



مطالعه تجربی تاثیر شش هفته تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل Q10 بر بیان ژن TRF1 و TRF2 بافت قلب موش‌های نر سالمند نژاد ویستار

نغمه اسکندری زاده: کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی گرایش تغذیه، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) naghmeh3162@gmail.com

فرشته شهیدی: دانشیار، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران

مجید کاشف: استاد، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی،
مکمل Q10،
TRF1،
TRF2،
سالمندی

زمینه و هدف: پیری، فرآیند زوال در گذر زمان است. از طرفی شیوع بیماری‌های قلبی با افزایش طول عمر گسترش یافته است. ژن‌های مهمی که در فرآیند پیری نقش دارند، مربوط به فعالیت آنزیم تلومراز است که نقش مهمی در سلامت قلب ایفا می‌کند. تمرینات ورزشی و منظم یک محرک قوی برای سیستم تلومری محسوب می‌شوند. همچنین کوانتریم Q10 یک شبه ویتامین محلول در چربی است، که باعث بهبود عملکرد قلبی عروقی می‌شود. هدف کلی از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل Q10 بر بیان ژن TRF1 و TRF2 بافت قلب موش‌های نر سالمند نژاد ویستار بوده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی، نمونه‌های پژوهش تعداد ۱۷ سر موش با میانگین سنی ۹۲ هفته و میانگین وزنی ۴۲۲ گرم بودند که به صورت تصادفی به ۵ گروه شامل تمرین هوازی (n=۴)، گروه تمرین هوازی-مکمل (n=۴)، گروه شم مکمل (n=۳)، گروه شم تمرین (n=۳) و گروه کنترل (n=۳) تقسیم شدند. سپس پروتکل تمرین هوازی، به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته اجرا گردید. موش‌های هر گروه ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین تشریح شدند و عضله قلب برای اندازه گیری ژن‌های TRF1 و TRF2 به روش Real time-PCR برداشته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی شفه انجام گردید ($P \leq 0.05$).

یافته‌ها: براساس نتایج بدست آمده، پس از شش هفته تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل Q10 بر بیان ژن TRF1 و TRF2 در بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود داشت ($P \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری: به طور کلی پژوهش حاضر نشان داد تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل Q10 بیان ژن‌های TRF1 و TRF2 در بافت قلب را افزایش می‌دهد. بنابراین با توجه به نتیجه فوق، احتمالاً با احتیاط می‌توان تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل Q10 را برای افراد سالمند پیشنهاد داد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Eskandarizadeh N, Shahidi F, Kashif M. An Experimental Study of the Effect of Six Weeks of Aerobic Exercise along with Q10 Supplementation on TRF1 and TRF2 Gene Expression in Heart Tissue of Aged Wistar Male Rats. Razi J Med Sci. 2023;30(6): 83-93.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.



Original Article

An Experimental Study of the Effect of Six Weeks of Aerobic Exercise along with Q10 Supplementation on TRF1 and TRF2 Gene Expression in Heart Tissue of Aged Wistar Male Rats

✉ **Naghmeh Eskandarizadeh:** MA, Sport Science Faculty, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran (*Corresponding author) naghmeh3162@gmail.com
Fereshte Shahidi: Assistant Professor, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran
Majid Kashif: Professor, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Aging is a process of deterioration over time. On the other hand, the prevalence of heart diseases has increased with the increase in life expectancy. Important genes that play a role in the aging process are related to telomerase activity, which plays an important role in heart health. are considered a strong stimulant for the telomere system. Also, coenzyme Q10 is a fat-soluble vitamin, which improves cardiovascular function. The general purpose of this research is to investigate the effect of six weeks of aerobic training along with Q10 supplementation on TRF1 and TRF2 gene expression. Heart tissue was from aged male Wistar rats.

Methods: The current study was a developmental study and its method was an experimental one. The statistical population of the current study was 17 old Wistar male mice aged 88 to 96 weeks with an average weight of 404 grams from Razi Vaccine and Serum Research Company. This research was conducted in the physiology laboratory of Shahid Rajaei Tarbiat University. All mice had the same environmental conditions in terms of air temperature (25 ± 2) degrees Celsius, relative humidity (55 ± 5) and day-night cycle (12-12 hours) of light and darkness. The samples were randomly divided into 5 groups including 3 groups of three (exercise sham-supplement sham-control) and two groups of four (aerobic exercise-aerobic exercise and supplement). Laboratory animals were used and approved by the research ethics committee of the Research Institute of Physical Education and Sports Sciences (Ethics ID: IR.SSRC.REC.1401.051) and conducted in the laboratory of the Faculty of Sports Sciences of Tarbiat University, Shahid Rajaei. This study was conducted with a post-test design for measuring TRF1 and TRF2 and a pre-test-post-test design for measuring Vpeak and lee index. The independent variables of the research included aerobic exercise and Q10 supplement, and the dependent variables included TRF1 gene and TRF2 gene.

At the beginning of the study, the animals were familiarized with the environment and trained on a treadmill for two weeks. Finally, after the last familiarization session and after 48 hours of rest, Vpeak [the maximum amount of VO_2 (oxygen consumption) during an exercise test is increasing in which all VO_{2max} criteria are not fulfilled (11) and the Lee index of all subjects were measured. The incremental test started with a speed of 5 m/min and a speed equivalent to 5 m/min was added every three minutes. The time to reach fatigue was determined by the mice's inability to run on the treadmill. Based on the maximum speed obtained, the training protocol was designed for six weeks and five sessions per week for the training groups, and then the training protocols were started (1, 2). Vpeak is measured every two weeks to determine training intensity (14). The program of moderate intensity aerobic training (MICT) is as follows: in the first week, it was performed with an intensity of 65% of Vpeak for 15 minutes, and in the sixth week, it reached an intensity of 70% of Vpeak in 30 minutes: the subjects before starting the

Keywords

Aerobic exercise,
Q10 supplement,
TRF1,
TRF2,
Aging

Received: 08/07/2023

Published: 09/09/2023

protocol with an intensity of 40-50% of V_{peak} was heated for 5 minutes and cooled down after completing the protocol.

