دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وپنجم–شماره ۱۳۵
تیر ۱۳۹۷

تأثیر پیش آماده‌سازی با تمرین تناوبی شدید بر محافظت قلبی و عملکرد بطن چپ در برابر آسیب ایسکمی خون‌رسانی مجدد در موش‌های صحرایی نر

نویسندگان: مارال رامز[۱]، فریناز نصیری نژاد[۲]، حمید رجبی*[۱]، نسیم نادری[۳]، ناهید ابوطالب[۲]

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران.

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

۳. مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: حمید رجبی E-mail: hrajabi@hotmail.com

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۵
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۷/۰۳/۲۲
پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۳۰

چکیده

مقدمه و هدف: صدمات ناشی از ایسکمی- خون‌رسانی مجدد در قلب (IR)، یکی از اصلی‌ترین دلایل مرگ و میر در جهان به شمار می‌رود. از آنجایی که انجام تمرینات ورزشی از جمله معدود روش‌های عملی برای بهبود محافظت قلب در برابر این صدمات به شمار می‌رود، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر پیش آماده‌سازی با تمرین تناوبی شدید کوتاه‌مدت بر محافظت قلبی، عملکرد بطن چپ و مکانیسم‌های احتمالی اثرگذار بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۴۸ موش صحرایی نر نژاد ویستار (۱۰-۸ هفته‌ای با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم) به صورت تصادفی به ۵ گروه کنترل (C)، تمرین تناوبی شدید (H)، شم (Sh)، کنترل+ ایسکمی خون‌رسانی مجدد (CIR) و تمرین+ ایسکمی خون‌رسانی مجدد (HIR) تقسیم شدند. پروتکل تمرین شامل ۵ روز متوالی دویدن روی نوارگردان در ۶ تناوب شدید ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO2max و ۵ تناوب آهسته‌ی ۲ دقیقه‌ای با شدت ۵۵ تا ۶۰ تا درصد VO2max بود. موش‌ها در گروه‌های CIR و HIR تحت عمل جراحی آسیب IR قرار گرفتند. اندازه سکته، آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز، شاخص‌های عملکردی بطن چپ، کلوتو و TRPC6 اندازه‌گیری و داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند.

نتایج: نتایج پژوهش حاضر کاهش معنادار اندازه سکته و آنزیم‌های شاخص آسیب قلبی را به دنبال تمرین در جریان IR نشان داد. علاوه بر این نتایج این پژوهش نشان داد که کاهش و اختلال عملکرد بطن به دنبال آسیب IR در گروه تمرین کرده (HIR) نسبت به گروه تمرین نکرده (CIR) به طور معنادار کمتر بود. همچنین یافته‌های این پژوهش افزایش معنادار کلوتو محلول در خون بعد از تمرین و بیان کمتر کانال‌های TRPC6 در جریان IR را در گروه تمرین کرده نشان داد.

نتیجه‌گیری: یک دوره کوتاه‌مدت تمرین تناوبی شدید توانست باعث کاهش اندازه سکته به یک‌سوم میزان در مقایسه با گروه بدون تمرین (CIR) (کاهش ۳۳،۴۵ درصدی) و جلوگیری از کاهش بارز عملکرد قلب در برابر آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد شود. بر اساس نتایج به دست آمده، افزایش کلوتو به دنبال تمرین و درنتیجه بیان کمتر کانال‌های TRPC6 در جریان IR، می‌تواند از مکانیسم‌های افزایش محافظت قلبی و کاهش اختلال در عملکرد قلب باشد.

واژگان کلیدی: آسیب ایسکمی خون‌رسانی مجدد، پیش آماده‌سازی، تمرین تناوبی شدید، TRPC6

مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی به ویژه بیماری‌های مرتبط با سرخرگ‌های کرونر یکی از دلایل اصلی مرگ و میر شناخته می‌شود (۱،۲). اصلی‌ترین عامل پاتولوژیک که در طول اختلالات مرتبط با عروق کرونر منجر به وقوع مرگ می‌شود، پدیده‌ی ایسکمی- خون‌رسانی مجدد (IR[1]) است که وابسته به طول دوره ایسکمی می‌توان صدمات ناشی از آن را در سه سطح آریتمی (مدت ایسکمی ۱ تا ۵ دقیقه)، اختلال در عملکرد انقباضی بطن بدون مرگ سلولی (طول دوره ایسکمی ۵ تا ۲۰ دقیقه)، انفارکتوس و مرگ سلولی و اختلال عملکرد انقباضی (طول دوره ایسکمی بیش از ۲۰ دقیقه) دسته‌بندی کرد (۱،۳). با این حال، زمانی که قلب به طور مکرر در معرض IRهای خفیف قرار گیرد، به صورتی که منجر به مرگ سلولی نشود، متقابلاً ویژگی‌های محافظت قلبی را از طریق فرایند پیش آماده‌سازی (PC[2]) تقویت می‌کند (٤). در این راستا، مطالعات متعدد نشان می‌دهند که جلسات منظم فعالیت ورزشی و تمرینات هوازی، حتی دوره‌های کوتاه‌مدت (۵،٦،۷،۸،۹) یکی از کاربردی‌ترین رویکردهای پیش آماده‌سازی برای دستیابی به محافظت قلبی است و باعث کاهش صدمات و اختلالات عملکردی و کاهش خطر مرگ در هنگام بروز آسیب IR می‌شود (۱۰،۱۱). از طرفی علی‌رغم شناخت برخی مکانیسم‌های سلولی- مولکولی مؤثر در محافظت قلبی حاصل از فعالیت ورزشی (EICP[3])، هنوز سازوکارهای سلولی ایجادکننده‌ی این سازگاری در نتیجه تمرینات ورزشی، به عنوان یک موضوع پیچیده و بحث‌برانگیز شناخته می‌شود (۹). از آنجایی که آسیب IR عمدتاً توسط استرس اکسیداتیو و افزایش ROSها و اختلال در تنظیم کلسیم ایجاد می‌شود و ارتباط و اثرات متقابل ROSها و اضافه‌بار کلسیم می‌تواند عامل اثرگذاری بر مقدار آسیب وارده و اختلال در عملکرد انقباضی قلب باشد، احتمالاً جلوگیری از افزایش بار کلسیم با استفاده از تغییر در کانال‌های ورود کلسیم و پروتئین‌های هندلینگ کلسیم و بهبود وضعیت آنتی اکسیدانتی، از جمله مکانیسم‌های اصلی مؤثر در پیش آماده‌سازی با فعالیت ورزشی است (۱،۱۲).

