

Original Paper

Effect of high intensity interval and continuous endurance training on TRF2 and TERT gene expression in heart tissue of aging male rats

Arezoo Eskandari (Ph.D), Ph.D in Exercise Physiology, Tehran University, Tehran, Iran.

ORCID ID: 0000-0002-7376-1156

***Mohamad Fashi (Ph.D)**, Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. m_fashi@sbu.ac.ir

ORCID ID: 0000-0002-0995-4703

Amir Bahador Dakhili (Ph.D), Ph.D in Exercise Physiology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. amirbahador.dakhili@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-0865-9638

Abstract

Background and Objective: Age is the greatest risk factor for cardiovascular disease that is associated with shortens telomere. TRF2 and TERT genes expression in heart tissue reduce in elderly. These genes are associated with shortens telomere. Exercise can play a useful role in maintaining the length of telomeres. This study was carry out to determine the effect of high intensity interval training (HIIT) and continuous endurance training on TRF2 and TERT gene expression in heart tissue of aged male rats.

Methods: In this experimental study 24 adult aged male rats (88-96 weeks, 363±12 g) allocated into three groups including control, endurance training (5 sessions per week: with 60-70 of maximum speed of group) and HIIT (5 sessions per week: 80 percent in the first and second week, 90% maximum speed of the third week, 100 % until the end of the exercise for 6 weeks). Gene expression of TRF2 and TERT were assessment by Real-time - PCR and the quantification of gene expression levels using the Pfaffl formula.

Results: TRF2 gene significantly increased in HIIT and CET groups in compared to control group ($P<0.05$). TERT gene non- significantly increased in HIIT and CET groups in compared to the control group.

Conclusion: It seems, 6 weeks of high-intensity interval training and continuous endurance training to be able regulate the growth and longevity of the heart cells by maintaining the length telomere by increasing TRF2 gene expression.

Keywords: High intensity interval training, Continuous endurance training, TRF2 gene, TERT gene, Aging, Rats

Received 25 Feb 2018

Revised 30 Jun 2018

Accepted 25 Jul 2018

Cite this article as: Arezoo Eskandari, Mohamad Fashi, Amir Bahador Dakhili. [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 Summer; 21(2): 43-49. [Article in Persian]

اثر تمرین تناوبی شدید و تداومی استقامتی بر بیان ژن‌های TERT و TRF2 بافت قلب موش‌های صحرایی نر پیر

ORCID ID: 0000-0002-7376-1156

ORCID ID: 0000-0002-0995-4703

ORCID ID: 0000-0003-0865-9638

دکتر آرزو اسکندری، دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

* دکتر محمد فشی، استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

دکتر امیر بهادر دخیلی، دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. amirbahador.dakhili@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: سن بزرگ‌ترین عامل خطر بیماری‌های قلبی - عروقی است که با کوتاه شدن طول تلومر همراه می‌شود و این در حالی است که فعالیت‌های ورزشی می‌توانند نقش مفیدی را در حفظ طول تلومر ایفا کنند. *TERT* و *TRF2* به عنوان ژن‌های درگیر در مجموعه تلومریک در قلب نیز از پیری تاثیر می‌پذیرند و با کاهش بیان همراه می‌شوند که در نتیجه طول تلومر کاهش می‌یابد. کاهش طول تلومر نیز با افزایش مرگ سلول‌های قلب و بیماری‌های قلبی همراه می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرین تناوبی شدید و تداومی استقامتی بر بیان ژن‌های *TERT* و *TRF2* بافت قلب موش‌های صحرایی نر پیر انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸۸ تا ۹۶ هفته‌ای و میانگین وزنی 36.13 ± 1.2 گرم به مدت ۶ هفته در گروه‌های کنترل، تمرین تداومی استقامتی (۵ جلسه در هفته، شدت ۷۰-۶۰ درصد بیشینه) و تمرین تناوبی شدید (۵ جلسه در هفته، تکرار اینتروال با شدت بالا ۸۰ درصد بیشینه در هفته اول و دوم و ۹۰ درصد در هفته سوم و سپس ۱۰۰ درصد سرعت بیشینه تا پایان تمرین) تقسیم شدند. بیان ژن‌های *TERT* و *TRF2* به‌وسیله تکنیک *Real time - PCR* - سنجش و پس از کمی سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول پافل مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بیان ژن *TRF2* گروه‌های تناوبی شدید و تداومی در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). همچنین در بیان ژن *TERT* گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. **نتیجه‌گیری:** به‌نظر می‌رسد شش هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی استقامتی بتواند رشد و طول عمر سلول‌های قلبی را به‌وسیله حفظ طول تلومر از طریق افزایش ژن *TRF2* تنظیم کند.