The sham group was given sesame oil by gavage to give stress. The aerobic exercise-supplement group was given 20 mg of fat-soluble Q10 supplement per kilogram of body weight combined with 0.5 cc of sesame oil by gavage for 42 days. The bodyweight was given to the aerobic exercise group. The supplement was prepared from its manufacturing company called Nano Kimia Salamat (15, 16).

48 hours after the end of the protocols and the last training session, V_{peak} and Lee's index were measured, and also the height and weight of the mice were measured every week. Nasoanal length[cm] $\times 1000$ was used. 48 hours after the last training session, the samples were anesthetized with a combination of xylazine 5 to 10 mg/kg and ketamine 50 to 100 mg/kg. Then the heart tissue was extracted and washed with PBS and transferred to a negative 80 centigrade freezer and then transferred to the laboratory for tissue analysis using standard kits for gene expression by PCR method (2, 3, 17).

Specialized laboratory processes were performed to measure the expression level of TRF1 and TRF2 genes and to measure telomere length using Real time-PCR method. Quantitative real time-PCR was used to measure the gene expression levels using special primers. Amplification of TRF2 and TRF1 genes as well as GAPDH reference gene was done to measure gene expression by real time PCR based on the standard method. To measure the decrease or increase in the expression of TRF1 and TRF2 genes, its expression was compared with the expression of internal control genes. For this purpose, F and R primers and cDNA were added to the master mix and the final volume was prepared for Real time PCR reaction. The primers used were prepared from Cinagen company, made in Iran. (18, 19) Then the real time PCR process was performed using the QIAGEN machine and each reaction was performed in duplicate. After the reaction, the raw data was extracted and the amount was calculated. Expression of genes was done using method $2^{-\Delta\Delta Ct}$. (20)

After collecting the raw data, the Shapiro-Wilk test was used to check the normality of the data distribution. Then, in order to statistically analyze the data and compare between the groups two-way ANOVA test was used, and because the groups were unequal, the Scheffe test was used. Correlated T-test was used to check the changes of stabilizing variables. All statistical calculations were done using SPSS26 software at a significant level of $P \leq 0.05$. Excel2013 software was used to draw graphs.

Results: Based on the obtained results, there was a significant difference between the groups after six weeks of aerobic training along with Q10 supplementation on TRF1 and TRF2 gene expression. ($P \leq 0.05$)

Conclusion: In general, the present study showed that aerobic exercise along with Q10 supplementation increases the expression of TRF1 and TRF2 genes in heart tissue. Therefore, according to the above result, it is possible to cautiously recommend aerobic exercise along with Q10 supplementation for the elderly.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Eskandarizadeh N, Shahidi F, Kashif M. An Experimental Study of the Effect of Six Weeks of Aerobic Exercise along with Q10 Supplementation on TRF1 and TRF2 Gene Expression in Heart Tissue of Aged Wistar Male Rats. Razi J Med Sci. 2023;30(6): 83-93.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

پیری یا سالخوردگی بیولوژیکی، فرآیند زوال و کاهش نیروی موجود زنده در گذر زمان است (۱، ۲). ژن‌های مختلفی در شروع و ادامه فرآیند پیری نقش دارند که از مهم‌ترین آن‌ها ژن‌های مربوط به فعالیت آنزیم تلومراز است (۳). شیوع بیماری‌های قلبی با افزایش طول عمر و سن بسیار گسترش یافته‌اند (۱). بیماری‌های قلبی عامل اصلی مرگ و میر در جهان است و اغلب با از دست دادن سلول‌های قلبی همراه است که می‌تواند با کاهش طول تلومر توجیه شود. عوامل گوناگونی مثل از دست دادن پروتئین‌های تلومر، فشار اکسایشی و هیپوکسی وجود دارد که باعث کاهش تلومر و عملکرد قلب می‌شود. در مقابل افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها، محدودیت کالری و فعالیت ورزشی می‌تواند از هردو سایش تلومر قلبی و پیشرفت بیماری قلبی جلوگیری کند (۴)، همچنین فعالیت و طول آنزیم تلومراز در مایوسیت‌های موش‌های پیر کاهش می‌یابد. مهم‌ترین ویژگی عملکردی مجموعه تلومریک، محافظت انتهای کروموزوم از تجزیه شدن است. پروتئین‌های مهمی که ساختار تلومریک را تشکیل می‌دهند شامل عوامل اتصالی تکراری تلومر با ایزوفرم 1 و 2 (TRF:1,2) هستند. TRF1 نقش اصلی محافظت از تلومر را برعهده دارد و علاوه بر نقش محافظت، به شکل‌گیری حلقه تلومری کمک می‌کند. پروتئین TRF2 برای حفظ ساختار انتهای کروموزوم و در نهایت طول عمر مهم است (۵).

