مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۸، شماره ۸، آبان ۱۴۰۰ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

تغییرات بیان ژن PKa متعاقب سه مدل تمرین تداومی با شدت متوسط، شدید و تناوبی شدید در بافت کبد رت‌های نر نژاد ویستار

ناهید گرام فرد: کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

سعید نقیبی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) sdnaghibi@pnu.ac.ir

محمد شریعت‌زاده جنیدی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، پژوهشگاه علوم ورزشی، تهران، ایران

علی برزگری: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

مینو سعادتمند: کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: تمرینات هوازی اثرات مفیدی بر عملکرد و آنزیم‌های کبد دارد و باعث بهبود متابولیسم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود. به همین علت هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر سه روش تمرینی تمرینات اینتروال با شدت بالا، تمرینات پر شدت و تمرینات با شدت متوسط بر بیان ژن PKa در بافت کبد رت‌های نرجوان نژاد ویستار بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی۳۳±۲۳۷ گرم به‌طور تصادفی به ۴ گروه کنترل، تمرین هوازی با شدت متوسط (MIT)، تمرین هوازی شدید (HIT)، تمرین هوازی تناوبی شدید (HIIT) تقسیم شدند. برنامه‌های تمرینی در گروه‌های تجربی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، نمونه‌برداری از بافت کبد انجام گرفت. بیان ژن PKa در بافت کبد با روش PCr تعیین شد.

یافته‌ها: بیان PKa در هر یک از گروه‌های ورزشی مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۱). در مقایسه سه مدل تمرین مشخص گردید که بیان PKa در گروه MIT نسبت به سایر گروه‌های تمرینی افزایش معنی‌داری داشته است (p=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: هر سه شیوه تمرینی توانست با بهبود بیان ژن‌های مورد مطالعه، تغییرات مطلوبی در کاهش پیامدهای ناشی از آسیب بافت کبد ایجاد نماید. با این حال به نظر می‌رسد که تمرینات MIT تأثیرات مطلوب‌تری داشته است، هرچند در این زمینه به تحقیقات بیشتری نیاز است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: دانشگاه پیام نور

کلیدواژه‌ها

تمرین تداومی با شدت متوسط، تمرین تداومی با شدت شدید، تمرین تناوبی شدید، PKa، کبد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۴

تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۰۸/۱۴

شیوه استناد به این مقاله:

Geramfard N, Naghibi S, Shariatzadeh Joneydi M, Barzegari A, Saadatmand M. Changes in PKa gene expression following three models of continuous training with moderate, high intensity and high intermittent intensity training in liver tissue of male Wistar rats. Razi J Med Sci. 2021;28(8):44-53.

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

Razi Journal of Medical Sciences. 2021;28(8):44-53. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Changes in PKa gene expression following three models of continuous training with moderate, high intensity and high intermittent intensity training in liver tissue of male Wistar rats

Nahid Geramfard: Department of Exercise Physiology, University of Payame Noor, Tehran, Iran
Saeed Naghibi: Department of Exercise Physiology, University of Payame Noor, Tehran, Iran (*Corresponding author) sdnaghibi@pnu.ac.ir
Mohammad Shariatzadeh Joneydi: Department of Exercise Physiology, Institute of Sport Sciences, Tehran, Iran
Ali Barzegari: Department of Exercise Physiology, University of Payame Noor, Tehran, Iran
Minoo Saadatmand: Department of Exercise Physiology, University of Payame Noor, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: The liver is a metabolic organ responsible for the detoxification of various substances. Harmful metabolic products formed in other organs can be indirectly affected. The liver contains proteins and enzymes with large antioxidant capacity. Many biochemical markers are involved in regulating liver behavior; obviously, evaluating the behavior of these markers is effective in identifying mechanisms affecting liver function. Protein kinase-A (PKa) is a hepatic protein marker whose activity is dependent on cellular levels of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and is dependent on the protein kinase AMP Is also famous. PKa So far, several links have been observed between PKa gene expression and cardiovascular disease, hypertension, type 2 diabetes, cancer, and osteoarthritis, which lead to the importance of this protein as one of the influential factors in the level of general health. Thus, tracking PKa signaling can identify pathways and health-related changes. Aerobic exercise has beneficial effects on liver function and improves its metabolism and antioxidant capacity. Following aerobic exercise, hepatic enzyme markers have been shown to significantly decrease and improve liver function in patients. Periodic exercises are an effective approach to improving the capacity of aerobic and anaerobic systems. These exercises have been shown to increase oxidative and glycolytic enzymes. Few studies have compared the different intensities of exercise on cell signaling pathways in liver tissue. On the other hand, studies that have examined PKa have yielded conflicting results. Although in several studies this increase in PKa levels following physical activity has not been observed, aerobic exercise with different intensities seems to have a direct effect on liver factors, but given that the effects of different types Aerobic training with different intensities has been performed on Pka liver markers; Therefore, in this study, following the answer to the question whether there is a significant difference between the three training methods of HIIT, HIT and MIT on the expression of Pka gene in liver tissue?