شواهد رو به رشد نشان می‌دهد که خانواده کانال‌هایTRPC[4] در تنظیم ورود کلسیم نقش دارند و ٦ عضو از این خانواده در قلب شناسایی شده‌اند (۱۳). فعالیت و عملکرد فیزیولوژیکی کانال‌های TRPC6 به عنوان عضوی از این خانواده در شرایط عادی مشخص نیست اما این کانال‌ها در پاسخ به انواع تحریک و استرس فعال می‌شوند (۱۳،۱٤) و افزایش عملکرد آن‌ها در بافت‌های کلیه، عروق خونی، ریه و قلب منجر به بیماری می‌شود (۱٤). با وجود مطالعاتی که ارتباط بین افزایش بیان TRPC6 را با آسیب‌های IR در ریه (۱۵) و کلیه (۱٦،۱۷) نشان می‌دهند گزارش‌هایی که ارتباط بین آسیب‌های IR و TRPC6 را در قلب نشان دهند، وجود ندارد (۱۵) البته پیشنهاد شده است که کانال‌های TRPC 3, 6 می‌توانند با آپوپتوز قلبی ناشی از کلسیم در نتیجه IR و کاهش تحمل به استرس مرتبط باشند (۱۳). همچنین گزارش شده است که کاهش بیان کانال‌های TRPC6 حساسیت قلب را به دنبال استرس کاهش می‌دهد و باعث محافظت قلبی علیه هایپرتروفی پاتولوژیک و نارسایی قلبی می‌گردد (۱٤)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد با توجه به حضور این کانال‌ها در قلب، احتمالاً در پاسخ به آسیب‌های ایسکمی خون‌رسانی مجدد و مکانیسم‌های ایجاد آن در قلب نیز درگیر باشند.

از طرفی، نشان داده شده است که کلوتو۵ محلول در خون می‌تواند این کانال‌ها را مهار کند و از قلب علیه هایپرتروفی پاتولوژیک و تغییر وضعیت (رمادلینگ) ایجاد شده با استرس محافظت نماید (۱٤). کلوتو پروتئین ضد پیری است که در بافت‌های مختلف از جمله کلیه، مغز، عضلات اسکلتی، قلب و عروق بیان

[1]. Ischemia /Reperfusion
[2]. Preconditioning
[3]. Exercise induce cardioprotection
[4]. Transient receptor potential Canonical Channel
[5]. Klotho

می‌شود (۱۸،۱۹). فرم محلول و در گردش خون کلوتو که حاصل شکسته شدن فرم غشایی و هم محصول فرم ترشحی این پروتئین است، اثرات بیولوژیکی در بدن اعمال می‌کند و با پیشگیری از آتروفی عضلانی، پوکی استخوان و بیماری‌های قلبی عروقی در ارتباط است (۱۸). در مورد تأثیرات قلبی کلوتوی محلول پیشنهاد می‌شود که اثرات محافظت قلبی کلوتو ممکن است به واسطه مهار بیان و مهار اگزوسیتوز کانال‌های TRPC6 (۱٤). مهار آپوپتوز سلول‌های قلبی از طریق تنظیم کاهشی استرس شبکه آندوپلاسمی و کاهش تولید ROS باشد (۱۹،۲۰). با این وجود، تغییرات و دخالت کلوتو در جریان IR به عنوان یک مکانیسم تأثیرگذار نامشخص است و احتمال دارد کاهش این پروتئین در جریان IR و به دنبال آن افزایش TRPC6 یک مکانیسم درگیر در بزرگی پاسخ به آسیب‌های IR در قلب باشد. از طرفی، با توجه به پژوهش‌های محدودی که افزایش کلوتو محلول را به دنبال تمرینات هوازی نشان می‌دهند (۱۸،۲۱،۲۲) شاید بتوان گفت که افزایش کلوتو به دنبال پیش آماده‌سازی با تمرینات ورزشی و یا ممانعت از کاهش آن در جریان IR به دنبال تمرین، بتواند مستعد شدن قلب را برای آسیب کاهش دهد.

پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهند که تأثیرات محافظتی تمرینات ورزشی حتی بعد از دوره‌های کوتاه‌مدت (۱ تا ۵ جلسه) نیز ایجاد می‌شود (۵،٦،۷،۸،۹،۲۳) اما متأسفانه جزئیات زیادی درباره‌ی شدت بهینه فعالیت هوازی برای بهبود قابلیت حفاظت قلبی در دسترس نیست (۹). به هر حال با وجود اهمیت شدت تمرین و با توجه به مطالعات بسیاری که سازگاری‌های قلبی عروقی، عضلانی و متابولیکی در جمعیت‌های سالم و بیمار را به شدت تمرین وابسته می‌دانند و شواهد رو به رشدی که نشان می‌دهد تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT[1]) می‌توانند به عنوان یک روش تمرینی مؤثرتر از تمرینات تداومی عمل کنند (۲٤،۲۵،۲٦،۲۷)، تأثیر تمرینات تناوبی شدید و مکانیسم‌های محافظت قلبی جهت کاهش پیامدهای منفی ناشی از IR کمتر شناخته شده است (۹). بنابراین، با توجه به نبود پژوهش‌های کافی در زمینه‌ی مکانیسم‌های سلولی مولکولی مسئول محافظت قلبی به دنبال تمرینات تناوبی با شدت بالا، هدف از پژوهش حاضر مطالعه تأثیر دوره کوتاه‌مدت تمرین تناوبی شدید بر محافظت قلبی و عملکرد بطن چپ و همچنین مقادیر کلوتو و TRPC6 به عنوان مکانیسم‌های احتمالی تأثیرگذار است. فرض این پژوهش این است که کانال‌های TRPC6 در پاسخ به آسیب IR و مکانیسم‌های ایجاد آن در قلب درگیر هستند و افزایش کلوتو و یا ممانعت از کاهش کلوتو در جریان IR به دنبال تمرین HIIT و درنهایت کاهش TRPC6 می‌تواند مستعد شدن قلب را به آسیب‌های ناشی از IR و اختلالات عملکردی کاهش دهد. دستاورد اثبات چنین فرضیه‌ای دانش مورد نیاز برای توسعه رویکردهای پیشگیری و درمانی را فراهم خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

گروه‌های مورد مطالعه

در این پژوهش ٤۸ موش صحرایی نر نژاد ویستار (۱۰-۸ هفته‌ای با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم) از انیستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط استاندارد با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و چرخه تاریکی- روشنایی ۱۲:۱۲ و دسترسی آزاد به آب و غذا نگه‌داری شدند. موش‌ها بعد از سازگاری با شرایط جدید به صورت تصادفی به ۵ گروه کنترل (C)، تمرین تناوبی شدید (H)، شم (Sh)، کنترل+ ایسکمی- خون‌رسانی مجدد (CIR) و تمرین+ ایسکمی- خون‌رسانی مجدد (HIR) تقسیم شدند.

