

## تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی شنا بر بیان ژن FoxO3a و Sirt1 در بافت ریه‌های ویستار

مریم خالصی<sup>۱\*</sup>، شادمهر میردار<sup>۲</sup>، علی صمدی<sup>۳</sup>

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

## چکیده

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۷

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۱۶

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<sub>3</sub>a (FoxO<sub>3</sub>a) در بافت ریه‌های ویستار است.

روش تحقیق: تعداد ۲۰ سر رت ویستار با محدوده وزنی  $102 \pm 23$  گرم به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل (n=10) و فعالیت ورزشی (n=10) تقسیم شدند. پروتکل تمرین شامل سه ماه فعالیت ورزشی شنا (پنج روز در هفته) بود که از ۲۵ دقیقه در هفته 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 جلسه تمرینی انجام شد و بیان ژن‌های Sirt1 و FoxO<sub>3</sub>a در بافت ریه‌ها با استفاده از تکنیک Real time-PCR بررسی شد. برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و برای مقایسه بین گروهی از آزمون تی مستقل استفاده شد ( $\alpha < 0.05$ ).

یافته‌ها: نتایج نشان داد یک دوره فعالیت ورزشی شنا، باعث افزایش معنادار بیان ژن Sirt1 در بافت ریه شد ( $p=0.001$ )، ولی تأثیر معناداری بر بیان ژن FoxO<sub>3</sub>a نداشت ( $p=0.09$ ).

نتیجه‌گیری: با توجه به نقش Sirt1 در افزایش مقاومت سلول در برابر استرس، همچنین ترمیم دزوکسی‌ریبونوکلیک 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

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

بدن انسان از لحظه تولد تا زمان مرگ، همواره در معرض عوامل خطرزای زیادی قرار دارد که با ایجاد آسیب‌های سلولی و ملکولی در عملکرد اندام‌ها و دستگاه‌های گوناگون بدن ایجاد اختلال و بیماری می‌کند. امروزه، مشخص شده است فعالیت

\* نویسنده مسئول: مریم خالصی

نشانی:

تلفن: ۰۹۱۲۷۶۲۵۱۹۲ داورنگار:

رایانامه: mk.khalesi@gmail.com

شناسه ORCID: 0000-0002-8852-9624

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۵، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۷، ص ۷۳-۷۹  
 آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: [journal@medsab.ac.ir](mailto:journal@medsab.ac.ir)  
 شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

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 اکسیدانسی-آنتی‌اکسیدانسی 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 FoxO3a در بافت ریه رت‌های ویستار بود.

### مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط نگهداری. پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. بیست سر رت ویستار با محدوده وزنی  $102 \pm 23$  گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های مخصوص در گروه‌های چهارتایی و در محیط با میانگین دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شد. دسترسی به آب و غذا آزاد بود. پس از سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه در هفته نخست، نمونه‌ها به دو گروه کنترل و فعالیت ورزشی تقسیم شد.

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

به بیماری‌های ریوی و مرگ ناشی از آن‌ها در سراسر جهان رو به افزایش است [۳]. به‌هم‌خوردن هوموستاز اکسیدانسی-آنتی‌اکسیدانسی یکی از سازوکارهای اصلی برهم‌زننده عملکرد سلول و در نتیجه پاتوژنز بیماری‌ها در این بافت است [۴-۶]. با وجود این، اطلاعات کمی درباره تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر هوموستاز اکسیدانسی-آنتی‌اکسیدانسی و عوامل تنظیم‌کننده 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 آنتی‌اکسیدانسی، 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 دزوکسی‌ریبونوکلئیک اسید (DNA) با آثار مخرب ناشی از استرس اکسایشی مقابله می‌کند [۹، ۱۰]. پروتئین سرچنگالی  $O_3$  (FoxO3a) یکی دیگر از عامل رونویسی درگیر در فرایندهای آنتی‌اکسیدانسی 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 اکسید دیسموتاز) موجب سم‌زدایی گونه‌های آزاد اکسیژن و ترمیم DNA آسیب‌دیده می‌شود. این عامل رونویسی در یک‌سری فرایندهای سلولی دیگر مانند مهار اتوفاژی سلول (به‌کمک دایستیل‌اسیون ناشی از Sirt1)، پیری سلول، مقاومت در برابر استرس اکسایشی، التهاب و هومئوستاز 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 عضله اسکلتی رت‌های با سنین مختلف (۳، ۱۲، ۱۸ ماهه) می‌شود. همچنین، فرارا و همکاران [۱۴]