Methods: In the present study, 32 8-week-old male Wistar rats with an average weight of 237 ±33 g were purchased from the Pasteur Institute. After being transferred to the animal laboratory environment, these animals are housed in transparent polycarbonate cages in an environment with a temperature of 22 ± 1.4 °C, the humidity of 45 to 55%, four heads in each cage with free access to water and closed. Foods were maintained according to a 12-hour sleep-wake cycle. Animals were randomly divided into 5 groups: control group (Co) (8 heads), moderate intensity training (MIT) (8 heads), high-intensity training (HIT) (8 heads), and high-intensity interval training (HIIT) (8 heads)

Keywords
Moderate Intensity Continuous Training,
High Intensity Continuous Training,
High Intermittent Intensity Training,
PKa,
Liver

Received: 05/08/2021
Published: 05/11/2021

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

were divided.
The MIT protocol was performed in such a way that in the first week, 5 minutes of warm-up, 5 minutes of cooling, and 20 minutes of the main body of the exercise, including running at 65% VO2max at a speed of 20 m/min, was added to the training time every week. In the sixth week, the training time reached 37 minutes and remained constant until the end of the eighth. Also, the training speed was unchanged from the first week to the eighth week and was equal to 20 meters per minute.
The HIT protocol in the first week included: 5 minutes of warm-up, 5 minutes of cooling, and 20 minutes of running training with 65% VO2max at a speed of 20 m/min and an increasing slope of the treadmill. The training time was increased every week, so that in the sixth week the training time reached 30 minutes and remained constant until the end of the eighth. On the other hand, the slope of the strip was 2% in the first and second weeks and 2% was added to the slope every 2 weeks to reach 8% in the seventh and eighth weeks. Also, the training speed from the first week to the eighth week was 20 meters per minute and was kept constant.
The HIIT protocol also included 10 minutes of warm-up before the workout, in the first to fourth weeks including 3 intense intermittent runs with an intensity of 90 to 100% VO2max and a speed of 30 meters per minute in 4 minutes and 3 low-intensity intermittent runs. With 50 to 60% VO2max and at a speed of 20 meters per minute in 3 minutes. From the fifth to the eighth week, it also includes 4 intense intermittent runs with an intensity of 90 to 100% VO2max at a speed of 30 meters per minute in 4 minutes and 3 low-intensity intermittent runs with 50 to 60% VO2max at a speed of 20 meters per minute. It took 3 minutes. The main body time of the exercise was 28 minutes per repetition. Mice in the control group did not participate in any exercise program but were placed on a stationary treadmill for 10 to 15 minutes per session to adapt to the environment to create the same conditions.
After in vitro analysis of the samples, descriptive statistics including standard mean and standard deviation and inferential statistics were used to quantitatively describe the data. First, the Shapirovilk test was used to determine the normality of data distribution, and the Leven test was used to determine the homogeneity of variance. Due to the normal distribution of data, parametric tests including one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used at a significance level of $p \geq 0.05$.
Results: The results of one-way analysis of variance showed that there was a statistically significant difference in the expression of Pka gene in the liver tissue of rats in the study groups ($p<0.001$). Findings of the Tukey post hoc test also showed that there was no significant difference in pka gene expression between MIT and HIT groups compared to the HIIT group ($p= 0.746$, $p= 0.565$, respectively). While there is a significant difference between HIIT and control groups ($P = 0.001$), so that in the HIIT group it has increased by 0.004 units compared to the control group. Also, a post hoc test in training groups showed that there was no significant difference in pka gene expression between HIT and MIT groups ($p= 0.364$). However, there was a significant difference in PKa gene expression between MIT and HIT groups compared to the control group ($p= 0.001$), so that in MIT group 0.005 units and HIT group 0.003 units Increased to the control group.
Conclusion: The results of the present study showed that three different training methods (MIT, HIT and HIIT) increased the level of PKa in rat liver tissue and the difference between the effect of the present training protocols and the path of their possible signaling mechanisms is not clear. More research is needed in this area.