تمامی مراحل نگه‌داری، کار با حیوان، تمرین، بیهوشی و کشتار موش‌ها مطابق با قوانین و آیین‌نامه‌های اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفت.

پروتکل تمرین

بعد از دوره‌ی ٤-۳ روزه آشناسازی گروه تمرین با

[1]. High Intensiity Interval Training

نوارگردان، آزمون حداکثر اکسیژن مصرفی بر اساس پروتکل استاندارد مورد استفاده در پژوهش‌های قبلی گرفته شد (۲۸،۲۹). بعد از تعیین VO2max و بعد از ۷۲ ساعت استراحت، تمرین اصلی HIIT در ۵ روز متوالی اجرا شد. هر جلسه پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل ۵ دقیقه گرم کردن با شدت ۵۰ درصد VO2max، ٦ تناوب شدید ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO2max و ۵ تناوب آهسته‌ی ۲ دقیقه‌ای با شدت ۵۵ تا ٦۰ تا درصد VO2max و ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ درصد VO2max بود. پروتکل تمرین بر اساس مطالعه رحیمی و همکارانش به دلیل اثربخشی آن در کاهش اندازه سکته انتخاب شد (۹) اما شدت تمرین بر مبنای مطالعه راهنما و آزمون حداکثر اکسیژن مصرفی و بر اساس شدت مورد استفاده در مطالعات قبلی تعدیل شد (۲۸،۲۹). گروه کنترل در برنامه تمرینی شرکت نداشتند، اما برای ایجاد شرایط یکسان و حذف مداخله محیط نوارگردان در هر جلسه بر روی نوارگردان بی‌حرکت قرار می‌گرفتند.

پروتکل ایجاد مدل ایسکمی خون‌رسانی مجدد (IR)

برای ایجاد IR، موش‌ها بعد از بی‌هوش شدن از طریق تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم (٦۰mg/Kg) و تراشیدن موهای قفسه سینه روی تخت جراحی فیکس شدند. لید ۲ الکتروکاردیوگرام (ECG) به طور مداوم از طریق سیستم کامپیوتری پاورلب کنترل و ثبت گردید (ML750 PowerLab /4sp ADInstruments). درجه حرارت بدن موش نیز از طریق پد حرارتی در دمای ۰/۵± ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. سپس نای اینتوبه و به ونتیلاتور (تعداد تنفس ۸۰ بار در دقیقه و حجم یک میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) (Harvard rodent ventilator model 683, Holliston, MA, USA) متصل شد. قفسه سینه در فضای بین دنده‌ای ٤ و ۵ باز و پس از پاره کردن پریکارد، نخ ۰-٦ پرولین از زیر شریان LAD (۲-۱ میلی‌متر پایین‌تر از منشأ آن) عبور داده و بعد از پایدار شدن شرایط، با انسداد شریان، ایسکمی به مدت ۳۰ دقیقه القا شد. به دنبال بسته شدن شریان مذکور، کم‌رنگ و رنگ‌پریده شدن نوک قلب، بالا رفتن قطعه ST در ECG و افت فشارخون نشانه‌هایی برای تائید مسدود شدن موفقیت‌آمیز شریان بود. در نهایت بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی رگ مجدداً باز شد و خون‌رسانی مجدد انجام گرفت. در گروه شم نیز تمام پروسه جراحی اجرا شد با این تفاوت که شریان LAD بسته نشد (۹،۳۰).

اندازه‌گیری ناحیه ایسکمی و اندازه سکته

به منظور ارزیابی اندازه سکته، در پایان مرحله خون‌رسانی مجدد، شریان LAD مجدداً بسته شد و به میزان دو سی‌سی رنگ اوانس بلو ۲٪ (Sigma) از ورید فمورال برای تمیز دادن نواحی در معرض خطر و ایسکمی شده از ناحیه غیر ایسکمی تزریق شد و سپس قلب سریعاً جدا شده و در داخل یخچال ۲۰- فریز شد. سپس قلب به تکه‌های ۲ میلی‌متری از نوک تا قاعده برش داده شد و به مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه در محلول حاوی TTC 1%[1] (Sigma) و دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. پس از واکنش TTC با بخش زنده بافت، بعد از ٤۸-۲٤ ساعت ماندن در فرمالین ۱۰٪، رنگ قرمز تولید شده موجب تفکیک ناحیه در معرض خطر (ناحیه قرمز) از ناحیه سکته (ناحیه سفیدرنگ) شد. در نهایت نمونه‌ها اسکن و ناحیه ایسکمی و ناحیه در معرض خطر با نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری و محاسبه شد. ناحیه در معرض خطر به عنوان درصدی از بطن چپ (AAR/LV) و اندازه سکته به عنوان درصدی از ناحیه در معرض خطر (IS/AAR) گزارش شد (۹،۳۰).

نمونه‌گیری

۲٤ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، آسیب ایسکمی خون‌رسانی مجدد اعمال و بعد از اتمام مرحله خون‌رسانی مجدد، نمونه‌های خونی از قلب موش‌ها گرفته شد و به منظور جلوگیری از لخته شدن در لوله‌های EDTA ریخته شده و پس از سانتریفیوژ (دور ۳۰۰۰rpm، مدت ۲۰ دقیقه، دمای ٤ درجه) و جدا کردن پلاسما در داخل میکروتیوب ریخته و فریز شدند. بافت

[1].1% 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride, TTC in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4

قلب نیز بعد از پایان دوره خون‌رسانی مجدد به سرعت جدا شده و بعد از شستشو با PBS (PH 7.4) به داخل نیتروژن مایع و سپس یخچال ۸۰- منتقل شد.

اکوکاردیوگرافی و اندازه‌گیری شاخص‌های عملکردی بطن چپ

اکوکاردیوگرافی ۲۴ ساعت بعد از جراحی و پس از بیهوشی سطحی با استفاده از دستگاه اکوکاریوگرافی (GE- Vingmed Ultrasound, USA) و یک پروب خطی ۱۰ MHz انجام گرفت و حجم پایان دیاستولی بطن چپ (LVEDV)، حجم پایان سیستولی بطن چپ (LVESV)، حجم‌ضربه‌ای (SV)، کسر تخلیه‌ای (EF)، کسر کوتاه شدگی (FS) اندازه‌گیری شدند.

