تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی شنا بر بیان ژن Sirt1 و $FoxO_3a$ در بافت ریهٔ رت‌های ویستار

مریم خالصی[۱]*، شادمهر میردار[۲]، علی صمدی[۳]

۱. دانش‌آموخته دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
۳. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۷
تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۱۶

چکیده

زمینه و هدف فعالیت‌های بدنی و ورزشی یکی از عوامل مؤثر در پیشگیری از بسیاری از انواع بیماری‌هاست. با توجه به افزایش چشمگیر اختلالات ریوی در دهه‌های اخیر و نیز نقش استرس اکسایشی در بروز این بیماری‌ها، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی شنا بر بیان ژن سیرتوئین ۱ (Sirt1) و پروتئین سرچنگالی O_3 ($FoxO_3a$) در بافت ریهٔ رت‌های ویستار است.

روش تحقیق تعداد ۲۰ سر رت ویستار با محدودهٔ وزنی ۲۳±۱۰۲ گرم به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل (n=۱۰) و فعالیت ورزشی (n=۱۰) تقسیم شدند. پروتکل تمرین شامل سه ماه فعالیت ورزشی شنا (پنج روز در هفته) بود که از ۲۵ دقیقه در هفتهٔ نخست (با اضافه‌بار ۴ لیتر در دقیقه) به ۶۰ دقیقه (با اضافه‌بار ۱۰ لیتر در دقیقه) در هفته انتهایی رسید. نمونه‌برداری بافتی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی انجام شد و بیان ژن‌های Sirt1 و $FoxO_3a$ در بافت ریهٔ رت‌ها با استفاده از تکنیک Real time-PCR بررسی شد. برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و برای مقایسهٔ بین‌گروهی از آزمون تی مستقل استفاده شد (α<۰/۰۵).

یافته‌ها نتایج نشان داد یک دوره فعالیت ورزشی شنا، باعث افزایش معنادار بیان ژن Sirt1 در بافت ریه شد (p=۰/۰۰۱)، ولی تأثیر معناداری بر بیان ژن $FoxO_3a$ نداشت (p=۰/۰۹).

نتیجه‌گیری با توجه به نقش Sirt1 در افزایش مقاومت سلول در برابر استرس، همچنین ترمیم دزوکسی ریبونوکلئیک اسید (DNA) افزایش بیان این عامل در اثر فعالیت ورزشی شنا موجب افزایش مقاومت سلول در برابر عوامل آسیب‌رسان و کاهش احتمال ابتلا به اختلالات ریوی می‌شود.

کلیدواژه‌ها:
استرس اکسایشی، بافت ریه، فعالیت ورزشی شنا.

مقدمه

بدن انسان از لحظهٔ تولد تا زمان مرگ، همواره در معرض عوامل خطرزای زیادی قراردارد که با ایجاد آسیب‌های سلولی و ملکولی در عملکرد اندام‌ها و دستگاه‌های گوناگون بدن ایجاد اختلال و بیماری می‌کند. امروزه، مشخص شده است فعالیت ورزشی راه‌حل مناسبی برای حفظ سلامت و راهکار مؤثری در پیشگیری و مقابله با ابتلا به بسیاری از بیماری‌هاست [۱].

ریه از مهم‌ترین بافت‌های بدن است که با توجه به فعالیت مداوم و ارتباط مستقیم با محیط، همواره در معرض عوامل آسیب‌زا قرار دارد [۲]. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی، ابتلا

* نویسندهٔ مسئول: مریم خالصی
نشانی:
تلفن: ۰۹۱۲۷۶۲۵۱۹۲ دورنگار:
رایانامه: mk.khalesi@gmail.com
شناسه ORCID: 0000-0002-8852-9624

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۵، شمارهٔ ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۷، ص ۷۳-۷۹
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

به بیماری‌های ریوی و مرگ ناشی از آن‌ها در سراسر جهان رو به افزایش است [۳]. به‌هم‌خوردن هوموستاز اکسیدانی- آنتی‌اکسیدانی یکی از سازوکارهای اصلی برهم‌زنندهٔ عملکرد سلول و در نتیجه پاتوژنز بیماری‌ها در این بافت است [۴-۶]. با وجود این، اطلاعات کمی دربارهٔ تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر هوموستاز اکسیدانی- آنتی‌اکسیدانی و عوامل تنظیم‌کنندهٔ آن در بافت ریه وجود دارد.

