مقاله پژوهشي

تغییرات سیرتوئین ۶ و طول تلومر سلول‌هاي کبدي رت‌هاي پیر پس از ۶ هفته مداخله تمرین تناوبي خیلي شدید شنا و مکمل رزوراترول

سروش شاه‌حسینی[۱]، علی‌اصغر رواسی [۲]، رضا نوری[۳]

تاریخ دریافت ۱۴۰۰/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۱۰/۱۳

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: فرسایش تلومر دلیل اصلی وقوع پیری در نظر گرفته‌شده است. هدف این پژوهش تعیین تأثیر تعاملی تمرین تناوبی خیلی شدید شنا و مکمل رزوراترول بر بیان ژن سیرتوئین ۶ و طول تلومر سلول‌های کبدی رت‌های پیر است.

مواد و روش کار: ۲۵ سر رت نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند: ۱. گروه شاهد که تمرین نمی‌کردند، ۲. گروه حلال که فقط حلال دریافت کردند، ۳. گروه فعالیت ورزشی که ۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت را در ۶ هفته یک روز در میان انجام دادند، ۴. گروه مکمل که فقط مکمل رزوراترول روزانه ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هر رت محلول در یک درصد متیل سلولز دریافت کردند، و ۵. گروه ترکیب مکمل و فعالیت ورزشی (ت+م) که از ترکیب تمرین و مکمل استفاده کردند. برای اندازه‌گیری مقادیر بیان ژن سیرتوئین ۶ و طول تلومر از روش کمی Real time PCR استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه، و توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS 25 انجام شد.

یافته‌ها: مصرف رزوراترول و فعالیت ورزشی موجب افزایش معنادار طول تلومر درگروه های شاهد (P=۰،۰۰۰ و P=۰،۰۰۱) و حلال (P=۰،۰۰۴ و P=۰،۰۰۷) شد. بیان ژن سیرتوئین ۶ تحت تأثیر مصرف رزوراترول قرار نگرفت (P=۰،۹۸۴). با اینحال، فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان ژن سیرتوئین ۶ (P=۰،۰۱۳) شد. ترکیب مکمل دهی رزوراترول و فعالیت وزشی موجب افزایش مضاعف طول تلومر (P=۰،۳۹۵) و سیرتوئین ۶ (P=۰،۵۰۲) نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: تعامل تمرین تناوبی خیلی شدید شنا و مکمل رزوراترول، بر بیان ژن سیرتوئین ۶ و طول تلومر سلول‌های کبدی رت‌های پیر اثر مضاعف نمی‌گذارد. سازوکار مولکولی کاهش سرعت فرسایش تلومر احتمالاً امری پیچیده است که تحت تأثیر مداخله‌های همزمان ذکر شده قرار نمی‌گیرد.

کلیدواژه‌ها: تمرین تناوبی خیلی شدید، مکمل آنتی‌اکسیدانی، طول تلومر، سیرتوئین ۶، پیری، سلول کبدی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره هشتم، ص ۶۳۰-۶۱۹، آبان ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: جزیره کیش، پردیس بین‌الملل کیش دانشگاه تهران، گروه علوم ورزشی، تلفن: ۴۴۴۳۰۰۵۵(۰۷۶)

Email: sr.shahhosseini@ut.ac.ir

مقدمه

پیری پدیده‌ی پیچیده‌ای است که بر عوامل اثرگذار ژنتیک و اکتسابی سیستم ایمنی تأثیر می‌گذارد (۱). یکی از مهم‌ترین دستگاه‌های بدن که دست‌خوش سازگاری غیر مطلوب در دوره پیری می‌شود کبد است. پیری در کبد همراه است با کاهش تکثیر سلولی، اختلالات متابولیکی، کاهش طول تلومر، آسیب‌های ژنومی و بروز سیگنال‌های جهشی (۲). فشار اکسایشی یکی از عوامل تهدیدکننده سلامتی در دوران پیری و از مهم‌ترین عوامل پیری سلولی است (پیری). کوتاه شدن طول تلومر نیز می‌تواند تا حد زیادی تحت تأثیر فشار اکسایشی و التهاب باشد (۳). در سال‌های اخیر فرسایش تلومر به‌عنوان یکی از عوامل اصلی پیری سلولی معرفی‌شده است (۴). تلومرها ساختارهای کلاهک مانندی هستند که در دو انتهای هر رشته از DNA قرار دارند و از توالی‌های نوکلئوتیدی تکراری تشکیل‌شده‌اند. حفاظت از یکپارچگی کروموزوم و بروز اختلالات ژنی از وظایف عمده تلومرها است. به‌مرورزمان و با هر تقسیم سلولی کروموزوم‌های تلومر دچار کاهش شده و منجر به پیری و یا آپاپتوز سلول می‌شوند در حقیقت طول تلومر با سن فیزیولوژیایی و تقویمی، کوتاه می‌شود و سرعت کوتاه شدن تلومر می‌تواند نشان‌دهنده سرعت

[۱]. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، گروه علوم ورزشی، پردیس بین‌الملل کیش، دانشگاه تهران، کیش، ایران (نویسنده مسئول)

[۲]. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۳]. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین‌المللی کیش، دانشگاه تهران، کیش، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