Conflicts of interest: None
Funding: Payame-Noor University

Cite this article as:
Geramfard N, Naghibi S, Shariatzadeh Joneydi M, Barzegari A, Saadatmand M. Changes in PKa gene expression following three models of continuous training with moderate, high intensity and high intermittent intensity training in liver tissue of male Wistar rats. Razi J Med Sci. 2021;28(8):44-53.

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

مقدمه

کبد به عنوان یک ارگان متابولیکی و مسئول سم‌زدایی مواد مختلف است. تولیدات مضر متابولیکی تشکیل شده در ارگان‌های دیگر می‌توانند به طور غیرمستقیم بر آن اثر بگذارند (۱). کبد محتوی پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بزرگ است (۲). مارکرهای بیوشیمیایی زیادی در تنظیم رفتار کبد نقش دارند؛ بدیهی است که ارزیابی رفتار این مارکرها در شناسایی مکانیسم‌های مؤثر بر عملکرد کبد مؤثر باشد (۳). پروتئین کیناز-A (PKa: Protein Kinase A) یک مارکر پروتئینی کبدی محسوب می‌شوند که فعالیت آنها وابسته به سطوح سلولی آدنوزین مونوفسفات حلقوی (Cyclic adenosine monophosphate: cAMP) می‌باشد و با عنوان پروتئین کیناز وابسته به cAMP نیز مشهور است (۴). PKa پروتئین‌ها را با افزودن گروه فسفات فسفوریله می‌کند و بیش از پانصد ژن در انسان (۲ درصد کل ژنوم) تولید پروتئین کینازها را کد می‌کنند و بیش از ۳۰ درصد پروتئین‌های بدن، تحت تأثیر این آنزیم‌ها فسفوریله می‌شوند (۵). PKa پروتئینی تترامر است که دو زیر واحد آن دارای دو جایگاه کاتالیزکننده و دو زیر واحد دیگر تنظیم‌کننده می‌باشند؛ که هر تنظیم‌کننده دو محل برای اتصال با cAMP دارد (۶). تاکنون ارتباطات متعددی بین بیان ژن PKa با بیماری قلبی عروقی، فشارخون، دیابت نوع ۲، سرطان و آرتروز مشاهده شده است که منجر به اهمیت این پروتئین به عنوان یکی از فاکتورهای تأثیرگذار در سطح سلامت عمومی می‌شود (۷). از این‌رو، ردیابی سیگنالینگ PKa می‌تواند باعث شناسایی مسیرها و تغییرات مرتبط با سلامتی باشد (۸). از سوی دیگر، افزایش سطح فعالیت بدنی و آمادگی جسمانی با کاهش خطرات ناراحتی‌های متابولیکی در ارتباط است. تمرینات هوازی اثرات مفیدی بر عملکرد کبد دارد و باعث بهبود متابولیسم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود (۹). متعاقب تمرینات هوازی نشان داده شده است که مارکرهای آنزیمی کبدی در بیماران به طور معنی‌داری کاهش و عملکرد کبد بهبود یافته است (۱۰). تمرینات تناوبی، یک رویکرد کارا برای بهبود ظرفیت‌های سیستم‌های هوازی و بی‌هوازی هستند. نشان داده شده که این تمرینات آنزیم‌های اکسایشی و گلیکولیتیک را افزایش می‌دهند (۱۱). پاسخ ناشی از تمرین در سیستم PKa احتمالاً یک نقشی در تحریک سازگاری‌های تمرینی ایفاء کند که به معنی دانش چگونگی تحت تأثیر قرار دادن پروتکل‌های تمرینی مختلف بر سیستم PKa که به‌طور بالقوه باارزش است (۱۲). اگر این امکان به وجود بیاید اثر برنامه‌های تمرینی مختلف با شدت‌های مختلف برای ایجاد تحریک مطلوب سیستم PKa بررسی شود، ممکن است پیشرفت‌های بیشتری در بهبود بیماری‌ها از قبیل بیماری‌های کبدی به وجود آید (۱۳). در مطالعه کو (Ko) و همکاران (۲۰۱۹) (۱۴) و دیب (Dibe) و همکاران (۲۰۲۰) (۱۵) نشان داده شد که یک برنامه منظم تمرینی هوازی، سطح PKa را در بافت کبد تعدیل می‌کند و منجر به بهبود سطح آنزیم‌های کبدی می‌شود. هاوکس (Havekes) همکاران (۲۰۰۷) نیز دریافتند که فعالیت Pka در بافت هیپوکمپ مغز پس از تمرین ورزشی افزایش می‌یابد (۱۶). همچنین پژوهش-گران نشان دادند که تمرین هوازی نقش بالقوه‌ای در افزایش سطوح PKa در بافت قلب و کبد دارد (۱۷). تحقیقات اندکی به بررسی مقایسه شدت‌های گوناگون تمرینات ورزشی بر مسیرهای سیگنالینگ سلولی در بافت کبد پرداخته‌اند. از طرفی پژوهش‌هایی که به بررسی PKa پرداخته‌اند، نتایج متناقضی در بر داشتند (۱۴، ۱۷). فعالیت بدنی، افزایش در سطوح PKa را تحریک می‌کند (۱۵). اگرچه در تعدادی از مطالعات این افزایش در سطوح PKa به دنبال فعالیت بدنی مشاهده نشده است (۱۸)، ولی به نظر می‌رسد تمرین هوازی با شدت‌های متخلف تأثیرات مستقیم بر فاکتورهای کبدی می‌گذارد، ولیکن با توجه به این که در مورد تأثیر انواع تمرین هوازی با شدت‌های مختلف بر روی مارکرهای کبدی Pka مطالعات محدودی صورت گرفته است؛ لذا در این مطالعه به دنبال پاسخ به این سؤال که آیا بین سه روش تمرینی با شدت‌های گوناگون بر بیان ژن Pka در بافت کبد تفاوت معناداری وجود دارد؟

