تاثیر هشت هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید بر سطوح SIRT3 بافت عضله اسکلتی موش های صحرایی چاق ویستار

ایمان فتحی[۱]✉، مریم نورشاهی[۲] ، عباس حق پرست[۳] ، حسن فلاح حسینی[۴]

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شهید بهشتی تهران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی دانشگاه شهید بهشتی تهران

۳- استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی تهران

۴- دانشیار، گروه پژوهشی فارماکولوژی و طب کاربردی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۲/۱۱

چکیده

هدف: سیرت ۳ یکی از اعضای خانواده پروتئین دی استیلازهای سیرتوئین است که در میتوکندری قرار دارد و عملکرد میتوکندری را تنظیم می کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید بر سطوح SIRT3 بافت عضله اسکلتی موش صحرایی چاق ویستار بود. **روش پژوهش:** ۲۴ موش صحرایی بطور تصادفی به چهار گروه ۶ تایی: ۱) چاق- تمرین تناوبی (HIIT)؛ ۲) چاق- تمرین تداومی (CT)؛ ۳) کنترل چاق (OB) و ۴) کنترل غیرچاق (.Cont) تقسیم شدند. طی دوره تحقیق به موش‌های گروه های ۱، ۲ و ۳ غذای پرچرب داده شد. پس از آشناسازی، موش های گروه CT و HIIT به مدت هشت هفته سه جلسه در هفته به ترتیب تمرین تداومی هوازی و تمرین تناوبی با شدت بالا را انجام دادند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها تشریح شدند. **نتایج:** بررسی وسترن بلاتینگ نشان داد که میزان سیرت ۳ عضله نعلی در گروه های HIIT و CT نسبت به گروه های OB و .Cont بطور معنی داری بیشتر بود ($P <۰/۰۵$). همچنین میزان سیرت ۳ گروه HIIT نسبت به گروه CT بیشتر بود که البته معنی دار نبود. همچنین تفاوت معنی داری بین میزان سیرت ۳ گروه OB و .Cont مشاهده نشد؛ با این‌حال میزان سیرت ۳ در گروه OB کمتر بود. **نتیجه‌گیری**: به نظر می‌رسد استفاده از تمرینات HIIT می تواند به اندازه تمرینات تداومی بر عملکرد میتوکندری بافت عضلانی و در نهایت بر طول عمر بویژه در افراد چاق موثر باشند و باعث افزایش فاکتورهای مهمی همچون سیرت ۳ شوند.

واژگان کلیدی: سیرتوئین ها، چاقی، تمرینات تناوبی، طول عمر

Effect of eight-week aerobic continuous and high intensity interval training on levels of SIRT3 in skeletal muscle tissue of Wistar rats

Abstract

Purpose: SIRT3 is a member of the sirtuin family of protein deacetylases that is localized in mitochondria and regulates mitochondrial function. The aim of this study was to investigate the effect of eight-week aerobic continuous and high intensity interval training on levels of SIRT3 in Wistar rat's skeletal muscle tissue. **Methods:** 24 Wistar rats were randomly divided into four groups of six animals each, namely: 1) Obese- High-intensity interval training (HIIT), 2) Obese- Continues training (CT) 3) Obese control (OB) and 4) Non-Obese control (Cont.). During the study, groups of rat 1, 2 and 3 were given a high-fat diet. After familiarization, CT and HIIT rats performed aerobic continuous training and high intensity interval training three times a week for eight weeks, respectively. 48 hours after the last training session, the rats were sacrificed. **Results:** Western blot analysis showed that the amount of SIRT3 protein of Soleus muscle in HIIT and CT groups was higher than OB and Cont. groups significantly ($p< 0.05$). Also, SIRT3 content was higher in HIIT than CT group, though insignificant. Also, no significant difference was observed between SIRT3 content of OB and Cont. However, SIRT3 content was lower in OB group**. Conclusion:** It seems that using HIIT exercise can be as effective as continuous training on muscle mitochondrial function and ultimately contribute to longevity, especially in obese patients and raises important factors such as SIRT3.

Key words: Sirtuins, Obesity, Interval training, Life span

✉ **نویسنده مسئول**: ایمان فتحی **شماره تماس:** ۰۹۱۶۹۹۸۹۹۵۸

آدرس: تهران- اتوبان چمران- ولنجک- دانشگاه شهید بهشتی- خوابگاه- بلوک ۱- اتاق ۱۴۹

E-Mail: imanfathi@gmail.com

مقدمه

بدون شک چاقی یکی از مشکلات جدی سلامتی در جوامع صنعتی است (۱). دیابت شیرین، بیماری قلبی- عروقی، کاهش حساسیت انسولینی (۱)، اختلال در خواب[1]، تنگی نفس، بیماری روانی، استئوآرتریت، التهاب زانو و پا، درد پشت و درد اندام تحتانی- همه بطور منفی روی ظرفیت های اجرای فعالیت های روزمره اثرگذار هستند که در افراد چاق شایع ترند (۲-۴). بعلاوه، چاقی به تنهایی می تواند منجر به افزایش ۵ برابری خطر توسعه ضعف و سستی[2] ناشی از افزایش سن در مقایسه با همتایان سالم و غیر چاق شود (۵). در واقع، امروزه بخوبی ثابت شده است که افزایش چاقی عمومی و چاقی مرکزی منجر به افزایش خطر توسعه ناتوانی ها و مرگ و میرهای مرتبط با چاقی و کاهش طول عمر شده است (۶, ۷). از اینرو محققان بطور گسترده بدنبال بررسی اثرات مداخله های مختلف بر چاقی و کاهش عوارض آن و در نهایت افزایش طول عمر هستند. در همین رابطه محققان مشاهده کرده اند که محدودیت کالریک (CR) و عوامل (مانند داروهای مختلف) و مداخله هایی (مانند فعالیت ورزشی) که بتوانند شرایط محدودیت کالریک را فراهم کنند اثرات ضدپیری[3] دارند؛ به عبارت دیگر این عوامل (مقلدهای محدودیت کالریک)[4] می توانند مسیرهای متابولیکی کلیدی را تعدیل و منجر به حفظ سلامت جوانی[5] و افزایش طول عمر شوند (۸). سیرتوئین ها[6] از کاندیدهای اصلی محدودیت کالریک هستند؛ آنها قادرند تا از بیماری های مرتبط با سن نظیر آلزایمر (۹)، دیابت و چاقی جلوگیری کنند. خانواده پروتئین های سیرتوئین دارای فعالیت دی استیلازی وابسته به NAD^+ و یا ADP ریبوزیل ترانسفراز[7] هستند (۱۰). این پروتئین ها فرایندهای بیولوژیکی مختلفی از بازسازی DNA[8] و پایداری ژنوم[9] تا هومئوستاز چربی و گلوکز را تنظیم می کند (۱۱, ۱۲). تحقیقات نشان داده اند که این آنزیم ها از تنظیم کننده های کلیدی بقای سلولی[10] و طول عمر ارگانیسم هستند (۱۳). طی ده سال گذشته انفجاری از تحقیقات روی پتانسیل درمانی احتمالی فعال سازی سیرتوئین ها بویژه سیرت ۱ و اخیرا سیرت ۳ بر روی بسیاری از بیماری ها انجام شده است (۱۴-۱۸). با اینحال، همچنان در مورد عملکرد سیرتوئین ها در بدن[11] اطلاعات کمی وجود دارد (۱۹). هفت سیرتوئین در پستانداران شناخته شده است (سیرت ۱-۷[12]) که بطور متفاوتی در بخش های مختلف سلولی قرار گرفته اند و تنوعی از عملکردها را با خود دارند (۲۰, ۲۱). از این هفت سیرتوئین، سه سیرتوئین ۳، ۴، ۵ بطور ویژه در میتوکندری ها قرار دارند (۲۲, ۲۳) که در این میان، سیرت ۳ دارای بیشترین فعالیت دی استیلازی است (۲۴-۲۶). در واقع سطوح قابل توجه و بالایی از پروتئین استیلاسیون میتوکندریایی در کبد موش هایی که سیرت ۳ آنها سرکوب شده بود در مقایسه با موش هایی که سیرت ۴ یا ۵ آنها سرکوب شده بود، دیده شد (۲۷). تحقیقات نشان داده اند سیرت ۳ در انسان با طول عمر مرتبط است (۲۸, ۲۹) و بیان غیر عادی[13] این سیرتوئین با سرطان سینه ارتباط مثبت[14] ارتباط دارد (۳۰)؛ این موضوع پیشنهاد می کند که سیرت ۳ می تواند به عنوان یک تارگت[15] درمانی و تشخیصی مهم در بیماری و سالمندی بکار رود (۱۰). به علاوه مشخص شده است که یکی از دلایل اصلی مرگ سلولی بوسیله استرس ژنوتاکسیک ناشی از تخلیه NAD^+ هسته و سیتوپلاسم است (۳۱). بنابراین سطوح NAD^+ سلول که از عوامل اصلی فعال کننده های سیرتوئین ها می باشند در مرگ سلولی و طول عمر نقش دارند. در همین رابطه یانگ و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که در موش هایی که ۴۸ ساعت گرسنه نگه داشته شده بودند سطوح آنزیم بیوسنتزکننده NAD^+ (یعنی Nampt) افزایش و در نتیجه