سیرتوئین ۱ (Sirt1) پروتئین وابسته به نیکوتین آمین آدنین دی‌نوکلئوتید (NAD^+) است که به‌تازگی شناسایی شده است و در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، تنظیم التهاب، پیری و اتوفاژی سلولی، همچنین مقابله با پیامدهای ناشی از استرس اکسایشی در بافت ریه نقش مهمی ایفا می‌کند [۷-۹]. این پروتئین رونویسی عوامل پیش‌التهابی را مهار می‌کند و کمبود آن در بافت ریه موجب افزایش پیری سلولی ناشی از استرس اکسایشی می‌شود. همچنین، Sirt1 با افزایش نجات سلول و ترمیم دزوکسی ریبونوکلئیک اسید (DNA) با آثار مخرب ناشی از استرس اکسایشی مقابله می‌کند [۹، ۱۰]. پروتئین سرچنگالی O_3 ($FoxO_3a$) یکی دیگر از عامل رونویسی درگیر در فرایندهای آنتی‌اکسیدانی است که با اتصال به DNA یا تعامل پروتئین- پروتئین نقش خود را ایفا می‌کند [۱۱]. FoxO3a با افزایش بیان ژن‌های مقاوم در برابر استرس اکسایشی (مانند سوپر اُکسید دیسموتاز) موجب سم‌زدایی گونه‌های آزاد اکسیژن و ترمیم DNA آسیب‌دیده می‌شود. این عامل رونویسی در یک‌سری فرایندهای سلولی دیگر مانند مهار اتوفاژی سلول (به‌کمک داِستیلاسیون ناشی از Sirt1)، پیری سلول، مقاومت در برابر استرس اکسایشی، التهاب و هومئستاز ایمنی ذاتی نیز نقش دارد [۱۲].

مطالعات چندی به بررسی تأثیر فعالیت‌های بدنی و ورزشی بر بیان ژن‌های Sirt1 و FoxO3a در بافت‌های گوناگون پرداخته‌اند. برای مثال، هوانگ و همکاران [۱۳] نشان دادند ۱۲ هفته فعالیت ورزشی شنا باعث افزایش بیان پروتئین‌های Sirt1 و FoxO3a در عضلهٔ اسکلتی رت‌های با سنین مختلف (۳، ۱۲، ۱۸ ماهه) می‌شود. همچنین، فرارا و همکاران [۱۴] نیز در بررسی تأثیر سالمندی و فعالیت ورزشی بر بیان پروتئین‌های Sirt1 و FoxO3a در بافت قلب و چربی رت‌ها دریافتند که یک دوره فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط، فعالیت Sirt1 در بافت قلب و فعالیت Sirt1 و بیان ژن FoxO3a را در بافت چربی افزایش می‌دهد. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند فعالیت ورزشی با افزایش معنادار فعالیت Sirt1 با آثار زیانبار سالمندی، از جمله استرس اکسایشی، مقابله می‌کند.

با وجود اینکه مشخص شده است فعالیت‌های بدنی و ورزشی تأثیر مثبتی بر سلامت ریه‌ها دارد و به پیشگیری از اختلالات و بیماری‌های ریوی کمک می‌کند، در مورد سازوکارهای احتمالی چگونگی تأثیر فعالیت ورزشی بر سلامت بافت ریه اطلاعات مشخصی وجود ندارد و عمده مطالعات انجام‌شده به بررسی تأثیر فعالیت‌های مختلف ورزشی بر حجم‌ها و ظرفیت‌ها و عملکردهای ریوی پرداخته‌اند [۱۵، ۱۶]. لذا، فرض محقق آن است که احتمالاً فعالیت‌های بدنی و ورزشی از طریق تأثیر بر عواملی چون Sirt1 و FoxO3a، بر سیستم اکسیدانتی- آنتی‌اکسیدانتی ریه و نیز عملکرد و بقای سلول‌های تنفسی و نیز سلامتی ریه مؤثر است. از این‌رو، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی شنا بر بیان ژن Sirt1 و $FoxO_3a$ در بافت ریهٔ رت‌های ویستار بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط نگهداری. پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. بیست سر رت ویستار با محدودهٔ وزنی ۲۳±۱۰۲ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های مخصوص در گروه‌های چهارتایی و در محیط با میانگین دمای ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخهٔ روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شد. دسترسی به آب و غذا آزاد بود. پس از سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه در هفتهٔ نخست، نمونه‌ها به دو گروه کنترل و فعالیت ورزشی تقسیم شد.

