

تأثیر تمرین استقامتی در شرایط آلودگی هوا بر بیان ژن‌های PGC-1 α و MEF2C میتوکنندری بافت عضلانی موش‌های نر نژاد Wistar

علی اکبر استکی اورگانی^۱، وحید ولی پور دهنو^۲، مهدی کارگر فرد^۳، احسان قهرمان لو^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تمرینات استقامتی از طریق افزایش بیان ژن PGC-1 α باعث بایوژنز میتوکنندری می‌شوند. همچنین، آلودگی هوا سبب اختلال در بایوژنز میتوکنندری می‌گردد. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی در شرایط آلودگی هوا بر بیان ژن‌های PGC-1 α و MEF2C میتوکنندری بافت عضله‌ی دوقلوی موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar بود.

روش‌ها: ۳۲ سر موش ۸ هفته‌ای (با وزن $10/65 \pm 180/77$ گرم) به طور تصادفی به چهار گروه شاهد، تمرین، آلودگی و تمرین + آلودگی تقسیم شدند. به منظور قرار دادن حیوانات در معرض آلودگی هوا، از اتاقکی به ابعاد $166 \times 199 \times 272$ سانتی‌متر مکعب که به طور کامل ایزوله شده بود، استفاده گردید. ذرات آلاینده‌ی به کار رفته شامل مونوکسید کربن، دی‌اکسید سولفور و دی‌اکسید نیتروژن بودند. تمرین استقامتی به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هر هفته انجام شد. ۲۴ ساعت پس از اتمام تمرین، موش‌ها تشریح و بافت عضله‌ی دوقلوی آن‌ها استخراج شد. با به کارگیری از روش Real time reverse transcription polymerase chain reaction (Real time RT-PCR) میزان بیان ژن‌های PGC-1 α و MEF2C اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از آزمون Two-way ANOVA استفاده شد.

یافته‌ها: تعامل معنی‌داری بین اثرات ورزش و آلودگی بر بیان ژن PGC-1 α وجود داشت ($P = 0/03$). همچنین، تعامل غیر معنی‌داری بین اثرات ورزش و آلودگی بر بیان ژن MEF2C مشاهده گردید ($P = 0/61$)، اما اثرات اصلی نشان داد که ورزش و آلودگی تأثیر معنی‌داری بر روی بیان ژن MEF2C دارند ($P = 0/03$).

نتیجه‌گیری: آلودگی هوا کاهش معنی‌داری در بیان ژن‌های PGC-1 α و MEF2C ایجاد می‌کند، اما تمرین استقامتی افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های MEF2C و PGC-1 α ایجاد می‌کند. به هر حال، تمرین استقامتی در شرایط آلودگی تنها بیان ژن PGC-1 α را افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: آلودگی هوا، بایوژنز میتوکنندریایی، تمرین استقامتی

ارجاع: استکی اورگانی علی اکبر، ولی پور دهنو وحید، کارگر فرد مهدی، قهرمان لو احسان. تأثیر تمرین استقامتی در شرایط آلودگی هوا بر بیان ژن‌های PGC-1 α و MEF2C میتوکنندری بافت عضلانی موش‌های نر نژاد Wistar. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۲۱): ۳۰۹-۳۰۳

O₃، ذرات معلق کوچک‌تر از ۱۰ میکرون (Particular matter یا PM₁₀) یا ذرات معلق بین ۱۰-۲/۵ میکرون (PM_{2.5-10})، دی‌اکسید سولفور (Sulfur dioxide یا SO₂) (۲-۳)، فلزاتی مانند کادمیوم (Cadmium) (۳)، سرب و ترکیبات آلی فرار از آلاینده‌های شهری می‌باشند (۳-۴). وقتی هوا راکد می‌شود یا وارونگی دما اتفاق می‌افتد، برخی از این آلاینده‌ها به غلظت‌های خطرناک می‌رسند (۵).
سطح بالای آلاینده‌های هوا می‌تواند منجر به کاهش حداکثر

مقدمه

در مناطق شهری، آلاینده‌های هوا به طور عمده از احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی مانند آگروز اتومبیل، گرمایش مناطق مسکونی و انتشار آلاینده‌های صنعتی سرچشمه می‌گیرند. آلودگی ناشی از وسایل نقلیه به‌عنوان مهم‌ترین منبع شناخته‌شده و شامل ترکیبی از آلاینده‌هاست (۱). مونوکسید کربن (Carbon monoxide یا CO)، اکسیدهای نیتروژن (Nitrogen oxides یا NOX)، ازن (Ozone یا