1. Sleep apnoea
2. Frailty
3. Anti-aging
4. Calorie restriction mimetics (CRM)
5. Youthful health
6. Sirtuins
7. NAD+ dependent deacetylase activity and/or ADP ribosyltransferase
8. DNA repair
9. Genome stability
10. Cell survival
11. In vivo
12. SIRT1-7
13. Aberrant
14. Node-positive breast cancer
15. Target

NAD^+ میتوکندریایی افزایش یافت و متعاقبا سطح فعالیت سیرت ۳ نیز افزایش یافت. نیاز به NAD^+ برای فعالیت دی استیلازی سیرت ۱ و سیرت ۳ یک ارتباط بنیادی بین فعالیت این پروتئین ها و نوسانات[1] در وضعیت $NAD^+(H)$ طی فعالیت ورزشی را ایجاد می کند (۳۲). تحقیقات نشان می دهند که سیرت ۳ طی سالمندی کاهش می یابد با اینحال در افراد تمرین کرده استقامتی در مقایسه با افراد بدون تمرین[2] همسن بالاتر است (۳۳). در همین رابطه مشخص شده است که تمرینات ورزشی و یا تحریک الکتریکی مزمن (۱۰, ۳۴, ۳۵) و نه ورزش حاد (۳۴, ۳۵) سطوح پروتئین سیرت ۳ عضله اسکلتی را افزایش می دهند. در مطالعه ای دیگر، پالاسیوس و همکاران[3] (۲۰۰۹) به بررسی اثر سیگنال های ورزش و تغذیه بر سیرت ۳ و PGC1α و AMPK در عضله اسکلتی پرداختند. در این تحقیق موش ها در قفس های انفرادی با و یا بدون چرخ های گردان دویدن جوندگان[4] گذاشته شدند و حیوانات می توانستند بطور اختیاری طی دوره تمرینی ۶ هفته ورزش کنند. در پایان ۶ هفته، موش ها تشریح و عضله سه سربازویی به منظور آنالیز بیان پروتئین سیرت ۳ و PGC1α برداشته شدند. آنها گزارش کردند که سیرت ۳ بطور چشمگیری به هر دوی سیگنال های تغذیه ای و ورزشی در عضله اسکلتی برای هماهنگ سازی پاسخ های مولکولی پایین دست پاسخ می دهد چرا که تمرین ورزشی باعث افزایش بیان پروتئین سیرت ۳ شد (۱۰).

از طرفی ارتباط بیوژنز میتوکندریایی و ظرفیت اکسایشی عضلات و سلامت سلولی از طریق سیرت ۳ بخوبی اثبات شده است. از تارگت های اصلی سیرت ۳، PGCLα می باشد و افزایش مقادیر سیرت ۳ منجر به افزایش فعالیت PGCLα و در نهایت بیوژنز میتوکندریایی سلول می شود. میتوکندری ها در عضله اسکلتی بطور نزدیکی با عملکرد مناسب عضله ارتباط دارند چرا که این اندام ها ذخیره اصلی انرژی را در انقباض عضلانی تشکیل می دهند (۳۵). نتایج مطالعات پیشنهاد می کنند که اختلال میتوکندریایی احتمالا در ایجاد و توسعه سارکوپنیا (عارضه ای که با کاهش شدید توده عضلانی مرتبط است) چه از طریق کاهش ذخایر انرژی و چه از طریق آپوپتوزیس با واسطه میتوکندریایی نقش دارد (۳۶-۴۰). بنابراین اختلال میتوکندری با مرگ سلولی و در نتیجه کاهش طول عمر ارتباط دارد. تحقیقات نشان میدهند که کسب آمادگی هوازی و قدرت عضلانی از طریق تمرینات ورزشی می تواند اختلالات متابولیکی را بهبود بخشد و از بیماری های مزمن پیشگیری کند (۴۱). این مزایا تا حدودی بوسیله ری مادلینگ[5] مولکولی و متابولیکی گسترده عضله اسکلتی ناشی از ورزش واسطه می شوند (۴۱). سازگاری های ناشی از تمرین می تواند شامل تغییرات در ساختار و عملکرد پروتئین های انقباضی (۴۲, ۴۳)، عملکرد میتوکندریایی (۴۴)، تنظیم متابولیکی (۴۵)، پیام رسانی داخل سلولی (۴۶) و پاسخ های نسخه برداری (۴۷) باشد. در همین رابطه، مارتین و همکاران[6] (۲۰۰۹) مشاهده کردند که ورزش شدید متناوب می تواند آبشارهای پیام رسانی را فعال کند که منجر به بیوژنز میتوکندریایی در عضله اسکلتی انسان شود. در تحقیق آنها از ۶ مرد جوان خواسته شد تا ۴ وهله دوچرخه سواری با حداکثر شدت[7] و با ۴ دقیقه استراحت بین هر وهله را انجام دهند (۴۸). آنها مشاهده کردند که پیام رسانی از طریق AMPK و AMPK P38 به PGC1α ممکن است تا حدودی ری مادلینگ ایجاد شده ناشی از ورزش تناوبی شدید با حجم کم را توجیه کند. این ری مادلینگ شامل بیوژنز میتوکندریایی و افزایش ظرفیت اکسیداسیون اسید چرب و گلوکز بود (۴۸).

از سویی دیگر، اگرچه نقش تمرینات استقامتی در سلامت جسمانی بخوبی اثبات شده است، اما از دلایل اصلی نپرداختن به این شیوه تمرینات، نبود زمان کافی برای افراد است (۴۹)، از اینرو امروزه ایجاد روش های تمرینی مناسب با صرف زمان های کوتاه تر که دارای اثرات مفید مشابه تمرینات استقامتی باشد، مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این روش‌های تمرینی، تمرینات تناوبی شدید با حجم کوتاه[8] (HIIT) و تمرینات سرعتی تناوبی[9] (SIT) -که از خانواده تمرینات HIIT است- می-

1. Status
2. Sedentary
3. Palacios et al
4. Rodent running wheels
5. Remodeling
6. Martin et al
7. All out
8. High intensity interval training with low volume
9. Sprint interval training

باشد (۵۰). تمرینات HIIT ترکیبی از دوره‌های پرشدت هوازی (≥90% VO2 peak) به همراه دوره‌های بازیافت فعال یا غیرفعال با شدت متوسط می‌باشد (۵۰) که به دو صورت با حجم بالا و حجم پایین اجرا می‌گردد. اگرچه در مورد اثر گذاری تمرینات HIIT بر بافت‌های عضله اسکلتی و قلب در افراد سالم و دارای بیماری‌های قلبی تحقیقات مختلفی صورت گرفته است، اما اثرگذاری این گونه تمرینات بر تغییرات میتوکندری بافت عضلانی افراد و بطور ویژه افراد چاق و همچنین بر فاکتورهای اثرگذار بر طول عمر، کمتر بررسی شده است.