جدول ۱. پروتکل آشناسازی با آب و فعالیت ورزشی شنا

نوع پروتکل	زمان بندی	تعداد جلسات تمرین	زمان اجرای پروتکل	مدت زمان هر جلسه تمرین	میانگین قدرت آب
پروتکل تمرین	هفته نخست	روز سه شنبه	روز یکشنبه	۱۰ تا ۲۰ دقیقه	۴ لیتر در دقیقه
	ماه اول			۴-۵ لیتر در دقیقه	
	ماه دوم			۶-۷ لیتر در دقیقه	
	ماه سوم			۶۰ دقیقه	۸-۱۰ لیتر در دقیقه

روش حدود ۵۰ میلی گرم بافت ریه از هر نمونه جدا و با ۳۰- لاندا کیزول مخلوط شد. ترکیب حاصل آنقدر کوبیده شد (حداقل ۲۰ دقیقه) تا مخلوط یکدست و قهوه‌ای رنگی به دست آمد. میکروتیوپ حاوی محصول به دست آمده به مدت حداقل ۲۴ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس خارج کردن میکروتیوپ از فریزر و رسیدن دمای آن به دمای محیط، ۲۰۰ لاندا کلروفورم به آن اضافه شد و پس از یک دقیقه تکان سریع با دست، به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در سانتریفیوژ یخچال دار (با دمای ۴ درجه سانتی گراد) قرار گرفت. در این مرحله سه لایه مجزا در داخل میکروتیوپ شکل گرفت که لایه رویی و شفاف بخش حاوی RNA است. با جدا کردن بخش محتوای RNA، آن را با ۱ سی سی ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد انتقال داده شد. بعد از آن در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰ گرم سانتریفیوژ شد. پلت حاوی RNA در اتانول شست و شو و در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۷۵۰۰ گرم سانتریفیوژ شد. سپس، در ۲۰ L $\mu$  آب RNAs- Free با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد حل گردید. غلظت RNA سنجش شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ تخلیص مطلوب تعریف شد. بر حسب غلظت RNA اندازه گیری شده در مرحله 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 کمی Real time- PCR استفاده شد. هر واکنش به صورت duplicate انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن های Sirt1, FoxO3a, GAPDH به عنوان ژن مرجع در جدول ۲ آمده است. پس از پایان واکنش نرم افزار دستگاه Real time-PCR به طور خودکار خط آستانه (threshold) هر ژن را رسم و سیکل آستانه (CT) برای هر نمونه به دست آمد. داده های اولیه با نرم افزار اکسل تجزیه و تحلیل شد. برای تعیین بیان نسبی هر ژن با استفاده از داده های 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 می شود. روش محاسبه و استفاده از این فرمول در ادامه آمده است.

