

تاثیر تمرین هوازی و بربرین کلراید بر بیان ژن‌های SIRT1 و AMPK بافت چربی احشایی موش‌های صحرائی دیابتی

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۳

دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۷

سجاد اصغری وسطی کلائی^۱، سقا فرج‌تبار بهرستاق^{۲*}، بابی‌سان عسکری^۲

۱. کارشناسی ارشد تربیت بدنی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران ۲. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: فرو پاشی میتوکندری ناشی از استرس اکسیداتیو یکی از عوامل مهم مقاومت به انسولین است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین هوازی و بربرین کلراید بر شاخص‌های بازسازی و بیوژنز میتوکندری بافت چربی احشایی موش‌های صحرائی دیابتی با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

روش کار: ۳۲ موش صحرائی نر ویستار به طور تصادفی به چهار گروه (n=۸): دیابت (DM)، دیابت-بربرین (BDM)، دیابت-تمرین هوازی (TDM)، دیابت-تمرین هوازی-بربرین (TBDM) تقسیم شدند. دیابت با تزریق STZ در موش‌های نر القا شد. بربرین کلراید (۳۰ mg/kg/day) یک بار در روز به صورت خوراکی با گاوآژ خورانده شد. گروه‌های تمرین به مدت شش هفته برنامه تمرین هوازی فزاینده (۱۸-۱۰ متر در دقیقه، ۴۰-۱۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته) را روی تردمیل انجام دادند. سطوح بیان ژن فاکتورهای SIRT1 و AMPK بافت چربی احشایی با استفاده از روش Real time-PCR اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و در صورت معناداری از آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ استفاده شد.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان ژن‌های SIRT1 ($p < 0.05$) و AMPK ($p < 0.05$) در بین گروه‌ها وجود دارد. در ادامه نتایج نشان داد که بیان ژن SIRT1 در گروه دیابت-تمرین ($p < 0.05$) و دیابت-تمرین-بربرین کلراید ($p < 0.05$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشت. بربرین کلراید به تنهایی نتوانست موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن SIRT1 در مقایسه با گروه دیابتی شود ($p > 0.05$). همچنین بیان ژن AMPK در گروه دیابت-تمرین ($p < 0.05$)، دیابت-بربرین کلراید ($p < 0.05$) و دیابت-تمرین-بربرین کلراید ($p < 0.05$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشت.

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های فوق احتمال دارد تاثیر همزمان تمرین و بربرین کلراید بتواند استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از دیابت را از طریق مسیر AMPK-SIRT1-PPAR γ مهار کند.

کلیدواژه‌ها: تمرین هوازی، بربرین کلراید، بیوژنز میتوکندری، دیابت

* نویسنده مسئول: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

نمابر: ۰۱۱۴۲۱۵۵۲۳۹

تلفن: ۰۹۱۱۳۲۷۷۳۶۷

ایمیل: farajtabarp@yahoo.com

مقدمه

بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک، دیابت در سال ۲۰۴۵ تا ۶۲۹ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار می‌دهد، در حالی که در سال ۲۰۱۷، ۴۲۵ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار داده بود (۱). استرس اکسیداتیو یکی از بزرگترین عوامل پاتوژنز اختلالات عروقی و دیابت است (۲). بسیاری از سطوح بالای گلوکز مرتبط با مسیرهای بیوشیمیایی، مانند اتوکسیداسیون گلوکز، سنتز پروستاگلندین و گلیکاسیون پروتئین، باعث فروپاشی میتوکندری و تولید بیش از حد ROS (گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر) توسط میتوکندری می‌شوند (۳). در نتیجه تولید بیش از حد ROS، چندین مکانیسم سلولی از جمله مسیر پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (Mitogen-activated protein kinase)، پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین-مونوفسفات (AMPK)، مسیرهای سیگنال دهی NF- κ B و عوامل رونویسی مانند فاکتورهای SIRT1 برای شروع التهاب و از بین بردن مسیرهای سیگنالینگ انسولین تحریک می‌شوند (۴). AMPK در پاسخ به استرس انرژی با افزایش نسبت‌های AMP: ATP و ADP: ATP فعال می‌شود و با مهار فرآیندهای آنابولیک که ATP مصرف می‌کنند، تعادل انرژی را بازیابی می‌کند، در حالی که فرآیندهای کاتابولیک تولیدکننده ATP را ارتقا می‌دهد (۵). سیگنالینگ AMPK یک هدف درمانی بالقوه در درمان بیماری است. به نظر می‌رسد مهار آپوپتوز در درمان بیماری التهابی روده امیدوارکننده باشد (۶).