لذا با توجه به گستردگی شیوع و اهمیت چاقی در جوامع امروزی و ارتباط چاقی با کاهش طول عمر و همچنین با توجه به نبود تحقیقات کافی در مورد تغییرات سیرت ۳ بدنبال ورزش، تحقیق حاضر به دنبال پاسخگویی به این سوال است که آیا چاقی باعث کاهش فاکتورهای مرتبط با طول عمر نظیر سیرت ۳ می شود یا خیر و اینکه آیا بین اثر هشت هفته تمرین استقامتی تداومی در مقایسه با هشت هفته تمرین تناوبی شدید با حجم پایین بر مقادیر سیرت ۳ بافت عضلانی تفاوتی وجود دارد یا خیر. با انجام این پژوهش می توان توانایی اثر گذاری تمرینات HIIT را به عنوان جایگزینی برای تمرینات استقامتی سنتی در تاثیرگذاری بر بافت عضلانی سنجید.

روش پژوهش

نمونه‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی و توسعه ای با طرح پس آزمون به همراه گروه کنترل بوده و به شیوهٔ آزمایشگاهی انجام شده است. ۳۰ سر موش نر ویستار هشت هفته‌ای به عنوان نمونه تحقیق از مؤسسه انستیتو رازی خریداری شد و طی دوره تحقیق در محیطی با میانگین دمای ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴ ±۵۵٪ و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. از این حیوانات، ۲۴ تای آنها طی یک دوره ۸ هفته ای با استفاده از یک رژیم غذای پرچرب تغذیه شدند. سپس بصورت تصادفی ۶ موش (گروه چاق ۱۶ هفته ای) از آنها انتخاب و به همراه ۶ موش غیرچاق (گروه غیرچاق ۱۶ هفته ای کنترل) -به منظور بررسی اثر مداخله چاقی- تشریح و بررسی شدند.

در ادامه حیوانات باقی مانده (یعنی ۱۸ موش چاق ۱۶ هفته ای) پس از یک هفته آشنایی با تردمیل، محیط آزمایشگاه و نحوه دویدن، به روش تصادفی به سه گروه (برابر از نظر میانگین سرعت واماندگی) کنترل چاق (OB) و تمرین هوازی تداومی (CT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. پس از آن، هر سه گروه (OB، CT، HIIT) طی هشت هفته مصرف غذای پرچرب را ادامه دادند و بجز گروه OB، گروه های CT و HIIT تمرینات ورزشی معین خود را انجام دادند. در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در اختیار آنها قرار داده شد. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها بر اساس کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه شهید بهشتی انجام شد.

طرح پژوهش

جهت آشناسازی، موش های چاق به مدت ۱۰ دقیقه در روز و پنج بار در هفته برای یک هفته با تردمیل و چگونگی دویدن بر آن آشنا شدند. پس از ۴۸ ساعت استراحت از آخرین جلسه آشناسازی، از موش‌ها آزمون واماندەساز جهت سنجش حداکثر سرعت گرفته و با استفاده از حداکثر سرعت در زمان واماندگی حداکثر اکسیژن مصرفی پیش‌بینی گردید (۵۱). سپس به مدت هشت هفته گروه CT سه جلسه در هفته تمرین تداومی هوازی و گروه HIIT سه جلسه در هفته تمرین تناوبی با شدت بالا را انجام دادند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها برای انجام جراحی و انجام آزمایشات سلولی مولکولی به وسیله پنتاباربیتول سدیم هوش‌بری و سپس تشریح شدند.

چاقی و رژیم غذایی ویژه موش برای چاق شدن

بطور کلی شاخص هایی نظیر نسبت دور کمر به ران و یا شاخص توده بدنی (BMI) که معمولا برای تشخیص چاقی در انسان استفاده می شوند برای حیوانات معتبر نیستند و اکثر تحقیقات چاقی را در حیوانات کوچک بر اساس کسب وزن (یا افزایش محتوای چربی بدن) گروه تجربی[1] نسبت به گروه کنترل[2] تعیین می کنند (۵۲-۵۴). اگر افزایش وزن در گروه تجربی به بیش از ۱۰ تا ۲۵ درصد بیشتر از

1. Fat-rich/energy-dense diet
2. Low fat diet or Chow diet

گروه کنترل برسد، چاقی متوسط (۵۳) و اگر به بیش از ۴۰ درصد برسد چاقی شدید (۵۴) در نظر گرفته می شود. شاخص دیگری که برای تعیین چاقی در موش های صحرایی استفاده می شود شاخص چاقی‌لی[1] است و بدین صورت محاسبه می شود که ریشه سوم وزن[2] (گرم) را به قد دماغی-مقعدی[3] (cm) تقسیم و در ۱۰۰۰ ضرب می کنیم، حال اگر عدد بدست آمده بیشتر از ۳۱۰ باشد نشان دهنده چاقی موش صحرایی می باشد (۵۵). در تحقیق حاضر چاقی بر اساس مقایسه وزن گروه های تجربی (HIIT، CT و OB) با گروه کنترل غیر چاق (.Cont) تعیین شد (جدول ۱ را ببینید). برای تهیه غذای پرچرب، روغن ذرت و سایر ترکیبات به پودر حاصل از آسیاب غذای پایه اضافه شد و با کمی آب خمیر شده و به شکل پیلت درست شد. پیلت ها پس از خشک شدن کامل در اختیار حیوانات قرار گرفت. مطالعه شیوه محاسبه انرژی بر اساس مطالعه ماسامی و همکاران در سال ۲۰۰۱ صورت گرفته که در آن محتوای انرژی روغن ذرت (۹/۲۱ Kcal/g)، شکر (۳/۸۵ Kcal/g) و غذای معمولی موش صحرایی (Kcal/g ۳/۵۷) ذکر شده است (۵۶). جیره مصرفی در مطالعه حاضر محتوی (۴/۲ Kcal/g) بود که یک انرژی مطلوب برای ایجاد چاقی را فراهم آورد (۵۷).

آزمون جهت تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی

جهت تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی از آزمون فزاینده استاندارد بدفورد و همکاران (۱۹۷۹) استفاده شد (۵۸) که به وسیله کارول گویز رینـدلو و همکاران (۲۰۰۷) جهت رت‌های نژاد ویستار استاندارد سازی گردید. آزمون شامل ۱۰ مرحله سه دقیقه‌ای می‌باشد. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر بر ساعت است و باید در مراحل بعدی ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوارگردان اضافه شود(۵۹).

جدول ۱. وزن بدن گروه های تمرینی (HIIT و CT) و کنترلی (.Cont و OB) از ابتدا تا انتهای دوره تحقیق.

	HIIT			CT			Cont.			OB		
سن (هفته)	۸	۱۶	۲۴	۸	۱۶	۲۴	۸	۱۶	۲۴	۸	۱۶	۲۴
وزن (گرم) میانگین±انحراف معیار	۱۸۰±۱۲	۴۸۵±۱۲	۴۱۲±۱۲	۱۸۵±۱۵	۳۸۲±۱۳	۴۰۱±۱۶	۱۸۵±۱۳	۴۷۶±۱۸	۴۱۹±۱۶	۱۸۳±۱۶	۴۱۱±۱۷	۴۸۵±۱۷
P		*	*#		*	*#					*	*

*: علامت تفاوت معنی داری وزن گروه های تجربی (HIIT، CT و OB) با گروه کنترل غیر چاق (.Cont) است (معیار چاقی).
#: علامت تفاوت معنی داری وزن نهایی گروه های تمرینی (HIIT، CT) با گروه کنترل چاق (OB) است.

پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا

پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا شامل سه قسمت گرم کردن (۵ دقیقه)، تمرین شامل تکرارهای اینتروال ۲ دقیقه ای (۲×۲) (به همراه یک دوره بازیافت فعال ۲ دقیقه ای بین هر اینتروال) و سرد کردن (۵ دقیقه) بود. رت‌ها ابتدا با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد بیشینه به مدت ۵ دقیقه بر روی نوارگردان گرم می کردند، سپس تمرین تناوبی را انجام و پس از آن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه به مدت ۵ دقیقه سرد کردن را انجام دادند. تمرین تناوبی شامل ترکیب تکرارهای اینتروال با شدت بالا و شدت پایین بود. تکرار اینتروال با شدت بالا شامل ۲ دقیقه با شدت ۸۰ درصد بیشینه در هفته اول؛ ۹۰ درصد بیشینه در هفته دوم، ۱۰۰ درصد بیشینه در هفته سوم و ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته چهارم، تا پایان تمرین بود، تکرار اینتروال با شدت پایین (اینتروال

1. Lee obesity index
2. The cube root of body weight
3. Naso-Anal length

بازیافت) شامل ۲ دقیقه با شدت ۵۰ درصد بیشینه بود. تمرین تناوبی به گونه‌ای بود که پس از گرم کردن رت‌ها ابتدا اینتروال با شدت بالا و پس از آن اینتروال با شدت پایین را انجام می دادند، پس از انجام آخرین تکرار اینتروال با شدت بالا، رت‌ها به مدت ۵ دقیقه با شدت ۵۰-۶۰ درصد سرعت بیشینه سرد کردن را انجام می دادند، تعداد تکرار اینتروال با شدت بالا با توجه به هفته تمرینی رت‌ها تعیین می‌گردید. به صورتی که در هفته اول دو تکرار اینتروال با شدت بالا؛ هفته دوم چهار تکرار اینتروال با شدت بالا؛ هفته سوم شش تکرار اینتروال با شدت بالا و از ابتدای هفته چهارم به بعد شامل هشت تکرار اینتروال با شدت بالا بود. از اینرو زمان کل تمرین شامل تکرار اینتروال با شدت بالا و با شدت پایین به همراه گرم کردن و سرد کردن در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ و از ابتدای هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود (۶۰).

پروتکل تمرین تداومی هوازی

در گروه تمرین استقامتی موش‌ها ابتدا به مدت ۵ دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوارگردان گرم کرده؛ سپس با شدت ۶۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول؛ ۷۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم؛ ۷۵ درصد سرعت بیشینه از هفته سوم به بعد تمرین تداومی را انجام دادند. زمان دویدن موش‌ها در گروه تمرین تداومی با زمان تمرین گروه تناوبی برابر گرفته می شد. در پایان موش‌ها ۵ دقیقه سرد کردن را در شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه انجام دادند.

نمونه‌گیری

حیوانات با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین[1] (۴۰-۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلزین[2] (۵-۱۵ میلی-گرم/ کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و به منظور بافت برداری از محفظه خارج و به روی میز جراحی انتقال داده شدند. سپس عضله نعلی برای اندازه گیری میزان پروتئین سیرت ۳ به روش وسترن بلات برداشته شد.

تهیه و آماده سازی بافت

ابتدا عضلات جهت استخراج غشا سلولی با روش هاون کوبی پودر گردید. سپس نمونه‌های پودر شده عضله توسط بافر هموژن (۵۰۰µL Tris-HCL، pH= ۸، ۰/۰۰۳ گرم EDTA، ۰/۰۸ گرم NaCl، ۰/۰۲۵ گرم سدیم دی اکسی کلات[3]، ۰/۰۱ گرم SDS، ۱ قرص کوکتل مهارکننده پروتئاز[4]، ۱۰ میکرولیتر NP40 ۰/۱ درصد). برای بدست آوردن عصاره سلولی لیز شدند. برای هموژن کردن بافت، به اندازه چهار الی پنج برابر وزن نمونه ها بافر لیز کننده ریخته شد و با هموژنایزر تامی[5] مدل میکرو اسمش[6] با دور ۳۰۰۰rpm به مدت پنج زمان ۳۰ ثانیه ای با فاصله زمانی ۳۰ ثانیه بین دفعات برای جلوگیری از گرم شدن و دناتوره شدن پروتئین، هموژن شدند. سپس بافت هموژن شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴+ درجه سانتی گراد و درrpm ۳۶۰۰ سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت محلول جدا و در فریزر ۸۰- نگهداری شد. جهت تعیین غلظت پروتئین از روش برد فورد استفاده و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت مناسب پروتئین نمونه محاسبه گردید.

وسترن بلات

برای انجام تست وسترن بلات مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی آکریل آمید SDS-PAGE ۱۲٪ جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ در محلول بلاکینگ برای ۱/۵ ساعت قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی بادی اولیه (SirT3 (D22A3) Rabbit mAb #5490 شرکت Cell Signaling) در ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در روز دوم ۳ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ با آنتی بادی ثانویه (Anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody #7074 شرکت Cell Signaling) به مدت یک ساعت انکوبه شد. بعد از این مرحله بلات‌ها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند. سپس بلات‌ها را در بافر استریپینگ شستشو داده و آنتی بادی بتا اکتین (β-Actin (13E5) Rabbit mAb #4970 شرکت Cell Signaling) را به روی کاغذ

1. Ketamine
2. Xylazine

3. Sodium Deoxycholate
4. Protease inhibitor cocktail
5. Tomy
6. Micro Smash

گذاشته و دوباره با آنتی بادی ثانویه انکوبه شدند و بتااکتین کنترل نیز در فیلم رادیولوژی ظاهر شد. توسط برنامه Image J باندهای بدست آمده دانسیتومتری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

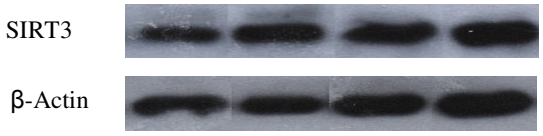
طبیعی بودن داده‌ها به وسیله آزمون کولموگروف - اسمیرنوف مشخص شد. برای بررسی اختلاف معناداری وزن و سطوح سیرت ۳ در چهار گروه از آنووای یکطرفه استفاده شد. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون‌های تعقیبی بانفرونی استفاده شد. سطح معناداری نیز P< ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

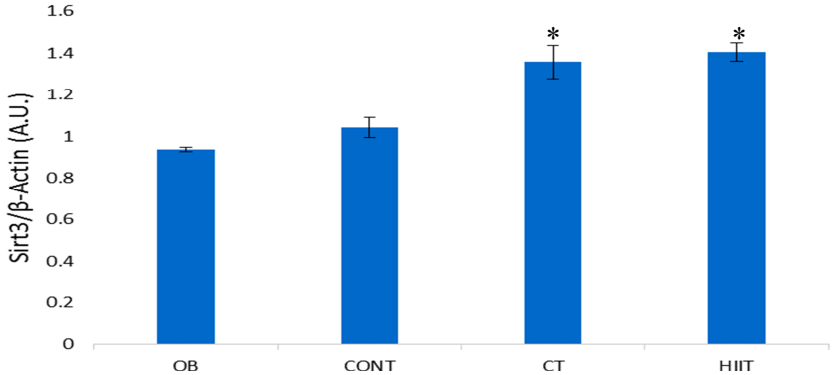
نتایج

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که وزن بدن گروه های تحقیقی (HIIT، CT، Cont. و OB) در شروع مطالعه (سن هشت هفتگی) تفاوت معنی داری نداشت (P>۰/۰۵) با این وجود در سن ۱۶ هفتگی یعنی پس از بکارگیری یک دوره هشت هفتگی رژیم غذایی پرچرب، وزن بدن گروه های HIIT، CT و OB نسبت به گروه کنترل غیرچاق (Cont.) افزایش معنی داری داشت (P<۰/۰۵) که این امر خود معیار چاقی در گروه های تجربی (HIIT، CT و OB) این تحقیق بود. همچنین نتایج نشان داد که وزن بدن در پایان دوره تحقیق (یعنی سن ۲۴ هفتگی و پس از یک دوره هشت هفتگی تمرین ورزشی) بین گروه های تمرینی (HIIT، CT) با گروه کنترل چاق (OB) تفاوت معنی داری داشت و در گروه های تمرینی وزن بدن کمتر بود (P<۰/۰۵) (جدول ۱ را ببینید).

