است که تمرین طولانی مدت فوق استقامتی، میزان بیان برخی پروتئین‌ها مانند TRF2را در گروه ورزشکاران استقامتی به طور معناداری افزایش می‌دهد [۲۳]. بررسی تأثیر ورزش طولانی مدت بر پویایی تلومر در موش‌های دارای تلومر کوتاه نژاد (CAST/Ei) در گروه‌های بی‌تحرک و دارای فعالیت جسمانی، آشکار ساخته است که در عضله پلانتاریس در اثر افزایش سن، محتوای پروتئین TRF1 به طور معناداری افزایش می‌یابد [۱۳]. هم چنین با بررسی تأثیر هم‌زمان تمرینات مقاومتی و تناوبی در مقایسه با قبل از تمرین، افزایش معنی دار مقادیر TRF2 مشاهده شده است [۲۴]. با بررسی تأثیر شش هفته بازی فوتبال در زمین‌های کوچک بر طول تلومر و بیان ژن TRF2 مردان میانسال، در بیان ژن TRF2 تغییر معناداری مشاده شد [۲۵].

نتایج برخی مطالعات با هدف سنجش اثر تمرین تناوبی شدید و تداومی استقامتی بر روی سلول‌های قلبی موش صحرایی نر نژاد ویستار، حاکی از آن بود که بیان ژن TRF2 گروه‌های تناوبی شدید و تداومی در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان می‌دهد و شش هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی استقامتی می‌تواند حفظ طول تلومر از طریق افزایش ژن TRF2 تنظیم کند [۲۶]. با بررسی تأثیر تمرین طولانی مدت فوق استقامتی مشخص شد که میزان بیان برخی پروتئین‌ها مانند TRF2 در عضله اسکلتی گروه ورزشکاران استقامتی به طور معناداری افزایش پیدا کرده است [۲۳]. هم‌چنین، Saki و همکاران با بررسی تأثیر تمرین ترکیبی بر طول تلومر در بیماران انفارکتوس قلبی، نشان داند که انجام تمرینات ورزشی از کوتاه شدن طول تلومر جلوگیری کرده و موجب افزایش معناداری در TRF2 شده است [۲۷]. Noorimofrad و Ebrahim نشان دادند هشت هفته تمرین HIIT تفاوت معناداری در مقدار TRF1 و TRF2 ایجاد نکرده است [۲۸]. با بررسی اثرات شدت ورزش (متوسط در مقابل شدید) را در TRF1 و TRF2 مشخص شد تمرینات ورزشی با شدت بالا در کاهش نشان‌گرهای پیری و آپوپتوز مؤثرتر است.

به علاوه،گزارش شده است که انجام تمرینات ورزشی با شدت بالاتر منجر به کاهش بیان ژن مجموعه شلترین بدون تفاوت در طول تلومر می‌شود و ممکن است تمرینات ورزش با شدت بالاتر محافظت مؤثرتری از DNA را موجب شود [۲۹]. این نتایج نشان‌دهنده تنظیم بی‌نظیر عضله اسکلتی موش در پاسخ به تمرین است که نشان می‌دهد انجام مداوم تمرینات تناوبی احتمالاً موجب جلوگیری از افزایش TRF1 و کمک به افزایش TRF2می‌شود.

با این حال نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های یافته‌های Shirkhani و همکاران که نشان داد با وجود کاهش معنادار بیان ژن TRF2، قطر و تعداد میوفیبریل با افزایش سن در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی، تمرین مقاومتی به همراه مصرف ویتامین C تأثیر معناداری بر بیان TRF2 ندارد [۳۰]. در آن تحقیق، از موش‌های سالمند استفاده شده بود، لذا با توجه به بروز و اثر فرآیند پیری، این نتیجه چندان دور از ذهن نبود. هم‌چنین، نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های Ludlow و همکاران ناهمخوان است. مطابق نتایج آن تحقیق حتی یک انجام یک وهله تمرینات ورزشی باعث افزایش سطح پروتئین TRF1می‌شود و اذعان کردند که حفظ تلومر توسط ورزش مانند سایر پیامدهای مفید سلامتی به احتمال زیاد نتیجه یک اثر تجمعی در یک دوره طولانی مدت است [۱۷].

