

## تاثیر تمرینات تداومی و مصرف هم زمان رزوراترول بر سطوح پروتئین های $SIRT_3$ و $OGG_1$ بافت کبد موش های صحرائی نر

زوفای زنجیریان<sup>۱</sup>، محمد اسماعیل افضل پور<sup>۲</sup>، هادی سریر<sup>۳</sup>، محسن محمدنیا احمدی<sup>۱\*</sup>

(۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیربند، بیربند، ایران

(۲) گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیربند، بیربند، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۳

### چکیده

**مقدمه:** سیرتوئین-۳ ( $SIRT_3$ )، آنزیم های میتوکندریایی را استیل زدایی و فعال کرده و با تنظیم اگزو-گوانین گلیکوسیلاز-۱ ( $OGG_1$ ) در حفظ یکپارچگی میتوکندری و جلوگیری از آپوپتوز ایفای نقش می نماید. رزوراترول محرک  $SIRT_3$  بوده و ورزشکاران از این مکمل به منظور تقویت تمرین بهره می برند. در مطالعه حاضر تاثیر تمرین تداومی و مصرف رزوراترول بر سطوح پروتئینی  $SIRT_3$  و  $OGG_1$  بافت کبد موش های صحرائی نر بررسی شد.

**مواد و روش ها:** ۳۲ سر موش نر به صورت تصادفی در گروه های ۱. کنترل، ۲. رزوراترول، ۳. تمرین تداومی و ۴. تمرین تداومی و رزوراترول تقسیم شدند. تمرین تداومی ۶ هفته (۶ روز) با شدت ۸۰ درصد  $VO_2 \max$  روی نوار گردان اجرا گردید. رزوراترول به میزان ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن/روز توسط گروه های ۲ و ۴ مصرف شد. در انتهای ۶ هفته، حیوانات با ترکیب کتامین-زایلازین بی هوش و نمونه کبدی آن ها جهت اندازه گیری سطوح پروتئینی  $SIRT_3$  و  $OGG_1$  به روش الایزا برداشته شد. تحلیل آماری داده ها نیز با روش آنوا یک طرفه و در سطح معنی داری ۰/۰۵ انجام شد.

**یافته های پژوهش:** مصرف رزوراترول موجب افزایش سطوح  $SIRT_3$  گروه های رزوراترول ( $P=0.01$ ) و تمرین تداومی و مصرف رزوراترول ( $P=0.0001$ ) و افزایش سطوح  $OGG_1$  گروه تمرین تداومی و مصرف رزوراترول ( $P=0.0001$ ) شد؛ اما بر سطح  $OGG_1$  گروه رزوراترول ( $P=0.91$ ) تاثیر نداشت. به علاوه، سطح  $SIRT_3$  و  $OGG_1$  نیز با افزایش معنی داری در گروه تمرین تداومی ( $P=0.0001$ ) در مقایسه با گروه رزوراترول همراه بود.

**بحث و نتیجه گیری:** احتمالاً ترکیب تمرین تداومی با مصرف مکمل رزوراترول اثر مثبت بیشتری بر شاخص های  $SIRT_3$  و  $OGG_1$  در مقایسه با تمرین تداومی یا مصرف مکمل تنها دارند، از این رو مصرف این مکمل همراه با تمرین تداومی توصیه می شود.

**واژه های کلیدی:** رزوراترول، تمرین تداومی، آنزیم سیرتوئین-۳ ( $SIRT_3$ )، آنزیم ۸- اگزو گوانین DNA گلیکوسیلاز ( $OGG_1$ )

\* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیربند، بیربند، ایران

Email: m.m.ahmadi2005@birjand.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