روش کار

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود، بدین منظور ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

وزنی ۳۳±۲۳۷ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. این حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه جانوری، به‌صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی در ۵ گروه شامل: گروه کنترل (۱۹) (۸ سر)، تمرین تداومی با شدت متوسط (۱۹) (۸ سر)، تمرین تداومی شدید (HIT) (۸ سر) و تمرین تناوبی شدید (HIIT) (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. همچنین این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه پیام نور با کد IR.PNU.REC.1398.059 تائید گردید. طی دوره تحقیق، غذای ساخت شرکت بهپرور به‌صورت پلت و با توجه به وزن‌کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داده شد. آب موردنیاز حیوان نیز به‌صورت آزاد در دسترس قرار داده شد.

به منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوار گردان، حیوانات 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 (VO_2max) حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان و به‌طور غیرمستقیم ارزیابی شد (۲۰). جزئیات نحوه اجرای پروتکل‌های تمرینی در جدول ۱ آورده شده است.

پروتکل MIT بدین‌صورت اجرا شد که در هفته اول ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین شامل دویدن با شدت ۶۵ درصد VO_2max با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه انجام شد و به‌صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد، به‌طوری‌که در هفته ششم زمان تمرین به ۳۰ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. از سوی دیگر، شیب نوارگردان در هفته اول و دوم ۲ درصد بود و هر ۲ هفته ۲ درصد به شیب افزوده شد تا در هفته هفتم و هشتم به ۸ درصد برسد. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم نیز ۲۰ متر بر دقیقه بود و ثابت نگه داشته شد (۲۰).

پروتکل HIIT نیز شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن قبل از انجام تمرین بود، در هفته اول تا چهارم شامل ۳ وهله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO2max و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وهله دویدن تناوبی کم شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO2max و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود. از هفته پنجم تا هشتم نیز شامل ۴ وهله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO2max و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وهله دویدن تناوبی کم شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2max و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود. زمان بدنه اصلی تمرین در هر تکرار به مدت ۲۸ دقیقه بود. موش‌های گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی‌حرکت قرار داده شدند (۲۰).

جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و بعد از عمل جراحی قفسه سینه، بافت کبد 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. برای استخراج RNA و cDNA، حدود ۵۰

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

جدول ۱- جزئیات پروتکل برنامه تمرین ۸ هفته‌ای برای گروه‌های مختلف تحقیق

هفته	گروه HIIT			گروه HIT		شیب	گروه MIT	
	تکرار	سرعت در تناوب اول (متر/دقیقه)	سرعت در تناوب دوم (متر/دقیقه)	سرعت (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)		سرعت (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)
۱	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۰	٪۲	۲۰	۲۰
۲	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۲	٪۲	۲۰	۲۲
۳	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۵	٪۴	۲۰	۲۵
۴	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۵	٪۴	۲۰	۲۵
۵	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۲۵	٪۶	۲۰	۳۰
۶	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	٪۶	۲۰	۳۷
۷	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	٪۸	۲۰	۳۷
۸	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	٪۸	۲۰	۳۷