از طرفی در سال‌های اخیر استفاده از مکمل یاری کوآنزیم Q10 (Coenzyme Q10, also known as CoQ10), is a compound that helps produce energy in cells) در افراد ورزشکار و بیمار به طور گسترده‌ای افزایش یافته است. این ترکیب چندین نقش مهم در بدن ایفا می‌کند که شامل انتقال الکترون‌ها در زنجیره تنفسی میتوکندری و در نتیجه تولید انرژی، داشتن نقش آنتی‌اکسیدانی و پیشگیری از بازسازی سایر آنتی‌اکسیدان‌ها، تاثیر بر نفوذپذیری غشاء سلول و تحریک رشد سلول و ممانعت از مرگ آن است. سنتز درونی و مصرف آن از طریق رژیم غذایی از کمبود آن در افراد سالم جلوگیری می‌کند، ولی سطوح و توانایی تولید آن در بافت با افزایش سن و در عضله قلبی بیماران با

نارسایی قلبی کاهش، به طوریکه با کمبود هرچه بیشتر آن در بدن، شدت بیماری افزایش می‌یابد. از این رو با در نظر گرفتن دانسته‌های موجود پیرامون فعالیت بدنی و وظایف کوکیوتن در بدن، این فرضیه که تمرین و مکمل دهی کوکیوتن ممکن است باعث حاصل ضرب دوگانه و کاهش فشارخون و ضربان قلب استراحتی و نهایتاً بهبود کیفیت زندگی بیماران شود، مطرح شده است (۶). سطوح پایین Q10 در بیماری‌های قلبی و عروقی حاد همراه با نرخ مرگ و میر بالاتر بوده است. استفاده از Q10 و نقش آن در سنتز ATP، کاهش استرس اکسایشی، تنظیم کننده فعالیت‌های میتوکندریایی و کانال‌های وابسته به کلسیم باعث کاهش پاسخ‌های التهابی اثرات سودمند آنتی‌اکسیدانی و در نهایت بهبود عملکرد قلبی عروقی می‌شود (۷).

از بین عوامل موثر بر فعالیت آنزیم تلومراز، فعالیت بدنی منظم دارای نقش مهمی است. فعالیت بدنی منظم با افزایش طول عمر همراه است (۱). از آنجایی که فعالیت بدنی منظم و ورزش به عنوان فشارزاهای محیطی، آثار مثبتی بر سلامت دارند چند مطالعه، نقش فعالیت بدنی و ورزش بر تغییرات زیستی تلومر را بررسی کرده‌اند. این نظریه که ورزش آثار پیری را کاهش می‌دهد، به وضوح اثبات شده است (۸). هدف از این مطالعه تعیین اثر تمرینات هوازی و استفاده از مکمل Q10 بر بیان ژن TRF1 و TRF2 بافت قلب موش‌های صحرایی نر پیر خواهد بود. ورزش مزمن می‌تواند بیان کاهش یافته پناهگاه‌ها را خنثی کند و بنابراین به ثبات تلومرها کمک می‌کند. در راستای این نتایج، پژوهشگران گزارش تنظیم مداوم پروتئین‌های تثبیت کننده تلومر قلب (TRF2 و TRF1) (telomerase reverse transcriptase The TERT gene provides instructions for making one component of an enzyme called telomerase) پس از ۶ ماه ورزش روزانه در حال اجرا را دادند. در کنار هم، این تاثیرات منجر به کاهش قابل توجهی از کاردیومیوسیت‌های آپوپتوتیک در قلب موش‌های ورزشی می‌شود (۹). حفظ و نگهداری تلومر با ورزش و سایر نتایج مفید سلامتی به احتمال زیاد نتیجه یک اثر تجمعی در مدت زمان طولانی است. با این حال، حتی یک تمرین نشان داده شده است که باعث افزایش سطح پروتئین TRF1 و

TRF2 می‌شود (۹).

بدون تردید افزایش جمعیت سالمندان، هزینه اجتماعی و اقتصادی زیادی به همراه دارد (۱۰). امروزه، بیماری‌های قلبی عروقی (Cardiovascular diseases-CVD)، یکی از شایع‌ترین دلایل مرگ و میر در سراسر جهان هستند (۹). پیری یکی از ریسک فاکتورهای مهم برای بیماری‌های قلبی می‌باشد به گونه‌ای که اکثریت بیماران مبتلا، سالمند هستند. تغییرات پیش رونده پاتولوژیکی در ساختار و عملکرد میوکارد نیز با افزایش سن بوجود می‌آید (۱۱). روند پیری کاملاً شناخته نشده باقی مانده است. درک بهتر مکانیسم‌های بیولوژیکی پیچیده و بهم پیوسته پیری به توسعه مداخلاتی کمک می‌کند که روند پیری را به تاخیر می‌اندازند. عوامل محیطی و سبک زندگی، مانند فعالیت‌های بدنی، تغذیه، استرس و استعمال دخانیات، عوامل اصلی تعیین کننده روند پیری هستند (۹). بنابراین این مطالعه به دنبال یافتن پاسخی برای این پرسش است که آیا تمرین هوازی و استفاده از مکمل Q10 می‌تواند بر روی فاکتورهای مرتبط با سالمندی در موش‌های سالمند تاثیر مفیدی داشته باشد یا خیر؟

