

The Effect of Eight Weeks of Aerobic Training on VO2max and BMI of Overweight and Obese Women in Different Types of NRF1 and NRF2 Genotypes

Maryam kamari

PhD student in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran.

*Masoud Rahmati

Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran.

Mehdi Boostani

Assistant Professor, Department of Physical Education, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

Abstract

Aim: The purpose of this study was to determine the effect of eight weeks of aerobic training on VO2max and BMI of overweight and obese women in different types of NRF1 and NRF2 genotypes.

Method: 23 inactive obese women (30-45 years old, body mass index > 30) voluntarily and purposefully participated in the research. At the beginning of the research the subjects participated in an aerobic training program for eight weeks. Measurements related to height, weight, body mass index and VO2max of the subjects were done before and after the training program. 24 hours after completing the training program, in order to extract DNA and observation of genetic profile by RFLP method, saliva samples were collected in special kits. Subjects were placed in three genotypic groups AA, AC and CC for NRF1 and one genotypic group AA for NRF2. To check the frequency of genotypes Chi-square statistical test and one-way ANOVA test and dependent T-test were used to check the difference between variables. **Results:** The results of analysis related to NRF1 gene showed that there is non-significant difference in VO2max ($p=0.854$ and $F=0.159$) and body mass index ($p=0.956$ and $F=0.036$) between groups. Also, the results related to the NRF2 gene showed that the subjects' VO2max increased significantly after eight weeks of aerobic training ($p=0.001$). **Conclusion:** The present study showed that only in the NRF2 AA genotype, the endurance capacity of subjects' increases due to aerobic exercise.

Keywords: NRF, VO2max, Body mass index, Aerobic training.

تاثیر هشت هفته تمرین هوازی بر VO2max و شاخص توده بدنی زنان دارای اضافه وزن و چاق در گونه‌های مختلف ژنوتیپ‌های NRF1 و NRF2

مریم کماری

دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

* مسعود رحمتی

استاد گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

مهدی بوستانی

استادیار گروه تربیت بدنی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

چکیده

هدف: هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین تاثیر هشت هفته تمرین هوازی بر VO2max و شاخص توده بدنی زنان دارای اضافه وزن و چاق در گونه‌های مختلف ژنوتیپ‌های NRF1 و NRF2 بود. **روش:** تعداد ۲۳ زن چاق و دارای اضافه وزن غیرفعال ۳۰-۴۵ ساله با میانگین شاخص توده بدنی بیشتر از ۳۰ به صورت داوطلبانه و هدفمند در پژوهش شرکت کردند. در آغاز پژوهش، آزمودنی‌ها در یک برنامه تمرین هوازی به مدت هشت هفته شرکت کردند. اندازه‌گیری‌های مربوط به قد، وزن، شاخص توده بدنی و VO2max آزمودنی‌ها، پیش و پس از برنامه تمرینی انجام شد. جهت استخراج DNA و رصد پروفایل ژنتیکی به روش RFLP، ۲۴ ساعت پس از پایان تمرینات، نمونه‌های بزاقی در کیت‌های مخصوص جمع‌آوری شد. پس از مشخص شدن پروفایل ژنتیکی، آزمودنی‌ها در سه گروه ژنوتیپی AA، AC و CC برای NRF1 و یک گروه ژنوتیپی AA برای NRF2 قرار گرفتند. برای بررسی فراوانی ژنوتیپ‌ها از آزمون آماری خی دو و برای بررسی تفاوت میان متغیرها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تی همبسته استفاده شد. سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به ژن NRF1 نشان داد که اختلاف معنی داری در میزان VO2max ($p=0.854$ و $F=0.159$) و شاخص توده بدنی ($p=0.956$ و $F=0.036$) بین گروه‌ها وجود ندارد. نتایج آزمون تی همبسته مربوط به ژن NRF2 نشان داد که میزان VO2max آزمودنی‌ها، پس از هشت هفته تمرین هوازی افزایش معنی داری داشت ($p=0.001$). **نتیجه‌گیری:** پژوهش حاضر نشان داد که تنها در ژنوتیپ NRF2 AA، ظرفیت استقامتی آزمودنی‌ها در اثر تمرین هوازی افزایش می‌یابد. **واژگان کلیدی:** NRF، VO2max، شاخص توده بدنی، تمرین هوازی.

* نویسنده مسئول: E mail: rahmati.mas@lu.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۹

مقدمه

میتوکندری به عنوان کانون متابولیسم عضلانی، یک اندامک بسیار پویا با تغییرپذیری بسیار زیاد است که علاوه بر تولید انرژی برای سلول، افت کیفیت آنها به بسیاری از بیماری‌ها منجر می‌شود (رفعتی و همکاران، ۲۰۲۲). به‌طور کلی، نقص در عملکرد میتوکندری باعث تولید استرس اکسایشی، افزایش کلسیم درون‌سلولی، افزایش تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و همچنین فعال شدن مسیرهای آپوپتوزی می‌شود (هالینگ^۱ و همکاران، ۲۰۱۷). اختلال عملکرد میتوکندری که با کاهش توده و یا عملکرد میتوکندری مشخص می‌شود، به دلیل اختلال در اکسیداسیون اسیدهای چرب، ترشح آدیپوکاین‌ها و هموستاز گلوکز، با افزایش احتمال ابتلا به چاقی همراه است (گائو^۲ و همکاران، ۲۰۱۰). از سوی دیگر، بایوژنز میتوکندریایی با تولید میتوکندری‌های جدید و افزایش تراکم آن‌ها می‌تواند این عوارض را به حداقل برساند (فهیم و عسکری، ۲۰۱۷). عامل اصلی که غالباً به‌عنوان نشانه‌ای از بایوژنز میتوکندریایی در نظر گرفته می‌شود، PGC-1 α ^۳ است که تنظیم‌کننده استرس اکسایشی و فعال‌کننده بایوژنز میتوکندریایی است (کانگ^۴ و همکاران، ۲۰۲۲). اگرچه PGC-1 α با کنترل رونویسی ژن‌ها، تأثیر بسیاری بر بایوژنز میتوکندریایی دارد، با این حال به تنهایی نمی‌تواند این نقش را ایفا کند. بایوژنز میتوکندریایی با افزایش رونویسی DNA در میتوکندری شروع می‌شود. این فرآیند عمدتاً توسط بیان ژن عامل نسخه برداری A میتوکندری (TFAM^۵) تنظیم می‌شود که بیان ژن میتوکندری را از طریق تعامل مستقیم با ژنوم میتوکندری و فاکتورهای ویژه رونویسی در میتوکندری تنظیم می‌کند (گلیزر^۶ و همکاران، ۲۰۰۵). TFAM، مسئول تولید پروتئین‌های زنجیره انتقال الکترونی میتوکندری است که اهداف پایین دست عوامل تنفسی هسته‌ای ۱ و ۲ (NRF1, 2)^۷ هستند (اسکارپولا^۸، ۲۰۰۲). TFAM ژن هدف NRF1 است که نقش مهمی در انسجام واکنشهای متقابل بین میتوکندری و هسته ایفا می‌کند (ایقبال^۹ و همکاران، ۲۰۱۳). NRF1 ها و مخصوصاً NRF1 محرکهای قوی بیان ژنهای هسته‌ای مورد نیاز برای تنفس میتوکندریایی هستند. NRF1 بیان چندین ژن رونویسی هسته‌ای که در عملکرد زنجیره‌ی تنفسی دخیل هستند و ژنهای زیر واحد سیتوکروم سی اکسیداز را با فعال کردن TFAM تنظیم می‌کند (طاهرزاده فرد، ۲۰۱۱). NRF1 نقش اصلی را به عنوان یک فاکتور رونویسی در تنظیم متابولیک ایفا کرده و بیان PPARG^{۱۰} را تحریک می‌کند. PPARG به شدت در بافت چربی بیان می‌شود و ژن‌های متعددی که در هموستاز متابولیک، متابولیسم انرژی، آدیپوژنز و همچنین التهاب نقش دارند را کنترل می‌کند (ما^{۱۱} و