کلید واژه‌ها: تمرین تناوبی شدید، تمرین تداومی، ژن *TRF2*، ژن *TERT*، پیری، موش صحرایی

* نویسنده مسؤول: دکتر محمد فشی، پست الکترونیکی m_fashi@sbu.ac.ir

نشانی: تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده تربیت بدنی و علوم تندرستی، تلفن ۰۲۱-۲۲۴۳۱۹۶۲

ووصول مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۶، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۴/۹، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۵/۳

مقدمه

نهایی گلیاسری و آپوپتوزیس اشاره کرد. انباشتگی آسیب‌های DNA و سستی تلومراز می‌تواند در نتیجه افزایش پیری سلول‌ها در بافت‌ها و اندام‌ها با کاهش عملکرد همراه شود که خطر بیماری‌های قلبی را افزایش می‌دهد (۴). در سطح سلولی، پیری، پایداری کروموزوم و سلول به‌وسیله تلومراز و پروتئین‌های آن که در هر دو انتهای کروموزوم‌های یوکاریوتی قرار دارند؛ تنظیم می‌شود (۵). فعالیت و طول تلومراز در مابوسیت‌های موش‌های پیر کاهش می‌یابد (۳ و ۴). مهم‌ترین ویژگی عملکردی مجموعه تلومریک، محافظت انتهای کروموزوم از تجزیه شدن است (۶). آنزیم تلومراز حاوی یک زیر واحد تجزیه کننده است که به رونویسی معکوس تلومراز (Telomerase reverse transcriptase: TERT) معروف است. این بخش از آنزیم پروتئینی بوده و دارای خاصیت کاتالیتیکی

شیوع بیماری‌های قلبی با افزایش طول عمر بسیار گسترش یافته‌اند. به طوری که از سن به عنوان عامل خطر اصلی برای بیماری‌های قلبی نام برده‌اند (۱). فرایند بیولوژیکی سن بیشتر سلول‌ها و اندام‌ها را متأثر می‌کند. اگرچه افزایش سن به خودی خود منجر به بیماری‌های قلبی نمی‌شود؛ تغییرات وابسته به سن آستانه بیان سندرم‌های قلبی را کاهش می‌دهد. تغییرات مهم در عملکرد دیاستولیک، فشار خون بالا، آترواسکلروزیس، کلسیفه شدن دریچه‌ها، رسوب آمیلوئید قلبی همگی با پیری و افزایش خطر علائم بالینی قلبی همراه است (۲ و ۳). ساز و کارهای ملکولی درگیر در فرایند افزایش سن و بیماری‌های قلبی همراه با آن نیز دارای اهمیت است که از آن جمله باید به رادیکال‌های آزاد، محصولات

را در آنورت موش‌ها افزایش می‌دهد (۱۹). در مطالعه Ludlow و همکاران اثر ورزش طولانی مدت یک ساله بر فعالیت آنزیم تلومراز و دینامیک تلومر در موش‌های صحرایی هشت هفته‌ای بررسی شد. نتایج نشان داد که فعالیت تلومراز در عضلات اسکلتی گروه ورزش در مقایسه با گروه کنترل بی‌تحرک افزایش پیدا کرده است؛ اما در بافت کبدی و قلب بین دو گروه تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد (۲۰). اکبری و همکاران نیز پیشنهاد دادند که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط منجر به فعالسازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر می‌شود و ورزش و فعالیت بدنی از طریق افزایش فعالیت تلومراز در بافت‌های بدن می‌تواند قابلیت زیست سلول، ثبات ژنتیک را بالا برده و اثرات ضدپیری خود را بگذارد (۲۱). با وجود پیشینه تحقیقاتی در زمینه ورزش طولانی مدت و فعالیت آنزیم تلومراز و مسیرهای وابسته به آن، انجام تحقیقات با اثر فعالیت ورزش در کوتاه‌ترین زمان ممکن و به‌دست آوردن بیشترین سازگاری همواره مورد علاقه محققان بوده است. در این بین تمرینات تناوبی شدید جایگاه ویژه‌ای را در طراحی تمرینات ورزشی، بازتوانی، کاهش وزن و تندرستی دارا است. این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرین تناوبی شدید و تداومی استقامتی بر بیان ژن‌های TRF2 و TERT بافت قلب موش‌های صحرایی نر پیر انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی به‌صورت مقایسه پس‌آزمون گروه‌های مستقل در سال ۱۳۹۶ انجام شد. ۲۴ سر موش صحرایی نر پیر در سن ۸۸ تا ۹۶ هفته (۲۲) نژاد ویستار از مؤسسه پاستور خریداری شدند. حیوانات در گروه‌های سه تایی در قفس‌های مخصوص در دمای اتاق (۲۲±۳/۶ درجه سانتی‌گراد) و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. تمام آزمایش‌های صورت گرفته بر اساس دستورالعمل کار با حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت.