پروتکل آشنایی با آب و تمرین. برنامهٔ تمرینی آشناسازی با آب و پروتکل اصلی تمرین در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. پروتکل آشناسازی با آب و فعالیت ورزشی شنا

نوع پروتکل	زمان‌بندی	تعداد جلسات تمرین	زمان اجرای پروتکل	مدت زمان هر جلسه تمرین	میانگین قدرت آب
پروتکل آشنایی با آب	هفتهٔ نخست	پنج روز در هفته	۸،۳۰ صبح تا ۱ بعد از ظهر	۱۰ تا ۲۰ دقیقه	۴ لیتر در دقیقه
پروتکل تمرین	ماه اول			۲۵ تا ۴۰ دقیقه	۴-۵ لیتر در دقیقه
	ماه دوم			۴۵ تا ۶۰ دقیقه	۶-۷ لیتر در دقیقه
	ماه سوم			۶۰ دقیقه	۸-۱۰ لیتر در دقیقه

پروتکل شنای مورد استفاده در این پژوهش شکل تعدیل‌شدهٔ پروتکل میردار و همکاران [۱۷] بود. همان‌طور که در جدول ۱ آمده است، هفتهٔ نخست آشنایی با آب بود که در آن رت‌ها پنج جلسه و در هر جلسه به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه با اضافه‌بار تمرینی ۴ لیتر در دقیقه (سرعت جریان آب در استخر شنا) در داخل استخر شنای ویژهٔ رت‌ها به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی‌متر و با درجه آب ۳۰-۳۲ درجهٔ سانتی‌گراد به شنا واداشته شدند. سپس، از هفتهٔ دوم، پروتکل اصلی تمرین شروع شد که طی آن از هفتهٔ دوم تا هفتهٔ هشتم، هر هفته ۵ دقیقه به مدت زمان شناکردن اضافه می‌شد. مدت زمان شنا در هفتهٔ هشتم به ۶۰ دقیقه رسید که تا پایان دوره (هفتهٔ دوازدهم) ثابت بود. برای اعمال اضافه‌بار میانگین قدرت آب تا پایان هفتهٔ هشتم هر دو هفته یک‌بار به میزان ۱ لیتر در دقیقه اضافه شد. هفتهٔ نهم و دهم میانگین قدرت آب به‌ترتیب به ۸ و ۹ لیتر در دقیقه رسید، در حالی که هفتهٔ یازدهم و دوازدهم رت‌ها با شدت ۱۰ لیتر در دقیقه شنا کردند. تمامی جلسات تمرین از ساعت ۸/۳۰ تا ۱۳ برگزار شد.

بافت‌برداری. چهل‌وهشت ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، رت‌ها بیهوش و برای نمونه‌برداری آماده شدند. زمان ۴۸ ساعت با توجه به نیمه‌عمر بیان ژن‌ها و برای ازبین‌رفتن پاسخ آخرین جلسهٔ تمرین و سنجش سطوح استراحتی عوامل وابسته به اندازه‌گیری در نظر گرفته شد. بیهوشی با ترکیبی از داروی زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) برای هر رت انجام شد و با عدم‌عکس‌العمل نسبت به فشار پا، بیهوشی تأیید شد [۱۸]. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، برشی به طول ۵ تا ۷ سانتی‌متر در ناحیهٔ قفسهٔ سینه ایجاد و ریهٔ راست به‌طور کامل برداشته شد. سپس، بلافاصله با قراردادن بافت ریه در داخل استوانهٔ شیشه‌ای مدرج، جرم حجمی بافت ریه اندازه‌گیری شد.

