

Research Paper

The Effect of a Detraining After Resistance Training on the Histochemical Expression of Potassium Channels and Mitochondrial Biogenesis of Heart Tissue in Male Rats



Fateme Ahmadi¹, *Marefat Siahkhouhian¹, Shadmehr Mirdar², Leliy Tapak³

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
3. Department of Biostatistics, Noncommunicable Diseases Research Center, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.



Citation Ahmadi F, Siahkhouhian M, Mirdar Sh, Tapak L. [The Effect of a Detraining After Resistance Training on the Histochemical Expression of Potassium Channels and Mitochondrial Biogenesis of Heart Tissue in Male Rats (Persian)]. Quarterly of "The Horizon of Medical Sciences". 2021; 27(2):230-245. <https://doi.org/10.32598/hms.27.2.3361>

doi <https://doi.org/10.32598/hms.27.2.3361.1>



Received: 11 Mar 2020
Accepted: 15 Aug 2020
Available Online: 01 Apr 2021

Keywords:

Resistance training, Detraining, Potassium channels, Mitochondrial biogenesis

ABSTRACT

Aims Detraining may affect cardiovascular adaptations. The present study aimed to investigate the effect of a detraining period followed by resistance training on immunohistochemical expression of ATP-sensitive potassium channels and mitochondrial biogenesis of heart tissue in male rats.

Methods & Materials The present study was experimental. Thirty male Wistar rats were randomly divided into four groups (control, control-detraining, resistance training, and resistance-detraining training). The control group was sacrificed at the beginning of the study, and the control-detraining group did not exercise for 11 weeks. The resistance training group performed eight weeks of training. The resistance-detraining group did not train for three weeks after training. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for statistical analysis.

Findings The expression of KIR6.2, SUR2a, PGC1 α , and TFAM in the heart tissue of the control-detraining group was significantly lower than those in the resistance training group ($P=0.001$). Also, they were significantly higher in the resistance training group compared to those in the resistance-detraining group ($P=0.001$). PGC1 α expression in the resistance-detraining group was higher than in the control-detraining group ($P=0.001$).

Conclusion Resistance training increases PGC1 α and TFAM in the heart tissue of rats by increasing the expression of KIR6.2 and SUR2a. But lack of exercise reduces the expression of potassium channels and factors that increase mitochondrial biogenesis.

English Version

1. Introduction

R

esistance training is associated with various adaptations in the organs of the body [1]. However, functional adaptation and morphology can be reduced after a short

period of detraining [2]. Detraining can be considered a partial or complete interruption of an exercise program or a partial or complete loss of exercise benefits in response to an inadequate exercise stimulus [3]. Some studies have shown that metabolic and functional adaptation of exercise programs can be reduced even after short periods of inactivity due to illness and vacations [4]. Detraining causes loss of various adaptations, including cardiovascular [3].

*** Corresponding Author:**

Marefat Siahkhouhian, PhD.

Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Tel: +98 (45) 31505660

E-mail: m_siahkohian@uma.ac.ir

Potassium channels and mitochondrial biogenesis are among the cardiovascular adaptations affected by exercise [5, 6]. ATP-sensitive potassium (KATP) channels are expressed in various tissues such as the heart [7]. In the cardiovascular system, these channels play a protective role in metabolic stresses such as hypoxia and ischemia (In these conditions, the intracellular ATP concentrations decrease). In the heart, potassium channels reduce the duration of action potential and intracellular potassium loss [8].

Suppression of potassium channels inhibits the growth and development of pathological hypertrophy in the heart. The activation of KATP channels by reducing cell death and tissue damage protects the heart [9]. Cardiac myocytes have two different types of ATP-sensitive potassium channels. There is a classic type in sarcoma (sarcoK ATP) and another type in the mitochondrial inner membrane (mitoK ATP) [10]. It seems that exercise can positively affect these channels. Molecular studies have determined that ATP-sensitive potassium channels of the membrane surface are composed of octameric complexes consisting of four pore subunits (KIR6.2) and four regulatory Sulfonylurea Receptor (SUR) subunits. Two isoforms of inward-rectifier potassium channels (KIR) (KIR6.1 and KIR6.2) and three isoforms of SUR (SUR1, SUR2A, and SUR2B) have been identified [10]. Some research has shown that aerobic exercise affects SUR and KIR content [11, 12].

In the study of Wang et al., who examined the effect of 8 weeks of aerobic exercise in male and female mice, it was found that exercise increased SUR and KIR6.2 [11]. Brown et al. also reported an increase in potassium channels after 12 weeks of regular aerobic exercise [12]. The other effects of exercises are not well understood. For example, there are no clear results for resistance training. Also, the effect of detraining after exercise on potassium channels is unknown. However, some studies have shown that the effect of exercise-induced bradycardia (which can be due to the function of these channels) is reduced by detraining [13, 14]. Junior et al. found that eight weeks of exercise improved markers associated with hypertension and cardiac hypertrophy, including skeletal α -actin and α/β -MHC ratio, but four weeks of detraining caused the loss of these adaptations [14].

Another important adaptation resulting from exercise is an increase in mitochondrial size and density. Peroxisome Proliferator-activated receptor Gamma Coactivator 1-alpha (PGC1 α) plays an essential role in this regard [15]. PGC1 α is expressed in the heart and skeletal muscles to provide energy in response to exercise [16] and plays an essential role in regulating mitochondrial biogenesis [17]. Increased PGC1 α stimulates transcription of the nuclear respiratory factor and leads to increased expression of mitochondrial

transcription factor A (TFAM) and other mitochondrial subunits of the electron transport chain. TFAM is the target gene for Nuclear Respiratory Factor 1 (NRF1), which plays a vital role in coordinating interactions between mitochondria and the nucleus [17]. This gene is a mitochondrial transcription factor that is a key activator in transcription [17]. Limited studies have shown that aerobic and resistance exercise increases PGC1 α in skeletal muscle and heart muscles [18, 19].

Increased TFAM in skeletal muscle due to aerobic exercise has also been reported [20]. The available findings show that mitochondrial adaptations in skeletal muscle decrease by detraining after aerobic training and resistance training [21, 22]. However, no specific results have been reported on the effects of detraining on mitochondrial biogenesis factors (PGC1 α and TFAM) in cardiac cells.

Cardiovascular adaptation seems to be proportionate with exercise characteristics such as intensity and duration of exercise, so inactivity and detraining may weaken the heart and cardiovascular system. This problem becomes more apparent in more prepared people. Therefore, considering the importance of potassium channels and mitochondrial biogenesis factors during training and detraining, as well as research limitations in this field, this study aimed to investigate the effect of a detraining period after resistance training on immunohistochemical expression of ATP-sensitive potassium channels and mitochondrial biogenesis of heart tissue in male rats.

2. Materials and Methods

This study was experimental with a control group. Thirty male Wistar rats (according to previous sources) [12, 18] were purchased at the age of five weeks and transferred to the place of keeping laboratory animals at the Department of Sports Physiology, Mazandaran University, Mazandaran Province, Iran. Then, they were randomly divided into four groups (control group, control-detraining group, the resistance-training group and, the resistance training-detraining group).

The control group at the beginning of the investigation was killed, and the control-detraining group was placed in cages with free access to water and food and did not engage in exercise. The duration of the inactivity in the control-detraining group lasted three weeks longer than the control group. The resistance-training group and the resistance training-detraining group performed the resistance training protocol according to Table 1 during the research. The resistance-detraining group lacked any training for three weeks after completing the training period. At the end of the study,

the rats were first anesthetized and, then, using surgical instruments, their heart tissue was extracted and immediately placed in formalin fluid.

The groups were briefly treated as follows:

- Control group: They were killed at the beginning of the investigation.

- Resistance-training group: They were performed eight weeks of resistance training and killed after eight weeks.

- Resistance training-detraining group: They were performed eight weeks of resistance training and then detrained for three weeks and then were killed.

- Control -detraining group: They did not do any activities during the research (11 weeks) and were killed after that.

Strength training program

In the Scott strength training, to condition the rats, they wore the vest for 20 minutes every day with the help of the researcher. Also, in the first week, they were stood on both feet three sets of 10 in the Scott position with the help of the researcher. In the second week, to familiarize the subjects, they were placed on a squat machine made by Mirdar and Sadoughi (2018) and performed three sets of 10 squats every day without weights. To stimulate the movement, a gentle electric shock was induced on the bottom of the device and the sole of the subject's foot.

The training period of rats was eight weeks, which was performed in sets of 10. The intensity of training in the first three weeks, the end of the fourth week, and the end of the eighth week of the training protocol was at most one maximum repetition (1RM) of the subjects. Then, according to Table 1, the protocol was implemented in two 4-week periods. The weight moved by the subjects was determined by taking into account the weight of the vest, the lever of the measuring device, and the strength and intensity of the exercise. Apart from the main activity time, 5 minutes were provided for a warm-up and 5 minutes for cooling down. The Scott movement was started after wearing the vest with the researcher's help.