روش کار

مطالعه حاضر از نظر هدف توسعه‌ای و روش آن از نوع تجربی بود. جامعه آماری مطالعه حاضر ۱۷ سر موش نر سالمند نژاد ویستار در سن ۸۸ تا ۹۶ هفته با میانگین وزن ۴۲۲ گرم بودند که از شرکت تحقیقاتی واکسن و سرم رازی تهیه شد. این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی انجام شد. همه‌ی موش‌ها از شرایط محیطی مانند دمای (22 ± 2) درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی (55 ± 5) درصد و سیکل شبانه‌روزی (۱۲-۱۲ ساعت) رو شنایی و تاریکی یکسان برخوردار بودند. نمونه‌ها به صورت تصادفی در ۵ گروه شامل ۳ گروه سه تایی (شم تمرین-شم مکمل-کنترل) و دو گروه چهارتایی (تمرین هوازی-تمرین هوازی و مکمل) تقسیم شدند. تعداد نمونه‌ها در گروه‌های کنترل و شم کمتر از گروه‌های تمرین بود تا به علت مسائل اخلاقی تعداد کمتری نمونه‌ی حیوانی

کشته شود. تمام مراحل اجرای پژوهش، مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و توسط کمیته اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تصویب (شناسه اخلاق: IR.SSRC.REC.1401.051) و در آزمایشگاه دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی انجام شد. این مطالعه با طرح پس آزمون برای اندازه گیری TRF1 و TRF2 و طرح پیش آزمون _ پس آزمون برای اندازه گیری Vpeak و شاخص لی انجام شده است. متغیرهای مستقل پژوهش شامل، تمرین هوازی و مکمل Q10 بودند و متغیرهای وابسته شامل، ژن TRF1 و ژن TRF2 بودند.

در ابتدای مطالعه حیوانات به مدت دو هفته تحت آشناسازی با محیط و تمرین با تردمیل قرار گرفتند. در نهایت بعد از آخرین جلسه آشناسازی و بعد از ۴۸ ساعت استراحت، Vpeak (بالترین میزان سرعت در یک آزمون ورزشی فزاینده است) (۱۲). و شاخص لی آزمودنی‌ها اندازه گیری شد. آزمون فزاینده با سرعت ۵ متر بر دقیقه شروع و هر سه دقیقه یکبار سرعتی معادل با ۵ متر بر دقیقه به آن افزوده شد. زمان رسیدن به خستگی با عدم توانایی موش‌ها در دویدن روی تردمیل مشخص شد. بر اساس سرعت حداکثر به دست آمده پروتکل تمرینی به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته برای گروه‌های تمرینی طراحی شد و سپس پروتکل‌های تمرینی آغاز شد (۱، ۲). هر دو هفته یکبار Vpeak اندازه گیری می‌شود تا شدت تمرین مشخص شود (۱۳). برنامه تمرین هوازی با شدت متوسط (Moderate intensity continuous training - MICT) به این صورت بود که در هفته اول با شدت ۶۵ درصد Vpeak به مدت ۱۵ دقیقه روی تردمیل انجام شد، در هفته دوم با شدت ۶۵ درصد Vpeak به مدت ۲۰ دقیقه، در هفته سوم با شدت ۷۰ درصد Vpeak به مدت ۲۵ دقیقه انجام شد و از هفته چهارم تا آخر هفته ششم به شدت ۷۰ درصد Vpeak در مدت ۳۰ دقیقه رسید: آزمودنی‌ها قبل از شروع پروتکل با شدت ۴۰-۵۰ درصد Vpeak به مدت ۵ دقیقه گرم می‌کردند و بعد از اتمام پروتکل به همین صورت سرد می‌کردند.

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

| نام ژن | توالی پرایمر |
|------------|-------------------------|
| Terf1-RN-F | CAGGAAAGTCTCTTGATGCACAG |
| Terf1-RN-R | GCCCATTTCCATACACACAGC |
| Terf2_RN-F | TGGATGACACGGAGCCCTAC |
| Terf2_RN-R | GGCTCTCTGAGTGGTTTCTCC |
| GAPDH-RN-F | CCGCATCTTCTGTGTCAGTG |
| GAPDH-RN-R | CGATACGGCCAAATCCGTTCC |

PCR بر اساس روش استاندارد صورت گرفت. برای اندازه گیری کاهش یا افزایش بیان ژن های TRF1 و TRF2، بیان آن با بیان ژن های کنترل داخلی مقایسه شد. به این منظور از هر کدام از پرایمرهای F و R و cDNA به master mix اضافه شد و حجم نهایی برای واکنش Real time PCR آماده شد. پرایمرهای مورد استفاده از شرکت سیناژن ساخت ایران تهیه شد (۱۸، ۱۹) (جدول ۱) سپس فرآیند Real time PCR با استفاده از دستگاه QIAGEN اجرا شد و هر واکنش به صورت duplicate انجام شد. پس از انجام واکنش، داده‌های خام استخراج شد و محاسبه میزان بیان ژن‌ها با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام شد (۲۰).

تجزیه و تحلیل آماری: پس از جمع آوری داده‌های خام، به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. سپس به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (two-way-ANOVA) و به دلیل نابرابر بودن گروه‌ها از آزمون شفه استفاده شد. از آزمون T همبسته برای بررسی تغییرات متغیرهای تثبیت کننده استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS26 در سطح معنی داری $P \leq 0/05$ صورت گرفت. جهت رسم نمودارها از نرم افزار پریم ۹ استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج نشان داد، وزن اولیه گروه‌ها با یک دیگر اختلاف معناداری نداشت ($P \leq 0/05$). اما در پایان پژوهش، میانگین تغییرات وزن موش در گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی-مکمل کاهش و در مابقی گروه‌ها افزایش پیدا کرد. همچنین میانگین تغییرات قد

به گروه ششم مکمل برای دادن استرس، روغن کنجد به صورت گاوژ داده شد. به گروه تمرین هوازی-مکمل، ۲۰ میلی گرم مکمل Q10 محلول در چربی به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن با ترکیب در ۰/۵ سی سی روغن کنجد در طی ۴۲ روز به صورت گاوژ داده شد (میزان دوز مصرفی مکمل Q10، ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به گروه تمرین هوازی-مکمل داده شد. مکمل از شرکت سازنده اش به نام شرکت نانو کیمیا سلامت تهیه شد) (۱۴، ۱۵).