پژوهش‌های دهه اخیر از وجود خانواده ای از ژن‌ها به نام سیرتوئین (SIRT 1-7) خبر می‌دهند که با استرس‌های سلولی فعال شده و باعث واکنش‌های دفاعی و ترمیمی در برابر سالخوردگی، سلامت ارگان و طول عمر می‌شوند (۱،۲). با وجود این که هنوز از نظر علمی، اثرات سیرتوئین‌ها در افزایش طول عمر ثابت نشده است، ولی در مورد اثرات مفیدشان در سلامت بدنی و کیفیت زندگی اطمینان خوبی حاصل شده است (۱). در میان سیرتوئین‌ها، آنزیم سیرتوئین-۳ (SIRT<sub>3</sub>) که یک پروتئین میتوکندریایی وابسته به NAD<sup>+</sup> می‌باشد (۲)، یک استیل‌زدای میتوکندریایی است که در بافت‌هایی با سوخت و ساز بالا هم چون کبد، قلب، مغز و بافت چرب قهوه‌ای به وفور یافت می‌شود. سیرتوئین، آنزیم‌های میتوکندریایی دخیل در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب، متابولیسم اسیدهای آمینه، زنجیره انتقال الکترون و دفاع آنتی‌اکسیدانی را استیل‌زدایی و فعال می‌سازد و به عنوان واسطه‌ای برای افزایش طول عمر از طریق کاهش کالری رژیم غذایی پیشنهاد می‌شود (۳).

در مقابل، آنزیم ۸-اگزو گوانین DNA گلیکوسیلاز (OGG<sub>1</sub>) به عنوان یک هدف جدید SIRT<sub>3</sub> شناخته شده و رابطه آن با SIRT<sub>3</sub> نشان داده شده است؛ به گونه‌ای که احتمالاً توسط SIRT<sub>3</sub> استیل‌زدایی شده و از کاهش آن جلوگیری می‌کند. تنظیم استیل‌زدایی پروتئین OGG<sub>1</sub> توسط SIRT<sub>3</sub>، یک نقش بحث‌برانگیز در ترمیم آسیب‌های DNA میتوکندریایی، حفظ یکپارچگی میتوکندریایی و جلوگیری از آپوپتوزیس سلولی ناشی از فشار اکسایشی دارد (۴). عواملی از جمله محدودیت کالری، گرسنگی و ورزش باعث افزایش متابولیسم و فشار اکسایشی خفیف شده و SIRT<sub>3</sub> را فعال می‌سازند. کاهش بیان SIRT<sub>3</sub> در سلول‌های اسکلتی انسان با سالخوردگی، عدم تحرک و کاهش بازده متابولیسمی همراه است (۵).

فعالیت ورزشی احتمالاً یک مداخله‌گر در تغییر سطح میتوکندریایی خانواده سیرتوئین‌ها می‌باشد، با این حال مطالعات بیشتری در این خصوص نیاز است (۶). بو و همکاران (۲۰۱۴) پیشنهاد دادند که

فعالیت ورزشی طولانی روی نوارگردان بر سطح OGG<sub>1</sub> موثر است و ظرفیت ترمیم DNA میتوکندریایی را در هیپوکمپ موش افزایش می‌دهد و باعث حفاظت در مقابل اختلال میتوکندری در اثر بیماری آلزایمر می‌گردد (۷). در مقابل، راداک و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تمرینات ورزشی باعث کاهش فعالیت OGG<sub>1</sub> میتوکندریایی کبد می‌گردد. سوارس و همکاران (۲۰۱۵) متعاقب تمرین ورزشی منظم ۱۶ هفته‌ای، کاهش معنی‌دار شکسته شدن DNA را گزارش و از آن جایی که در سطوح ۸-اگزو-گوانین (8-oxo-G) و OGG<sub>1</sub> تغییر معنی‌داری دیده نشد، اذعان داشتند که اثرات محافظتی در برابر آسیب DNA لنفوسیت‌ها، احتمالاً نه به خاطر افزایش شاخص ترمیمی OGG<sub>1</sub>، بلکه به دلیل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی رخ داده است (۸). نتیجه کلی آن که نتایج موجود در خصوص تأثیر ورزش تداومی بر سطح OGG<sub>1</sub>، ناهمسو می‌باشد و هنوز اطلاعات کافی در این مورد وجود ندارد.