Handgrip strength training was performed similar to the Scott training and with the handgrip machine. However, in the handgrip training, the subjects weightlessly hung from the machine in 3 sets of 10 in the first two weeks of acquaintance. The handgrip exercise was performed by pull up using weights attached to the subjects' tails with the researcher's support from the end of the tail without any help

or force from the researcher. The subjects were separated from the machine and had an active rest between training sets. Apart from the main activity time, the subjects had 5 minutes to warm up and 5 minutes to cool down on the device with the researcher's help [23].

Also, 1RM was calculated according to the displaced weight and the number of repetitions according to the Formula 1.

Formula (1):

$$A = (\text{number of repetitions} \times 2) - 100$$

as a result:

$$1RM = A / 100 \times \text{displaced weight}$$

Histopathology

After removing the desired tissue, it was fixed with 10% formalin Bowen solution. The use of this fixative during the tissue preparation process leads to better staining results. Then, to dehydrate the tissue, the sample was placed in 70%, 80%, and 90% and then absolute alcohol. In the molding stage, the paraffin-impregnated sample was placed in a mold filled with molten paraffin. While freezing the paraffin, the left sample inside was ready for cross-section. The sample was cut with a thickness of 5 to 10 μ by microtome.

Immunohistochemistry (IHC) method

The sample was washed with PBS in 3 steps and incubated in citrate buffer (pH: 9.1) for 20 minutes at 70°C. To recover the antigen, 2 N hydrochloric acid was poured on the samples for 30 minutes. The cells were then washed with PBS. Also, 0.3% Triton was used for 30 minutes to permeate the cell membranes and then washed with Phosphate-Buffered Saline (PBS). Then, 10% goat serum was added as additional background dye for 30 minutes to block the secondary antibody reaction. The samples were then transferred from the incubator to a dark room, and after four washes, DAPI was added to them. They were immediately removed, and PBS was poured on the samples. In the last step, the sample was observed by Labomed TCM400 fluorescent microscope.

Also, we used Kir6.2: Sc-390104 laboratory kit (Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), SUR2: MBS8242984 (MyBioSource, USA), PGC1: ab54481 (Abcam, UK), and TFAM: LS-B9989 (LifeSpan, BioSciences, USA).

Statistical method

In the present study, the Shapiro-Wilk test was used to investigate the normality of data distribution. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were also used to examine the research variables. All investigations were performed at the significance level of $\alpha \geq 0.05$ using Prism 5.0.

3. Results

The analysis of variance showed significant differences between the groups in terms of expression of KIR6.2, SUR2a, PGC1 α , and TFAM in the heart tissue of male rats ($P=0.001$). Tukey post hoc test also showed the expression of KIR6.2, SUR2a, PGC1 α , and TFAM was significantly increased in control-detraining ($P=0.001$), resistance training ($P=0.001$), and resistance-detraining ($P=0.001$) groups compared to the control group.

Also, in the resistance training group compared to the control-detraining group, the increased expression of KIR6.2, SUR2a, PGC1 α , and TFAM ($P=0.001$), and in the resistance-detraining group compared to the resistance training group ($P=0.001$), the decreased expression was reported. Regarding the expression of KIR6.2, SUR2a, and TFAM, no significant difference was observed between the control-detraining group and the resistance-detraining group ($P \geq 0.05$) (Figure 1, 2, 3 & 4). However, PGC1 α expression was higher in the resistance-detraining group compared to the control-detraining group ($P=0.001$).

4. Discussion

This study aimed to evaluate the effect of a detraining period after resistance training on the expression of KIR6.2, SUR2a, TFAM, and PGC1 α in the heart tissue of young male rats. The results showed that resistance training had a significant effect on potassium channels. Accordingly, the resistance training group had high levels of KIR6.2 and SUR2a. And the resistance-detraining group, control-

detraining group, and control group were in the next ranks in terms of KIR6.2 and SUR2a expression.

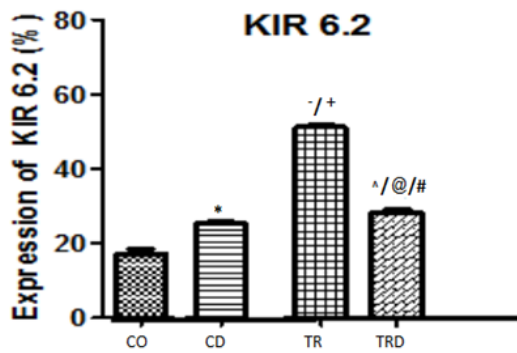
No clear results were found on the effect of resistance training on these proteins. But research by Wang et al. showed that regular endurance training significantly increases SUR myocytes and KIR content [11]. Brown et al. reported that KIR protein increased by 58% and SUR by 75% in the exercise group [12]. Research by Kralovich et al. also showed that intermittent exercise increases SUR2a in the heart tissue of mice with heart failure [24].

There were no clear results on detraining effects after an exercise on potassium channels, but some studies had shown that the effect of chronic exercise bradycardia was reversed when rats were detrained for two weeks [13]. Consistent regulation of ATP-sensitive potassium channel expression in response to exercise can be an essential adaptation element [25]. In this regard, Kane et al. reported that the elimination of ATP-sensitive channels during exercise leads to heart failure [26]. Zingman et al. reported that an exercise-induced increase in ATP channel expression increases the action's speed and magnitude and shortens the action potential in response to heart rate acceleration [25]. Recent studies using Kir6.2-deficient mice have shown that disruption of KATP channel activity leads to activation of calcineurin-dependent pathways, which in turn increases the nuclear accumulation of hypertrophic transcription factors MEF2 and NF-AT [27, 28].

Exercise activates SUR2a gene transcription through the c-Jun / NH2 kinase terminal signal cascade pathway [25]. Although the precise definition of the mechanism underlying KATP channel re-regulation by exercise requires further study, some studies have shown that increased ABCC9 transcription increases SUR2A production and increases the expression of KATP functional channels in response to short-term exposure to exercise [25]. In the case of KIR6.2, its activity in Vascular Smooth Muscle (VSM) can be modulated by PKC (inhibition) and PKA (activation) signaling

Table 1. Strength training protocol

Factor Week	Intensity	Set	Repetition	Rest Time	Number of Days per Week
First	60%	2	10	90 seconds	3
Second	60%	2	10	90 seconds	3
Third	60%	3	10	90 seconds	3
Fourth	60%	3	10	90 seconds	3



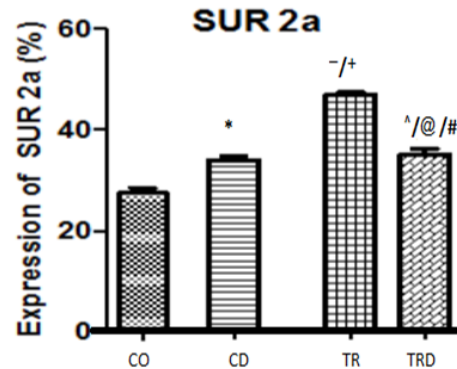
Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 1. Expression of KIR6.2 in different groups

^:P=0.001 Comparison of resistance training-detraining with control; -:P=0.001 Comparison of resistance training with control; *:P=0.001 Comparison of control-detraining with control; +:P=0.001 Comparison of resistance training - detraining with control-detraining; #:P=0.001 Comparison with resistance training; @:P=0.001 Comparison of resistance training-detraining with control-detraining.

pathways and metabolic stress such as hypoxia and ischemia [29].

The significant point is the declining trend in potassium channel expression after detraining. In this study, there was no significant difference between the control-detrain-

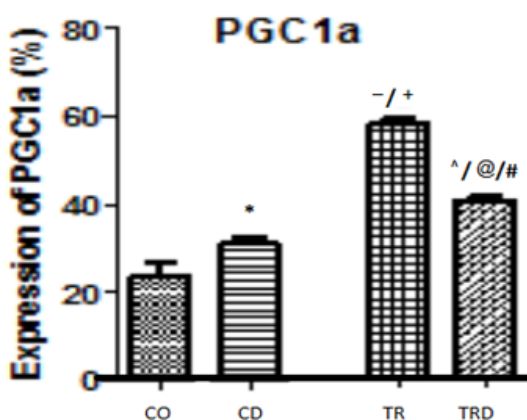


Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 2. Expression of SUR2a in different groups

^:P=0.001 Comparison of resistance training-detraining with control; -:P=0.001 Comparison of resistance training with control; *:P=0.001 Comparison of control-detraining with control; +:P=0.001 Comparison of resistance training - detraining with control-detraining; #:P=0.001 Comparison with resistance training; @:0.001 Comparison of resistance training-detraining with control-detraining

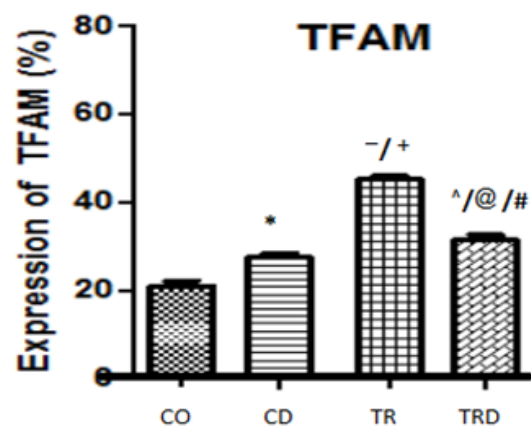
ing group and the resistance-detraining group in terms of KIR6.2 and SUR2a expression. In other words, trained rats can lose cardiac KIR6.2 and SUR2a levels in the short term if left detrained and approach control-detraining conditions. Considering that shear stress is one of the factors



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 3. Expression of PGC1a in different groups

^:P=0.001 Comparison of resistance training-detraining with control; -:P=0.001 Comparison of resistance training with control; *:P=0.001 Comparison of control-detraining with control; +:P=0.001 Comparison of resistance training - detraining with control-detraining; #:P=0.001 = Comparison with resistance training; @:P0.001 Comparison of resistance training-detraining with control-detraining.