سنجش پلاسمایی لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز و کلوتو

به منظور اندازه‌گیری سطوح پلاسمایی لاکتات دهیدروژناز (LDH) و کراتین کیناز میوکاردی (CK-MB) (مارکرهای نشان دهنده نکروز مایوسیت‌ها) از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون ساخت ایران استفاده شد (Pars Azmoon, Tehran, Iran). سطوح پلاسمایی کلوتو نیز با استفاده از کیت کلوتو اندازه‌گیری شد (E1206Ra, bioassay technology laboratory, shanghai crystal day, Biotech co, LTD; Shanghai). برای خوانش نتایج تست‌های الایزا از دستگاه میکروپلیت ریدر استفاده شد (Microplate reader, SYNERGY HT, BioTek).

اندازه‌گیری میزان بیان پروتئین TRPC6

جهت بررسی تغییرات بیان پروتئین TRPC6 از روش وسترن بلات استفاده شد. ابتدا بافت قلب (بطن چپ) در بافر لیز کننده RIPA (RIPA Lysis Buffer System, Santa Cruz Biotechnology) به وسیله هموژنایزر (Wise Tis HG-15D Homogenizer) هموژن شد. سپس بافت هموژن شده سانتریفیوژ گردید و سوپرناتانت آن جدا شد. بعد از آماده‌سازی نمونه‌ها برای یکسان‌سازی غلظت پروتئین در نمونه‌ها از روش بردفورد استفاده شد و میزان برابر پروتئین در دستگاه الکتروفورز لود شد (BIO RAD). سپس باندهای پروتئینی از روی ژل SDS-PAGE ۱۰٪ به غشای PVDF[1] (Amersham Hybond P) انتقال داده شدند (trans-blot SD,semi-dry transfer cell BIO RAD) و توسط انتی بادی اختصاصی اولیه (TRPC6 Polyclonal Antibody, ThermoFisher Scientific,USA) و انتی بادی ثانویه (Goat Anti Rabbit, Abcam)، پروتئین مورد نظر شناسایی و با استفاده از کیت ECL و فیلم رادیولوژی ظاهر شد (Amersham ECL advance western blotting detection kit). چگالی باندها با استفاده از نرم‌افزار Image J محاسبه گردید. از انتی بادی β-actin (Cell signaling Technology) نیز به عنوان کنترل داخلی برای حذف خطای لود کردن مقادیر برابر پروتئین در چاهک‌ها استفاده شد.

روش‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار spss16 انجام گرفت. بعد از تائید طبیعی بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون شاپیرو ویلک، از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و از آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تفاوت بین گروهی استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین گزارش و سطح معناداری آزمون‌ها کمتر۰/۰۵ از در نظرگرفته شد.

نتایج

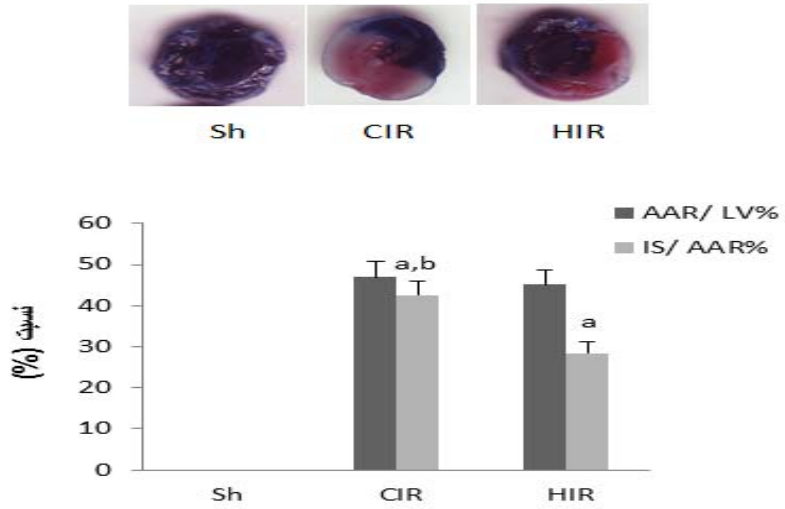
همان‌طور که در جدول۱ نشان داده شده است تفاوت معناداری در وزن بدن و وزن قلب بین گروه‌ها وجود ندارد (P>۰.۰۵). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که ۵ روز متوالی تمرین تناوبی با شدت بالا باعث کاهش۳۳.۴۵٪ اندازه سکته در موش‌ها می‌شود (۲۸.۳۵ درصد در گروه تمرین در مقایسه با ۴۲.۶۰ درصد در گروه کنترل) (p<۰.۰۰۱) (شکل ۱). کاهش شاخص‌های آنزیمی آسیب عضله قلبی، یعنی CK و LDH (۲۹٪ و ۳۷٪) بعد از ایسکمی خون‌رسانی مجدد در گروه تمرینی نسبت به گروه بدون تمرین (CIR) نیز تأثیر تمرین بر محافظت قلبی را تائید می‌کند (p<۰.۰۰۱) (جدول ۲). در راستای تغییرات عملکردی بطن چپ نیز نتایج این

[1]. Polyvinylidene fluoride

پژوهش کاهش معنادار در حجم ضربه‌ای (p=۰/۰۱۰)، کسر تخلیه (p<۰.۰۰۱) و کسر کوتاه شدگی (p=۰/۰۲۹) (به ترتیب ٤٧٪ ، ٤٢٪ و ٣١٪) و افزایش معنادار در حجم پایان سیستولی (p=۰/۰۰٤) را بعد از آسیب ایسکمی خون‌رسانی مجدد نسبت به گروه شم نشان داد. اما کاهش حجم ضربه‌ای، کسر تخلیه و درصد کوتاه شدگی در گروه تمرین بعد از آسیب IR در مقایسه با گروه شم معنادار نبود (جدول ۳). علاوه بر این، نتایج پژوهش حاضر افزایش معناداری را در سطوح پلاسمایی کلوتو بعد از تمرین نشان داد (p<۰.۰۰۱). اطلاعات به دست آمده نشان می‌دهد که میزان این پروتئین به دنبال ایسکمی خون‌رسانی مجدد در گروه CIR کاهش یافته است (p= ۰.۰۰٤) اما میزان این پروتئین در گروه HIR همچنان بالاتر از گروه شم است (p<۰.۰۰۱) و کاهش آن در جریان IR نسبت به گروه H معنادار نیست (p=۰.۳٦۳) (جدول ۲). علاوه بر این، مقایسه بیان TRPC6 در گروه‌ها، افزایش معنادار آن را به دنبال IR نشان می‌دهد (p<۰.۰۰۱). اما این افزایش که به دنبال IR رخ داده است، در گروه تمرینی (HIR) نسبت به گروه بدون تمرین (CIR) کمتر است (p<۰.۰۰۱). نتایج مربوط به بیان TRPC6 در شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱. وزن بدن و وزن قلب در گروه‌های مورد مطالعه