با توجه به این که فعالیت ورزشی شدید با ایجاد فشار اکسایشی، باعث مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن می‌گردد، استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی برای حمایت از سیستم دفاعی بدن توصیه می‌شود. رزوراترول یک ترکیب گیاهی و غذایی شناخته شده است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹)، کاهش التهاب (۱۰)، جلوگیری از آسیب اکسایشی از طریق مهار آپوپتوزیس سلولی، سرکوب پتانسیل فروپاشی غشاء میتوکندری و کاهش رادیکال آزاد میتوکندریایی می‌باشد (۱۱). به علاوه، در تنظیم متابولیسم انرژی درگیر است و احتمالاً دوزهای پایین آن باعث تحریک NADH دهیدروژناز و مخصوصاً فعالیت کمپلکس ۱- میتوکندریایی و افزایش نسبت NAD<sup>+</sup>/NADH می‌شود. اعتقاد بر آن است که این سطح بالاتر NAD<sup>+</sup>، باعث افزایش مسیرهای وابسته به SIRT<sub>3</sub> (مانند چرخه کربس و اکسیداسیون اسیدهای چرب) می‌شود (۹). فعالیت SIRT<sub>3</sub> با دوزهای مختلف رزوراترول تغییر می‌کند، به طوری که نتایج پژوهش گرتز و همکاران (۲۰۱۲) حاکی از تحریک فعالیت‌های استیل‌زدایی SIRT<sub>5</sub> و مهار فعالیت‌های وابسته به

با تمرین تداومی و استفاده در علم ژرونتولوژی (علم مطالعه تاثیرات پیری و سالمندی) می باشد.

### مواد و روش ها

در این مطالعه، ۳۲ سر موش صحرایی (نر) نژاد آلبینو ویستار) با سن ۱۲ هفته و با محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند خریداری و به حیوان خانه دانشکده کشاورزی بیرجند منتقل شدند و بر اساس دستورالعمل های استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی؛ نشر NIH، با شماره ۸۶-۲۳، تجدید نظر (۱۹۹۶) نگهداری شدند. سپس به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل (Con)، گروه مصرف کننده مکمل (R)، گروه تمرین ورزشی تداومی (C)، گروه تمرین ورزشی تداومی + مصرف مکمل (C+R) تقسیم شدند. هم چنن قبل از شروع تحقیق، موش های صحرایی دوره یک هفته ای جهت سازش پذیری با محیط جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان را طی کردند. پروتکل تمرین تداومی پژوهش حاضر (۱۲) روی نوارگردان ۱۲ ردیفه مخصوص جوندگان (شرکت یارمند سیستم شمال، ایران) برای ۶ هفته، ۶ روز در هفته، و با رعایت اصل اضافه بار اجرا شد (جدول شماره ۱).

SIRT<sub>3</sub> به دنبال مصرف دوز بالای رزوراترول بود. هم چنین مصرف مکمل، باعث تنظیم افزایشی ژن های آنتی اکسیدانی از جمله ژن OGG<sub>1</sub> گردید (۳). در کل، یافته های گوناگون نشان از آن دارند که تنظیم OGG<sub>1</sub> در هسته و میتوکندری بافت های مختلف یا در شدت های گوناگون تمرینی، متفاوت می باشد (۸).

مطالعه بر روی SIRT<sub>3</sub> و OGG<sub>1</sub> به عنوان دو شاخصی که در بیورژن بافتی، تنظیم اعمال حیاتی و عملکرد بافتی مطلوب تاثیر دارند، در نوع خود جالب است و تعامل تمرینات ورزشی تداومی با این دو شاخص، موضوعی جدید و بکر در حوزه فیزیولوژی می باشد. به ویژه آن که تاثیر مکمل رزوراترول نیز هم زمان سنجیده خواهد شد. بافت کبد از میزان انرژی مصرفی بیشتری در مقایسه با سایر بافت ها از جمله عضله اسکلتی و مغز برخوردار است و تعداد میتوکندری های آن نیز بسیار زیاد است؛ همین وضعیت این بافت را در معرض فشار اکسایشی شدید قرار می دهد و موجب شده این بافت به عنوان یکی از بافت های هدف به منظور بررسی عوامل تعیین کننده و تعدیل کننده فشار اکسایشی (مانند تمرین یا مکمل) از طرف محققان قرار گیرد. بر این اساس، پژوهش حاضر به منظور کمک به توسعه دانش، آگاهی پژوهشگران و مرئیان از تاثیر مکمل رزوراترول به تنهایی و در ترکیب

