

The Comparison between the Effect of Four Weeks High Fat Diet, Volume Reduction Training and Detraining Following of Six Weeks Exercise Training on Parameters of Exercise-induced Bradycardia in Female Rats

Alireza Kashef¹,
Fereshteh Shahidi²,
Behnamedin Jameie³,
Mojtaba Selehpour⁴,
Abasali Gaeini⁵

¹ MSc in Exercise Physiology, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran.

² Associate Professor, Exercise Physiology Department, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran

³ Professor, Neuroscience Research Center (NRC), Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Associate Professor, Exercise Physiology Department, Shahid Rajaei Teacher Training University, Tehran, Iran

⁵ Professor, Exercise Physiology Department, Tehran University, Tehran, Iran

(Received August 20, 2023; Accepted October 2, 2023)

Abstract

Background and purpose: Exercise training-induced sinus bradycardia is a common cardiac adaptation and change in athlete's related to a reduction in intrinsic heart rate. This study aimed to investigate the effect of four weeks of high fat diet, four weeks of exercise training volume reduction and four weeks of detraining following six weeks of high-volume exercise training on the level of Hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-gated (HCN4).

Materials and methods: Thirty Sprague Dawley rats were divided into six groups randomly. Group 1 was the control group with standard diet. Group 2 was trained for ten weeks with high-volume exercise training and standard diet. Group 3 was trained for six weeks; after that, rats were trained with a volume reduction training protocol with standard diet. Group 4 was trained for six weeks; after that, rats were trained with a volume reduction training protocol with high fat diet. Group 5 was trained for six weeks and detrained for four weeks with high fat diet. Group 6 was trained for six weeks and detrained for four weeks with standard diet. After ten weeks, the level of HCN4 protein was assessed by Western Blotting for all groups.

Results: Our results have revealed that all experimental groups showed a reduction in HCN4 levels compared to the control group—the lowest HCN4 level for groups 2, 6, 3, 4, 5 and 1, respectively ($P \leq 0.05$). Besides, the result of electrocardiograph has demonstrated that the heart rate and RR interval in all experimental groups showed a reduction and elevation compared to the control group, respectively ($P \leq 0.05$).

Conclusion: Volume reduction training protocol in could restore sinus bradycardia effects rather than detraining after high-volume exercise training, but the effect of high fat diet should be investigated more.

Keywords: heart rate, sinus bradycardia, elite athletes, athletes' heart

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 1):36-47 (Persian).

Corresponding Author: Alireza Kashef- Shahid Rajaei Teacher Training University, Lavizan st, Tehran, Iran.
(E-mail: kashefalireza@gmail.com)

مقایسه‌ی تأثیر چهار هفته غذای پرچرب، کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی در پی شش هفته تمرین ورزشی بر عوامل برادری‌کاردی ناشی از ورزش در رت‌های ماده

علیرضا کاشف¹
فرشته شهیدی²
بهنام الدین جامعی³
مجتبی صالح پور⁴
عباسعلی گائینی⁵

چکیده

سابقه و هدف: برادری‌کاردی سینوسی ناشی از ورزش یکی از تغییرات اصلی در ورزش کاران است که با کاهش ضربان قلب ذاتی مرتبط است. هدف این تحقیق بررسی تأثیر چهار هفته تغذیه پرچرب، کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی به دنبال شش هفته تمرین با حجم بالا بر میزان پروتئین Hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-gated (HCN4) است.

مواد و روش‌ها: تعداد 30 رت ماده از نژاد اسپارگوداولی (شش هفته‌ای) به طور تصادفی، به شش گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول گروه کنترل ده هفته‌ای با تغذیه استاندارد، گروه دوم گروه تمرین با حجم بالای ده هفته‌ای با تغذیه استاندارد، گروه سوم گروه تمرین شش هفته‌ای و چهار هفته کاهش حجم تمرین با تغذیه استاندارد، گروه چهارم گروه تمرین شش هفته‌ای و چهار هفته کاهش حجم تمرین با تغذیه پرچرب، گروه پنجم گروه تمرین شش هفته‌ای و چهار هفته بی‌تمرینی با تغذیه پرچرب و گروه ششم گروه تمرین شش هفته‌ای و چهار هفته بی‌تمرینی با تغذیه استاندارد بودند. پس از پایان 10 هفته، میزان پروتئین HCN4 در تمامی گروه‌ها با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تمامی گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین HCN4، نسبت به گروه کنترل داشتند. هم‌چنین، به ترتیب، کم‌ترین میزان HCN4 برای گروه دوم، ششم، سوم، چهارم، پنجم و کنترل بود ($P \leq 0/05$). در همین راستا، نتایج الکتروکاردیوگرام نیز نشان داد که در تمامی گروه‌ها نسبت به گروه کنترل، ضربان قلب کاهش معنی‌دار و فاصله زمانی RR افزایش معنی‌دار داشت ($P \leq 0/05$).

استنتاج: کاهش حجم تمرین نسبت به بی‌تمرینی می‌تواند اثرهای برادری‌کاردی سینوسی ناشی از تمرین با حجم بالا را بهتر باز یابد کند؛ ولی تغذیه پرچرب به بررسی بیش‌تر نیاز دارد.

واژه‌های کلیدی: ضربان قلب، برادری‌کاردی سینوسی، ورزش کار نخبه، قلب ورزش کار

مقدمه

تأثیر مثبت فعالیت ورزشی بر سلامت در سال‌های اخیر، به‌خوبی نشان داده شده است (1). با این‌که همیشه

E-mail: kashefali@reza@gmail.com

مؤلف مسئول: علیرضا کاشف - تهران، لویزان، خیابان شهید شعبانلو، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی تهران

1. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران
2. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران
3. استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
4. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران
5. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران

تاریخ دریافت: 1402/5/29 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/6/5 تاریخ تصویب: 1402/7/9