بیوتنز میتوکندری به طور قابل توجهی توسط AMPK افزایش می‌یابد که برای درمان بیماری پارکینسون اهمیت دارد. درمان سرطان دهانه رحم بر اساس سیگنال‌دهی AMPK است. متفورمین سیگنالینگ AMPK را برای ارتقای سطح p53 القا می‌کند که منجر به مرگ سلولی در تومور دهانه رحم می‌شود. تنظیم مثبت AMPK از جذب گلوکز جلوگیری می‌کند و باعث توقف چرخه در سلول‌های تومور پستان می‌شود (۷).

AMPK سطوح انتقال دهنده گلوکز ۴ (GLUT4) را برای تحریک جذب گلوکز توسط سلول‌های عضلانی افزایش می‌دهد (۸).

سیرتوئین‌ها به وفور در هسته و سیتوپلاسم چندین بافت از جمله قلب و اندوتلیوم عروقی بیان می‌شوند. SIRT شناخته شده ترین عضو این خانواده است و نشان داده شده است که

نقش مفیدی در بیماری‌های متابولیک، التهابی و قلبی عروقی مرتبط با سن دارد. مطالعات اخیر منتشر شده به وضوح نشان داده است که SIRT1 باعث کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از پاتوژنز دیابت می‌شود. شواهد قوی وجود دارد که SIRT1 دارای اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوز در اندوتلیوم است و بنابراین از پیری و اختلال عملکرد اندوتلیال جلوگیری می‌کند (۹). فعال‌سازی SIRT1 اثرات مفیدی بر پیری و اختلالات متابولیک مانند سندرم متابولیک و دیابت شیرین و بیماری‌های التهابی مزمن مانند آرتریت و آترواسکلروز و همچنین بر آسیب DNA و استرس اکسیداتیو دارد (۱۰).

AMPK واسطه سلولی اصلی استرس متابولیک است و با محرومیت از گلوکز فعال می‌شود. نکته مهم این است که AMPK و SIRT1 هر دو یکدیگر را تنظیم می‌کنند و اثرات مشابهی بر فرآیندهای سلولی مختلف مانند متابولیسم سلولی، ترمیم DNA، عملکرد میتوکندری و رشد سلولی دارند (۱۱). به عنوان مثال، AMPK مصرف انرژی را با افزایش غلظت NAD⁺ بین سلولی برای افزایش فعالیت SIRT1 دست‌کاری می‌کند. علاوه بر این، SIRT1 و AMPK اهداف مشترک بسیاری دارند، مانند فاکتورهای رونویسی (FOXOs)، گیرنده α فعال پرولیفراتیو-پراکسی زوم (PPAR α) و PGC-1 α فعال‌سازی مشترک AMPK و SIRT1 می‌تواند به صورت جداگانه یا ترکیبی، این عوامل پایین دست را برای اعمال پاسخ محافظ آنتی‌اکسیدانی و بهبود استرس اکسیداتیو در دیابت فعال کند (۱۲).

مطالعات اخیر نشان داده است که بربرین، یک ماده فعال از طب سنتی چینی، اثرات دارویی مختلفی دارد. بربرین نه تنها به دلیل اثرات آنتی باکتریال، ضدالتهابی و ضدویروسی خود در تحقیقات دارویی سنتی غیرقابل جایگزینی است، بلکه به دلیل اثر درمانی قابل توجه آن در درمان تومورها، دیابت، بیماری‌های قلبی عروقی و بیماری‌های دستگاه گوارش، به کانون تحقیقاتی فعلی تبدیل شده است. میتوکندری یکی از اهداف مهم بربرین برای اعمال اثرات دارویی آن است (۱۳). تحقیقات فارماکولوژیک مدرن نشان داده است که بربرین دارای اثرات بازدارنده بر روی انواع باکتری‌ها است و مکانیسم اثر آن ممکن است مهار انتخابی رونویسی RNA باکتریایی، بیوسنتز پروتئین/لیپید و گلیکولیز باشد. مشخص شده است که بربرین دارای اثرات دارویی گسترده دیگری مانند ضد اکسیداسیون،