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم روان‌شناسی و بالینی، دانشگاه چارلز داروین، داروین، استرالیا

نویسنده‌ی مسؤؤل: وحید ولی پور دهنو

فیزیولوژیک کمتر مورد توجه قرار گرفته است. سیستم عضلانی مصرف انرژی بالایی دارد و سیستم هوایی نقش مهمی در عملکرد این سیستم دارد، بیشتر مطالعات بر روی عملکرد ورزشی در هوای آلوده انجام شده و در رابطه با تأثیر ورزش استقامتی بر روی سازگاری‌های سلولی و مولکولی همچون بیان ژن PGC-1 α میتوکندری در شرایط آلودگی هوا مطالعات محدودی انجام شده بود. از این رو، مطالعه‌ی حاضر به بررسی اختلالات بایوژن میتوکندری عضلانی در مواجهه با شرایط محیطی آلوده انجام شد. در نهایت، انتظار می‌رود تمرینات استقامتی با افزایش بیان عواملی که باعث بایوژن میتوکندری می‌شوند، از اثرات منفی ناشی از آلودگی هوا بکاهند. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر تمرین استقامتی در شرایط آلودگی هوا بر بیان ژن‌های PGC-1 α و MEF2C میتوکندری عضله‌ی دوقلوی موش‌های نر نژاد Wistar بود.

روش‌ها

حیوانات و شرایط نگهداری: پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به همراه گروه شاهد بود و به شیوه‌ی آزمایشگاهی انجام شد. ۳۲ موش نر نژاد Wistar با سن ۸ هفته و وزن ۱۵۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه‌ی رویان خریداری شدند. حیوانات در گروه‌های چهارتایی در قفس‌های مخصوص در دمای اتاق (۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) و طبق چرخه‌ی ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از تهیه‌ی موش‌های مورد نیاز برای انجام پژوهش، تمامی حیوانات به مدت یک هفته به منظور آشناسازی با محیط نگهداری شدند. پس از آن، تمامی موش‌ها به مدت یک هفته با دويدن بر روی نوار گردان آشنا شدند. موش‌ها پس از ۴۸ ساعت استراحت بعد از دوره‌ی آشنایی با نوار گردان، مورد آزمون وامانده‌ساز جهت سنجش حداکثر سرعت قرار گرفتند. در این زمان، موش‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه شامل گروه تمرین + هوای آلوده، گروه تمرین، گروه هوای آلوده و گروه شاهد تقسیم شدند. تمام آزمایش‌های صورت گرفته بر اساس دستورالعمل کار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوانات) بر طبق Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC) انجام گرفت (۱۸).

تمرین: ورزش هوایی در تمامی موش‌هایی که در این پژوهش به فعالیت بدنی وادار می‌شدند، شامل گرم کردن به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰-۵۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوار گردان و سپس، به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۶۰ درصد سرعت بیشینه در دو هفته‌ی اول؛ ۶۵ درصد سرعت بیشینه در دو هفته‌ی دوم و ۷۰ درصد سرعت بیشینه از هفته‌ی پنجم به بعد بود. در انتها، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۵-۳۵ درصد سرعت بیشینه، عملیات سرد کردن را انجام

اکسیژن مصرفی شود (۶). التهاب، مرگ سلولی و استرس اکسیداتیو مکانیسم اصلی اثرات بیولوژیک ناشی از آلاینده‌های هوا هستند (۷). همچنین، میتوکندری توسط آلاینده‌های محیط زیست نظیر PM، Nox، SO₂، کادمیوم و سرب مورد هدف قرار می‌گیرد و باعث اختلال آن می‌شوند (۳، ۸). اختلالات میتوکندری نقش محوری در عوارض ناشی از آلودگی هوا ایفا می‌کند و آلودگی هوا باعث تورم میتوکندری، کاهش بیان ژن کنترل‌کننده فعالیت میتوکندری و بایوژن میتوکندریایی می‌شود (۳، ۷، ۹). بایوژن میتوکندریایی فرایندی است که در پاسخ به افزایش تقاضای سلولی برای تولید Adenosine triphosphate (ATP) در برخی شرایط فیزیولوژیک صورت می‌گیرد. بایوژن میتوکندری که به‌وسیله‌ی PGC-1 α و در پاسخ به تمرین صورت می‌گیرد، منجر به افزایش فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌شود (۱۰-۸).