ورزش کاران سالم ترین عضو جامعه شناخته می‌شوند، به صورت متناقضی، شیوع آریتمی‌ها در ورزش کاران، به خصوص در ورزش کاران مسن تر که سابقه‌ی ورزشی بیشتری دارند، بالا رفته است (2). سودمندی سلامت از فعالیت ورزشی با منحنی U شکل توصیف می‌شود (3،4). داده‌های موجود پیشنهاد می‌کنند که تمرینات طولانی مدت استقامتی شدید موجب می‌شود که مبتلا شدن به آریتمی افزایش یابد. اصطلاح قلب ورزش کار دقیقاً وضعیت سلامت غیرپاتالوژیک را شرح می‌دهد که در آن، قلب دستخوش تغییرات ساختاری و عملکردی در نتیجه‌ی سازگاری با ورزش پرشدت می‌شود (5،6). در این میان، برادی کاردی سینوسی شایع ترین تغییر الکتریکی در میان ورزش کاران استقامتی است. برادی کاردی سینوسی به ضربان قلب زیر 60 ضربه در دقیقه گفته می‌شود. اگرچه برادی کاردی معمولاً نوعی سازگاری فیزیولوژیک است، می‌تواند به وضعیتی پاتالوژیک تبدیل شود و باعث ایجاد سندرم سینوس بیمار در ورزش کاران بازنشسته شود. به صورت سنتی، سینوس برادی کاردی ناشی از تمرین را به سیستم عصبی خودکار و افزایش تون واگی که از تمرین ناشی می‌شود، نسبت می‌دهند. جوز و تیلور در سال 1969، در پژوهش‌های نخست و بحرینی و همکاران در سال 2016، نشان دادند با مسدود شدن فعالیت پاراسمپاتیک در قلب، ضربان قلب استراحت در ورزش کاران همچنان پایین تر است. نتایج این پژوهش‌ها پیشنهاد می‌کند که فعالیت بالای تون واگی دلیل ایجاد برادی کاردی استراحت در ورزش کاران نیست (9-7). دسوزا و همکاران در سال 2014، برای اولین بار، نشان دادند که برادی کاردی سینوسی ناشی از تمرین در رت به دلیل کاهش پروتئین کانال یونی HCN4 در گره سینوسی است (2). کانال Hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-gated (HCN4) نوعی کانال کاتیونی غیرانتخابی است که سدیم و پتاسیم را هدایت می‌کند و جریان ضربان ساز funny (I_f) را در قلب می‌سازد (10). نشان

داده‌اند که فعالیت ورزشی استقامتی به مدت 12 هفته، میزان پروتئین HCN4 را به همراه ضربان قلب استراحت کاهش می‌دهد. هم چنین، نشان داده‌اند که دوره‌ی چهار هفته‌ای بی‌تمرینی پس از این دوره‌ی ورزشی، میزان HCN4 و ضربان قلب استراحت را افزایش می‌دهد (11،2)؛ اما این افزایش نشان از پارادوکسی دارد که با واقعیت دوران بازنشستگی ورزش کاران حرفه‌ای همخوانی ندارد. در تحقیقی، نشان داده شد که ورزش کاران سابق نرخ معنادار بالاتری در کاشت ایمپلنت ضربان ساز را در مقایسه با بیماران بدون سابقه‌ی ورزشی با همان ریخت شناسی قلب دارند (12). امروزه، سبک زندگی مدرن به سمت بی‌حرکی و عادت‌های غذایی پرچرب تمایل دارد که این خود باعث افزایش چاقی و بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود (13،14). از طرف دیگر، نشان داده‌اند که مصرف غذای پرچرب بر تغییرات سیستم اتونوم نیز تأثیر می‌گذارد (13). از طرف دیگر، متناقض با این نتایج، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که یک دوره مصرف غذای پرچرب در رت‌های سالم غیرورزش کار، به کاهش ضربان قلب می‌انجامد (14). به‌طور دقیق مشخص نیست که تغذیه‌ی پرچرب چه تأثیری بر ضربان قلب دارد و از طرف دیگر، ورزش کاران پس از بازنشستگی، تغییرات اساسی در سبک تغذیه‌ی خود ایجاد می‌کنند. نشان داده‌اند که کیفیت غذای ورزش کاران پس از بازنشستگی، نسبت به قبل از آن، بسیار پایین می‌آید و بیش تر ورزش کاران از تغذیه‌ی پرچرب و فست‌فود استفاده می‌کنند (12،15). سبک زندگی ورزش کاران بعد از بازنشستگی تغییر می‌کند و تمرینات منظم ورزشی آن‌ها با شدت کمتری نسبت به دوره‌ی ورزشی، در اوقات فراغت انجام می‌شود (16). هم چنین، نشان داده‌اند که عادات غذایی ورزش کاران تغییر اساسی می‌کند و تمایل به مصرف غذاهای پرچرب بیشتر می‌شود. از این رو، برادی کاردی ناشی از ورزش در ورزش کاران بازنشسته ممکن است باعث کاشت ایمپلنت ضربان ساز شود و سندرم سینوس

بیمار را ایجاد کند. از طرف دیگر، باتوجه به اطلاعات کمی که در خصوص عوامل درگیر مرتبط با ماندگاری سینوس برادی کاردی ناشی از ورزش و تبدیل شدن آن به عارضه‌ای با خطر بالا در دسترس است، هدف این مقاله مقایسه تأثیر سبک زندگی‌های مختلف در دوران پس از ورزش حرفه‌ای، شامل تغذیه‌ی پرچرب، کاهش حجم تمرین ورزشی و بی‌تمرینی، بر عوامل برادی کاردی سینوسی، مانند میزان پروتئین HCN4 گره سینوسی و تغییرات الکتروکاردیوگرام است.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در مطالعه‌ی حاضر، 30 سر رت ماده از نژاد اسپارگودا ولی (با وزن 300 تا 325 گرم و سن شش هفته) از پژوهشکده‌ی رویان خریداری شد. رت‌ها در حیوان‌خانه‌ی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی و در شرایط آزمایشگاهی استاندارد، به مدت 10 هفته، نگهداری شدند. رت‌ها دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. غذا بر اساس گروه آن‌ها شامل غذای استاندارد و غذای پرچرب حیوانات آزمایشگاهی تهیه شده از پژوهشکده‌ی رویان بود و آب مصرفی آب شهری بود. تمام اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصل کار حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد و هم‌چنین، کد اخلاق پژوهش از پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی به شماره‌ی IR.SSRI.REC.1401.1555 اخذ شد.