شاخص‌های بیویژن میتوکندریایی صورت گرفته، اما در خصوص تأثیر تمرینات ورزشی استقامتی همراه با مصرف بربرین کلراید، تحقیقی یافت نشد که به مطالعه همزمان آنها بر روی شاخص‌های مذکور بپردازد. بنابراین در مطالعه حاضر تأثیر تمرین استقامتی همراه با مصرف بربرین کلراید بر شاخص‌های بازسازی و بیویژن میتوکندری بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن حدود ۲۸۰-۳۴۰ گرم خریداری شد. سپس موش‌ها به صورت تصادفی در ۴ گروه هشت‌تایی قرار داده شدند. گروه‌ها بر اساس وزن بدن همسان‌سازی شد. تمام موارد استاندارد از جمله شرایط دمایی (24 ± 1 درجه سانتی‌گراد)، میزان رطوبت نسبی ($55 \pm 3\%$)، دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد ویژه موش (ساخت شرکت بهپرو، ایران) و همچنین سیکل تاریکی/روشنایی (۱۲ ساعته) رعایت گردید. همچنین نکات اخلاقی نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق دستورالعمل مؤسسه ملی سلامت برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در تمام مدت کار رعایت شد. این حیوانات به مدت دو هفته در قفس‌های مخصوص برای سازگاری با محیط جدید قرار داده شدند. در طول مدت دو هفته، به منظور آشناسازی با نوار گردان، حیوانات پنج روز در هفته و هر جلسه به مدت ۱۰-۵ دقیقه با سرعت ۴-۵ متر بر دقیقه روی نوار گردان راه رفتند. دیابت با تزریق داخل صفاقی (IP) استرپتوزوتوسین (ساخت شرکت سیگما با کد شماره: SO130) با دوز ۶۰ mg/kg حل شده در بافر سیترات القا گردید (۲۱). بعد از تزریق استرپتوزوتوسین، به منظور کاهش مرگ‌ومیر موش‌ها به مدت ۴۸ ساعت به جای آب از محلول گلوکز ۵٪ استفاده شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق STZ، غلظت گلوکز خون پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با ایجاد جراحت کوچک بوسیله لانس در ناحیه دم موش و با استفاده از دستگاه گلوکوکارد ۰۱ (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد. موش‌هایی که قندخون آنها بالاتر از ۳۰۰ mg/dl بود به عنوان حیوانات دیابتی وارد تحقیق حاضر شد. روزی که در آن قندخون تأیید شد به‌عنوان روز صفر تعیین گردید.

مکمل مورد استفاده پودر بربرین کلراید هیدرات (ساخت

تنظیم قند خون و چربی خون، ضد تومور، درمان بیماری‌های قلبی عروقی و غیره است (۱۴). تداخل ورزشی و تداخل دارویی به خصوص داروهای گیاهی، از جمله رویکردهای بهبود وضعیت افراد دیابتی تلقی می‌شود. با این وجود گزارش شده که، اگرچه ورزش حاد و شدید منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود اما ورزش منظم و متوسط از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش عوارض دیابت خواهد شد (۱۵).

در تحقیقی نشان داده شد که بربرین آسیب قلبی ناشی از گلوکز بالا را از طریق فعال شدن مسیر سیگنالینگ AMPK برای تحریک بیویژن میتوکندری و بازیابی جریان اتوفاژیک در رده سلولی H9C2 بهبود می‌بخشد (۱۶).

همچنین در پژوهشی دیگر نشان داده شد که بیان پروتئین SIRT1 در گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت. به نظر می‌رسد HIIT به وسیله شدت بالا و ماهیت تمرین تناوبی باعث افزایش بیان پروتئین‌های PGC-1 α , Sirt1 ERR α , عضله دوقلو رت‌های سالمند شده است (۱۷).

امیری و همکاران نیز در پژوهشی عنوان داشتند که هشت هفته تمرین تناوبی سطوح پروتئین‌های سیرتوئین ۱ و سیرتوئین ۳ را به طور معنی‌داری افزایش داد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد که تمرین تناوبی با شدت متوسط با افزایش پروتئین‌های Sirt1 و Sirt3، می‌تواند فشار اکسایشی ناشی از سالمندی را کاهش دهد و منجر به افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود کیفیت زندگی سالمندان شود (۱۸).

نتایج یک پژوهش دیگر نشان داد که تمرین HIIT منجر به افزایش بیان PGC1- α و SIRT1 و در نتیجه سبب افزایش بیان GLUT4 و حساسیت انسولینی می‌شود که در بهبود افراد مبتلا به دیابت نوع دو مؤثر است (۱۹).

همچنین وانگ و همکاران در پژوهشی نشان دادند که بهبود گلوکز و چربی خون ناشی از ورزش هوازی با تنظیم مسیر سیگنالینگ AMPK-PPAR α -CPT1 در کبد و عضله موش‌های دیابتی مرتبط بوده و فعال‌سازی PPAR γ می‌تواند سطح پروتئین AMPK-PPAR α -CPT1 را در موش‌های TDM افزایش دهد (۲۰).