^۱. Halling

^۲. Gao

^۳. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

^۴. Kong

^۵. Mitochondrial transcription factor A

^۶. Gleyzer

^۷. Nuclear respiratory factor 1, 2

^۸. Scarpulla

^۹. Iqbal

^{۱۰}. Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma

^{۱۱}. Ma



همکاران، ۲۰۱۸). NRF2 نیز در هماهنگی با NRF1، بایوژنز میتوکندریایی را تحریک می‌کند (هی و همکاران، ۲۰۰۷). نشان داده شده است که در معرض چربی قرار دادن سلولهای عضلانی باعث کاهش بیان NRF1 و NRF2 در زنان مبتلا به چاقی شدید در مقایسه با زنان لاغر می‌شود. علاوه بر این بیان ژنهای پایین دست NRF1 و NRF2 نیز الگوی عدم افزایش در مواجهه با چربی در شرایط چاقی را نشان می‌دهد (مپلس^۲ و همکاران، ۲۰۱۵). در مدل‌های حیوانی، از دست دادن NRF1 و NRF2 می‌تواند عواقب چشمگیری بر بیان ژنهای بافت چربی داشته باشد و محافظت در برابر چاقی را فراهم کند. به طور خاص، حذف ژن NRF2 در موش‌ها، آن‌ها را از چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب محافظت می‌کند. همچنین موش‌های فاقد ژن NRF2، افزایش مصرف انرژی را نشان می‌دهند که با افزایش فعالیت بدنی مرتبط نیست و مصرف اکسیژن را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، نشان داده شده است که حیوانات فاقد ژن NRF1 به طور خاص در بافت چربی لاغرتر از موش‌های نوع وحشی هستند (اسکندر^۳، ۲۰۱۶). همچنین گزارش شده است که افراد دارای ژنوتیپ GG ژن NRF2 مستعد چاقی و ابتلا به دیابت نوع دوم هستند. با این حال، ژنوتیپ AG ژن NRF2 و دیگر ژنوتیپ‌های ژن NRF1، بر ویژگیهای عملکرد استقامتی و تمرین‌پذیری در ورزشکاران کمک می‌کند (هی و همکاران، ۲۰۰۸). تمرینات استقامتی مداخله‌ی مهمی برای افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب به شمار می‌رود (کنودسن^۴ و همکاران، ۲۰۲۰). یکی از اجزای اصلی عضلات اسکلتی، میتوکندری است که انرژی مورد نیاز برای انقباض عضلانی را از طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو، به ویژه در طول تمرینات استقامتی، فراهم می‌کند. جای تعجب نیست که این نوع تمرینات همچنین بایوژنز میتوکندریایی را تحریک می‌کند، که توانایی میتوکندری را برای تبدیل انرژی بیوشیمیایی از مواد مغذی به ATP^۵ بهبود می‌بخشد. در این راستا، NRFها نقش کلیدی در تنظیم بایوژنز میتوکندریایی ایفا می‌کنند (لی و کای^۶، ۲۰۲۳). نشان داده شده است که NRFها می‌توانند در بایوژنز میتوکندریایی و افزایش فسفوریلاسیون اکسیداتیو تارهای عضلانی در پاسخ به تمرینات هوازی نقش مهمی داشته باشند (کینسومبون^۷ و همکاران، ۲۰۰۹). شواهد حاکی از آن است که ژن NRF-2، یک نقش عملکردی در عضلات اسکلتی در طول تمرینات ورزشی ایفا می‌کند. همچنین سطوح NRF1 mRNA و NRF2 به طور قابل توجهی به عنوان بخشی از سازگاری عضلات اسکلتی با تمرین ورزشی القا می‌شود (بار^۸ و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه بر این، زیرواحد $\beta 1$ ژن NRF2، با افزایش VO2max^۹ در پاسخ به تمرینات استقامتی مرتبط است

1. He

2. Maples

3. Schneider

4. Knudsen

5. Adenosine triphosphate

6. Li & Cai

7. Chinsomboon

8. Baar

9. Maximal oxygen consumption

(بوچارد^۱ و همکاران، ۲۰۰۰). پایه‌ی مولکولی این سازگاری‌ها در پاسخ به تمرینات هوازی، تغییر در بیان ژن‌های مربوطه است. این تغییرات باعث افزایش بایوژنز میتوکندریایی و فعال شدن آنزیم‌های میتوکندریایی می‌شود که در نتیجه‌ی این فعل و انفعالات، ظرفیت اکسیداتیو تارهای عضلانی افزایش می‌یابد (پنگام^۲ و همکاران، ۲۰۲۱). عملکرد ورزشی افراد تا حدود زیادی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی قرار می‌گیرد و تفاوت در توالی DNA افراد مسئول تمایز در صفات ورزشی است. از سوی دیگر به وضوح آشکار شده است که تمرین و فعالیت بدنی منظم و به ویژه تمرینات هوازی دارای اثرات مثبتی بر سلامتی، ترکیب بدنی و ظرفیت ورزشی در افراد است. برای مثال نشان داده شده است که تمرینات استقامتی و هوازی باعث بهبود ظرفیت و توان هوازی می‌شود (لین^۳ و همکاران، همکاران، ۲۰۲۱). همچنین گزارش شده است که تمرینات استقامتی منجر به کاهش وزن و شاخص توده بدنی می‌شود (سوری و همکاران، ۲۰۲۱)؛ بنابراین و با توجه به موارد ذکر شده، هدف از انجام پژوهش حاضر تعیین تاثیر هشت هفته تمرین هوازی بر VO2max و شاخص توده بدنی زنان دارای اضافه وزن و چاق در گونه‌های مختلف ژنوتیپ‌های NRF1 و NRF2 بود. از سوی دیگر بیشتر مطالعاتی که در این زمینه انجام شده اند بر روی تفاوت در اجرای ورزشکاران با توجه به تفاوت‌های ژنتیکی آنها متمرکز شده است، در حالی که در جوامع امروزی اضافه وزن و چاقی یکی از اصلی ترین مشکلات زندگی شهری است و این مشکل در زنان برجسته تر است، بر این اساس مطالعه بر روی زنان چاق می‌تواند در روشن کردن نقش تفاوت های ژنتیکی در مدیریت وزن و بهبود VO2max به عنوان شاخص عملکرد هوازی به دنبال تمرین هوازی، راه گشا باشد.