موش‌های صحرایی پس از ۱۴ روز نگهداری و خو گرفتن به محیط آزمایشگاه به صورت تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی کنترل، تمرین تداومی استقامتی و تمرین تناوبی شدید تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی: در ابتدای مطالعه موش‌های صحرایی به منظور کاهش استرس و همچنین آشنایی با دویدن روی تردمیل، در یک برنامه تمرینی به مدت دو هفته با سرعت ۱۰ تا ۱۵ متر در دقیقه و مدت زمان ۱۵ دقیقه شرکت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه آشناسازی، حیوانات یک آزمون ورزشی فزاینده تا مرز خستگی انجام دادند تا حداکثر سرعت دویدن روی تردمیل مشخص گردد. آزمون فزاینده با سرعت ده متر بر دقیقه شروع شد و هر سه دقیقه، یک بار سرعتی معادل با سه متر بر دقیقه به آن افزوده شد. زمان رسیدن به خستگی با عدم توانایی موش‌های صحرایی در

و ترانس کریپتازی است. RNA موجود در ساختمان آنزیم تلومراز به عنوان الگو قرار گرفته و آنزیم از طریق قسمت TERT خود دزوکسی‌ریبونوکلئوتیدها را به انتهای ۳ ملکول DNA اضافه می‌کند. هنگامی که انتهای ۳ ملکول DNA گسترش پیدا کرد؛ جای خالی RNA پرایمر وسیع‌تر می‌شود. با ساخته شدن RNA پرایمر جدید در جای خالی DNA در جهت ۵ به ۳ سنتز می‌شود. سپس دوباره RNA پرایمر جدید برداشته می‌شود و چون این RNA پرایمر جدید مربوط به توالی تلومری است؛ برداشته شدن آن برای ذخایر ژنتیکی سلول مشکلی ایجاد نمی‌کند. بنابراین، آنزیم تلومراز موجب پایداری DNA می‌شود (۷ و ۳). در بسیاری از مطالعات فعالیت تلومراز به عنوان یک شاخص قوی‌تر از طول تلومر برای بررسی قابلیت زیست سلول یا ثبات ژنتیکی و فرآیند بیماری‌ها معرفی شده است. سرکوب فعالیت آنزیم تلومراز با پیشبرد آپوپتوزیس و افزایش بیان TERT با کاهش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول همراه می‌شود (۹ و ۸). پروتئین‌های مهمی که ساختار تلومریک را تشکیل می‌دهند شامل عوامل اتصال تک‌راری تلومر (telomeric repeat binding factor: TRF) با ایزوفرم ۱ و ۲ هستند که به‌صورت مستقیم به تکرارهای TTAGGG تلومر متصل می‌شوند. پروتئین TRF2 برای حفظ ساختار انتهایی کروموزوم و در نهایت طول عمر مهم است (۱۰ و ۱۱). پیری فرایند فیزیولوژیکی است که در آن طول توالی تلومری کاهش می‌یابد و به موازات آن قدرت رشد و تقسیم سلولی و همچنین دقت ساخت ماکرومولکول‌ها در سلول کاهش می‌یابد و در نتیجه فعالیت اندام‌های مختلف مختل می‌شود (۱۲). از جمله اندام‌های مهم و حیاتی بدن، قلب را می‌توان شمرد که به‌وسیله پیری و از ساز و کار تلومراز تاثیر می‌پذیرد (۱۳).