۴۸ ساعت بعد از پایان پروتکل‌ها و آخرین جلسه تمرینی، V_{peak} و شاخص لی اندازه گیری شد و همچنین هر هفته قد و وزن موش‌ها اندازه گیری شد (برای اندازه گیری شاخص لی از فرمول زیر استفاده شد. $Lee\ index = 3\sqrt{\text{body weight (g)}} \times \text{Nasoanal length (cm)} \times 1000$)

استخراج نمونه و روش اندازه گیری: ۴۸ ساعت

بعد از آخرین جلسه تمرین نمونه‌ها با ترکیب زیلازین ۵ تا ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم و کتامین ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس بافت قلب استخراج شده و با PBS شستشو شد و به فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی گراد منتقل و سپس به آزمایشگاه برای آنالیز بافت‌ها توسط کیت‌هایی استاندارد برای بیان ژن با روش PCR منتقل شد (۱، ۱۶، ۱۷).

فرآیندهای تخصصی آزمایشگاهی جهت اندازه گیری میزان بیان ژن های TRF1 و TRF2 و سنجش طول تلومر با استفاده از روش Real time-PCR انجام شد. برای اندازه‌گیری سطوح بیان ژن از روش کمی Real time-PCR با استفاده از پرایمرهای مخصوص انجام شد. تکثیر ژن های TRF1، TRF2 و نیز ژن رفرنس GAPDH برای اندازه گیری بیان ژن توسط Real time

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد وزن، قد و شاخص لی

| متغیر | گروه | پیش آزمون | پس آزمون |
|-------------------------|------------|---------------|--------------|
| وزن (گرم) | هوازی | ۴۴۰,۵±۲۳,۰۴ | ۴۱۸,۸±۱۹,۸۹ |
| | هوازی-مکمل | ۴۳۸,۵۰±۵۲,۹۶ | ۴۱۳,۲۵±۴۱,۱۴ |
| | کنترل | ۴۱۷,۶۷±۳۳,۵۶ | ۴۴۶,۰۰±۱۴,۷۳ |
| شم تمرین | شم تمرین | ۴۰۵,۳۳±۴۱,۰۶ | ۴۱۹,۲۶±۲۰,۰۲ |
| | شم مکمل | ۴۰۴,۰۰±۶,۵۵ | ۴۶۶,۵۰±۱۶,۵۵ |
| | هوازی | ۲۴,۷۰±۱,۱۲ | ۲۶,۳۲±۱,۴۱ |
| قد (سانتی متر) | هوازی-مکمل | ۲۳,۴۲±۱,۴۵ | ۲۵,۷۰±۱,۳۶ |
| | کنترل | ۲۲,۵±۰,۵ | ۲۴,۴۰±۰,۸۵ |
| | شم تمرین | ۲۳,۸۰±۰,۷۲ | ۲۵,۱۰±۰,۵۲ |
| شاخص لی (گرم/سانتی متر) | شم مکمل | ۲۳,۳۳±۱,۱۵ | ۲۴,۹۳±۱,۳۲ |
| | هوازی | ۳۰,۸,۴۲±۱۴,۲۳ | ۲۸۴,۷۱±۱۴,۳۷ |
| | هوازی-مکمل | ۳۲۴,۴۷±۱۵,۶۴ | ۲۹۰,۰۵±۱۴,۹۲ |

با توجه به نمودار ۳ نشان داده شده است که میزان Vpeak در بعد از تمرین ($p=0/0067$) و بعد از تمرین به همراه مکمل Q10 ($p=0/0027$) افزایش یافته و این اختلاف معنی دار است ($P\leq 0/05$).

بحث

با توجه به نتایج آماری مشخص گردید که تمرین هوازی و مکمل Q10 بر روی ژن TRF1 و TRF2 اثرگذاری معناداری دارند. این نتایج با پژوهش خدادوست و همکاران که نشان داد انجام تمرینات تناوبی HIIT و LIIT به طور مشابه موجب بهبود سیستم تلموری در عضلات اسکلتی توسط TRF2 می شود (۱۹)، (۲۰)، تحقیق شیرخانی و همکاران که نتایج نشان داد که تمرین های مقاومتی بر بیان ژن TERT و TFR2 موثر بودند در چکیده انگلیسی (۲۱)، تحقیق گیلانی و همکاران، که هشت هفته تمرین هوازی در مقایسه با ازن درمانی با افزایش بیان ژن TRF2 و TERT در بافت قلب تاثیرگذار بود (۱۶) و همچنین این نتیجه با پژوهش چمنی و همکاران (۲۲) و رنر و همکاران (۲۳) همسو بود.

