پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش
دورهٔ ۱۴، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۱
ص ص : ۱۵۱- ۱۴۱

اثر یک دوره تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α در بطن چپ رت‌های مبتلا به دیابت نوع۲

سیده سمیه سمایی[۱] – علی‌اصغر رواسی*[۲] – سیروس چوبینه [۳]- مریم دلفان[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، پردیس البرز دانشگاه تهران، تهران، ایران۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکدهٔ علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکدهٔ علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران۴. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

(تاریخ دریافت : ۱۷/ ۰۳/ ۱۴۰۱ ، تاریخ تصویب : ۰۹/ ۰۶ / ۱۴۰۱)

چکیده

تمرین هوازی منظم با حجم مناسب بیان ژن را در بطن چپ بیماران دیابتی بهبود می‌دهد. هدف از این تحقیق بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α در بطن چپ رت‌های مبتلا به دیابت نوع۲ بود. در پژوهش تجربی حاضر، ۱۸ سر موش آزمایشگاهی نر دیابتی به سه گروه شش‌تایی تقسیم شدند؛ کنترل سالم (NC)، کنترل دیابتی و تمرین هوازی (ET). دیابت به همه گروه‌ها جز کنترل سالم با تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه القا شد. گلوکز توسط روش گلوکز اکسیداز، انسولین با الایزا و شاخص مقاومت به انسولین با HOMA-IR اندازه‌گیری شد. تعیین بیان ژن‌های Sirt-1 وPGC-1α با PCR -Real time و مقایسه گروه‌ها با آزمون (One way anova) در سطح آلفای ۰/۰۵ انجام گرفت. شاخص مقاومت به انسولین و گلوکز در گروه ET نسبت به گروه DC به‌طور معناداری کمتر بود. بیان ژن Sirt-1 در گروه ET نسبت به DC افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱). بیان ژن PGC-1α در گروه ET نسبت به گروه DC افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۲). تمرین هوازی با تنظیم بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α در بطن چپ رت‌های دیابتی، احتمالاً بیوژنز میتوکندری را بهبود می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی

تمرین هوازی، Sirt-1، PGC-1α، مقاومت به انسولین.

* نویسندهٔ مسئول : تلفن : ۰۲۱۸۸۳۵۱۷۳۰ Email:aaravasi@ut.ac.ir

مقدمه

بیماری دیابت نوع ۲ نوعی سندروم متابولیکی است که با مشخصه بارز مقاومت به انسولین (۱) و افزایش قند خون سیستمی معرفی می‌شود (۲). به‌دلیل کاهش در تولید و اختلال در عملکرد انسولین مصرف گلوکز مختل می‌شود (۱). همراه با مقاومت به انسولین سوخت مواد قندی به‌کندی صورت می‌گیرد و به مدت ۷۲ ساعت در گردش خون باقی می‌مانند (۳). با تأخیر در اکسایش گلوکز، گلیکوزیله شدن پروتئین‌ها افزایش می‌یابد و موجب تولید محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته AGE و افزایش در تولید و آزادسازی رادیکال‌های آزاد به داخل خون می‌شود (۱). این مورد سبب عدم تعادل در نسبت اکسیدان به آنتی‌اکسیدان می‌شود و پراکسیداسیون لیپید ایجاد می‌کند (۲). به‌نظر می‌رسد پس از مقاومت به انسولین، تخریب میتوکندری هدف دوم دیابت باشد (۴). افزایش فشار اکسایشی موجب محدودیت در ارسال خون و اکسیژن به قلب می‌شود، به‌طوری‌که تجمع ROS میوسیت قلبی را مستعد آپوپتوز می‌کند (۳)، زیرا تولید و رهایش آنزیم‌های هوازی کاهش می‌یابد و عملکرد قلب تضعیف می‌شود (۵). همچنین اختلال در عملکرد انسولین سوخت‌وساز چربی را نیز بر هم می‌زند و سبب کاهش در فعالیت نیکوتین آمید دی‌نوکلئوتید و کاهش پروتئین کیناز بتا می‌شود و پروتئولیز سلولی ایجاد می‌کند (۶). متعاقب آن ترموژنز سلول مختل شده و به‌دلیل کاهش میتوفاژی (۷) مرگ سلولی در مایوسیت قلب حادث می‌شود (۸). از جمله عواملی که در بهبود هومئوستاز سلول و پیشگیری از تخریب میتوکندری نقش مهمی دارد، سیرتوئین از جمله شماره ۱ (Sirt-1) است (۲). در شرایط هایپرگلایسمی و ایجاد مقاومت به انسولین تولید سیرتوئین کاهش و پراکسیداسیون لیپید افزایش می‌یابد (۹). درحالی‌که در شرایط طبیعی فیزیولوژیک، Sirt-1 به‌عنوان حسگر انرژی با فعالیت دی استیلازی در همکاری با NAD^+ در مقابل حمله رادیکال‌های آزاد از تخریب غشای سلول جلوگیری می‌کند و دفاع آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۱۰). طبق نتایج برخی تحقیقات Sirt-1 مجموعه گسترده‌ای از تنظیم‌گرهای متابولیکی از جمله پروکسی زوم یک آلفا PGC-1α را فعال می‌کند که خود موجب هموار شدن مسیر بیوژنزکننده میتوکندری می‌شود (۱۱). در این خصوص عنوان شده PGC-1α محور اصلی مسیر بیوژنز میتوکندری است، زیرا در راه‌اندازی آنزیم‌های گلوکزی (۱۰) و بهبود فعالیت انسولین تأثیر بسزایی دارد (۱۲). از جمله نقش PGC-1α در همکاری با Sirt-1 تعدیل شاخص قند به‌وسیله تأثیر بر حرکت ناقل گلوکز GLUT-4 از سمت داخل غشا به سطح سلول است و مصرف قند را افزایش می‌دهد (۱۲). شایان ذکر است که دیابت به‌جز کاهش در ظرفیت ضداکسایشی سلول‌های میوسیت (۸)، ظرفیت میتوکندری سلول‌های عضله را نیز کاهش می‌دهد (۱۳). درحالی‌که فعال شدن PGC-1α موجب افزایش در فعالیت NAD^+ می‌شود که بر افزایش سوخت‌وساز لیپید و گلوکز اثرگذار بوده و بایوسنتز میتوکندری را افزایش می‌دهد (۱۴). فاکتور PGC-1α به‌وسیله راه‌اندازی فاکتورهای تنفس هسته‌ای شماره ۱و۲ (NRF-1,2)، سبب افزایش در عملکرد عامل رونویسی میتوکندری A می‌شود و با مهار نفوذپذیری غشای میتوکندری از تخریب هسته سلول جلوگیری می‌کند (۱۵). از طرف دیگر افزایش تولید رادیکال‌های آزاد تخریب میتوکندری را در بیماران دیابتی افزایش می‌دهد و اختلال قلب دیابتی ایجاد می‌کند (۱۶). با این حال طبق بررسی‌های بالینی مختلف انجام تمرین هوازی در به‌کارگیری حجم متفاوت عضله بر راه‌اندازی پروتئین کیناز وابسته به AMP و نیکوتین آمید فسفوریل

1. Nicotin amide dinucleotide

ترانسفراز [1] حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد و سوخت‌وساز سلولی را تنظیم می‌کند (۱۴). در این خصوص عنوان شده است انقباض مکرر عضله به‌طور مستقیم بر فعالیت گلیکوژن سینتتاز و پروتئین کیناز بتا گیرنده‌های انسولینی را فعال می‌کند (۱۷) و از راه غیرمستقیم با آزادسازی کلسیم از گیرنده‌های رایانودین (RYR) می‌تواند عملکرد گیرنده‌های انسولینی را افزایش دهد (۱۲). از طرف دیگر، در زمان ریکاوری پس از تمرین تولید متسع‌کننده‌های عروقی از جمله NO را افزایش می‌دهد و با دخالت P38-MAPK و افزایش در اتصال کلسیم به کالمودولین و سیگنال‌دهی مسیر سیکلواکسیژناز ۳ (SOX-3 [2])، سوخت‌وساز قند و چربی را تعدیل می‌کند (۱۲). ازاین‌رو به انجام ورزش منظم در کنار سایر مراحل درمانی جهت بهبود حساسیت به انسولین و تنظیم شاخص گلایسمیک توجه معطوف شده است (۱۸). بر اساس مطالعات مختلف، اگر تمرین از شدت مناسبی برخوردار باشد، در راه‌اندازی آنزیم‌های هوازی و پیشگیری از اکسایش میتوکندری مؤثر است (۱۹). همچنین تمرین هوازی با شدت متوسط مسیر تری کربوکسیلیک اسید (TAC) را به‌کار می‌گیرد و تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در سلول‌های مایوسیت (۱۹) و عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد (۲۰). اما هنوز در خصوص تأثیر شدت و مدت تمرین بر بایوسنتز میتوکندری در نمونه‌های دیابتی مطالعات متناقضی وجود دارد (۲۱) و برای به‌دست آوردن نتایج قطعی‌تر به پژوهش‌های گسترده‌تری نیاز است. با توجه به اهمیت موضوع در این زمینه، پژوهش حاضر در نظر دارد برای اولین بار به بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی در بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α در بطن چپ رت‌های مبتلا به دیابت نوع۲ بپردازد.

روش کار

در پژوهش تجربی حاضر که با مدل حیوانی انجام گرفت، ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور ایران خریداری و به آزمایشگاه حیوانات علوم پزشکی در همان محل انتقال داده شدند. سن حیوانات ۸ هفته با میانگین وزن ۱۰±۲۷۵ گرم بود. تمام مراحل مختلف پژوهش طبق رعایت اصول اخلاقی، مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مستخرج از دستورالعمل هلیسنگی، تصویب کد اخلاق IR.SSRC.REC.1398.013 اخذشده از دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفت. حیوانات به‌طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: ۱. کنترل سالم NC (n=6)، ۲. کنترل دیابتی DC (n=6) و ۳. تمرین دیابتی ET (n=6). حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف ساخت شرکت رازی راد، در محیطی با دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد با چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند. گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی، در پروتکل تمرین شرکت نداشتند، اما برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته و در هر جلسه به مدت ۵ دقیقه برای سازگاری با محیط روی نوار گردان بی‌حرکت قرار داده شدند. موش‌های گروه تمرین دیابتی به مدت ۴ هفته و ۵ جلسه در هفته برنامه تمرین هوازی را انجام دادند.

روش اجرای تحقیق

دیابت در همه موش‌ها به‌جز گروه کنترل سالم با تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) ساخت شرکت ZellBio آلمان پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه القا شد. تزریق درون‌صفاقی (IP) مقدار ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت حل‌شده در بافر ۰/۰۵ مول سیترات با PH = ۴/۵ انجام گرفت. گسترش هایپرگلایسمی با افزایش مقدار گلوکز در خون پس از

1. Nicotine amide phosphoryl transferase

2. cyclooxygenase-3

گذشت ۷۲ ساعت از تزریق، با اندازه‌گیری قند خون ناشتا توسط دستگاه گلوکومتر ۱-۰(OK Biotech Co. Japan) از ورید دم موش‌ها به‌دست آمد. به‌منظور تأیید دیابتی شدن سطح قند خون ناشتا بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در نظر گرفته (۲۲) و تأیید شد.

روش اجرای تمرین

پس از القای دیابت، برای اجرای پروتکل تمرین، ابتدا ارزیابی توان هوازی انجام گرفت. پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۰/۰۳ m/s با شیب صفر درجه، سرعت دستگاه تردمیل در هر ۳ دقیقه یک‌بار به ۱/۸ m/mim افزایش یافت. حداکثر سرعت بیشینه برای دویدن رت‌ها در زمانی بود که حداقل ۱/۵ دقیقه نتوانند با سرعت ثابت بدوند و بلافاصله در افزایش سرعت قادر به دویدن نباشند (۲۳)، تعیین شد. ازاین‌رو با توجه به سرعت بیشینه دویدن، VO2 max رت‌ها به‌دست آمد (۲۴) و زمان تمرین با توجه به ۶۰ درصد سرعت بیشینه محاسبه شد و انجام گرفت. برنامه تمرین هوازی عبارت بود از ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با ۳۰ درصد سرعت بیشینه، ۶ دقیقه دویدن با ۶۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول (۹ متر بر دقیقه)، به ۱۲ دقیقه دویدن با شدت ۶۰ درصد سرعت بیشینه در پایان هفته چهارم رسید (۲۳) (جدول ۱).

جدول ۱. اجرای پروتکل تمرین هوازی

برنامه تمرین در هفته	اول	دوم	سوم	چهارم
سرعت بیشینه در زمان رسیدن به VO2max (**ml/min**)	۱۵	۱۸	۲۰	۲۰
زمان تمرین (**min**)	۶	۸	۱۰	۱۲
سرعت (**m/min**)	۹	۱۰	۱۰	۱۲

روش استخراج نمونه و سنجش ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های آزمایشگاهی با تزریق درون‌صفاقی کتامین ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شدند. سپس خون به‌طور مستقیم از بطن چپ حیوانات دریافت و در لوله‌های حاوی هپارین ریخته شد. پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰ متر بر دقیقه در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس بلافاصله بافت بطن چپ استخراج و در نیتروژن ۲۰- منجمد شد و برای سنجش بیان ژن در فریزر ۸۰- نگهداری شد. سنجش بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α توسط روش Realtime-PCR با Premix Extaqit و از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. اندازه‌گیری بیان این ژن به‌صورت توأمان با هریک از ژن‌ها توسط کیت Mir nasy mini kit 50 (qiagene ساخت آلمان) طبق دستورالعمل Vandesompele و همکاران (۲۰۰۲) انجام گرفت (۲۵). برای استخراج RNA مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت منجمد قلب حیوان هموژن شده و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت، محلول RNA از آن استخراج شد و با آنزیم DnaseI از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاکسازی شد. از هر کدام از نمونه‌ها، ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA استفاده شد. مقدار نسبی بیان ژن‌های مذکور در قلب با کمک پرایمرهای اختصاصی آنها اندازه‌گیری شدند. نسبت جذبی ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانوگرمی برای تمام نمونه‌های استخراج‌شده ۱/۸ تا ۲ بود. برای بررسی کیفیت RNA استخراج‌شده از روش الکتروفروز و ژل آگارز۱ درصد استفاده شد. پیش از سنجش cDNA برای اطمینان از نبود

DNA در نمونه استخراج‌شده DNAs treatment (thermos scientific، ساخت آلمان) استفاده شد. سنتز cDNA با کیت transe criptor first strand cDNAsinthesis kit (roch، ساخت آلمان) انجام گرفت (۲۶). برنامه Real time PCR به‌وسیله دستگاه (Rotrogene 6000, corbet" ساخت آلمان انجام گرفت. این برنامه بر اساس SYBER Green (ampligon، ساخت دانمارک) با دور ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، بلافاصله ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه با پرایمر طراحی‌شده (ساخت نیکا زیست ژن ایران) انجام گرفت. اندازه‌گیری گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس‌آزمون) و مقادیر انسولین از روش الایزا (Crystal chem ساخت کانادا) با ضریب تغییر ۰/۰۵ و حساسیت ۱ ml/dl بررسی شد. شاخص مقاومت به انسولین نیز به روش HOMA-IR از طریق فرمول زیر اندازه‌گیری شد:

HOMA-IR = (انسولین ناشتا)] µU/mL] × ناشتا گلوکز) 22.5/ [(mmol/L)]

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

بخش مربوط به آمار توصیفی با شاخص پراکندگی انحراف معیار و نمودار انجام گرفت. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیروویلک بررسی شد. به‌منظور بررسی اختلافات بین گروهی از آزمون آنووای یکراهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری ۰/۰۵انجام گرفت. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Graph pad prism نسخه ۸ انجام شد.

نتایج

نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیروویلک انجام و تأیید شد. در جدول ۲ تغییرات وزن، شاخص گلوکز و انسولین به تفکیک گروه‌های پژوهش گزارش شده است.

جدول ۲. مقادیر وزن و شاخص گلوکز در همه گروه‌ها

متغیر	گروه‌ها		
	NC	DC	ET
وزن (**گرم**)	۲۷۰/۵±۵/۰۳	۲۶۶/۷±۱۳/۴۵	۲۷۵/۷±۹/۸۰
گلوکز (**میلی‌گرم بر دسی‌لیتر**)	۱۱۰/۲۲±۰/۱۹	۴۹۹/۸±۱۶/۱۲	۲۳۵/۹±۱۵/۴۰*
انسولین (**میلی واحد بر دسی‌لیتر**)	۸۰/۵۳±۰/۷*	۵۱/۶۷±۰/۰۶	۶۹/۳±۰/۱۸*

اعداد به شکل میانگین± انحراف استاندارد (SD) ارائه شده‌اند،* نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی

جدول ۳. نتایج آزمون آنووای یکراهه در ارائه تفاوت‌های Sirt-1 وPGC-1α

آماره	منبع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین تفاوت	مقدار F	اندازه اثر	سطح معناداری
Sirt-1	اثر تمرین	۴۹/۷۸	۲	۲۴/۸۹	۱۵	۰/۶۷۱	۰/۰۰۱*
PGC-1α	اثر تمرین	۲۳/۷۰	۲	۱۱/۸۵	۱۵	۰/۶۳۹	۰/۰۲*

* نشانه معناداری در سطح ۰/۰۵ است.

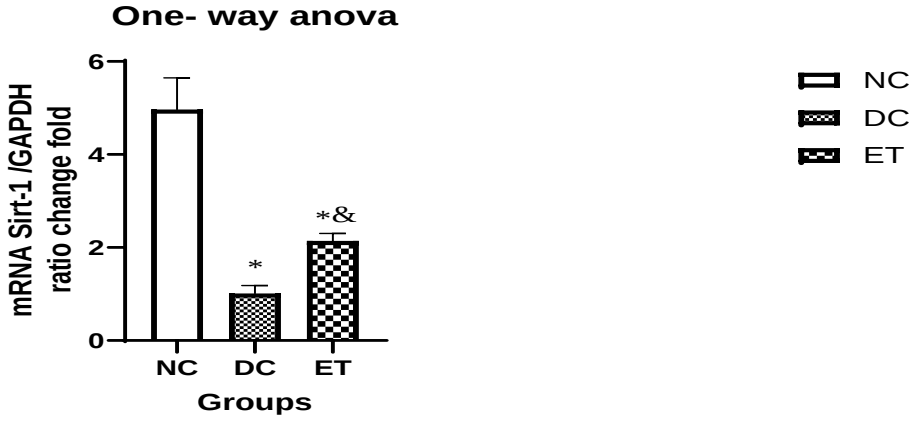
جدول ۴. یافته‌های آزمون توکی به‌منظور بررسی جایگاه تفاوت‌های گروهی

متغیر	گروه (I)	گروه (J)	سطح معناداری
Sirt-1	NC	DC	۰/۰۰۱*
		ET	۰/۰۰۳*
	DC	ET	۰/۰۰۱*
PGC-1α	NC	DC	۰/۰۰۱*
		ET	۰/۰۰۶*
	DC	ET	۰/۰۲*

*معناداری نسبت به گروه کنترل سالم، & معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد گزارش شده است. تعداد حیوانات در هر گروه، ۶ سر است.

طبق اطلاعات جدول شاخص مقاومت به انسولین و گلوکز در گروه ET نسبت به گروه DC به‌طور معناداری کمتر بود. بیان ژنSirt-1 در گروهET نسبت به DC افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱) (شکل ۱). بیان ژن PGC-1α در گروه ET نسبت به گروه DC افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۲) (شکل ۲). بر این اساس می‌توان گفت که تمرین هوازی در تنظیم بیان ژن در بطن چپ رت‌های نر مبتلا به دیابت تأثیرگذار است.

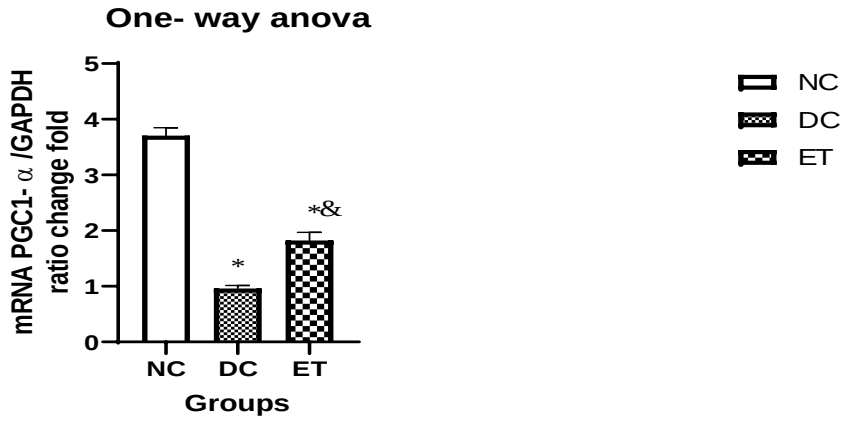


شکل ۱. میانگین بیان ژن Sirt-1 نسبت به GAPDH در گروه‌های پژوهش با روش آماری تحلیل واریانس یکراهه و آزمون تعقیبی توکی

*معناداری نسبت به گروه کنترل سالم، &معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد گزارش شده است. تعداد حیوانات در هر گروه، ۶ سر است.

NC: گروه کنترل سالم، DC: گروه کنترل دیابتی، ET: گروه تمرین دیابتی



شکل ۲. میانگین مقادیر بیان ژن PGC-1α نسبت به GAPDH در گروه‌های پژوهش با روش آماری تحلیل واریانس یکراهه و آزمون تعقیبی توکی

*معناداری نسبت به گروه کنترل سالم، &معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی
مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد گزارش شده است. تعداد حیوانات در هر گروه، ۶ سر است.
NC: گروه کنترل سالم، DC: گروه کنترل دیابتی، ET: گروه تمرین دیابتی

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر به بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α در بطن چپ رت‌های مبتلا به دیابت نوع۲ پرداخت. طبق یافته‌های به‌دست‌آمده شاخص گلوکز و مقاومت به انسولین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش داشت. بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش داشت. این نتایج نشان می‌دهد تمرین هوازی بر بهبود شاخص گلوکز و پیشگیری از تخریب میتوکندری اثرگذار بود. نتایج تحقیقی نشان داد که سه ماه تمرین شنا با شدت ۷۰ درصدVO2 max بر سنتز Sirt-1 تفاوتی ایجاد نکرد (۲۱). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر ناهمسوست. از دلایل تناقض آن نسبت به نتایج تحقیق حاضر شدت تمرین است. درحالی‌که نتایج تحقیق دیگری که به بررسی شدت تمرین بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و سطوح گلوکز خون در رت‌های دیابتی پرداخت، نشان داد که تمرین اینتروال شدید HIT موجب افزایش در مقادیر آنزیم هوازی سیترات سینتاز SC و پروتئین میتوفیوژن کینازی MAPK می‌شود و در کاهش هایپرگلایسمی اثرگذار است. این نتایج با نتایج تحقیق حاضر همسوست. اما نتایج تحقیق دیگری نشان داد، ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت بالا تولید و فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مانند SOD، کاتالاز CAT و GPX را کاهش و تولید استرس اکسایشی را افزایش داد (۷). این نتایج با نتایج پژوهش حاضر ناهمسوست که از دلایل آن استفاده از شدت تمرین در دوره زمانی طولانی است که با تولید رادیکال‌های آزاد دفاع آنتی‌اکسیدانی را تضعیف می‌کند. در تحقیق دیگری بیان شد که پس از تمرین HIT با شدت ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی با ۶ تکرار در ۳ ست و اجرای استراحت فعال در شدت ۷۰ درصد VO2max با افزایش بیان ژن PGC1-α و کاهش مقادیر P-53 سبب افزایش نسبت آنتی‌اکسیدان/ اکسیدان می‌شود و از تخریب غشای سلول پیشگیری می‌کند (۲۷). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر همسوست. از دلایل آن اجرای استراحت فعال بین تناوب‌های شدید بیان شده است که در تولید

متسع‌کننده‌های عروقی و فاکتور بایوسنتزکننده مویرگی مؤثر است و سبب بهبود دفاع ضداکسایشی می‌شود. نتایج پژوهش دیگری نشان داد فعالیت تناوبی سرعتی با ۷ تکرار در ۴ ست ۳۰ ثانیه‌ای در موش‌های نر اسپیروگوداولی مبتلا به انفارکتوس قلبی در بیان ژن PGC1-α تفاوت معناداری ایجاد نکرد، اما با افزایش بیان ژن P-53 بر راه‌اندازی مسیر مرگ سلولی میوسیت تأثیر داشت (۲۸). این نتایج نیز با نتایج تحقیق حاضر ناهمسوست. از دلایل آن می‌توان به تفاوت در ابتلا به نوع و شدت بیماری و نیز فعالیت حاد سرعتی اشاره کرد. اما نتایج تحقیق دیگری نشان داد ۸ هفته تمرین اینتروال از طریق راه‌اندازی مسیر کلسیم درون‌سلولی و اتصال آن به کالمودولین CAMK-II در افزایش فعالیت پروکسی زوم گاما PGC-1Y و گیرنده پروکسی زوم آلفا یک گاما PGCα-1Y مؤثر است و بیوژنز میتوکندری را در بطن چپ موش‌ها افزایش می‌دهد (۲۹). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر همسوست که از دلایل آن می‌توان به افزایش سوخت‌وساز سلول در راه‌اندازی مسیر کلسیم و افزایش نسبت ADP به ATP از تخریب غشای سلول جلوگیری کرد. در تحقیق حاضر تمرین هوازی با کاهش شاخص گلوکز و بهبود حساسیت به انسولین، بیان ژن‌های Sirt-1 و FNDC-5 را افزایش داد و بر بیوژنز میتوکندری در بطن چپ اثرگذار بود. ازاین‌رو با توجه به نتایج می‌توان گفت که تمرین هوازی منظم با شدت متوسط در بهبود هومئوستاز سلول از راه افزایش حساسیت به انسولین و کاهش استرس سلولی می‌تواند از ایجاد اختلال در ساختار بطن چپ جلوگیری کند. از جمله سازوکارهای احتمالی با انجام تمرین هوازی با شدت متوسط، جلوگیری از استرس سلولی با به‌کارگیری مسیر انسولین و انتقال ناقل گلوکز GLUT-4، تولید و رهایش کلسیم درون سیتوزولی است (۳۰). همچنین در انقباضات پیاپی و تداوم تمرین با به‌کارگیری مسیر TAC و چرخه انتقال الکترون موجب فراخوانی نیکوتین آمید دی نوکلئوتید و فلاوین آمید دی نوکلئوتید (NAD وFAD) می‌شود (۲۱). این مسیر با تحریک و افزایش PGC-1α همراه است (۳۱). از طرف دیگر انجام تمرین با شدت متوسط با تولید AMPK موجب افزایش سیگنال‌دهی NAD^+ تولید Sirt-1 را افزایش می‌دهد و با فعالیت دی استیلاسیونی سیرتوئین بر سیگنالینگ PGC-1α بر مصرف چربی و جذب گلوکز تأثیر می‌گذارد (۳۲). در زمان استراحت پس از تمرین با راه‌اندازی آنزیم گلیکوژن سینتتاز و تولید و افزایش عملکرد بالاتر پروتئین‌های تیروزین کینازی بتای AKT در همکاری با IRS-1 در راه‌اندازی بیشتر انسولین مؤثر است (۲۹). از راه دیگر با ترشح متسع‌کننده‌های عروقی از جمله NO وPGC-1Y سبب بهبود در خون و اکسیژن‌رسانی به قلب می‌شود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۳۳). به این دلیل کاهش التهاب سیستمی با افزایش ظرفیت هوازی از مسیر SIRT-1 بیان می‌شود (۳۴). از دلایل تناقض در یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر با نتایج سایر تحقیقات می‌توان به نوع، شدت و مدت تمرین (۲۱) و نیز سطح سلامت آزمودنی‌ها اشاره کرد (۲۸). هرچند پژوهش حاضر با تنظیم شاخص گلایسمیک و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی، از تخریب غشای میتوکندری در بطن چپ جلوگیری کرد، با این حال این تحقیق همچون دیگر تحقیقات محدودیت‌های دارد. که از آن جمله می‌توان به مواردی همچون؛ تعداد کم نمونه‌ها، دسترسی نداشتن به نمونه‌های انسانی، عدم استفاده از چنبرهای ایزوله به‌منظور برآورد دقیق توان هوازی رت‌ها، عدم استفاده از روش وسترن بلات جهت سنجش پروتئین ژن‌های مذکور به‌دلیل کمبود بودجه پژوهش اشاره کرد. در آخر پیشنهاد می‌شود که در پژوهش‌های آینده مدل تمرین مذکور با تمرین تناوبی و به‌طور گسترده‌تر بررسی شود.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های به‌دست‌آمده تمرین هوازی با تنظیم بیان ژن‌های Sirt-1 و PGC-1α در بطن چپ رت‌های دیابتی، احتمالاً بیوژنز میتوکندری را بهبود می‌بخشد.

تشکر و قدردانی: با توجه به اینکه مقاله حاضر مستخرج از رساله مقطع دکتری در واحد پردیس البرز دانشگاه تهران است، بدین‌وسیله از استادان گرانقدری که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند، سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Henle T. AGEs in foods: do they play a role in uremia? Kidney international. 2003;63:S145-S7.
2. Li W, Zho P, Wang G, Lu X, Jiang Y, Zhao X. Anti-inflammatory effects of lycopene prevents cardiac dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. Int J Clin Exp Med. 2016;9(5):8047-54.
3. Condorelli G, Roncarati R, Ross Jr J, Pisani A, Stassi G, Todaro M, et al. Heart-targeted overexpression of caspase3 in mice increases infarct size and depresses cardiac function. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001;98(17):9977-82.
4. Long AN, Dagogo-Jack S. Comorbidities of diabetes and hypertension: mechanisms and approach to target organ protection. The journal of clinical hypertension. 2011;13(4):244-51.
5. Condorelli G, Roncarati R, Ross J, Pisani A, Stassi G, Todaro M, et al. Heart-targeted overexpression of caspase3 in mice increases infarct size and depresses cardiac function. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001;98(17):9977-82.
6. Seale P, Kajimura S, Yang W, Chin S, Rohas LM, Uldry M, et al. Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. Cell metabolism. 2007;6(1):38-54.
7. Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, et al. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2012;37(6):1239-46.
8. Cai L, Wang Y, Zhou G, Chen T, Song Y, Li X, et al. Attenuation by metallothionein of early cardiac cell death via suppression of mitochondrial oxidative stress results in a prevention of diabetic cardiomyopathy. Journal of the American College of Cardiology. 2006;48(8):1688-97.
9. González-Montero J, Brito R, Gajardo AI, Rodrigo R. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities. World Journal of Cardiology. 2018;10(9):74.
10. Guarente L, editor Sirtuins in aging and disease. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology; 2007: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

11. Kemp K, Griffiths J, Campbell S, Lovell K. An exploration of the follow-up up needs of patients with inflammatory bowel disease. Journal of Crohn's and Colitis. 2013;7(9):e386-e95.

12. Mortensen OH, Frandsen L, Schjerling P, Nishimura E, Grunnet N. PGC-1α and PGC-1β have both similar and distinct effects on myofiber switching toward an oxidative phenotype. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2006;291(4):E807-E16.

13. Bruce CR, Anderson MJ, Carey AL, Newman DG, Bonen A, Kriketos AD, et al. Muscle oxidative capacity is a better predictor of insulin sensitivity than lipid status. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2003;88(11):5444-51.

14. of Inflammation M. Retracted: Treadmill Training Increases SIRT-1 and PGC-1α Protein Levels and AMPK Phosphorylation in Quadriceps of Middle-Aged Rats in an Intensity-Dependent Manner. Mediators of Inflammation. 2017;2017.

15. Liang H, Ward WF. PGC-1α: a key regulator of energy metabolism. Advances in physiology education. 2006.

16. Huang C-Y, Yang A-L, Lin Y-M, Wu F-N, Lin JA, Chan Y-S, et al. Anti-apoptotic and pro-survival effects of exercise training on hypertensive hearts. Journal of applied physiology. 2012;112(5):883-91.

17. Palmer BF, Clegg DJ. Physiology and pathophysiology of potassium homeostasis. Advances in physiology education. 2016.

18. Gordon LA, Morrison EY, McGrowder DA, Young R, Fraser YTP, Zamora EM, et al. Effect of exercise therapy on lipid profile and oxidative stress indicators in patients with type 2 diabetes. BMC complementary and alternative medicine. 2008;8(1):1.١٠-

19. Wang Y, Wu Y, Wang Y, Xu H, Mei X, Yu D, et al. Antioxidant properties of probiotic bacteria. Nutrients. 2017;9(5):521.

20. Golbidi S, Badran M, Laher I. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. Experimental diabetes research. 2011;2012.

21. Marton O, Koltai E, Takeda M, Koch LG, Britton SL, Davies KJ, et al. Mitochondrial biogenesis-associated factors underlie the magnitude of response to aerobic endurance training in rats. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2015;467(4):779-88.