پروتکل شنای مورد استفاده در این پژوهش شکل تعدیل شده پروتکل میردار و همکاران [۱۷] بود. همان طور که در جدول ۱ آمده است، هفته نخست آشنایی با آب بود که در آن رت ها پنج جلسه و در هر جلسه به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه با اضافه بار تمرینی ۴ لیتر در دقیقه (سرعت جریان آب در استخر شنا) در داخل استخر شنای ویژه رت ها به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰ سانتی متر و با درجه آب ۳۰-۳۲ درجه سانتی گراد به شنا واداشته شدند. سپس، از هفته دوم، پروتکل اصلی تمرین شروع شد که طی آن از هفته دوم تا هفته هشتم، هر هفته ۵ دقیقه به مدت زمان شنا کردن اضافه می شد. مدت زمان شنا در هفته هشتم به ۶۰ دقیقه رسید که تا پایان دوره (هفته دوازدهم) ثابت بود. برای اعمال اضافه بار میانگین قدرت آب تا پایان هفته هشتم هر دو هفته یکبار به میزان ۱ لیتر در دقیقه اضافه شد. هفته نهم و دهم میانگین قدرت آب به ترتیب به ۸ و ۹ لیتر در دقیقه رسید، در حالی که هفته یازدهم و دوازدهم رت ها با شدت ۱۰ لیتر در دقیقه شنا کردند. تمامی جلسات تمرین از ساعت ۸/۳۰ تا ۱۳ برگزار شد.

بافت برداری. چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت ها بیهوش و برای نمونه برداری آماده شدند. زمان ۴۸ ساعت با توجه به نیمه عمر بیان ژن ها و برای ازمین رفتن پاسخ آخرین جلسه تمرین و سنجش سطوح استراحتی عوامل وابسته به اندازه گیری در نظر گرفته شد. بیهوشی با ترکیبی از داروی زایلازین (۳ تا ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) برای هر رت انجام شد و با عدم عکس العمل نسبت به فشار پا، بیهوشی تأیید شد [۱۸]. پس از آماده سازی نمونه ها، برشی به طول ۵ تا ۷ سانتی متر در ناحیه قفسه سینه ایجاد و ریه راست به طور کامل برداشته شد. سپس، بلافاصله با قراردادن بافت ریه در داخل استوانه شیشه ای مدرج، جرم حجمی بافت ریه اندازه گیری شد.

در مرحله بعد، وزن کشتی بافت انجام شد و در انتها لوب پایین ریه سمت راست در تمام رت ها نمونه بافتی در داخل میکروتیوپ های عاری از RNAase و DNAase قرار داده شد. تمام مراحل در شرایط استریل انجام گرفت و پس از هر بار نمونه برداری وسایل مورد استفاده در الكل و روی شعله آتش ضد عفونی می شد. نمونه های بافتی بلافاصله در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد منجمد و در انتهای کار به فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل و تا زمان انتقال به آزمایشگاه برای انجام سنجش ها در همان جا نگهداری شد.