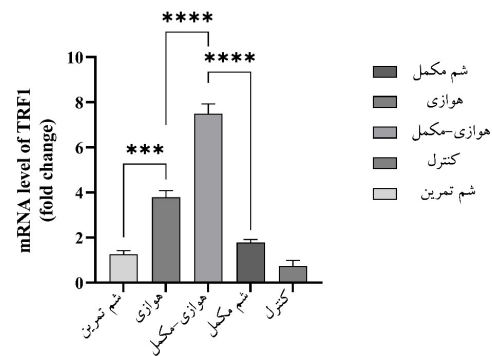
فعالیت ورزشی ممکن است بیان ترانسکرپتاز معکوس تلموراز و TRF2 را افزایش دهد که می تواند به افزایش فعالیت پروتئین تثبیت شده تلمور و تلموراز منجر شود. همچنین فعالیت بدنی ممکن است خطر

موش ها در پایان پژوهش در تمامی گروه ها افزایش پیدا کرد. در اینجا، وزن بدن، قد و شاخص لی در جدول ۲ آورده شده است. درصد تغییرات شاخص لی در گروه تمرین هوازی -۷,۶۸ و در گروه تمرین هوازی-مکمل ۱۰,۶۱- بوده است. با توجه به جدول ۲ نشان داده شده است که میزان شاخص لی در بعد از تمرین کاهش یافته ولی این اختلاف معنی دار نیست ($P\geq 0,05$).

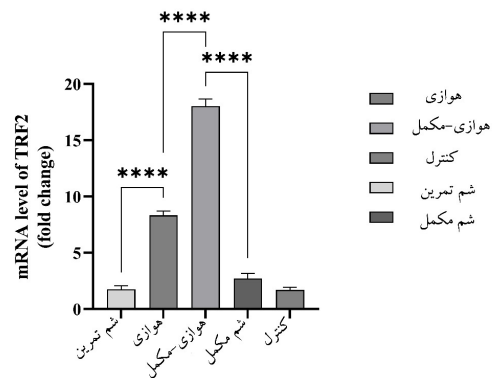
با توجه به نمودار ۱ این موضوع مشخص می گردد که بین تمامی گروه های پژوهش تفاوت معناداری وجود دارد ($P\leq 0/05$)، بجز گروه شم تمرین و شم مکمل و گروه کنترل که بین آنها تفاوت معناداری وجود ندارد ($P> 0/05$). و این امر نشان می دهد که هم تمرین هوازی ($p=0/0006$) و هم تمرین هوازی-مکمل Q10 ($p=0/0001$) تاثیر زیادی روی متغیر TRF1 دارند. این بدین معناست که متغیر های تمرین هوازی و مکمل Q10 بر روی TRF1 تاثیرگذار هستند.

با توجه به نمودار ۲ این موضوع مشخص می گردد که بین تمامی گروه تفاوت معناداری وجود دارد ($P\leq 0/05$) بجز گروه شم تمرین و شم مکمل و گروه کنترل که بین آنها تفاوت معناداری وجود ندارد. ($P> 0/05$) و این امر نشان می دهد که هم تمرین هوازی ($p=0/0001$) و هم تمرین هوازی به همراه مکمل Q10 ($p=0/0001$) تاثیر زیادی روی متغیر TRF2 دارند.

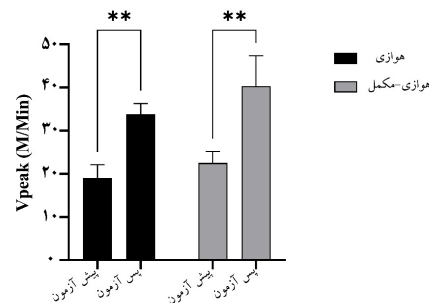
تلومراز ناشی از اثرات تجمعی هر وهله و جلسه تمرینی است که می تواند برای پیشگیری از بیماری های قلبی - عروقی تجویز شود. با این وجود، بهترین نوع تمرینات ورزشی که می تواند با اثر بر طول تلومراز هنگام پیری، عملکرد قلب را متاثر کنند؛ بسیار دارای اهمیت است (۱). نتایج تحقیق اسکندری و همکاران نشان داد که تمرینات تداومی با افزایش بیشتر TFR2 و TERT در بافت قلب موش های صحرایی نسبت به تمرینات تناوبی شدید همراه می شود که بیانگر تاثیر بیشتر این نوع پروتکل تمرینی در حفظ طول تلومر است. بخشی از سازگاری های تلومر به تمرینات استقامتی هنگام پیری را باید به مسیره های MAPK (Mitoren-achvated) فعال شدن (profem kinase) در بافت قلب نسبت داد. فعال شدن MAPK منجر به تغییر فعالیت و موقعیت قرارگیری (سیتوپلاسم در مقابل هسته) انواعی از عامل های رونویسی می شود که با تغییر بیان ژن اجزاء تلومر ارتباط دارد (۱). از طرفی افزایش بیان ژن TRF2 را نیز می توان به استاتین هم نسبت داد (۲۵). از آن جایی که کمپلکس پروتئینی Ku70/ ۸۰ با کمپلکس پروتئینی شلترین تعامل دارد. بعد از هفت روز فعالیت دونده های مارتن، این مجموعه پروتئینی نیز افزایش پیدا کرد. یکی از مهم ترین عملکردهای مجموعه پروتئینی Ku70/۸۰ کمک به ترمیم DNA دو رشته ای است (۲۶). سازوکار بالقوه افزایش بیان Ku70/ ۸۰ و مجموعه شلترین در منوسیت های خون محیطی فعال سازی نیتریک اکساید اندوتلیالی است (۲۳). همچنین ورزش می تواند با تاثیر بر نیتروژن اکساید، استرس اکسایشی و آپوپتوز را در بافت های گوناگون از راه تثبیت ژنوم به وسیله افزایش بیان ژن پروتئین های متصل به تلومر و تلومراز کاهش دهد (۲۳، ۲۷). پیام رسانی نیتریک اکساید از راه cGMP می تواند PI3K و پروتئین کیناز B (AKT) را فعال کند (۲۸). همه ی شیوه های تمرینی می توانند MAPK و مسیر mTOR را فعال کنند. هر دو این مسیره ها تنظیم بیان چندین ژن را به عهده داشته و در پیری سلولی نقش دارند (۲۹). جالب توجه آن است که این مسیره ها در پیام رسانی انسولین، سنتز پروتئین، رشد و بقا سلول موثر بوده و هنگام مطالعه تلومر از