	C میانگین± انحراف استاندارد	H میانگین± انحراف استاندارد	Sh میانگین± انحراف استاندارد	CIR میانگین± انحراف استاندارد	HIR میانگین± انحراف استاندارد
وزن بدن (g)	۲۸۳/۵۷±۱۵/۰۷	۲۷۳/۵۹±۱۶/۴۶	۲۷۸/۲۷±۱۴/۳۵	۲۸۸/۴۱±۱۲/۶۸	۲۸۲/۵۴±۱۰/۴۹
وزن قلب (g)	۱/۳۱±۰/۰۹	۱/۲۵±۰/۱۳	۱/۳۰±۰/۱۲	۱/۳۲±۰/۱۱	۱/۲۸±۰/۱۳



شکل ۱. نسبت ناحیه در معرض خطر به بطن چپ (AAR/LV%) و نسبت اندازه انفارکتوس به ناحیه در معرض خطر (IS/AAR%) در گروه های تحت ایسکمی و خونرسانی مجدد. ۰.۰۰۱ >p [a] در مقایسه با گروه شم (Sh) و ۰.۰۰۱>P [b] در مقایسه با گروهHIR.

جدول ۲. سطوح پلاسمایی لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز و کلوتو در گروه‌های مورد مطالعه

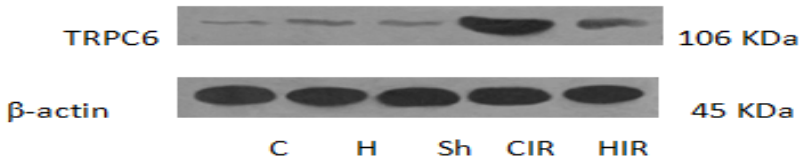
	C میانگین ± انحراف استاندارد	H میانگین ± انحراف استاندارد	Sh میانگین ± انحراف استاندارد	CIR میانگین ± انحراف استاندارد	HIR میانگین ± انحراف استاندارد
لاکتات دهیدروژناز (LDH) (U/L)	۳۹۴/۱۰ ± ۷۰/۱۴	۴۳۵/۱۲ ± ۶۷/۵۸	۴۵۳/۷ ± ۹۲/۳۹	[a,b] ۲۷۰۶/۰۱ ±۴۰۱ /۱۶	[a] ۱۷۰۳/۸۰ ±۲۷۴ /۸۲
کراتین کیناز (CK-MB) (U/L)	۴۰۸/۸۸±۴۸/۸۹	۲۹۷/۳۸±۳۸/۴۵	۳۷۱/۱۲±۴۸/۳۴	[a,b] ۲۳۷۹/۵۱±۲۷۸/۲۲	[a] ۱۶۸۴/۸۷±۲۱۳/۰۸
کلوتو (ng/ml)	۱/۴۱±۰/۲۱	[c] ۲/۴۵±۰/۳۱	۱/۴۷±۰/۱۷	[d] ۰/۹۴±۰/۱۶	[e,f] ۲/۲۱±۰/۲۳

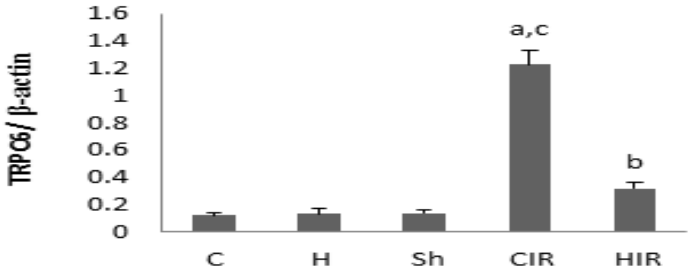
[a] p< ۰.۰۰۱ در مقایسه با گروه‌های بدون IR ; [b] p <۰.۰۰۱ در مقایسه با گروه HIR، [c] p< ۰.۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل (C); [d] p <۰.۰۵ و [e]p <۰.۰۰۱ در مقایسه با گروه شم (Sh); [f] p <۰.۰۰۱ در مقایسه با گروهCIR.

جدول ۳. داده‌های اکوکاردیوگرافی شاخص‌های عملکردی بطن چپ

	C	H	Sh	CR	HIR
	میانگین ± انحراف استاندارد	میانگین ± انحراف استاندارد	میانگین ± انحراف استاندارد	میانگین ± انحراف استاندارد	میانگین ± انحراف استاندارد
حجم پایان دیاستولی (میلی‌لیتر) (LVEDV)	۰/۵۷ ±۰ /۰۸	۰/۶۱ ± ۰/۱۲	۰/۵۴ ± ۰/۰۶	۰/۵۲ ±۰ /۰۸	۰/۵۲ ±۰ /۰۵
حجم پایان سیستولی (میلی‌لیتر) (LVESV)	۰/۲۳ ±۰ /۰۵	[a] ۰/۱۲ ±۰/۰۴	۰/۱۹ ±۰ /۰۲	[b,c] ۰/۳۳ ±۰ /۰۵	۰/۲۰ ± ۰/۰۴
حجم ضربه‌ای (میلی‌لیتر) (SV)	۰/۳۳ ±۰ /۰۵	[a] ۰/۴۹ ±۰ /۰۸	۰/۳۴ ± ۰/۰۶	[b,c] ۰/۱۸ ±۰ /۰۳	[d] ۰/۳۱ ±۰ /۰۳
کسر تخلیه‌ای (درصد) (EF)	۵۸/۹۱ ±۴ /۲۰	[a] ۷۹/۹۱ ±۲/۸۵	۶۲/۷۸ ± ۶ /۴۵	[b,c] ۳۶ /۰۶ ± ۷/۵۹	[d] ۶۰/۵۴ ± ۵/۵۴
کسر کوتاه شدگی (درصد) (FS)	۳۳/۱۱ ± ۴/۶۸	[a] ۴۵/۶۵ ± ۳/۲۶	۳۲/۸۹ ± ۵/۵۳	[b,c] ۲۲/۶۶ ± ۳/۴۱	[d] ۳۳/۹۳ ± ۴/۱۰

a اختلاف معنادار در مقایسه با گروه کنترل، b در مقایسه با گروه شم (Sh)، c در مقایسه با گروه HIR و d در مقایسه با گروه H.