در مرحلهٔ بعد، وزن‌کشی بافت انجام شد و در انتها لوب پایین ریهٔ سمت راست در تمام رت‌ها نمونهٔ بافتی در داخل میکروتیوپ‌های عاری از RNAase و DNAase قرار داده شد. تمام مراحل در شرایط استریل انجام گرفت و پس از هر بار نمونه‌برداری وسایل مورد استفاده در الکل و روی شعلهٔ آتش ضدعفونی می‌شد. نمونه‌های بافتی بلافاصله در فریزر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد منجمد و در انتهای کار به فریزر ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل و تا زمان انتقال به آزمایشگاه برای انجام سنجش‌ها در همان‌جا نگهداری شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA. استخراج و تلخیص mRNA به‌روش استخراج دستی با کیازول انجام شد. در این روش حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت ریه از هر نمونه جدا و با ۳۰- لاندا کیازول مخلوط شد. ترکیب حاصل آنقدر کوبیده شد (حداقل ۲۰ دقیقه) تا مخلوط یکدست و قهوه‌ای‌رنگی به‌دست آمد. میکروتیوپ حاوی محصول به‌دست‌آمده به‌مدت حداقل ۲۴ ساعت در فریزر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد قرارگرفت. پس خارج‌کردن میکروتیوپ از فریزر و رسیدن دمای آن به دمای محیط، ۲۰۰ لاندا کلروفرم به آن اضافه شد و پس از یک دقیقه تکان سریع با دست، به‌مدت ۱۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار (با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد) قرارگرفت. در این مرحله سه لایهٔ مجزا در داخل میکروتیوپ شکل گرفت که لایهٔ رویی و شفاف بخش حاوی RNA است. با جداکردن بخش محتوای RNA، آن را با ۱ سی‌سی ایزوپروپانول مخلوط و به‌مدت ۲۴ ساعت به فریزر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد انتقال داده شد. بعد از آن در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰ گرم سانتریفیوژ شد. پلت حاوی RNA در اتانول شست‌وشو و در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، ۷۵۰۰ گرم سانتریفیوژ شد. سپس، در ۲۰ Lμ آب RNAS- Free با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد حل گردید. غلظت RNA سنجش شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ تخلیص مطلوب تعریف شد. بر حسب غلظت RNA اندازه‌گیری‌شده در مرحلهٔ قبل، مقدار مورد نیاز از RNA استخراجی (بر حسب دستورالعمل روی کیت) برای استخراج cDNA استفاده شد.

Real time- PCR. برای سنجش مقادیر نسبی بیان ژن عوامل مورد نظر، از روش کمّی Real time- PCR استفاده شد. هر واکنش به‌صورت duplicate انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های Sirt1، $FoxO_3a$، همچنین GAPDH به‌عنوان ژن مرجع در جدول ۲ آمده است. پس از پایان واکنش نرم‌افزار دستگاه Real time-PCR به‌طور خودکار خط آستانهٔ (threshold) هر ژن را رسم و سیکل آستانه (CT) برای هر نمونه به‌دست آمد. داده‌های اولیه با نرم‌افزار اکسل تجزیه‌وتحلیل شد. برای تعیین بیان نسبی هر ژن با استفاده از داده‌های سیکل آستانه، از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. در این روش، فرض بر این است که بازده نمونه و گروه کنترل برابر ۱ و ۱۰۰ درصد است و میزان تغییرات بیان هر ژن در گروه فعالیت نسبت به تغییرات همان ژن در گروه کنترل سنجیده می‌شود. روش محاسبه و استفاده از این فرمول در ادامه آمده است.

میزان تغییرات ژن هدف در گروه فعالیت ورزشی نسبت به گروه کنترل $2^{-\Delta\Delta CT}$ =

$$\Delta\Delta CT = \Delta Ct_{\text{گروه فعالیت ورزشی}} - \Delta Ct_{\text{گروه کنترل}}$$

$$\Delta Ct_{\text{گروه فعالیت ورزشی}} = (Ct_{\text{ژن هدف}} - Ct_{\text{مرجع}})$$