گروه‌بندی رت‌ها: رت‌ها به صورت تصادفی، در شش گروه پنج‌تایی قرار گرفتند. گروه اول به‌عنوان گروه کنترل، به مدت 10 هفته، در قفس بودند و هیچ‌فعالی نکرده و در تمام این مدت، تغذیه‌ی استاندارد دریافت کردند (n=5). گروه دوم به مدت 10 هفته، پروتکل تمرینی یک را اجرا کردند و در تمام این مدت، تغذیه‌ی استاندارد گرفتند (n=5). گروه سوم به مدت شش هفته، پروتکل تمرینی یک را برای ایجاد سینوس برادی کاردی ناشی از ورزش اجرا کردند و در این شش هفته، تغذیه‌ی استاندارد داشتند. پس از پایان شش هفته،

به مدت چهار هفته، پروتکل تمرینی دو را با تغذیه‌ی استاندارد اجرا کردند (n=5). گروه چهارم به مدت شش هفته، پروتکل تمرینی یک را برای ایجاد سینوس برادی کاردی ناشی از ورزش اجرا کردند و در این شش هفته، تغذیه‌ی استاندارد داشتند. پس از پایان شش هفته، به مدت چهار هفته، پروتکل تمرینی دو را به همراه تغذیه‌ی پرچرب اجرا کردند (n=5). گروه پنجم به مدت شش هفته، پروتکل تمرینی یک را برای ایجاد سینوس برادی کاردی ناشی از ورزش اجرا کردند و در این شش هفته، تغذیه‌ی استاندارد داشتند. پس از پایان شش هفته، به مدت چهار هفته، با تغذیه‌ی پرچرب، بی‌تمرین شدند و در قفس، بدون هیچ‌گونه فعالیتی، نگهداری شدند (n=5). گروه ششم به مدت شش هفته، پروتکل تمرینی یک را برای ایجاد سینوس برادی کاردی ناشی از ورزش اجرا کردند و در این شش هفته، تغذیه‌ی استاندارد داشتند. پس از پایان شش هفته، به مدت چهار هفته، با تغذیه‌ی پرچرب، بی‌تمرین شدند و در قفس، بدون هیچ‌گونه فعالیتی، نگهداری شدند (n=5).

پروتکل‌های تمرینی: در این پژوهش، دو پروتکل تمرینی با هم مقایسه شدند. پروتکل ورزشی یک که از پژوهش‌های قبلی در این زمینه گرفته شد و با توجه به پژوهش حاضر، اصلاح شد و پروتکل تمرینی دو اصلاح شده پروتکل تمرینی یک بود که حجم آن کاهش یافته بود (2, 17-19). یک هفته قبل از شروع تمرینات، برای آشنایی رت‌ها با تردمیل و انجام تست تردمیل حداکثر سرعت، رت‌ها روی تردمیل با سرعت 10 متر بر دقیقه، به فعالیت پرداختند (2, 20). پروتکل تمرینی یک از نوع تمرین هوازی تناوبی بود که به مدت شش هفته، پنج روز در هفته، یک جلسه در روز و هر جلسه، 60 دقیقه با شیب صفر درجه روی تردمیل اجرا شد (2). هدف از اجرای این تمرین شبیه‌سازی تمرینات ورزشی ورزش کاران حرفه‌ای و نخبه برای ایجاد برادی کاردی سینوسی در رت‌ها بود. قبل از شروع هر جلسه، رت‌ها به مدت پنج دقیقه با شدت 40 تا 45

درصد حداکثر سرعت دویدن (V_{peak})، گرم کردند. پروتکل تمرینی یک شامل 10 تناوب تمرین و ریکاوری بود. بخش تمرین هر تناوب به مدت چهار دقیقه با شدت 85 تا 90 درصد V_{peak} و بخش ریکاوری هر تناوب به مدت دو دقیقه با شدت 50 درصد V_{peak} بود. پروتکل ورزشی دو تمام جزئیات پروتکل ورزشی یک را به طور کامل داشت و فقط تعداد روزهای تمرینی آن از پنج روز به سه روز در هفته کاهش یافت و بدین ترتیب بود: از نوع تمرین هوازی تناوبی بود که به مدت چهار هفته، سه روز در هفته، یک جلسه در روز و هر جلسه، 60 دقیقه با شیب صفر درجه روی تردمیل اجرا شد. این تمرین نیز شامل 10 تناوب تمرین و ریکاوری بود.

تست V_{peak}

این تست در طول پژوهش، یک بار قبل از شروع تمرینات و یک بار در انتهای هفته دهم اجرا شد. در این تست، رت‌ها در ابتدا، به مدت سه تا پنج دقیقه، روی تردمیل و سپس، به مدت پنج دقیقه، با سرعت شش متر در دقیقه، گرم شدند و در نهایت، سرعت تردمیل هر دو دقیقه، دو متر در دقیقه افزایش یافت. این تست ورزشی تا رسیدن به خستگی ادامه یافت؛ یعنی تا جایی که رت‌ها علی‌رغم تحریک خفیف، قادر به ادامه‌ی دویدن نباشند (21).

رژیم غذایی پرچرب

در گروه‌های چهار و پنج، پس از شش هفته تمرینات ورزشی با حجم بالا، به مدت چهار هفته، رژیم غذایی پرچرب جایگزین رژیم غذایی استاندارد شد. برای رژیم غذایی پرچرب، از غذایی با 60 درصد چربی استفاده شد. این غذا از پژوهشکده رویان اصفهان تهیه شد. غذای پرچرب 60 درصد چربی داشت و بقیه‌ی آن شامل پروتئین، کربوهیدرات، مواد معدنی و ویتامین‌های لازم برای رت‌ها بود. کالری دریافتی شامل 5/2 کیلوکالری گرم بود.