شکل ۲. نسبت بیان TRPC6 **به** β–actin **در گروه‌های مورد مطالعه.** [a] $p<$ **۰.۰۰۱ و** [b] $p<$ **۰.۰۱ در مقایسه با گروه‌های بدون**IR**;** [c] $p<$ **۰.۰۰۱ در مقایسه با گروه** HIR.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که حتی یک دوره کوتاه‌مدت تمرین تناوبی شدید باعث کاهش ۳۳.۴۵ درصد اندازه سکته و افزایش محافظت قلبی در برابر IR می‌شود. کاهش سطوح پلاسمایی آنزیم‌های CK و LDH به دنبال IR در گروه تمرینی (HIR) نسبت به گروه بدون تمرین (CIR) نیز تأییدی در راستای تأثیر تمرین بر محافظت قلبی است. بنابراین، به نظر می‌رسد طول دوره تمرین عامل محدودکننده‌ای برای ایجاد اثرات محافظت قلبی نیست زیرا همسو با نتایج پژوهش حاضر، کاهش اندازه سکته و اثرات کاردیوپروتکشن ورزشی حتی بعد از دوره‌های کوتاه‌مدت (۱ تا ۵ روز) نیز گزارش شده است (۵،۶،۷،۸،۹،۲۳) و این بدان معنی است که دوره تمرین کوتاه با وجود اینکه تغییرات ساختاری را در قلب ایجاد نمی‌کند، اما می‌تواند تغییراتی را در سازگاری‌های مولکولی ایجاد کند که اثرات معناداری را در تضعیف آسیب‌های IR و ایجاد محافظت قلبی به دنبال داشته باشد (۹). علاوه براین، یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که شاخص‌های عملکرد انقباضی بطن چپ (حجم ضربه‌ای، کسر تخلیه و کسر کوتاه شدگی) به دنبال آسیب ایسکمی و خون‌رسانی مجدد در گروه CIR به طور معنادار کاهش و حجم پایان سیستولی افزایش یافته است. این در حالی است که کاهش SV،

EF و FS به طور معنادار در گروه تمرینی (HIR) نسبت به گروه CIR کمتر بوده است و تفاوت معناداری با گروه شم ندارد. این نتایج حاکی از آن است که تمرین از کاهش بیشتر و معنادار این شاخص‌ها در پاسخ به IR جلوگیری کرده است.

با وجود پژوهش‌هایی که تأثیر تمرینات تداومی با شدت متوسط را در محافظت قلبی نشان می‌دهند و علی‌رغم برخی مکانیسم‌های سلولی- مولکولی شناخته شده در ایجاد محافظت قلبی به دنبال این تمرینات از جمله افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانتی، افزایش بیان پروتئین‌های شوک گرمایی (HSPs)، بهبود عملکرد کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP، تغییر بیان No و تغییرات سازشی در میتوکندری های قلبی (۱،٦،۷،۳۱،۳۲)، مکانیسم‌های سلولی مولکولی مسئول سازگاری‌های قلبی عروقی و افزایش محافظت قلبی به دنبال تمرینات اینتروال با شدت بالا عمدتاً ناشناخته است و پژوهش‌های بیشتری جهت شناخت این مکانیسم‌ها مورد نیاز است.

اگرچه فعالیت و عملکردهای فیزیولوژیکی کانال‌های TRPC6 در شرایط نرمال در قلب مشخص نیست اما گزارش شده است که جریان غیرطبیعی رو به داخل کلسیم از طریق کانال‌های TRPC6 در پاسخ به انواع مختلف استرس مانند افزایش ROS ها، تحریک بیش از حد توسط اندوتلین ۱ و آنژیوتانسین ۲ باعث فعال شدن کلسی نورین و روشن شدن عوامل رونویسی (NFAT)، القاء بیان ژن، هایپرتروفی و نارسایی قلبی می‌شود (۱۳،۱٤). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که آسیب IR و به دنبال آن افزایش استرس اکسیداتیو و ROS ها توانسته است باعث افزایش بیان کانال‌های TRPC6 و فعالیت آن‌ها و در نتیجه ورود بیش از حد کلسیم به داخل سلول و نهایتاً افزایش آسیب و اندازه سکته و اختلال در عملکرد بطن چپ شود. افزایش سطوح کلسیم داخل سلولی می‌تواند از طریق فعال کردن پروتئازهای فعال‌شده با کلسیم (کالپاین‌ها)، ایجاد آسیب میتوکندریایی، تسهیل و افزایش تولید ROS و اختلال در جفت شدن تحریک- انقباض باعث افزایش صدمات ناشی از IR و اختلال عملکردی و انقباضی قلب شود (۳،۱). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که آسیب IR باعث فعال شدن کالپاین ها در سلول‌های قلبی همراه با آسیب اکسایشی و تخریب پروتئین‌های ضروری در هندلینگ کلسیم قلب (SERCa2a، فسفولامبان، کانال‌های کلسیمی L، مبادله گر سدیم – کلسیم) می‌شود اما پیش آماده‌سازی با تمرینات ورزشی حتی کوتاه‌مدت (۳ روزه) به طور مؤثر از قلب در برابر فعال شدن کالپاین‌ها و آسیب پروتئین‌های هندلینگ کلسیم در زمان IR محافظت می‌کند (۳۳). افزایش کمتر بیان TRPC6 به دنبال IR در گروه تمرین کرده (HIR) نسبت به گروه تمرین نکرده (CIR) نشان می‌دهد که این عامل نیز می‌تواند به عنوان یکی از مکانیسم‌های محافظتی تمرین در کاهش کلسیم داخل سلولی، کاهش اندازه سکته و جلوگیری از کاهش بارز عملکرد بطن چپ در گروه تمرین کرده مطرح باشد. با این حال، برای روشن شدن دقیق‌تر این اثر و مکانیسم‌های ایجاد آن مطالعات بیشتری مورد نیاز است. از طرفی دیگر، گزارش شده است که کلوتو محلول می‌تواند باعث مهار کانال‌های TRPC6 شود و کاهش بیان این کانال‌ها، حساسیت قلب را به دنبال استرس کاهش می‌دهد و باعث محافظت قلبی علیه هایپرتروفی پاتولوژیک می‌گردد (١٤). نتایج پژوهش حاضر نیز که بیان کمتر این کانال‌ها را در جریان IR در گروه تمرینی (که سطوح کلوتو در آن‌ها نسبت به گروه بدون تمرین بالاتر است) نشان می‌دهد، نقش کلوتو را در مهار بیان این کانال‌ها و نهایتاً آسیب و اختلال عملکردی کمتر تائید می‌کند. با توجه به محدود بودن مطالعات، مکانیسم‌های مسئول افزایش کلوتو به دنبال تمرین، هنوز به طور دقیق روشن نشده است. اما این احتمال وجود دارد که تمرینات هوازی از طریق مداخله در بیان کلوتو و افزایش شکسته شدن دامنه خارج سلولی فرم غشایی آن باعث افزایش غلظت کلوتو در خون شود (۲۱). پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی باعث افزایش PPARγ،