جدول شماره ۱. پروتکل تمرین تداومی شدید

هفته	روز				
	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
اول	۲۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه
دوم	۲۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه
سوم	۲۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه
چهارم	۲۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۲۸ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳۰ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳۲ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه	۳۴ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه
پنجم و ششم	۳۶ دقیقه، ۲۷ متر در دقیقه، تا انتهای هفته ششم				

موش های گروه های مصرف کننده مکمل داده شد. برای خنثی کردن اثر استرس گاوژ به موش های گروه های کنترل و تمرین ورزشی تداومی روزانه ۲۰۰ µL آب اتوکلاو گاوژ شد (۱۰). وزن موش های

در پژوهش حاضر رزوراترول از شرکت سیگما آلدیج آمریکا خریداری شد و روزانه به میزان ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جرم بدن به صورت معلق در آب اتوکلاو از طریق گاوژ دهانی به

صحرائی قبل از دوره تمرینی (به منظور قرار دادن موش ها در گروه ها بر اساس وزن یکسان)، در حین دوره تمرینی به صورت هفتگی (به منظور گواژ صحیح رزوراترول) و در انتهای دوره تمرینی (به منظور تعیین اثرات احتمالی بیش تمرینی) توسط ترازوی بونسو اندازه گیری شد.

به منظور جلوگیری از اثرات باقی مانده آخرین جلسه تمرینی، موش های صحرائی ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی تحت شرایط بی هوشی عمیق (تزریق صفاقی کتامین ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن، زایلازین ۸ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) در ساعات بین ۱۰ تا ۱۱ صبح معدوم شدند. متعاقباً شکم موش ها توسط قیچی جراحی شکافته و قسمتی از بافت کبد با احتیاط برداشت شد. بعد از شستشو با سالین، برای پاک کردن خون های اضافی، قسمت جدا شده از کبد در داخل میکروتیوب (شرکت کاریز مهر، ایران) قرار داده شد و فوراً برای ۲ دقیقه در داخل تانک ازت XC۳۴/۱۸ (شرکت MVE، آمریکا) در دمای ۱۷۰- درجه سانتی گراد فرو برده شد. در پایان، نمونه ها در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد در داخل فریزر آزمایشگاهی (شرکت GFL، آلمان) برای تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی نگهداری شدند. برای ارزیابی بیوشیمیایی متغیرهای وابسته، کبد توسط نیتروژن مایع پودر شد. برای ارزیابی پروتئین های SIRT<sub>3</sub> و OGG<sub>1</sub>، فسفات بافر سالین ۱X و مهارکننده پروتئاز (شرکت گولد بایوتکنولوژی، ایالت متحده آمریکا، شماره کاتالوگ: GB-۳۲۶-۱) به میکروتیوب های حاوی بافت کبد پودر شده اضافه شد و برای یک شبانه روز در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. بعد از دو چرخه فریز-تاو که برای شکستن غشاهای سلولی انجام می شود، هموزنه ورتکس (ورتکس مخلوط کن استوارت، انگلیس) شد و برای ۵ دقیقه در سرعت

۵۰۰۰g× و در دمای بین ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ (سانتریفیوژ اپندورف، آلمان) گردید. حجم مشخصی از رویه شفاف حاصله در بالای میکروتیوب برداشته و داخل چاهک های پلیتریخته شد و ارزیابی ها فوراً مطابق با دستورالعمل شرکت های سازنده کیت های تجاری انجام شد. به علاوه، از کیت های تجاری و به روش ساندریج الیزا برای سنجش میزان پروتئین بافت از کیت اندازه گیری پروتئین بردفورد (شرکت آمریکایی ترموسایننتیک) و برای اندازه گیری سطوح پروتئین های SIRT<sub>3</sub> (شرکت زلبایو، آلمان، شماره کاتالوگ: ۹۶۴۸-OGG<sub>1</sub>) و ZB-۱۳۰۴R (شرکت زلبایو، آلمان، شماره کاتالوگ: ZB-۱۳۰۵-R۹۶۴۸) استفاده شد. حساسیت ارزیابی کیت های SIRT<sub>3</sub> و OGG<sub>1</sub> به ترتیب کمتر از ۰/۰۴ و ۰/۰۱ نانوگرم/میلی لیتر بود. جذب SIRT<sub>3</sub> و OGG<sub>1</sub> در ۴۵۰ نانومتر توسط الیزا ریدر Tecan (اتریش) قرائت شد و محتوا به صورت وزن بافت بیان گردید.