تأیید برادی کاردی سینوسی ناشی از ورزش

برای تأیید ایجاد سینوس برادی کاردی ورزشی پس از شش هفته، چهار رت به صورت جداگانه، از 30 رت استفاده شدند. دو رت به عنوان گروه کنترل، به مدت شش هفته، هیچ فعالیتی نداشتند و در قفس نگهداری شدند. دو رت به مدت شش هفته، پروتکل تمرینی یک را انجام دادند. هر چهار رت تغذیه‌ی استاندارد داشتند. پس از شش هفته، از این چهار رت برای بررسی و تأیید برادی کاردی سینوسی، الکتروکاردیوگرام گرفته شد و پس از آن، قربانی شدند و گره سینوسی خارج شد. میزان پروتئین HCN4 اندازه‌گیری شد.

ثبت الکتروکاردیوگرام

برای ثبت الکتروکاردیوگرام رت‌ها از نرم‌افزار الکتروکاردیوگرام سیستم PowerLab/8SP (ADInstruments, Inc.) استفاده شد. در این تحقیق، لید II از رت‌ها ثبت شد. رت‌ها ابتدا با تزریق داخل صفاقی کتامین (50 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس، در حالت بیهوشی، الکتروکاردیوگرام ثبت شد. فاصله‌ی زمانی RR و ضربان قلب از الکتروکاردیوگرام استخراج شد.

قربانی کردن رت‌ها

48 ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی، تمامی گروه‌ها برای قربانی شدن و برداشت بافت قلب و استخراج گره سینوسی برده شدند. رت‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (90 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس، قلب رت‌ها خارج شد و طبق دستورالعمل استاندارد، گره سینوسی استخراج شد.

اندازه‌گیری پروتئین به روش وسترن بلات

برای سنجش میزان پروتئین HCN4 از روش وسترن بلات استفاده شد. از آنتی‌بادی HCN4 به نام

Anti-HCN4 antibody با کد SHG 1E5 و لینک Q9Y3Q4 استفاده شد. وزن مولکولی HCN4 132 کیلودالتون است. روش وسترن بلات از دو مرحله الکتروفورز و انتقال تشکیل شده است. در مرحله الکتروفورز، پروتئین‌ها در طول ژل پلی آکرلیمید، بر اساس وزن مولکولی حرکت می‌کنند. مرحله انتقال پروتئین‌های اجرا شده در طول ستون عمودی ژل به غشای پی‌وی‌دی اف (PVDF) شرکت Bio-Rad انتقال داده شدند و آنتی‌بادی‌های ثانویه با غلظت مناسب، روی غشا ریخته شد. در نهایت، با نرم‌افزار Gel analyzer، باندهای ظاهر شده آنالیز شدند. سپس، مساحت زیر سطح منحنی برای هر فاکتور و کنترل بتا اکتین محاسبه شد و شدت نسبی با تقسیم مساحت زیر سطح منحنی هر فاکتور به مساحت زیر سطح منحنی بتا اکتین به دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتیجه‌ها و داده‌های این تحقیق به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون شاپیروویلک استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن تمامی داده‌ها، برای تعیین تفاوت بین متغیرها در چهار گروه، از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه (ANOVA-one way) و از آزمون تعقیبی شفه (Scheffe posthoc) استفاده شد.

برای حذف اثر وزن قلب، از آزمون تحلیل کوواریانس و آزمون تعقیبی بنفرونی استفاده شد. به منظور بررسی و تأیید سینوس برادی کاردی از آزمون t مستقل استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه 26 و Prism GraphPad نسخه 9 استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمامی داده‌ها $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأیید برادی کاردی سینوسی ناشی از ورزش: از فعالیت تمرینی با حجم بالا به مدت شش هفته (پروتکل

تمرینی یک) برای ایجاد مدل برادی کاردی سینوسی در رت‌ها استفاده شد و در چهار هفته بعدی، تأثیر مداخلات مختلف بر آن بررسی شد. از این رو، برای تأیید ایجاد مدل سینوس برادی کاردی، از چهار رت به صورت جداگانه، از شش گروه تحقیق، استفاده شد. دو رت به عنوان گروه کنترل، به مدت شش هفته، هیچ فعالیتی نداشتند و دو رت تمرین پروتکل یک را به مدت شش هفته، اجرا کردند. نتایج نشان داد که گروه تمرین کرده پس از شش هفته، در میزان پروتئین HCN4 و ضربان قلب، کاهش معنی‌دار و در فاصله RR، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شش هفته‌ای داشتند. این نشان‌دهنده وجود مدل سینوس برادی کاردی در رت‌ها پس از شش هفته تمرین با حجم بالا است. نمودار شماره 1 تغییرات پروتئین HCN4، فاصله RR و ضربان قلب را در شش هفته اول نشان می‌دهد.

تأیید اثربخشی تمرین ورزشی: نتایج نشان داد که V_{peak} در تمامی گروه‌ها نسبت به گروه کنترل، در پایان تمرین در هفته دهم و نسبت به قبل از شروع تمرین، افزایش معنی‌داری داشت ($P \leq 0/05$). این نشان می‌دهد که تمرین با حجم بالا توانسته است تأثیر معنی‌داری داشته باشد.

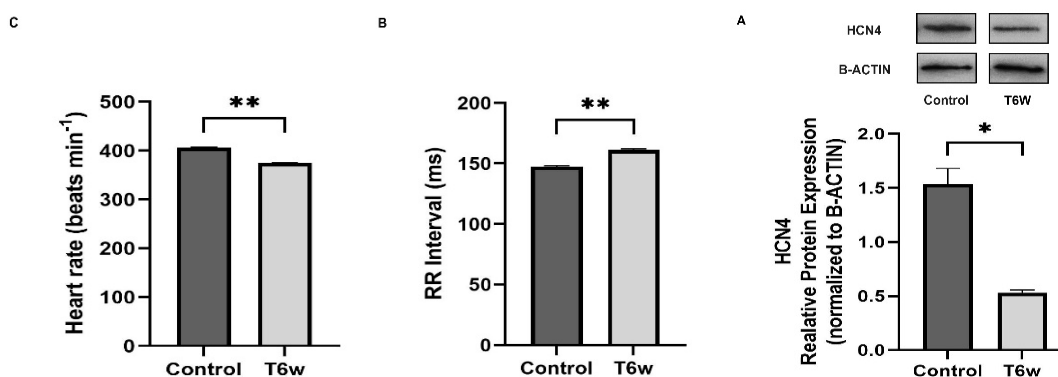
جدول شماره 1 متغیر V_{peak} را به تفکیک گروه‌ها، قبل و بعد از تمرین، نشان می‌دهد. تأثیر تمرین ورزشی با حجم بالا، کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی بر شاخص‌های عمومی: وزن و شاخص توده بدنی (BMI) رت‌ها در تمامی گروه‌ها، پس از 10 هفته تمرین ورزشی و مداخلات، نسبت به گروه کنترل و قبل از ورزش، افزایش یافت؛ اما این تغییرات افزایشی فقط در گروه پنج که چهار هفته بی‌تمرینی با تغذیه پرچرب داشت، معنی‌دار بود. جدول شماره 2 تغییرات وزن، قد و BMI را به تفکیک گروه‌ها، قبل و پس از تمرین، نشان می‌دهد.