از بین عوامل مؤثر بر فعالیت آنزیم تلومراز، فعالیت بدنی منظم نقش مهمی را ایفاء می‌کند (۱۴). فعالیت بدنی منظم با افزایش طول عمر همراه است که بخشی از آن را باید به سازگاری‌های ملکولی نسبت داد (۱۵ و ۱۶). با توجه به مطالعه انجمن قلب ایالات متحده فعالیت بدنی طولانی مدت از طریق تأثیر بر کروموزوم‌ها در نبرد با فرایند پیری برمی‌آید. نتایج به دست آمده از مطالعات انجام گرفته در زمینه بیولوژی تلومر، فعالیت تلومراز و نقش ورزش بر آنها نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی یک محرک قوی برای سیستم تلومری به حساب می‌آید و این اثرات تنها زمانی مشاهده می‌شود که مدت زمان تمرینات ورزشی طولانی باشد؛ اما علاوه بر مدت زمان جلسات تمرینی و دوره تمرینی، پروتکل و شیوه افزایش بار طی جلسات تمرینی نیز از اهمیت خاصی برخوردار است (۱۷ و ۱۸). ورنر و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که تمرینات ورزشی فعالیت آنزیم تلومراز، پروتئین‌های متصل شده به تلومر و بیان mRNA آنها

جدول ۱: برنامه تمرینی تناوبی

هفته	وهله	فعالیت : استراحت (دقیقه)	شدت فعالیت (درصد)	شدت ریکاوری (درصد)	میانگین سرعت در هفته (درصد)
اول	۵	۲:۲	۱۰	۶۰	۷۰
دوم	۶	۲:۲	۱۰	۶۰	۷۰
سوم	۷	۲:۲	۹۰	۵۰	۷۰
چهارم	۸	۲:۲	۱۰۰	۵۰	۷۰
پنجم	۸	۲:۲	۱۰۰	۵۰	۷۰
ششم	۸	۲:۲	۱۰۰	۵۰	۷۰

جدول ۲: برنامه تمرینی تداومی

هفته	میانگین شدت فعالیت در هر جلسه (درصد)	مدت هر جلسه (دقیقه)
اول	۶۵	۱۵
دوم	۶۵	۲۰
سوم	۷۰	۲۵
چهارم	۷۰	۳۰
پنجم	۷۰	۳۰
ششم	۷۰	۳۰

جدول ۳: توالی پرایمرهای مورد استفاده

Gene	Primer sequence	Amplicon size (bp)
TRF2	F: ACCTCCTCACGATGGCTAAA	227
	R: TTCACTGTCTGAGTCCGAT	
TERT	F: CAAAAGCCTTTCTCAGCACC	157
	R: CTTAATTGAGGTCGGTCCGT	
GAPDH	F: CAACT CCCT CAAGAT T GT CAGCAA	118
	R: GGCAT GGACT GT GGT CAT GA T	

۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانترفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانترفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانترفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-Free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد (Eppendorf, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Reverse transcriptase انجام گرفت.

Real time - PCR: پس از استخراج RNA و سنتز cDNA برای اندازه گیری سطوح بیان از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix syber green II (USA, Applied Biosystems) انجام شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به

دویدن روی تردمیل با وجود ایجاد شوک الکتریکی مشخص گردید. براساس سرعت حداکثر به دست آمده، پروتکل تمرینی به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته برای گروه های تمرینی طراحی شد (۲۳). برنامه تمرینی تناوبی در جدول یک و برنامه تمرین تداومی در جدول ۲ ارایه شده است.

آماده سازی بافت: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش های صحرایی با استفاده از ترکیب زایلازین (۳ تا ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت قدامی سینه بافت قلب استخراج شد و برای آزمایشات سلولی و مولکولی بافت قلب نیمی از هر گروه بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و برای انجام آزمایشات سلولی مولکولی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA: حدود ۵۰ میلی گرم بافت قلب به صورت جداگانه، برای استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول حاصل در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، شش هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید منجر به افزایش بیان TRF2 در گروه های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل گردید و این افزایش در بیان ژن TERT در گروه های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنی دار نبود.