جدول ۲- توالی پرایمرها و اندازه محصولات ژن هدف

Genes	Primer sequence
pka	′- ATGCTGAGGAAGAAGATGTGGA -3′For: 5 ′- ATGAAACTGCGTGGATGGGA -3′Rev: 5

میلی‌گرم از بافت کبد رت‌ها به‌صورت جداگانه جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۲ در QIAzol Reagent Lysis هموژن گردید. تعیین بیان ژن pka به روش real-time PCR انجام شد. واکنش Real-Time PCR در دستگاه ای.بی.آی (ABA) اخت 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 (SYBR green master mix)، 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 فعال سازی آنزیم پلیمراز و دناتوره اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد 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، برنامه دمایی مورد استفاده شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه بود. 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 نرم‌افزار SDS ABI تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت ΔCt برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر مورد، $2^{-\Delta\Delta CT}$ به دست آمد. علاوه بر این، در این آزمایش تجزیه‌وتحلیل منحنی ذوب جهت اطمینان از ویژگی محصول PCR انجام شد. در ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن pka از سایت NCBI استخراج شد.

پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار AlleID و توسط شرکت CinnaGen ساخته شده و پس از آن هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST مورد ارزیابی قرار گرفت تا از قرارگیری جفتی پرایمرها اطمینان حاصل شود. در این تحقیق، ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه منظور گردید، به‌طوری‌که 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.

بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده ها از

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

آزمون شاپیروویلک و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها، از آزمون های پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $p\leq ۰/۰۵$ استفاده شد. انجام کلیه امور آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و EXCEL انجام شد.

یافته‌ها

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=۰/۰۹).

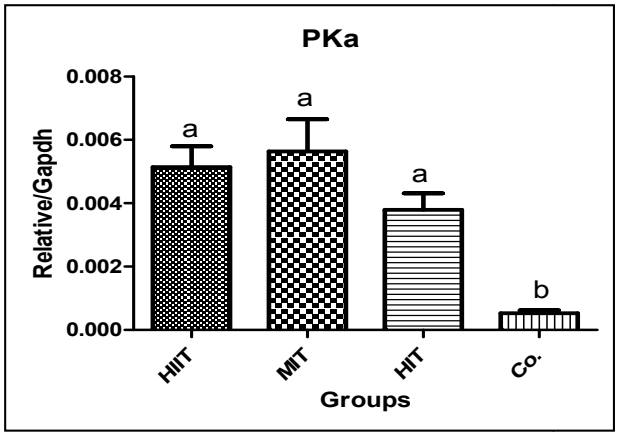
همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بیان ژن pka در بافت کبد رت‌های گروه‌های تحقیق، تفاوت آماری معناداری وجود دارد (P<۰/۰۰۱). یافته‌های آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که میان گروه‌های MIT و HIT نسبت به گروه HIIT تفاوت معنی‌داری در بیان ژن pka وجود ندارد (به ترتیب: P = ۰/۷۴۶، P = ۰/۵۶۵). در حالی که تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های HIIT و کنترل وجود دارد (P= ۰/۰۰۱)، به طوری که در گروه HIIT به میزان ۰/۰۰۴ واحد نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است. همچنین بررسی آزمون تعقیبی در گروه‌های تمرینی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان ژن pka میان گروه‌های HIT و MIT وجود ندارد (P= ۰/۳۶۴). با این حال اختلاف معنی‌داری در بیان ژن PKa میان گروه‌های MIT و HIT نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P= ۰/۰۰۱)، به طوری که در گروه MIT به میزان ۰/۰۰۵ واحد و گروه HIT به میزان ۰/۰۰۳ واحد نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است (شکل ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که بین سه شیوه‌ی تمرینی با شدت متفاوت (تناوبی شدید، شدید و تداومی) در بیان ژن pka تفاوت معناداری وجود دارد به‌طوری‌که بیشترین اختلاف مربوط به شیوه MIT و کمترین اختلاف مربوط به شیوه کنترل بود. تأثیرات فعالیت بدنی هوازی با شدت‌های مختلف بر روی سطوح استراحتی pka به‌طور ضعیفی گزارش شده است. مطالعات نشان داده است که فعالیت بدنی هوازی، افزایش در سطوح استراحتی pka را تحریک می‌کند (۲۱). نتایج این پژوهش با نتایج زوگل (Zuegel) و

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار وزن در گروه‌های مختلف تحقیق