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 4. Expression of TFAM in different groups

^:P=0.001 Comparison of resistance training-detraining with control; -:P=0.001 Comparison of resistance training with control; *:P=0.001 Comparison of control-detraining with control; +:P:0.001 Comparison of resistance training-detraining with control-detraining; #:P=0.001 Comparison with resistance training; @:P=0.001 Comparison of resistance training-detraining with control-detraining.

that increase the expression of potassium channels [30] and is affected by exercise and detraining [31], one reason for the decrease in the expression of these channels can be attributed to the reduction of shear stress. On the other hand, increasing or decreasing potassium channels also affect mitochondrial biogenesis factors such as PGC1 α [32].

Our results showed that resistance training increases the expression of PGC1 α . However, detraining after resistance training reduces it. Baghdadam et al., in the study of the effect of resistance training on irisin and expression of PGC1 α PGC1 α gene in the heart muscle of diabetic rats, showed that resistance training causes a significant increase in PGC1 α [19]. Shabani et al. investigated the effect of eight weeks of aerobic exercise on the expression of PGC1 α and VEGF in the heart muscle of healthy male mice and did not report a significant change in PGC1 α [18]. PGC1 α has two isoforms, alpha and beta, and by activating a group of transport agents, it increases mitochondrial biogenesis and is activated by activating factors [19]. Kang et al. reported that PGC1 α expression plays an essential role in preventing skeletal muscle atrophy and indicates an increase in mitochondrial biogenesis and a decrease in oxidative damage [33].

Studies have shown that physical activity increases PGC1 α expression via the beta-adrenergic receptor / cAMP pathway [34]. Exercise and increased energy demand lead to increased AMP, calcium concentration of free phosphate groups, and intracellular reactive oxygen species. This substrate activates some intracellular signals, including the calcium-dependent protein calmodulin, AMP-activated protein kinase (AMPK), and mitogen-activated kinase P38, which plays an essential role in the upregulation of PGC1 α activity, followed by mitochondrial biogenesis [33].

Potassium channel activity is also required to maintain PGC-1 α expression under stress. Suppression of KATP channel activity disrupts PGC1 α expression through the FOXO1 signaling pathway [32]. Akt may regulate PGC1 α gene expression through phosphorylation and phospho-FOXO1 nuclear release. Previous studies have shown that disruption of KATP channel activity in neonatal myocytes increases Akt phosphorylation [32]. Also, our results showed that following the increase in KIR6.2 and SUR2a after resistance training, the expression of PGC-1 α increases. The PGC-1 α expression also decreases following detraining and decreased potassium channel expression.

PGC-1 α modulates mitochondrial biogenesis by direct correlation of transcription factors such as Nuclear Respiratory Factor (NRF) and Estrogen Receptor (ERR) [35]. The binding sites for the NRF-1 monomer and the NRF-2 heterotrimer (also known as GABP) are found in

the promoters of most respiratory chain genes. The effect of overexpression of NRF-1 or NRF-2 in cardiac tissue has not been evaluated so far. However, overexpression of NRF-1 in skeletal muscle increased oxidative phosphorylation (OXPHOS) genes. PGC-1 α physically interacts with both NRF-1 and -2 and stimulates their activity on mitochondrial genes [36, 37]. Increased PGC1 α also stimulates nuclear respiration factor transcription and leads to increased expression of mitochondrial transcription factor (TFAM) and other mitochondrial subunits of the electron transport chain [17].

The present study showed that resistance training increases TFAM in heart cells of healthy rats. But detraining significantly reduced it. Popov et al. investigated the effect of two months of aerobic exercise on skeletal muscle TFAM in human samples and reported its significant increase [20]. Islam et al. reported similar results [38].

Interactions between the nuclear genome and mitochondria are mediated in part by encoded nuclear proteins such as TFAM, TFB1, and TFB2. PGC-1 α induces the genes of these three proteins through the induction and activation of NRF-1 and NRF-2. TFAM is a high-active transcription factor group responsible for the replication and transcription of mitochondrial DNA. Impairment of TFAM target specifically in cardiac tissue leads to a significant reduction in electron transport capacity, spontaneous cardiomyopathy, and heart failure. In contrast, increased TFAM expression in cardiac tissue protects against heart failure due to myocardial infarction [39].

Studies have shown that ROS, through binding to mtDNA, leads to degradation and reduces its function. Mitochondrial transcription factor (TFAM) binds to and covers the mtDNA and protects against ROS and its degradation while increasing mitochondrial function [40]. Exercise increases TFAM and increases mitochondrial biogenesis by increasing PGC1 α . However, detraining can reverse this trend [40]. The present study results also showed that detraining reduced PGC1 α and TFAM in the heart cells of healthy rats. It is possible that detraining reduces mitochondrial biogenesis by increasing factors such as ROS and decreasing PGC1 α and TFAM.

5. Conclusion

Finally, the results of this study show that resistance training increases the potassium channels of KIR6.2 and SUR2a and increases the mitochondrial biogenesis of PGC1 α and TFAM of heart cells. Resistance training is effective in increasing mitochondrial biogenesis through PGC1 α and TFAM by increasing KIR6.2 and SUR2a. However, car-

diac adaptations resulting from resistance training can be returned to baseline due to detraining, which reduces the expression of potassium channels and factors that increase mitochondrial biogenesis.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of the Ardabil University of Medical Sciences (Code: IR.ARUMS.REC.1398.555).

Funding

This article is an extracted from the PhD. dissertation of the first author at the Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil.

Authors' contributions

All authors equally contributed to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

مقاله پژوهشی

اثر بی‌تمرینی متعاقب تمرین مقاومتی بر بیان ایمنو هیستوشیمیایی کانال‌های پتاسیمی و بیوژنز میتوکندری در بافت قلب موش‌های نر

فاطمه احمدی^۱، معرفت سیاه‌کوهیان^۱، شادمهر میردار^۲، لیلی تاپاک^۳

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران.
۳. گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات مدل‌سازی بیماری‌های غیرواگیر، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

چکیده

اهداف: بی‌تمرینی ممکن است سازگاری‌های قلبی-عروقی را تحت تأثیر قرار دهد. هدف از تحقیق حاضر، اثر یک دوره بی‌تمرینی متعاقب تمرین مقاومتی بر بیان ایمنو هیستوشیمیایی کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و بیوژنز میتوکندریایی بافت قلب موش‌های صحرایی نر است.

مواد و روش‌ها: تحقیق حاضر از نوع تجربی بود. سی‌سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه (کنترل، کنترل-بی‌تمرینی، تمرین مقاومتی و تمرین مقاومتی-بی‌تمرینی) تقسیم شدند. گروه کنترل در ابتدای تحقیق قربانی شده و گروه کنترل-بی‌تمرینی (۱۱ هفته) فعالیت ورزشی نداشتند. گروه تمرین مقاومتی هشت هفته تمرین را اجرا کردند. گروه تمرین مقاومتی-بی‌تمرینی بعد از اتمام تمرینات به مدت سه هفته تمرین نکردند. برای بررسی آماری از آزمون واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: بیان PGC1 α ، SUR2a، KIR6.2 و TFAM در بافت قلب گروه کنترل-بی‌تمرینی به طور معناداری کمتر از گروه تمرین مقاومتی ($P=0/001$) و در گروه تمرین مقاومتی به طور معناداری بیشتر از گروه تمرین مقاومتی-بی‌تمرینی ($P=0/001$) بود. بیان PGC1 α در گروه تمرین مقاومتی-بی‌تمرینی بیشتر از گروه کنترل-بی‌تمرینی بود ($P=0/001$).

نتیجه‌گیری: تمرین مقاومتی از طریق افزایش بیان KIR6.2 و SUR2a باعث افزایش PGC1 α و TFAM در بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود، اما بی‌تمرینی باعث کاهش بیان کانال‌های پتاسیمی و عوامل افزایش‌دهنده بیوژنز میتوکندریایی می‌شود.

تاریخ دریافت: ۲۱ اسفند ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۲۵ مرداد ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۲ فروردین ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:

تمرین مقاومتی، بی‌تمرینی، کانال‌های پتاسیمی، بیوژنز میتوکندریایی

مقدمه

تمرینات مقاومتی با سازگاری‌های مختلفی در ارگان‌های بدن همراه است [۱]. با این حال، سازگاری عملکردی و مورفولوژی می‌تواند بعد از دوره کوتاه بی‌تمرینی کاهش یابد [۲]. بی‌تمرینی را می‌توان وقفه جزئی یا تمام یک برنامه تمرینی یا از دست دادن جزئی یا کل مزایای ورزش در پاسخ به یک محرک ناکافی ورزشی دانست [۳]. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که سازگاری متابولیکی و عملکردی برنامه‌های ورزشی حتی پس از دوره‌های کوتاه‌مدت بی‌تمرینی به دلایلی مانند بیماری و تعطیلات می‌تواند کاهش یابد [۴].