TRF و TERT رشد و طول عمر سلول های قلبی را تنظیم می کنند (۲۶-۲۴). موش های فاقد ریونوکلئوتید تلومراز، اختلال عملکرد قلبی، افزایش بیان P53 و افزایش آپوپتوزیس را نشان می دهند (۲۶). افزایش بیان TERT با توسعه هایپرتروفی مایوسیت های قلبی در محیط کشت همراه شده و از آپوپتوزیس سلول های قلبی محافظت می کند (۲۴). تغییرات قلبی - عروقی در سالمندان بر کیفیت زندگی و طول عمر آنها تاثیر نامطلوب می گذارد. تشخیص این اختلالات در سالمندان توجه ویژه ای می طلبد. زیرا ممکن است همراه شدن تغییرات ساختمانی فیزیولوژیک ناشی از افزایش سن با بیماری قلبی - عروقی، بروز علائم کلاسیک بیماری را با تغییر شکل مواجه کرده و منجر به تاخیر در درمان این بیماران گردد. سالمندی زیستی که به وسیله طول تلومرهای کروموزومی ارزیابی می شود؛ در بروز بیماری های مختلف و قلبی - عروقی به خصوص بیماری های کرونر قلب و نارسایی مزمن قلبی مؤثر است (۲۷). اگرچه در مطالعات موجود مکانیسم مشخصی برای اثر فعالیت ورزشی بر بیولوژی و طول تلومر وجود ندارد؛ اما چندین مکانیسم را در این ارتباط می توان مورد ارزیابی قرار داد که مهم ترین آنها آنزیم تلومراز و استرس اکسیداتیو هستند. میانگین طول تلومرها یک نشانگر ارزشمند سالمندی زیستی است. هنگامی که طول تلومر در اثر پیری به صورت تدریجی کاهش پیدا می کند؛ آنزیم تلومراز یک الگوی دو فازی را از ساختار خود جایگزین می کند. در یک مطالعه مشاهده شد که هم طول تلومر و هم فعالیت آنزیم تلومراز از ۴ تا ۳۹ سالگی به صورت تدریجی کاهش پیدا می کند. همچنین افراد بالای ۴۰ سال که طول تلومر آنها به صورت تدریجی در حال کوتاه شدن است؛ ۶۵ درصد دارای فعالیت آنزیم تلومراز ثابت اما کم بودند و ۳۵ درصد افراد فعالیت آنزیم تلومراز نداشتند (۲۸). فعالیت ورزشی می تواند تأثیر مثبتی بر ثبات و جلوگیری از کوتاه شدن طول تلومر و کاهش آنزیم تلومراز در نتیجه افزایش سن داشته باشد. در مطالعه حاضر مشاهده شد که شش هفته تمرین هوازی محتوی آنزیم تلومراز در بافت قلب را افزایش داد. پاره ای تحقیقات گزارش کرده اند که فعالیت بدنی منظم منجر به فعال سازی آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر می شود (۱۴ و ۲۸ و ۲۹). از طرف دیگر نشان داده شده کاهش توانایی بدن در حفظ طول تلومر ارتباط مستقیم با افزایش خطر بیماری های قلبی -

صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن های TRF و TERT و GAPDH در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc, Seoul, Korea) انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۳ گزارش شده است؛ ضمن این که از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن های مورد نظر نیز با روش معادله پافل (Pfaffl formula) اندازه گیری شد.

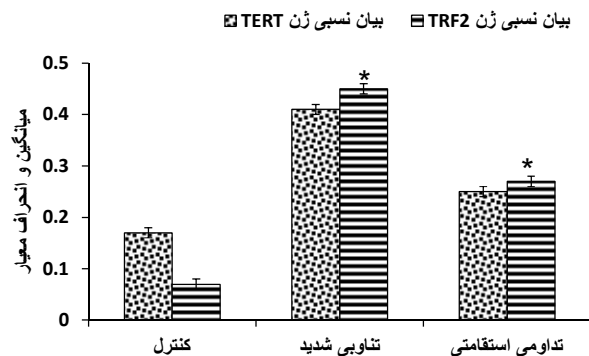
$$\text{نسبت} = \frac{\text{میانگین گروه نمونه ژن مرجع} - \text{میانگین گروه کنترل ژن مرجع}}{\text{میانگین گروه نمونه ژن هدف} - \text{میانگین گروه کنترل ژن هدف}}$$

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-20 تجزیه و تحلیل و براساس میانگین و انحراف استاندارد توصیف شدند برای تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد. در جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت بین گروه ها از تحلیل واریانس (ANOVA) یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. سطح معنی داری تمام آزمون ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

تمام حیوانات در گروه تمرینی توانستند ۶ هفته پروتکل تمرین تداومی استقامتی و تناوبی شدید را به طور مداوم انجام دهند و به اتمام برسانند.