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



شکل ۱- بیان pka در بافت کبد موش‌های صحرایی

گروه HIIT: تمرین هوازی تناوبی شدید، گروه HIT: تمرین هوازی تداومی شدید، گروه MIT: تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط، گروه Co: کنترل.
a نشانه تفاوت معنادار گروه‌های تمرینی و گروه کنترل در سطح p<۰/۰۵ ؛ b نشانه تفاوت معنادار سایر گروه‌های تمرینی و گروه HIIT در سطح p<۰/۰۵.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

همکاران (۲۰۱۹) (۲۳)، هاوکس (Havekes) و همکاران (۲۰۰۷) (۱۶)، وی (Wei) و همکاران (۲۰۱۶) (۱۸)، الاک (Alack) و همکاران (۲۰۲۰) (۲۱) همسو می‌باشد. در تبین یافته‌های این پژوهش می‌توان بیان کرد که نقش حمایتی تمرینات هوازی در برابر آسیب‌های کبدی، کاهش التهاب و فیبروز کبدی در مطالعات زیادی نشان داده شده است (۲۱). فعالیت بدنی منظم به عنوان یک عامل محافظتی در برابر بروز و پیشرفت برخی بیماری‌ها شناخته شده است. همچنین می‌تواند آثار مثبتی بر کبد افراد دیابتی چاق، بیماری کبدی کودکان و عملکرد قلبی بیماران با کبد چرب داشته باشد (۲۲). آنزیم‌های کینازها تقریباً در تمام جنبه‌های فیزیولوژی دخالت دارند. بررسی‌ها نشان می‌دهد افزایش pka سلولی قادر است آپوپتوز القا شده در بافت کبد را کاهش دهد (۲۱). همچنین pka بر فسفریلاسیون و در نتیجه عملکرد بسیاری از پروتئین‌های درگیر در آپوپتوز و بقای سلول همچون Nf-Kb تأثیرگذار است (۱۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با انجام فعالیت هوازی در شدت‌های مختلف میزان بیان pka در بافت کبد رت‌ها افزایش پیدا کرد. یکی از تأثیرات pka در بدن به دلیل القای نقش آپوپتوزیس و جلوگیری از پیری زودرس سلولی آن می‌باشد که این فرآیند را به تأخیر می‌اندازد (۱۸). این بدین معنی هست که فعالیت ورزشی باعث افزایش ظرفیت سلولی می‌شود که در نتیجه آن ATP کمتری به ADP تبدیل می‌شود و در نتیجه ظرفیت سلولی افزایش یافته و بیان pka پس از فعالیت بدنی تعدیل می‌یابد و بدین ترتیب روند پیری سلولی کندتر می‌شود که این نتایج با نتایج بدست آمده از این تحقیق که نشان داد که با انجام فعالیت ورزشی بیان ژن pka در بافت کبد رت‌ها نر افزایش می‌یابد همسو می‌باشد (۱۷). البته باید خاطر نشان ساخت که بر اساس ماهیت و نوع سلول‌ها، مکانیزم‌های متفاوتی در پاسخ به افزایش pka داخل سلولی وجود دارد. به طور مثال در مطالعه استنگرلین (Stangherlin) و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده شد که تحریک مسیر پیام‌رسانی cAMP و متعاقب آن افزایش cAMP درون سلولی، نه تنها سبب آپوپتوز و مرگ سلول‌های مالتیپل مایلومایی هم با منشاء انسانی و هم با منشاء موشی در محیط کشت می‌گردد بلکه قادر به رشد سلول‌های توموری ماتیپل مایلومایی در مدل حیوانی در شرایط in vivo نیز می‌شود که از این طریق سطح بیان pka تغییر می‌یابد (۱۹). آنزیم کیناز به عنوان کلید کنترلی برای انجام بسیاری از فعالیت‌های سلولی از زمان رشد تا هنگام مرگ عمل می‌کند. مطالعات اخیر نشان دادند که pka به وسیله انقباض عضلانی تحریک می‌شود. ترو اوور ATP در عضلات اسکلتی در طول فعالیت ورزشی به ۱۰۰ برابر می‌رسد که سبب افزایش AMP به ADP می‌گردد. تمامی این عوامل که در شارژ انرژی سلول دخیل هستند در افزایش pka نقش دارند (۱۷). اگرچه، در تعدادی از مطالعات این افزایش در سطوح استراحتی pka به دنبال فعالیت بدنی مشاهده نشده است (۱۴, ۱۷). فاکتورهای زیادی می‌توانند بر روی پاسخ سطوح استراحتی pka به فعالیت بدنی تأثیرگذار باشند که این فاکتورها شامل سطح آمادگی و نوع تمرین می‌باشند. پیشنهاد شده است که وضعیت تمرینی ممکن است روی غلظت سطوح استراحتی pka به دنبال فعالیت بدنی تأثیرگذار باشد (۱۹). تاکنون مطالعه‌ای همسو با نتایج مطالعه حاضر انجام نشده است و دلیل احتمالی تعداد بسیار نادر مطالعات در این مورد هست. الاک (Alack) و همکاران (۲۰۲۰)، تغییرات در سطوح گردشی pka را در طول تمرین استقامتی بررسی کردند و دریافتند که تمرینات متوالی و استقامتی به افزایش سطح pka منجر خواهد شد، اما مکانیسم اثر آن به وضوح مشخص نشد (۲۱). در سوی مقابل، تفاوت معناداری در سطوح pka پس از ۲۱ هفته تمرین در رت‌های تمرین کرده مشاهده نشد (۱۵). از دلایل احتمالی همسو نبودن تحقیق حاضر با دیگر تحقیقات می‌توان به نوع پروتکل تمرینی و آزمودنی‌های آن و نیز بافت مود مطالعه اشاره کرد. چندین مطالعه مقطعی همبستگی مثبت معنی‌داری بین سطح آمادگی جسمانی و سطوح cAMP را دریافتند. cAMP یک نوکلئوزید پورینی است که اثرات وسیع و مهمی در فرایندهای بیولوژیکی از قبیل انقباض ماهیچه‌های صاف، انتقال پیام عصبی، ترشح هورمون‌های درون‌ریز و برون‌ریز، پاسخ‌های ایمنی، التهاب، تجمع پلاکت‌ها، درد و تنظیم فعالیت قلبی دارند (۱۸). مطالعات نشان داده‌اند اثرات آدنوزین به واسطه تاثیر مستقیم بر روی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