پیر شدن زیستی باشد (۴،۵). سیرتوئین‌ها خانواده‌ای از پروتئین‌های پیام‌رسان هستند که بر کاهش فشار اکسایشی، تنظیم متابولیک سلول و محافظت از تلومر نقش ایفا می‌کنند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند سیرتوبین‌ها وظایفی همچون واکنش‌های وابسته به NAD^+ازجمله داستیله شدن و ADP ریبوزیله شدن را بر عهده‌دارند (۵-۷). سیرتوئین ۶ یکی از انواع سیرتوبین‌ها در هسته قرارگرفته و با کروماتین مرتبط بوده و بر ساختار کروماتین تلومر اثرگذار است. سیرتوئین ۶ با داستیله کردن H3k56 بر ناحیه آسیب‌دیده DNA اثر می‌گذارد بنابراین می‌تواند از تلومرها در برابر کوتاه شدن محافظت کند و همچنین سلول را در برابر فشار اکسایشی مرتبط با دی ان ای حفظ کند و در پاسخ به فشار اکسایشی، پیام‌رسانی استرس را برای فعال کردن دستگاه بازسازی DNA یکپارچه کند. فقدان سیرتوئین ۶ با افزایش آسیب به DNA همراه است و می‌تواند منجر به پیری و آپاپتوز شود (۸-۹). با توجه به مطالب فوق، به نظر می‌رسد براثر فشار اکسایشی بیان سیرتوئین ۶ دچار اختلال شده و تلومر دچار فرسایش می‌شود. در این خصوص پژوهشگر کوشش نمود تا از راهکارهایی که در مطالعات پیشین ثابت‌شده ساز کار ضد اکسایشی دارند استفاده کند و اثر تعاملی آن‌ها را بر کاهش سرعت فرسایش تلومر و بیان سیرتوئین ۶ بسنجد ازاین‌رو از فعالیت ورزشی که سازوکار ضد فشار اکسایشی دارد و مکمل دهی ضد اکسایشی (رزوراترول) استفاده شد. فعالیت ورزشی شدید منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و درنهایت ایجاد فشار اکسایشی می‌شود. برخلاف این موضوع افزایش عوامل اکسیدانی در هر جلسه فعالیت ورزشی و در پی آن سازگاری تدریجی بدن با رادیکال‌های آزاد، کارکرد سازوکارهای ضد اکسایشی بدن افزایش‌یافته و درنتیجه بیماری‌های مرتبط با ROS[1] کاهش میابد (۱۰). رزوراترول فنولی طبیعی است که توسط چندین گیاه در پاسخ به عوامل بیماری‌زا مانند باکتری‌ها و قارچ‌ها ساخته می‌شود و در مواد غذایی مانند انگور قرمز، زغال‌اخته، تمشک، بادام‌زمینی و توت یافت می‌شود. به شکل فرآوری شده در مکمل‌های غذایی نیز قابل‌تولید است و به‌عنوان محرک سیرتوبین‌ها شناخته می‌شود (۱۱). سازوکار ضد اکسایشی رزوراترول با کاهش فراورده‌های گونه‌های فعال اکسیژن، پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و تکثیر آنتی‌اکسیدان‌ها مرتبط است. افزایش ظرفیت ضد اکسایشی و کاهش فشارهای اکسایشی ناشی از مصرف رزوراترول در محیط‌های آزمایشگاهی، پزشکی و درون ارگانیسم ثابت‌شده است. برای نمونه بیماری تحلیل غضروف‌ها و استخوان‌ها[2] که در سالمندان شایع است با آپاپتوز در کندروسیت‌ها[3] مرتبط است. رزوراترول از راه پاک‌سازی ROS آپوپتوز کندوروسیت‌ها را کاهش می‌دهد (۱۲). برای اثبات اثربخش بودن فعالیت ورزشی و مکمل دهی رزوراترول بر کاهش فرسایش طول تلومر و بیش بیانی سیرتوئین ۶ پژوهش‌های زیادی انجام‌شده که برخی از آن‌ها در ادامه اشاره خواهد شد. مصلا نژاد و همکاران در پژوهشی گزارش کردند ۶ هفته تمرین HIIT[4]هر هفته ۳ جلسه و در هر جلسه ۶ نوبت با حداکثر سرعت برحسب حداکثر اکسیژن مصرفی منجر به افزایش طول تلومر سلول‌های سفید خون زنان غیرفعال شد (۱۳). در پژوهشی دیگر برانداو و همکاران معلوم کردند حداکثر اکسیژن مصرفی و طول تلومر گلبول سفید زنان چاق پس از مداخله ورزشی هوازی و قدرتی به مدت ۵۵ دقیقه سه بار در هفته و به مدت ۸ هفته به نسبت قبل از شروع تمرینات افزایش معنی‌دار داشته است (۱۴). در دو پژوهش دیگر که بر سلول‌های کلیه رت‌های دیابتی و بیضه رت‌های نر ویستار انجام گرفت نشان داده شد مصرف رزوراترول موجب محافظت در برابر آسیب‌های اکسیداتیو مرتبط با DNA شده و درنتیجه با این سازوکار موجب ثبات تلومرها می‌شود (۱۵-۱۶). هوشمند و همکاران پروتکل فعالیت ورزشی را بر روی ۳۰ مرد با میانگین سنی ۶۶ سال به مدت ۱۲ هفته و با تکلیف فعالیت مقاومتی ۶۰ درصد یک تکرار بیشینه اجرا کردند، در پایان پژوهشگران افزایش معنی‌دار سیرتوئین ۶ سرمی را در آزمودنی‌ها مشاهده کردند (۱۷). لیائو و همکاران نیز پس از انجام پژوهشی بر رت‌های پیر، بیش بیانی خانواده سیرتوبین‌ها را براثر اعمال فعالیت ورزشی و مکمل دهی رزوراترول گزارش کردند. در این پژوهش طول تلومر به‌عنوان یکی از مشخصه‌های نشانگر پیری مدنظر قرار نگرفت (۱۸). لوانگو و همکاران در پژوهشی که بر سلول‌های سرطانی روده بزرگ انجام پذیرفت، این سلول‌ها را تحت القای رزوراترول قراردادند و در پایان گزارش کردند رزوراترول موجب بیش بیانی سیرتوئین ۶ می‌شود (۱۹). یانگ و همکاران در پژوهشی به‌منظور مشاهده اثر رزوراترول بر التهاب کبدی در جوندگان فربه شده با رژیم غذایی پرچربی ۳۰ سر موش را به ۳ گروه کنترل لاغر، چاقی تحریک‌شده با رژیم غذایی پرچرب (۴۵درصد کیلوکالری کل غذا متشکل از چربی) و رژیم غذایی پرچربی و رزوراترول (۸mg/kg/d) در روز تقسیم کردند. نتایج این پژوهش نشان داد رژیم غذایی پرچرب سیرتوئین ۶ سلول کبدی را در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌دهد. در ادامه پژوهشگران گزارش کردند در گروه رژیم غذایی پرچربی و رزوراترول بیان ژن سیرتوئین ۶ کبدی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت(۲۰). در بررسی متون مرتبط، پژوهشی

[1]. Reactive oxygen spicies

[2]. Osteoarthritis

[3].Chondrocyte

[4].High Intensity Interval Training

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

یافت نشد که اثر تعاملی فعالیت ورزشی و مکمل دهی رزوراترول را بر بیش بیانی سیرتوئین ۶ و حفظ طول تلومر بسنجد. بنابراین هدف پژوهش حاضر سنجش اثر استفاده تعاملی از فعالیت ورزشی و مکمل دهی رزوراترول در جهت بیش بیانی سیرتوئین ۶، و حفظ طول تلومر در بافت کبدی است.درنهایت پژوهشگر در پی پاسخ به این سؤال است،آیا می‌توان سرعت فرسایش تلومر را با اعمال مداخله چند عامل هم‌زمان و تعاملی کاهش داد و درنتیجه پیری را به تأخیر انداخت.