در تبیین علل احتمالی ناهمخوانی نکات مهمی را می‌توان بر شمرد. در آن تحقیق، بر خلاف سایر تحقیقات اثر حاد یک جلسه تمرینات فزآینده بررسی شده بود و نتایج آن بر اساس سنجش پاسخ آنی به یک جلسه تمرین به دست آمده بود، در حالی‌که تغییرات گزارش شده ممکن است پایداری لازم را نداشته باشد و منجر به سازگاری نگردد. زیرا انجام حداقل ۶ هفته تمرین برای اطمینان از ثبات تغییرات نیاز است. علاوه بر این محققین در آن تحقیق تنها با توجیه تمرین پذیر بودن، از موش‌های مؤنث استفاده کرده بودند، لذا ممکن است جنیست آزمودنی‌ها هم بر نتایج آن تحقیق اثرگذار بوده باشد. هرچند بافت عضلانی مورد استفاده در آن تحقیق، بافت عضله قلبی موش بود که ممکن است نتایج متفاوتی را در مقایسه با بافت عضله اسکلتی رقم بزند.

مشادهدات آزمایشگاهی تنظیم ژن TRF1 و حفظ طول تلومر عضله اسکلتی در موش‌های بی‌تحرک در مقایسه با موش‌های فعال را متعاقب فشارهای فیزیولوژیکی در یک سالگی آشکار می‌سازد که نشان دهنده تنظیم بیان ژن منحصر به فرد شلترین می‌باشد. برخی از سازوکارهای شناخته شده وجود دارد که نشان‌دهنده نقش تمرینات ورزشی بر تغییرات سیستم تلومر است. لازم به ذکر است که بیان mRNA مربوط به TRF1 در عضله اسکلتی با فعال‌سازی مسیر سیگنالی p38 MAPK وابسته به کلسیم تنظیم می‌شود و بسیاری از انواع تمرینات ورزشی با افزایش فعالیت این مسیر موجب کاهش سطح TRF1 در عضله اسکلتی می‌شوند [۱۳]. هم‌چنین، نشان داده شده است که تمرینات ورزشی مزمن با طبیعی کردن بیان ژن‌های پیری حساس به p53 و نیز آپوپتوز، کوتاه شدن طول تلومر و سطح p53 را در عضلات کاهش می‌دهد [۳۱]. چنین نتایجی احتمالاً نشان‌دهنده حفاظت مؤثرتر از DNA توسط تمرینات ورزشی با شدت بالا است [۲۹]. در عضله اسکلتی که بافت نسبتاً خاموشی است، عوامل genotoxic (تغییردهنده اطلاعات ژنتیکی)، مانند رادیکال‌های

آزاد، به جای فعالیت‌های تکثیرکننده، احتمالاً نقش غالب را در کوتاه شدن تلومر و کاهش عملکرد سیستم تلومری دارند [۳۲]. هم‌چنین با توجه به نقش سلول‌های ماهواره‌ای و این‌که تراکم این سلول‌ها در تارهای نوع I و نوع II علیرغم توزیع نامساوی این تارها در عضلات مختلف برابر است [۳۳]، به نظر می‌رسد به میزان مشابهی هر دو نوع عضله را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

این مطالعه توسعه‌دهنده یافته‌های پیشین محققانی است که نشان داده‌اند انواع مختلفی از تمرینات ورزشی منجر به بهبود سازوکارهایی می‌شود که موجب حفظ سلامت بافت عضله اسکلتی می‌شوند هر چند این سازوکارها تاکنون به طور کامل شناخته نشده‌اند و بایستی با احتیاط تفسیر شوند. عدم اندازه‌گیری سطح پروتئین TRF1 و TRF1 برای اطمینان از تبدیل mRNA متغیرهای مورد نظر به پروتئین از محدودیت‌های پژوهش حاضر است. علاوه بر این، به علت عدم دسترسی به تکنولوژی مورد نیاز برای استخراج تار عضلانی منفرد، نمی‌توان نتایج حاصل از بافت عضلانی مورد استفاده در این پژوهش را با قطعیت به سلول عضلانی کند انقباض و تند انقباض تعمیم داد. با توجه به این‌که همه آزمودنی‌ها جوان و از جنسیت نر انتخاب شده بودند، عدم قطعیت در تعمیم نتایج به جنس مؤنث یا افراد با سنین متفاوت امری اجتناب ناپذیر است. در ضمن، عدم بررسی آنزیم تلومراز که نقش مهمی در سیستم تلومری ایفاء می‌کند به علت کنترل هزینه‌ها نیز از دیگر محدودیت‌های این پژوهش است. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی اثر شدت‌های مختلفی از تمرینات تناوبی بر وضعیت تلومر در سیستم ایمنی بدن نیز بررسی شود.