بی‌تمرینی باعث از دست رفتن سازگاری‌های مختلف از

جمله قلبی-عروقی می‌شود [۲]. کانال‌های پتاسیمی و بیوژنز میتوکندریایی از جمله سازگاری‌های قلبی-عروقی هستند که تحت تأثیر تمرین ورزشی قرار می‌گیرند [۵، ۶].

کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP^{1} (A_{TPK}) در بافت‌های مختلف مانند قلب بیان می‌شود [۷]. در سیستم قلبی-عروقی این کانال‌ها نقش محافظتی در استرس‌های متابولیک مثل هایپوکسی و ایسکمی (که در آن غلظت ATP داخل سلولی کاهش می‌یابد) دارد. در قلب کانال‌های پتاسیمی در کاهش مدت زمان پتانسیل عمل و از دست دادن پتانسیل داخل سلولی نقش دارند [۸].

1. ATP-sensitive K⁺ channel

* نویسنده مسئول:

دکتر معرفت سیاه‌کوهیان

نشانی: اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: +۹۸ (۴۵) ۳۱۵۰۵۶۶۰

پست الکترونیکی: m_siahkohian@uma.ac.ir

بیوزنز میتوکندری ایفا می‌کند [۱۷].

افزایش PGC1 α رونویسی عامل تنفس هسته‌ای را تحریک کرده و منجر به افزایش بیان عامل رونویسی میتوکندریایی (TFAM) و سایر زیرواحدهای میتوکندریایی زنجیره انتقال الکترون می‌شود. TFAM ژن هدف برای NRF1 γ است که نقش مهمی را در انسجام واکنش‌های متقابل بین میتوکندری و هسته ایفا می‌کند [۱۷]. این ژن یک فاکتور رونویسی میتوکندری است که فعال‌کننده کلیدی در رونویسی محسوب می‌شود [۱۷].

مطالعات محدودی نشان داده که ورزش هوازی و مقاومتی PGC1 α را در عضله اسکلتی و قلب افزایش می‌دهد [۱۹، ۱۸]. همچنین افزایش TFAM در عضله اسکلتی در اثر تمرین هوازی گزارش شده است [۲۰].

یافته‌های موجود نشان می‌دهد سازگاری‌های میتوکندریایی در عضلات اسکلتی بعد از بی‌تمرینی متعاقب تمرین هوازی و تمرین مقاومتی کاهش پیدا می‌کند [۲۲، ۲۱]، اما در مورد اثرات بی‌تمرینی بر عوامل بیوزنز میتوکندریایی (TFAM و PGC1 α) در سلول‌های قلبی نتایج مشخصی ارائه نشده است.

به نظر می‌رسد سازگاری قلب و عروق با ویژگی‌های تمرین مانند شدت و مدت تمرین متناسب باشد؛ بنابراین بی‌حرکی و بی‌تمرینی ممکن است قلب و دستگاه قلبی-عروقی را تضعیف کند. این مسئله در افراد آماده‌تر به صورت بیشتری نمایان می‌شود؛ بنابراین با توجه به اهمیت کانال‌های پتاسیمی و عوامل بیوزنز میتوکندریایی در زمان تمرین و بی‌تمرینی و همچنین محدودیت‌های پژوهشی موجود در این زمینه، هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر یک دوره بی‌تمرینی متعاقب مقاومتی بر بیان ایمنوهیستوشیمیایی کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و بیوزنز میتوکندریایی بافت قلب موش‌های صحرایی نر است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق از نوع تجربی با گروه کنترل بود. سی سر موش (بر اساس منابع قبلی) [۱۸، ۱۲] صحرایی نر نژاد ویستار در سن پنج هفتهگی خریداری و به محل نگهداری حیوانات آزمایشگاه گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران منتقل شد. سپس به طور تصادفی به چهار گروه (گروه کنترل، گروه کنترل-بی‌تمرینی، گروه تمرین مقاومتی و گروه تمرین مقاومتی-بی‌تمرینی) تقسیم شدند.

گروه کنترل در ابتدای تحقیق کشتار و گروه کنترل بی‌تمرینی در قفس‌های مربوطه با دسترسی آزاد به آب و غذا قرار گرفته و فعالیت ورزشی نداشتند. مدت زمان گروه کم‌حرکی در گروه کنترل - بی‌تمرینی از گروه کنترل سه هفته بیشتر به طول

مهار کانال‌های پتاسیمی سبب مهار رشد و ایجاد هایپرتروفی پاتولوژیک در قلب می‌شود. فعال شدن کانال‌های K_{ATP} با کاهش مرگ سلولی و آسیب‌های بافتی سبب ایجاد حفاظت در قلب می‌شود [۹]. میوسیت‌های قلبی دارای دو نوع مختلف کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP هستند. یک نوع کلاسیک آن در سارکولم (sarc K_{ATP}) و نوع دیگر در غشای داخلی میتوکندری (mitok_{ATP}) وجود دارد [۱۰].

تمرینات ورزشی می‌توانند اثرات مطلوبی بر این کانال‌ها داشته باشد. مطالعات مولکولی مشخص کرده‌اند که کانال‌های پتاسیم حساس به ATP سطح غشایی از کمپلکس‌های اکتامری شامل چهار زیرواحد تشکیل‌دهنده سوراخ (KIR6/2) و چهار زیرواحد گیرنده تنظیمی سولفونیل اوره (SUR) تشکیل شده‌اند. دو ایزوفرم از KIR (KIR6/1 و KIR6/2) و سه ایزوفرم از SUR (SUR1، SUR2A، SUR2B) مشخص شده‌اند [۱۰].

برخی تحقیقات نشان داده که تمرین هوازی بر SUR 2 و محتوای KIR 2 اثر دارد [۱۱، ۱۲]. در تحقیق وانگ و همکاران که اثر هشت هفته تمرین هوازی در موش‌های نر و ماده بررسی شد، مشخص شد تمرین باعث افزایش SUR و KIR6/2 شده است [۱۱].

برون و همکاران نیز افزایش کانال‌های پتاسیمی را در اثر ۱۲ هفته ورزش منظم هوازی گزارش کردند [۱۲]. اثرات دیگر تمرینات به درستی مشخص نیست. به عنوان مثال، در مورد تمرین مقاومتی نتایج روشنی ارائه نشده است. از سوی دیگر اثر بی‌تمرینی متعاقب تمرینات ورزشی بر کانال‌های پتاسیمی نیز مشخص نیست.

اما برخی مطالعات نشان داده که اثر برادی کاردیک ناشی از ورزش (که می‌تواند ناشی از عملکرد این کانال‌ها باشد) در اثر بی‌تمرینی کاهش پیدا می‌کند [۱۳، ۱۴]. جونپور و همکاران در تحقیقی نشان دادند که هشت هفته ورزش باعث بهبود مارکرهای مرتبط با فشار خون و هایپرتروفی قلبی، از جمله skeletal α -actin و نسبت α/β -MHC می‌شود، اما چهار هفته بی‌تمرینی باعث از دست رفتن این سازگاری‌ها شد [۱۴].

دیگر سازگاری مهم ناشی از تمرین افزایش در اندازه و چگالی میتوکندری است. 4PGC1 α نقش مهمی در این زمینه دارد [۱۵]. PGC1 α در عضله قلب و عضله اسکلتی برای تأمین انرژی و در پاسخ به تمرین بیان می‌شود [۱۶] و نقش مهمی در تنظیم

2. Sulphonylurea Receptor
3. Inward-rectifier Potassium Channels
4. Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha
5. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

6. Mitochondrial transcription factor A
7. Nuclear respiratory factor 1

انجامید.

دستگاه هندگریپ اجرا شد، با این تفاوت که در تمرین هندگریپ آزمودنی‌ها در دو هفته اول آشنایی در سه ست ده‌تایی بدون وزنه از دستگاه آویزان شدند.

تمرین هندگریپ با استفاده از وزنه‌های متصل به دم آزمودنی‌ها به صورت بارفیکس با حمایت پژوهشگر از قسمت انتهایی دم بدون هیچ‌گونه کمک و اعمال نیرویی از طرف پژوهشگر اجرا شد. آزمودنی‌ها بین ست‌های تمرینی از دستگاه جدا و استراحت فعال داشتند. به غیر از زمان فعالیت اصلی، آزمودنی‌ها پنج دقیقه برای گرم کردن و پنج دقیقه برای سرد کردن روی دستگاه به کمک پژوهشگر حرکت هندگریپ را اجرا کردند [۲۳].