کاهش AT1R (گیرنده‌های انژیوتانسین ۲) و کاهش استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد (۳۵،۳٤،۲۱) می‌شود و از آنجایی که این عوامل در افزایش بیان mRNA و پروتئین کلوتو نقش دارند (۳۹،۳۸،۳۷،۳٦،۲۱)، بنابراین این احتمال نیز وجود دارد که تمرینات ورزشی از طریق تأثیر بر این عوامل باعث افزایش کلوتو شود. در مقابل، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که میزان این پروتئین در خون به دنبال آسیب IR کاهش می‌یابد اما مکانیسم‌های ایجاد این تغییر ناشناخته است و پژوهش‌های بیشتری جهت شناخت و تائید آن مورد نیاز است. با این حال، احتمالاً استرس اکسیداتیو و افزایش ROS که می‌تواند بیان کلوتو در بافت‌ها را کاهش دهد (۳۷) یکی از عوامل مؤثر در کاهش تولید و رهاسازی آن به درون خون باشد و در نتیجه باعث افزایش TRPC6 در جریان IR و آسیب و اختلال عملکردی بیشتر شود. در مقابل، افزایش کلوتو به دنبال تمرین از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و همچنین ممانعت از بیان زیاد کانال‌های TRPC6 در جریان IR می‌تواند باعث کاهش اندازه سکته و اختلال عملکردی و افزایش مقاومت قلبی شده باشد. با این حال پژوهش‌های بیشتری جهت شناخت مکانیسم‌های مؤثر در افزایش کلوتو به دنبال انواع تمرینات ورزشی و نیز شناخت تغییرات کلوتو و مکانیسم‌های مسئول آن به دنبال آسیب IR مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که کاهش کلوتو و افزایش بیان TRPC6 در جریان ایسکمی خون‌رسانی مجدد و استرس اکسیداتیو ناشی از آن می‌تواند یک مکانیسم درگیر در پاسخ به آسیب IR باشد و از طرفی دیگر، افزایش سطوح پلاسمایی کلوتو در نتیجه یک دوره کوتاه‌مدت تمرینات تناوبی شدید و یا ممانعت از کاهش زیاد این پروتئین در جریان IR در نتیجه‌ی پیش آماده‌سازی و به دنبال آن افزایش کمتر کانال‌های TRPC6 می‌تواند باعث افزایش محافظت قلبی و کاهش آسیب و کاهش اختلال در عملکرد بطن چپ شود. با این حال، برای روشن شدن دقیق‌تر این اثر مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

تشکر و سپاسگزاری

بدین‌وسیله از تمام کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند قدردانی و تشکر می‌کنیم.

منابع

1. Powers SK, Smuder AJ, Kavazis AN, Quindry JC. Mechanisms of exercise-induced cardioprotection. Physiology 2014;29(1):27-38.
2. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association. Circulation 2016;133(4):e38-e360.
3. Powers SK, Lennon SL, Quindry J, Mehta JL. Exercise and cardioprotection. Current Opinion in Cardiology 2002;17(5):495-502.
4. Frasier CR, Moore RL, Brown DA. Exercise-induced cardiac preconditioning: how exercise protects your achy-breaky heart. Journal of Applied Physiology 2011;111(3):905-15.
5. French JP, Hamilton KL, Quindry JC, Lee Y, Upchurch PA, Powers SK.Exercise-induced protection against myocardial apoptosis and necrosis: MnSOD, calcium-handling proteins, and calpain. The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal 2008;22(8):2862-71.
6. Quindry JC, Miller L, McGinnis G, Kliszczewicz B, Irwin JM, Landram M, et al. Ischemia reperfusion injury, KATP channels, and exercise- induced cardioprotection against apoptosis. Journal of Applied Physiology 2012;113(3):498-506.
7. Kavazis AN, McClung JM, Hood DA, Powers SK. Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 2008;294(2):H928-35.
8. Lee Y, Min,K, Talbert EE, Kavazis AN, Smuder AJ, Willis WT, et al. Exercise protects cardiac mitochondria against ischemia-reperfusion injury. Medicine & Science in Sports & Exercise 2012;44(3):397-405.
9. Rahimi M, Shekarforoush S, Asgari AR, Khoshbaten A, Rajabi H, Bazgir B, et al. The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. Experimental and Clinical Sciences 2015;14:237-246.
10. Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia–reperfusion injury. Free Radical Biology and Medicine 2008;44(2):193-201.
11. Frasier CR, Moore RL, Brown DA. Exercise-induced cardiac preconditioning: how exercise protects your achy-breaky heart. Journal of Applied Physiology 2011;111(3):905-15.
12. Quindry,J.C, Hamilton, K.L. Exercise and cardiac preconditioning against ischemia reperfusion injury. Current Cardiology Reviews 2013; 3(9), 220.