مواد و روش کار

نوع پژوهش حاضر بنیادی توسعه‌ای و روش آن تجربی است. جامعه آماری این پژوهش را ۲۵ سر رت نر ۲۰ تا ۲۴ ماهه پیر تشکیل می‌دادند (۲۱-۲۲). رت‌های موردپژوهش در آزمایشگاه حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان نگهداری می‌شدند. تمام مداخلات و جمع‌آوری بافت‌ها در مرکز فوق انجام شد. رت‌ها از نژاد ویستار با وزن ۳۵۰-۳۷۰ گرم و ۲۰ ماهه بودند. کاهش شناختی رت‌ها که یکی از نشانه‌های پیری است با آزمون ناول[1] محرز شد. این آزمون شامل سه مرحله است. در ابتدا هر رت به مدت ۱۰ دقیقه با محیط آزمایش (جعبه) آزمون ناول آشنا شد. بعد از مرحله آشناسازی و تمیز کردن جعبه و قرار دادن دو شیء مشابه استوانه‌ای بارنگ سبز در جعبه، هر رت به‌آرامی در جعبه برای آشنایی با اشیای مشابه (مرحله آشنایی با اشیا مشابه) گذاشته شد و به مدت ۵ دقیقه اشیا مشابه را شناسایی (به‌وسیله اعمال غریزی ازجمله بو کشیدن، لمس و توجه به اشیا) کرد. برای شروع مرحله ناول (شناسایی شیء جدید) بایستی هر رت به مدت ۴۵ دقیقه بعد از مرحله آشنایی با اشیا مشابه در قفس قرار داده شود و سپس هر رت مرحله ناول را بعد از تمیزی جعبه و جایگزین کردن یکی از اشیای مشابه با شیء کاملاً گوناگون از شیء مرحله قبل (شیء مکعبی و دارای زوایای گوناگون بارنگ سفید و مشکی) در جعبه، به مدت ۳ دقیقه انجام داد. مرحله دوم و سوم برای ارزیابی حافظه بازشناختی هر رت به‌وسیله دوربین ضبط گردید و سپس داده‌های مربوطه با مشاهده فیلم‌های ضبط‌شده جمع‌آوری شد (۲۳-۲۴). به‌منظور بررسی عدم اختلال حرکتی و تعیین سلامت جسمی رت‌ها برای انجام پروتکل تمرینی، رت‌های پیر مورد آزمون میدان باز نیز قرار گرفتند. این آزمون شامل دو مرحله است. در ابتدا هر رت به مدت ۱۰ دقیقه با محیط آزمایش (جعبه) آزمون میدان باز آشنا شد. بعد از مرحله آشناسازی و تمیز کردن جعبه، هر رت به‌آرامی مجدد در جعبه گذاشته شد سپس زمان و مسافت طی شده هر رت در مناطق گوناگون (مربع میانی و مربع محیطی) جعبه توسط دستگاه ردیابی ویدئویی هوشمند[2] که به کامپیوتر متصل بود، ضبط شد. داده‌های مربوطه جمع‌آوری و موردبررسی قرار گرفت (۲۳-۲۴). معیارهای ورود به مطالعه ۲۰ ماهه بودن سن رت‌ها، عدم وجود کاهش شناختی (نتیجه آزمون ناول) و اختلال حرکتی (نتیجه آزمون میدان باز) بود. معیارهای خروج از مطالعه عدم توانایی در اجرای پروتکل تمرین، کاهش وزن رت بیش از ۸۰ گرم، تلف شدن رت در طول دوره پژوهش بود. سپس آزمودنی‌هایی که در دو آزمون فوق انتخاب شدند به روش تصادفی ساده به ۵ گروه شاهد، حلال، مکمل، فعالیت ورزشی و ترکیب مکمل و فعالیت ورزشی (ت+م) هر گروه ۵ سر تقسیم شدند. رت‌ها در قفس‌های مخصوص جوندگان، هر قفس ۵ سر با دمای ۲۲±۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت هوا ۲۵ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲/۱۲ با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. رت‌های گروه فعالیت ورزشی، تمرین HIIT شنا انجام می‌دادند. HIIT شامل ۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بود. این پروتکل به مدت ۶ هفته (سه روز در هفته یک روز در میان) انجام شد. میزان بار اعمال‌شده‌ی اولیه ۹درصد وزن بدن رت‌ها بود که با بستن وزنه به دم رت‌ها اعمال شد. هنگام شنا وزنه به دم رت‌ها متصل می‌شد و هر هفته ۱درصد به آن اضافه شد به‌طوری‌که در هفته آخر رت‌ها با ۱۴ درصد وزن بدن خود تمرین کردند. رت‌های گروه شاهد، تمرین نکردند (در طول مدت پژوهش در قفس مخصوص جوندگان نگهداری شدند و از دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد برخوردار بودند). رت‌های گروه مکمل، فقط مکمل رزوراترول روزانه ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هر رت محلول در یک درصد متیل سلولز از طریق گاواژ دریافت کردند. چون رزوراترول به‌صورت پودر است باید در محلول متیل سلولز حل شود تا به‌صورت گاواژ به رت‌ها خورانده شود. پس برای کنترل اثر ماده محلول یک گروه به‌عنوان گروه حلال در نظر گرفته شد (۲۳-۲۴). سپس، بعد از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آشناسازی، رت‌ها شش هفته شنا کردند. تمرین سه روز در هفته، عصر هنگام که بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیتی طبیعی رت‌ها می‌باشد در زیر نور قرمز جهت کمترین استرس‌زایی انجام شد (۲۵). برای از بین بردن آثار کوتاه‌مدت تمرین و متغیرهای غیرقابل‌کنترل و استرس در رت‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین (۲۶). رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی بی‌هوش و معدوم شدند. پژوهشگران کلیه دستورالعمل‌های مندرج در راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در امور علمی در جمهوری اسلامی ایران ۱۳۹۹ را رعایت کرده و اجرای

[1]. NOVEL

[2]. Ethovision, Noldus Technology, version7

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

موازین اخلاقی در این پژوهش، توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران با شناسه IR.UT.SPORT.REC.1399.031 تائید شده است.

روش آزمایش:

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی در دسی‌کاتور متصل به کپسول دی‌اکسید کربن تحت بی-هوشی سبک قرارگرفته و کشته شدند. بعد از جدا کردن کبد، بافت کبدی رت‌ها بلافاصله استخراج و روی یخ جدا شد و در تانک ازت مایع فیکس گردید و سپس تا زمان سنجش در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. RNA موردنیاز در پژوهش با استفاده از کیازول محصول شرکت کیا زیست استخراج شد. بافت‌های آماده‌شده (بافت‌ها قبل از استفاده کاملاً باید با استفاده از دستگاه هموژنایزر و یا به روش دستی از ازت کاکلا لیز شده و آماده استفاده باشند) از قبل با شرایط کاملاً استریل روی یخ آماده شد. میکروتیوب‌های حاوی بافت لیز شده را روی یخ قرار داده و به ازای هر ۵۰ میلی‌گرم بافت، ۳۰۰ میکرو لیتر ترایزول اضافه شد. ۵ تا ۱۰ ثانیه به‌منظور مخلوط کردن محلول ورتکس شده و به مدت ۵ دقیق در دمای اتاق قرار داده شد. ۲۰۰ میکرو لیتر کلروفرم به آن اضافه شد و ۱۵ ثانیه به‌خوبی مخلوط شد. میکروتیوب به مدت ۵ دقیقه بر روی یخ با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. به میکروتیوب‌های حاوی مایع شفاف به‌اندازه برابر با آن ایزوپروپانول اضافه شد و این ترکیب را به‌آرامی مخلوط شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. مخلوط را در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در درجه ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز رویی به‌آرامی با استفاده از سمپلر دور ریخته شد. باید دقت شود که رسوب به همراه مخلوط رویی دو ریخته نشود. ۱ ml اتانول ۷۵درصد به رسوب اضافه شد و خیلی کوتاه ورتکس شد. محلول در ۷۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شد (این مرحله به‌منظور کاهش آلودگی فنولی ۲ بار قابل تکرار است). سپس فاز رویی را دور ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه اجازه داده شد که رسوب نیمه‌خشک شود. پس از نیمه‌خشک شدن رسوب ۲۰۰ تا ۳۰۰ لاندا آب DEPC[1] به آن اضافه شد. برای حل شدن رسوب می‌توان میکروتیوب‌ها را به مدت ۱۴ دقیقه در دمای ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرارداد. غلظت و خلوص RNA استخراج‌شده توسط اسپکتروفوتومتر نانودراپ بررسی شد. به‌منظور سنتز cDNA از کیت ایزی cDNA سنتسیز محصول شرکت پارس طوس استفاده شد و پس از اندازه‌گیری دانسیته نوری با استفاده از فرمول N1V1=N2V2 محلول را به غلظت ۱ ng/µl رسانده و برای سنتز cDNA آماده شد. این فرایند به ترتیب زیر بود، ۱۰ لاندا از RNA آماده‌شده را درون میکروتیوب ۰/۲ ریخته شد و ۱۰ لاندا از محلول کیت سنتز cDNA به آن اضافه شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد درون ترموسایکلر قرار داده شد. میکروتیوب‌ها را روی یخ خنک کرده و به‌منظور انجام آزمایش PCR در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره می‌کنیم. برای اندازه‌گیری مقادیر بیان ژن سیرتوئین ۶ و طول تلومر از روش کمی Real time PCR و از کیت مستر میکس‌های راکس ADDSYBR مستر شرکت ADDBIO کره جنوبی استفاده شد. واکنش‌ها در این پژوهش به‌صورت دوتایی بررسی شد. پرایمرهای آغازگر مورداستفاده برای ارزیابی بیان ژن سیرتوئین ۶ و طول تلومر و همچنین ژن رفرنس آن‌ها در جدول ۱ درج‌شده است.