علیرغم اینکه مطالعات اندکی در زمینه تأثیر برنامه‌های گوناگون ورزشی با مدت‌ها و شدت‌های مختلف بر روی

برج صنعت آزما مدل (T.S8000) با شدت متوسط برای پنج روز در هفته و با تواتر سه روز تمرین و یک روز استراحت قرار گرفتند. در هر جلسه تمرین، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن با سرعت ۴-۵ متر بر دقیقه در نظر گرفته شد که این مدت به زمان اصلی تمرین اضافه گردید. سرعت و مدت زمان تمرین به تدریج مطابق با جدول ۱ افزایش یافت. همچنین حین برنامه تمرینی از هیچ نوع شوک الکتریکی استفاده نشد و در صورت لزوم با استفاده از دست و یا ایجاد محرک صوتی روی درپوش نوار گردان، حیوانات وادار به ادامه تمرین گردیدند (۲۳).

شرکت سیگما با کد شماره : 14050) گرفته شده از گیاه زرشک با درجه خلوص ۹۰٪ بود. این پودر در هر جلسه به اندازه‌ی مورد نیاز در محلول نرمالین سالیین حل شد. سپس محلول آماده شده با دوز ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و در تمام روزهای هفته و به مدت شش هفته به صورت خوراکی (گاواژ) قبل از تمرین به گروه‌های مورد نظر خوراندند شد (۲۲).

در پژوهش حاضر، از شدت تمرینی متوسط (۵۵-۵۰٪ اکسیژن مصرفی بیشینه) و در عین حال کارآمد از لحاظ فیزیولوژیک استفاده گردید. بدین صورت که گروه‌های تمرینی به مدت شش هفته در معرض تمرین نوار گردان (ساخت شرکت

جدول ۱. برنامه تمرین استقامتی

متغیرهای تمرین	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
سرعت (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۴-۱۵	۱۴-۱۵	۱۷-۱۸	۱۷-۱۸
مدت (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۴۰

همه حیوانات با شرایط کاملاً مشابه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کنامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. بافت چربی احشایی بلافاصله پس از جداسازی و پاک‌سازی از خون، به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد.

برای بررسی بیان ژن‌های AMPK و SIRT1 از تکنیک Real time PCR توسط دستگاه Rotor Gene 6000

همه حیوانات با شرایط کاملاً مشابه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کنامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. بافت چربی احشایی بلافاصله پس از جداسازی و پاک‌سازی از خون، به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد.

برای بررسی بیان ژن‌های AMPK و SIRT1 از تکنیک Real time PCR توسط دستگاه Rotor Gene 6000

جدول ۲. مشخصات توالی پرایمرهای مربوط به هر یک از ژن‌ها

Gene	Primer Sequences
AMPK	Forward: 5'- ACTATCAAAGACATACGAGAGCA-3' Reverse: 5'- CTTGAGGGTCACCACTGTATAA-3'
SIRT1	Forward: 5'- TCCTGTGGGATACCTGACTT-3' Reverse: 5'- AAAGGAACCATGACACTGAATGA-3'
GAPDH	Forward: 5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3' Reverse: 5'- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3'

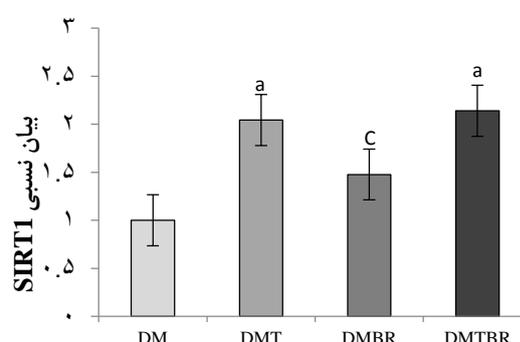
صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد و جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و در

نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان ژن SIRT1 در بین گروه‌ها وجود دارد ($p < 0.05$, $df=3$, $F=9.7$).

در ادامه نتایج نشان داد که بیان ژن SIRT1 در گروه دیابت-تمرین ($p < 0.05$) و دیابت-تمرین-بربرین-کلراید ($p < 0.05$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشت. بربرین کلراید به تنهایی نتوانست موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن SIRT1 در مقایسه با گروه دیابتی شود ($p > 0.05$) (نمودار ۱).