در مورد پروتئین سیرت ۳ نیز نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تغییرات میزان پروتئین سیرت ۳ عضله نعلی (SOL) در گروه های مختلف معنادار بود (P<۰/۰۵؛ F(۱۲،۳) = ۱۴/۴۱۷)؛ بطوریکه نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد میزان پروتئین سیرت ۳ بین گروه کنترل (Cont.) و کنترل چاق (OB) با گروه تمرین تناوبی (HIT) تفاوت معنی داری وجود دارد (P<۰/۰۵)؛ در گروههای یاد شده مقادیر سیرت ۳ گروه تناوبی نسبت به گروه های CONT و OB بیشتر بود (P<۰/۰۵)؛ با اینحال تفاوتی بین گروه های CONT و OB مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (نمودار ۱).

علاوه بر این، نتایج نشان داد که بین مقادیر پروتئین سیرت ۳ گروه کنترل (Cont.) و کنترل چاق (OB) با گروه تمرین تداومی (CT) نیز تفاوت معنی داری وجود دارد و در گروههای یاد شده مقادیر سیرت ۳ گروه تداومی نسبت به گروه های .Cont و OB بیشتر بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). همچنین اگرچه در این تحقیق بین مقادیر سیرت ۳ گروه های تمرین (تناوبی و تداومی) با گروه های کنترل (کنترل چاق و غیرچاق) تفاوت معنی داری مشاهده شد ولی بین خود گروه های تمرین تفاوت معنی داری مشاهده نشد البته مقادیر سیرت ۳ گروه تمرین تناوبی تا حدودی بیشتر از گروه تمرین تداومی بود (نمودار ۱).





نمودار ۱. میزان سیرت ۳ در عضله نعلی گروه های تمرین تناوبی (HIIT)، تداومی (CT)، کنترل غیرچاق (CONT) و چاق (OB) (میانگین ± انحراف معیار). *: علامت معنی داری می باشد.

بحث و نتیجه گیری

از شرایط مهم کاهش دهنده طول عمر، سندروم متابولیکی است. سندروم متابولیکی بوسیله اختلال های متابولیکی شامل چاقی مرکزی، مقاومت انسولینی، افزایش چربی خون، افزایش قند خون و پر فشار خونی تعریف می شود (۶۱). سبک های زندگی غیرفعال (۶۲) و رژیم های غذایی مثال، ارتباط نزدیکی بین حساسیت انسولینی و عملکرد میتوکندریایی در چاقی (۶۶)، دیابت نوع ۲ (۶۷)، سالمندی (۶۸, ۶۹) مشاهده شده است. در رابطه با عملکرد میتوکندری عوامل پروتئینی مختلفی مشاهده شده است که از مهمترین آنها می توان به PGC1α، AMPK و سیرتوئین ها اشاره کرد. سیرتوئین ها (سیرت ۱ تا ۷) خانواده ای از پروتئین دی استیلاز وابسته به NAD^+ هستند (۷۰) که چندین فعالیت سلولی نظیر هومئوستاز متابولیکی (۷۱) و واکنش های مهم سلولی را تنظیم می کنند. بطور ویژه نشان داده شده است که سیرت ۳ در حفظ سطوح پایه ATP نقش ایفا می کند و تنظیم گر انتقال الکترون میتوکندریایی است (۷۲). سیرت ۳ پتانسیل غشایی میتوکندریایی و تولید گونه های اکسیژن واکنشی را کاهش می دهد، در حالی که تنفس سلولی را افزایش می دهد (۲۴). آن و همکاران[1] پیشنهاد کردند که سیرت ۳ نقشی به عنوان تنظیم گر ظرفیت اکسیداتیو میتوکندریایی ایفا می کند (۷۲). علاوه بر این، افزایش بیان سیرت ۳ در آدیپوسیت ها قادر است تا بیان ژن های درگیر در ظرفیت اکسیداتیو میتوکندریایی را تحریک کند (۲۴). همچنین سیرت ۳ با محافظت در برابر آپوپتوزیس با واسطه میتوکندریایی ارتباط دارد (۷۳, ۷۴). این نتایج این احتمال را تقویت می کند که افزایش ظرفیت اکسیداتیو میتوکندریایی ناشی از ورزش و جلوگیری از آپوپتوزیس با واسطه میتوکندریایی در عضله اسکلتی، ناشی از افزایش بیان پروتئین سیرت ۳ است (۳۵) که این نتایج حاکی از ارتباط سیرت ۳ با طول عمر سلول دارد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین تناوبی شدید منجر به افزایش معنی دار مقادیر سیرت ۳ در عضله نعلی می شود و مقادیر سیرت ۳ گروه تناوبی نسبت به گروه های کنترل غیرچاق (.Cont) و چاق (OB) بطور پرچرب (۶۳) در افزایش سندروم متابولیکی نقش داشته اند (۶۴). تفسیر و تشخیص مکانیسم های مولکولی زیربنایی سندروم متابولیکی به عنوان یکی از بیشترین فعالیتهای انجام شده در پزشکی مدرن بوده است (۶۵). تحقیقات مختلف از اهمیت میتوکندری سلول به عنوان هسته مرکزی بسیاری از این تغییرات نام برده اند. به عنوان معنی داری بیشتر بود (P<۰/۰۵)؛ با اینحال تفاوتی بین گروه های .Cont و OB مشاهده نشد (نمودار ۱). همچنین هشت هفته تمرین تداومی با شدت متوسط منجر به افزایش معنی دار مقادیر سیرت ۳ در عضله نعلی شد و مقادیر سیرت ۳ گروه تداومی نسبت به گروه های کنترل غیرچاق (.Cont) و چاق (OB) بطور معنی داری بیشتر بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). این نتایج با نتایج برخی مطالعات همسو بود (۳۳, ۳۵, ۷۵)؛ با این وجود با نتایج برخی تحقیقات دیگر مغایر بود (۷۶). به عنوان مثال در تحقیق هوکاری و همکاران[2] (۲۰۱۰) اثر تمرین ورزشی را روی بیان پروتئین سیرت ۳ و نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز[3] (Nampt) در عضله اسکلتی رت بررسی کردند. رت ها بوسیله دویدن روی تردمیل با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه، ۶۰ دقیقه در روز، ۷ روز در هفته و برای ۴ هفته تمرین کردند. تمرین ورزشی بیان پروتئین سیرت ۳ در عضلات نعلی و دوقلو را تا ۴۹ درصد و ۴۱ درصد، به ترتیب، افزایش داد. با اینحال، تمرین دویدن اختیاری و دویدن تردمیل هیچ تغییر معنی داری در بیان پروتئین Nampt عضله اسکلتی ایجاد نکرد (۳۵). این نتایج نشان داد که بیان پروتئین سیرت ۳ بوسیله تمرین ورزشی در عضله اسکلتی افزایش می یابد که در نتیجه باعث بهبود وضعیت سلول می شود و همسو با نتایج تحقیق حاضر بود. همچنین لانزا[4] و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تمرین ورزشی می تواند سطوح سیرت ۳ عضله اسکلتی در هر دو گروه جوان و سالمند افزایش دهد (۳۳). با این وجود، از آنجا که مطالعه مذکور بصورت مقایسه مقطعی[5] طراحی شده بود، بیان بالاتر سیرت ۳ در عضلات افراد تمرین کرده ممکن است ناشی از ژنتیک یا فاکتورهای مرتبط با سبک

1. Ahn et al

2. Hokari et al.
3. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt)
4. Lanza
5. Cross-sectional

زندگی باشد (۳۵). در کل بیشتر تحقیقات نشان داده اند که تمرین ورزشی یا تحریک الکتریکی مزمن (۱۰, ۳۴, ۳۵) و نه ورزش کوتاه مدت (۳۴, ۳۵) سطوح پروتئین سیرت ۳ عضله اسکلتی را افزایش می دهند که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