تأثیر تمرین ورزشی با حجم بالا، تغذیه پرچرب، کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی بر میزان پروتئین HCN4 و شاخص‌های الکتروکاردیوگرام: نتایج بررسی میزان بیان نسبی پروتئین HCN4 (نرمال شده با

نسبی پروتئین HCN4 (نرمال شده با B-ACTIN) را در گروه‌ها نشان می‌دهد.

هم‌چنین، همسو با نتایج، میزان پروتئین HCN4، فاصله‌ی RR و ضربان قلب نیز تغییر کردند. در تمامی گروه‌ها، فاصله‌ی RR افزایش معنادار و ضربان قلب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. نمودار شماره 3 تغییرات فاصله‌ی RR و ضربان قلب در گروه‌ها را نشان می‌دهد. تأثیر وزن قلب بر میزان پروتئین HCN4: نتایج نشان داد که وزن قلب گروه یک (کنترل ده‌هفته‌ای) از همه گروه‌ها پایین‌تر بود و به ترتیب، گروه‌های شش، پنج، دو، سه و چهار بیشترین وزن قلب را داشتند. با توجه به نتایج آزمون کوواریانس، وقتی عامل وزن قلب کواریانس می‌شود، تغییرات HCN4 معنی‌دار نیستند. نمودار شماره 4 تغییرات وزن قلب رت‌ها را در گروه‌ها نشان می‌دهد.

B-ACTIN نشان داد که تمامی گروه‌ها نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشتند. در این میان، گروه دو که 10 هفته تمرین با حجم بالا با تغذیه معمولی داشت، بیش‌ترین کاهش را در میزان پروتئین HCN4 نشان داد. گروه‌های سه، چهار، پنج و شش نسبت به گروه دو، کاهش کم‌تری را نشان دادند که این تغییرات معنی‌دار بود. همان‌طور که نشان داده شد، پس از شش هفته تمرین با حجم بالا، میزان پروتئین HCN4 به دلیل بروز برادی کاردی سینوسی، کاهش زیادی دارد. در واقع گروه‌های سه، چهار، پنج و شش به ترتیب، به دلیل کاهش حجم تمرین، غذای پرچرب و بی‌تمرینی، در میزان پروتئین HCN4 افزایش نشان می‌دهند. این نشان از بهبود در سینوس برادی کاردی دارد. بیش‌ترین بازیابی در سینوس برادی کاردی به ترتیب، در گروه‌های پنج، چهار، سه و شش اتفاق افتاد. نمودار شماره 2 میزان



نمودار شماره 1: تأیید تأثیر شش هفته تمرین با حجم بالا برای مدل برادی کاردی سینوسی در رت‌ها بر الف) میزان نسبی پروتئین HCN4 (نرمال شده با B-ACTIN)، ب) فاصله‌ی RR و ج) ضربان قلب.

*: تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و تمرین با سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$.

** : تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و تمرین با سطح معناداری $P \leq 0/001$.

Control: گروه کنترل شش هفته‌ای (n=2).

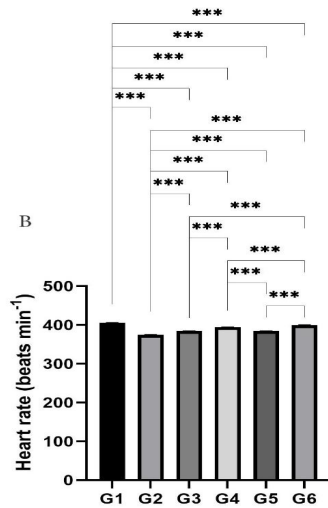
T6W: گروه تمرین شش هفته‌ای با پروتکل یک (n=2).

جدول شماره 1: تغییرات Vpeak (متر بر ثانیه) در تمامی گروه‌ها قبل و پس از تمرین

گروه	1	2	3	4	5	6
قبل از تمرین	22/0 ± 0/0	21/6 ± 2/1	22/0 ± 0/0	22/4 ± 3/2	20/0 ± 0/0	22/8 ± 1/0
پس از تمرین	24/0 ± 0/0	36/0 ± 0/0	38/4 ± 2/1	38/0 ± 5/4	29/2 ± 1/0	34 ± 0/0

جدول شماره 2: تغییرات وزن (گرم)، قد (سانتی متر) و BMI (gr/cm^2) قبل و پس از 10 هفته تمرین و مداخلات به تفکیک گروه‌ها.