همچنین 1RM با توجه به وزنه جابه‌جاشده و تعداد تکرار طبق فرمول شماره ۱ محاسبه شد.

$$\text{فرمول (۱): (تعداد تکرار} \times ۲) - ۱۰۰ = A$$

در نتیجه:

$$A / ۱۰۰ \times \text{وزنه جابه‌جاشده} = 1RM$$

هیستوپاتولوژی

پس از برداشت بافت مورد نظر با استفاده از محلول بوئن یا فرمالین ۱۰ درصد ثابت‌سازی انجام گرفت. استفاده از این فیکساتیو طی مراحل تهیه بافت منجر به نتایج بهتر رنگ‌آمیزی می‌شود. سپس به منظور آگیری بافت، نمونه را به ترتیب در الکل ۷۰ درصد، ۸۰ درصد و ۹۰ درصد و مطلق قرار داده شد.

در مرحله قالب‌گیری، نمونه آغشته‌شده با پارافین در این مرحله، در داخل قالب پر از پارافین مذاب قرار گرفت. ضمن انجماد پارافین، نمونه نیز در داخل باقی‌مانده و آماده مقطع‌گیری شد. نمونه همراه با قالب پارافین توسط دستگاهی به نام میکروتوم به ضخامت پنج تا ده میکرون، برش داده شد.

روش ایمونوهیستوشیمی IHC

نمونه با PBS در سه مرحله شسته شده و داخل بافر سیترات (pH:9.1) به مدت بیست دقیقه در دمای هفتاد درجه انکوبه شد. به منظور بازیابی آنتی‌ژنی روی نمونه‌ها اسید کلریدریک دو نرمال به مدت سه دقیقه ریخته شد. سپس سلول‌ها با PBS شسته شدند.

تریتون ۰/۳ درصد به مدت سی دقیقه به منظور نفوذپذیر کردن غشاء سلول‌ها استفاده شد و سپس با PBS شست‌وشو داده شدند. سرم بز ۱۰ درصد برای مدت سی دقیقه به منظور بلوک کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه به صورت رنگ اضافی زمینه اضافه شد.

بعد از آن، نمونه از انکوباتور به اتاق تاریک منتقل شد و بعد از

گروه تمرین مقاومتی و گروه تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی در طول تحقیق پروتکل تمرین مقاومتی را طبق جدول شماره ۱ انجام داد. گروه تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی بعد از اتمام دوره تمرینات به مدت سه هفته هیچ نوع تمرینی نداشتند. در پایان دوره موش‌ها ابتدا بی‌هوش و سپس با استفاده از وسایل جراحی، بافت قلب آن‌ها جداسازی و بلافاصله در مایع فرمالین قرار داده شد.

به طور خلاصه گروه‌بندی‌ها به شکل زیر انجام شد:

- گروه کنترل: کشتار در ابتدای تحقیق.

- گروه تمرین مقاومتی: انجام هشت هفته تمرین مقاومتی و کشتار بعد از هشت هفته.

- گروه تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی: انجام هشت هفته تمرین مقاومتی و سپس بی‌تمرین شدن به مدت سه هفته و کشتار بعد از آن.

- گروه کنترل - بی‌تمرینی: انجام ندادن هیچ نوع فعالیت ورزشی در طول تحقیق (یازده هفته) و کشتار بعد از آن.

برنامه تمرین قدرتی

در تمرین قدرتی اسکات، به منظور شرطی‌سازی موش‌ها، هر روز به مدت بیست دقیقه جلیقه را با کمک پژوهشگر می‌پوشیدند و در هفته اول با کمک پژوهشگر سه ست ده‌تایی روی دو پا به حالت اسکات قرار می‌گرفتند. در هفته دوم به منظور آشنایی آزمودنی‌ها روی دستگاه اسکات ساخت طراحی‌میردار و صدوقی قرار می‌گرفتند و بدون وزنه هر روز سه ست ده‌تایی حرکت اسکات را اجرا می‌کردند.

برای تحریک به اجرای حرکت شوک الکتریکی ملایمی در پایین دستگاه و کف پای آزمودنی تعبیه شد. طول دوره تمرین موش‌ها هشت هفته بود، که به صورت ست‌های ده‌تایی اجرا شد. شدت تمرین در سه مرحله ابتدا، پایان هفته چهارم و پایان هفته هشتم پروتکل تمرینی حداکثر یک تکرار بیشینه (1RM) آزمودنی‌ها گرفته شد.

سپس با استفاده از آن مطابق با جدول شماره ۱، پروتکل به صورت دو دوره چهار هفته‌ای اجرا شد. وزنه جابه‌جاشده توسط آزمودنی با احتساب وزن جلیقه و اهرم دستگاه اندازه‌گیری و قدرت و شدت تمرین تعیین شد. به غیر از زمان فعالیت اصلی، پنج دقیقه برای گرم کردن و پنج دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد، به نحوی که با پوشاندن جلیقه، به کمک پژوهشگر حرکت اسکات انجام شد.

تمرین قدرتی هندگریپ نیز مطابق با تمرین اسکات و با

جدول ۱. پروتکل تمرین قدرتی

عامل هفته	شدت	بست	تکرار	زمان استراحت	تعداد روز در هفته
اول	۶۰ درصد	۲	۱۰	۹۰ ثانیه	۳
دوم	۶۰ درصد	۲	۱۰	۹۰ ثانیه	۳
سوم	۶۰ درصد	۳	۱۰	۹۰ ثانیه	۳
چهارم	۶۰ درصد	۳	۱۰	۹۰ ثانیه	۳

افتخ دانش

بحث

تحقیق حاضر با هدف تأثیر یک دوره بی‌تمرینی متعاقب تمرین مقاومتی بر بیان TFAM، SUR2a، KIR6/2 و PGC1 α در بافت قلب موش‌های صحرایی نر جوان انجام شد. نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی بر کانال‌های پتاسیمی تأثیر معناداری داشته‌اند.

بر این اساس، گروه تمرین مقاومتی از سطوح بالای KIR6/2 و SUR2a برخوردار بودند. به نحوی که گروه‌های تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی، گروه کنترل - بی‌تمرینی و گروه کنترل در مراتب بعدی از نظر بیان KIR6/2 و SUR2a قرار داشتند.

در مورد تأثیر تمرین مقاومتی بر این پروتئین‌ها نتایج روشنی یافت نشد، اما تحقیقات وانگ و همکاران نشان داد تمرین منظم استقامتی باعث افزایش معنادار میوسیت SUR و محتوای KIR می‌شود [۱۱].

دیوید و همکاران نشان دادند پروتئین KIR افزایش ۵۸ درصدی و SUR افزایش ۷۵ درصدی را در گروه تمرین داشت [۱۲]. در تحقیقات کراویچ و همکاران نیز نشان داده شد تمرینات تناوبی باعث افزایش SUR2a در بافت قلب موش‌های با نارسایی قلبی می‌شود [۲۴].

در مورد اثرات بی‌تمرینی متعاقب تمرینات ورزشی بر کانال‌های پتاسیمی نیز نتایج روشنی یافت نشد، اما برخی مطالعات نشان داده که اثر برادی کاردیک ورزش مزمن هنگامی که موش‌ها به مدت دو هفته بی‌تمرین شدند، معکوس شد [۱۳]. تنظیم منظم بیان کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP در پاسخ به ورزش می‌تواند به عنوان یک عنصر مهم سازگاری باشد [۲۵].

در همین راستا کان و همکارانش گزارش کردند که حذف کانال‌های حساس به ATP هنگام تمرین ورزشی منجر به نقص عملکرد قلبی می‌شود [۲۶]. زینگ مان و همکاران نشان دادند که افزایش ناشی از ورزش در بیان کانال ATP باعث افزایش سرعت و بزرگی عمل کوتاه شدن پتانسیل عمل در پاسخ به شتاب ضربان قلب می‌شود [۲۵].

چهار بار شست‌وشو، به آن‌ها DAPI اضافه شد، بلافاصله برداشته شد و روی نمونه PBS ریخته شد. در مرحله آخر، نمونه توسط میکروسکوپ فلوروسنت مدل Labomed tcs400 مشاهده شد. همچنین از کیت آزمایشگاهی Kir6.2: Sc-390104 (شرکت Santa Cruz Biotechnology Inc، آمریکا)، SUR2: MBS8242984 (از شرکت MyBioSource آمریکا)، PGC1: ab54481 (شرکت Abcam انگلیس) و TFAM: LS-B9989 (شرکت LifeSpan BioSciences آمریکا) استفاده شد.

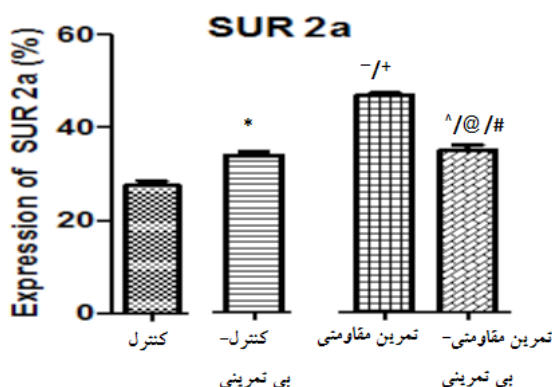
روش آماری

در تحقیق حاضر برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویک استفاده شد. همچنین برای بررسی متغیرهای تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک-راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمامی بررسی‌ها با استفاده از نرم‌افزار prism نسخه ۵ و در سطح $\alpha \geq 0.05$ انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که در بین گروه‌ها از نظر بیان PGC1 α ، SUR2a، KIR6.2 و TFAM در بافت قلب موش‌های صحرایی نر تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0/001$). آزمون تعقیبی توکی نیز مشخص کرد بیان SUR2a، KIR6.2، PGC1 α و TFAM در گروه‌های کنترل - بی‌تمرینی ($P=0/001$)، تمرین مقاومتی ($P=0/001$) و تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی ($P=0/001$) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنادار داشت.