فعالیت آنزیمی سیرتوئین ها نیازمند NAD^+ به عنوان یک کوفاکتور می باشد و بنابراین در شرایط استرس انرژیتیکی مانند محدودیت کالریک (CR)، گرسنگی و فعالیت ورزشی میزان سیرتوئین ها به طور معنی داری افزایش می یابد (۷۷). این موضوع در تحقیقات دیگر نیز مشاهده شده است و افزایش NAD^+ بطور بالقوه باعث افزایش فعالیت سیرتوئین ها می شود (۷۸) و بنابراین از دلایل اصلی افزایش میزان سیرت ۳ در نتیجه تمرین تناوبی و تداومی در تحقیق حاضر نیز احتمالا همین استرس انرژیتیکی و سازگاری های ناشی از افزایش چگالی میتوکندریایی و در نتیجه افزایش محتوای $NAD^+/NADH$ بوده است. در شرایط استراحتی محتوای کل NAD^+ و NADH عضله اسکلتی به ترتیب حدود ۱/۵ تا ۱/۹ و ۰/۰۸ تا ۰/۲۰ میلی مول در هر کیلوگرم وزن خشک عضله تخمین زده شده است (۷۹, ۸۰) و نسبت بیشتر $NAD^+/NADH$ ستوزولی نسبت به میتوکندریایی در عضله اسکلتی استراحتی تخمین زده شده است و بطور کلی بیش از ۹۵ درصد NADH سلولی در میتوکندری تخمین زده شده است (۳۲, ۸۱)؛ حال در شرایط استرس انرژیتیکی مانند محدودیت کالریکی و یا فعالیت ورزشی جهت حفظ شارژ انرژی سلولی و نسبت ATP مصرفی با ATP تولیدی، مقدار خیلی بیشتری از NADH (حاصل از چرخه کربس و اکسیداسیون چربی ها) اکسیده شده و در نتیجه محتوای NAD^+ افزایش می یابد و بنابراین فعالیت سیرت ۳ که وابسته به NAD^+ می باشد نیز افزایش می یابد؛ در شرایط طولانی مدت نظیر تمرینات ورزشی سازگاری های عمده متابولیکی ایجاد شده در عضله اسکلتی شامل افزایش چگالی (حجم و تعداد) میتوکندریایی می باشد و بنابراین محتوای NAD^+ و NADH و حساسیت میتوکندریایی افزایش و در نتیجه محتوای کل سیرت ۳ میتوکندریایی و همچنین پاسخ سیرت ۳ به تغییرات نسبت $NAD^+/NADH$ نیز افزایش می یابد که در تحقیق حاضر نیز در هر دو گروه تمرینی شاهد افزایش محتوای سیرت ۳ بافت عضلانی بودیم.

از طرفی نتایج تفاوت معنی داری بین مقادیر سیرت ۳ تمرین تداومی با تمرین تناوبی نشان نداد؛ با اینحال مقادیر سیرت ۳ گروه تناوبی نسبت به گروه تداومی بیشتر بود ($P>0/05$) (نمودار ۱). در زمینه اثرات تمرینات تناوبی بر وضعیت متابولیکی و بیوژنز میتوکندریایی تحقیقاتی نسبتا کمی انجام شده است. به عنوان مثال، در مطالعه ای لیتل[1] و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی اثر یک دوره دو هفته ای تمرینات HIIT (تمرین تناوبی با شدت بالا) بر برخی شاخص های بیوژنز میتوکندریایی عضله اسکلتی پرداختند؛ تمرین HIIT شامل ۸ تا ۱۲ تکرار شدت بالای ۶۰ ثانیه ای با یک تناوب شدت پائین ۷۵ ثانیه ای بین تکرارها بود. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل نمونه های بیوبسی نشان داد که محتوای کل سیرت ۱ (تا ۵۶ درصد) و PGC-1α (تا ۲۵ درصد) بدنبال تمرین HIIT افزایش یافت (۸۲)؛ که نتایج با نتایج تحقیق حاضر همسو بود. تغییرات دینامیک در نسبت $NAD^+/NADH$ در پاسخ به تحریکاتی نظیر ورزش و گرسنگی کوتاه مدت رخ می دهد(۸۳, ۸۴) با افزایش شدت ورزش، نسبت $NAD^+/NADH$ سیتوزولی تغییر می کند و احتمالا استرس انرژیتیکی افزایش می یابد و بنابراین انتظار پاسخ های بیشتر در میزان سیرت ۳ می توان داشت. در مقابل، هاج[2] و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی به بررسی اثر تمرین استقامتی (دویدن روی تردمیل با سرعت ۳۰ m/min به مدت ۶۰ دقیقه، پنج بار در هفته و به مدت دو هفته) بر میزان سیرت ۳ عضلات دوقولوی موش صحرایی پرداختند، آنها تفاوتی در میزان سیرت ۳ گروه تمرین و کنترل مشاهده نکردند (۷۶). احتمالا دوره کوتاه تمرین دلیل این نتایج بوده است و برای افزایش میزان سیرت ۳ نیاز به دوره طولانی تری از تمرین باشد.

همچنین در تحقیق حاضر، تفاوت معنی داری بین سطوح سیرت ۳ گروه کنترل چاق (OB) و غیرچاق (Cont.) مشاهده نشد، با این وجود مقادیر سیرت ۳ در گروه چاق کمتر بود (نمودار ۱). تحقیقات نشان می دهند که سطوح سیرت ۳ به شدت تحت تاثیر رژیم غذایی است (۷۷) و از آنجا که در این مطالعه، گروه چاق در تمام دوره تحقیق غذای پرچرب مصرف می کردند و با توجه به ارتباط

1. Little
2. Hodge

احتمالی بیان سیرت ۳ با مقاومت انسولینی، این نتیجه قابل انتظار بود؛ چراکه تحقیقات بطور جالبی کاهش در بیان سیرت ۳ بدنبال افزایش مقاومت انسولینی عضله اسکلتی گزارش کرده اند (۸۵).

در پایان، با توجه به اینکه افزایش فعالیت سیرت ۳ بدنبال تمرینات ورزشی متابولیسم را بوسیله فعال سازی فیوژن و مهارسازی فیشن میتوکندری افزایش دهد و با توجه به اینکه افزایش سیرت ۳ منجر به کاهش آسیب mtDNA با واسطه ROS و وقوع پیری زودرس می شود (۷۷). این موضوع این احتمال را افزایش می دهد که افزایش ناشی از ورزش سیرت ۳ و اثراتش روی عملکرد میتوکندریایی ممکن است تاحدودی اثرات درمانی ورزش را توجیه کند. همچنین باتوجه به محدودیت زمانی افراد برای ورزش کردن و لزوم ایجاد روش های موثر و به لحاظ زمانی کوتاه، نتایج این تحقیق پیشنهاد می کند که تمرینات تناوبی شدت بالا و با حجم کم (HIIT) احتمالا می توانند به اندازه تمرینات تداومی بر تغییرات میتوکندری بافت عضلانی و سلامت سلولی و در نهایت بر طول عمر بویژه در افراد چاق موثر باشند و باعث افزایش فاکتورهای مهمی همچون سیرت ۳ شوند.