**استخراج RNA و سنتز cDNA.** استخراج و تخلیص mRNA به روش استخراج دستی با کیزول انجام شد. در این

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

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

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

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

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

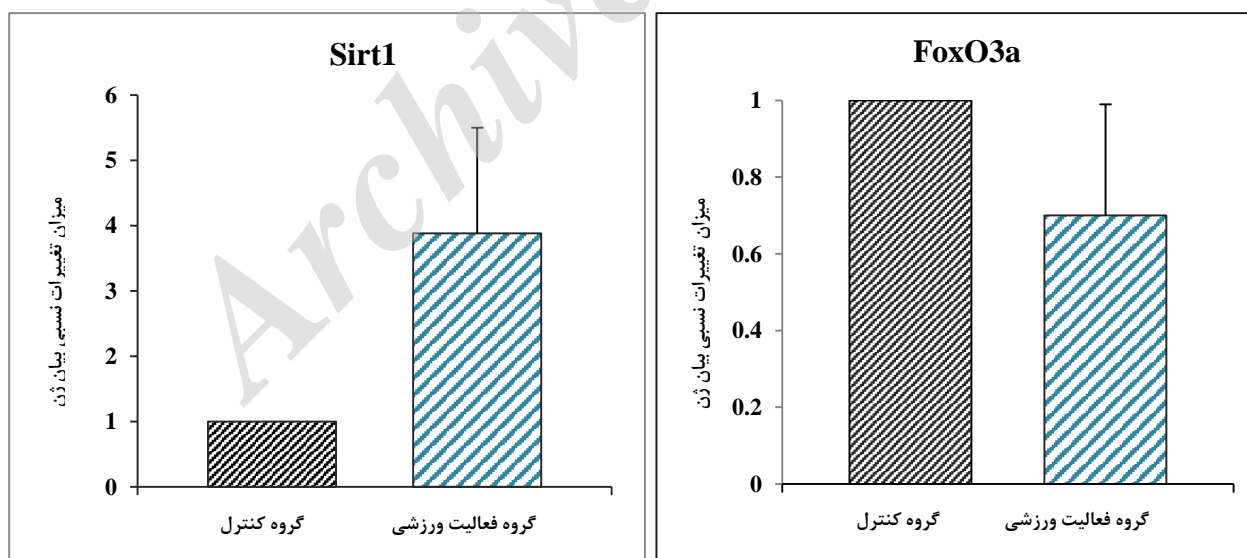
ژن	دمای ذوب	جفت باز	توالی پرایمر
Sirt1	۸۱/۱۲ °C	۴۵	FOR: 5'- TGGTTTACAACGTCTGTGCCT -3' REV: 5'- GCTGCTTGCTGTCCATACCT -3'
FOXO3a	۷۸/۸۸ °C	۴۴	FOR: 5'- GCCTCATCTCAAAGCTGGGT-3' REV: 5'- TGCTCTGGAGTAGGGATGCT -3'
GAPDH	۸۲/۱۶ °C	۴۸	FOR: 5'- AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG -3' REV: 5'- CATACTCAGCACCAGCATCACC -3'

بیان ژن Sirt1 و FoxO3a بافت ریه نشان داد میزان بیان ژن Sirt1 در بافت ریه به طور معناداری در گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل بالاتر بود ( $p=0/001$ )، در حالی که میزان بیان ژن FoxO3a در گروه تمرینی تغییر نداشت ( $p=0/09$ ). میزان تغییرات بیان این ژن‌ها در گروه فعالیت ورزشی نسبت به گروه کنترل در شکل ۱ نشان داده شده است.

از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و توصیف داده‌ها استفاده شد. از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها و از آزمون آماری تی مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شد. سطح معناداری برای آزمون‌های آماری  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

نتایج آزمون تی مستقل در مورد تأثیر فعالیت ورزشی شنا بر



شکل ۱. میزان تغییرات بیان نسبی ژن FoxO3a ( $p=0/09$ ; شکل سمت راست) و Sirt1 ( $p=0/001$ ; شکل سمت چپ) در دو گروه فعالیت ورزشی (n=10) و کنترل (n=10)

\* افزایش معنادار بیان ژن Sirt1 نسبت به گروه کنترل

## بحث

می‌کند.

یائو و همکاران [۲۲] در بررسی نقش ضد استرسی Sirt1 بیان داشتند که فعال کردن Sirt1 از طریق فعال کننده SRT1720 به کاهش استرس اکسایشی ناشی از قرار گرفتن در معرض دود سیگار در بافت ریه می‌انجامد. Sirt1 این کار را از طریق فعال سازی مسیر وابسته به FOXO3 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 دوره ۱۲ هفته‌ای فعالیت ورزشی شنا تأثیر معناداری بر بیان ژن FOXO3a در بافت ریه رت‌ها نداشت. با توجه به نقش ضد استرسی FOXO3a انتظار می‌رفت بیان ژن FOXO3a افزایش داشته است، که عامل مهمی در فعال کننده مسیرهای آنتی اکسیدانی است. با وجود این، نتایج این پژوهش نشان‌دهنده عدم تغییر معنادار بیان ژن FOXO3a در بافت ریه پس از دوره تمرین بود. هر چند پیشینه 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 آنتی اکسیدانی در این پژوهش سنجیده نشد، یکی از دلایل احتمالی عدم تغییر در بیان این عامل - علی‌رغم تغییرات مثبت Sirt1 - ممکن است به کاهش استرس اکسایشی پس از پایان دوره تمرین ورزشی در بافت ریه مربوط باشد که متعاقباً موجب کاهش نیاز به عوامل آنتی اکسیدانی می‌شود. همچنین، این احتمال وجود دارد که میزان فعالیت پروتئین FOXO3a در بافت ریه بعد از این دوره فعالیت ورزشی نیز افزایش یافته باشد. با وجود این، به دلیل اطلاعات بسیار اندک در مورد تأثیر فعالیت ورزشی بر فرایندهای مختلف سلولی در بافت ریه، به پژوهش‌های بیشتری برای آشکار شدن نتیجه و سازوکار این تأثیرات نیاز است.