مواد و روش ها

آزمودنی ها

تحقیق حاضر به روش نیمه تجربی انجام شد. نمونه آماری پژوهش تعداد ۲۳ زن دارای اضافه وزن و چاق و غیر فعال ۳۰ تا ۴۵ ساله با میانگین شاخص توده بدنی بیشتر از ۳۰ بود که به صورت داوطلبانه و هدفمند در پژوهش شرکت کردند. آزمودنی‌ها هیچگونه سابقه بیماری (بیماریهای قلبی-عروقی، تنفسی، دیابت، سرطان و ..) و یا اختلالات اسکلتی-عضلانی نداشتند. همچنین سابقه مصرف سیگار، دارو یا مکمل و یا رژیم غذایی خاصی نداشتند. علاوه بر این همه آزمودنی‌ها چرخه قاعدگی منظمی داشتند و هیچکدام از آنها یائسه نبودند. پیش از شروع پژوهش از آنها رضایتنامه کتبی برای شرکت در تمام مراحل پژوهش دریافت و همچنین اندازه‌گیری‌های مرحله پیش آزمون مربوط به قد، وزن، شاخص توده بدنی و VO2max آزمودنی‌ها انجام شد. وزن افراد در وضعیت بدون کفش و با حداقل لباس بر حسب کیلوگرم با استفاده از ترازوی مجهز به قدسنج سکا (ساخت آلمان) با دقت کمتر از ۱۰۰ گرم و قد آنها نیز بدون کفش و بر حسب سانتیمتر با دقت ۰/۵ سانتیمتر اندازه گیری شد. نمایه توده بدنی (BMI^۴) آزمودنیها از طریق تقسیم وزن (کیلوگرم) بر مجذور قد (متر مربع) محاسبه شد.

¹. Bouchard

². Pengam

³. Lin

⁴. Body mass index



برای تعیین میزان VO2max آزمودنی‌ها به عنوان شاخص توان هوازی از آزمون بروس^۱، استفاده شد. این آزمون که بر روی نوارگردان انجام می‌شود، شامل ۷ مرحله ۳ دقیقه‌ای است. در آغاز نوارگردان با سرعت ۲/۷۴ کیلومتر در ساعت و با شیب ۱۰ درصد راه اندازی می‌شود. پس از هر ۳ دقیقه شیب تردمیل ۲ درصد افزایش می‌یابد و سرعت نیز با توجه به دستورالعمل آزمون افزایش می‌یابد. نشانه‌های خاتمه آزمون شامل هر نشانه‌ای (خستگی، تنگی نفس، خس خس سینه، گرفتگی عضلات پا...) است که با توجه به آن، فرد دیگر توان ادامه آزمون را نداشته باشد (بالادی^۲ و همکاران، ۲۰۰۷).

روش اجرای پژوهش: پس از اطمینان از آشنایی داوطلبان با شرایط تمرین که در یک جلسه توجیهی انجام شد، اندازه‌های مربوط به قد، وزن، شاخص توده بدنی و VO2max آزمودنی‌ها ثبت شد. سپس آزمودنی‌ها هشت هفته تمرین هوازی با تواتر ۵ جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه با شدت ۵۵ تا ۷۵ درصد ضربان قلب ذخیره انجام دادند. شدت تمرین در دو هفته اول با ۵۵ تا ۶۵ درصد ضربان قلب بیشینه، در دو هفته دوم با ۶۰ تا ۶۵ درصد ضربان قلب بیشینه و در چهار هفته پایانی با ۶۵ تا ۷۵ درصد ضربان قلب بیشینه بود. ۱۰ دقیقه برای گرم کردن و ۱۰ دقیقه برای سرد کردن در هر جلسه تمرینی در نظر گرفته شد. با توجه به هدف اصلی پژوهش که در آن به دنبال بررسی تاثیر تمرین هوازی بر VO2max و شاخص توده بدنی زنان دارای اضافه وزن و چاق در ژنوتیپ-های مختلف NRF1 و NRF2 بودیم؛ بنابراین برآن شدیم از مدل تمرین هوازی پیشرونده استفاده کنیم. اگرچه، به نظر می‌رسد به منظور کاهش وزن و کنترل ترکیب بدن، بهتر بود که از برنامه تمرین ترکیبی استفاده شود. همچنین با توجه به پروتکل‌های مختلف تمرینی که مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است یکی از چالش‌های مهم در این زمینه، انتخاب نوع برنامه تمرینی است. در این تحقیق با توجه به سن، جنسیت و همچنین سطح آمادگی جسمانی آزمودنی‌ها این پروتکل مورد استفاده قرار گرفت. مطابق فرمول کاروون^۳، ضربان قلب ذخیره برای مراحل مختلف تمرینی طراحی شد:

ضربان قلب استراحت + [درصد شدت مورد نظر * (ضربان قلب استراحت - ضربان قلب بیشینه)] = ضربان قلب ذخیره

در این فرمول، میزان ضربان قلب بیشینه از کم کردن سن هر آزمودنی از عدد ۲۲۰ بدست آمد (عمر^۴ و همکاران، ۲۰۲۲). ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، اندازه‌گیری‌های مربوط به قد، وزن، شاخص توده بدنی و VO2max آزمودنی‌ها همانند مرحله پیش آزمون انجام شد.