نتیجه گیری

روی هم رفته مطالعات نشان می دهند که سیرت ۳ در پاسخ به تمرینات ورزشی طولانی مدت نقش مهمی در تنظیم بیوژنز میتوکندریایی عضله اسکلتی ایفا می کند (۳۲) و نتایج تحقیق حاضر نیز نشان می دهد که استفاده از تمرینات تناوبی شدت بالا (HIIT) می تواند به اندازه تمرینات تداومی (CT) و حتی بیشتر بر غلظت سیرت ۳ بافت عضلانی موش های چاق اثرگذار باشد و بنابراین افراد چاق می توانند با قرار دادن این نوع از تمرینات در برنامه ورزشی اشان احتمالا از اثرات مفید این نوع از تمرینات بر سلامت و عملکرد میتوکندری بافت عضلانی اشان بهره ببرند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری دانشکده علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی که در اجرای این تحقیق همکاری صمیمانه داشته اند، تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

1. Trillou CR, Arnone M, Delgorge C, Gonalons N, Keane P, Maffrand J-P, et al. (2003). Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.284 (2): R345-R53.
2. Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. (2000). Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. New England Journal of Medicine.342 (19): 1378-84.
3. Formiguera X, Cantón A. (2004). Obesity: epidemiology and clinical aspects. Best practice & research Clinical gastroenterology.18 (6): 1125-46.
4. Anandacoomarasamy A, Fransen M, March L. (2009). Obesity and the musculoskeletal system. Current opinion in rheumatology.21 (1): 71-7.
5. Strandberg TE, Stenholm S, Strandberg AY, Salomaa VV, Pitkälä KH, Tilvis RS. (2013). The "obesity paradox," frailty, disability, and mortality in older men: a prospective, longitudinal cohort study. American journal of epidemiology. kwt157.
6. Haslam D, James W. (2005). Obesity lJ J. Lancet.366 (9492): 1.
7. Dixon JB. (2010). The effect of obesity on health outcomes. Molecular and cellular endocrinology.316 (2): 104-8.
8. LANE MA, INGRAM DK, ROTH GS. (1998). 2-Deoxy-D-glucose feeding in rats mimics physiologic effects of calorie restriction. Journal of Anti-Aging Medicine.1 (4): 327-37.
9. Gan L. (2007). Therapeutic potential of sirtuin-activating compounds in Alzheimer's disease. Drug News Perspect.20 (4): 233-9.
10. 10. Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, Chen KY, Manabe Y, Ward Jr, et al. (2009). Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1alpha in skeletal muscle. Aging (Albany NY).1 (9): 771-83.
11. Haigis MC, Guarente LP. (2006). Mammalian sirtuins—emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. Genes & evelopment.20 (21): 2913-21.
12. Michan S, Sinclair D. (2007). Sirtuins in mammals: insights into their biological function. Biochemical Journal.404 (1): 1-13.
13. Guarente L, Picard F. (2005). Calorie restriction—the SIR2 connection. Cell.120 (4): 473-82.
14. Dali-Youcef N, Lagouge M, Froelich S, Koehl C, Schoonjans K, Auwerx J. (2007). Sirtuins: the 'magnificent seven', function, metabolism and longevity. Annals of medicine.39 (5): 335-45.
15. Haigis MC, Sinclair DA. (2010). Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. Annual review of pathology.5: 253.
16. ombard DB, Tishkoff DX, Bao J. Mitochondrial sirtuins in the regulation of mitochondrial activity and metabolic adaptation. Histone Deacetylases: the

30. Ashraf N, Zino S, Macintyre A, Kingsmore D, Payne A, George W, et al. (2006). Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. British journal of cancer.95 (8): 1056-61.
31. Yang H, Yang T, Baur JA, Perez E, Matsui T, Carmona JJ, et al. (2007). Nutrient-sensitive mitochondrial NAD+ levels dictate cell survival. Cell.130 (6): 1095-107.
32. White AT, Schenk S. (2012). NAD+/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.303 (3): E308-E21.
33. Lanza IR, Short DK, Short KR, Raghavakaimal S, Basu R, Joyner MJ, et al. (2008). Endurance exercise as a countermeasure for aging. Diabetes.57 (11): 2933-42.
34. Gurd BJ, Holloway GP, Yoshida Y, Bonen A. (2012). In mammalian muscle, SIRT3 is present in mitochondria and not in the nucleus; and SIRT3 is upregulated by chronic muscle contraction in an adenosine monophosphate-activated protein kinase–independent manner. Metabolism.61 (5): 733-41.
35. Hokari F, Kawasaki E, Sakai A, Koshinaka K, Sakuma K, Kawanaka K. (2010). Muscle contractile activity regulates Sirt3 protein expression in rat skeletal muscles. Journal of applied physiology.109 (2): 332-40.
36. Bua EA, McKiernan SH, Wanagat J, McKenzie D, Aiken JM. (2002). Mitochondrial abnormalities are more frequent in muscles undergoing sarcopenia. Journal of applied physiology.92 (6): 2617-24.
37. Chabi B, Ljubicic V, Menzies KJ, Huang JH, Saleem A, Hood DA. (2008). Mitochondrial function and apoptotic susceptibility in aging skeletal muscle. Aging cell.7 (1): 2-12.
38. Dirks AJ, Leeuwenburgh C. (2004). Aging and lifelong calorie restriction result in adaptations of skeletal muscle apoptosis repressor, apoptosis-inducing factor, X-linked inhibitor of apoptosis, caspase-3, and caspase-12. Free Radical Biology and Medicine.36 (1): 27-39.
39. Martin C, Dubouchaud H, Mosoni L, Chardigny JM, Oudot A, Fontaine E, et al. (2007). Abnormalities of mitochondrial functioning can partly explain the metabolic disorders encountered in sarcopenic gastrocnemius. Aging cell.6 (2): 165-77.
40. WANAGAT J, CAO Z, PATHARE P, AIKEN JM. (2001). Mitochondrial DNA deletion mutations colocalize with segmental electron transport system abnormalities, muscle fiber atrophy, fiber splitting, and oxidative damage in sarcopenia. The FASEB Journal.15 (2): 322-32.
41. Egan B, Zierath JR. (2013). Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. Cell metabolism.17 (2): 162-84.
42. Adams GR, Hather BM, Baldwin KM, Dudley GA. (1993). Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training. Journal of Applied Physiology.74 (2): 911-5.
Biology and Clinical Implication: Springer; 2011. p. 163-88.
17. Toiber D, Sebastian C, Mostoslavsky R. Characterization of nuclear sirtuins: molecular mechanisms and physiological relevance. Histone Deacetylases: the Biology and Clinical Implication: Springer; 2011. p. 189-224.
18. Zhong L, Mostoslavsky R. (2011). Fine tuning our cellular factories: sirtuins in mitochondrial biology. Cell metabolism.13 (6): 621-6.
19. Guarente L. (2008). Mitochondria—a nexus for aging, calorie restriction, and sirtuins? Cell.132 (2): 171-6.
20. Michishita E, Park JY, Burneskis JM, Barrett JC, Horikawa I. (2005). Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. Molecular biology of the cell.16 (10): 4623-35.
21. North BJ, Verdin E. (2004). Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases. Genome Biol.5 (5): 224.
22. Hallows WC, Albaugh BN, Denu JM. (2008). Where in the cell is SIRT3?–functional localization of an NAD+-dependent protein deacetylase. Biochemical Journal.411 (2): e11-e3.
23. Cooper HM, Spelbrink JN. (2008). The human SIRT3 protein deacetylase is exclusively mitochondrial. Biochemical Journal.411 (2): 279-85.
24. Shi T, Wang F, Stieren E, Tong Q. (2005). SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. Journal of Biological Chemistry.280 (14): 13560-7.
25. Onyango P, Celic I, McCaffery JM, Boeke JD, Feinberg AP. (2002). SIRT3, a human SIR2 homologue, is an NAD-dependent deacetylase localized to mitochondria. Proceedings of the National Academy of Sciences.99 (21): 13653-8.
26. Schwer B, North BJ, Frye RA, Ott M, Verdin E. (2002). The human silent information regulator (Sir) 2 homologue hSIRT3 is a mitochondrial nicotinamide adenine dinucleotide–dependent deacetylase. The Journal of cell biology.158 (4): 647-57.
27. Lombard DB, Alt FW, Cheng H-L, Bunkenborg J, Streeper RS, Mostoslavsky R, et al. (2007). Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation. Molecular and cellular biology.27 (24): 8807-14.
28. Bellizzi D, Dato S, Cavalcante P, Covello G, Di Cianni F, Passarino G, et al. (2007). Characterization of a bidirectional promoter shared between two human genes related to aging: SIRT3 and PSMD13. Genomics.89 (1): 143-50.
29. Bellizzi D, Rose G, Cavalcante P, Covello G, Dato S, De Rango F, et al. (2005). A novel VNTR enhancer within the SIRT3 gene, a human homologue of SIR2, is associated with survival at oldest ages. Genomics.85 (2): 258-63.