جدول (۱): توالی پرایمرهای مورداستفاده در آزمایش Real- time PCR. ژن سیرتوئین ۶ و ژنرفرنس آن .(GAPDH) ژن اندازه‌گیری طول تلومر ((tel و ژن رفرنس آن (atl)

r-sirt6-f	CTGGACTGGGAGGATGCGTT
r-sirt6-r	TTAGTGGCAAGGGGCAGGTT
r-GAPDH-F	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
r-GAPDH-R	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
r-tel-f	GGTTTTTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGT
r-tel-r	TCCCGACTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTA
r-atl-f	ACGTGTTCTCAGCATCGACCGCTACC
r-atl-r	AGAATGATAAGGAAAGGGAACAAGAAGCCC

۱. آب تیمار شده با DEPC عاری از RNase می‌باشد. آب دپس برای انتقال RNA در آزمایشگاه استفاده می‌شود زیرا خط تخریب آن توسط RNase حد اقل می‌شود.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

در این پژوهش به‌منظور اطمینان از طبیعی بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسیمرنف استفاده شد. نتایج این آزمون، طبیعی بودن توزیع داده‌ها را تائید کرد. به‌منظور تعیین تفاوت معنادار در متغیرهای وابسته آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه مورداستفاده قرار گرفت. در صورت وجود تفاوت معنادار، برای تعیین دقیق محل تفاوت‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل آماری در سطح معناداری P<۰/۰۵ انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل آماری از نرم‌افزار spss25 استفاده شد.

یافته‌ها

آزمون واریانس یک‌طرفه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در تغییرات بیان ژن سیرتوئین ۶ (p= ۰،۰۰۰) و تغییرات طول تلومر (p= ۰،۰۰۰) بود. جدول ۲ نشان‌دهنده نتایج این آزمون است.

جدول (۲): نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه

		مربع میانگین	F	sig
بیان ژن سیرتویین ۶	بین گروهی	۰/۲۰۱	۱۱/۴۱۸	۰
	درون‌گروهی	۰/۰۱۸		
تغییرات طول تلومر	بین گروهی	۰/۶۳	۱۷/۰۸۳	۰
	درون‌گروهی	۰/۰۳۷		

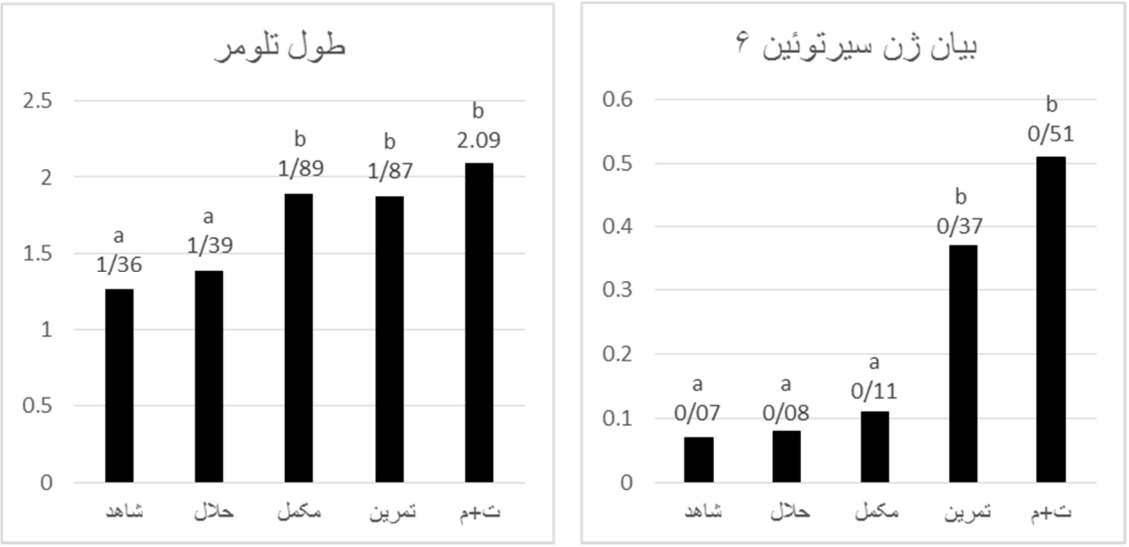
پس‌ازاینکه وجود رابطه معنادار بین گروه‌ها به اثبات رسید، از آزمون تعقیبی توکی به‌منظور تعیین دقیق محل تفاوت‌ها استفاده شد. این آزمون نشان داد بیان ژن سیرتوئین ۶ در گروه‌های تمرین و تمرین مکمل نسبت به گروه‌های شاهد، حلال و مکمل افزایش معنی‌دار داشته است. بیان ژن سیرتوئین ۶ گروه مکمل اگرچه نسبت به گروه‌های شاهد و حلال افزایش داشت اما این افزایش منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار نشد. میزان بیان ژن سیرتوئین ۶ گروه تمرین مکمل نسبت به گروه تمرین افزایش داشت اما این افزایش منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار نشد. تغییرات طول تلومر در گروه‌های مکمل، تمرین و تمرین مکمل نسبت به گروه‌های شاهد و حلال افزایش معنی‌دار داشت. تغییرات طول تلومر در بین گروه‌های مکمل و تمرین تقریباً یکسان بود. افزایش طول تلومر در گروه تمرین مکمل نسبت به گروه‌های تمرین و مکمل افزایش داشت اما این افزایش موجب ایجاد تفاوت معنی‌دار بین این گروه‌ها نشد.

جدول (۳): سطوح معنی‌دار آزمون توکی در کادر مشکی نشان داده‌شده است

	شاهد	حلال	مکمل	تمرین	ت+م
شاهد		۰،۸۱۱	۰،۰۰۰	۰،۰۰۱	۰،۰۰۰
حلال	۱،۰۰۰		۰،۰۰۴	۰،۰۰۷	۰،۰۰۰
مکمل	۰،۹۸۴	۰،۹۹۴		۱	۰،۵۰۶
تمرین	۰،۰۱۳	۰،۰۱۷	۰،۰۴۰		۰،۳۹۵
ت+م	۰،۰۰۰	۰،۰۰۰	۰،۰۰۱	۰،۵۰۲	
سطح معنی‌داری بیان ژن سیرتوئین ۶					
سطح معنی‌داری طول تلومر					

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]



شکل(۱): میزان تغییرات بیان ژن سیرتوئین ۶ و طول تلومر بین گروه‌ها

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر مبین این است که مصرف رزوراترول، فعالیت ورزشی با پروتکل فوق و ترکیب این دو روش موجب افزایش معنادار طول تلومر نسبت به گروه‌های شاهد و حلال شد. طول تلومر در گروه ترکیب فعالیت ورزشی و مکمل (ت+م) نسبت به گروه فعالیت ورزشی و مکمل افزایش معنی‌دار نداشت. بیان ژن سیرتوئین ۶ در گروه ترکیب فعالیت ورزشی و مکمل (ت+م) و گروه فعالیت ورزشی نسبت به گروه شاهد، حلال و مکمل افزایش معنی‌دار داشت. بیان ژن سیرتوئین ۶ بین گروه‌های ترکیب فعالیت ورزشی و مکمل و فعالیت ورزشی، تفاوت معنی‌دار نداشت. در پژوهشی دالوس[1] و همکاران، افزایش معنادار طول تلومر را در رت‌هایی که رزوراترول را با دوز کم (۰،۰۰۱۵ mg/kl) مصرف کردند در مقایسه با مصرف رزوراترول با دوز زیاد (۴mg/kl)مشاهده کردند (۲۷). هوانگ و همکاران اعلام کردند مصرف رزوراترول موجب فعالیت بهینه hTERT[2] شده و پیری را در سلول‌های عضلات صاف آئورت به تأخیر می‌اندازد (۲۸). نتایج دو پژوهش فوق با پژوهش حاضر همخوانی دارند. سازوکار اثر رزوراترول بر طول تلومر به‌گونه‌ای است که مصرف رزوراترول موجب بیش بیانی سیرتوئین ۱ می‌شود سپس درنتیجه آسیب به دیان ای برهم‌کنش سیرتوئین ۱ و سیرتوئین ۶ افزایش میابد و سیرتوئین ۱، سیرتوئین ۶ را در ناحیه لیزین ۳۳(K33) د استیله می‌کند هایپو استیله شدن سیرتوئین ۶ در ناحیه K33 پلیمرازیسون سیرتوئین ۶ را تسهیل کرده و درنهایت موجب ترمیم شکست دوگانه رشته‌های دیان ای می‌شود. از سوی دیگر γH2AX موجب ابقا سیرتوئین ۶ در مجاورت کروماتین آسیب‌دیده می‌شود. هم‌زمان کارایی سیرتوئین ۶ از طریق داستیله کردن H3K9 و H3K56 افزایش میابد. درنهایت مجموعه فرایندهای فوق منجر به ترمیم دیان ای آسیب‌دیده و ثبات تلومر می‌شود (۲۹-۳۰). به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر رزوراترول با مکانیزم فوق موجب افزایش طول و ثبات تلومر شده است. در پژوهشی دیگر پیتراسیک[3] و همکاران، از سلول‌های مزوتلیال صفاقی انسان [4] برای مشاهده اثر رزوراترول بر رشد و پیری این سلول‌ها با تأکید بر عوامل اثرگذار ناشی از فشارهای اکسایشی استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد سلول‌های تحت تأثیر رزوراترول با دوز پنج پیکو مول از طریق تقویت فاز S در چرخه سلولی[5] و افزایش تقسیم سلولی قبل از پیری به‌طور معنی‌داری ظرفیت رشد سلول‌های مذکور را توسعه دادند. لازم به ذکر است در این پژوهش پژوهشگران افزایش معنی‌دار در طول تلومر مشاهده نکردند(۳۰). این پژوهش در شرایط آزمایشگاهی اجرا شد و احتمالاً علل تفاوت در نتایج این پژوهش با پژوهش‌های دیگر، عواملی است که بر آزمایش در شرایط آزمایشگاهی حاکم است. تنها مطالعه‌ای که نتایج آن مبنی بر عدم اثر رزوراترول بر پیری و طول تلومر است که توسط پژوهشگر یافت شد پژوهش فوق بود.گاتلپالی[6] و همکاران در یک