تنظیم‌کننده‌ی مهم بیان ژن‌های میتوکندریایی حین بایوژن PGC-1 α است. PGC-1 α ، متابولیسم اکسیداتیو در برخی از بافت‌ها را به خوبی تنظیم می‌کند (۱۱-۱۰). عوامل مختلفی نظیر تمرین، دما و هورمون‌ها بر بیان PGC-1 α تأثیر می‌گذارند. تمرینات ورزشی از طریق فعالیت p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) باعث MEF2C می‌شود که این عامل، در نهایت باعث بیان PGC-1 α می‌شود (۱۲). مهم‌ترین سازگاری ناشی از تمرینات استقامتی، بایوژن میتوکندری است (۱۳). تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که تمرین منظم هوایی، باعث بهبود عملکرد هوایی و بی‌هوایی می‌شود که نتیجه‌ی افزایش فعالیت آنزیم‌های میتوکندری و افزایش بیشینه‌ی اکسیژن مصرفی میتوکندری و بایوژن میتوکندری است (۱۴-۱۳).

در مطالعات کنترل‌شده‌ی انسانی و مشاهدات، اعلام شده است که آلودگی هوا، عملکرد ورزشکار را در طی تمرین و مسابقه کاهش می‌دهد. میزان مواجهه با آلودگی هوا در هنگام ورزش‌های زیر بیشینه و طولانی مدت نسبت به ورزش‌های مقاومتی در سالن‌های تمرینی و حالت استراحت بسیار بیشتر است (۱۵). مدت زمان ورزش از عوامل بسیار مهم در ایجاد عوارض ناشی از آلاینده‌ها بر ورزشکاران است. دوندگان ماراتن و سایر شرکت‌کنندگان در رویدادهای استقامتی طولانی مدت مانند پیاده‌روی و دوچرخه‌سواری، به احتمال زیاد بیشتر در معرض اثرات مضر آلاینده‌ها هستند (۱۶). در آزمایشگاه عملکرد میتوکندری در مواجهه با مواد سمی مانند مونوکسید کربن، دی‌اکسید سولفور، مونواکسید نیتروژن (مواد تشکیل‌دهنده‌ی آلودگی هوا) با اختلال مواجه می‌شود و این مواد سمی، باعث از بین رفتن عملکرد طبیعی میتوکندری می‌شوند (۱۷، ۹، ۷، ۴).

NO₂، SO₂ و CO از عوامل آلودگی هوا هستند؛ با این حال، در بیشتر مطالعات تجربی آلودگی هوا و محیط، تنها به تأثیر یکی از این مواد پرداخته شده و تأثیر هم‌زمان این نوع آلودگی‌ها بر عملکرد

دادند. پس از چهار هفته از تمرینات با توجه به سازگاری حیوانات با تمرین، بار دیگر از حیوانات آزمون وامانده ساز گرفته شد و شدت تمرینات بعدی بر اساس آزمون وامانده ساز جدید تعیین گردید (۱۹). جهت تعیین بیشینه سرعت، از آزمون فزاینده ای استاندارد شده توسط Leandro و همکاران (۱۹) برای موش های نژاد Wistar انجام گرفت. آزمون شامل ۱۰ مرحله ای سه دقیقه ای بود. سرعت در مرحله ای اول ۰/۳ کیلومتر/ساعت بود و در مراحل بعدی، ۰/۳ کیلومتر/ساعت به سرعت نوار اضافه می شد. با توجه به این که پنج روش آزمون وامانده ساز توسط Leandro و همکاران جهت تعیین بیشینه اکسیژن مصرفی، معرفی شده است که دارای شیب های متفاوت می باشند، در این پژوهش از شیب صفر برای تعیین بیشینه سرعت در بیشینه اکسیژن مصرفی استفاده شد و سرعت به دست آمده در آخرین مرحله که حیوان قادر به دویدن نبود، به عنوان بیشترین سرعت دویدن حیوان مورد استفاده قرار گرفت (۱۹).