بیان ژن TRF2 در گروه تناوبی شدید در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی داری داشت (P<۰/۰۰۱). بیان ژن TRF2 در گروه تداومی در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی داری داشت (P<۰/۰۰۶) (نمودار یک). همچنین افزایش غیر معنی دار آماری برای گروه های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل در بیان ژن TERT مشاهده شد (نمودار یک).



نمودار ۱: مقادیر بیان نسبی ژن های TRF2 و TERT
* P<۰/۰۰۵ در مقایسه با گروه کنترل

بافت قلب نسبت داد. فعال شدن MAPK منجر به تغییر فعالیت و موقعیت قرارگیری (سیتوپلاسم در مقابل هسته) انواعی از عامل‌های رونویسی می‌شود که با تغییر بیان ژن اجزاء تلومر ارتباط دارد (۳۴). Ludlow و همکاران نشان دادند ورزش حاد MAPK p38 بافت قلب را فعال کرده و بیان ژن‌های محافظ تلومرها در عضله قلبی موش را افزایش می‌دهد (۳۳). یکسال ورزش دویدن بر روی چرخ گردان، کاهش وابسته به سن طول تلومرها را متوقف و منجر به تغییر بیان ژن‌های محافظ تلومر و پروتئین‌های تثبیت کننده ژنوم در بافت قلب موش‌ها می‌شود (۲۰). درک چگونگی تنظیم طول تلومر با تمرینات ورزشی در بافت قلب به منظور افزایش طول عمر همراه با تندرستی بسیار اهمیت دارد. طول تلومر یکی از جنبه‌های پیری بافتی است که پایداری ژنوم و نیز ساختار کروماتین و بیان ژن را تنظیم می‌کند. ساز و کارهای طولانی‌تر شدن تلومر با ورزش و شاید تأثیرات بیان ژن همراه با پیری در بافت قلب از جمله موضوعاتی است که نیاز به تحقیقات بیشتری دارد تا جنبه‌های مرتبط با سلامتی آن بیشتر مشخص شود (۳۳).

از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم سنجش پروتئین و مقایسه تفاوت‌های جنسیتی اشاره نمود که پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی به آن پرداخته شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که شش هفته تمرین هوازی با تناوبی شدید و تداومی استقامتی بیان ژن‌های TRF2 و TERT را افزایش داده و می‌تواند سرعت کوتاه شدن تلومر و پیری را کاهش دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخش جانبی پایان‌نامه (شماره ایران داگ ۲۴۳۳۸۰۷) آقای امیربهاذر دخیلی برای اخذ درجه دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی از دانشگاه تربیت مدرس بود. بدین وسیله از زحمات مسؤول آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس و نیز از جناب آقای محمد کشاورز برای کمک در روند تشریح و جداسازی بافت صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

References

1. Dominguez LJ, Galioto A, Ferlisi A, Pineo A, Putignano E, Belvedere M, et al. Ageing, lifestyle modifications, and cardiovascular disease in developing countries. *J Nutr Health Aging*. 2006 Mar-Apr; 10(2): 143-49.
2. Kitzman DW. Diastolic heart failure in the elderly. *Heart Fail Rev*. 2002 Jan; 7(1): 17-27.
3. Wong LSM, van der Harst P, de Boer RA, Huzen J, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Aging, telomeres and heart failure. *Heart Fail Rev*. 2010 Sep; 15(5): 479-86. doi: 10.1007/s10741-010-9173-7
4. Samani NJ, van der Harst P. Biological ageing and cardiovascular disease. *Heart*. 2008 May; 94(5): 537-39. doi: 10.1136/hrt.2007.136010
5. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*. 1990 May; 345 (6274): 458-