نمودار ۱- مقادیر بیان نسبی ژن TRF1 در مقایسه با گروه کنترل ($P \leq 0.05$)



نمودار ۲- مقادیر بیان نسبی ژن TRF2 در مقایسه با گروه کنترل ($P \leq 0.05$)



نمودار ۳- تغییرات درون گروهی Vpeak پیش از موزن و پس از موزن (متر بر دقیقه)

مقاومت به انسولین و چاقی را کاهش دهد که می تواند باعث کاهش سرعت تجزیه تلومر شود (۱۶، ۲۴). همچنین به نظر می رسد تاثیر ورزش بر روی طول

بیشتر دارد تا جنبه های مرتبط با سلامتی آن بیشتر مشخص شود (۳۴). همچنین می توان انتظار داشت استفاده از خاصیت آنتی اکسیدانی مکمل Q10 با حذف رادیکال های آزاد باعث کاهش فشار در بافت قلب می شوند. و به عنوان راهکاری مناسب در برطرف کردن فشار اکسایشی و بهبود عملکرد بافت های بدن از جمله قلب مفید است. استفاده از مکمل Q10 احتمالاً به تنهایی می تواند باعث فعال شدن مسیر سیگنالی TRF2 در بافت قلب شود. از جمله محدودیت های مطالعه حاضر می توان به عدم سنجش پروتئین و مقایسه تفاوت های جنسیتی اشاره نمود که پیشنهاد می شود در تحقیقات آتی به آن پرداخته شود.

نتیجه گیری

به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که شش هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل Q10 بر بیان ژن های تلومری به خصوص TRF2 بافت قلب موش های نر سالمند نژاد ویستار تاثیر معناداری دارد. پس به نظر می رسد تمرین هوازی و مکمل Q10 هر دو می توانند در کاهش روند پیری و بهبود عملکرد قلبی و عروقی اثرگذار باشند. احتمالاً موارد مشاهده شده در آزمایش و نتایج مربوط به داده های استخراج شده در بافت قلب موش های نر نژاد ویستار سالمند می تواند در انسان نیز مصداق داشته باشد. همچنین باید این موضوع را نیز در نظر گرفت، که میزان Vpeak به عنوان متغیر تثبیت کننده در بعد از تمرین افزایش یافته و این اختلاف معنی دار است. این موضوع نیز مشخص شد که میزان شاخص لی در بعد از تمرین کاهش یافته است.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی می باشد، از کلیه کارشناسان محترم آزمایشگاه و اساتید گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی تهران تشکر و قدردانی می شود.

اهمیت ویژه ای برخوردارند. برای مثال، نشان داده شده است میزان تلومراز با تغییرات مقادیر MAPK ارتباط دارد (۳۰). ولی پژوهش حاضر با پژوهش سمرارو و همکاران ناهمسو بود (۹). از دلایل ناهمسو بودن می توان، سن نمونه های مورد مطالعه (سن یک عامل در فرسایش بیشتر تلومر محسوب می شود)، زمان مداخلات ورزشی، محرک ورزشی متفاوت (تمرینات تناوبی شدید به دلیل اینکه شدت بالاتری دارند، احتمال تولید رادیکال های آزاد در آن ها نسبت به تمرینات هوازی بیشتر است، در نتیجه ممکن است اثرات متفاوت در طول تلومر ایجاد کند) باشد (۱۸).

استرس اکسیداتیو یکی از عواملی است که بر طول تلومر اثر گذار است. اختلال عملکرد تلومر باعث سرکوب β / 1α -PGC از طریق افزایش پروتئین p53 می شود، که این روند منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری و تولید رادیکال های آزاد می شود که باعث آسیب بیشتر mtDNA و آسیب اکسیداتیو می گردد، در نهایت افزایش رادیکال های آزاد تولیدی باعث آسیب بیشتر به تلومرها می شود؛ بنابراین تلومرها به صورت ویژه در برابر آسیب های اکسایشی شکننده می باشند (۳۱). در اینجا، استفاده از خاصیت آنتی اکسیدانی مکمل Q10 با حذف رادیکال های آزاد باعث کاهش فشار در بافت قلب می شود و به عنوان راهکاری مناسب در برطرف کردن فشار اکسایشی و بهبود عملکرد بافت های بدن از جمله قلب است. کوآنزیم Q10 بخش جدایی ناپذیر زنجیره تنفسی است و همان جایی قرار دارد که رادیکال های آزاد دقیقاً تولید می شوند، بنابراین خواص آنتی اکسیدانی آن در میتوکندری بسیار مهم است (۳۲). استفاده از مکمل Q10 احتمالاً می تواند با جلوگیری از افزایش رادیکال های آزاد از تجمع آسیب DNA جلوگیری کند و باعث فعال شدن مسیر سیگنالی TRF2 در بافت قلب شود و در کاهش فرسایش تلومر نقش داشته باشد (۳۳).