	پس از تمرین			قبل از تمرین			گروه
	BMI	قد	وزن	BMI	قد	وزن	
	$0/54 \pm 0/03$	$19/6 \pm 1/5$	209 ± 25	$0/68 \pm 0/01$	$17/0 \pm 1/0$	197 ± 21	گروه 1
	$0/62 \pm 0/10$	$19/3 \pm 1/5$	231 ± 36	$0/55 \pm 0/08$	$19/0 \pm 1/0$	198 ± 24	گروه 2
	$0/61 \pm 0/05$	$19/0 \pm 1/0$	220 ± 2	$0/51 \pm 0/03$	$20/0 \pm 1/0$	205 ± 8	گروه 3
	$0/61 \pm 0/05$	$18/6 \pm 0/5$	226 ± 5	$0/51 \pm 0/03$	$19/6 \pm 0/5$	220 ± 27	گروه 4
	$0/67 \pm 0/10$	$19/3 \pm 1/1$	265 ± 26	$0/63 \pm 0/06$	$19/3 \pm 0/5$	220 ± 3	گروه 5
	$0/68 \pm 0/13$	$18/6 \pm 1/1$	233 ± 32	$0/54 \pm 0/06$	$19/6 \pm 0/5$	211 ± 26	گروه 6

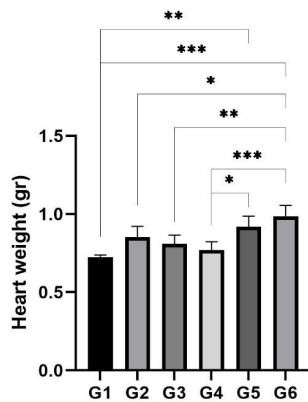


نمودار 3: تغییرات الف) فاصله RR و ب) ضربان قلب در تمامی گروه‌ها.

***: تفاوت معنی دار با سطح معنی داری $P \leq 0/001$.

G1: گروه 1، G2: گروه 2، G3: گروه 3،

G4: گروه 4، G5: گروه 5، G6: گروه 6.



نمودار شماره 4: تغییرات وزن قلب در تمامی گروه‌ها.

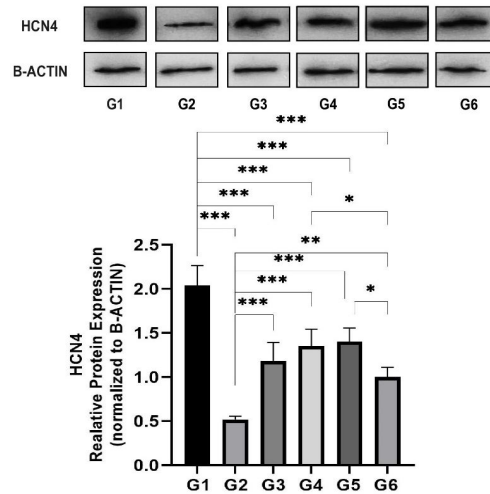
***: تفاوت معنی دار با سطح معنی داری $P \leq 0/001$.

** : تفاوت معنی دار با سطح معنی داری $P \leq 0/002$.

* : تفاوت معنادار با سطح معنی داری $P \leq 0/05$.

G1: گروه 1، G2: گروه 2، G3: گروه 3،

G4: گروه 4، G5: گروه 5، G6: گروه 6.



نمودار 2: میزان نسبی بیان پروتئین HCN4 (نرمال شده با B-ACTIN)

در تمامی گروه‌ها.

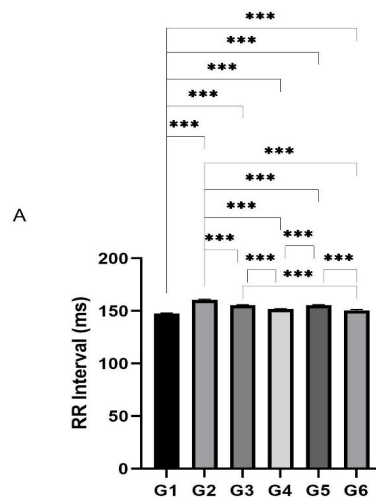
***: تفاوت معنی دار با سطح معنی داری $P \leq 0/001$.

** : تفاوت معنی دار با سطح معنی داری $P \leq 0/002$.

* : تفاوت معنادار با سطح معنی داری $P \leq 0/05$.

G1: گروه 1، G2: گروه 2، G3: گروه 3،

G4: گروه 4، G5: گروه 5، G6: گروه 6.



بحث

تحقیق حاضر با هدف بررسی ایجاد مدل برادی کاردی سینوسی در رت‌ها به منظور شبیه‌سازی قلب ورزش کاران نخبه و شبیه‌سازی دوره‌های متفاوت بازنشستگی و تأثیر آن بر برادی کاردی سینوسی و به‌ویژه، میزان پروتئین HCN4 بود. نتایج نشان دادند که پس از شش هفته تمرین با حجم بالا، ضربان قلب و میزان پروتئین HCN4 به طور معنی‌داری، کاهش و فاصله‌ی RR افزایش پیدا کرد. این به معنی ایجاد برادی کاردی سینوسی ناشی از ورزش در رت‌ها است. در ادامه، پنج مدل مداخله به مدت چهار هفته اجرا شد. میزان پروتئین HCN4 در گروهی که با همان حجم قبلی تمرین را ادامه داده بود، به‌طور چشمگیر و معناداری، کاهش بیش‌تری داشت. در چهار گروه دیگر، میزان پروتئین HCN4 بیشتر بود و نسبت به گروه کنترل، کاهش معناداری داشت. این نتایج نشان می‌دهد که پس از شش هفته تمرین با حجم بالا و ایجاد برادی کاردی سینوسی، ادامه دادن با همان حجم تمرین می‌تواند برادی کاردی سینوسی را بیش‌تر کند و کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی به همراه تغذیه معمولی و پرچرب، می‌تواند میزان پروتئین HCN4 و ضربان قلب را افزایش دهد.

در اولین قدم، نشان داده شد که پس از شش هفته تمرین با حجم بالا، برادی کاردی سینوسی ناشی از ورزش ایجاد می‌شود و کاهش ضربان قلب متناسب با کاهش میزان پروتئین HCN4 است. دسوزا و همکاران در سال 2014، نشان دادند که پس از 12 هفته تمرین با حجم بالا، سینوس برادی کاردی ناشی از ورزش در اثر کاهش پروتئین HCN4 ایجاد می‌شود (2).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در نصف این مدت، یعنی شش هفته، برادی کاردی در اثر کاهش پروتئین HCN4 در گره سینوسی رخ می‌دهد و تا هفته‌ی دهم نیز توسعه پیدا می‌کند. این یافته‌ی پراهمیتی است؛ زیرا می‌توان برای مدل کردن رت‌ها سریع‌تر اقدام کرد. این کاهش پروتئین HCN4 در گره سینوسی می‌تواند در نتیجه کاهش ساعت کلسیم باشد که خود ممکن است

در اثر کاهش بیان mRNA گیرنده‌های RyR2 در گره سینوسی رت‌های تمرین کرده با حجم بالا باشد. هم‌چنین، نشان داده‌اند که در رت‌های تمرین کرده، کانال‌های کم‌هدایتی فعال‌کننده‌ی سدیم (SK1) کاهش معنی‌داری دارد (23).