روش های آزمایشگاهی: ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی جهت استخراج DNA و رصد پروفایل ژنتیکی آزمودنی‌ها از هر کدام از آنها نمونه بزاقی به میزان ۳ میلی‌لیتر در کیت‌های مخصوص (ساخت شرکت ژن ورز)

¹. Bruce

². Balady

³. Karvonen formula

⁴. Omar

جمع آوری شد. نمونه‌گیری بزاقی در حالی انجام شد که از آزمودنی‌ها خواسته شده بود که حداقل به مدت دو ساعت هیچ‌گونه غذایی نخورند. پس از اضافه کردن ۳ میلی‌لیتر محلول نگهدارنده، ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول بزاق به یک فالتون اسریل انتقال داده شد. سپس، به مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر بافر لیزکننده به محلول بزاق اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. محلول مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد. در ادامه و پس از اضافه کردن میزان ۳۰ میکرولیتر آران ایزه A و ورتکس کردن آن، به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. در مرحله بعدی به محلول مورد نظر میزان ۴۰ میکرولیتر پروتیناز K اضافه شد و سپس به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد و یک ساعت در دمای اتاق رها شد. در ادامه میزان ۲ میلی‌لیتر محلول NaCl 6M به آن اضافه و ۲۰ ثانیه ورتکس شد و به مدت ۱۰ دقیقه روی یخ قرار داده شد. محلول به دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه و دور ۱۲۰۰۰ RPM سانتریفیوژ شد و به یک فالتون جدید منتقل گردید. در ادامه سانتریفیوژ با شرایط بالا انجام شد. در مرحله بعدی، محلول روی به یک فالتون جدید منتقل و ۷ میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد به آن اضافه و سپس فالتون چندین مرتبه سر و ته شد. در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه و دور ۱۰۰۰ RPM سانتریفیوژ انجام شد. در مرحله بعد، به میزان ۲ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ سرد به محلول اضافه و سانتریفیوژ به مدت ۳ دقیقه در دمای ۴ درجه و دور ۸۰۰۰ RPM انجام شد. سپس محلول روی دور ریخته شد و نمونه‌های DNA در دمای اتاق گذاشته شدند تا کامل خشک شوند. در مرحله بعدی به میزان ۵۰۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل به آنها اضافه شد. نمونه‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شده تا برای آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرند.

طراحی پرایمرها با استفاده از نرم افزار Oligo7 انجام شد. برای اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرها از نرم افزار Primer-blast موجود در مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI)^۱ استفاده شد. در ادامه، پرایمرها برای سنتز به شرکت سیناکلون سفارش داده شدند. با افزودن میزان مشخصی از آب به پرایمرهای دریافتی، که باید به غلظت ۱۰۰ پیکومولار رسانده شود، محلول اصلی مورد استفاده قرار گرفت. از این محلول رقت ۰/۰۵ تهیه و به عنوان محلول کاری مورد استفاده قرار گرفت. تمامی استوکه‌های به دست آمده در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در مرحله ست آپ کردن پرایمرها برای هر جفت از پرایمرهای طراحی شده، از روش PCR^۲ جهت یافتن بهترین دمای اتصال پرایمر استفاده شد. این تکنیک تنها با اتکا به شناخت توالی اسید نوکلئیکی یک ژن و سازمان‌یابی کنش آن، امکان می‌دهد که مقادیر چشمگیری به اندازه میکروگرم از توالی ویژه نوکلئوتیدی از هر بخش از ژنوم سنتز و تکثیر شود. PCR به معنی واکنش زنجیره پلیمر است. پس از اتمام PCR، محصول PCR طبق پروتکل شرکت سازنده، تحت تاثیر آنزیم برشی قرار خواهد گرفت تا در صورت وجود جهش (سایت‌برش) توسط آنزیم مذکور هضم شود. آنگاه این محصول روی ژل آگارز الکتروفورز و سپس با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی می‌شود تا باندها روی آن مشخص شود.

^۱. National Center for Biotechnology Information

^۲. Polymerase Chain Reaction



برای تعیین ژنوتیپ ها از روش RFLP^۱ استفاده شد. در این روش ابتدا نمونه ای از DNA با یک نوع آنزیم برشی، هضم می شود که در نتیجه تعداد زیادی قطعه با طول متفاوت به دست می آید سپس این قطعات با استفاده از ژل آگاروز از همدیگر جدا می شوند و در نهایت، شناسایی و تشخیص یک قطعه خاص با استفاده از پرایمرها انجام می شود. به این صورت که انجام هضم آنزیمی در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد و به صورت شبانه شامل یک میکرولیتر آنزیم، ۳ میکرولیتر محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر مخصوص و ۱۵ میکرولیتر آب دیونیزه بود. پس از هضم آنزیمی، محصول مورد نظر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲٪ جهت دیدن قطعات برش یافته الکتروفورز شد و سه نمونه با ژنوتیپ های مختلف برای توالی یابی به شرکت کدون فرستاده شدند.

پس از تعیین ژنوتیپ ها به روش RFLP و PCR، آزمودنی ها بر اساس پروفایل های ژنتیکی دسته بندی شدند. بر اساس تعیین ژنوتیپ ها، در نمونه بزاقی آزمودنی ها در مورد ژن NRF1، آلل های AA، AC و CC بیان شد و به همین خاطر آنها در سه گروه ژنوتیپی AA، AC و CC قرار گرفتند. همچنین در نمونه بزاقی آزمودنی ها در مورد ژن NRF2، تنها آلل AA بیان شد و به همین خاطر آزمودنی ها در یک گروه ژنوتیپی AA قرار گرفتند.

پژوهش حاضر در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد بررسی و با شناسه اخلاق IR.IAU.B.REC.1402.038 مصوب شد.

روش های آماری: برای بررسی توزیع طبیعی داده ها از آزمون شاپیروویک استفاده شد. همچنین برای بررسی فراوانی ژنوتیپ ها از آزمون آماری خي دو و برای بررسی تفاوت میان پیش آزمون و پس آزمون متغیرها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تی همبسته استفاده شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

مشخصات فیزیکی و فیزیولوژیک آزمودنی های پژوهش در پیش آزمون بر اساس فراوانی ژنوتیپ های آزمودنی ها در جدول ۱ نشان داده شده است. این ژنوتیپها در تعادل هاردی واینبرگ^۲ بودند ($p \geq 0/05$).

^۱. Restriction Fragment Length Polymorphism

^۲. Hardy-Weinberg

جدول ۱- ویژگی‌های آزمودنی‌ها در پیش آزمون و فراوانی ژنوتیپ‌های NRF1 و NRF2 (تعداد ۲۳ نفر).

NRF2			NRF1 genotype			ویژگی
CC	AC	AA	CC	AC	AA	
-	-	۲۳ (۱۰۰٪)	۶ (۲۶٪)	۸ (۳۴/۵٪)	۹ (۳۹/۵٪)	فراوانی ژنوتیپ (٪)
-	-	۱/۵۶ (۰/۶۸)	۱/۵۶ (۰/۳۵)	۱/۵۸ (۰/۵۴)	۱/۵۴ (۰/۸۹)	قد (متر)
-	-	۷۴/۱ (۰/۹۸)	۶۹/۲ (۵/۲)	۷۴/۱ (۷/۳)	۷۸/۵ (۱۳/۵)	وزن (کیلوگرم)
-	-	۳۰/۴۷ (۰/۵۳)	۳۰/۱ (۳/۲)	۲۹/۹ (۲/۸)	۳۳/۲ (۷/۹)	BMI (kg/m2)
-	-	۲۹/۴ (۵/۵)	۳۱/۳ (۵/۴)	۲۶/۹ (۴/۱)	۲۶/۹ (۶/۵)	VO2max (ml/kg/min)

داده‌های مربوط به ویژگی‌های آزمودنی‌ها به صورت میانگین (انحراف معیار) گزارش شده است.