گیرنده‌های آدنوزین است. گیرنده‌های آدنوزین از دسته گیرنده‌های وابسته به G- پروتئین‌ها می‌باشند. این گیرنده‌ها اثرات متعددی در بافت‌های مختلف بدن از نظر فیزیولوژی و فارماکولوژی دارند و نقش برجسته آن‌ها دخالت در فرایند رشد و تکثیر سلولی و تغییر در سطح پروتئین کینازها است (۲۲). افزایش سطح cAMP درون سلولی موجب فعال شدن pka و آبشارهای کینازی وابسته به آن شده و نهایتاً با فسفریلاسیون گروهی از پروتئین‌ها موجب القاء بیان ژن‌های درگیر در فرآیند عصب‌زایی می‌شوند (۱۷). بسیاری از هورمون‌ها اثرات خود را در سلول‌ها نخست با تشکیل cAMP اعمال می‌کنند. cAMP پس از تشکیل، موجب بروز اثرات هورمون در داخل سلول می‌شود. به این ترتیب cAMP یک میانجی هورمونی داخل سلولی است و غالباً پیک دوم برای عمل هورمون نیز نامیده می‌شود و پیک اول همان هورمون اصلی است (۱۹). تمرین طولانی منجر به یک افزایش فعالیت در سیستم پروتئین کینازها توسط یافته‌هایی از مطالعات حیوانی حمایت می‌شود که نشان داده است، دوره‌های طولانی‌تر تمرین (۹-۴ هفته) منجر به افزایش در بیان ژن cAMP در بافت عضله اسکلتی و در افزایش سطوح pka می‌شود (۲۲). بنابراین، این پیشنهاد منطقی به‌نظر می‌رسد که افزایش ایجاد شده در اثر فعالیت بدنی تناوبی در pka ممکن است به‌دلیل تغییر جهت در سیگنالی سلولی باشد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می توان به عدم کنترل میزان کالری مصرفی موش‌های صحرایی و عدم کنترل فعالیت بدنی خارج از برنامه تحقیق حیوانات اشاره نمود. با وجود این، پیشینه تحقیقاتی در زمینه تاثیر پروتکل‌های تمرینی تحقیق حاضر بر PKa در بافت کبد بسیار محدود بوده و نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سه شیوه متفاوت تمرینی (MIT، HIT و HIIT) سبب افزایش میزان PKa در بافت کبد موش‌های صحرایی شد و اختلاف تأثیر پروتکل‌های تمرینی حاضر و مسیر مکانیسم‌های سیگنالینگ احتمالی آن‌ها مشخص نیست و نیاز به پژوهش‌های بیشتری در این زمینه می‌باشد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام نور مرکز کرج حاصل شده است و بدین وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه که ما را در اجرای این طرح یاری نموده اند تشکر و قدردانی می شود.