13. Dan Shan,Richard B. Marchase, and John C. Chatham. Overexpression of TRPC3 increases apoptosis but not necrosis in response to ischemia-reperfusion in adult mouse cardiomyocytes. American Journal of Physiology- Cell Physiology 2008; 294: C833–C841
14. Jian Xi, Seung-Kuy Cha, Chou-Long Huang. Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. Nature Communications 2012; 4;3;1238.
15. Weissmann N, Sydykov A, Kalwa H, Storch U, Fuchs B, y Schnitzler MM, et al. Activation of TRPC6 channels is essential for lung ischaemia–reperfusion induced oedema in mice. Nature Communications 2012;3:649.
16. Shen B, Zhou S, He Y, Zhao H, Mei M, Wu X. Revealing the underlying mechanism of ischemia reperfusion injury using bioinformatics approach. Kidney and Blood Pressure Research 2013;38(1):99-108.
17. Zhao B, Yang H, Zhang R, Sun H, Liao C, Xu J, et al. The role of TRPC6 in oxidative stress-induced podocyte ischemic injury. Biochemical and Biophysical Research Communications 2015;461(2):413-20.
18. Avin KG, Coen PM, Huang W, Stolz DB, Sowa GA, Dubé JJ, et al. Skeletal muscle as a regulator of the longevity protein, Klotho. Frontiers in Physiology 2014;5:189.
19. Martín-Núñez E, Donate-Correa J, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Navarro-González JF. Implications of Klotho in vascular health and disease. World Journal of Cardiology 2014;6(12):1262.
20. Song S, Gao P, Xiao H, Xu Y, Si LY. Klotho suppresses cardiomyocyte apoptosis in mice with stress-induced cardiac injury via downregulation of endoplasmic reticulum stress. PLoS One 2013;8(12):e82968.
21. Matsubara T, Miyaki A, Akazawa N, Choi Y, Ra S-G, Tanahashi K, et al. Aerobic exercise training increases plasma Klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 2014;306(3):H348-H55.
22. Saghiv M, EG, MS, DB-S. Effects of Aerobic Exercise Training on S-Klotho in Young and Elderly. Jacobs Journal of Physiology 2015;1(1):001.
23. Michelsen MM, Stottrup NB, Schmidt MR, Lofgren B, Jensen RV, Tropak M, et al. Exercise-induced cardioprotection is mediated by a bloodborne, transferable factor. Basic Research in Cardiology 2012;107(3):260.
24. Guiraud T, Nigam A, Gremeaux V, Meyer P, Juneau,M, Bosquet L. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. Sports Medicine 2012;42:587-605.
25. Rankin A, Rankin A, MacIntyre P, Hillis W. Walk or run? Is high-intensity exercise more effective than moderate-intensity exercise at reducing cardiovascular risk? Scottish Medical Journal 2012;57(2):99-102.
26. Freyssin C, Verkindt C, Prieur F, Benaich P, Maunier S, Blanc P. Cardiac rehabilitation in chronic heart failure: effect of an 8-week, high-intensity interval training versus continuous training. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation 2012;93:1359-64.
27. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. Journal of Physiology 2012;590:1077-84.
28. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation 2007;14(6):753-60.
29. Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes J-B, Skomedal T, Wisløff U, et al. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. Cardiovascular Research 2005;67(1):161-72.
30. Azizi Y, Faghihi M, Imani A, Roghani M, Nazari A. Post-infarct treatment with [Pyr1]-apelin-13 reduces myocardial damage through reduction of oxidative injury and nitric oxide enhancement in the rat model of myocardial infarction. Peptides 2013;46:76-82.
31. Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia–reperfusion injury. Free Radical Biology and Medicine 2008;44(2):193-201.
32. Borges JP, Lessa MA. Mechanisms involved in exercise-induced cardioprotection: a systematic review. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2015;105(1):71-81.
33. French JP, Quindry JC, Falk DJ, Staib JL, Lee Y, Wang KK, et al. Ischemia-reperfusion-induced calpain activation and SERCA2a degradation are attenuated by exercise training and calpain inhibition. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 2006;290(1):H128-H36.
34. Ciampone S, Borges R, de Lima IP, Mesquita FF, Cambiucci EC, Gontijo JA. Long-term exercise attenuates blood pressure responsiveness and modulates kidney angiotensin II signalling and urinary sodium excretion in SHR. Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2011;12(4):394-403.
35. Kawamura T, Yoshida K, Sugawara A, Nagasaka M, Mori N, Takeuchi K, et al. Regulation of skeletal muscle peroxisome proliferator-activated receptor γ expression by exercise and angiotensin-converting enzyme inhibition in fructose-fed hypertensive rats. Hypertension Research 2004;27(1):61-70.
36. Lim K, Lu T-S, Molostvov G, Lee C, Lam F, Zehnder D, et al. Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23clinical perspective. Circulation 2012;125(18):2243-55.
37. Mitobe M, Yoshida T, Sugiura H, Shirota S, Tsuchiya K, Nihei H. Oxidative stress decreases klotho expression in a mouse kidney cell line. Nephron Experimental Nephrology 2005;101(2):e67-e74.
38. Saito K, Ishizaka N, Mitani H, Ohno M, Nagai R. Iron chelation and a free radical scavenger suppress angiotensin II-induced downregulation of klotho, an anti-aging gene, in rat. FEBS letters 2003;551(1-3):58-62.
39. Zhang H, Li Y, Fan Y, Wu J, Zhao B, Guan Y, et al. Klotho is a target gene of PPAR-γ. Kidney International 2008;74(6):732-9.

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University
25th Year, No.135
June- July 2018

Received: 25/04/2018
Last revised: 12/06/2018
Accepted: 20/06/2018

The effect of preconditioning with high intensity interval training on cardioprotection and left ventricular function against Ischemia-reperfusion injury in male rats

Maral Ramez[1], Farinaz Nasirinezhad[2] , Hamid Rajabi[1*], Nasim Naderi[3], Nahid Aboutaleb[2]

1. Department of Exercise physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
2. Physiology Research Center and Physiology Department, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Rajaie Cardiovascular, Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*** Corresponding author e-mail: hrajabi@hotmail.com**

Abstract

Background and Objective: Cardiac ischemia-reperfusion (IR) is one of the main causes of death in the world. Since exercise training is one of the practical ways to improve cardioprotection against these injuries, the purpose of the present study was to investigate the effect of preconditioning with a short term of high-intensity interval training on cardioprotection, left ventricular function and possible mechanisms.

Materials and Methods: In this study, 48 male rats (8-10 weeks and 250-300 g) were randomly divided into 5 groups: control (C), high-intensity interval training (H), sham (Sh), control+ischemia-reperfusion (CIR) and high-intensity interval training+ischemia-reperfusion (HIR). The high-intensity interval training protocol consisted of 5 consecutive treadmill running in 6×2 min high intermittence with 85-90% vo2max and 5×2 min slow intermittence with 55-60% Vo2max. Rats in CIR and HIR groups were exposed to cardiac IR injury. Infarct size, lactate dehydrogenase, creatine kinase, Kloth, and TRPC6 expression were measured and data were analyzed by one way ANOVA and Tukey's post-hoc tests.

Results: The results of this study showed a significant decrease in infarct size and enzymes of cardiac injury in the training group during IR. Also, the results demonstrated that the reduction of ventricular function in the training group (HIR) was less than CIR group. As well, the results showed the significant increase in Klotho levels after training and lower expression of TRPC6 channels during IR in training group.

Conclusion: Short-term high-intensity interval training could reduce infarct size by one-third compared with the untrained group (CIR) (a decrease of 33.45%) and it could prevent noticeable reduction of cardiac function in IR injury. Based on the results, an increase in klotho following training and, consequently, lower expression of TRPC6 during IR, could be a mechanism for increasing cardioprotection and to reduce cardiac dysfunction.

Key words: Ischemia/Reperfusion, Preconditioning, High intensity interval training, TRPC6.