همچنین مشخصات فیزیکی و فیزیولوژیک آزمودنی‌های پژوهش در پس آزمون بر اساس فراوانی ژنوتیپ‌های آزمودنی‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. این ژنوتیپ‌ها در تعادل هاردی واینبرگ بودند ($p \geq 0/88$).

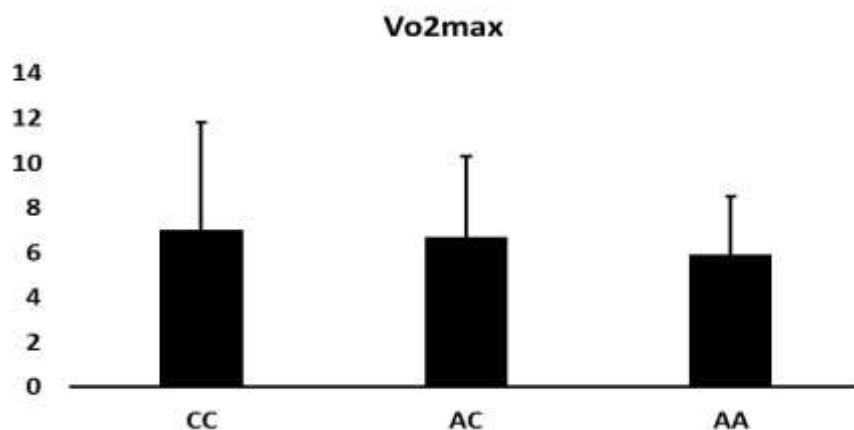
جدول ۲- ویژگی‌های آزمودنی‌ها در پس آزمون و فراوانی ژنوتیپ‌های NRF1 و NRF2 (تعداد ۲۳ نفر).

NRF2 genotype			NRF1 genotype			ویژگی
CC	AC	AA	CC	AC	AA	
-	-	۲۳ (۱۰۰٪)	۶ (۲۶٪)	۸ (۳۴/۵٪)	۹ (۳۹/۵٪)	تعداد (٪)
-	-	۱/۵۶ (۰/۶۸)	۱/۵۶ (۰/۳۵)	۱/۵۸ (۰/۵۴)	۱/۵۴ (۰/۸۹)	قد (متر)
-	-	۷۲/۳ (۰/۱۲)	۶۸/۳ (۲/۱)	۷۱/۳ (۵/۱)	۷۶/۴ (۹/۵)	وزن (کیلوگرم)
-	-	۳۰/۹ (۵/۶)	۲۸/۳۴ (۲/۹)	۳۰/۵ (۳/۹)	۳۳/۱ (۸/۷)	BMI (kg/m2)
-	-	۳۵/۹۵ (۶/۵)	۳۸/۳ (۵/۳)	۳۶/۵ (۵/۶)	۳۳/۹ (۷/۹)	VO2max (ml/kg/min)

داده‌های مربوط به ویژگی‌های آزمودنی‌ها به صورت میانگین (انحراف معیار) گزارش شده است.

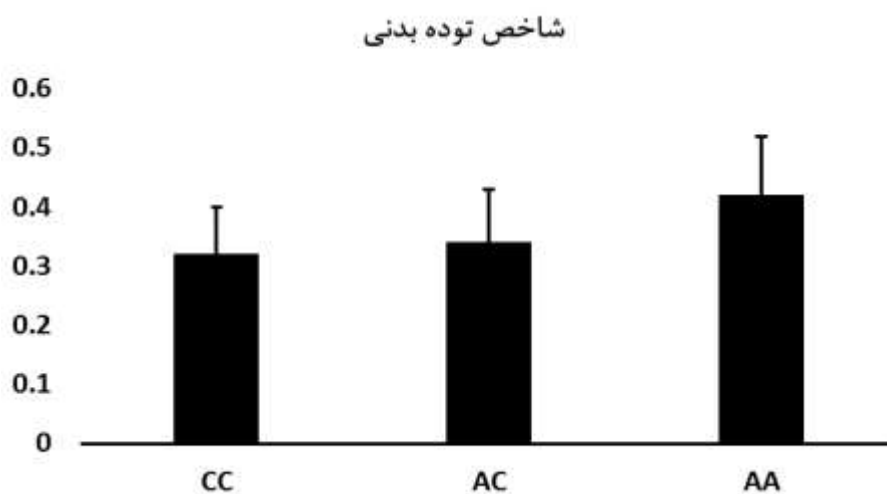


نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه مربوط به ژن NRF1 در سه گروه ژنوتیپی AA، AC و CC نشان داد که اختلاف معنی داری در میزان تغییرات VO_{2max} بین گروه ها از پیش آزمون تا پس آزمون وجود ندارد ($F = 0/159$ و $p = 0/854$) (شکل ۱).



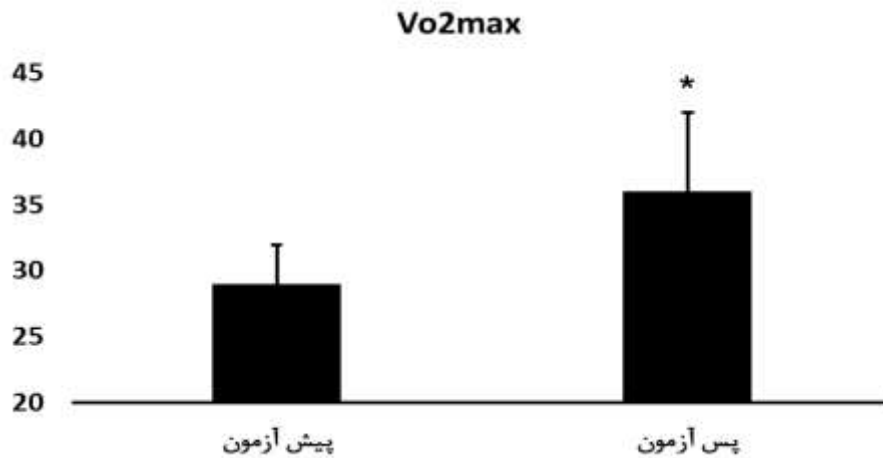
شکل ۱- میزان تغییرات VO_{2max} آزمودنی ها بر اساس ژنوتیپهای AA، AC و CC ژن NRF1 از پیش آزمون تا پس آزمون.

علاوه بر این نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه مربوط به ژن NRF1 در سه گروه ژنوتیپی AA، AC و CC نشان داد که اختلاف معنی داری در میزان تغییرات شاخص توده بدنی بین گروه ها از پیش آزمون تا پس آزمون وجود ندارد ($F = 0/036$ و $p = 0/956$) (شکل ۲).

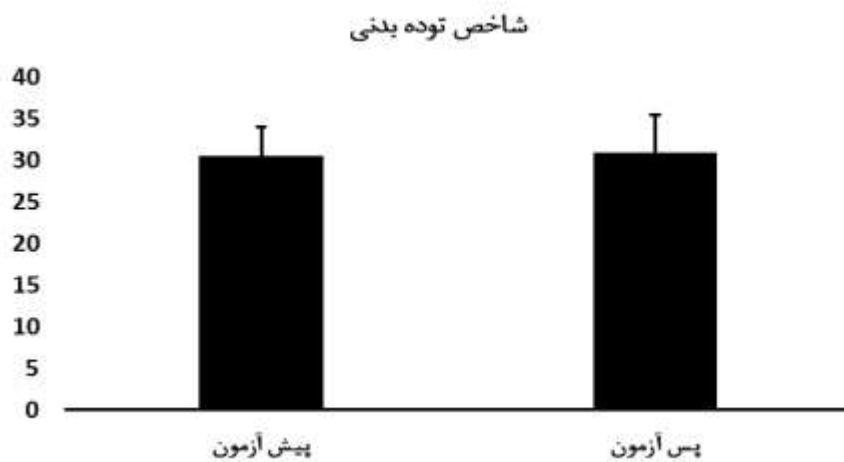


شکل ۲- میزان تغییرات شاخص توده بدنی آزمودنی ها بر اساس ژنوتیپهای AA، AC و CC ژن NRF1 از پیش آزمون تا پس آزمون.

از سوی دیگر نتایج آزمون تی وابسته مربوط به ژن NRF2 در گروه ژنوتیپی AA نشان داد که میزان VO2max آزمودنی‌ها، پس از هشت هفته تمرین هوازی افزایش معنی داری داشته است ($p=0/001$) (شکل ۳). با این حال شاخص توده بدنی آزمودنی‌ها در این مدت تغییر معنی داری نداشت ($p=0/1$) (شکل ۴).



شکل ۳- تغییرات VO2max آزمودنی‌ها پس از هشت هفته تمرین هوازی براساس ژنوتیپ AA ژن NRF2. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی دار ($p<0/05$).



شکل ۴- تغییرات شاخص توده بدنی آزمودنی‌ها پس از هشت هفته تمرین هوازی بر اساس ژنوتیپ AA ژن NRF2.

بحث و نتیجه گیری

بررسی وضعیت ژنتیکی نژادهای گوناگون در ژنهای مرتبط با سلامتی و عملکرد جسمانی یکی از ابزارهای نوین مطالعه جمعیت ها و تعیین استعدادهای بالقوه در جوامع مختلف است. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی بر VO2max و شاخص توده بدنی زنان دارای اضافه وزن و چاق در گونه‌های مختلف ژنوتیپ‌های NRF1 و NRF2 بود. در مورد ژن NRF1 در سه گروه ژنوتیپی AA، AC و CC، اختلاف معنی داری در میزان VO2max و شاخص توده بدنی بین گروه‌ها از پیش آزمون تا پس آزمون مشاهده نشد. از سوی



دیگر در مورد ژن NRF2 در گروه ژنوتیپی AA، میزان VO2max آزمودنی‌ها، پس از هشت هفته تمرین هوازی افزایش معنی داری داشت که یافته اصلی و مهم پژوهش حاضر است. با این حال شاخص توده بدنی آزمودنی‌ها در این مدت تغییر معنی داری نداشت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که بین افزایش VO2max آزمودنی‌ها با ژنوتیپ AA در ژن NRF2 ارتباط معنی داری وجود دارد. همراستا با این یافته‌ها، زد هی^۱ و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهشی به بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم های ژن NRF2 و ظرفیت استقامتی اندازه گیری شده قبل و بعد از یک برنامه تمرینی استقامتی ۱۸ هفته ای در مردان جوان چینی نشان دادند که ارتباط معنی داری میان افزایش ظرفیت استقامتی و پلی مورفیسم ژن NRF2 وجود دارد و پلی مورفیسم ژن NRF2 ممکن است برخی از تغییرات بین افراد در ظرفیت استقامتی را توضیح دهد (هی و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین نیر اینون^۲ و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی با عنوان ارتباط بین پلی مورفیسم NRF2 با وضعیت ورزشکاران استقامتی نشان دادند که ژنوتیپهای NRF2 در ورزشکاران نخبه استقامتی بیشتر از دوندگان سرعتی است (اینون و همکاران، ۲۰۰۹). علاوه بر این سیسزسیک^۳ و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که فراوانی ژنوتیپ A/G در ژن NRF2 در گروهی از پاروزنان استقامتی در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی بالاتر بود، که نشان از رابطه مثبت ژن NRF2 با ظرفیت استقامتی در این افراد دارد (سیسزسیک و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعات تجربی از این ایده حمایت می‌کنند که تنوع ژنتیکی در ژن NRF2 متعلق به گروهی از پلی مورفیسم‌هایی است که با عملکرد استقامتی مرتبط هستند (احمتوف^۴ و همکاران، ۲۰۱۶). از سوی دیگر، پیشنهاد شده است که عوامل ژنتیکی ممکن است تا ۵۰ درصد از تغییرپذیری افزایش توان هوازی ناشی از تمرین فردی را تحت تأثیر قرار دهد (بوئنو^۵ و همکاران، ۲۰۱۶). اعتقاد بر این است که افزایش در دسترس بودن اکسیژن به عضلات اسکلتی در طول تمرین به افزایش VO2max کمک می‌کند (هاگبرگ^۶ و همکاران، ۲۰۰۲).

نشان داده شده است که NRF2 نقش کلیدی در القای بسیاری از آنزیم های آنتی اکسیدانی و ژن های دفاعی متنوع در برابر استرس اکسیداتیو دارد (چن^۷، ۲۰۲۱). علاوه بر این، نشان داده است که بیان افزایش یافته NRF2، بیان واسطه های پیش التهابی مانند Cox-2، اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۶ و TNF- α را در مدل آزمایشگاهی کاهش می دهد (کههور^۸ و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین می توان فرض کرد که بیان بالاتر NRF2 برای دستیابی به عملکرد ورزشی بالاتر سودمند است، زیرا میزان استرس اکسیداتیو و پاسخ التهابی ناشی از تمرین ورزشی، فشار قابل توجهی برای توانایی ریکاوری پس از تمرین استقامتی است (نیکولایدیس^۹ و همکاران، ۲۰۰۸). علاوه بر این،

1. Z. He

2. Nir Eynon

3. Cieszczyk

4. Ahmetov

5. Bueno

6. Hagberg

7. Chen

8. Khor

9. Nikolaidis

سایت‌های NRF2 در ژن‌های کدکننده زیرواحد تولیدکننده ATP (ویرباسیوس^۱ و همکاران، ۱۹۹۳) مشاهده شده است که مطابق با نقش تعیین‌کننده و تثبیت‌شده زنجیره تنفسی میتوکندری در تولید انرژی مورد نیاز برای حفظ ورزش طولانی مدت و تاخیر در شروع خستگی عضلانی است (ایوان و لامبرت^۲، ۲۰۰۷).

اگرچه ورزش هوازی تأثیر عمیقی بر متابولیسم پروتئین دارد، اما در مورد تأثیر ورزش هوازی بر پروتئین NRF2 اطلاعات کمتری در دست است. بار^۳ و همکاران (۲۰۰۲) افزایش قابل توجهی در سطح پروتئین NRF2 عضلانی را ۱۲ تا ۱۸ ساعت پس از یک مسابقه شنا نشان دادند، که نشان دهنده فعال شدن سریع این پروتئین در پاسخ به ورزش استقامتی است (بار و همکاران، ۲۰۰۲). گزارش شده است که PPARGC1A^۴، که به عنوان واسطه اثرات مفید ورزش در نظر گرفته می‌شود، باعث افزایش دو تا سه برابری در بیان ژن NRF2 در پاسخ به ورزش استقامتی می‌شود (بار، ۲۰۰۴). یافته‌های پژوهش نیر اینون و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که به نظر می‌رسد مکانیسمی‌های مرتبط با ژنوتیپ‌های NRF2 وجود داشته باشد که توسط آن ورزش استقامتی باعث افزایش بیورژنر میتوکندری می‌شود، زیرا که نشان داده شده است که ژنوتیپ NRF2 AG، به جای ژنوتیپ AA، ممکن است باعث افزایش بیشتر در سطح پروتئین NRF2 و/یا mRNA شود، و بنابراین احتمالاً عملکرد استقامتی را بهبود می‌بخشد (اینون و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین آل‌های مختلفی کشف شده است که با عملکرد استقامتی در افراد نخبه مرتبط بوده است (برای^۵ و همکاران، ۲۰۰۹). در این میان، پلی مورفیسم PPARGC1A Gly482Ser که قبلاً مشخص شده است با عملکرد استقامتی افراد نخبه ورزشی مرتبط است (لوسی^۶ و همکاران، ۲۰۰۵)، ظرفیت اکسیداتیو عضلانی را از طریق NRF2 و سایر پروتئین‌های میتوکندری تعدیل می‌کند (ونگ^۷ و همکاران، ۲۰۰۴).

نتیجه‌گیری

به هر حال، داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که ظرفیت استقامتی زنان دارای اضافه وزن و چاق، تنها در ژنوتیپ NRF2 AA پس از هشت هفته تمرین هوازی افزایش می‌یابد. با این حال، تحقیقات بیشتر، مانند توالی‌یابی و همچنین مطالعات عملکردی، برای روشن شدن ساز و کارهای اصلی در زمینه رابطه میان ژنوتیپ NRF1 و NRF2 با عملکرد استقامتی و ترکیب بدنی در زنان چاق مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تمامی شرکت‌کنندگانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

^۱.Virbasius

^۲. Evans & Lambert

^۳. Baar

^۴. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

^۵. Bray

^۶. Lucia

^۷. Wang



References

- Ahmetov, I. I., Egorova, E. S., Gabdrakhmanova, L. J., & Fedotovskaya, O. N. (2016). Genes and athletic performance: an update. *Genetics and sports*, 61, 41-54. <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-03011-2>
- Baar, K. (2004). Involvement of PPAR γ co-activator-1, nuclear respiratory factors 1 and 2, and PPAR α in the adaptive response to endurance exercise. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63(2), 269-273. <https://doi.org/10.1079/PNS2004334>
- Baar, K., Wende, A. R., Jones, T. E., Marison, M., Nolte, L. A., Chen, M., Holloszy, J. O. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC- 1. *The FASEB journal*, 16(14), 1879-1886. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0367com>
- Balady, G. J., Williams, M. A., Ades, P. A., Bittner, V., Comoss, P., Foody, J. M., Southard, D. (2007). Core components of cardiac rehabilitation/secondary prevention programs: 2007 update: A scientific statement from the american heart association exercise, cardiac rehabilitation, and prevention committee, the council on clinical cardiology; the councils on cardiovascular nursing, epidemiology and prevention, and nutrition, physical activity, and metabolism; and the american association of cardiovascular and pulmonary rehabilitation. *Circulation*, 115(20), 2675-2682. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.180945>
- Bouchard, C., Rankinen, T., Chagnon, Y. C., Rice, T., Pérusse, L., Gagnon, J., Skinner, J. S. (2000). Genomic scan for maximal oxygen uptake and its response to training in the HERITAGE Family Study. *Journal of Applied Physiology*, 88(2), 551-559. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.88.2.551>
- Bray, M. S., Hagberg, J. M., Perusse, L., Rankinen, T., Roth, S. M., Wolfarth, B., & Bouchard, C. (2009). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 41(1), 34-72. DOI: 10.1249/MSS.0b013e3181844179
- Bueno, S., Pasqua, L. A., de Araujo, G., Eduardo Lima-Silva, A., & Bertuzzi, R. (2016). The association of ACE genotypes on cardiorespiratory variables related to physical fitness in healthy men. *PLoS One*, 11(11), e0165310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165310>
- Chen, Q. M. (2021). Nrf2 for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress. *Trends in Pharmacological Sciences*, 42(9), 729-744. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.06.005>
- Chinsomboon, J., Ruas, J., Gupta, R. K., Thom, R., Shoag, J., Rowe, G. C., Arany, Z. (2009). The transcriptional coactivator PGC-1 α mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. *Proceedings of the national academy of sciences*, 106(50), 21401-21406. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909131106>

Cieszczyk, P., Jerzy, E., & Ficek, K. (2012). The GABPB1 gene A/G polymorphism in polish rowers. *Journal of Human Kinetics*, 31, 59-63. DOI: 10.2478/v10078-012-0012-x

Evans, W. J., & Lambert, C. P. (2007). Physiological basis of fatigue. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 86(1), S29-S46. 10.1097/PHM.0b013e31802ba53c

Eynon, N., Sagiv, M., Meckel, Y., Duarte, J. A., Alves, A. J., Yamin, C., Oliveira, J. (2009). NRF2 intron 3 A/G polymorphism is associated with endurance athletes' status. *Journal of Applied Physiology*, 107(1), 76-79. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00310.2009>

Faheem, N. M., & El Askary, A. (2017). Neuroprotective role of curcumin on the hippocampus against the structural and serological alterations of streptozotocin-induced diabetes in Sprague Dawely rats. *Iranian journal of basic medical sciences*, 20(6), 690. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.8839>

Gao, C.-L., Zhu, C., Zhao, Y.-P., Chen, X.-H., Ji, C.-B., Zhang, C.-M., Guo, X.-R. (2010). Mitochondrial dysfunction is induced by high levels of glucose and free fatty acids in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular and cellular endocrinology*, 320(1-2), 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.01.039>