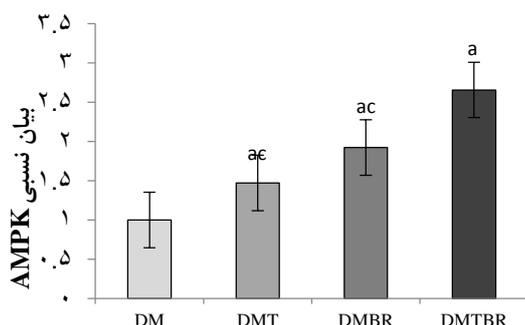


نمودار ۱. تغییرات بیان نسبی SIRT1 بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با DM، c تفاوت با گروه DMTBR. DM: دیابت، DMT: دیابت-تمرین، DMBR: دیابت-بربرین کلراید، DMTBR: دیابت-تمرین-بربرین کلراید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان ژن AMPK در بین گروه‌ها وجود دارد ($p < 0.05$, $df=3$, $F=13.538$).

در ادامه نتایج نشان داد که بیان ژن AMPK در گروه دیابت-تمرین ($p < 0.05$)، دیابت-بربرین کلراید ($p < 0.05$) و دیابت-تمرین-بربرین کلراید ($p < 0.05$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشت. بیان ژن AMPK در گروه دیابت-تمرین-بربرین کلراید ($p < 0.05$) نسبت به دیابت-تمرین-بربرین کلراید و همچنین گروه دیابت-تمرین-بربرین کلراید ($p < 0.05$) نسبت به گروه دیابت-تمرین، افزایش معنی‌داری داشت (نمودار ۲).



نمودار ۲. تغییرات بیان نسبی AMPK بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با DM، c تفاوت با گروه DMTBR. DM: دیابت، DMT: دیابت-تمرین، DMBR: دیابت-بربرین کلراید، DMTBR: دیابت-تمرین-بربرین کلراید.

بحث

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که کمترین غلظت SIRT1 در گروه دیابت و بیشترین سطوح آن در گروه‌های دیابت-بربرین-تمرین و دیابت-تمرین مشاهده شد. همچنین میانگین و انحراف معیار مربوط به سطح بیان ژن SIRT1 در گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح بیان SIRT1 بین گروه‌های مختلف وجود دارد.

در ادامه کمترین غلظت AMPK در گروه دیابت و بیشترین سطوح آن در گروه دیابت-بربرین-تمرین مشاهده شد. همچنین میانگین و انحراف معیار مربوط به سطح بیان ژن AMPK در گروه‌های مختلف مورد مطالعه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح بیان AMPK بین گروه‌های مختلف وجود دارد.

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطوح بیان ژن AMPK و SIRT1 در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه‌های تمرین و بربرین کلراید افزایش بیشتری نشان داد. سان و همکاران در پژوهشی به بررسی تاثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین AMPK در بافت قلب موش‌های صحرائی مبتلا به ایسکمی پرداختند. پروتئین AMPK در زمان‌های ۱۰، ۳۰، ۶۰ دقیقه نسبت به زمان صفر افزایش معناداری یافته بود (۲۴). نتایج تحقیق حاضر با پژوهش Sun و همکاران همسو است. در

پایین آمدن پاسخ‌های التهابی از طریق فعال‌سازی سیگنالینگ AMPK نشان داده شد (۲۹).

در پژوهش حاضر اثر همزمان بربرین کلراید و تمرین ورزشی بر بیان ژن AMPK و SIRT1 بیشتر از اثر هر کدام به تنهایی بود. مطالعاتی که به بررسی اثر همزمان همزمان بربرین کلراید و تمرین هوازی بر این متغیرهای پرداخته باشند، مشاهده نشد. Woodhead و Merry در پژوهشی به بررسی پیتیدهای مشتق از میتوکندری و فعالیت پرداختند. ورزش حاد، و به ویژه ورزش های هوازی، تقاضای انرژی عضله اسکلتی را افزایش می دهد که باعث استرس میتوکندری و سازگاری های مرتبط با میتوکندری می شود که مشخصه تمرینات ورزشی است (۳۰). همچنین نتایج پژوهش بختیاری و همکاران نشان داد که بیان پروتئین SIRT1 در گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت (۱۷). به نظر می رسد در این تحقیق بربرین کلراید و تمرین هوازی با اثرات هم‌افزایی که داشتند باعث بهبود بیان SIRT1 و AMPK در بافت چربی شده است. مکانیسم‌های احتمالی ضد هیپرگلاسمی بربرین این است که می تواند گلیکولیز را تحریک کرده، گلوکونئوژنز کبدی، آدیپوژنز و عملکرد میتوکندریایی را سرکوب کند و ترشح انسولین را از طریق فعال کردن کیناز آدنوزین ۵ مونوفسفات (AMPK) افزایش دهد. از طریق همین مکانیسم بربرین کلراید می تواند منجر به افزایش انتقال دهنده گلوکز ۴ و بهبود حساسیت انسولین در برخی از سلول ها شود (۳۱). همچنین بربرین دارای اثر پایین آورنده قند خون در هیپاتوسیت‌ها در روشی مستقل از انسولین است. اگر سطح قند خون در هیپاتوسیت‌ها کاهش یابد، ترشح انسولین از سلول های β نیز کاهش می یابد، اما فعالیت تحریکی ترشح انسولین توسط بربرین مجدداً این کمبود را جبران می کند (۳۱). در نتیجه احتمالاً از طریق مکانیزم‌های یاد شده بربرین موجب کاهش سطح گلوکز خون خواهد شد.