نتیجه‌گیری

اثر مثبت تمرینات تناوبی بر سیستم تلومری عضلات کند انقباض و تند انقباض مشابه است. لذا اجرای دستورالعمل‌های مفید مانند انجام تمرینات تناوبی با استراتژی مناسب ممکن است از طریق ایجاد حاشیه امن نسبی، برای ذخیره استراتژیک عضلانی و استفاده از آن در سنین سالمندی نقش سازنده‌تری را ایفاء کند. به علاوه انجام تمرینات ورزشی با هر شدتی، نتایج مثبتی بر سیستم تلومری بر جای می‌گذارد. به نظر می‌رسد که بهبود سیستم تلومری در عضلات اسکلتی موش بیش از آن‌که تحت تأثیر منفیTRF1 باشد، از اثر طویل‌کنندگی طول تلومر توسط TRF2 تأثیر پذیرفته است. اجماع کلی این مطالعه بر این است که شدت زیاد تمرینات اگر به روش تناوبی انجام شود، دارای نتایج مشابهی نسبت به سطوح کم‌شدت بر بهبود سیستم تلومری در عضلات اسکلتی است. لذا با توجه به اثربخشی خوب تمرینات تناوبی توصیه می‌شود، به عنوان بخشی از تمرینات ورزشی سلامت محور در برنامه‌های تمرینی مربیان و ورزشکارن برای رده‌های سنی مختلف لحاظ گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه مقطع دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه شهید چمران اهواز است. بدین وسیله از دانشگاه شهید چمران اهواز که کلیه منابع مالی اجرای پژوهش را تأمین کرده است و نیز از پرسنل محترم دانشگاه علوم پزشکی آبادان به خاطر کمک به اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

[1] Wall BT, Dirks ML, Van Loon LJC. Skeletal muscle atrophy during short-term disuse: Implications for age-related sarcopenia. *Ageing Res Rev* 2013; 12(4): 898-906.

[2] Isesele PO, Mazurak VC. Regulation of Skeletal Muscle Satellite Cell Differentiation by Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: A Critical Review. *Front Physiol* 2021; 12: 682091.

[3] Diotti R, Loayza D. Shelterin complex and associated factors at human telomeres. *Nucleus* 2011; 2(2): 119-35.

[4] Wang Y, Yang Y, Ma L, Zhao Y, Bai Z, Ge R L. Telomeres are elongated in rats exposed to moderate altitude. *J Physiol Anthropol* 2014; 33(1): 1-6.

[5] Ponsot E, Echaniz-Laguna A, Delis AM, Kadi F. Telomere length and regulatory proteins in human skeletal muscle with and without ongoing regenerative cycles. *Exp Physiol* 2012; 97(6): 774-84.

[6] Laine MK, Eriksson JG, Kujala UM, Raj R, Kaprio J, Bäckmand HM, et al. Effect of intensive exercise in early adult life on telomere length in later life in men. *J Sports Sci Med* 2015; 14(2): 239-45.

[7] Svenson U, Nordfjäll K, Baird D, Roger L, Osterman P, Hellenius M-L, et al. Blood cell telomere length is a dynamic feature. *PLoS One* 2011; 6(6): e21485.

[8] Ludlow AT, Ludlow LW, Roth SM. Do telomeres adapt to physiological stress? Exploring the effect of exercise on telomere length and telomere-related proteins. *Biomed Res Int* 2013; (5): 601368.

[9] Arsenis NC, You T, Ogawa EF, Tinsley GM, Zuo L. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget* 2017; 8(27): 45008.

[10] Cherkas LF, Hunkin JL, Kato BS, Richards JB, Gardner JP, Surdulescu GL, et al. The association between physical activity in leisure time and leukocyte telomere length. *Arch Intern Med* 2008; 168(2): 154-8.

[11] Denham J, Nelson CP, O'Brien BJ, Nankervis SA, Denniff M, Harvey JT, et al. Longer leukocyte telomeres are associated with ultra-endurance exercise independent of cardiovascular risk factors. *PloS One* 2013; 8(7): e69377.