تأثیر کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی با تغذیه‌ی معمولی نیز پس از تمرین با حجم بالا بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که اثر کاهش ضربان قلب در اثر تمرین با حجم بالا معکوس می‌شود و ضربان قلب و میزان پروتئین HCN4 افزایش می‌یابد. هنوز مکانیسم دقیقی برای این معکوس شدن در دست نیست؛ اما نشان داده‌اند که در مقایسه گروه‌ها با یکدیگر، می‌توان به این نتیجه رسید که کاهش حجم تمرین می‌تواند بازسازی بهتری در گره سینوسی نسبت به گروه بی‌تمرینی و تمرین با حجم بالا داشته باشد. این احتمال وجود دارد که بازیافت کلسیم و فعالیت کانال‌های انتقال‌دهنده‌ی کلسیم و گیرنده‌های RyR در تمریناتی که حجم پایین‌تری دارند، اتفاق بیفتد (24). در تحقیقاتی که تأثیرات بی‌تمرینی بر ورزش کاران را بررسی کرده است، نشان داده‌اند که در یک دوره بی‌تمرینی، ضربان قلب استراحت، ضربان قلب حداکثر و ضربان قلب در آستانه‌ی لاکتات کاهش پیدا می‌کند. البته، میزان کاهش ضربان قلب به مدت بی‌تمرینی وابسته است (25، 26). هم‌چنین، تأثیر تغذیه‌ی پرچرب در کنار کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی بررسی شد. داده‌های کلینیکی نشان می‌دهند که تغذیه‌ی پرچرب می‌تواند باعث تغییر ساختار گره سینوسی شود و در نتیجه‌ی آن، به ایجاد آریتمی‌هایی مانند فیبریلاسیون دهلیزی منجر شود. بیش‌ترین افزایش معنی‌داری که در گروه بی‌تمرینی با تغذیه‌ی پرچرب دیده شد، لزوماً نشانه‌ی بهبود فیزیولوژیکی نیست. در تحقیقات بسیار کمی که در آن‌ها به بررسی رابطه‌ی تغذیه پرچرب، چاقی و میزان پروتئین HCN4 پرداخته‌اند، مشخص شده است که در رت‌های چاق مسن و هم‌چنین، رت‌هایی که به دلیل مصرف غذای پرچرب دچار

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با توجه به شبیه‌سازی مدل تمرینات ورزش کاران نخبه در مدل حیوانی، برادی‌کاردی‌سینوسی ناشی از ورزش در نتیجه کاهش میزان پروتئین HCN4 است. هم‌چنین، شبیه‌سازی نحوه‌ی زندگی بعد از دوران حرفه‌ای ورزش کاران بررسی شد. کاهش حجم تمرین و بی‌تمرینی به همراه تغذیه‌ی معمولی و پرچرب توانست میزان پروتئین HCN4 را افزایش دهد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، می‌توان گفت که کاهش حجم تمرین می‌تواند تأثیر بازسازنده‌ی خوبی روی ضربان قلب نسبت به بی‌تمرینی، بدون در نظر گرفتن تغذیه‌ی پرچرب، داشته باشد؛ اما تغذیه پرچرب با این که بیش‌ترین افزایش را در میزان پروتئین HCN4 نشان داده است، می‌تواند مسیر سلولی مولکولی پاتالوژیک را فعال کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از تمامی افرادی که در انجام این تحقیق اعم از تمرین‌دهی، نمونه‌برداری و آزمایش‌ها کمک کردند، تشکر و قدرانی می‌کنند.

هایپرتروفی بطن چپ شده‌اند، میزان پروتئین HCN4 افزایش معنی‌داری داشته است (28،27). از طرف دیگر، به‌خوبی نشان داده‌اند که مسیرهای سلولی و مولکولی هایپرتروفی فیزیولوژیک و پاتالوژیک به‌طور کامل، متفاوت‌اند. از این‌رو، مسیرهای سلولی درگیر در افزایش میزان پروتئین HCN4 در گروه بی‌تمرینی با تغذیه پرچرب و کاهش حجم تمرین با تغذیه‌ی پرچرب، احتمالاً با هم متفاوت هستند (29،13).

با تحلیل کواریانس و حذف اثر وزن قلب بر میزان پروتئین HCN4، تغییرات معنادار در تمامی گروه‌ها از بین رفت. تحقیقی که درباره‌ی برادی‌کاردی‌سینوسی و میزان پروتئین HCN4 در سگ‌ها انجام شده بود، به‌طور متناقض، نشان داد که پس از تمرینات ورزشی و کاهش ضربان قلب، میزان پروتئین HCN4 افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل دارد (30،11،2). در نگاه اول، به نظر می‌رسد که احتمالاً وزن قلب به‌صورت مستقیم، می‌تواند در این نتایج اثرگذار باشد؛ اما قلب‌های بزرگ‌تر ضربان قلب استراحتی کمتری دارند. رت‌ها در مقایسه با سگ‌ها، ضربان قلب استراحتی بسیار بالایی دارند (30).

References

- Johansson JK, Kujala UM, Sarna S, Karanko H, Puukka PJ, Jula AM. Cardiovascular health in former elite male athletes. *Scand J Med Sci Sports* 2016; 26(5): 535-543.
- D'Souza A, Bucchi A, Johnsen AB, Logantha SJ, Monfredi O, Yanni J, et al. Exercise training reduces resting heart rate via downregulation of the funny channel HCN4. *Nat Commun* 2014; 5: 3775.
- Eijssvogels TMH, Thompson PD, Franklin BA. The "Extreme Exercise Hypothesis": Recent Findings and Cardiovascular Health Implications. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2018; 20(10): 84.
- Merghani A, Malhotra A, Sharma S. The U-shaped relationship between exercise and cardiac morbidity. *Trends Cardiovasc Med* 2016; 26(3): 232-240.
- Carter JB, Banister EW, Blaber AP. Effect of endurance exercise on autonomic control of heart rate. *Sports Med* 2003; 33(1): 33-46.
- Machado Leite S, Freitas J, Campelo M, Maciel MJ. Electrocardiographic evaluation in athletes: 'Normal' changes in the athlete's heart and benefits and disadvantages of screening. *Rev Port Cardiol* 2016; 35(3): 169-177.
- Gourine AV, Ackland GL. Cardiac Vagus and Exercise. *Physiology (Bethesda)* 2019; 34(1): 71-80.