نتیجه گیری

تاثیر تمرین هوازی و مصرف بربرین کلراید موجب افزایش معنادار بیان ژن های SIRT1 و AMPK در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شده است. براساس یافته‌های فوق احتمال دارد تاثیر همزمان تمرین و بربرین کلراید بتواند استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از دیابت را از طریق مسیر AMPK-SIRT1-PPAR γ مهار کند.

هر دو پژوهش تمرین ورزشی موجب افزایش بیان AMPK شده است. همانطور که مشاهده می شود تمرین هر دو پژوهش از نوع استقامتی بوده است و با توجه به این که در پژوهش سان و همکاران تمرین استقامتی در یک جلسه بوده است که میزان پروتئین AMPK در سه زمان افزایش یافته بود. نتایج هر دو تحقیق نشان دهنده‌ی این مطلب است که احتمالاً تمرین استقامتی با توجه به شدت و مدت زمان آن می تواند بر میزان AMPK تأثیر گذار باشد. از جمله سازوکارهای احتمالی این است که فعالیت ورزشی منجر به فعال شدن AMPK می شود که این امر می تواند به صورت مستقیم $PGC-1\alpha$ را فسفریله کند و این عمل برای القاء $PGC-1\alpha$ از پیش ساز آن ضروری است (۲۵). علاوه بر این، مسیر SIRT1-AMPK- $PGC-1\alpha$ فعالیت ضد اکسیداتیو خود را در سایر عوارض عروقی دیابت از جمله عوارض مغزی، کاردیومیوپاتی دیابتی و نفروپاتی دیابتی اعمال می کند (۲۶). $PGC-1\alpha$ می تواند مستقیماً توسط SIRT1 بدون AMPK فعال شود تا اختلالات متابولیکی در آسیب اکسیداتیو اندوتلیال ناشی از گلوکز بالا و شکافت میتوکندری با واسطه Drp در قلب‌های دیابتی را کاهش دهد (۲۷). AMPK واسطه سلولی اصلی استرس متابولیک است و با محرومیت از گلوکز فعال می شود. نکته مهم این است که AMPK و SIRT1 هر دو یکدیگر را تنظیم می کنند و اثرات مشابهی بر فرآیندهای سلولی مختلف مانند متابولیسم سلولی، ترمیم DNA، عملکرد میتوکندری و رشد سلولی دارند (۱۱).

بربرین به عنوان یک پروتئین فعال کننده پروتئین کیناز (AMPK) فعال شده است. AMPK یک سیستم حساس انرژی / سیگنالینگ کلیدی در سلول است و با نظارت بر سطح انرژی سلولی، به عنوان مثال، نسبت (AMP/ATP) به عنوان سنج سوخت عمل می کند. فعال سازی AMPK به خوبی برای افزایش حساسیت به انسولین و تنظیم عملکرد میتوکندری شناخته شده است. مطالعات مختلف نشان می دهد که بربرین یک ماده محرک قوی برای فسفوریلاسیون Thr-172 AMPK7 است (۲۸). Fang و همکاران در پژوهشی به بررسی اثرات فارمولوژیک بربرین بر روی میتوکندری پرداختند. نتایج پژوهش نشان دادند که تنظیم فعالیت میتوکندریایی با اعمال مختلف دارویی بربرین، مانند تنظیم قند و چربی خون و مهار پیشرفت تومور مرتبط است. بربرین برای محافظت از آسیب‌های اندوتلیال محافظت شده، تقویت عروق وابسته به اندوتلیوم و

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدینوسیله از تمامی اشخاصی که صمیمانه ما را در اجرای این پژوهش یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نماییم. ضمناً این مطالعه دارای کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1401.222 می‌باشد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