## نتیجه گیری

با وجود نقش FOXO3a به عنوان عامل آنتی اکسیدانی، 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.

هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره فعالیت ورزشی شنا بر بیان ژن Sirt1 و FOXO3a در بافت ریه رت‌های ویستار بود. در دهه اخیر نقش مثبت سیرتوئین‌ها در ارتباط با بیماری‌های مرتبط با سالمندی مانند سرطان‌ها (از جمله سرطان ریه)، بیماری‌های قلبی-عروقی، بیماری‌های تحلیل برنده عصبی و بیماری‌های ریوی و تنفسی از جمله بیماری انسداد مزمن ریوی (COPD) بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۹، ۱۹].

با توجه به بررسی‌های محقق، این پژوهش نخستین مطالعه‌ای است که به بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر بیان ژن Sirt1 و FOXO3a در بافت ریه پرداخته است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد ۱۲ هفته فعالیت ورزشی شنا، به افزایش معنادار بیان ژن Sirt1 در بافت ریه رت‌ها منجر شد. همسو با یافته این پژوهش، بایود و همکاران [۲۰] نشان دادند ۳۶ هفته فعالیت ورزشی روی نوارگردان (۴ تا ۵ روز در هفته) با شدت متوسط (شبهه به راه رفتن سریع یا دویدن آهسته در انسان) باعث افزایش فعالیت و محتوای پروتئین Sirt1 در عضله دوقلو، کبد و قلب رت‌ها شد. Sirt1، با داستیلاسیون پروتئین‌های هیستونی و غیرهیستونی (هر دو) قادر به کنترل چندین عملکرد فیزیولوژیکی مانند کنترل بیان یکسری ژن‌ها در سلول، تنظیم چرخه 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 داستیلاسیون هم‌فعال کننده گامای گیرنده فعال شده با تکثیر پراکسیزوم-۱-آلفا (PGC-1α) بیوژنز میتوکندیایی را افزایش می‌دهد در حالی که کمبود Sirt1 با افزایش استیله شدن P53 و در نتیجه افزایش فعالیت آن موجب توقف چرخه سلولی، پیری یا آپوپتوز سلول می‌شود. Sirt1 با داستیلاسیون پروتئین‌های تلانژکتازی آتاکسی جهش یافته (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 FOXO3a 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 FOXO3a با افزایش بیان سوپراکسید دیسموتاز با استرس اکسایشی ناشی از سالمندی در این بافت‌ها مقابله

## تشکر و قدردانی

از سرکار خانم دکتر مظاهری 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*. 2005; 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, Larrávoz 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 Pharmacol 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<sub>3</sub> 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<sub>3</sub> 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-1 $\alpha$  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, Hedavati M, Hajizade A. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  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<sub>3</sub>-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 FoxO<sub>3a</sub> genes expression in lung tissue of wistar rats

Maryam Khalesi<sup>1\*</sup>, Shadmehr Mirdar<sup>2</sup>, Ali Samadi<sup>3</sup>

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<sub>3</sub> (FoxO<sub>3a</sub>) 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<sub>3a</sub> 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 after 3 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<sub>3a</sub> 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.