همچنین در گروه تمرین مقاومتی در مقایسه با گروه کنترل - بی‌تمرینی افزایش بیان PGC1 α ، SUR2a، KIR6/2 و TFAM ($P=0/001$) و در گروه تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی در مقایسه با گروه تمرین مقاومتی ($P=0/001$) کاهش بیان گزارش شد. از نظر بیان SUR2a، KIR6.2 و TFAM بین گروه کنترل - بی‌تمرینی با گروه تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی ($P \geq 0/05$) تفاوت معناداری مشاهده نشد (تصاویر شماره ۱، ۲، ۳ و ۴)، اما بیان PGC1 α در گروه تمرین مقاومتی - بی‌تمرینی در مقایسه با گروه کنترل - بی‌تمرینی بیشتر بود ($P=0/001$).

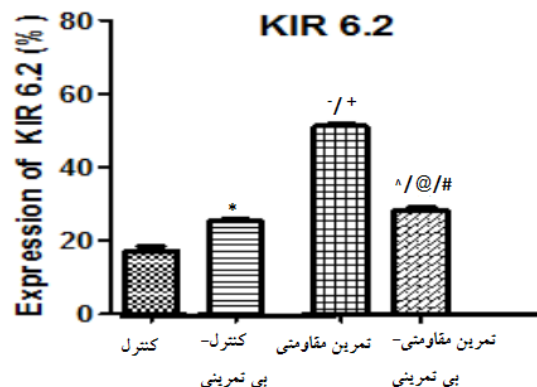


افق دانش

تصویر ۲. بیان SUR2a در گروه‌های مختلف

$P=0/001^{\wedge}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{-}$ مقایسه تمرین مقاومتی با کنترل؛ $P=0/001^*$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{+}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه با تمرین مقاومتی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی.

تعریف دقیق مکانیسم زمینه‌ساز تنظیم مجدد کانال‌های KATP توسط ورزش به مطالعه بیشتر نیاز دارد، اما برخی مطالعات نشان داده که افزایش رونویسی ABCC9 باعث تولید SUR2A و افزایش بیان کانال‌های عملکردی KATP در پاسخ به مواجهه کوتاه‌مدت با ورزش می‌شود [۲۵].



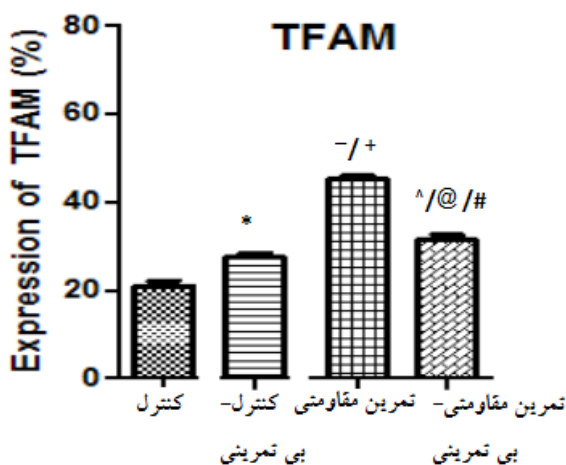
افق دانش

تصویر ۱. بیان KIR6.2 در گروه‌های مختلف

$P=0/001^{\wedge}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{-}$ مقایسه تمرین مقاومتی با کنترل؛ $P=0/001^*$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{+}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه با تمرین مقاومتی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی.

مطالعات اخیر با استفاده از موش‌های فاقد Kir6.2 نشان داد اختلال در فعالیت کانال KATP منجر به فعال شدن مسیرهای وابسته به کلسی نورین، که به نوبه خود باعث افزایش تجمع هسته‌ای عوامل رونویسی طرفدار هیپرتروفیک MEF2 و NF-AT می‌شود [۲۷، ۲۸].

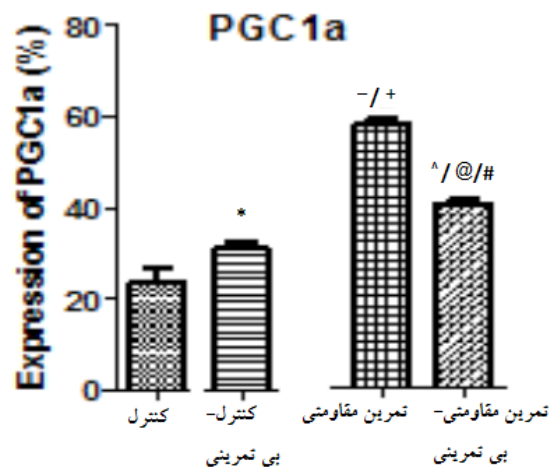
ورزش از طریق مسیر آبشار سیگنالی پایانه کیناز c-Jun/NH2 باعث فعال‌سازی رونویسی ژن SUR2a می‌شود [۲۵]. اگرچه



افق دانش

تصویر ۴. بیان TFAM در گروه‌های مختلف

$P=0/001^{\wedge}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{-}$ مقایسه تمرین مقاومتی با کنترل؛ $P=0/001^*$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{+}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه با تمرین مقاومتی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی.



افق دانش

تصویر ۳. بیان PGC1α در گروه‌های مختلف

$P=0/001^{\wedge}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{-}$ مقایسه تمرین مقاومتی با کنترل؛ $P=0/001^*$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل؛ $P=0/001^{+}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه با تمرین مقاومتی؛ $P=0/001^{\circ}$ مقایسه تمرین مقاومتی - بی تمرینی با کنترل بی تمرینی.

فعال شونده با AMPK (AMP) و کیناز فعال شونده با میتوژن P38 منجر می شود که نقش مهمی در تنظیم افزایشی فعالیت PGC1 α و در پی آن بیوژنز میتوکندری دارد [۳۳].

فعالیت کانال های پتاسیمی نیز برای حفظ بیان PGC-1 α در شرایط استرس مورد نیاز است. سرکوب فعالیت کانال KATP، بیان PGC1 α را از طریق مسیر سیگنالینگ FOXO1 مختل می کند [۳۲]. این احتمال وجود دارد Akt بیان ژن PGC1 α را از طریق فسفوریلاسیون و خروج هسته ای phos-FOXO1 تنظیم می کند.

مطالعات پیشین نشان داده که اختلال در فعالیت کانال KATP در میوسیت های قلبی نوزادان باعث افزایش فسفوریلاسیون Akt می شود [۳۲]. در همین راستا نتایج ما نشان داد به دنبال افزایش KIR6/2 و SUR2a در اثر تمرین مقاومتی، بیان PGC-1 α افزایش پیدا می کند. همچنین متعاقب بی تمرینی و کاهش بیان کانال های پتاسیمی، بیان PGC-1 α نیز کاهش می یابد.

PGC-1 α بیوژنز میتوکندری را با همبستگی مستقیم عوامل رونویسی همانند فاکتور تنفسی هسته ای (NRF) و گیرنده مرتبط با استروژن (ERR) تعدیل می کند [۳۵]. محل های اتصال برای مونومر NRF-1 و هتروترامر NRF-2 (به عنوان GABP نیز شناخته می شوند) در پروموتورهای بیشتر ژن های زنجیره تنفسی یافت می شوند.

تاکنون اثر بیان بیش از حد NRF-1 یا NRF-2 در بافت قلبی ارزیابی نشده است، اما بیان بیش از حد NRF-1 در عضلات اسکلتی باعث افزایش ژن های فسفوریلاسیون اکسیداتیو (OX- PHOS) شد. PGC-1 α از لحاظ فیزیکی با هر دو NRF-1 و NRF-2 در تعامل است و فعالیت آن ها را روی ژن های میتوکندری تحریک می کند [۳۶، ۳۷].

همچنین افزایش PGC1 α رونویسی عامل تنفس هسته ای را تحریک کرده و منجر به افزایش بیان عامل رونویسی میتوکندریایی (TFAM) و سایر زیرواحدهای میتوکندریایی زنجیره انتقال الکترون می شود [۱۷].

پژوهش حاضر نشان داد که تمرین مقاومتی باعث افزایش TFAM در سلول های قلبی موش های سالم می شود، اما بی تمرینی باعث کاهش معنادار آن شد. پوپو و همکاران تأثیر دو ماه تمرین هوازی را بر TFAM عضله اسکلتی در نمونه های انسانی بررسی کرده و افزایش معنادار آن را گزارش کردند [۲۰]. ایسلام و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند [۳۸].