References

- Zhang HN, Dai Y, Zhang CH, Omondi AM, Ghosh A, Khanra I, et al. Sirtuins family as a target in endothelial cell dysfunction: implications for vascular ageing. *Biogerontology*. 2020; 21(5):495–516.
- Odegaard AO, Jacobs DR Jr, Sanchez OA, Goff DC Jr, Reiner AP, Gross MD. Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes. *Cardiovascular Diabetology*. 2016; 15:51.
- Kaludercic N, Di Lisa F. Mitochondrial ROS Formation in the Pathogenesis of Diabetic Cardiomyopathy. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2020; 7:12.
- Volpe CMO, Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, Nogueira-Machado JA. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death & Disease*. 2018; 9(2):119.
- Uszczak et al., Critical role for AMPK in metabolic disease-induced chronic kidney disease 21(21).2020;7994.
- Arab MY, Al-Shorbagy M.A. Saad .Activation of autophagy and suppression of apoptosis by dapagliflozin attenuates experimental inflammatory bowel disease in rats: targeting AMPK/mTOR, HMGB1/RAGE and Nrf2/HO-1 pathways . *Chemistry & Biology*. *Interact.*, 335. 2021; Article 109368.
- Xiao, et al. Effect of the SIRT3-AMPK/PPAR pathway on invasion and migration of cervical cancer cells .*International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 13 (10). 2020; 2495-250.
- Shamshoum, et al. Rosemary extract activates AMPK, inhibits mTOR and attenuates the high glucose and high insulin-induced muscle cell insulin resistance .*Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 46 (7). 2021; 819-27
- Zarzuelo MJ, López-Sepúlveda R, Sánchez M, Romero M, Gómez-Guzmán M, Ungvary Z, et al. SIRT1 inhibits NADPH oxidase activation and protects endothelial function in the rat aorta: implications for vascular aging. *Biochemical Pharmacology*. 2013;85(9):1288–96.
- Pardo PS, Boriek AM. SIRT1 regulation in ageing and obesity. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2020; 188:111249.
- Meng T, Qin W., Liu B. SIRT1 Antagonizes Oxidative Stress in Diabetic Vascular Complication. *Frontiers in Endocrinology*. 2020; 11, 568861.
- Manna P, Achari AE, Jain SK. Vitamin D supplementation inhibits oxidative stress and upregulate SIRT1/AMPK/GLUT4 cascade in high glucose-treated 3T3L1 adipocytes and in adipose tissue of high fat diet-fed diabetic mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2017; 615:22–34.
- Habtemariam S. Berberine pharmacology and the gut microbiota: A hidden therapeutic link. *Pharmacological Research*. 2020; 155:104722.
- Rajasekhar K, Samanta S, Bagoband V, Murugan NA, Govindaraju T. Antioxidant berberine-derivative inhibits multifaceted amyloid toxicity. *iScience*. 2020; 23(4):101005.
- Mahmudzadeh T, Saghebjo M, Seghatol Eslami A, Hedayati M. Effect of aerobic training and pistacia atlantica extract consumption on pancreatic β -cells function in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2014; 13(3): 252-62.
- Hang W., He B., Chen, J., Xia, L., Wen, B., Liang, T., Wang, X., Zhang, Q., Wu, Y., Chen, Q., & Chen, J. Berberine ameliorates high glucose-induced cardiomyocyte injury via AMPK signaling activation to stimulate mitochondrial biogenesis and restore autophagic flux. *Frontiers in Pharmacology*. 2018; 9, 1121.
- Bakhtiyari A., Gaeni A., Chobineh S., Kordi M. R., Hedayati M. Effect of 12-weeks high-intensity interval training on SIRT1, PGC-1 α and ERR α protein expression in aged rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 2018; 5(2): 95-102.
- Amiri R, Makipour F, Bostani M. The effect of eight weeks of interval training on plasma levels of