8. Boyett MR, D'Souza A, Zhang H, Morris GM, Dobrzynski H, Monfredi O. Viewpoint: is the resting bradycardia in athletes the result of remodeling of the sinoatrial node rather than high vagal tone? *J Appl Physiol* (1985) 2013; 114(9): 1351-1355.
9. Bahrainy S, Levy WC, Busey JM, Caldwell JH, Stratton JR. Exercise training bradycardia is largely explained by reduced intrinsic heart rate. *Int J Cardiol* 2016; 222: 213-216.
10. Novella Romanelli M, Sartiani L, Masi A, Mannaioni G, Manetti D, Mugelli A, Cerbai E. HCN Channels Modulators: The Need for Selectivity. *Curr Top Med Chem* 2016; 16(16): 1764-1791.
11. D'Souza A, Pearman CM, Wang Y, Nakao S, Logantha S, Cox C, et al. Targeting miR-423-5p Reverses Exercise Training-Induced HCN4 Channel Remodeling and Sinus Bradycardia. *Circ Res* 2017; 121(9): 1058-1068.
12. Yao PL, Laurencelle L, Trudeau F. Former athletes' lifestyle and self-definition changes after retirement from sports. *J Sport Health Sci* 2020; 9(4): 376-383.
13. Sordi CC, Lemos MD, Marocolo M, Chriguer RS, Mendes EL, Mota GR, Barbosa O. Exercise training reverse autonomic dysfunction and hypertension in rats fed with high-fat diet. *Motriz: Revista de Educação Física* 2017; 23.
14. Bai Y, Su Z, Sun H, Zhao W, Chen X, Hang P, Zhu W, Du Z. Aloe-Emodin Relieves High-Fat Diet Induced QT Prolongation via MiR-1 Inhibition and IK1 Up-Regulation in Rats. *Cell Physiol Biochem* 2017; 43(5): 1961-1973.
15. Altowerqi ZM, Abidin Z, Sayyid SM, Alkuhaili WA, Alsayegh MA. Dietary habits among former athletes in Saudi Arabia. *Indian J Public Health Res Dev* 2020; 11(03): 1069-1074.
16. Zadvorev SF, Krysiuk OB, Obrezan AG, Yakovlev AA. Effect of Personal History of Athletic Activity on the Clinical Course of Cardiovascular Diseases in Former Athletes. *Advances in Gerontology* 2019; 9(1): 91-97.
17. Jendzjowsky NG, DeLorey DS. Short-term exercise training augments sympathetic vasoconstrictor responsiveness and endothelium-dependent vasodilation in resting skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 303(3): R332-339.
18. 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. *EXCLI J* 2015; 14: 237-246.
19. Qiu J, Huang L, Davie AJ, Zhou S. Comparison of the Effects of Endurance Training on Alternate Days and on Consecutive 4 Days Each Week for 8 Weeks on the Abundance of PGC-1alpha, CaMKII, NRF-1, mtTFA, and COXIV Proteins in Rat Skeletal Muscle. *J Strength Cond Res* 2019; 33(11): 3136-3144.
20. Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max) and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280(3): H1301-1310.
21. Serra-Grima R, Puig T, Donate M, Gich I, Ramon J. Long-term follow-up of bradycardia in elite athletes. *Int J Sports Med* 2008; 29(11): 934-937.
22. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al.

- Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific reports* 2017; 7(1): 204.
23. Felix R, Calderón-Rivera A, Andrade A. Regulation of high-voltage-activated Ca²⁺ channel function, trafficking, and membrane stability by auxiliary subunits. *Wiley Interdiscip Rev Membr Transp Signal* 2013; 2(5): 207-220.
24. Li GR, Sun HY, Chen JB, Zhou Y, Tse HF, Lau CP. Characterization of multiple ion channels in cultured human cardiac fibroblasts. *PloS one* 2009; 4(10): e7307.
25. Park HY, Kim S, Kim Y, Park S, Nam SS. Effects of exercise training at lactate threshold and detraining for 12 weeks on body composition, aerobic performance, and stress related variables in obese women. *J Exerc Nutrition Biochem* 2019; 23(3): 22-28.
26. Petek BJ, Groezinger EY, Pedlar CR, Baggish AL. Cardiac effects of detraining in athletes: A narrative review. *Ann Phys Rehabil Med* 2022; 65(4): 101581.
27. Ashrafi R, Yon M, Pickavance L, Yanni Gerges J, Davis G, Wilding J, et al. Altered Left Ventricular Ion Channel Transcriptome in a High-Fat-Fed Rat Model of Obesity: Insight into Obesity-Induced Arrhythmogenesis. *J Obes* 2016; 2016: 7127898.
28. Zhang F, Hartnett S, Sample A, Schnack S, Li Y. High fat diet induced alterations of atrial electrical activities in mice. *Am J Cardiovasc Dis* 2016; 6(1): 1-9.
29. de Oliveira Sá G, Dos Santos Neves V, de Oliveira Fraga SR, Souza-Mello V, Barbosa-da-Silva S. High-intensity interval training has beneficial effects on cardiac remodeling through local renin-angiotensin system modulation in mice fed high-fat or high-fructose diets. *Life Sci* 2017; 189: 8-17.
30. Billman GE, Cagnoli KL, Csepe T, Li N, Wright P, Mohler PJ, et al. Exercise training-induced bradycardia: evidence for enhanced parasympathetic regulation without changes in intrinsic sinoatrial node function. *J Appl Physiol (1985)* 2015; 118(11): 1344-1355.