واکنش های متقابل بین ژنوم هسته ای و میتوکندری، تا حدودی از طریق پروتئین های رمزگذاری شده هسته ای همچون TFAM، TFB1 و TFB2 انجام می شود. ژن های این سه پروتئین توسط PGC-1 α از طریق القا و فعال سازی NRF-1 و NRF-2 القا می شوند.

در مورد KIR6/2 نیز فعالیت آن در VSM^A توسط مسیرهای سیگنالینگ PKC (مهارى) و PKA (فعال سازی) و استرس متابولیکی مانند هیپوکسی و ایسکمی قابل تعدیل است [۲۹].

اما آنچه قابل توجه است روند کاهش در بیان کانال های پتاسیم متعاقب بی تمرینی است. در این تحقیق از نظر بیان KIR6/2 و SUR2a بین گروه کنترل - بی تمرینی با گروه تمرین مقاومتی - بی تمرینی تفاوت معنادار ای وجود نداشت.

به عبارت دیگر، موش های تمرین کرده در صورتی که با بی تمرینی مواجه شوند، می توانند در کوتاه مدت مقادیر KIR6.2 و SUR2a سلول های قلبی را از دست داده و به شرایط کنترل - بی تمرینی نزدیک شوند.

با توجه به اینکه تنش برشی از عوامل افزایش دهنده بیان کانال های پتاسیمی است [۳۰] و تحت تأثیر ورزش و بی تمرینی قرار می گیرد [۳۱]، می توان یکی از دلایل کاهش بیان این کانال ها را به کاهش تنش برشی نسبت داد. از سوی دیگر، افزایش و یا کاهش کانال های پتاسیمی بر عوامل بیوژنز میتوکندریایی همچون PGC1 α نیز مؤثر است [۳۲].

نتایج ما نشان داد که تمرین مقاومتی باعث افزایش بیان PGC1 α می شود. هرچند بی تمرینی متعاقب تمرین مقاومتی، باعث کاهش آن می شود. با قدم و همکاران در بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر آیریزین و بیان ژن PGC1 α در عضله قلب موش های دیابتی نشان دادند که تمرین مقاومتی باعث افزایش معنادار PGC1 α می شود [۱۹].

شعبانی و همکاران، تأثیر هشت هفته تمرینات هوازی بر بیان PGC1 α و VEGF در عضله قلبی موش های نر سالم را بررسی کرده و تغییر معناداری در PGC1 α گزارش نکردند [۱۸]. PGC1 α دو ایزوفرم آلفا و بتا دارد و از طریق فعال کردن گروهی از عوامل انتقال سبب افزایش بیوژنز میتوکندریایی شده و خود تحت تأثیر عواملی فعال می شود [۱۹].

کانگ و همکاران گزارش کردند بیان PGC1 α نقش مهمی در جلوگیری از اتروپی عضله اسکلتی دارد و نشان دهنده افزایش مسیر بیوژنز میتوکندریایی و کاهش آسیب اکسیداتیو است [۳۳].

مطالعات نشان داده که فعالیت بدنی، بیان PGC1 α را از طریق مسیر گیرنده بتا آدرنرژیک/cAMP افزایش می دهد [۳۴]. فعالیت ورزشی و افزایش تقاضای انرژی به افزایش AMP، غلظت کلسیم (ca) گروه های فسفات آزاد (pi) و گونه های فعال اکسیژن (ROS) درون سلولی منجر می شود.

این سوبسترا به فعال سازی برخی از سیگنال های درون سلولی، از جمله پروتئین وابسته به کلسیم کالمودولین پروتئین کیناز

اردبیلی، اردبیل است.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچ‌گونه تعارض منافع ندارند.

TFAM، یک گروه فاکتور رونویسی تحرک بالا بوده و مسئول تکثیر و رونویسی DNA میتوکندری است. اختلال در هدف TFAM به طور خاص در بافت قلبی منجر به کاهش قابل توجهی در ظرفیت حمل و نقل الکترونی، کاردیومیوپاتی خود به خودی و نارسایی قلبی می‌شود. در مقابل، افزایش بیان TFAM در بافت قلبی باعث محافظت از نارسایی قلبی ناشی از انفارکتوس میوکارد شده است [۳۹].

مطالعات نشان داده که ROS از طریق اتصال به mtDNA منجر به تخریب و کاهش عملکرد آن می‌شود. فاکتور رونویسی میتوکندری (TFAM)، به mtDNA متصل و آن را می‌پوشاند و در حالی که عملکرد میتوکندری را افزایش می‌دهد، از ROS تخریب آن محافظت می‌کند [۴۰].

ورزش از طریق افزایش PGC1 α باعث افزایش TFAM شده و بیویژن میتوکندریایی را افزایش می‌دهد. با این حال بی‌تمرینی می‌تواند این روند را معکوس کند [۴۰].

نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که بی‌تمرینی باعث کاهش PGC1 α و TFAM در سلول‌های قلبی موش‌های سالم می‌شود. این احتمال وجود دارد که بی‌تمرینی از طریق افزایش عواملی همچون ROS و نیز کاهش PGC1 α و TFAM بیویژن میتوکندریایی را کاهش دهد.

نتیجه‌گیری

در نهایت نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تمرین مقاومتی باعث افزایش کانال‌های پتاسیمی KIR6.2 و SUR2a و همچنین افزایش عوامل بیویژن میتوکندریایی PGC1 α و TFAM سلول‌های قلبی می‌شود. تمرین مقاومتی از طریق افزایش KIR6.2 و SU-R2a در افزایش بیویژن میتوکندریایی از طریق PGC1 α و TFAM مؤثر است.

با این حال، سازگاری‌های قلبی ناشی از تمرین مقاومتی، در اثر بی‌تمرینی به مراحل پایه قابل بازگشت است. بی‌تمرینی باعث کاهش بیان کانال‌های پتاسیمی و عوامل افزایش‌دهنده بیویژن میتوکندریایی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل با کد اخلاق IR.ARUMS.REC.1398.555 قرار گرفت.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری نویسنده اولگروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق

References

- [1] Melo S, da Silva Júnior N, Barauna V, Oliveira E. Cardiovascular adaptations induced by resistance training in animal models. *International Journal of Medical Sciences*. 2018; 15(4):403-10. [DOI:10.7150/ijms.23150] [PMID] [PMCID]
- [2] Toraman NF, Ayceman N. Effects of six weeks of detraining on retention of functional fitness of old people after nine weeks of multicomponent training. *British Journal of Sports Medicine*. 2005; 39(8):565-8. [DOI:10.1136/bjism.2004.015586] [PMID] [PMCID]
- [3] Leitão L, Pereira A, Mazini M, Venturini G, Campos Y, Vieira J, et al. Effects of three months of detraining on the health profile of older women after a multicomponent exercise program. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019; 16(20):3881. [DOI:10.3390/ijerph16203881] [PMID] [PMCID]
- [4] Fragala MS, Cadore EL, Dorgo S, Izquierdo M, Kraemer WJ, Peterson MD, et al. Resistance training for older adults: Position statement from the national strength and conditioning association. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2019; 33(8):2019-52. [DOI:10.1519/JSC.0000000000003230] [PMID]
- [5] Calderón Montero F, Benito Peinado P, Di Salvo V, Pigozzi F, Maffulli N. Cardiac adaptation to training and decreased training loads in endurance athletes: A systematic review. *British Medical Bulletin*. 2007; 84(1):25-35. [DOI:10.1093/bmb/ldm027] [PMID]
- [6] Wang H, Bei Y, Lu Y, Sun W, Liu Q, Wang Y, et al. Exercise prevents cardiac injury and improves mitochondrial biogenesis in advanced diabetic cardiomyopathy with PGC-1 α and Akt activation. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015; 35(6):2159-68. [DOI:10.1159/000374021] [PMID]
- [7] Inagaki N, Gono T, Clement JP, Namba N, Inazawa J, Gonzalez G, et al. Reconstitution of IKATP: An inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor. *Science*. 1995; 270(5239):1166-70. [DOI:10.1126/science.270.5239.1166] [PMID]
- [8] Minami K, Miki T, Kadowaki T, Seino S. Roles of ATP-sensitive K⁺ channels as metabolic sensors: Studies of Kir6. x null mice. *Diabetes*. 2004; 53(suppl 3):S176-80. [DOI:10.2337/diabetes.53.suppl_3.s176] [PMID]
- [9] Muntean DM, Kiss L, Jost N, Baczkó I. ATP-sensitive potassium channel modulators and cardiac arrhythmias: An update. *Current Pharmaceutical Design*. 2015; 21(8):1091-102. [DOI:10.2174/1381612820666141029102800] [PMID]
- [10] Rubaiy HN. The therapeutic agents that target ATP-sensitive potassium channels. *Acta Pharmaceutica*. 2016; 66(1):23-34. [DOI:10.1515/acph-2016-0006] [PMID]
- [11] Wang X, Fitts RH. Effects of regular exercise on ventricular myocyte biomechanics and KATP channel function. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2018; 315(4):H885-96. [DOI:10.1152/ajpheart.00130.2018] [PMID]
- [12] Brown DA, Chicco AJ, Jew KN, Johnson MS, Lynch JM, Watson PA, et al. Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the KATP channel in the rat. *The Journal of Physiology*. 2005; 569(3):913-24. [DOI:10.1113/jphysiol.2005.095729] [PMID] [PMCID]
- [13] Bois P, Bescond J, Renaudon B, Lenfant J. Mode of action of bradycardic agent, S 16257, on ionic currents of rabbit sinoatrial node cells. *British Journal of Pharmacology*. 1996; 118(4):1051-7. [DOI:10.1111/j.1476-5381.1996.tb15505.x] [PMID] [PMCID]
- [14] Carneiro-Júnior MA, Quintão-Júnior JF, Drummond LR, Lavorato VN, Drummond FR, da Cunha DNQ, et al. The benefits of endurance training in cardiomyocyte function in hypertensive rats are reversed within four weeks of detraining. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2013; 57:119-28. [DOI:10.1016/j.yjmcc.2013.01.013] [PMID]
- [15] Holloszy JO. Biochemical adaptations in muscle effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry*. 1967; 242(9):2278-82. [DOI:10.1016/S0021-9258(18)96046-1]
- [16] Tadaishi M, Miura S, Kai Y, Kawasaki E, Koshinaka K, Kawanaka K, et al. Effect of exercise intensity and ALCAR on isoform-specific expressions of murine skeletal muscle PGC-1 α mRNA: A role of β 2-adrenergic receptor activation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2010; 300(2):E341-9. [DOI:10.1152/ajpendo.00400.2010] [PMID]
- [17] Wang C, Li Z, Lu Y, Du R, Katiyar S, Yang J, Fu M, Leader JE, Quong A, Novikoff PM. Cyclin D1 repression of nuclear respiratory factor 1 integrates nuclear DNA synthesis and mitochondrial function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006; 103(31):11567-72. [DOI:10.1073/pnas.0603363103] [PMID] [PMCID]
- [18] Shabani M, Choobineh S, Kordi MR, Afghan M. [The effect of 8 weeks of high intensity interval training on the expression of PGC-1 α and VEGF genes in myocardial muscle of male healthy rats (Persian)]. *Journal of Sport Biological Sciences*. 2016; 8(2):169-76. [doi:10.22059/JSB.2016.59092]
- [19] Baghdadam M, Mohammadzadeh S, Alamat Kh, Azizbeigi K, Baesi K. [The effect of resistance training on IRISIN and gene expression of PGC1 α in the cardiac muscle in STZ-induced diabetic rats (Persian)]. *Community Health Journal*. 2018; 12(3):58-64. http://chj.rums.ac.ir/article_85033.html
- [20] Popov DV, Lysenko EA, Bokov RO, Volodina MA, Kurochkina NS, Makhnovskii PA, et al. Effect of aerobic training on baseline expression of signaling and respiratory proteins in human skeletal muscle. *Physiological Reports*. 2018; 6(17):e13868. [DOI:10.14814/phy2.13868] [PMID] [PMCID]
- [21] Wibom R, Hultman E, Johansson M, Matherei K, Constantin-Teodosiu D, Schantz P. Adaptation of mitochondrial ATP production in human skeletal muscle to endurance training and detraining. *Journal of Applied Physiology*. 1992; 73(5):2004-10. [DOI:10.1152/jappl.1992.73.5.2004] [PMID]
- [22] Lee H, Kim K, Kim B, Shin J, Rajan S, Wu J, et al. A cellular mechanism of muscle memory facilitates mitochondrial remodelling following resistance training. *The Journal of Physiology*. 2018; 596(18):4413-26. [DOI:10.1113/JP275308] [PMID] [PMCID]
- [23] Kodesh E, Zaldivar F, Schwindt C, Tran P, Yu A, Camilon M, et al. A rat model of exercise-induced asthma: A nonspecific response to a specific immunogen. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011; 300(4):R917-24. [DOI:10.1152/ajpregu.00270.2010] [PMID] [PMCID]
- [24] Kraljevic J, Høydal MA, Ljubkovic M, Moreira JB, Jørgensen K, Ness HO, et al. Role of KATP channels in beneficial effects of exercise in ischemic heart failure. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2015; 47(12):2504-12. [DOI:10.1249/MSS.0000000000000714] [PMID]
- [25] Zingman LV, Zhu Z, Sierra A, Stepniak E, Burnett CM-L, Maksymov G, et al. Exercise-induced expression of cardiac ATP-sensitive potassium channels promotes action potential shortening and energy conservation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2011; 51(1):72-81. [DOI:10.1016/j.yjmcc.2011.03.010] [PMID] [PMCID]

- [26] Kane GC, Behfar A, Yamada S, Perez-Terzic C, O'Coilain F, Reyes S, et al. ATP-sensitive K⁺ channel knockout compromises the metabolic benefit of exercise training, resulting in cardiac deficits. *Diabetes*. 2004; 53(suppl 3):S169-75. [DOI:10.2337/diabetes.53.suppl_3.S169] [PMID]
- [27] Kane GC, Behfar A, Dyer RB, O'Coilain DF, Liu X-K, Hodgson DM, et al. KCNJ11 gene knockout of the Kir6. 2 K ATP channel causes maladaptive remodeling and heart failure in hypertension. *Human Molecular Genetics*. 2006; 15(15):2285-97. [DOI:10.1093/hmg/ddl154] [PMID]
- [28] Yamada S, Kane GC, Behfar A, Liu XK, Dyer RB, Faustino RS, et al. Protection conferred by myocardial ATP-sensitive K⁺ channels in pressure overload-induced congestive heart failure revealed in KCNJ11 Kir6. 2-null mutant. *The Journal of Physiology*. 2006; 577(3):1053-65. [DOI:10.1113/jphysiol.2006.119511] [PMID] [PMCID]
- [29] Cui Y, Tinker A, Clapp LH. Different molecular sites of action for the KATP channel inhibitors, PNU-99963 and PNU-37883A. *British Journal of Pharmacology*. 2003; 139(1):122-8. [DOI:10.1038/sj.bjpp.0705228] [PMID] [PMCID]
- [30] Chatterjee S, Al-Mehdi A-B, Levitan I, Stevens T, Fisher AB. Shear stress increases expression of a KATP channel in rat and bovine pulmonary vascular endothelial cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2003; 285(4):C959-67. [DOI:10.1152/ajpcell.00511.2002] [PMID]
- [31] Wang JS, Li YS, Chen JC, Chen YW. Effects of exercise training and deconditioning on platelet aggregation induced by alternating shear stress in men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005; 25(2):454-60. [DOI:10.1161/01.ATV.0000151987.04607.24] [PMID]
- [32] Hu X, Xu X, Huang Y, Fassett J, Flagg TP, Zhang Y, et al. Disruption of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channel activity impairs the cardiac response to systolic overload. *Circulation Research*. 2008; 103(9):1009-17. [DOI:10.1161/CIRCRESAHA.107.170795] [PMID] [PMCID]
- [33] Kang C, Ji LL. Role of PGC-1 α signaling in skeletal muscle health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2012; 1271(1):110-7. [DOI:10.1111/j.1749-6632.2012.06738.x] [PMID] [PMCID]
- [34] Hamidie RDR, Yamada T, Ishizawa R, Saito Y, Masuda K. Curcumin treatment enhances the effect of exercise on mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by increasing cAMP levels. *Metabolism*. 2015; 64(10):1334-47. [DOI:10.1016/j.metabol.2015.07.010] [PMID]
- [35] Huss JM, Torra IP, Staels B, Giguere V, Kelly DP. Estrogen-related receptor α directs peroxisome proliferator-activated receptor α signaling in the transcriptional control of energy metabolism in cardiac and skeletal muscle. *Molecular and Cellular Biology*. 2004; 24(20):9079-91. [DOI:10.1128/MCB.24.20.9079-9091.2004] [PMID] [PMCID]
- [36] Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*. 1999; 98(1):115-24. [DOI:10.1016/S0092-8674(00)80611-X]
- [37] Baar K, Song Z, Semenkovich CF, Jones TE, Han D-H, Nolte LA, et al. Skeletal muscle overexpression of nuclear respiratory factor 1 increases glucose transport capacity. *The FASEB Journal*. 2003; 17(12):1666-73. [DOI:10.1096/fj.03-0049.com] [PMID]
- [38] Islam H, Edgett BA, Gurd BJ. Coordination of mitochondrial biogenesis by PGC-1 α in human skeletal muscle: A re-evaluation. *Metabolism*. 2018; 79:42-51. [DOI:10.1016/j.metabol.2017.11.001] [PMID]
- [39] Ikeuchi M, Matsusaka H, Kang D, Matsushima S, Ide T, Kubota T, et al. Overexpression of mitochondrial transcription factor a ameliorates mitochondrial deficiencies and cardiac failure after myocardial infarction. *Circulation*. 2005; 112(5):683-90. [DOI:10.1161/CIRCULATIONHA.104.524835] [PMID]
- [40] Theilen NT, Kunkel GH, Tyagi SC. The role of exercise and TFAM in preventing skeletal muscle atrophy. *Journal of Cellular Physiology*. 2017; 232(9):2348-58. [DOI:10.1002/jcp.25737] [PMID] [PMCID]