شیوه نامه ای قرارگیری در معرض ذرات: برای قرارگیری حیوانات در آلودگی هوا، از اتاقکی به حجم ۸۹۳۱ لیتر (۱۶۶ × ۱۹۹ × ۲۷۲ سانتی متر مکعب) که به طور کامل ایزوله شده بود، استفاده گردید. ذرات آلاینده ای که بار رفته در این تحقیق، مونوکسید کربن، دی اکسید سولفور و دی اکسید نیتروژن بودند که از شرکت ترکیب گاز پارس تهیه شدند. میزان آلودگی هوا برابر با میانگین آلودگی هوای اعلام شده توسط سازمان هواشناسی اصفهان مطابق با میانگین آلودگی روزهای آلوده، شبیه سازی شد؛ به گونه ای که مقادیر مونوکسید کربن ۹-۱۵ قسمت در میلیون (Parts per million یا PPM)، دی اکسید نیتروژن بین ۰/۶-۰/۳ قسمت در میلیون و دی اکسید سولفور ۰/۵ قسمت در میلیون در نظر گرفته شد. با استفاده از فرمول $PV = nRT$ (۲۰) مقدار ۰/۰۲۵ گرم برای SO_2 ، مقدار ۰/۱۲۰ گرم برای CO و مقدار ۰/۰۲۰ برای NO_2 در نظر گرفته شد و از طریق سنسور Aeroqual series 200 در هر ۱۵ دقیقه مورد اندازه گیری قرار گرفت. تمامی موش های این پژوهش، ۲۴ ساعت پس از هشت هفته دوره تمرینی، از طریق تزریق درون صفاقی ترکیب کامین و زایلانین بیهوش شدند و سپس، عضله ی دوقلوی آن ها استخراج شد و درون نیتروژن مایع قرار گرفت و این نمونه ها تا زمان انجام آزمایش های

مولکولی در فریزر ۷۰- درجه ی سانتی گراد منجمد و نگهداری شدند.

استخراج *complementary DNA (cDNA)*: استخراج RNA با استفاده از کیت Total RNA ساخت شرکت Thermo scientific انجام گرفت. مراحل کار طبق دستورالعمل کیت انجام شد. از کیت DNase برای پاک سازی DNA استفاده شد. در پایان، از دستگاه نانودراپ با نسبت طول موج ۲۸۰/۲۶۰ در محدوده ی ۲/۱-۱/۹ برای میزان غلظت RNA استفاده شد. سپس، با استفاده از پرایمرهای Oligo dt و بر اساس کیت سنتز cDNA ساخت شرکت Takara طبق دستورالعمل کیت، cDNA سنتز گردید و آن گاه، cDNA ساخته شده در فریزر ۷۰- درجه ی سانتی گراد نگهداری شد.

***Polymerase chain reaction (PCR)*:** از ژن های PGC-1 α و MEF2C به عنوان ژن هدف و از ژن GAPDH نیز به عنوان ژن مرجع جهت شاهد داخلی استفاده شد و صحت بررسی های PCR با استفاده از GAPDH تأیید گردید. بیان ژن ها با استفاده از تکنیک Real Time PCR با استفاده از کیت Maxima SYBR green/ROX qPCR master mix (2x) ساخت شرکت Thermo Scientific با استفاده از دستگاه ABI STEP ONE PLUS انجام گرفت. پرایمرهای Forward و Reverse برای ژن های PGC-1 α ، MEF2C و GAPDH (به عنوان شاهد) از طریق سایت www.ncbi-nim.nih.gov طراحی و توسط نرم افزار Gene Runner و Primer 3 تأیید شد (جدول ۱). جهت انجام PCR، برنامه ی دستگاه شامل ۳ دقیقه دمای ۹۶ درجه ی سانتی گراد جهت دناتوراسیون اولیه و ۳۵ چرخه با الگوی دناتوراسیون ۳۰ ثانیه در دمای ۹۶ درجه ی سانتی گراد، آنیلینگ ۳۰ ثانیه در دمای ۵۹ درجه ی سانتی گراد، طولیل شده ۴۳ ثانیه در دمای ۷۲ درجه ی سانتی گراد و در آخر نیز جهت اتمام طولیل شدن، یک زمان ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه ی سانتی گراد در نظر گرفته شد. واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر با الگوی ۱۲/۵ میکرولیتر Green/ROX qPCR master mix، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای Forward و Reverse (۱۰ پیکومول)، ۴ میکرولیتر از cDNA استخراج شده (۱۰ نانوگرم) انجام شد و حجم هر واکنش به وسیله ی آب دوبار تقطیر به ۲۵ میکرولیتر رسید.