Gleyzer, N., Vercauteren, K., & Scarpulla, R. C. (2005). Control of mitochondrial transcription specificity factors (TFB1M and TFB2M) by nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) and PGC-1 family coactivators. *Molecular and cellular biology*, 25(4), 1354-1366. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.4.1354-1366.2005>

Hagberg, J. M., McCole, S. D., Brown, M. D., Ferrell, R. E., Wilund, K. R., Huberty, A., Moore, G. E. (2002). ACE insertion/deletion polymorphism and submaximal exercise hemodynamics in postmenopausal women. *Journal of Applied Physiology*, 92(3), 1083-1088. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00135.2001>

Halling, J. F., Ringholm, S., Olesen, J., Prats, C., & Pilegaard, H. (2017). Exercise training protects against aging-induced mitochondrial fragmentation in mouse skeletal muscle in a PGC-1 α dependent manner. *Experimental Gerontology*, 96, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.05.020>

He, Z., Hu, Y., Feng, L., Li, Y., Liu, G., Xi, Y., . Lucia, A. (2008). NRF-1 genotypes and endurance exercise capacity in young Chinese men. *British journal of sports medicine*, 42(5), 361-366. <https://doi.org/10.1136/bjsm.2007.042945>

He, Z., Hu, Y., Feng, L., Lu, Y., Liu, G., Xi, Y., McNaughton, L. (2007a). NRF2 genotype improves endurance capacity in response to training. *International journal of sports medicine*, 28(09), 717-721. DOI: 10.1055/s-2007-964913

Iqbal, S., Ostojic, O., Singh, K., Joseph, A. M., & Hood, D. A. (2013). Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. *Muscle & nerve*, 48(6), 963-970. <https://doi.org/10.1002/mus.23838>



- Khor, T. O., Huang, M.-T., Kwon, K. H., Chan, J. Y., Reddy, B. S., & Kong, A.-N. (2006). Nrf2-deficient mice have an increased susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Cancer research*, 66(24), 11580-11584. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-3562>
- Knudsen, N. H., Stanya, K. J., Hyde, A. L., Chalom, M. M., Alexander, R. K., Liou, Y.-H., Liu, S. (2020). Interleukin-13 drives metabolic conditioning of muscle to endurance exercise. *Science*, 368(6490), eaat3987. <https://doi.org/10.1126/science.aat3987>
- Kong, S., Cai, B., & Nie, Q. (2022). PGC-1 α affects skeletal muscle and adipose tissue development by regulating mitochondrial biogenesis. *Molecular Genetics and Genomics*, 297(3), 621-633. <https://doi.org/10.1007/s00438-022-01878-2>
- Li, H., & Cai, Z. (2023). SIRT3 regulates mitochondrial biogenesis in aging-related diseases. *Journal of Biomedical Research*, 37(2), 77. <https://doi.org/10.7555/JBR.36.20220078>
- Lin, Y.-N., Tseng, T.-T., Knuiman, P., Chan, W. P., Wu, S.-H., Tsai, C.-L., & Hsu, C.-Y. (2021). Protein supplementation increases adaptations to endurance training: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Nutrition*, 40(5), 3123-3132. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.12.012>
- Lucia, A., Gómez-Gallego, F., Barroso, I., Rabadán, M., Bandrés, F., San Juan, A. F., Earnest, C. P. (2005). PPARGC1A genotype (Gly482Ser) predicts exceptional endurance capacity in European men. *Journal of applied physiology*, 99(1), 344-348. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00037.2005>
- Ma, X., Wang, D., Zhao, W., & Xu, L. (2018). Deciphering the roles of PPAR γ in adipocytes via dynamic change of transcription complex. *Frontiers in endocrinology*, 9, 473. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00473>
- Maples, J. M., Brault, J. J., Shewchuk, B. M., Witczak, C. A., Zou, K., Rowland, N., Houmard, J. A. (2015). Lipid exposure elicits differential responses in gene expression and DNA methylation in primary human skeletal muscle cells from severely obese women. *Physiological genomics*, 47(5), 139-146. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00065.2014>
- Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., & Kouretas, D. (2008). The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports medicine*, 38, 579-606. doi.org/10.2165/00007256-200838070-00005
- Omar, Y., Ismail, I., & Harith, M. (2022). Heart rate monitoring system for patient with coronary heart disease with IoT: initial idea. DOI: <https://doi.org/10.32698/jhns.0090193>

Pengam, M., Amérand, A., Simon, B., Guernec, A., Inizan, M., & Moisan, C. (2021). How do exercise training variables stimulate processes related to mitochondrial biogenesis in slow and fast trout muscle fibres? *Experimental Physiology*, 106(4), 938-957. <https://doi.org/10.1113/EP089231>

Rafati, M., Bashiri, J., Jadidi, R. P., & Pourrazi, H. (2022). Effect of 12 weeks of HIIT and Q10 supplementation on soleus muscle mitochondrial biogenesis in high-fat diet-induced obese rats. *Journal of Sport & Exercise Physiology (JSEP)* 15(2). (Persian) <https://doi.org/10.22089/spj.2020.9305.2061>

Scarpulla, R. C. (2002). Transcriptional activators and coactivators in the nuclear control of mitochondrial function in mammalian cells. *Gene*, 286(1), 81-89. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(01\)00809-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(01)00809-5)

Schneider, K. S. (2016). Functional analysis of Nrf1 and Nrf2 transcription factors in adipose tissue. UC Irvine. <https://escholarship.org/uc/item/9xx4b4rs>

Soori, R., Asad, M., Barahoiejamar, Z., & Rezaian, N. (2021). Effect of endurance training with two different intensities on serum levels of adipolin and some of its regulating factors in sedentary men. *Journal of Sport and Exercise Physiology*, 13(2), 45-56. (Persian) <https://doi.org/10.52547/joeppa.13.2.45>

Taherzadeh-Fard, E., Saft, C., Akkad, D. A., Wieczorek, S., Haghikia, A., Chan, A., Arning, L. (2011). PGC-1alpha downstream transcription factors NRF-1 and TFAM are genetic modifiers of Huntington disease. *Molecular neurodegeneration*, 6(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-32>

Virbasius, J. V., Virbasius, C.-m. A., & Scarpulla, R. C. (1993). Identity of GABP with NRF-2, a multisubunit activator of cytochrome oxidase expression, reveals a cellular role for an ETS domain activator of viral promoters. *Genes & development*, 7(3), 380-392. [10.1101/gad.7.3.380](https://doi.org/10.1101/gad.7.3.380)

Wang, Y.-X., Zhang, C.-L., Yu, R. T., Cho, H. K., Nelson, M. C., Bayuga-Ocampo, C. R., . . . Evans, R. M. (2004). Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPAR δ . *PLoS biology*, 2(10), e294. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020294>