$$\Delta Ct_{\text{گروه کنترل}} = (Ct_{\text{ژن هدف}} - Ct_{\text{مرجع}})$$

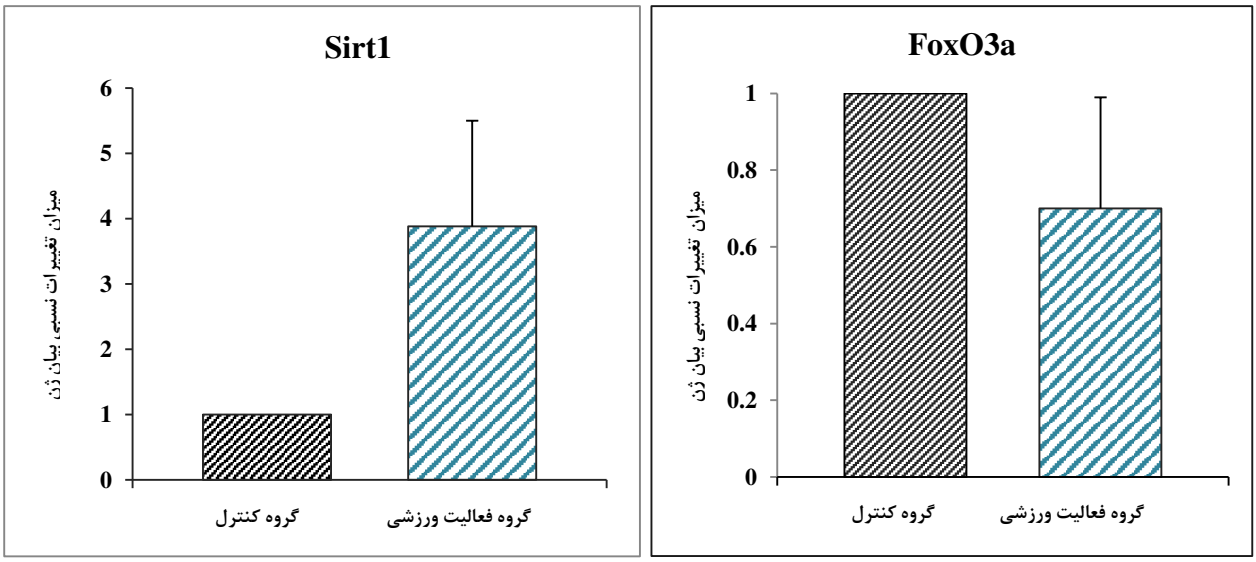
جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-Time PCR

توالی پرایمر	جفت باز	دمای ذوب	ژن
FOR:5´- TGGTTTACAACGTCTGTGCCT -3´ REV:5´- GCTGCTTGCTGTCCATACCT -3´	۴۵	۸۱/۱۲ °C	Sirt1
FOR:5´- GCCTCATCTCAAAGCTGGGT-3´ REV:5´- TGCTCTGGAGTAGGGATGCT -3´	۴۴	۷۸/۸۸ °C	FOXO3a
FOR:5´- AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG -3´ REV:5´- CATACTCAGCACCAGCATCACC -3´	۴۸	۸۲/۱۶ °C	GAPDH

از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و توصیف داده‌ها استفاده شد. از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف برای بررسی طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها و از آزمون آماری تی مستقل برای مقایسهٔ بین گروهی استفاده شد. سطح معناداری برای آزمون‌های آماری $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون تی مستقل در مورد تأثیر فعالیت ورزشی شنا بر بیان ژن Sirt1 و $FoxO_3a$ بافت ریه نشان داد میزان بیان ژن Sirt1 در بافت ریه به‌طور معناداری در گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (p=۰/۰۰۱)، در حالی که میزان بیان ژن $FoxO_3a$ در گروه تمرینی تغییر نداشت (p=۰/۰۹). میزان تغییرات بیان این ژن‌ها در گروه فعالیت ورزشی نسبت به گروه کنترل در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. میزان تغییرات بیان نسبی ژن FoxO3a (p=۰/۰۹؛ شکل سمت راست) و Sirt1 (p=۰/۰۰۱؛ شکل سمت چپ) در دو گروه فعالیت ورزشی (n=۱۰) و کنترل (n=۱۰)

*** افزایش معنادار بیان ژن Sirt1 نسبت به گروه کنترل**

بحث

هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی شنا بر بیان ژن Sirt1 و $Foxo_3a$ در بافت ریهٔ رت‌های ویستار بود. در دهۀ اخیر نقش مثبت سیرتوئین‌ها در ارتباط با بیماری‌های مرتبط با سالمندی مانند سرطان‌ها (از جمله سرطان ریه)، بیماری‌های قلبی- عروقی، بیماری‌های تحلیل‌برندهٔ عصبی و بیماری‌های ریوی و تنفسی از جمله بیماری انسداد مزمن ریوی (COPD) بسیار مورد توجه قرارگرفته است [۹، ۱۹].