جدول ۱. الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

ژن	توالی ۳-۵	اندازه ی محصول (جفت باز)
GAPDH	F CACCATCCGGGTTCTCTATAA	۴۴
	R GAATTTGCCGTGAGTGGAGT	
PGC-1 α	F TGACATGGATGTTGGGATTG	۱۷۶
	R TGAGGACCGCTAGCAAGTTT	
MEF2C	F GGTCTGGTTGTCAATGATACCTTT	۲۲۴
	R TGTCCAAACCTCTGACAGGTAATAA	

بحث

ژن PGC-1 α یکی از مهم‌ترین تنظیم کننده‌های مسیر بایوژن میتوکندری و در نهایت، عملکرد میتوکندری است و باعث افزایش سطوح پروتئین‌های چرخه‌ی تنفسی و سطوح Mitochondrial DNA (mtDNA) در سلول‌ها می‌شود (۲۱). از یافته‌های پژوهش حاضر، این است که در اثر فعالیت استقامتی بیان ژن PGC-1 α عضله‌ی دوقلو افزایش داشته است. فعالیت استقامتی موجب کاهش سطح ATP و افزایش کلسیم درون سلولی می‌شود که این عوامل، باعث فعال‌سازی مسیرهای AMP-activated protein kinase (AMPK) و Calcium/Calmodulin-dependent protein kinase (CaMK) می‌شود (۲۲). فعال‌سازی این ژن‌ها در مسیر پیام‌رسانی منجر به فعال‌سازی رونویسی MEF2، Activating transcription factor 2 (ATF2) و افزایش سنتز PGC-1 α می‌شود (۲۳، ۱۲). با افزایش فعالیت بدنی شدید و در نتیجه مصرف ATP، نسبت AMP به ATP افزایش می‌یابد که موجب واماندگی در تولید انرژی می‌شود. این پدیده، آغازی برای انطباق بافت با شرایط جدید و تلاش برای این انطباق است که در نهایت، منجر به فعال‌سازی AMPK می‌شود (۲۳).

تحقیقات نشان داده‌اند که AMPK موجب فعال شدن بیان ژن PGC-1 α می‌شود که تحت تأثیر این روند، میزان آن افزایش می‌یابد (۲۴). Wright و همکاران، گزارش دادند تمرینات ورزشی شنای طولانی مدت، باعث فسفریلاسیون P38AMPK می‌شود که در ادامه، باعث رونویسی PGC-1 α شده است. این رویدادها همراه با افزایش سیترات سنتاز، Messenger RNA (mRNA)، سیتوکروم C و تنظیمات بالادستی در پروتئین‌های میتوکندری بوده است (۲۵).

از نتایج دیگر این مطالعه، این است که تمرین استقامتی باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن MEF2C شده است. تمرین از طریق دو مسیر باعث افزایش بیان MEF2C می‌شود. اولین مسیر، به این صورت است که افزایش کلسیم باعث افزایش کلسینورین (Calcineurin) و CaMKIV و در ادامه باعث بیان MEF2C می‌شود. از دیگر سو، Calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV (CaMKIV) رونویسی cAMP response element-binding protein (CREB) را باعث می‌شود که در ادامه، CREB سبب بیان PGC-1 α می‌گردد. مکانیسم بعدی از طریق مسیر P38MAPK، P38MAPK باعث بیان MEF2C از طریق ATF2 می‌شود (۱۲).

از یافته‌های دیگر مطالعه‌ی حاضر این بود که تعامل معنی‌داری بین اثرات ورزش و آلودگی بر بیان ژن PGC-1 α وجود دارد، اما نسبت به گروه تمرینی کمتر بود. آلودگی هوا، باعث فشار اکسایشی و پاسخ‌های التهابی در سلول‌های اپی‌تلیال انسان می‌شود. همچنین، آلودگی هوا باعث تورم، بی‌نظمی تیغه‌ها، ایجاد حفره و شکاف

روش آماری: داده‌های به دست آمده از Real time PCR به صورت CT بودند، با استفاده از نرم‌افزار Excel به $\Delta\Delta ct$ تبدیل شدند. از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ برای کمی‌سازی مقادیر استفاده شد. اطلاعات آماری مورد نیاز پس از جمع‌آوری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) و با در نظر گرفتن $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل شد. بعد از اطمینان طبیعی بودن توزیع متغیرهای پژوهش از آزمون آماری Two-way ANOVA استفاده شد.

یافته‌ها

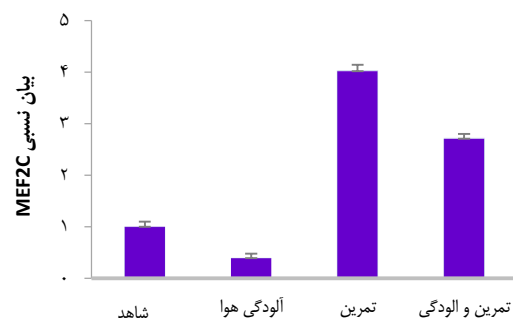
نتایج نشان داد که تعامل معنی‌داری بین اثرات ورزش و آلودگی بر بیان ژن PGC-1 α وجود دارد ($P = 0/03$). همچنین، اثرات اصلی نشان داد که ورزش و آلودگی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن PGC-1 α دارند ($P < 0/01$) (شکل ۱)، اما که تعامل غیر معنی‌داری بین اثرات ورزش و آلودگی بر بیان ژن MEF2C وجود داشت ($P = 0/61$)