[12] Werner C, Fürster T, Widmann T, Pöss J, Roggia C, Hanhoun M, et al. Physical exercise prevents cellular senescence in circulating leukocytes and in the vessel wall. *Circulation* 2009; 120(24): 2438-47.

[13] Ludlow AT, Witkowski S, Marshall MR, Wang J, Lima LC, Guth LM, et al. Chronic exercise modifies age-related telomere dynamics in a tissue-specific fashion. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci J GERONTOL A-BIOL* 2012; 67(9): 911-26.

[14] Fathi M. The difference of med 13 gene expression of slow and fast twitch skeletal muscles due to endurance activity. *JSUMS* 2015; 24(4): 225-31. [Farsi]

[15] Kadi F, Ponsot E, Piehl-Aulin K, Mackey A, Kjaer M, Oskarsson E, et al. The effects of regular strength training on telomere length in human skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2008; 40(1): 82.

[16] Venturelli M, Morgan GR, Donato AJ, Reese V, Bottura R, Tarperi C, et al. Cellular aging of skeletal muscle: telomeric and free radical evidence that physical inactivity is responsible and not age. *Clin Sci* 2014; 127(6): 415-21.

[17] Ludlow AT, Gratidao L, Ludlow LW, Spangenburg EE, Roth SM. Acute exercise activates p38 MAPK and increases the expression of telomere-protective genes in cardiac muscle. *Exp Physiol* 2017; 102(4): 397-410.

[18] Ludlow AT, Lima LC, Wang J, Hanson ED, Guth LM, Spangenburg EE, et al. Exercise alters mRNA expression of telomere-repeat binding factor 1 in skeletal muscle via p38 MAPK. *J. Appl Physiol* 2012; 113(11): 1737-46.

[19] Bahramian A, Mirzaei B, Karimzadeh F, Ramhmaninia F, Gaeini AA, Naderi N, et al. The Effects of Exercise Training Intensity on the Expression of C/EBPβ and CITED4 in Rats with Myocardial Infarction. *Asian J Sports Med* 2018; 9(4). [Farsi]

[20] Laye MJ, Solomon TP, Karstoft K, Pedersen KK, Nielsen SD, Pedersen BK. Increased shelterin mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells and skeletal muscle following an ultra-long-distance running event. *J Appl Physiol* 2012; 112(5): 773-81.

[21] Okamoto K, Iwano T, Tachibana M, Shinkai Y. Distinct roles of TRF1 in the regulation of telomere structure and lengthening. *J Biol Chem* 2008; 283(35): 23981-8.

[22] Werner C, Hanhoun M, Widmann T, Kazakov A, Semenov A, Pöss J, et al. Effects of physical exercise on myocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(6):470-82.

[23] Östlund-Lagerström L. Effect of long-term ultra-endurance training on telomere length and telomere regulatory protein expressions in vastus lateralis of healthy humans. [Thesis]. *Sweden: Örebro University*; 2011.

[24] Mohammadnejad panahkandi Y, Matinhomaei H, Azarbayjani M A. The effects of an 8-week resistance-interval training on the telomere length, telomerase activity, and TRF2 expression in sedentary young men. *J Community Health* 2018; 11(3-4): 76-85. [Farsi]

[25] Chamani A, Gaeini A, Nuri R, Kordi MR, Choobineh S. The effects of six-week small-sided soccer games on telomere length and TRF2 gene expression in the middle-age males. *RJMS* 2019; 25(12): 8-16. [Farsi]

[26] Eskandari A, Fashi M, Dakhili AB. Effect of high intensity interval and continuous endurance training on TRF2 and TERT gene expression in heart tissue of aging male rats. *J Gorgan Univ Med Sci* 2019; 21(2): 43-9. [Farsi]

[27] Saki B, Bahrami A, Ebrahim K, Abedi-Yekta A, Hedayati M. Effect of concurrent training on telomere length in patients with myocardial infarction: Randomised clinical trial of cardiac rehabilitation. *Gene Rep* 2016; 4: 264-8. [Farsi]

[28] Noorimofrad S, Ebrahim K. The effect of high intensity interval training on telomere length and telomerase activity in non-athlete young men. *JBRMS* 2018; 5(2): 1-7. [Farsi]

[29] de Carvalho Cunha VN, dos Santos Rosa T, Sales MM, Sousa CV, da Silva Aguiar S, Deus LA, et al. Training performed above lactate threshold decreases p53 and shelterin expression in mice. *Int J Sports Med* 2018; 39: 704-11.