با توجه به بررسی‌های محقق، این پژوهش نخستین مطالعه‌ای است که به بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر بیان ژن Sirt1 و $Foxo_3a$ در بافت ریه پرداخته است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد ۱۲ هفته فعالیت ورزشی شنا، به افزایش معنادار بیان ژن Sirt1 در بافت ریهٔ رت‌ها منجر شد. همسو با یافتهٔ این پژوهش، بایود و همکاران [۲۰] نشان دادند ۳۶ هفته فعالیت ورزشی روی نوارگردان (۴ تا ۵ روز در هفته) با شدت متوسط (شبیه به راه‌رفتن سریع یا دویدن آهسته در انسان) باعث افزایش فعالیت و محتوای پروتئین Sirt1 در عضلهٔ دوقلو، کبد و قلب رت‌ها شد. Sirt1، با دِاستیلاسیون پروتئین‌های هیستونی و غیرهیستونی (هر دو) قادر به کنترل چندین عملکرد فیزیولوژیکی مانند کنترل بیان یکسری ژن‌ها در سلول، تنظیم چرخهٔ سلولی، سوخت‌وساز، استرس اکسایشی، آپوپتوز و ترمیم DNA است و از این طریق نقشی کلیدی در تنظیم فواید ناشی از فعالیت ورزشی ایفا می‌کند. برای مثال، Sirt1 با دِاستیلاسیون هم‌فعال‌کنندهٔ گامای گیرندهٔ فعال‌شده با تکثیر پراکسیزوم-۱ آلفا (PGC-1α) بیوژنز میتوکندریایی را افزایش می‌دهد در حالی که کمبود Sirt1 با افزایش استیله‌شدن P53 و در نتیجه افزایش فعالیت آن موجب توقف چرخهٔ سلولی، پیری یا آپوپتوز سلول می‌شود. Sirt1 با دِاستیلاسیون پروتئین‌های تلانژکتازی آتاکسی جهش‌یافته (ataxia telangiectasia mutated) و مهار فعالیت آن‌ها افزایش نجات سلول و ترمیم DNA را موجب می‌شود [۹] و از این طریق با آثار مخرب ناشی از رادیکال‌های آزاد مقابله می‌کند. Sirt1 همچنین، با کنترل و بهبود این فرایندها با پیری سلول مبارزه می‌کند و پروتئین جوانی شناخته می‌شود [۲۰، ۲۱].

فرارا و همکاران [۱۴] نیز در بررسی تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی در مقابله با آثار مخرب سالمندی بر بافت قلب و چربی نشان دادند یک دوره فعالیت ورزشی به افزایش فعالیت Sirt1 و بیان ژن $FOXO_3a$ در هر دو بافت قلب و چربی می‌شود. افزایش فعالیت Sirt1 با تأثیر بر افزایش بیان GADD45a موجب افزایش قدرت ترمیم DNA سلول می‌شود و افزایش بیان ژن $FOXO_3a$ با افزایش بیان سوپراُکسید دیسموتاز با استرس اکسایشی ناشی از سالمندی در این بافت‌ها مقابله می‌کند.

یائو و همکاران [۲۲] در بررسی نقش ضداسترسی Sirt1 بیان داشتند که فعال‌کردن Sirt1 از طریق فعال‌کنندهٔ SRT1720 به کاهش استرس اکسایشی ناشی از قرارگرفتن در معرض دود سیگار در بافت ریه می‌انجامد. Sirt1 این کار را از طریق فعال‌سازی مسیر وابسته به $FOXO_3$ انجام می‌دهد و کاهش استرس اکسایشی ناشی از این مسیر نقش محافظتی در برابر التهاب ریوی در افراد مبتلا به بیماری‌های ریوی دارد.