1. Da luz
2. Telomerase reverse transcriptase
3. Pietrasik
4. human peritoneal mesothelial cells
5. S phase of the cell cycle
6 Gutlapalli

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

پژوهش بازنگری اعلام کردند پس از بررسی ۴۴ مطالعه، مطالعه‌ای یافت نشد که حاکی از رابطه معکوس رزوراترول و پیری باشد(۳۱). در پژوهش حاضر فعالیت ورزشی با پروتکل فوق موجب افزایش طول تلومر شد . این نتیجه با نتایج مصلا نژاد و همکاران و برانداو همکاران همسو است(۱۴-۱۳). ههار[7] و همکاران در پژوهشی گزارش کردند طول تلومر سلول‌های گوشی رت‌هایی که تمرین هوازی انجام دادند در مقایسه با گروه غیرفعال طویل‌تر بوده است (۳۲). کیم و همکاران ۲۰۱۲ در پژوهشی ۴۴ زن یائسه سالم بدون سابقه بیماری دیابت و مصرف دخانیات را به دو گروه غیرفعال و فعالیت ورزشی تقسیم کردند. طول تلومر آزمودنی‌ها در سلول‌های تک‌هسته‌ای فرعی خون[8] در ۲ گروه سنجیده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که طول تلومر آزمودنی‌ها در گروه فعال به‌طور معنی‌داری از گروه غیرفعال بیشتر است (۳۳). بسیاری از پژوهش‌ها نشان‌دهنده ارتباط طول تلومر با بیماری‌هایی مانند کلیوی در افراد مبتلابه دیابت،ریوی در بیماران مبتلابه اسکلوروزیس، پارکینسون، الزایمر و... بوده‌اند(۳۴-۳۷). در پژوهشی گزارش شد احتمال ابتلا به بیماری شدید کووید ۱۹ در افراد دارای تلومر کوتاه بیشتر است(۳۸). در دو مطالعه با رویکرد جمعیت شناختی گزارش شد طول تلومر در بیماری فیبروز ریوی می‌تواند تحت تأثیر ژن ویژه‌ای در جمعیت اروپایی قرار گیرد اما جنس افراد موجب تفاوت معنی‌دار در بیماران مبتلابه دیابت نوع دو در جمعیت بنگلادشی نشد. در هردوی این پژوهش‌ها از سن به‌عنوان یکی از عوامل کاهش طول تلومر یاد شد(۳۹-۴۰).با توجه به پژوهش‌های فوق کاربرد عملی پژوهش حاضر،استفاده از فعالیت ورزشی به‌منظور جلوگیری از سرعت فرسایش تلومر است. سازوکار اثر فعالیت ورزشی بر طول تلومر به‌گونه‌ای است که ابتدا گلوکاگون و کاتکولامین ها افزایش پیدا می‌کنند سپس cAMP افزایش میابد، افزایش cAMP موجب فعالیت Epac1 شده و درنتیجه کلسیم افزایش میابد پس‌ازآن CamKKb و AMPK فعال می‌شوند در پی این واکنش‌ها سطوح NAD+ افزایش میابد و درنتیجه سیرتوئین ۱، PGC-1a را فعال کرده و درعین‌حال سیرتوئین ۶ نیز از راه برهمکنش با سیرتوئین ۱ فعال می‌شود. بعد از فعال شدن سیرتوئین ۶ ادامه مسیر پیام‌رسانی مشابه مسیری است که در بخش اثر رزوراترول بر طول تلومر ذکر شد. در پژوهش حاضر احتمالاً تحریک مسیر پیام‌رسانی فوق موجب تأثیر معنی‌دار فعالیت ورزشی بر طول تلومر شده است. در مقابل برخی از پژوهش‌های اخیر نتایج متضاد با پژوهش حاضر داشته‌اند. در پژوهشی دیگر که مادور و همکاران گزارش کردند تنها وجه تمایز تأثیرگذار بر طول تلومر در گروه آزمودنی‌های دونده ماراتون و بی‌تحرک سن آزمودنی‌ها بوده است و نه عامل فعالیت ورزشی(۴۱) . در توجیه وجود تناقض در نتایج این پژوهش‌ها می‌توان به پژوهش‌های اشاره کرد که وجود رابطه یو وارونه را بین طول تلومر و فعالیت ورزشی گزارش کردند. رابطه یو وارونه یعنی فعالیت ورزشی با شدت زیاد،کم و همچنین بی‌تحرکی موجب کوتاهی طول تلومر می‌شود درحالی‌که آزمودنی‌های که فعالیت ورزشی با شدت متوسط داشته‌اند دارای تلومر طویل‌تری بوده‌اند بنابراین شدت فعالیت ورزشی می‌تواند عامل بسیار تأثیرگذاری بر فرسایش طول تلومر باشد(۴۲-۴۳). در پژوهش حاضر مکمل دهی رزوراترول با پروتکل فوق نتوانست موجب افزایش سیرتوئین ۶ شود درحالی‌که لیائو و همکاران بیش بیانی خانواده سیرتوئین‌ها را در اثر مصرف رزوراترول گزارش کردند.در پژوهش لیائو میزان دوز مصرف رزوراترول ۱۵۰mg/kg/d گزارش شد و القا مکمل ۶ هفته به طول انجامید و رزوراترول در ترکیب با گوشت گاو به رت‌ها خورانده شد(۱۸). در پژوهش لوانگو و همکاران تأثیر رزوراترول بر بیان ژن سیرتوئین ۶ در مقادیر ۱ تا ۱۰ و ۵۰ تا ۱۰۰ پیکو مول بر لیتر بررسی شد. در پایان پژوهشگران گزارش کردند که مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ پیکومول بر لیتر موجب افزایش معنی‌دار سیرتوئین ۶ به نسبت مقدار ۱ تا ۱۰ پیکومول بر لیتر شده است(۱۸). در پژوهش لوانگو و همکاران تأثیر رزوراترول بر بیان ژن سیرتوئین ۶ در مقادیر ۱ تا ۱۰ و ۵۰ تا ۱۰۰ پیکو مول بر لیتر بررسی شد. در پایان پژوهشگران گزارش کردند که مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ پیکومول بر لیتر موجب افزایش معنی‌دار سیرتوئین ۶ به نسبت مقدار ۱ تا ۱۰ پیکومول بر لیتر شده است(۱۹). در پژوهش دیگر یانگ و همکاران مقدار ۸ mg/kg/d رزوراترول را به‌منظور افزایش بیان ژن سیرتوئین ۶ به یک گروه از رت‌های چاق در مقابل لاغر کنترل در ۴ هفته به‌وسیله پمپ زیرپوستی فشار اسمزی القا کردند پژوهشگران در پایان گزارش کردند که بیان ژن سیرتوئین ۶ در گروه چاق که رزوراترول مصرف کرده است در مقابل با گروه لاغر کنترل افزایش معنی‌دار داشته است(۲۰). در پژوهش دیگر زنجیریان و همکاران افزایش بیان ژن خانواده سیرتوئین‌ها را در مقدار 50ml/kg/d و به روش گاواژ گزارش کردند(۴۴). همان‌طور که از نتایج پژوهش‌های فوق معلوم است نتیجه پژوهش حاضر در مقایسه با این پژوهش‌ها غیرهمسو است. سازوکار اثر رزوراترول بر سیرتوئین ۶ مشابه مسیر پیام‌رسانی است که در بخش تأثیر فعالیت ورزشی بر طول تلومر شرح داده شد با این تفاوت که در بخش فوق‌الذکر ابتدا فعالیت ورزشی منجر به افزایش گلوکاگون و کاتکولامین ها می‌شود سپس cAMP افزایش میابد در حالیکه در سازوکار تأثیر رزوراترول بر سیرتوئین ۶ مصرف رزوراترول

[7].Hehar

[8]. peripheral blood mononuclear cells

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

ابتدا موجب مهارفسفودی استراز (PDE) می‌شود و بعدازآن cAMP افزایش میابد(۴۲). حال‌آنکه به نظر می‌رسد مصرف رزوراترول در پژوهش حاضر موجب فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی فوق نشده است. علت این مسائله احتمالاً آن است که میزان مصرف رزوراترول و طول دوره مصرف باهدف تغییر بیان ژن سیرتوبین‌ها در پژوهش‌های اخیر، دامنه‌ای از مقادیر متفاوت را تشکیل می‌دهد. روش القا رزوراترول به جوندگان یکی دیگر از موارد قابل‌بررسی علل غیرهمسو بودن نتایج در پژوهش‌های اخیر است. چنانچه در برخی از پژوهش‌ها از پمپ‌های زیرپوستی فشار اسمزی استفاده‌شده و در برخی دیگر از القا رزوراترول به‌وسیله گاواژ و در برخی دیگر ترکیب رزوراترول با دیگر مواد خوراکی. به نظر می‌رسد استفاده از پمپ‌های اسمزی زیرپوستی به دلیل اطمینان از جذب و هضم رزوراترول کارایی بیشتری داشته باشد چراکه درروش گاواژ و روش ترکیب با دیگر خوراکی‌ها احتمال عدم جذب بخشی از رزوراترول وجود دارد.دو پژوهش نیز از سوی پژوهشگر یافت شد که نتایج آن با نتیجه پژوهش حاضر همسو بود. در پژوهشی گرتز و همکاران گزارش کردند مصرف رزوراترول موجب مهار خانواده سیرتوبین‌ها می‌شود. آن‌ها در پایان اعلام کردند برای دست یافتن به اثر معنادار رزوراترول بر سیرتوبین‌ها ، این ماده باید با مقدار زیاد مصرف شود(۴۵). حال‌آنکه در پژوهش حاضر تنها 10ml/kg/d رزوراترول مصرف‌شده است. در پژوهش حاضر فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان ژن سیرتوئین ۶ شد. در این راستا هوشمند و همکاران گزارش کردند بیان ژن سیرتوئین ۶ در نمونه مرد سالمند براثر اعمال فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد (۱۷). در پژوهشی دیگر ژانگ[9] و همکاران گزارش کردند فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان ژن سیرتوئین ۶ و درنتیجه بهبود مقاومت به انسولین در رت‌های مبتلابه کبد چرب می‌شود(۴۶). سازوکار تأثیر فعالیت ورزشی بر سیرتوئین ۶ مشابه مسیر پیام‌رسانی است که در بخش سازوکار فعالیت ورزشی و طول تلومر ذکر شد. در پژوهش حاضر نیز به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی از مسیر پیام‌رسانی بالا موجب افزایش سیرتوئین ۶ شده است. رادک[10] و همکاران ۲۰۱۱در پژوهشی ۴ گروه آزمودنی از جوانان فعال ، جوانان بی‌تحرک، سالمندان فعال و سالمندان بی‌تحرک را گروه‌بندی کردند. فعال یا بی‌تحرک بودن آزمودنی‌ها توسط تست VO_2max تائید شد. سپس آزمودنی‌ها یک پروتکل فعالیت ورزشی استقامتی تا مرز خستگی را بر روی نوار گردان اجرا کردند. بیوپسی عضله پهن خارجی در دو مرحله پیش‌آزمون و پس‌آزمون انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان بیان سیرتوئین ۶ در جوانان فعال قبل و بعد از مداخله دارای تفاوت معنی‌دار نبود اما در سه گروه دیگر بیان ژن سیرتوئین ۶ در پس‌آزمون کاهش معنی‌دار داشت(۴۷). نتیجه پژوهش آن‌ها با نتیجه حاضر غیرهمسو بود که در توجیه این مسائله می‌توان گفت احتمالاً فشار اکسایشی ناشی از پروتکل فعالیت ورزشی تا مرز خستگی موجب مهار مسیر پیام‌رسانی بیان سیرتوئین ۶ در سه گروه سالمندان و جوانان غیرفعال و همین‌طور سالمندان فعال‌شده است. درحالی‌که جوانان فعال احتمالاً به دلیل انجام فعالیت ورزشی منظم، برخورداری از ویژگی‌های سنی تنواسته اند در برابر فشار اکسایشی ناشی از پروتکل تمرینی مقاومت کرده و دچار تنظیم کاهشی بیان سیرتوئین ۶ نشده‌اند. در پژوهش حاضر تعامل فعالیت ورزشی و مکمل دهی رزوراترول موجب افزایش مضاعف سیرتوئین ۶ و طول تلومر در گروه ترکیب فعالیت ورزشی،مکمل نشد. در مورد عدم اثر تعاملی فعالیت ورزشی و مکمل دهی رزوراترول بر افزایش مضاعف سیرتوئین ۶ می‌توان گفت احتمالاً چنانچه رزوراترول با مقادیر متفاوت به رت‌ها خورانده می‌شد احتمالاً در مقدار بهینه می‌توانستیم شاهد افزایش سیرتوئین ۶ در اثر مصرف رزوراترول و همچنین افزایش مضاعف آن در گروه ترکیب فعالیت ورزشی، مکمل باشیم. در مورد عدم تأثیر اثر تعاملی فعالیت ورزشی و مکمل دهی رزوراترول برافزایش مضاعف طول تلومر، باوجود افزایش معنادار طول تلومر براثر مکمل دهی رزوراترول و فعالیت ورزشی به‌صورت جداگانه می‌توان گفت احتمالاً تلومر از الگوهای ویژه مولکولی ناشناخته‌ای پیروی می‌کند که سرعت کاهش فرسایش را کنترل می‌کنند. کاهش سرعت فرسایش تلومر احتمالاً پدیده‌ای پیچیده است که به‌طور تصاعدی تحت تأثیر مداخله‌های هم‌زمان قرار نمی‌گیرد. از یافته‌های این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت فعالیت ورزشی HIIT شنا و مصرف رزوراترول موجب افزایش طول تلومر می‌شود اما ترکیب این دو روش موجب افزایش مضاعف و تعاملی طول تلومر نمی‌شوند. انتظار می‌رود فعالیت ورزشی و مصرف رزوراترول از طریق سازوکارهای فوق‌الذکر به کاهش سرعت فرسایش تلومر در سلول‌های کبدی کمک کرده و درنتیجه کارکرد این سلول‌ها را بهینه سازد.از طرفی فعالیت ورزشی HIIT شنا موجب بیش بیانی سیرتوئین ۶ می‌شود درحالی‌که مصرف رزوراترول با دوز ۱۰ml/kg/d در ۶ هفته موجب افزایش معنی‌دار سیرتوئین ۶ نشد.از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم امکان کنترل استرس رت‌ها ناشی از عوامل محیطی مختلف مانند قرار گرفتن در آب برای تمرین شنا، بستن وزنه به دم رت‌ها، ورود سوزن گاواژ به دهان رت‌ها اشاره کرد. محدودیت دیگر پژوهش این بود که به دلیل جنبه‌های اخلاقی،پژوهشگران نمی‌توانستند تعداد آزمودنی‌ها را افزایش داده(عدم صدور کد اخلاق برای تعداد زیاد کشتار) و گروه‌های

[9]. Zhang

[10].Radak

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

دیگری مثل گروه جوان در پژوهش بی افزایند. به‌عنوان‌مثال پیشنهاد می‌شود پژوهشگران در پژوهش آینده تأثیر افزایش کلسیم سلولی را در تحریک مسیرهای پیام‌رسانی بیش بیانی سیرتوئین ۶ و افزایش طول تلومر بررسی کنند. درنهایت پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده پژوهشگران مقادیر متفاوت و روش‌های القا مختلف رزوراترول را در جهت مشاهده بیش بیانی سیرتوئین ۶ به ورطه آزمایش گذارند و مسیرهای پیام‌رسان مولکولی که منجر به کاهش سرعت فرسایش تلومر می‌شود موردبررسی و آزمایش قرار گیرد درنتیجه تعامل تمرین تناوبی خیلی شدید شنا و مکمل رزوراترول، بر بیان ژن سیرتوئین ۶ و طول تلومر سلول‌های کبدی رت‌های پیر اثر مضاعف نداشت.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با مساعدت مالی و معنوی مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان اجراشده است. ازاین‌رو پژوهشگران کمال تشکر و امتنان را از کلیه کارکنان این مرکز دارند. این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری سروش شاه‌حسینی در رشته فیزیولوژی ورزشی گرایش بیوشیمی و متابولیسم ورزشی پردیس کیش دانشگاه تهران است.

References:

1. Aurelia S, Bientinesi E, Monti D. Immunosenescence and inflammaging in the aging process: age-related diseases or longevity. Ageing Res Rev 2021; (101422).
2. Baiocchi L, Glaser S, Francis H, Kennedy L, Felli E, Alpini G et al. Impact of Aging on Liver Cells and Liver Disease: Focus on the Biliary and Vascular Compartments. Hepatol Commun 2021.
3. Soares JP, Silva AM, Oliveira MM, Peixoto F, Gaivao I, Mota MP. Effects of combined physical exercise training on DNA damage and repair capacity: role of oxidative stress changes. Age 2015; 37(3): 61.
4. Zurek M, Altschmied J, Kohlgruber S, Ale-Agha N, Haendeler J. Role of telomerase in the cardiovascular system. Genes 2016; 7(6): 29.
5. German NJ, Haigis MC. Sirtuins and the metabolic hurdles in cancer. Curr Biol 2015; 25(13): 569-583.
6. Verdin E. NAD+ in aging, metabolism, and neurodegeneration. Science 2015; 350(6265): 1208-1213.
7. Chang HC, Guarente L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. Trends Endocrinol Metab 2015; 25(3): 138-145.
8. Jos S, Aouti S, Unni S, Haridass V, Gogoi H, Deshmukh P et al. In silico screening of small molecule modulators and their binding studies against human sirtuin-6 protein. J Biomol Struct Dyn 2021; 1-12.
9. Pan H, Guan D, Liu X, Li J, Wang L, Wu J, Li Y. SIRT6 safeguards human mesenchymal stem cells from oxidative stress by coactivating NRF2. Cell Res 2016; 26(2): 190.
10. Di Meo, S, Napolitano G, Venditti P. Mediators of physical activity protection against ROS-linked skeletal muscle damage. Int J Mol Sci 2019; 20(12): 3024.
11. Salehi B, Mishra AP, Nigam M, Sener B, Kilic M, Sharifi Rad M et al. Resveratrol: A double-edged sword in health benefits. Biomedicines 2018; 6(3): 91.
12. Liang Q, Wang XP, Chen TS. Resveratrol protects rabbit articular chondrocyte against sodium nitroprusside-induced apoptosis via scavenging ROS. Apoptosis 2014; 19(9): 1354-1363.
13. Mosallanezhad Z, Nikbakht H, Gaeini AA, Gholami M. The effect of high-intensity interval training on telomere length of leukocytes in sedentary young women. Adv Environ Biol 2014; 841-846.
14. Brandao CF, Nonino CB, De Carvalho FG, Nicoletti CF, Noronha NY, San Martin R et al. The effects of short-term combined exercise training on telomere length in obese women: a prospective, interventional study. Sports Med-Open 2020; 6(1): 1-7.
15. Al-Hussaini H, Kilarkaje N. Trans-resveratrol mitigates type 1 diabetes-induced oxidative DNA damage and accumulation of advanced glycation end products in glomeruli and tubules of rat kidneys. Toxicol Appl Pharmacol 2018; 339:97-109

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

16. Avdatek F, Birdane Yom Turkmen RU, Demiral H. Ameliorative effect of resveratrol on testicular oxidative stress, spermatological parameters and DNA damage in glyphosate-based herbicide-exposed rats. Andrologia 2018; 50(7): e13036.

17.Hooshmand-Moghadam B, Eskandari M, Golestani F, Rezae S, Mahmoudi N, Gaeini AA. The effect of 12-week resistance exercise training on serum levels of cellular aging process parameters in elderly men. Exp Gerontol 2020; 141:111090.

18.Liao ZY, Chen JL, Xiao MH, Sun Y, Zhao YX, Pu D et al. The effect of exercise, resveratrol or their combination on Sarcopenia in aged rats via regulation of AMPK/Sirt1 pathway. Exp Gerontol 2017; 98(1): 177-183.

19.San Hipolito Luengo A, Alcaide A, Ramos Gonzalez M, Cercas E, Vallejo S, Romero A, et all. Dual effects of resveratrol on cell death and proliferation of colon cancer cells. Nutr Cancer 2017; 69(7): 1019-1027.

20. Yang SJ, Lim Y. Resveratrol ameliorates hepatic metaflammation and inhibits NLRP3 inflammasome activation. Metabolism 2014; 63(5): 693-701.

21. Lezi E, Burns JM, Swerdlow RH. Effect of high-intensity exercise on aged mouse brain mitochondria, neurogenesis, and inflammation. Neurobiol Aging 2014; 35(11): 2574-2583.

22. Monserrat Hernandez-Hernandez E, Serrano Garcia C, Antonio Vazquez Roque R, Diaz A, Monroy E, Rodriguez Moreno A et al. Chronic administration of resveratrol prevents morphological changes in prefrontal cortex and hippocampus of aged rats. Synapse 2016; 70(5): 206-217.

23. Amirazodi F, Mehrabi A, Amirazodi M, Parsania S, Rajabzadeh MA. The Combination Effects of Resveratrol and Swimming HIIT Exercise on Novel Object Recognition and Open-field Tasks in Aged Rats. Exp Aging Res 2020; 46(4): 336-358.

24. Mehrabi A, Gaeini A, Nouri R, Daryanoosh F. The effect of six-week HIIT swimming exercise and Resveratrol supplementation on the level of SIRT3 in frontal lobe of aged rats. Shifa-yi khatam 2021; 9(2): 48-45.

25.Shafiee A, Gaeini AA, Soleimani M, nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. Maj Danishgah-i Ulum-i Pizishki-i Arak 2014; 17(3): 26-34.

26.Mahjoub S, Ghadi A, Pourbagher R, Hajian-Tilaki K, Masrour-Roudsari J. Effects of regular treadmill exercise on a DNA oxidative-damage marker and total antioxidant capacity in rat hippocampal tissue. J Clin Neurol 2016; 12(4): 414-418.

27.Daluz PL, Tanaka L, Brum PC, Dourado PMM, Favarato D, Krieger JE et al. Red wine and equivalent oral pharmacological doses of resveratrol delay vascular aging but do not extend life span in rats. Atherosclerosis 2012; 224: 136-142.

28.Huang P, Riordan SM, Heruth DP, Griogoryev DN, Zhang LQ, Ye SQ. A critical role of nicotinamide phosphoribosyl transferase in human telomerase reverse transcriptase induction by resveratrol in aortic smooth muscle cells. Oncotarget 2015; 6(13): 10812.

29. Hassanieh S, Mostoslavsky R. Multitasking Roles of the Mammalian Deacetylase SIRT6. Introd Rev Sirtuins Biol Aging Dis 2018; 117-130.

30. Mikuła-Pietrasik J, Kuczmarska A, Rubiś B, Filas V, Murias M, Zieliński P et al. Resveratrol delays replicative senescence of human mesothelial cells via mobilization of antioxidative and DNA repair mechanisms. Free Radical Biol Med 2012; 52(11-12): 2234-2245.

31.Gutlapalli SD, Kondapaneni V, Toulassi IA, Poudel S, Zeb M, Choudhari J, et al. The effects of resveratrol on telomeres and post myocardial infarction remodeling. Cureus 2020; 12(11).

32.Hehar H, Mychasiuk R. The use of telomere length as a predictive biomarker for injury prognosis in juvenile rats following a concussion/mild traumatic brain injury. Neurobiol Dis 2016; 87: 11-18.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

33.Kim JH, Ko JH, Lee DC, Lim I, Bang H. Habitual physical exercise has beneficial effects on telomere length in postmenopausal women. Menopause 2012; 19(10): 1109-1115.

34. Cheng F, Luk AO, Wu H, Tam CH, Lim CK, Fan B et al. Relative leucocyte telomere length is associated with incident end-stage kidney disease and rapid decline of kidney function in type 2 diabetes: analysis from the Hong Kong Diabetes Register. Diabetologia 2021; 1-12.

35. Liu S, Chung MP, Ley B, French S, Elicker BM, Fiorentino. Peripheral blood leucocyte telomere length is associated with progression of interstitial lung disease in systemic sclerosis. Thorax 2021; 76(12): 1186-1192.

36. Chen R, Zhan Y. Association between telomere length and Parkinson's disease: a Mendelian randomization study. Neurobiol Aging 2021; 97, 144-e9.

37. Yu G, Lu L, Ma Z, Wu S. Genetically Predicted Telomere Length and Its Relationship With Alzheimer's Disease. Front Genet 2021; 12.

38. Martinez P, Blasco MA. Shorter telomere lengths in patients with severe COVID-19 disease. Aging 2021; 13(1): 1.

39. Duckworth A, Gibbons MA, Allen RJ, Almond H, Beaumont RN, Wood AR et al. Telomere length and risk of idiopathic pulmonary fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease: a mendelian randomisation study. Lancet Respir Med 2021; 9(3): 285-294.

40. Goswami A, Huda N, Yasmin T, Hosen MI, Hasan AM et al. Association study of leukocyte telomere length and genetic polymorphism within hTERT promoter with type 2 diabetes in Bangladeshi population. Mol Biol Rep 2021; 48(1): 285-295.

41.Mathur S, Ardestani A, Parker B, Cappizzi J, Polk D, Thompson PD. Telomere length and cardiorespiratory fitness in marathon runners. J Invest Med 2013; 61(3): 613-615.

42.Ludlow AT, Ludlow LW, Roth SM. Do telomeres adapt to physiological stress? Exploring the effect of exercise on telomere length and telomere-related proteins. Biomed Res Int 2013.

43.Savela S, Saijonmaa O, Strandberg TE, Koistinen P, Strandberg AY, Tilvis RS et al. Physical activity in midlife and telomere length measured in old age. Exp Gerontol 2013; 48(1): 81-84.

44.Zanjirian Z, Afzalpour MA, Sarir H, Niaahmadi M. Effect of Continuous Exercise Training on Protein Levels of SIRT3 and OGG1 in the Liver Tissue of Male Wistar Rats. Maj Danishgah-i Ulum-i Pizishki-i illam 2019; 27(5): 97-107.

45.Gertz M, Nguyen GTT, Fischer F, Suenkel B, Schlicker C, Steegborn C. A Molecular Mechanism for Direct Sirtuin Activation by Resveratrol. Plos One 2012; e49761.

46.Zhang Y, Yang Z, Xu Z, Wan J, Hua T, Sun Q. Exercise ameliorates insulin resistance and improves SIRT6-mediated insulin signaling transduction in liver of obese rats. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. Can J Physiol Pharmacol 2021; 99(5):506-511.

47.Radak Z, Bori Z, Koltai E, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Douroudos II. Et al. Age-dependent changes in 8-oxoguanine-DNA glycosylase activity are modulated by adaptive responses to physical exercise in human skeletal muscle. Free Radical Biol Med 2011; 51(2): 417-423.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]

Original Article

SIRTUIN 6 GENE EXPRESSION AND TELOMERE LENGTH CHANGES IN OLD RAT HEPATOCYTES AFTER 6 WEEKS SWIMMING EXERCISE AND RESVERATROL SUPPLEMENTATION FEEDING

***Soroush Shahhosseini*[1], *Ali Asghar Ravasi*[2], *Reza Nouri*[3]**

Received: 05 August, 2021; Accepted: 03 January, 2022

Abstract

Background & Aims: telomere erosion is considered to be the main cause of aging. The present study aimed to determine the interactive effect of high-intense interval training and resveratrol consumption on telomere length and expression sirtuin 6 genes of hepatocytes in elderly rats.

Materials & Methods: 25 Wistar male rats were divided into 5 groups. 1. Control group that did not exercise, 2. The solvent group that only received the solvent, 3. Exercise actively group that swam 20 seconds with 10 seconds rest in 6 weeks and 3 sessions per week, 4. Supplement group that received resveratrol 10 ml/kg per day, and 5. Combination of exercise and supplement goup that uses combination of exercise and supplement. Quantitative Real time PCR was used to measure the expression levels of sirtuin 6 gene and telomere length. For data analysis, One-way analysis of variance, and tukey tests were done usingSPSS 25 software.

Results: Resveratrol consumption and exercise significantly increased telomere length compared to control in order (P=0.000, 0.001) and solvent (p=0.007, 0.004) groups, respectively. The expression of the sirtuin 6 gene was not affected by resveratrol (0.984), while exercise increased the expression of the sirtuin 6 gene (0.013). The combination of resveratrol supplementation and exercise did not double telomere length (0.395) and sirtuin 6 expression (0.502).

Conclusion: The interaction of very high-intensity interval training and resveratrol supplementation does not double the expression of the sirtuin 6 gene and telomere length of old rat liver cells. The molecular mechanism for slowing telomere erosion is probably complex and unaffected by mentioned concurrent interventions.

Keywords: High Intense Interval training, Resveratrol Supplement, Telomere Length, Sirtuin 6, Aging, hepatocytes.

Address: Kish International Campus, University of Tehran, Niyayesh St., Mirmohanna Blvd., Kish Island, Iran
Tel: +987644433661-2
Email: Sr.Shahhosseini@ut.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(8): 630 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2021 Studies in Medical Sciences
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[1] *Ph.D. Candidate, Department of sports physiology, University of Tehran, Kish international campus*
[2] *Professor in faculty of physical education and sport sciences, Department of sports physiology, University of Tehran*
[3] *Assistant Professor, Department of sports physiology, University of Tehran, Kish international campus*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOI: 10.52547/umj.32.8.619]