از آزمون شاپیرو-ویلک جهت تعیین توزیع طبیعی داده ها استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تغییرات بین گروهی استفاده گردید. کلیه داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۸) در سطح  $P \leq 0.05$  محاسبه گردید.

### یافته های پژوهش

در جدول شماره ۲، اطلاعات مربوط به تعداد و وزن موش های صحرائی مورد استفاده در گروه های مطالعه ارائه شده است. در جدول شماره ۲ نیز میانگین و انحراف استاندارد OGG<sub>1</sub> و SIRT<sub>3</sub> در بافت کبد گروه های مختلف موش های صحرائی آورده شده است.

جدول شماره ۲. میانگین و انحراف معیار وزن موش های صحرائی در گروه های مطالعه

گروه ها	تعداد	وزن (گرم)
کنترل	۸	۳۴۲±۶/۵۸
مصرف کننده مکمل	۸	۳۳۲±۹/۱۴
تمرین ورزشی تداومی	۸	۳۳۵±۳/۳۳
تداومی و مکمل	۸	۳۳۸±۷/۲۵

همان گونه که در جدول شماره ۳ مشاهده می شود، بین سطوح OGG<sub>1</sub> کبد در گروه های مختلف متعاقب ۶ هفته تمرین ورزشی تداومی تفاوت معنی داری مشاهده شد (P=0.0001). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که تمرین ورزشی

تداومی (P=0.0001) و تمرین تداومی+مصرف رزوراترول (P=0.0001) در مقایسه با گروه کنترل، موجب افزایش سطوح OGG<sub>1</sub> کبد شدند؛ و جالب تر که این افزایش در گروه تمرین تداومی+مصرف رزوراترول بیشتر بود (P=0.0001).

جدول شماره ۳. میانگین و انحراف استاندارد OGG<sub>1</sub> و SIRT<sub>3</sub> در بافت کبد گروه های مختلف

گروه ها	OGG <sub>1</sub> (نانوگرم/میلی لیتر پروتئین بافت)	SIRT <sub>3</sub> (نانوگرم/میلی لیتر پروتئین بافت)
کنترل	۰/۰۹±۰/۰۰۳	۰/۱۲±۰/۰۰۱
مصرف کننده مکمل	۰/۱۰±۰/۰۰۱	۰/۱۷±۰/۰۰۱
تمرین ورزشی تداومی	۰/۱۸±۰/۰۰۱	۰/۴۱±۰/۰۰۱
تداومی + مکمل	۰/۲۱±۰/۰۰۱	۰/۵۲±۰/۰۰۲

از طرف دیگر، تمرین ورزشی تداومی در مقایسه با گروه مصرف مکمل (P=0.0001) موجب افزایش معنی دار بزرگتری در سطوح OGG<sub>1</sub> کبد شد. هم چنین تمرین ورزشی تداومی به همراه مصرف رزوراترول در مقایسه با گروه مصرف مکمل (P=0.0001) موجب افزایش معنی دار بزرگتری در سطوح OGG<sub>1</sub> کبد گردید. تمرین ورزشی تداومی+مصرف رزوراترول در مقایسه با تمرین ورزشی تداومی (P=0.02)، تاثیر معنی داری بر محتوای OGG<sub>1</sub> کبد داشت و باعث ایجاد افزایش بزرگتری در سطح OGG<sub>1</sub> کبد گردید، اما مصرف رزوراترول، بر سطح OGG<sub>1</sub> گروه R (P=0.91) تاثیر معنی داری نداشت.