همچنین، نتایج پژوهش حاضر نشان داد یک دورهٔ ۱۲ هفته‌ای فعالیت ورزشی شنا تأثیر معناداری بر بیان ژن $FOXO_3a$ در بافت ریهٔ رت‌ها نداشت. با توجه به نقش ضد استرسی $FOXO_3a$ انتظار می‌رفت بیان ژن $FOXO_3a$ افزایش داشته است، که عامل مهمی در فعال‌کنندهٔ مسیرهای آنتی اکسیدانی است. با وجود این، نتایج این پژوهش نشان‌دهندهٔ عدم‌تغییر معنادار بیان ژن $FOXO_3a$ در بافت ریه پس از دورهٔ تمرین بود. هر چند پیشینهٔ مستقیمی در مورد تأثیر فعالیت ورزشی بر بیان یا فعالیت عوامل مؤثر در استرس اکسایشی و عوامل مورد مطالعه در این پژوهش وجود ندارد و با توجه به اینکه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در این پژوهش سنجیده نشد، یکی از دلایل احتمالی عدم‌تغییر در بیان این عامل- علی‌رغم تغییرات مثبت Sirt1- ممکن است به کاهش استرس اکسایشی پس از پایان دورهٔ تمرین ورزشی در بافت ریه مربوط باشد که متعاقباً موجب کاهش نیاز به عوامل آنتی‌اکسیدانتی می‌شود. همچنین، این احتمال وجود دارد که میزان فعالیت پروتئین $FOXO_3a$ در بافت ریه بعد از این دوره فعالیت ورزشی نیز افزایش یافته باشد. با وجود این، به‌دلیل اطلاعات بسیار اندک در مورد تأثیر فعالیت ورزشی بر فرایندهای مختلف سلولی در بافت ریه، به پژوهش‌های بیشتری برای آشکارشدن نتیجه و سازوکار این تأثیرات نیاز است.

نتیجه‌گیری

با وجود نقش $FOXO_3a$ به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدانی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد یک دوره فعالیت ورزشی شنا تأثیری بر بیان ژن این عامل در ریه ندارد، اما فعالیت ورزشی بیان ژن Sirt1 را در این بافت افزایش می‌دهد. با توجه به نقش مهم Sirt1 در فرایندهای مختلف سلولی و افزایش بیان ژن آن در اثر فعالیت ورزشی شنا می‌توان گفت افزایش بیان Sirt1 یکی از سازوکارهای احتمالی است که تمرینات ورزشی از طریق آن بر سلامت بافت ریه و افزایش مقاومت آن در برابر عوامل خطرزا و آسیب‌زا تأثیر می‌گذارد.

تشکر و قدردانی

از ســـرکـار خـانم دکتر مظـاهری و جناب آقای اکرامی که در سنجش‌های آزمایشگاهی ما را یاری کردند قدردانی می‌کنیم.