[30] Shirkhani Y, Peeri M, Azarbayjani Ma, Matinhomaee H. Effect of Resistance Exercise and Vitamin C Intake on Expression of Telomerase Reverse Transcriptase and Telomere Repeat Binding Factor-2 Genes and the Diameter and Number of Myofibrils in Old Rats. *J Complement Med Res* 2021; 10(4): 10. [Farsi]

[31] Safdar A, Annis S, Kraytsberg Y, Laverack C, Saleem A, Popadin K, et al. Amelioration of premature aging in mtDNA mutator mouse by exercise: the

interplay of oxidative stress, PGC-1α, p53, and DNA damage. A hypothesis. *Curr Opin Genet Dev* 2016; 38: 127-32.

[32] Sahin E, DePinho RA. Linking functional decline of telomeres, mitochondria and stem cells during ageing. *nature* 2010; 464(7288): 520-8.

[33] Mackey AL, Karlsen A, Couppé C, Mikkelsen UR, Nielsen RH, Magnusson S, et al. Differential satellite cell density of type I and II fibres with lifelong endurance running in old men. *Acta Physiol Scand* 2014; 210(3): 612-27.

The Effect of High and Low-Intensity Interval Training on TRF1 and TRF2 Gene Expression in Slow and Fast-Twitch Skeletal Muscles of C57BL/6 Mice: An Experimental Study

Mostafa Khodadoost[1], Saead Shakeryan[2], Sareh Arjmand[3], Masood Nikbakht[4]

Received: 09/11/21 Sent for Revision: 19/12/20 Received Revised Manuscript: 02/01/22 Accepted: 05/01/22

Background and Objectives: The process of chronic diseases and aging is associated with reduced telomere length. The aim of this study was to investigate the effect of high-intensity interval training (HIIT) and low-intensity interval training (LIIT) on telomere repeat binding factor 1 and 2 (TRF1 and TRF2) in Soleus (SOL) muscle as a slow-twitch (ST) and Extensor Digitorum Longus (EDL) muscle as a fast-twitch (FT) of mice skeletal muscle.

Materials and Methods: In this experimental study, the subjects were C57BL/6 mice (n=24) that were randomly divided into four groups of 6 mice: 1-Base control, 2-control, 3-high-intensity interval training (HIIT), and 4-low-intensity interval training (LIIT). The exercise included 5 days a week for 8 weeks. The gene expression of muscle tissues was measured using RT-PCR. The data were evaluated using two-way ANOVA with Tukey's post hoc test.

Results: By comparing ST and FT muscles (p=0.791) and HIIT and LIIT groups (p=0.164) and also the interaction between muscle type and training intensity (p=0.929), there was no significant difference in the expression of TRF1 gene. There was no significant interaction between TRF2 gene expression in ST and FT muscles at different intensities (p=0.868). But the results of Tukey's post hoc test showed that in terms of TRF2 gene expression, HIIT (p=0.031) and LIIT (p=0.035) groups showed more increase compared to the control group.

Conclusion: HIIT and LIIT similarly improved the telomere system in skeletal muscle of both muscle types, and this system was more affected by telomere elongation effect of TRF2.

Key words: Interval training, ST and FT skeletal muscles, TRF1, TRF2

Funding: This study was funded by Shahid Chamran University of Ahvaz.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Jundishapur University of Medical Sciences approved the study (EE/98.24.3.26525/scu.ac.ir).

How to cite this article: Mostafa Khodadoost, Saead Shakeryan, Sareh Arjmand, Masood Nikbakht. The Effect of High and Low-Intensity Interval Training on TRF1 and TRF2 Gene Expression in Slow and Fast-Twitch Skeletal Muscles of C57BL/6 Mice: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2022; 21 (1): 49-70. [Farsi]

1- PhD Student in Sport Physiology, Dept. of Sport Physiology, Faculty of Sports Sciences, Sahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2- Associated Prof., Dept. of Sport Physiology, Faculty of Sports Sciences, Sahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
ORCID: 0000-0002-0880-9942
(Corresponding Author) Tel: (061) 53360111, Fax: (061) 53360111, E-mail: sashakeryan@gmail.com
3- Assistant Prof., Protein Research Center, Shahid Beheshti University of Tehran, Tehran, Iran
4- Associated Prof., Dept. of Sport Physiology, Faculty of Sports Sciences, Sahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran