



دانشگاه شهید بهشتی

## فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنه

بهار و تابستان ۹۹، دوره ۱۳، شماره ۱، صفحه های: ۱۲۷-۱۱۱

### تأثیر تمرینات تداومی و تناوبی شدید به همراه مصرف رزوراترول بر سطوح پروتئین های SIRT3 و OGG1 بافت کبد موش های نر

محمد اسماعیل افضل پور<sup>۱\*</sup>، هادی سریر<sup>۲</sup>، زوفا زنجیریان<sup>۱</sup>، محسن محمدنیا احمدی<sup>۱</sup>، الهام قاسمی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

<sup>۲</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

\*نویسنده مسئول: محمد اسماعیل افضل پور، تلفن: ۰۹۱۵۵۶۱۴۵۱۷، رایانامه: [mafzalpour@birjand.ac.ir](mailto:mafzalpour@birjand.ac.ir)

پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۲/۱۵

ویرایش مقاله: ۱۳۹۸/۰۲/۰۱

دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۹/۰۹

#### چکیده

**هدف:** سیرتوین ۳- (SIRT3) استیل زدای میتوکندریایی است که از طریق استیله شدن پروتئین اگزوگوانین گلیکو سیلاز-۱ (OGG1)، سبب ترمیم آسیب های DNA میتوکندریایی و جلوگیری از آپوپتوزیس سلولی می شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین تداومی و تناوبی شدید همراه با مصرف رزوراترول، بر سطوح SIRT3 و OGG1 بافت کبد موش های صحرایی نر و بیستار بود.

**روشها:** در این پژوهش، ۴۸ موش صحرایی به طور تصادفی به شش گروه هشت تایی شامل گروه های کنترل، مکمل، تمرین تداومی، تمرین تناوبی + مکمل، تمرین تناوبی، و گروه تمرین تناوبی + مکمل تقسیم شدند. تمرینات تداومی و تناوبی به مدت شش هفته، شش روز در هفته، به ترتیب با سرعت ۲۷ و ۵۴ متر در دقیقه روی نوارگردان مخصوص موش ها اجرا شد. گروه های دریافت کننده رزوراترول روزانه ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مکمل به صورت گاواژ دریافت کردند. پس از مداخله، حیوانات بی هوش و نمونه کبدی آن ها برای تجزیه و تحلیل و انجام آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

**نتایج:** پس از ۶ هفته سطوح OGG1 کبدی گروه های تمرین تداومی ( $P=0/0001$ ) و تمرین تداومی + مکمل ( $P=0/0001$ ) نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بیشتر بود. همچنین، سطوح SIRT3 کبدی گروه های مکمل ( $P=0/01$ )، تمرین تناوبی ( $P=0/04$ )، تمرین تناوبی + مکمل ( $P=0/04$ )، تمرین تداومی ( $P=0/001$ )، و تمرین تداومی + مکمل ( $P=0/001$ ) نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت.

**نتیجه گیری:** در مقایسه با تمرین تناوبی شدید، اجرای تمرینات تداومی به همراه مصرف رزوراترول بهبودی بیشتری در عوامل مؤثر بر بقای سلولی و طول عمر، مانند SIRT3 و OGG1 ایجاد می کند.

**واژه های کلیدی:** استرس اکسایشی، بقای سلولی، تمرین ورزشی، مکمل های آنتی اکسیدانی.

## مقدمه

فعالیت بدنی بخش جدایی‌ناپذیری از زندگی انسان است و معمولاً با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و فشار اکسایشی همراه است [۱]. امروزه، به‌خوبی ثابت شده است که افزایش فشار اکسایشی به افزایش خطر توسعه ناتوانی‌ها و کاهش طول عمر منجر می‌شود [۲]. از این‌رو، محققان به‌طور گسترده، به‌دنبال بررسی آثار مداخله‌های مختلف بر فشار اکسایشی و کاهش عوارض آن و در نهایت افزایش طول عمرند. در همین رابطه محققان مشاهده کرده‌اند که محدودیت در کالری و مداخله‌هایی مانند فعالیت ورزشی و مکمل‌های تغذیه‌ای از طریق تعدیل مسیرهای سوخت‌وساز اصلی، آثار ضدپیری دارد [۳]. سیرتوین<sup>۱</sup> از کاندیداهای اصلی محدودیت در کالری است و از بیماری‌های مرتبط با سن نظیر آلزایمر، دیابت و چاقی جلوگیری می‌کند [۴].

سیرتوین فعالیتی استیلازی وابسته به + NAD یا ADP ریبوزیل ترانسفراز و تنظیم‌کننده‌های اصلی بقای سلولی و طول عمر است [۵]. تحقیقات نشان داده است آنزیم سیرتوین-۳ (SIRT3) در انسان از طریق مسیرهای عامل رونویسی<sup>۳</sup> FOXO3 و عامل نسخه‌برداری کاپا (NF- $\kappa$ B) عمل می‌کند و با تعدیل بنیان‌های آزاد، موجب بقای سلولی و افزایش طول عمر می‌شود [۶، ۷]. SIRT3 استیل‌زدای<sup>۴</sup> میتوکندریایی است که در بافت‌هایی با سوخت‌وساز بالا—مانند کبد، قلب، مغز و بافت چرب قهوه‌ای—به‌وفور یافت می‌شود [۶] و با فعال کردن عوامل رونویسی FOXO3 در هسته، بیان آنزیم‌اگزو گوانین گلیکوسیل‌از (OGG1)<sup>۵</sup> را برای تقابل با بنیان‌های آزاد افزایش می‌دهد و متعاقب آن، بهبود ترمیم آسیب‌های DNA میتوکندریایی، حفظ یکپارچگی میتوکندریایی و جلوگیری از آپوپتوزیس سلولی ناشی از فشار اکسایشی را به‌همراه دارد [۷، ۸]. در میان جایگاه‌های هسته‌ای، گوانین به‌دلیل پتانسیل ردوکس پایین خود، حساسیت زیادی به

ROS دارد و مهم‌ترین فرآورده‌های اکسایشی گوانین، عواملی است مانند ۸-هیدروکسی گوانین (8-OHG)<sup>۶</sup> و ۸-هیدروکسی دی‌گوانوزین (8-OHdG)<sup>۷</sup>. از آنجا که این دو فرآورده با سیتوزین و آدنین جفت می‌شود، به‌شدت جهش‌زا و سرطان‌زاست و تولید آن عامل اصلی آسیب‌های DNA در شرایط اکسایشی به‌شمار می‌رود [۱].

در مراحل اولیه، 8-OXO-G با ترمیم برشی بازها با چندین آنزیم، از جمله آنزیم‌های OGG1 و OGG2 و گلیکوسیل‌ازهای نیلیک، ترمیم می‌شود؛ و DNA برش‌خورده با AP اندونوکلازها ترمیم می‌شود، قبل از اینکه شکاف آن بر اثر پلیمرازها بسته و پر شود [۸]. احتمالاً، رابطه معکوسی بین فعالیت OGG1 و سطح 8-OXO-G وجود دارد [۱]. پژوهشگران معتقدند کاهش گلوکز و افزایش هورمون‌های گلوکاگون، کاتکولامین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدها ناشی از ورزش سبب فعال شدن SIRT3 و متعاقب آن استیل‌زدایی OGG1 می‌شود [۹، ۱۰].

با توجه به رشد روزافزون فقر حرکتی و بیماری‌های مرتبط با آن، همواره مطالعه درباره تأثیر فعالیت‌های ورزشی در جهت کاهش پیامدهای فقر حرکتی و افزایش طول عمر مورد توجه محققان بوده و هست. در همین راستا، بیشتر تلاش‌ها در دو دهه اخیر بر این مبنایافته است تا انجام فعالیت‌های ورزشی مناسب برای تمامی افراد شنا سایی و معرفی شود. تداومی بودن برخی فعالیت‌های ورزشی و بالطبع طولانی بودن آن، برای همه افراد امکان‌پذیر نیست؛ در حالی که بعضی معتقدند با تمرینات تناوبی، ضمن صرفه‌جویی در وقت و زمان، می‌توان به پیشرفت بهتری نیز رسید؛ موضوعی که نیاز به بررسی و مطالعه دقیق دارد.

تمرینات تناوبی معمولاً شدت بیشتری دارد و موجب دستیابی به نتایج بهتر و سریع‌تری می‌شود و سرعت و میزان تولید بنیان‌های آزاد حین این تمرینات، متفاوت از تمرینات تداومی است که با آهنگی آهسته‌تر، سرعت کمتر،

برخی پژوهشگران به نقش بالقوه رزوراترول در تنظیم سوخت‌وساز انرژی و جلوگیری از فرایند پیری اشاره کرده‌اند [۱۴]. گرتز و همکاران [۱۵] نشان داده‌اند استفاده از مکمل رزوراترول نقش مؤثری در کنترل عملکرد SIRT3 دارد و باعث تنظیم افزایشی ژن‌های ضد اکسایشی از جمله ژن OGG1 به منزه‌ی محافظت‌کننده DNA در برابر آسیب اکسایشی می‌شود. معمولاً، از مکمل‌های ضد اکسایشی به منظور خنثی کردن آثار بالقوه تمرینات شدید ورزشی در تولید بنیان‌های آزاد و ایجاد فشار اکسایشی یا با هدف هم‌افزایی احتمالی مکمل و فعالیت بدنی، به منظور ایجاد سازگاری‌های بیشتر در دستگاه‌های مختلف بدن، استفاده می‌شود. با وجود این، آثار توأم رزوراترول و فعالیت ورزشی مزمن، به ندرت بررسی شده است و در این خصوص، اطلاعات کامل و دیدگاه روشنی وجود ندارد [۱۴].

اگرچه در مورد اثرگذاری تمرینات تداومی و تناوبی شدید بر بافت‌های عضله اسکلتی و قلب در افراد سالم و دارای بیماری‌های قلبی، تحقیقات مختلفی صورت گرفته است، اثرگذاری این گونه تمرینات بر تغییرات بافت کبد افراد، همچنین بر عوامل اثرگذار بر طول عمر، کمتر بررسی شده است. بافت کبد به دلیل برخورداری از تعداد میتوکندری زیاد، از میزان سوخت‌وساز خیلی زیادی برخوردار است (۲۰۰ کیلو کالری/ کیلوگرم وزن اندام/ روز). این ویژگی با تغییرات (شار) اکسیژن خیلی بالایی همراه است [۱۶]. پرواضح است که چنین بافت‌هایی بیشتر در معرض فشار اکسایشی قرار دارد. از سوی دیگر، شواهد موجود دال بر آن است که فشار اکسایشی از طریق افزایش بنیان‌های آزاد، با تضعیف دستگاه ضد اکسایشی در بافت‌هایی مانند مغز، کبد و خون ایجاد می‌شود. کبد به دلیل ذخایر ضد اکسایشی زیاد و توانایی ترمیم آسیب‌های اکسایشی، از جمله بافت‌های

اما در مدت طولانی‌تری اجرا می‌شود [۱۱]. با توجه به اینکه میزان تولید و تجمع بنیان‌های آزاد و سایر مواد میانجی حین ورزش در تغییر یا سازگاری بدن تأثیرگذار است، مقایسه این دو روش تمرینی برای متخصصان فیزیولوژی ورزشی و پزشکی- ورزشی جالب است. از این‌رو، در تحقیق حاضر بررسی و مقایسه اثر تمرینات تناوبی و تداومی در دستور کار قرار گرفت تا کمک شود با آگاهی از تأثیر این شیوه‌ها، بتوان تجویزهای مؤثرتر و مناسب‌تری به جامعه کرد.

از طرف دیگر، در بررسی‌های انجام‌شده، به دلیل بعضی تفاوت‌ها در شکل و نحوه اجرا، نتایج مشابهی گزارش نشده است. در حالی که فتحی و همکاران [۱۲] افزایش SIRT3 را پس از ۸ هفته تمرین تداومی و تناوبی در بافت عضله اسکلتی موش‌های صحرایی چاق و بو و همکاران [۱۰] اثر مثبت ۲۰ هفته فعالیت ورزشی شدید را روی نوارگردان بر افزایش استیل‌زدایی OGG1 و سطح SIRT3 و بهبود ظرفیت ترمیم DNA میتوکندریایی در هیپوکامپ موش‌ها نشان داده‌اند، هاج و همکاران [۱۳] عدم تغییر معنادار SIRT3 را پس از تمرین هوازی (دویدن روی نوارگردان با سرعت ۳۰ m/min به مدت ۶۰ دقیقه، ۵ بار در هفته و به مدت ۲ هفته) گزارش کرده‌اند.

از سوی دیگر، امروزه تصور بر آن است که رژیم غذایی با خاصیت ضد اکسایشی نقش مهمی در پیشگیری از خطر ابتلا به بیماری‌های مرتبط با پیری دارد. رزوراترول<sup>۸</sup> منبعی غنی از ترکیبات ضد اکسایشی و دارای درصد بالایی پلی‌فنول است و فعالیت ضد اکسایشی و کاهنده التهاب [۱۴] و جلوگیری از آسیب اکسایشی از طریق مهار آپوپتوزیس سلولی، سرکوب پتانسیل فروپاشی غشای میتوکندری و کاهش بنیان‌های آزاد میتوکندریایی دارد [۱۵].

گروه تمرین تداومی، گروه تمرین تداومی + مصرف مکمل، گروه تمرین تناوبی و گروه تمرین تناوبی + مصرف مکمل. همچنین، در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت رو شنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۱۰ تا ۲۰ درصد نگهداری شدند.

### پروتکل پژوهش

قبل از شروع مداخله، دوره یک هفته‌ای برای سازش‌پذیری با محیط جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان برای موش‌ها در نظر گرفته شد. پروتکل تمرین تداومی و تناوبی شدید روی نوارگردان ۱۲ ردیفه مخصوص جوندگان (ساخت ایران، شرکت یارمند سیستم شمال) برای ۶ هفته، ۶ روز در هفته، و با رعایت اصل اضافه‌بار اجرا شد (جدول ۱). اضافه‌بار تمرین تداومی و تناوبی به ترتیب از طریق افزایش مدت زمان و افزایش تناوب‌ها اعمال شد. از آنجا که گروه‌ها هم‌سان سازی شده بود، سرعت تمرین برای همه موش‌ها یکسان و بر اساس دستورالعمل ارائه شده در منابع معتبر و موثق [۱۷، ۱] اعمال شد.

گرم‌کردن و سردکردن، به ترتیب در آغاز و انتهای یک جلسه تمرین تداومی و تناوبی با سرعت ۱۶ متر در دقیقه (تقریباً معادل با ۶۸ درصد  $VO_{2max}$ ) انجام شد [۱۷، ۱]. به علاوه، شدت تمرین‌های تداومی و تناوبی شدید به ترتیب با سرعت ۲۷ و ۵۴ متر در دقیقه اجرا شد که در منابع [۱۷، ۱] به ترتیب معادل ۸۰ و ۹۵ تا ۱۰۰ درصد  $VO_{2max}$  برای حیوان در نظر گرفته شده است. استراحت فعال بین تناوب‌های تمرین تناوبی شدید برای ۶۰ ثانیه و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه در نظر گرفته شد [۱۷].

لازم به ذکر است که برنامه‌های تمرین تداومی و تناوبی، از مطالعه چیلی‌بک و همکاران [۱۸] اقتباس شده است. موش‌های گروه کنترل و گروه مکمل روزانه به اتاق تمرین

مهم در سم‌زدایی سموم، از جمله بنیان‌های آزاد، به‌شمار می‌رود و این وضعیت موجب می‌شود این بافت یکی از بافت‌های هدف به‌منظور بررسی عوامل تعیین‌کننده و تعدیل‌کننده فشار اکسایشی (مانند تمرین یا مکمل) مورد توجه محققان قرار گیرد.

با توجه به گستردگی شیوع و اهمیت پیامدهای پاتولوژیایی فشار اکسایشی در جوامع امروزی و ارتباط آن با کاهش طول عمر، همچنین به دلیل کمبود تحقیقات کافی در مورد تغییرات OGG1 و SIRT3 به دنبال فعالیت‌های ورزشی تداومی و تناوبی به‌تنهایی و در ترکیب با مصرف مکمل رزوراترول، مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثر ۶ هفته تمرین استقامتی تداومی و تناوبی شدید به‌همراه مکمل رزوراترول بر مقادیر SIRT3 و OGG1 بافت کبد به‌اجرا درآمد.

### روش پژوهش

#### نمونه‌های پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی و در قالب طرح پس‌آزمون چند گروهی به‌همراه گروه کنترل بود. در این مطالعه، ۴۸ سرموش صحرایی نر (نژاد آلبینو ویستار) در سن ۱۲ هفتگی و با محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند خریداری و به حیوانخانه دانشکده کشاورزی بیرجند منتقل و بر اساس دستورالعمل‌های استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی؛ نشر NIH، با شماره ۸۶-۲۳، تجدید نظر ۱۹۹۶) نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از هم‌سان سازی، به لحاظ سن، جنس، وزن و نژاد به صورت تصادفی به شش گروه مساوی هشت‌تایی تقسیم شدند، شامل گروه کنترل، گروه مصرف‌کننده مکمل،

انتقال داده می‌شدند و بدون اینکه بدون، برای مدت زمانی مشابه با گروه‌های تمرینی، روی نوارگردان قرار می‌گرفتند. همچنین، برای به‌حداقل ر ساندن آثار ناشی از سرو صدای نوارگردان، گروه‌های مد نظر در مجاورت دستگاه در زمان روشن‌بودن قرار داده شدند.

جدول ۱. پروتکل تمرین تداومی و تناوبی شدید مورد استفاده در گروه‌های تمرینی پژوهش

روز	تمرین تداومی	تمرین تناوبی شدید		هفته اول
		روزهای فرد	روزهای زوج	
۱	۲۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		دوم
۲	۲۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۳	۲۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۴	۲۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۵ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۵	۲۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۶	۳۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۷ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۱	۳۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		سوم
۲	۳۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۹ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۳	۳۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۴	۳۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۱۱ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۵	۴۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۶	۴۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۱۳ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۱	۴۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۴ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		چهارم
۲	۴۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۱۵ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۳	۴۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۴ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۴	۵۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۱۷ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۵	۵۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۵ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۶	۵۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۱۹ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۱	۵۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۵ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		پنجم و ششم
۲	۵۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۱۹ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۳	۶۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۶ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۴	۶۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۰ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۵	۶۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۶ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه		
۶	۶۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۰ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه		
۱-۱۲	۶۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه، تا انتهای هفته ششم	۶ تناوب، ۴۰ متر در دقیقه، ۳ دقیقه	۲۰ تناوب، ۵۴ متر در دقیقه، ۳۰ ثانیه	

مکمل رزوراترول از شرکت سیگما آلد ریچ<sup>۹</sup> آمریکا خریداری شد و روزانه به میزان ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جرم بدن به صورت معلق در آب اتوکلاو از طریق گاواژ دهانی به موش‌های گروه‌های مصرف‌کننده مکمل در یک مرحله داده شد. به منظور خنثی کردن اثر استرس گاواژ، به موش‌های گروه‌های کنترل و تمرین ورزشی تداومی روزانه ۲۰۰ میکرو لیتر آب اتوکلاو گاواژ شد [۱۴]. در تمامی مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در اختیار بود و رژیم غذایی استاندارد موش‌های صحرایی پلت (محتوی ترکیب مشخصی از انواع مواد مغذی مورد نیاز حیوان) نیز بر اساس وزن کشتی هفتگی با ترازوی استاندارد و جیره طبیعی ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در روز در هر قفس قرار می‌گرفت. وزن موش‌های صحرایی، قبل از دوره تمرینی (به منظور قراردادن موش‌ها در گروه‌ها بر اساس وزن یکسان)، حین دوره تمرینی به صورت هفتگی (به منظور گاواژ صحیح رزوراترول) و در انتهای دوره تمرینی (به منظور تعیین آثار احتمالی بیش تمرینی) با ترازوی بونسو<sup>۱۰</sup> (ساخت چین) اندازه‌گیری شد.

### روش‌های آزمایشگاهی

به منظور جلوگیری از آثار باقیمانده آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی تحت شرایط بی‌هوشی عمیق (تزریق صفاقی کتامین ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن، زایلازین ۸ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) در ساعات بین ۱۰ تا ۱۱ صبح معدوم شدند. بافت جداشده از کبد در داخل میکروتیوب (شرکت کاریز مهر، ایران) قرار داده شد و فوراً برای ۲ دقیقه در داخل تانک ازت XCC۴/۱۸ (شرکت MVE، آمریکا) در دمای ۱۷۰- درجه سانتی‌گراد فرو برده شد. در پایان، نمونه‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد در داخل فریزر آزمایشگاهی

(شرکت GFL، آلمان) برای تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی نگهداری شد. برای ارزیابی بیوشیمیایی متغیرهای وابسته، بافت کبد با نیتروژن مایع پودر شد. برای ارزیابی پروتئین‌های SIRT3 و OGG1، فسفات بافر سالین ۱X و مهارکننده پروتئاز<sup>۱۱</sup> (شرکت گولد بایوتکنولوژی<sup>۱۲</sup>، ایالت متحده آمریکا، شماره کاتالوگ: GB-۳۲۶-۱) به میکروتیوب‌های حاوی بافت کبد پودر شده اضافه و برای یک شبانه‌روز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از آن چرخه فریز-تاو<sup>۱۳</sup> که برای شکستن غشاهای سلولی انجام و هموژنه ورتکس (ورتکس مخلوط‌کن استوارت<sup>۱۴</sup>، انگلیس) شد و برای ۵ دقیقه در سرعت ۵۰۰۰g× در دمای بین ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (سانتریفیوژ اپندورف، آلمان) گردید. حجم مشخصی از رویه شفاف حاصل در بالای میکروتیوب برداشته و داخل چاهک‌های<sup>۱۵</sup> پلیت<sup>۱۶</sup> ریخته شد. ارزیابی‌ها فوراً مطابق با دستورالعمل شرکت‌های سازنده کیت‌های تجاری انجام شد. به علاوه، از کیت‌های تجاری و به روش ساندریج<sup>۱۷</sup> برای سنجش میزان پروتئین بافت از کیت اندازه‌گیری پروتئین بردفورد<sup>۱۷</sup> (شرکت آمریکایی ترموساینترفیک<sup>۱۸</sup>) و برای اندازه‌گیری سطوح پروتئین‌های SIRT3 (شرکت زلبایو<sup>۱۹</sup>، آلمان، شماره کاتالوگ ZB-۱۳۰۴-R۹۶۴۸) و OGG1 (شرکت زلبایو، آلمان، شماره کاتالوگ ZB-۱۳۰۵-R۹۶۴۸) استفاده شد. جذب SIRT3 و OGG1 در ۴۵۰ نانومتر با الیزا ریدر<sup>۲۰</sup> Tecan (اتریش) قرائت و محتوا به صورت وزن بافت بیان شد. حساسیت این روش برای سنجش SIRT3 و OGG1 به ترتیب کمتر از ۰/۰۴ و ۰/۰۱ نانوگرم در میلی‌لیتر و درصد ضریب تغییرات درون‌آزمونی کمتر از ۵ درصد و ضریب تغییرات برون‌آزمونی کمتر از ۱۰ درصد بود.

### تحلیل آماری

شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه اختلاف معناداری بین سطوح OGG1 و SIRT3 گروه‌های مختلف پژوهش متعاقب ۶ هفته تمرین تداومی و تناوبی توأم با مکمل نشان داد ( $P=0/0001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطوح OGG1 کبد در گروه‌های تمرین تداومی ( $P=0/0001$ ) و تمرین تداومی + مکمل ( $P=0/0001$ ) در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معناداری دارد و سطح این شاخص در گروه تمرین تداومی + مکمل نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود ( $P=0/0001$ ) (شکل ۱).

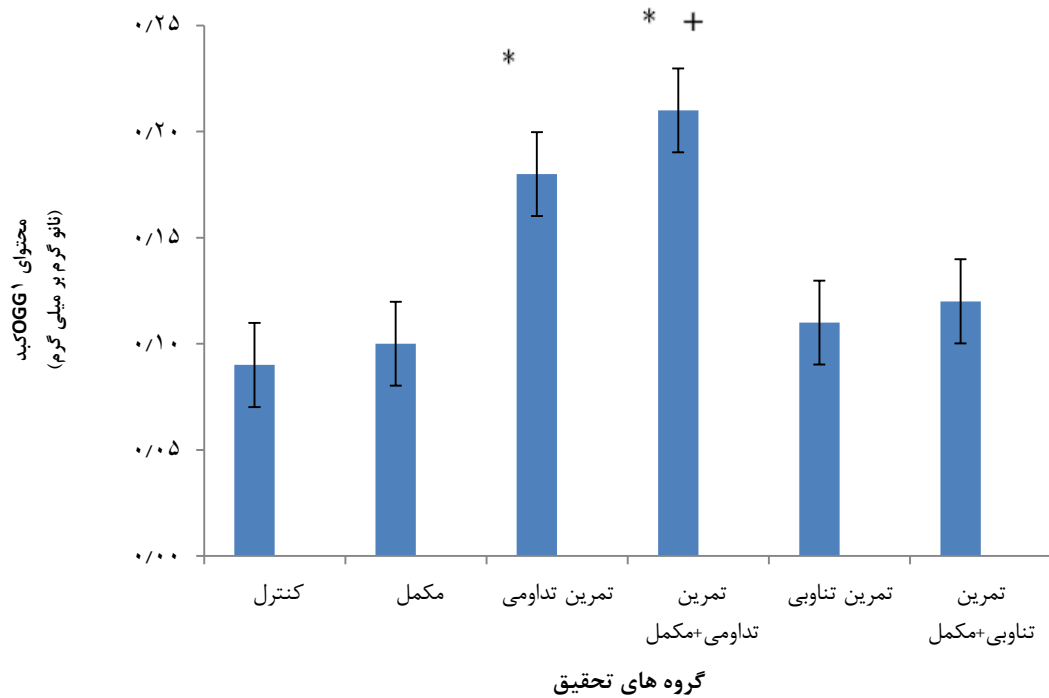
تمامی داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد توصیف شده است. پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرهای تحقیق با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و تأیید فرض همگنی واریانس‌ها با آزمون لون، از آزمون‌های تحلیل واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی برای تعیین تغییرات بین گروهی استفاده شد. تمامی محاسبات و تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۸) و در سطح  $P < 0/05$  صورت گرفت.

### نتایج

در جدول ۲ میانگین و انحراف استاندارد OGG1 و SIRT3 در بافت کبد گروه‌های مختلف موش‌های صحرائی آورده

جدول ۲. میانگین و انحراف استاندارد OGG1 و SIRT3 در بافت کبد و وزن گروه‌های مختلف

P (ANOVA)	انتهای مداخله (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	گروه‌ها	متغیرها
0/06	342 $\pm$ 6/58	کنترل (n=8)	وزن (گرم)
	332 $\pm$ 9/14	مکمل (n=8)	
	336 $\pm$ 5/21	تمرین تناوبی (n=8)	
	338 $\pm$ 3/16	تمرین تناوبی + مکمل (n=8)	
	335 $\pm$ 9/33	تمرین تداومی (n=8)	
	338 $\pm$ 7/25	تمرین تداومی + مکمل (n=8)	
*0/0001	0/0 $\pm$ 09/003	کنترل (n=8)	OGG1 (نانوگرم بر میلی‌گرم پروتئین کل بافت)
	0/0 $\pm$ 10/01	مکمل (n=8)	
	0/0 $\pm$ 11/01	تمرین تناوبی (n=8)	
	0/0 $\pm$ 12/004	تمرین تناوبی + مکمل (n=8)	
	0/0 $\pm$ 18/01	تمرین تداومی (n=8)	
	0/0 $\pm$ 21/01	تمرین تداومی + مکمل (n=8)	
*0/0001	0/0 $\pm$ 12/01	کنترل (n=8)	SIRT1 (نانوگرم بر میلی‌گرم پروتئین کل بافت)
	0/0 $\pm$ 17/01	مکمل (n=8)	
	0/0 $\pm$ 16/01	تمرین تناوبی (n=8)	
	0/0 $\pm$ 16/01	تمرین تناوبی + مکمل (n=8)	
	0/0 $\pm$ 41/01	تمرین تداومی (n=8)	
	0/0 $\pm$ 52/02	تمرین تداومی + مکمل (n=8)	



\* تفاوت معنادار گروه های تمرین تداومی و تمرین تداومی + مکمل با گروه کنترل در سطح  $P < 0.0001$

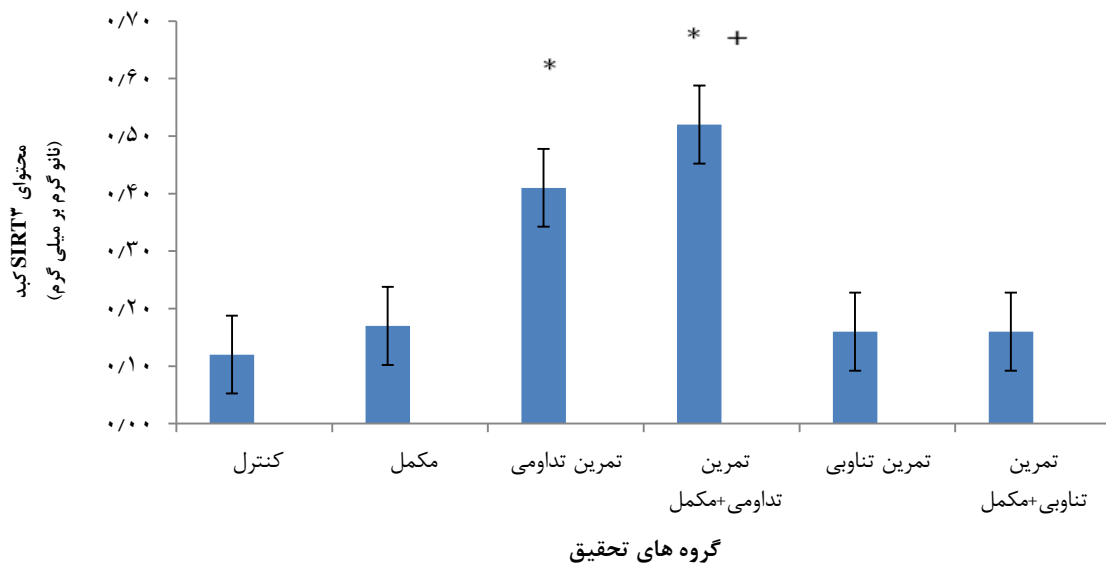
+ تفاوت معنادار گروه تمرین تداومی با تمرین تداومی + مکمل  $P < 0.02$

شکل ۱. میانگین کبد موش های صحرایی نر متعاقب ۶ هفته تمرین تداومی و تناوبی و مصرف رزوراترول

تداومی + مکمل با گروه های مکمل ( $P=0.0001$ )، تمرین تناوبی ( $P=0.0001$ )، تمرین تناوبی + مکمل ( $P=0.0001$ )، تمرین تداومی ( $P=0.0001$ ) مشاهده شد، به گونه ای که در گروه های یادشده مقادیر SIRT3 در گروه تمرین تداومی + مکمل نسبت به سایر گروه ها بیشتر بود ( $P=0.001$ ) (شکل ۲).

علاوه بر این ها، نتایج آزمون توکی نشان داد که در گروه های مصرف مکمل ( $P=0.01$ )، تمرین تناوبی ( $P=0.04$ )، تمرین تناوبی + مکمل ( $P=0.04$ )، تمرین تداومی ( $P=0.01$ ) و تمرین تداومی + مکمل ( $P=0.01$ ) سطح SIRT3 بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنادار بالاتر بود. همچنین، تفاوت معناداری بین مقادیر SIRT3 گروه تمرین





\* تفاوت معنادار گروه‌های تمرین تداومی و تمرین تداومی + مکمل با گروه کنترل در سطح  $P < 0.0001$

+ تفاوت معنادار گروه تمرین تداومی با تمرین تداومی + مکمل در سطح  $P < 0.0001$

شکل ۲. میانگین کبد Mousهای صحرایی نر متعاقب ۶ هفته تمرین تداومی و تناوبی و مصرف روزانه

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطح SIRT3 بافت کبدی در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری بیشتر بود، به‌طوری که سطح آن در گروه تمرین تداومی به‌همراه روزانه‌ترول به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود. در برخی مطالعات انجام‌شده در این زمینه یافته‌های مشابه با مطالعه حاضر گزارش کرده است [۱۹ — ۲۱]. همکاری و همکاران [۲۱] اثر تمرین ورزشی را بر بیان پروتئین SIRT3 و نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ۳ ترانس‌سفرز (Nampt) در عضله اسکلتی موش بررسی کردند. موش‌ها با دویدن روی نوارگردان با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه، ۶۰ دقیقه در روز، ۷ روز در هفته و برای ۴ هفته تمرین کردند. تمرین ورزشی بیان پروتئین SIRT3 در عضلات نعلی و دوقلو را افزایش داد، اما هیچ تغییر معناداری در بیان پروتئین Nampt ایجاد نکرد [۲۱]. این نتایج ممکن است

بر آن دلالت داشته باشد که بیان پروتئین SIRT3 تحت تأثیر تمرینات ورزشی میان مدت افزایش می‌یابد و در نتیجه، باعث بهبود وضعیت سلول می‌شود. همچنین، لازا و همکاران [۲۲] نشان دادند که تمرین ورزشی سطوح SIRT3 عضله اسکلتی را در افراد جوان و سالمند افزایش می‌دهد. در کل، در بیشتر تحقیقات نشان داده شده است که تمرین ورزشی منظم [۱۱، ۱۲، ۲۲]، و نه ورزش کوتاه‌مدت کمتر از یک هفته [۶، ۱۰]، سطح پروتئین SIRT3 را در بافت عضله اسکلتی یا کبد افزایش می‌دهد؛ موضوعی که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

فعالیت آنزیمی سیرتوین نیازمند  $NAD^+$  کوفاکتور است. بنابراین، در شرایط استرس انرژی‌یابی - مانند محدودیت در کالری، گرسنگی و فعالیت ورزشی - به‌طور معناداری افزایش می‌یابد [۳]. این موضوع در تحقیقات دیگر نیز مشاهده شده است و افزایش بالقوه  $NAD^+$  فعالیت سیرتوین،

میتوکندریایی، تحقیقات نسبتاً کمی انجام شده است، نمی‌توان قیاس دقیقی انجام داد [۱۱].

با وجود مشابهت و همسویی نتایج اشاره‌شده، در نتایج ناهم‌سویی نیز وجود دارد. برای مثال، هاج و همکاران [۱۳] به بررسی اثر تمرین هوازی (دویدن روی نوارگردان با سرعت ۳۰ m/min به مدت ۶۰ دقیقه، ۵ بار در هفته و به مدت ۲ هفته) بر میزان SIRT3 عضلهٔ دوقلوی موش صحرایی پرداختند و تفاوتی در میزان SIRT3 گروه تمرین و کنترل مشاهده نکردند. احتمالاً دورهٔ کوتاه تمرین (۲ هفته) دلیل این نتایج بوده است و به نظر می‌رسد برای افزایش میزان SIRT3 به دورهٔ طولانی‌تر تمرین نیاز باشد.

همچنین، در نمونه‌های عضلانی پالاسیوس و همکاران [۶]، سطوح پروتئین SIRT3 در عضلات کندانقباضی مانند نعلی بیشتر از عضلات تندانقباض دراز بازکنندهٔ انگشتان پا و دو قلو بود. علاوه بر این، سطح پروتئین SIRT3 در عضلهٔ سه‌سر بازویی درگیر در فعالیت روی چرخ‌گردان افزایش یافت، ولی در عضلهٔ قلب نمونه‌های موش مورد آزمایش تغییری نکرد. این پژوهشگران بالاتر بودن محتوای میتوکندریایی و ویژگی اکسایشی بافت‌هایی با فعالیت سوخت‌وسازی بالا—مانند کلیه، بافت چرب قهوه‌ای، کبد و مغز—را دلیل نتایج خود دانسته‌اند.

SIRT3 پاسخ سلولی به فشار اکسایشی و محدودیت کالری را با فعال کردن ایزوسیترات دهیدروژناز-۲ (IDH2) و سوپر اکسید دیسموتاز-۲ (SOD2) برای کاهش گلوکوتایون اکسیدشده و ROS کنترل می‌کند [۲۰]. طی تمرین ورزشی، تنظیمات ساختاری و عملکردی در عضلات اسکلتی پستانداران برای افزایش بیونز میتوکندریایی، بهبود اکسیژن مصرفی بیشینه، افزایش آستانهٔ لاکتات، تأمین

به‌دنبال چنین مداخلاتی تأیید شده است [۵، ۶]. از این‌رو، از دلایل احتمالی افزایش میزان SIRT3 در نتیجهٔ تمرین تداومی و تناوبی شدید در تحقیق حاضر، می‌توان به همین استرس انرژیایی و سازگاری‌های ناشی از افزایش چگالی میتوکندریایی و در نتیجه، افزایش محتوای  $NAD^+/NADH$  اشاره کرد.

در شرایط استرس انرژیایی، مانند فعالیت ورزشی، برای حفظ شارژ انرژی سلولی و نسبت ATP مصرفی با ATP تولیدی، مقدار خیلی بیشتری NADH (حاصل از چرخهٔ کربس و اکسایش چربی) اکسیده می‌شود، محتوای  $NAD^+$  افزایش می‌یابد و بالطبع، فعالیت SIRT3 وابسته به  $NAD^+$  نیز بهبود می‌یابد. در مداخلات طولانی‌مدت، نظیر تمرینات ورزشی، سازگاری‌های عمدهٔ سوخت‌وسازی، از جمله افزایش چگالی (حجم و تعداد) میتوکندریایی، در بافت عضله و کبد ایجاد می‌شود و به‌موجب آن، محتوای  $NAD^+$  و  $NADH$  و حساسیت میتوکندریایی افزایش می‌یابد و طبیعتاً محتوای کل SIRT3 میتوکندریایی، همچنین پاسخ SIRT3 به تغییرات  $NAD^+/NADH$  نیز بهبود پیدا می‌کند [۶، ۸].

در تحقیق حاضر نیز در گروه‌های تمرینی شاهد افزایش محتوای SIRT3 بافت کبد بودیم و به‌ویژه مشاهده کردیم که مقدار این افزایش، در گروه تمرین تداومی نسبت به سایر گروه‌ها و گروه تمرین تناوبی بیشتر است. این روند تغییرات، احتمالاً به ماهیت متفاوت تمرینات تداومی و اثرگذاری بیشتر این گونه تمرینات بر محتوای  $NAD^+$  /  $NADH$  و جلوگیری از کاهش ظرفیت اکسایشی میتوکندریایی در عضلهٔ اسکلتی انسان متعاقب افزایش سن مربوط می‌شود. با این حال و از آنجا که در زمینهٔ آثار تمرینات تناوبی بر وضعیت سوخت‌وسازی و بیونز

مصرفی بافت مغز (بر حسب میلی‌لیتر/ گرم بافت) بیشتر از بافت کبد است و معمولاً مصرف اکسیژن زیاد باعث تولید بنیان آزاد بیشتر و آسیب جدی‌تر به هسته می‌شود؛ بدیهی است که اجرای منظم تمرین، سازگاری بهتری ایجاد می‌کند.

بر اساس اطلاعات پیشین، OGG1 به کمک آنزیم‌های گلیکوسیلایز DNA باعث ترمیم آسیب‌های ناشی از فشار اکسایشی و آسیب‌های مرتبط با 8-OHdG می‌شود؛ ROS تولیدشده در جریان تمرین تناوبی از طریق بهبود ظرفیت ضد اکسایشی، بیوزنز میتوکندریایی، حساسیت ازسولینی، حفاظت سلولی و ظرفیت هوازی عضلات اسکلتی، باعث افزایش سازگاری در بدن می‌شود [۲۴]. افزایش فشار اکسایشی ممکن است باعث گسترش بی‌ثباتی ژنومی و آسیب DNA شود؛ روندی که احتمالاً به افزایش تواتر جهش می‌انجامد. گونه‌های واکنشی اکسیژن خود نیز مولکول‌های مهم پیام‌رسانی است و در سطوح پایین ممکن است باعث تغییر رونویسی ژن و تکثیر سلولی شود [۹]. ممکن است عدم‌تغییر در سطح OGG1 کبد متعاقب تمرین تناوبی شدید، به دلیل افزایش آنزیم‌های ضد اکسایشی، بهبود ظرفیت ضد اکسایشی تام بدن، یا عدم‌ایجاد فشار اکسایشی محرک بافت باشد [۲۵]. همچنین، در تمرینات تناوبی با شدت بالا، اگرچه محتوای NAD<sup>+</sup>/NADH سیتوپلاسم به‌واسطه تبدیل پیرووات به لاکتات افزایش می‌یابد، شاید سطوح NAD میتوکندریایی را دستخوش تغییر نکند و شاید یکی از عواملی اثرگذار بر عدم‌تأثیر تمرین تناوبی بر سطح OGG1 کبد همین موضوع باشد.

از سوی دیگر، با توجه به اینکه بافت کبد حین تمرین بافت غیرفعالی تلقی می‌شود، عمده سازگاری‌های تمرینی در این بافت از طریق تغییرات جریان خون کنترل و اعمال

انرژی بیشتر از طریق اکسایش اسیدهای چرب و در نهایت انتقال تارهای تندانبض گلیکولیزی به تارهای کندانبض اکسایشی ضروری است [۷، ۱۰].

یکی دیگر از نتایج پژوهش حاضر این بود که متعاقب شش هفته تمرین تناوبی شدید، سطح OGG1 کبد موش‌ها نسبت به گروه کنترل بالاتر بود، در حالی که مقادیر این شاخص بین گروه‌های تمرین تناوبی شدید با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت.

بو و همکاران [۱۰] گزارش کردند که دویدن موش‌ها روی نوارگردان با سرعت ۱۵ متر در دقیقه با شیب ۵ درصد به مدت ۶۰ دقیقه، ۵ روز در هفته و برای ۲۰ هفته، باعث افزایش فعالیت محتوای SIRT3 و سطح OGG1 میتوکندری و کاهش تولید ROS می‌شود. نتایج این تحقیقات با نتایج پژوهش حاضر همسوست. این نتایج این فرض را تقویت می‌کند که افزایش ظرفیت اکسایش میتوکندریایی ناشی از ورزش و جلوگیری از آپوپتوزیس با واسطه میتوکندریایی در بافت‌های عضلانی و کبد، ناشی از افزایش بیان پروتئین‌های SIRT3 و OGG1 است [۲۳، ۲۴].

با وجود این قبیل مطالعات، در پژوهش‌هایی نیز نتایج ناهم‌سویی گزارش شده است.

افضل‌پور و همکاران [۱] مشاهده کرده‌اند که پس از ۶ هفته دویدن روی نوارگردان به صورت تناوبی شدید با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و تکرار ۶ روز در هفته، سطح OGG1 مغز افزایش می‌یابد؛ ولی سطح 8-OHdG<sup>۲۴</sup> مغز و کبد تغییر نمی‌کند. در تحقیقی دیگر گزارش شده است که تمرینات شنا (۸ هفته، ۵ روز در هفته، ۲ ساعت در روز) شاخص OGG1 افراد را تغییر نمی‌دهد [۲۳]. دلیل احتمالی ناهم‌سویی نتایج فوق با یافته‌های پژوهش حاضر، تفاوت در بافت مورد مطالعه (مغز در برابر کبد) است. میزان اکسیژن

علاوه بر این، لودوویچی و همکاران [۲۸] بیان کرده‌اند که مصرف ۱۴ روز رزوراترول با دوز ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، باعث تغییر دفاع ضداکسایشی و افزایش OGG1 کبد موش‌هایی می‌شود که دچار آسیب اکسایشی از طریق القای NP2<sup>۲۶</sup> شده‌اند؛ در حالی که در گروه سالم، مصرف رزوراترول تغییری در سطح OGG1 کبد ایجاد نکرد. از طرف دیگر و برخلاف نتایج پژوهش حاضر، در بعضی مطالعات نشان داده شده است که متعاقب مصرف رزوراترول به‌مدت ۸ ماه، سطح OGG1 بافت پستان افزایش می‌یابد؛ تغییری که می‌توان آن را به تنظیم افزایشی NRF2<sup>۲۷</sup> نسبت داد [۲۹]. پژوهشگران معتقدند با مصرف رزوراترول، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و سطح OGG1 افزایش و آسیب‌های DNA و سطح 8-oxoG کاهش می‌یابد و احتمالاً افزایش قابلیت ترمیم 8-oxoG به افزایش فعالیت OGG1 بستگی دارد [۲۹].

بر خلاف مطالعه شیرمر و لودوویچی [۲۶]، گروه مصرف‌کننده پژوهش حاضر تنها در معرض استرس ناشی از گاوژ بود. از آنجا که موش‌ها در شروع بازه پژوهش، ۱۲ هفته سن داشتند و طی مداخله، حدود ۸ هفته دیگر به سنشان افزوده شد، می‌توان آن‌ها را مشمول قانون افزایش سن، مطابق نظریه «رادیکال‌های آزاد پیری» به حساب آورد. احتمال عدم تغییر OGG1 در گروه مکمل را می‌توان از یک سو، دوز ناکافی رزوراترول (روزانه به میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم جرم بدن) و از سوی دیگر، تأثیرپذیری بسیار سخت این شاخص نسبت به سایر مکمل‌های ضداکسایشی دانست.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، تمرین تداومی + مکمل باعث افزایش هر دو متغیر وابسته تحقیق شد؛ در حالی که در گروه تمرین تناوبی + مکمل متعاقب ۶ هفته مداخله، تنها

می‌گردد. تمرینات تناوبی با شدت زیاد، احتمالاً مانع جریان خون این بافت حین تمرین و عدم تغییر OGG1 کبد شده است [۱۶].

در تحقیق حاضر، تأثیر مکمل رزوراترول در ترکیب با تمرین نیز بررسی و مشخص شد که متعاقب ۶ هفته مصرف رزوراترول، سطح SIRT3 بافت کبد موش‌های نر آلبینو و دستار نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری بیشتر (۴۱ درصد) است و متعاقب تمرین + مکمل به نسبت تمرین بدون مکمل، تغییرات سطح SIRT3 به‌طور معناداری بیشتر است، در حالی که سطح OGG1 تغییر معناداری نکرد.

در برخی مطالعات انجام شده در این زمینه، یافته‌های مشابه با مطالعه حاضر گزارش شده است [۱۴، ۱۶]، در حالی که نتایج ناهم‌سویی نیز وجود دارد. شیرمر و همکاران [۲۶] کاهش بیان ژن SIRT3 را در مدل‌های بدون استرس و بدون هیچ اختلالی متعاقب مصرف رزوراترول نشان دادند. آن‌ها عدم تغییر ژن SIRT1 و کاهش بیان ژن SIRT3 متعاقب مصرف رزوراترول را به‌دلیل عدم تغییر بیان ژن PGC $\alpha$  دانسته‌اند.

رزوراترول خود محرک SIRT3 است [۱۵]، به‌گونه‌ای که سبب تنظیم سوخت و ساز انرژی از طریق تحریک NADH دهیدروژناز، به‌ویژه فعالیت کمپلکس ۱- میتوکندریایی<sup>۲۵</sup> و افزایش نسبت NAD<sup>+</sup>/NADH می‌شود [۲۷]. اعتقاد بر آن است که این سطح بالاتر NAD<sup>+</sup>، باعث افزایش مسیرهای وابسته به SIRT3 (مانند چرخه کربس و اکسایش اسیدهای چرب) می‌شود [۱۴]. در همین راستا، پژوهش گرتز و همکاران [۱۵] نشان داد که استفاده از مکمل رزوراترول، باعث تحریک فعالیت‌های استیل‌زدای SIRT5 و مهار فعالیت‌های وابسته به SIRT3 می‌شود.

حاضر و بر این اساس که افزایش SIRT3 و OGG1 به کاهش آسیب mtDNA و وقوع پیری زودرس می‌انجامد [۳۱]، افزایش ناشی از ورزش در SIRT3 و OGG1 و آثار آن بر عملکرد میتوکندریایی را می‌توان مبین آثار درمانی ورزش دانست. از سوی دیگر، در پژوهش حاضر، عوامل بالادستی و پایین‌دستی SIRT3 و OGG1 مانند AMPK، FOXO3 و NF-KB به‌منظور تعیین دقیق مسیر پیام‌دهی تمرینات HIIT و مکمل رزوراترول سنجش نشده است؛ از این رو، توصیه قطعی در این زمینه نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

در مجموع، نتایج تحقیق حاضر دال بر آن است که اجرای تمرینات تداومی و تناوبی به‌همراه و بدون دریافت مکمل رزوراترول، باعث بهبودی OGG1 و SIRT3 کبد می‌شود و جالب‌تر آنکه ترکیب تمرینات هوازی (به‌ویژه تمرین تداومی) و رزوراترول، بهبودی بیشتر این دو شاخص را در پی دارد. این بدان معناست که می‌توان از این نوع تمرین و مکمل برای تعدیل فشار اکسایشی و تأخیر در فرایندهای پیری و سالمندی بهره برد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از آزمودنی‌های پژوهش برای همکاری صمیمانه در اجرای طرح، تشکر و قدرانی کنند.

### پی‌نوشت‌ها

1. sirtuins
2. Forkhead box O<sub>3</sub>
3. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
4. deacetylation
5. oxoguanine glycosylase 1
6. 8-hydroxyguanine
7. 8-hydroxydeoxyguanosine
8. Resveratrol
9. sigma-aldrich
10. bonso digital scale 322
11. protease inhibitory
12. goldbiotechnology (www.goldbio.com)

SIRT3 افزایش معناداری نشان داد و سطح OGG1 تغییر معناداری نکرد.

به طور کلی، در رابطه با سازوکار احتمالی تأثیر هم‌زمان تمرین ورزشی و مکمل رزوراترول می‌توان گفت که پلی‌فنول‌های موجود در رزوراترول، با افزایش ضداکسایش‌های درون سلولی مانند گلوکاتینون، اسید اوریک و بیلی‌روبین و افزایش ظرفیت آنزیم‌های ضداکسایشی درون سلولی مانند گلوکاتینون پراکسید و کاتالاز، مهار مسیر سیگنالی انسولین، مهار مسیر سیگنالی mTOR، افزایش فعالیت AMPK، ممانعت از کوتاه‌شدن تلومرها و در نهایت فعالیت سیرتوین‌هایی مانند SIRT1 و SIRT3 همچنین افزایش سطح OGG1، موجب افزایش ظرفیت دستگاه ضداکسایشی بدن و تأخیر در فرایند پیری و افزایش طول عمر می‌شود [۲۹، ۳۰].

از سوی دیگر، پژوهشگران عنوان کرده‌اند که تمرینات ورزشی، به‌ویژه تمرینات هوازی، از طریق مسیرهای وابسته به فسفات و کلسیم و فعالیت آنزیم‌های کیناز وابسته به AMPK و کالمودولین، سبب افزایش SIRT3 می‌شود و در پی آن، SIRT3 از طریق فعال‌سازی مسیر FOXO3 و AMPK، باعث افزایش بیان ژنی OGG1 و کاهش فشار اکسایشی ناشی از ورزش شدید می‌شود [۳۰]؛ ولی، دلایل افزایش SIRT3 در پی اجرای تمرینات تناوبی شدید هنوز به‌خوبی شناخته نشده است و پژوهشگران معتقدند که این مسیرها سبب افزایش دو شاخص مذکور می‌شود [۳].

اعتقاد بر آن است که شدت زیاد تمرینات تناوبی موجب افزایش زیاد کلسیم درون سلولی و هیدرولیز ATP می‌شود، ولی به‌نظر می‌رسد، با توجه به تغییرات شدید شارژ انرژی درون عضلانی و فعال‌شدن AMPK، مسیرهای وابسته به فسفات نقش اصلی را ایفا می‌کند. با توجه به نتایج پژوهش

23. superoxide dismutase 2 (SOD2)

24. 8-hydroxydeoxyguanosine

25. mitochondrial complex I

26. 2-nitropropane

عامل تنظیم‌کننده پروتئین‌های ضداکسایشی است: Nuclear factor

erythroid 2-Regulator Factor 2 (NRF<sub>2</sub>)

13. freeze-thaw

14. stuart mixers vortex

15. wells

16. plate

17. Bradford

18. thermo scientific

19. ZellBio

20. Elisa reader

21. nicotinamide phosphoribosyltransferase

22. isocitrate dehydrogenase-2 (IDH2)

### منابع

- [1] Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. [Physiol Behav.](#) 2015; 147: 78-83
- [2] [Tejero J](#), [Shiva S](#), [Gladwin MT](#). Sources of vascular nitric oxide and reactive oxygen species and their regulation. [Physiol Rev.](#) 2019; 99(1): 311-379.
- [3] Afzalpour ME, Ghasemi E, Zarban A. Effects of 10 weeks of high intensity interval training and green tea supplementation on serum levels of sirtuin-1 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1-alpha in overweight women. [Sci & Sports.](#) 2017; 32: 82-90.
- [4] Brandauer J, Andersen MA, Kellezi H, Risis S, Frøsig C, Vienberg SG, et al. AMP-activated protein kinase controls exercise training-and AICAR-induced increases in SIRT3 and MnSOD. [Front Physiol.](#) 2015; 6: 85.
- [5] Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. [Genes Dev.](#) 2006; 20(21): 2913-2921.
- [6] Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, Chen KY, Manabe Y, Ward Jr, et al. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1alpha in skeletal muscle. [Aging \(Albany NY\).](#) 2009; 1(9): 771-783.
- [7] Chen Y, Fu L, Wen X, Wang X, Liu J, Cheng Y, et al. Sirtuin-3 (SIRT3), a therapeutic target with oncogenic and tumor-suppressive function in cancer. [Cell Death Dis.](#) 2014; 5(2): 1047.
- [8] Cheng Y, Ren X, Gowda AS, Shan Y, Zhang L, Yuan Y, et al. Interaction of Sirt3 with OGG1 contributes to repair of mitochondrial DNA and protects from apoptotic cell death under oxidative stress. [Cell Death Dis.](#) 2013; 4(7): 731.
- [9] Bjørge MD, Hildrestrand GA, Scheffler K, Suganthan R, Rolseth V, Kuśnierczyk A, et al. Synergistic actions of Ogg1 and mutyh DNA glycosylases modulate anxiety-like behavior in mice. [Cell Rep.](#) 2015; 13(12): 2671-2678.
- [10] Bo H, Kang W, Jiang N, Wang X, Zhang Y, Ji LL. Exercise-induced neuroprotection of hippocampus in APP/PS1 transgenic mice via upregulation of mitochondrial 8-oxoguanine DNA glycosylase. [Oxid Med Cell Longev.](#) 2014; 2014: 834502.
- [11] [Little JP](#), [Safdar A](#), [Wilkin GP](#), [Tarnopolsky MA](#), [Gibala MJ](#). A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: Potential mechanisms. [J Physiol.](#) 2010; 588(6): 1011-1022.
- [12] Fathi A, Noorshahi M, Haghparast A, Hossini H. Effect of eight-week aerobic continuous and high intensity interval training

- on levels of SIRT3 in skeletal muscle tissue of Wistar rats. **Physiol Exerc Phys Act.** 2016; (16): 1277-1289. [in Persian]
- [13] Hodge T, Starnes J, Feger B, Hixson L, Harris MB. Effects of exercise and body temperature on eNOS, SIRT1, SIRT3 and Hsp70 expression in rat plantaris muscles (1164.6). *The FASEB J.* 2014; 28(1): 1164-1166.
- [14] Desquirit-Dumas V, Gueguen N, Leman G, Baron S, Nivet-Antoine V, Chupin S, et al. Resveratrol induces a mitochondrial complex I-dependent increase in NADH oxidation responsible for sirtuin activation in liver cells. *J Biol Chem.* 2013; 288(51): 36662-36675.
- [15] Gertz M, Nguyen GT, Fischer F, Suenkel B, Schlicker C, Fränzel B, et al. A molecular mechanism for direct sirtuin activation by resveratrol. *PLoS One.* 2012; 7(11): e49761.
- [16] Divald A, Powell SR. Proteasome mediates removal of proteins oxidized during myocardial ischemia. *Free Radic Biol Med.* 2006; 40(1): 156-64.
- [17] Chilibeck P, Bell G, Farrar R, Martin T. Higher mitochondrial fatty acid oxidation following intermittent versus continuous endurance exercise training. *Can J Physiol Pharmacol.* 1998; 76(9): 891-894.
- [18] Lau YS, Patki G, Das-Panja K, Le WD, Ahmad SO. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *Eur J Neurosci.* 2011; 33(7): 1264-1274.
- [19] Brandauer J, Andersen MA, Kellezi H, Risis S, Frøsig C, Vienberg SG, et al. AMP-activated protein kinase controls exercise training- and AICAR-induced increases in SIRT3 and MnSOD. *Front Physiol.* 2015; 6: 85.
- [20] Ahn BH, Kim HS, Song S, Lee IH, Liu J, Vassilopoulos A, et al. A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105(38): 14447-14452.
- [21] Hokari F, Kawasaki E, Sakai A, Koshinaka K, Sakuma K, Kawanaka K. Muscle contractile activity regulates Sirt3 protein expression in rat skeletal muscles. *J Appl Physiol.* 2010; 109(2): 332-340.
- [22] Lanza IR, Short DK, Short KR, Raghavakaimal S, Basu R, Joyner MJ, et al. Endurance exercise as a countermeasure for aging. *Diabetes.* 2008; 57(11): 2933-2942.
- [23] Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int.* 2006; 49(4): 387-392.
- [24] Marfe G, Tafani M, Pucci B, Di Stefano C, Indelicato M, Andreoli A, et al. RETRACTED ARTICLE: The effect of marathon on mRNA expression of anti-apoptotic and pro-apoptotic proteins and sirtuins family in male recreational long-distance runners. *BMC Physiol.* 2010; 10(1): 7.
- [25] Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules.* 2015; 5(2): 356-377.
- [26] Schirmer H, Pereira TCB, Rico EP, Rosemberg DB, Bonan CD, Bogo MR, et al. Modulatory effect of resveratrol on SIRT1, SIRT3, SIRT4, PGC1 $\alpha$  and NAMPT gene expression profiles in wild-type adult zebrafish liver. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(3): 3281-3289.
- [27] Abdel-Wahab BA, Abdel-Wahab MM. Protective effect of resveratrol against chronic intermittent hypoxia-induced spatial memory deficits, hippocampal oxidative DNA damage

and increased p47Phox NADPH oxidase expression in young rats. [Behav Brain Res](#). 2016; 305: 65-75.

[28] Lodovici M, Bigagli E, Luceri C, Manni EM, Zaid M. Protective effect of resveratrol against oxidation stress induced by 2-nitropropane in rat liver. *Pharmacology & Pharmacy (PP)*. 2011; 2: 127-135.

[29] Singh B, Shoulson R, Chatterjee A, Ronghe A, Bhat NK, Dim DC, et al. Resveratrol inhibits estrogen-induced breast carcinogenesis through induction of Nrf2-mediated protective

pathways. *Carcinogenesis*. 2014; 35(8): 1872-1880.

[30] White AT, Schenk S. NAD<sup>+</sup>/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise. [Am J Physiol Endocrinol Metab](#). 2011; 303(3): E308-E321.

[31] Santos-Alves E, Marques-Aleixo I, Rizo-Roca D, Torrella J, Oliveira P, Magalhães J, et al. Exercise modulates liver cellular and mitochondrial proteins related to quality control signaling. [Life Sci](#). 2015; 135: 124-130 .





Shahid Beheshti University

## Sport and Exercise Physiology

Spring and Summer 2020; Vol.13; No.1

---

### The effect of vigorous continuous and interval exercise training along with resveratrol on SIRT3 and OGG1 proteins in the liver tissue of male Wistar rats

Mohammad Esmail Afzalpour<sup>1\*</sup>, Hadi Sarir<sup>2</sup>, Zoufa Zanjirian<sup>1</sup>, Mohsen Mohammadnia Ahmadi<sup>1</sup>, Elham Ghasemi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Sport Sciences, Faculty Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran.

<sup>2</sup>Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

\*Corresponding Author: Mohammad Esmail Afzalpour, Tel: +98-955614517, E-mail: mafzalpour@birjand.ac.ir

Received: 30/11/2018

Revised: 21/04/2019

Accepted: 05/05/2019

#### Abstract

**Purpose:** Sirtuins-3 (SIRT3) is a mitochondrial deacetylase and through acetylation of Oxoguanine Glycosylase 1 (OGG1) protein caused repair mitochondrial DNA damage and prevents cell apoptosis. The purpose of this study was to evaluate the effect of vigorous continuous and interval exercise training along with resveratrol on SIRT3 and OGG1 proteins in the liver tissue of male Wistar rats.

**Methods:** In this research, 48 male Albino Wistar rats were divided into six equal of eight groups including sedentary control, supplement, interval exercise, interval exercise + supplement, continuous training and continuous training +supplement. Continuous and interval training performed for 6

weeks, 6 days per week at speed of 27 and 54 m/min respectively on a rat treadmill. Resveratrol users received daily 50 mg/kg of body weight supplements as gavage. After intervention, the animals were anesthetized and their liver samples were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests.

**Results:** After 6 weeks, OGG1 level was significantly increased in continuous exercise ( $P=0.0001$ ) and continuous training + supplement ( $P=0.0001$ ) groups relative to the control group. Also, liver tissue SIRT3 levels in supplementation group ( $P=0.01$ ), interval training group ( $P=0.04$ ), interval training + supplement group ( $P=0.04$ ), continuous exercise group ( $P=0.001$ ), and continuous training + supplement group ( $P=0.001$ ) increased than control group after six weeks.

**Conclusion:** Compare to the interval training, performing of continuous training along with resveratrol consumption can induce more improvement in cell survival and life-span factors such as SIRT3 and OGG1.

**Keywords:** Antioxidant supplements, Cell survival, Exercise training, Stress oxidative.