شکل ۱. تغییرات بیان ژن PGC-1 α بین گروه‌ها

*تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد ($P < 0/05$); †تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد ($P = 0/03$)

همچنین، اثرات اصلی نشان داد که ورزش و آلودگی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن MEF2C دارند ($P = 0/03$) (شکل ۲).



شکل ۲. تغییرات بیان ژن MEF2C بین گروه‌ها

*تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد ($P < 0/05$)

PGC-1 α در مواجهه با آلودگی هوا تغییر معنی‌داری نداشته است که مغایر با نتایج مطالعه‌ی حاضر است (۱۷، ۷)؛ چرا که در مطالعه‌ی حاضر، از گاز SO₂ نیز استفاده شده است. بنابراین، احتمال می‌رود از اثرات دیگر گازها بر روی بیان PGC-1 α کاسته است.

در مطالعه‌ی دیگری که به تأثیر آلودگی هوا (کادمیوم) بر مسیر بایوژن میتوکندری Melatonin receptor 1/ sirtuin 1/ Peroxisome proliferator-activated receptor (MT1/STR1/PGC-1 α) پرداخته بودند، نتایج نشان داد که پتانسیل غشای میتوکندری دچار اختلال می‌شود، توده‌ی میتوکندری، ظرفیت DNA میتوکندری، بیان STR1 و PGC-1 α در مواجهه شدن با کادمیوم کاهش یافته است (۳). مکانیسمی که آلودگی هوا باعث کاهش بایوژن و اختلالات میتوکندری می‌شود، به طور کامل ناشناخته است. از آن جایی که در فعالیت‌های ورزشی طولانی مدت مانند شنا PGC-1 α افزایش می‌یابد مانند مطالعه‌ی Wright و همکاران (۲۵)، اما در شرایط آلودگی هوا، ROS افزایش می‌یابد (۲۷) و از آن جایی که PGC-1 α باعث دتوکسی ROS می‌شود (۱۷، ۷)، بنابراین کاهش معنی‌دار بیان PGC-1 α در حین ورزش در شرایط آلودگی دور از انتظار نیست.

نتیجه‌گیری نهایی این که آلودگی هوا کاهش معنی‌داری در بیان ژن‌های PGC-1 α و MEF2C ایجاد می‌کند، اما تمرین استقامتی افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های MEF2C و PGC-1 α ایجاد می‌کند. به هر حال، تمرین استقامتی در شرایط آلودگی تنها بیان ژن PGC-1 α را افزایش می‌دهد. همچنین، ورزش استقامتی نمی‌تواند از اثرات منفی آلودگی بر بیان ژن MEF2C جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکتری رشته‌ی علوم ورزشی دانشگاه لرستان به شماره‌ی ۱۰۱۹۵ می‌باشد. بدین وسیله، از همکاری گروه فیزیولوژی دانشکده‌ی علوم پزشکی اصفهان که در اجرای این تحقیق همکاری داشته‌اند، قدردانی می‌گردد.

میتوکندری شده است. این تغییرات فراساختاری میتوکندری در ادامه باعث اختلالات در عملکرد زنجیره‌ی تنفسی میتوکندری می‌شود (۹، ۷). همچنین، آلودگی هوا باعث کاهش سطوح پروتئین Transcription factor A, mitochondrial (TFAM1) و همین‌طور عامل ترجمه‌ی هسته‌ای Nuclear respiratory factor 1 (NRF-1) شده است که هم انرژی متابولیسم و هم بیان ژن PGC-1 α را تنظیم می‌کند (۱۷، ۹).

مطالعات قبلی با استفاده از گازهای CO، NO₂ و PM_{2.5} نشان داده‌اند که مواجهه شدن با غلظت زیاد آلودگی هوا، باعث از بین رفتن کریستا و نقص میتوکندری یا از دست دادن و حتی کولاپس (Collapse) میتوکندری می‌شود. این شاخص‌ها، مشخص می‌کند که عملکرد میتوکندری تحت تأثیر آلودگی هوا دچار نقصان می‌شود. بنابراین، ممکن است بر روی PGC-1 α نیز تأثیرگذار باشد (۱۷، ۹) و از آن جایی که در تمرین ورزشی PGC-1 α افزایش می‌یابد، پس عوارض ناشی از آلودگی در بیان ژن PGC-1 α را کاهش می‌دهد. از دلایل آن، می‌توان به تجمع Reactive oxygen species (ROS) در میتوکندری اشاره کرد که باعث تشکیل چندین آبشار پیام‌رسانی فیزیولوژیک می‌شود که نتیجه‌ی آن، اختلال عملکرد میتوکندری و ژن PGC-1 α می‌باشد (۲۶).

آلودگی هوا، باعث افزایش سطوح ROS و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بین سلولی می‌شود که در مجموع، این عوامل باعث تغییر شکل و کاهش قابلیت زیستی سلول‌های اپی‌تلیال می‌شود (۲۷)، اما در مطالعه‌ی دیگری که به تأثیر هوای آلوده با شاخص گاز SO₂ پرداخته بود، نتایج نشان داد که SO₂ باعث افزایش پتانسیل غشای داخلی میتوکندری و به موازات آن هایپریپلاریزاسیون میتوکندری و افزایش سطوح کمپلکس IV و V، زنجیره‌ی تنفسی و افزایش mtDNA شده است که به طور مستقیم، باعث تحریک و بایوژن میتوکندری می‌شود. همچنین، SO₂ باعث افزایش معنی‌دار NRF-1 می‌شود که افزایش ژن‌های هسته‌ای کدگذار ترکیبات Oxidative phosphorylation (OXPHOS) را بر عهده دارد و در مطالعه‌ی انجام شده، عامل اصلی برای بایوژن میتوکندری یعنی

References

1. Kymisis M, Hadjstavrou K. Short-term effects of air pollution levels on pulmonary function of young adults. *Internet J Pulm Me* 2007; 9(2): 1-5.
2. Giles LV, Koehle MS. The health effects of exercising in air pollution. *Sports Med* 2014; 44(2): 223-49.
3. Guo P, Pi H, Xu S, Zhang L, Li Y, Li M, et al. Melatonin Improves mitochondrial function by promoting MT1/SIRT1/PGC-1 alpha-dependent mitochondrial biogenesis in cadmium-induced hepatotoxicity in vitro. *Toxicol Sci* 2014; 142(1): 182-95.
4. Guo Z, Hong Z, Dong W, Deng C, Zhao R, Xu J, et al. PM_{2.5}-Induced oxidative stress and mitochondrial damage in the nasal mucosa of rats. *Int J Environ Res Public Health* 2017; 14(2).
5. Braga AL, Saldiva PH, Pereira LA, Menezes JJ, Conceicao GM, Lin CA, et al. Health effects of air

- pollution exposure on children and adolescents in Sao Paulo, Brazil. *Pediatr Pulmonol* 2001; 31(2): 106-13.
6. Kargarfard M, Poursafa P, Rezanjad S, Mousavinasab F. Effects of exercise in polluted air on the aerobic power, serum lactate level and cell blood count of active individuals. *Int J Prev Med* 2011; 2(3): 145-50.
 7. Qin G, Wang J, Huo Y, Yan H, Jiang C, Zhou J, et al. Sulfur dioxide inhalation stimulated mitochondrial biogenesis in rat brains. *Toxicology* 2012; 300(1-2): 67-74.
 8. Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, et al. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect* 2003; 111(4): 455-60.
 9. Ku T, Ji X, Zhang Y, Li G, Sang N. PM2.5, SO2 and NO2 co-exposure impairs neurobehavior and induces mitochondrial injuries in the mouse brain. *Chemosphere* 2016; 163: 27-34.
 10. O'Hagan KA, Cocchiglia S, Zhdanov AV, Tambuwala MM, Cummins EP, Monfared M, et al. PGC-1alpha is coupled to HIF-1alpha-dependent gene expression by increasing mitochondrial oxygen consumption in skeletal muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(7): 2188-93.
 11. Arany Z. PGC-1 coactivators and skeletal muscle adaptations in health and disease. *Curr Opin Genet Dev* 2008; 18(5): 426-34.
 12. Fernandez-Marcos PJ, Auwerx J. Regulation of PGC-1alpha, a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(4): 884S-90.
 13. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab* 2013; 17(2): 162-84.
 14. Arabmomeni A, Mohebbi H, Rahmani-Nia F, Riasi A, Marandi M. Effect of intermittent training on oxidative and glycolytic capacity in rat skeletal muscles. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2014; 22(5): 1554-66. [In Persian].
 15. Pierson WE. Impact of air pollutants on athletic performance. *Allergy Proc* 1989; 10(3): 209-14.
 16. Carlisle AJ, Sharp NC. Exercise and outdoor ambient air pollution. *Br J Sports Med* 2001; 35(4): 214-22.
 17. Yan W, Ji X, Shi J, Li G, Sang N. Acute nitrogen dioxide inhalation induces mitochondrial dysfunction in rat brain. *Environ Res* 2015; 138: 416-24.
 18. Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henriksen EJ, Musch T, et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. Bethesda, MD: American Physiological Society; 2006.
 19. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; 21(3): 751-6.
 20. Rozier S, Viennot L. Students' reasonings in thermodynamics. *International Journal of Science Education* 1991; 13(2): 159-70.
 21. Choi J, Chandrasekaran K, Inoue T, Muragundla A, Russell JW. PGC-1alpha regulation of mitochondrial degeneration in experimental diabetic neuropathy. *Neurobiol Dis* 2014; 64: 118-30.
 22. Richter EA, Ruderman NB. AMPK and the biochemistry of exercise: implications for human health and disease. *Biochem J* 2009; 418(2): 261-75.
 23. Czubryt MP, Olson EN. Balancing contractility and energy production: the role of myocyte enhancer factor 2 (MEF2) in cardiac hypertrophy. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59: 105-24.
 24. Terada S, Kawanaka K, Goto M, Shimokawa T, Tabata I. Effects of high-intensity intermittent swimming on PGC-1alpha protein expression in rat skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2005; 184(1): 59-65.
 25. Wright DC, Han DH, Garcia-Roves PM, Geiger PC, Jones TE, Holloszy JO. Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1alpha expression. *J Biol Chem* 2007; 282(1): 194-9.
 26. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* 2009; 417(1): 1-13.
 27. Bae S, Pan XC, Kim SY, Park K, Kim YH, Kim H, et al. Exposures to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and oxidative stress in schoolchildren. *Environ Health Perspect* 2010; 118(4): 579-83.

The Effect of Endurance Training in Air Pollution on the Expression of Muscle Tissue Mitochondria PGC-1 α and MEF2C Genes in Wistar Male Rats

Ali Akbar Esteki-Uoregani¹, [Vahid Valipour Dehnou](#)², Mehdi Kargarfard³, Ehsan Ghahramanlou⁴

Original Article

Abstract

Background: Endurance training through PGC-1 α gene expression induces mitochondrial biogenesis. Furthermore, air pollution causes mitochondrial biogenesis disorders. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of endurance training in air pollution on the expression of muscle tissue mitochondria PGC-1 α and MEF2C genes in Wistar male rats.

Methods: 32 male Wistar 8-week-old rats (weight: 180.77 \pm 10.65 g) were randomly divided into four groups of control, training, pollution, and training + pollution. In order to place the animals exposed to air pollution, a chamber with dimensions of 166 \times 199 \times 272 cm, which was completely isolated, was used. The pollutants included carbon monoxide, sulfur dioxide, and nitrogen dioxide. The endurance training was performed five times per week for eight weeks. Twenty four hours after the completion of the protocol, the gastrocnemius muscle tissue was extracted. Then, the expression of PGC-1 α and MEF2C genes was measured using real time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Two-way ANOVA test was used to analyze the data.

Findings: There was a statistically significant interaction between the effects of exercise and pollution on the expression of PGC-1 α gene (P = 0.03). Moreover, there was not a statistically significant interaction between the effects of exercise and pollution on the expression of MEF2C gene (P = 0.61). But, simple main effects analysis showed that both exercise and pollution significantly affected expression of MEF2C gene (P = 0.03).

Conclusion: Air pollution significantly reduces the expression of PGC-1 α and MEF2C genes; however, endurance training significantly increases the expression of these genes; but, endurance training in air pollution only increases the expression of PGC-1 α gene.

Keywords: Air pollution, Mitochondrial biogenesis, Endurance training

Citation: Esteki-Uoregani AA, Valipour Dehnou V, Kargarfard M, Ghahramanlou E. **The Effect of Endurance Training in Air Pollution on the Expression of Muscle Tissue Mitochondria PGC-1 α and MEF2C Genes in Wistar Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(521): 303-9.

1- PhD Student, Department of Sport Sciences, School of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran

2- Assistant Professor, Department of Sport Sciences, School of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran

3- Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, College of Health and Human Sciences, Charles Darwin University, Darwin, Australia

Corresponding Author: Vahid Valipour Dehnou, Email: valipour.v@lu.ac.ir