عروقی دارد (۳۰ و ۳۱). ورزش و فعالیت بدنی با شدت‌های متفاوت می‌تواند به عنوان یک شیوه موثر برای بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی - عروقی و کیفیت بهتر زندگی در دوران سالمندی کمک کند (۳۱ و ۳۱). لوودلاو و همکاران در سال ۲۰۱۲ افزایش فعالیت تلومرها در عضلات اسکلتی و عدم تغییر فعالیت تلومرها در بافت قلب و کبد موش‌ها را به دنبال یک دوره تمرینات استقامتی طولانی مدت گزارش کردند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که ورزش و فعالیت بدنی می‌تواند سرعت کاهش طول تلومرها در بافت قلب و کبد در گذر عمر تقلیل دهد؛ اما در عضلات اسکلتی ورزش موجب کوتاهی هر چه بیشتر طول تلومر می‌شود (۲۰). در مطالعه Werner و همکاران دویدن ارادی روی چرخ گردان از طریق افزایش پروتئین‌های متصل شده به تلومر و افزایش فعالیت آنزیم تلومرها با واسطه‌گری جزء پروتئینی تلومرها TERT، IGF-1 (Insulin-like growth factor 1) و eNOS (nitric oxide synthase) توانست اثر محافظتی و مفیدی بر تلومر بگذارد (۱۹) که همسو با نتایج تحقیق حاضر است و نشان‌دهنده اهمیت حفظ طول تلومرها و پایداری ژنوم بافت قلب در پاسخ به ورزش طولانی‌مدت است. حفظ طول تلومرها در بافت و انواع سلول‌های قلبی منجر به جوان ماندن برنامه بیان ژنی و عملکرد مطلوب قلب همراه با پیری می‌شود (۳۲). به نظر می‌رسد تأثیر ورزش بر روی طول تلومرها ناشی از اثرات تجمعی هر وهله و جلسه تمرینی است که می‌تواند برای پیشگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی تجویز شود (۳۳). با این وجود، بهترین نوع تمرینات ورزشی که می‌تواند با اثر بر طول تلومرها هنگام پیری عملکرد قلب را متاثر کند؛ بسیار دارای اهمیت است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرینات تداومی با افزایش بیشتر TRF2 و TERT در بافت قلب موش‌های صحرائی نسبت به تمرینات تناوبی شدید همراه می‌شود که بیانگر تأثیر بیشتر این نوع پروتکل تمرینی در حفظ طول تلومر است. بخشی از سازگاری‌های تلومرها به تمرینات استقامتی هنگام پیری را باید به مسیرهای MAPK (Mitogen-activated protein kinase) در

60. doi: 10.1038/345458a0

6. de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev*. 2005 Sep; 19 (18): 2100-10.

7. Chuaire L. Telomere and Telomerase: brief review of a history initiated by Hermann Müller and Barbara McClintock. *Colombia Medica*. 2006; 37(4): 336-39.

8. Honda S, Hjelmeland LM, Handa JT. Senescence associated beta galactosidase activity in human retinal pigment epithelial cells exposed to mild hyperoxia in vitro. *Br J Ophthalmol*. 2002 Feb; 86(2): 159-62.

9. Kimura M, Cherkas LF, Kato BS, Demissie S, Hjelmberg JB, Brimacombe M, et al. Offspring's leukocyte telomere length, paternal age, and telomere elongation in sperm. *PLoS Genet*. 2008 Feb; 4(2): e37. doi: 10.1371/journal.pgen.0040037