References

[1]. Simon HB. Exercise and health: dose and response, considering both ends of the curve. The American Journal of Medicine. 205; 128(11): 1171-1177.
[2]. Brunekreef B, Holgate ST. Air pollution and health. The lancet. 2002; 360(9341): 1233-1242.
[3]. King PT. Inflammation in chronic obstructive pulmonary disease and its role in cardiovascular disease and lung cancer. Clinical and Translational Medicine. 2015; 4(1): 1.
[4]. Toledo AC, Magalhaes RM, Hizume DC, Vieira RP, Biselli PJ, Moriya HT, Martins MA. Aerobic exercise attenuates pulmonary injury induced by exposure to cigarette smoke. European Respiratory Journal. 2012; 39(2): 254-264.
[5]. Henriksen EJ, Diamond-Stanic MK, Marchionne EM. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. Free Radical Biology and Medicine. 2011; 51(5): 993-999.
[6]. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovascular Diabetology. 2005; 4(1): 1.
[7]. Li X. SIRT1 and energy metabolism. Acta Biochimica et Biophysica Sinica. 2013; 45(1): 51-60
[8]. Grbesa I, Pajares MJ, Martínez-Terroba E, Agorreta J, Mikecin AM, Larrayoz M, Montuenga LM. Expression of sirtuin 1 and 2 is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer patients. 2015.
[9]. Chun P. Role of sirtuins in chronic obstructive pulmonary disease. Archives of Pharmacal Research. 2015; 38(1): 1-10.
[10]. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: impact on the aging process. International Journal of Molecular Sciences. 2013; 14(2): 3834-3859.
[11]. Czymai T, Viemann D, Sticht C, Molema G, Goebeler M, Schmidt M. $FOXO_3$ modulates endothelial gene expression and function by classical and alternative mechanisms. Journal of Biological Chemistry. 2010; 285(14): 10163-10178.
[12]. Hwang JW, Rajendrasozhan S, Yao H, Chung S, Sundar IK, Huyck HL, ... Rahman I. $FOXO_3$ deficiency leads to increased susceptibility to cigarette smoke-induced inflammation, airspace enlargement, and chronic obstructive pulmonary disease. The Journal of Immunology. 2011; 187(2): 987-998.
[13]. Huang CC, Wang T, Tung YT, Lin WT. Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC-1α expression levels in rats of different age. International Journal of Medical Sciences. 2016; 13(4), 260-270.
[14]. Ferrara N, Rinaldi B, Corbi G, Conti V, Stiuso P, Boccuti S, ... Filippelli A. Exercise training promotes SIRT1 activity in aged rats. Rejuvenation Research. 2008; 11(1): 139-150.
[15]. Dempsey JA, Romer L, Rodman J, Miller J, Smith C. Consequences of exercise-induced respiratory muscle work. Respiratory Physiology & Neurobiology. 2006; 151(2): 242-250.
[16]. Enright SJ, Unnithan VB, Heward C, Withnall L, Davies DH. Effect of high-intensity inspiratory muscle training on lung volumes, diaphragm thickness, and exercise capacity in subjects who are healthy. Physical Therapy. 2006; 86(3): 345-354.
[17]. Mirdar SH, Arab A, Hedayati M, Hajizade A. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1α levels of neonatal lung. Tehran University of Medical Sciences. 2012; 69(12).
[18]. Reisi J, Rajabi H, Ghaedi K, Marandi M, Asady Samani Z, Kazeminasab F. Effect of eight weeks' resistance training on plasma irisin protein level and muscle FNDC5 and adipose tissue UCP1 genes expression in male rats. Exercise Physiology. 2015; 7(28): 30-117. [in Persian]
[19]. Yao H, Chung S, Hwang JW, Rajendrasozhan S, Sundar IK, Dean DA, ... Kinnula VL. SIRT1 protects against emphysema via $FOXO_3$-mediated reduction of premature senescence in mice. The Journal of Clinical Investigation. 2012; 122(6): 2032-2045.
[20]. Bayod S, Del Valle J, Lalanza JF, Sanchez-Roige S, de Luxan-Delgado B, Coto-Montes A, ... Pallas M. Long-term physical exercise induces changes in sirtuin 1 pathway and oxidative parameters in adult rat tissues. Experimental Gerontology. 2012; 47(12): 925-935.
[21]. Grubisha O, Smith BC, Denu JM, Small molecule regulation of Sir2 protein deacetylases. FEBS J. 2005; 12: 51-62.
[22]. Yao H, Sundar IK, Ahmad T, Lerner C, Gerloff J, Friedman AE, ... Rahman I. SIRT1 protects against cigarette smoke-induced lung oxidative stress via a FOXO3-dependent mechanism. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 2014; 306(9): L816-L828.

Effect of a period of swimming exercise on Sirt1 and FoxO3a genes expression in lung tissue of wistar rats

Maryam Khalesi[1*], Shadmehr Mirdar[2], Ali Samadi[3]

1. PhD in Exercise Physiology from Mazandaran University, Mazandaran, Iran
2. Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Mazandaran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Shahed University, Tehran, Iran

Abstract

Physical activity and exercise along with nutrition and hygiene are major factors in prevention of diseases. Due to increase in pulmonary disease prevalence in recent decades and the role of oxidative stress in the pathogenesis of these diseases, the purpose of this study was to determine the effect of a period swimming exercise on Sirtuin 1 (Sirt1) and Forkhead box O_3 ($FoxO_3a$) genes expression in lung tissue of wistar rats.

Twenty wistar rats with the weight of 102±23 g randomly divided into two groups: exercise (n=10) and control (n=10). The exercise protocol included three months of swimming exercise (5 times per week) which begun from 25 min in the first week (4 lit per min) and reached to 60 min (10 lit per min) in the final week. Real time- PCR method was used to assess the genes expression of Sirt1 and $FoxO_3a$ in lung tissue. Kolmogorov-Smirnov test was used to test the normality and Independent t test was used to compare the group ($\alpha<0.05$).

Results showed that after3 month of swimming exercise gene expression of Sirt1 in lung was increased significantly (p=0.001) but no significant difference was observed in gene expression of $FoxO_3a$ between control and exercise group (p=0.09).

Considering the role of Sirt1 in the cell stress resistance and its role in deoxyribonucleic acid repair, increased expression of Sirt1 may lead to cell resistance against the damaging factors and reduce the probability of pulmonary disorders.

Received: 2017/01/16
Accepted: 2017/07/07

Keywords: lung tissue, oxidative stress, swimming exercise.