- sirt1 and sirt 3 proteins in inactive elderly men. *Daneshvar Medicine* 2022; 30(4):62-73.
19. Mohsenzadeh M, Aghaei F, Nameni F. The effect of high intensity interval training on SIRT1 and PGC1- α gene expression in soleus muscle of type 2 diabetes in male rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences*. 2020; 42(4):447-55. (in Persian).
20. Wang J, Li J, Song D, Ni J, Ding M, Huang J, Yan M. AMPK: implications in osteoarthritis and therapeutic targets. *American Journal of Translational Research*. 2020; 15;12(12):7670-81.
21. Eizadi M, Ravasi AA, Soory R, Baesi K, Choobineh S. The effect of three months of resistance training on TCF7L2 expression in pancreas tissues of type 2 diabetic rats. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*. 2016; 4(1):e34014.
22. Mahmoud AM, Abdel-Rahman MM, Bastawy NA, Eissa HM. Modulatory effect of berberine on adipose tissue PPAR γ , adipocytokines and oxidative stress in high fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2017; 30; 7(04):1-10.
23. Seo H, Park CH, Choi S, Kim W, Jeon BD, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. *Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry*. 2016; 20(3):16-23.
24. Sun XL, Lessard SJ, An D, Koh HJ, Esumi H, Hirshman MF, Goodyear LJ. Sucrose nonfermenting AMPK- related kinase (SNARK) regulates exercise- stimulated and ischemia-stimulated glucose transport in the heart. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2019;120(1):685-96.
25. Shirvani H, Aslani J. The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on serum irisin and expression of skeletal muscle PGC-1 α gene in male rats. *Tehran University Medical Journal Publications*. 2017; 75(7):513-20.
26. Park HS, Lim JH, Kim MY, Kim Y, Hong YA, Choi SR, et al. Resveratrol increases AdipoR1 and AdipoR2 expression in type 2 diabetic nephropathy. *Journal of Translational Medicine*. 2016; 14:176.
27. Ding M, Feng N, Tang D, Feng J, Li Z, Jia M, et al. Melatonin prevents Drp1-mediated mitochondrial fission in diabetic hearts through SIRT1-PGC1 α pathway. *Journal of Pineal Research*. 2018; 65(2): e12491.
28. Ma X., Egawa T., Kimura H., Karaike K., Masuda S., Iwanaka N., Hayashi T. Berberine-induced activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase and glucose transport in rat skeletal muscles. *Metabolism*. 2010; 59(11), 1619-27.
29. Fang X, Wu H, Wei J, Miao R, Zhang Y, Tian J. Research progress on the pharmacological effects of berberine targeting mitochondria. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. 2022; 11;13:982145.
30. Woodhead JST, Merry TL. Mitochondrial-derived peptides and exercise. *Biochimica et Biophysica Acta General Subjects*. 2021;1865(12):130011.
31. Mehrzadi S, Fatemi I, Esmailizadeh M, Ghaznavi H, Kalantar H, Goudarzi M. Hepatoprotective effect of berberine against methotrexate induced liver toxicity in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018;97: 233-9

The Effect of Aerobic Exercise and Berberine Chloride on the Expression of SIRT1 and AMPK Genes in Visceral Adipose Tissue of Diabetic Rats

Received: 09 Oct 2023

Accepted: 04 Dec 2023

Sajjad Asghari Vostakolaei¹, Saqqa Farajtabar Behrestaq^{2*}, Babisan Askari²

1. MA of Physical Education, Department of Physical Education and Sport Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran 2. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

Abstract

Introduction: Mitochondrial collapse caused by oxidative stress is one of the important factors of insulin resistance. The purpose of this study is to investigate the effect of aerobic exercise and berberine chloride on the indices of mitochondrial regeneration and biogenesis of visceral adipose tissue in streptozotocin-diabetic rats.

Materials and Methods: 32 male Wistar rats were randomly divided into four groups (n=8): diabetes (DM), diabetes-berberine (BDM), diabetes-aerobic exercise (TDM), diabetes-aerobic exercise-berberine (TBDM). Diabetes was induced by STZ injection in male rats. Berberine chloride (30 mg/kg/day) was administered orally by gavage once a day. The exercise groups performed an incremental aerobic exercise program (10-18 m/min, 10-40 min/day, and five days/week) on a treadmill for six weeks. Gene expression levels of SIRT1 and AMPK factors in visceral adipose tissue were measured using Real time-PCR method. Data analysis was conducted using one-way analysis of variance and if significant, Tukey's post hoc test was used at a significance level of $p < 0.05$.

Results: Data analysis showed that there is a significant difference in the expression of SIRT1 ($p < 0.05$) and AMPK ($p < 0.05$) genes among the groups. Furthermore, the results showed that the expression of SIRT1 gene in the diabetes-exercise group ($p < 0.05$) and diabetes-exercise-berberine chloride ($p < 0.05$) had a significant increase compared to the diabetes group. Berberine chloride alone could not significantly increase SIRT1 gene expression compared to the diabetic group ($p > 0.05$). Also, the expression of AMPK gene in diabetes-exercise ($p < 0.05$), diabetes-berberine chloride ($p < 0.05$) and diabetes-exercise-berberine chloride ($p < 0.05$) groups had a significant increase compared to the diabetes group.

Conclusion: Based on the above findings, it is possible that the simultaneous effect of exercise and berberine chloride could inhibit oxidative stress and inflammation caused by diabetes through the AMPK-SIRT1-PPAR γ pathway.

Keywords: Aerobic exercise, Berberine chloride, Mitochondrial biogenesis, Diabetes

*Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

Email: farajtabarp@yahoo.com

Tel: +989113277367

Fax: +981142155229