22. Khakdan S, Delfan M, Heydarpour Meymeh M, Kazerouni F, Ghaedi H, Shanaki M, et al. High-intensity interval training (HIIT) effectively enhances heart function via miR-195 dependent cardiomyopathy reduction in high-fat high-fructose diet-induced diabetic rats. Archives of physiology and biochemistry. 2020;126(3):250-7.

23. PITHON-CURI TNC. Aprogram Of Moderate Physical Training For Wistar Rats Based On Maximal Oxygen Consumption. Journal of strength and conditioning research. 2007;21(3):000.-

24. 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 Preventive Cardiology. 2007;14(6):753-60.

25. Vandesompele J ,De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome biology. 2002;3(7):1-12.

26. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV ,Lewis-Antes A, Shen M, Shah NK, et al. IFN-λs mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. Nature immunology. 2003;4(1):69-77.

27. Bartlett JD, Hwa Joo C, Jeong T-S, Louhelainen J, Cochran AJ, Gibala MJ, et al. Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1α mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. Journal of applied physiology. 2012;112(7):1135-43.

28. Saleem A, Adhihetty PJ, Hood DA. Role of p ٥٣in mitochondrial biogenesis and apoptosis in skeletal muscle. Physiological genomics. 2009;37(1):58-66.

29. Bækkerud FH, Salerno S, Ceriotti P, Morland C, Storm-Mathisen J, Bergersen LH, et al. High intensity interval training ameliorates mitochondrial dysfunction in the left ventricle of mice with type 2 diabetes. Cardiovascular toxicology. 2019;19(5):422-31.

30. Cunha VN, de Paula Lima M, Motta-Santos D, Pesquero JL, de Andrade RV, de Almeida JA, et al. Role of exercise intensity on GLUT4 content, aerobic fitness and fasting plasma glucose in type 2 diabetic mice. Cell biochemistry and function. 2015;33(7):435-42.

31. Oliveira NR, Marques SO, Luciano TF, Pauli JR, Moura LP, Caperuto E, et al. Treadmill training increases SIRT-1 and PGC-1α protein levels and AMPK phosphorylation in quadriceps of middle-aged rats in an intensity-dependent manner. Mediators of inflammation. 2014;2014.

32. Gurd BJ, Perry CG, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Bonen A. High-intensity interval training increases SIRT1 activity in human skeletal muscle. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2010;35(3):350-7.

33. Dela F, Handberg A, Mikines KJ, Vinten J, Galbo H. GLUT 4 and insulin receptor binding and kinase activity in trained human muscle. The Journal of physiology. 1993 Sep 1;469(1):615-24.

34. Sarga L, Hart N, Koch L, Britton S, Hajas G, Boldogh I, et al. Aerobic endurance capacity affects spatial memory and SIRT1 is a potent modulator of 8-oxoguanine repair. Neuroscience. 2013;252:326-36.

The Effect of an Aerobic Exercise Course on the Genes Expression of Sirt-1 and PGC-1α in the Left Ventricle of Rats with Type 2 Diabetes

Seyedeh Somayeh Samaie[1] - Ali Asghar Ravasi*[2] - Siroos Choobineh[3]- Maryam Delfan[4]

1. Phd Student in Sport Physiology, Alborz Campus, University of Tehran, Tehran, Iran2. Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran3. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran4. Assistant Professor, Dertment of Exercise Phyiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

(Received:2022/06/07;Accepted:2022/08/31)

Abstract

Regular aerobic exercise with proportionate intensity volume improves gene expression in the left ventricle of diabetic patients. The purpose of this study was to investigatethe effect of an aerobic exercise course on the gene expression of Sirt-1 and PGC-1α in the left ventricle of rats with type 2 diabetes. In the present experimental study, 18 diabetic male mice were divided into three groups of 6; Normal Control(NC), Diabetic Control(DC), Aerobic exercise(ET). Diabetes was induced in all groups except non diabetic control group by interaperitoneal injection of sereptozotocin(STZ) after12 hours fasting. Glucose concentration was measured by glucose oxidase method. ELISA method was used to measure the insulin and HOMA-IR method was used to measure insulin resistance index. The expression of Sirt-1 and PGC-1α genes was determined by Real time- PCR and the groups were compared by One Way Anova test at the alpha level of 0.05. Glucose index and insulin resistance were decreased in the exercise group.Sirt-1 gene expression was significantly increased in ET group compared to DC (P=0.001). PGC-1α gene expression was significantly increased in ET group compared to DC group (P=0.02). aerobic exercise by regulating the genes expression of Sirt-1 and PGC-1α in the left ventricle of diabetic rats, could possibly improve mitochondrial biogenesis.

Keywords

Aerobic exercise training, Insulin resistance, PGC-1α, Sirt-1.

* Corresponding Author: Email: aaravasi@ut.ac.ir Tel:02188351730