References

1. Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. Curr Biol. 2017;27(21):R1147-r1151.
2. Racanelli V, Rehermann B, The liver as an immunological organ. Hepatology. 2006;43(2 Suppl 1): p. S54-62.
3. Gao B, Jeong WI, Tian Z. Liver: An organ with predominant innate immunity. Hepatology. 2008;47(2):729-36.
4. Kari S, Vasko VV, Priya S, Kirschner LS. PKA Activates AMPK Through LKB1 Signaling in Follicular Thyroid Cancer. Front Endocrinol (Lausanne). 2019;10:769.
5. Portela P, Rossi S. cAMP-PKA signal transduction specificity in Saccharomyces cerevisiae. Curr Genet. 2020;66(6):1093-1099.
6. Zhang H, Kong Q, Wang J, Jiang Y, Hua H. Complex roles of cAMP-PKA-CREB signaling in cancer. Exp Hematol Oncol. 2020;9(1):32.
7. Pfeiffer-Laplaud M, Gaigeot MP, Sulpizi M. p K a at Quartz/Electrolyte Interfaces. J Physic Chem Lett. 2016 Aug 18;7(16):3229-34.
8. Rossini E, Netz RR, Knapp EW. Computing p K a Values in Different Solvents by Electrostatic Transformation. J Chem Theory Comput. 2016 Jul 12;12(7):3360-9.
9. Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. Progress Lipid Res. 2014 Jan 1;53:124-44.
10. Mehrani H, Storey KB. Control of glycogenosis and effects of exercise on phosphorylase kinase and cAMP-dependent protein kinase in rainbow trout organs. Biochem Cell Biol. 1993 Dec 1;71(11-12):501-6.
11. Omlin T, Weber JM. Exhausting exercise and tissue-specific expression of monocarboxylate transporters in rainbow trout. Am J Physiol Regul Integr Compar Physiol. 2013 Jun 1;304(11):R1036-43.
12. Cacicedo JM, Gauthier MS, Lebrasseur NK, Et al, Acute exercise activates AMPK and eNOS in the mouse aorta. Am J Physiol Heart Circul Physiol. 2011 Oct;301(4):H1255-65.
13. Liu RY, Neveu C, Smolen P, Cleary LJ, Byrne JH. Superior long-term synaptic memory induced by combining dual pharmacological activation of PKA and ERK with an enhanced training protocol. Learn

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]

Memory. 2017 Jul 1;24(7):289-97
14. Ko JR, Seo DY, Kim TN, Park SH, Kwak HB, Ko KS, et al. Aerobic exercise training decreases hepatic asprosin in diabetic rats. J Clin Med. 2019 May;8(5):666.
15. Dibe HA, Townsend LK, McKie GL, Wright DC. Epinephrine responsiveness is reduced in livers from trained mice. Physiol Rep. 2020 Feb;8(3):e14370.
16. Havekes R, Timmer M, Van der Zee EA. Regional differences in hippocampal PKA immunoreactivity after training and reversal training in a spatial Y-maze task. Hippocampus. 2007 May;17(5):338-48.
17. Zou D, Nishimaru H, Matsumoto J, Takamura Y, Ono T, Nishijo H, et al. Experience-related changes in place cell responses to new sensory configuration that does not occur in the natural environment in the rat hippocampus. Front Pharmacol. 2017 Aug 23;8:581.
18. Wei D, Hurd C, Galleguillos D, Singh J, Fenrich KK, Webber CA, et al. Inhibiting cortical protein kinase A in spinal cord injured rats enhances efficacy of rehabilitative training. Experim Neurol. 2016 Sep 1;283:365-74.
19. Stangherlin A, Gesellchen F, Zoccarato A, Terrin A, Fields LA, Berrera M, et al. cGMP signals modulate cAMP levels in a compartment-specific manner to regulate catecholamine-dependent signaling in cardiac myocytes. Circul Res. 2011 Apr 15;108(8):929-39.
20. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. Mol Med Rep. 2015 Aug 1;12(2):2374-82.
21. Alack K, Weiss A, Krüger K, Höret M, Schermuly R, Frech T, et al. Profiling of human lymphocytes reveals a specific network of protein kinases modulated by endurance training status. Sci Rep. 2020 Jan 21;10(1):1-8.
22. Zuegel M, Wehrstein F, Qiu S, Dielc P, Steinackera JM, Schumann U. Moderate intensity continuous training reverses the detrimental effects of ovariectomy on RyR1 phosphorylation in rat skeletal muscle. Mol Cell Endocrinol. 2019 Feb 5;481:1-7.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-15]