10. Giardini MA, Segatto M, da Silva MS, Nunes VS, Cano MI. Telomere and telomerase biology. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2014; 125: 1-40. doi: 10.1016/B978-0-12-397898-1.00001-3
11. Monaghan P, Eisenberg DTA, Harrington L, Nussey D. Understanding diversity in telomere dynamics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018 Mar; 373 (1741). pii: 20160435. doi: 10.1098/rstb.2016.0435
12. Young AJ. The role of telomeres in the mechanisms and evolution of life-history trade-offs and ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018 Mar; 373(1741). pii: 20160452. doi: 10.1098/rstb.2016.0452
13. Haver VG, Mateo Leach I, Kjekshus J, Fox JC, Wedel H, Wikstrand J, et al. Telomere length and outcomes in ischaemic heart failure: data from the Controlled Rosuvastatin in multinational Trial in Heart Failure (CORONA). *Eur J Heart Fail*. 2015 Mar; 17(3): 313-19. doi: 10.1002/ehf.237
14. Roth SM. Physical Activity May Improve Aging Through Impacts on Telomere Biology. *Kinesiology Review*. 2015; 4(1): 99-106. <https://doi.org/10.1123/kr.2014-0083>
15. Ascensão A, Ferreira R, Magalhães J. Exercise-induced cardioprotection—biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. *Int J Cardiol*. 2007 Apr; 117(1): 16-30. doi: 10.1016/j.ijcard.2006.04.076
16. Stewart KJ. Exercise training and the cardiovascular consequences of type 2 diabetes and hypertension: plausible mechanisms for improving cardiovascular health. *JAMA*. 2002 Oct; 288 (13): 1622-31.
17. Rae DE, Vignaud A, Butler-Browne GS, Thornell LE, Sinclair-Smith C, Derman EW, et al. Skeletal muscle telomere length in healthy, experienced, endurance runners. *Eur J Appl Physiol*. 2010 May; 109(2): 323-30. doi: 10.1007/s00421-010-1353-6
18. Renault V, Piron-Hamelin G, Forestier C, DiDonna S, Decary S, Hentati F, et al. Skeletal muscle regeneration and the mitotic clock. *Exp Gerontol*. 2000 Sep; 35 (6-7): 711-19.
19. 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 Aug; 52(6): 470-82. doi: 10.1016/j.jacc.2008.04.034
20. 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*. 2012 Sep; 67(9): 911-26. doi: 10.1093/gerona/gls002
21. Akbari H, Maleki MJ, Ravasi AA, Kordi MR, Dizaji A, Miri SM, et al. [The effect of an endurance training period with cellular Anti-aging purpose on telomerase enzyme activity in cardiac tissue and peripheral blood lymphocytes in male rats]. *J Med Counc I.R. Iran*. 2014; 31(4): 315-28. [Article in Persian]
22. Behnenburg F, Heinen A, Bruch LV, Hollmann MW, Huhn R. Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning is Blocked in the Aged Rat Heart in Vivo. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017 Aug; 31(4): 1223-26. doi: 10.1053/j.jvca.2016.07.005
23. Rezaei R, Nourshahi M, Khodagholi F, Haghparast A, Nasoohi S, Bigdeli M, et al. Differential impact of treadmill training on stroke-induced neurological disorders. *Brain Inj*. 2017; 31(13-14): 1910-17. doi: 10.1080/02699052.2017.1346287
24. Oh H, Taffet GE, Youker KA, Entman ML, Overbeek PA, Michael LH, et al. Telomerase reverse transcriptase promotes cardiac muscle cell proliferation, hypertrophy, and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Aug; 98(18): 10308-13. doi: 10.1073/pnas.191169098
25. van Steensel B, Smogorzewska A, de Lange T. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell*. 1998 Feb; 92(3): 401-13.
26. Leri A, Franco S, Zacheo A, Barlucchi L, Chimenti S, Limana F, et al. Ablation of telomerase and telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53 upregulation. *EMBO J*. 2003 Jan; 22(1): 131-39. doi: 10.1093/emboj/cdg013
27. Fakhrazadeh H, Sharifi F. [Cardiovascular diseases in the elderly]. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2012; 14(3): 1-9. [Article in Persian]
28. 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 Jul; 8(27): 45008-19. doi: 10.18632/oncotarget.16726
29. Mundstock E, Zatti H, Louzada FM, Oliveira SG, Guma FT, Paris MM, et al. Effects of physical activity in telomere length: systematic review and meta-analysis. *Ageing Research Reviews*. 2015 Jul; 22: 72-80. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.02.004>
30. Prasad KN, Wu M, Bondy SC. Telomere shortening during aging: Attenuation by antioxidants and anti-inflammatory agents. *Mech Ageing Dev*. 2017 Jun; 164: 61-66. doi: 10.1016/j.mad.2017.04.004
31. Sallam N, Laher I. Exercise modulates oxidative stress and inflammation in aging and cardiovascular diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 7239639. doi: 10.1155/2016/7239639
32. Robin JD, Ludlow AT, Batten K, Gaillard MC, Stadler G, Magdinier F, et al. SORBS2 transcription is activated by telomere position effect-over long distance upon telomere shortening in muscle cells from patients with facioscapulohumeral dystrophy. *Genome Res*. 2015 Dec; 25(12): 1781-90. doi: 10.1101/gr.190660.115
33. Ludlow AT, Gratidão 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 Apr; 102(4): 397-410. doi: 10.1113/EP086189
34. Rose BA, Force T, Wang Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale. *Physiol Rev*. 2010 Oct; 90(4): 1507-46. doi: 10.1152/physrev.00054.2009