درک چگونگی تنظیم طول تلومر با فعالیت ورزشی در بافت قلب برای افزایش طول عمر اهمیت زیادی دارد. سازوکارهای طولانی تر شدن تلومر و بیان ژن های آن با ورزش، از جمله موضوعاتی است که نیاز به تحقیقات

References

- 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.
- Rezaei R, Nourshahi M, Khodaghali F, Haghparast A, Nasoohi S, Bigdeli M, et al. Differential impact of treadmill training on stroke-induced neurological disorders. *Brain Injury.* 2017;31(13-14):1910-7.
- Hamideh Mohammadtaheri SH, Mehdi, Mahdavi M. The effect of α -tocopherol on telomerase activity and induction of lymphocyte proliferative responses between young and elderly individuals. *Daneshvar Med.* 2020;28(4):35-45.
- Gilani A, Gaeini A, Nouri R. Effect of aerobic exercise training and ozone therapy on trf2 and tert gene expressions in heart tissue of rats with osteoarthritis. *Stud Med Sci.* 2020;31(3):169-77.
- Marzieh Tavalae Zahra D-n, Tayebbeh Izadi, Mohammad hosein Nasr-esfahani. Role and function of telomere in reproduction. *J Sabzevar Univ Med Sci.* 2019;26(4):461-76.
- Samira Esteki kE, Mandana Gholami, Rozita Jalalian. The effect of coenzyme Q10 and exercise training on some indicators of the hemodynamic for patients with heart failure. *Med J Mashhad Univ Med Sci.* 2018;61(2):950-7.
- Mantle D, Hargreaves I. Coenzyme Q10 and degenerative disorders affecting longevity: an overview. *Antioxidants.* 2019;8(2):44.
- Dimauro I, Scalabrin M, Fantini C, Grazioli E, Valls MRB, Mercatelli N, et al. Resistance training and redox homeostasis: Correlation with age-associated genomic changes. *Redox Biol.* 2016;10:34-44.
- Semeraro MD, Smith C, Kaiser M, Levinger I, Duque G, Gruber H-J, et al. Physical activity, a modulator of aging through effects on telomere biology. *Aging (Albany NY).* 2020;12(13):13803.
- Carvalho ACA, Mendes MLT, da Silva Reis MC, Santos VS, Tanajura DM, Martins-Filho PRS. Telomere length and frailty in older adults—A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2019;54:100914.
- Martínez P, Blasco MA. Heart-breaking telomeres. *Circul Res.* 2018;123(7):787-802.
- Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Prev Cardiol.* 2007;14(6):753-60.
- Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol.* 1979;47(6):1278-83.
- Samimi F BM, Eftekhari E, Jalali Mashayekh F. Effect of Coenzyme Q10 Supplementation on Liver Total Oxidant/Antioxidant Status in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *J Arak Uni Med Sci* 2019;22(4):28-39.
- Mahdi Modir FD, Nader Tanideh, Mahdi Mohamadi, Hengameh Firouzmand. The effects of short and middle times aerobic exercise with high intensities on ingredients antioxidant in female Sprague Dawley rats. *Med J Mashhad Univ Med Sci.* 2014.
- Gilani A GA, Nouri R. Effect of aerobic exercise training and ozone therapy on trf2 and tert gene expressions in heart tissue of rats with osteoarthritis. *Stud Med Sci.* 2020;31(3):169-77.
- Shirkhani Y PM, Azarbayjani M A, Matinhomae 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. *CMJA.* 2021;10(4):396-409.
- 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 Series A: Biomed Sci Med Sci.* 2012;67(9):911-26.
- Khodadoost M SS, Arjmand S, Nikbakht M. 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. *JRUMS.* 2022;21(1):49-70.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. *Methods.* 2001;25(4):402-8.
- Shirkhani Y PM, Azarbayjani M A, Matinhomae 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. *CMJA.* 2021;10(4):396-409.
- Chamani A GA, Nuri R, Kordi M R, Choobineh S. The effects of six-week small-sided soccer games on telomere length and TRF2 gene expression in the middle-age males. *Razi J Med Sci.* 2019;25(12):8-16.
- 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.
- Tucker LA. Physical activity and telomere length in US men and women: An NHANES investigation. *Prev Med.* 2017;100:145-51.
- Spyridopoulos I, Haendeler J, Urbich C, Brummendorf TH, Oh H, Schneider MD, et al. Statins enhance migratory capacity by upregulation of the telomere repeat-binding factor TRF2 in endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2004;110(19):3136-42.
- Li H, Vogel H, Holcomb VB, Gu Y, Hasty P. Deletion of Ku70, Ku80, or both causes early aging

without substantially increased cancer. *Mol Cell Biol.* 2007;27(23):8205-14.

27. 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 College Cardiol.* 2008;52(6):470-82.

28. Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Nitric oxide signaling participates in norepinephrine-induced activity of neuronal intracellular survival pathways. *Life Sci.* 2007;81(16):80-90.

29. Blagosklonny MV. TOR-driven aging: speeding car without brakes. *Cell Cycle.* 2009;8(24):4055-9.

30. Narala SR, Allsopp RC, Wells TB, Zhang G, Prasad P, Coussens MJ, et al. SIRT1 acts as a nutrient-sensitive growth suppressor and its loss is associated with increased AMPK and telomerase activity. *Mol Biol Cell.* 2008;19(3):1210-9.

31. Vecoli C, Borghini A, Andreassi MG. The molecular biomarkers of vascular aging and atherosclerosis: telomere length and mitochondrial DNA4977 common deletion. *Mutat Res.* 2020;784:108309.

32. s v, godarzi, ravan h, dhadnosh. health related aspects of coenzyme Q10. *Teb and Tazkiye.* 2017;23(1):67-76.

33. Zhalehjoon N, Panjehpour M. Biochemical and Genetic Theories of Aging. *Salmand: Iran J Ageing.* 2014;9(3):232-43.

34. 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. *Experim Physiol.* 2017;102(4):397-410.