55. Lee MO. (1929). Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. American Journal of Physiology--Legacy Content.89 (1): 24-33.
56. Takeda M, Imaizumi M, Sawano S, Manabe Y, Fushiki T. (2001). Long-term optional ingestion of corn oil induces excessive caloric intake and obesity in mice. Nutrition.17 (2): 117-20.
57. Von Diemen V, Trindade EN, Trindade MRM. (2006). Experimental model to induce obesity in rats. Acta Cirurgica Brasileira.21 (6): 425-9.
58. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. (1979). Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. Journal of Applied Physiology.47 (6): 1278-83.
59. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, MANHAS-DE-CASTRO R, De-Castro CB, Curi R, et al. (2007). APROGRAM OF MODERATE PHYSICAL TRAINING FOR WISTAR RATS BASED ON MAXIMAL OXYGEN CONSUMPTION. The Journal of Strength & Conditioning Research.21 (3): 751-6.
60. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, et al. (2009). Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovascular research.81 (4): 723-32.
61. Reaven GM. (1988). Role of insulin resistance in human disease. Diabetes.37 (12): 1595-607.
62. Ardern CI, Janssen I, Ross R, Katzmarzyk PT. (2004). Development of health‐related waist circumference thresholds within BMI categories. Obesity research.12 (7): 1094-103.
63. Feldeisen SE, Tucker KL. (2007). Nutritional strategies in the prevention and treatment of metabolic syndrome. Applied physiology, nutrition, and metabolism.32 (1): 46-60.
64. Hirschey MD, Shimazu T, Jing E, Grueter CA, Collins AM, Aouizerat B, et al. (2011). SIRT3 deficiency and mitochondrial protein hyperacetylation accelerate the development of the metabolic syndrome. Molecular cell.44 (2): 177-90.
65. Taubes G. (2009). Prosperity's plague. Science.325 (5938): 256-60.
66. Simoneau J-A, Kelley DE. (1997). Altered glycolytic and oxidative capacities of skeletal muscle contribute to insulin resistance in NIDDM. Journal of Applied Physiology.83 (1): 166-71.
67. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. (2002). Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. Diabetes.51 (10): 2944-50.
68. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, et al. (2003). Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. Science.300 (5622): 1140-2.
69. Short KR, Bigelow ML, Kahl J, Singh R, Coenen-Schimke J, Raghavakaimal S, et al. (2005). Widrick JJ, Stelzer JE, Shoepe TC, Garner DP. (2002). Functional properties of human muscle fibers after short-term resistance exercise training. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.283 (2): R408-R16.
44. Spina RJ, Chi M, Hopkins MG, Nemeth P, Lowry O, Holloszy J. (1996). Mitochondrial enzymes increase in muscle in response to 7-10 days of cycle exercise. Journal of Applied Physiology.80 (6): 2250-4.
45. Green H, Helyar R, Ball-Burnett M, Kowalchuk N, Symon S, Farrance B. (1992). Metabolic adaptations to training precede changes in muscle mitochondrial capacity. Journal of Applied Physiology.72 (2): 484-91.
46. Benziane B, Burton TJ, Scanlan B, Galuska D, Canny BJ, Chibalin AV, et al. (2008). Divergent cell signaling after short-term intensified endurance training in human skeletal muscle. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.295 (6): E1427-E38.
47. Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD. (2003). Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC□1α gene in human skeletal muscle. The Journal of physiology.546 (3): 851-8.
48. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. (2009). Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1α in human skeletal muscle. Journal of applied physiology.106 (3): 929-34.
49. Godin G, Desharnais R, Valois P, Lepage L, Jobin J, Bradet R. (1994). Differences in perceived barriers to exercise between high and low intenders: observations among different populations. American Journal of Health Promotion.8 (4): 279-385.
50. Gibala MJ, Ballantyne C. (2007). High-intensity interval training: New insights. Sports Science Exchange.20 (2): 1-5.
51. Helgerud J, Hoydal K, Wang E, Karlsen T, Berg P, Bjerkaas M, et al. (2007). Aerobic High-Intensity Intervals Improve VO~ 2~ m~ a~ x More Than Moderate Training. Medicine and science in sports and exercise.39 (4): 665.
52. Ghibaudi L, Cook J, Farley C, Heek M, Hwa JJ. (2002). Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague‐dawley rats. Obesity research.10 (9): 956-63.
53. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D, Tso P. (2003). A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. The Journal of nutrition.133 (4): 1081-7.
54. Levin BE, Dunn-Meynell AA. (2002). Defense of body weight depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.282 (1): R46-R54.

Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.102 (15): 5618-23.
70. Imai S-I, Armstrong CM, Kaeberlein M, Guarente L. (2000). Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. Nature.403 (6771): 795-800.
71. Finkel T, Deng C-X, Mostoslavsky R. (2009). Recent progress in the biology and physiology of sirtuins. Nature.460 (7255): 587-91.
72. Ahn B-H, Kim H-S, Song S, Lee IH, Liu J, Vassilopoulos A, et al. (2008). A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis. Proceedings of the National Academy of Sciences.105 (38): 14447-52.
73. Sundaresan NR, Samant SA, Pillai VB, Rajamohan SB, Gupta MP. (2008). SIRT3 is a stress-responsive deacetylase in cardiomyocytes that protects cells from stress-mediated cell death by deacetylation of Ku70. Molecular and cellular biology.28 (20): 6384-401.
74. Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. (2008). Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α protein expressions in rat skeletal muscle. Metabolism.57 (7): 986-98.
75. Marfe G, Tafani M, Pucci B, Di Stefano C, Indelicato M, Andreoli A, et al. (2010). The effect of marathon on mRNA expression of anti-apoptotic and pro-apoptotic proteins and sirtuins family in male recreational long-distance runners. BMC physiology.10 (1): 1.
76. Hodge T, Starnes J, Feger B, Hixson L, Harris MB. (2014). Effects of exercise and body temperature on eNOS, SIRT1, SIRT3 and Hsp70 expression in rat plantaris muscles (1164.6). The FASEB Journal.28 (1 Supplement): 1164.6.
77. Kincaid B, Bossy-Wetzel E. (2013). Forever young: SIRT3 a shield against mitochondrial meltdown, aging, and neurodegeneration. Front Aging Neurosci.5: 48.
78. Chen D, Bruno J, Easlon E, Lin S-J, Cheng H-L, Alt FW, et al. (2008). Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. Genes & development.22 (13): 1753-7.
79. Sahlin K. (1985). NADH in human skeletal muscle during short-term intense exercise. Pflügers Archiv.403 (2): 193-6.
80. Sahlin K, Katz A, Broberg S. (1990). Tricarboxylic acid cycle intermediates in human muscle during prolonged exercise. American Journal of Physiology-Cell Physiology.259 (5): C834-C41.
81. Putman C, Jones N, Hultman E, Hollidge-Horvat M, Bonen A, McConachie D, et al. (1998). Effects of short-term submaximal training in humans on muscle metabolism in exercise. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism.275 (1): E132-E9.
82. Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. (2010). A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. The Journal of physiology.588 (6): 1011-22.
83. Sahlin K, Katz A, Henriksson J. (1987). Redox state and lactate accumulation in human skeletal muscle during dynamic exercise. Biochemical Journal.245 (2): 551-6.
84. Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, Lagouge M, Noriega L, Milne JC, et al. (2009). AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD+ metabolism and SIRT1 activity. Nature.458 (7241): 1056-60.
85. Jing E, Emanuelli B, Hirschey MD, Boucher J, Lee KY, Lombard D, et al. (2011). Sirtuin-3 (Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production. Proceedings of the National Academy of Sciences.108 (35): 14608-13.