معنی داری (P=0.0001) مشاهده شد (جدول شماره ۴). از این رو آزمون تعقیبی اجرا شد و نشان داد که مصرف رزوراترول (P=0.01)، تمرین ورزشی تداومی (P=0.001) و تمرین ورزشی تداومی به همراه مصرف رزوراترول (P=0.001) در مقایسه با گروه کنترل، باعث افزایش سطح SIRT<sub>3</sub> بافت کبد شده است. هر چند این افزایش در مورد گروه تمرین تداومی با مصرف رزوراترول به طور معنی داری (P=0.001) بزرگ تر بود. هم چنین، تمرین ورزشی تداومی در مقایسه با گروه مصرف مکمل (P=0.0001) موجب افزایش معنی دار بزرگ تری در سطح SIRT<sub>3</sub> کبد گردید. از طرفی، تمرین ورزشی تداومی+مصرف رزوراترول در مقایسه با گروه های مصرف مکمل (P=0.0001) و تمرین ورزشی تداومی (P=0.0001)؛ موجب افزایش معنی دار بزرگ تری در سطوح SIRT<sub>3</sub> کبد شد.

بین سطوح SIRT<sub>3</sub> کبد در گروه های مختلف متعاقب ۶ هفته تمرین ورزشی تداومی نیز تفاوت

جدول شماره ۴. نتایج آزمون آنوای یک سویه در مورد مقایسه محتوای OGG<sub>1</sub> و SIRT<sub>3</sub> بافت کبد متعاقب ۶ هفته تمرین ورزشی تداومی با و بدون مصرف رزوراترول

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
OGG <sub>1</sub>	۰/۰۹	۵	۰/۰۲	۶۲/۳۳	*۰/۰۰۰۱
	۰/۰۱	۴۲	۰/۰۰۰۱		
	۰/۱۰	۴۷			
SIRT <sub>3</sub>	۱/۰۹	۵	۰/۲۲	۲۲۱/۵۲	*۰/۰۰۰۱
	۰/۰۴	۴۲	۰/۰۰۱		
	۱/۱۳	۴۸			

\* نشانه تفاوت معنی داری در سطح P<0.05

## بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطح  $SIRT_3$  بافت کبد در گروه های مختلف نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری یافت؛ به طوری که این افزایش در مورد گروه تمرین تداومی با مصرف رزوراترول به طور معنی داری بزرگ تر بود. برخی از مطالعات انجام شده در این زمینه یافته های مشابهی با مطالعه حاضر گزارش کرده اند، به گونه ای که بیان قابل ملاحظه  $SIRT_3$  در بافت هایی با فعالیت متابولیکی بالا نظیر کلیه، بافت چرب قهوه ای، کبد و مغز (به مقدار کمتر در عضله اسکلتی) گزارش شده است (۵،۱۳). سیرتوئین-۳ در میتوکندری واقع شده است و قاعداً بایستی در آن جا نقش آفرینی کند. یافته های اخیر نشان می دهد که  $SIRT_3$  آنزیم های میتوکندریایی دخیل در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب، متابولیسم اسیدهای آمینه، زنجیره انتقال الکترون و دفاع آنتی اکسیدانی را استیل زدایی و فعال می سازد. نتایج از این فرضیه حمایت می کنند که احتمالاً تمرین ورزشی به عنوان یک مداخله گر در تغییر سطح میتوکندریایی خانواده سیرتوئین ها محسوب می شود (۶). از لحاظ بالینی به ثبت رسیده است که فعالیت ورزشی یک روش مقرون به صرفه و مداخله گر در جلوگیری از بسیاری از بیماری های مزمن و عوامل تهدیدکننده سلامتی است. پالاسیوس و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشته اند که فعالیت ورزشی روی چرخ گردان به واسطه تحریک انتقال های عصبی گلوتامات، باعث افزایش بیان  $SIRT_3$  در نورون های هیپوکمپ می شود که این امر برای هموستاز استیلایسون پروتئین های میتوکندریایی و اثرات حفاظت نورونی ضروری است (۵). در طی تمرین ورزشی، تنظیمات ساختاری و عملکردی در عضلات اسکلتی پستانداران برای افزایش بیوژنز میتوکندریایی، بهبود حداکثر اکسیژن مصرفی، افزایش آستانه لاکتات، تامین انرژی بیشتر از طریق اکسیداسیون اسیدهای چرب و نهایتاً انتقال تارهای تند انقباض گلیکولیتیک به تارهای کند انقباض اکسایشی ضروری است (۱). سیرتوئین ها می توانند اولین تنظیم کنندگان این تغییرات وابسته به آشفستگی شیمیایی (مانند افزایش  $NAD^+$ ) در اثر تمرین ورزشی باشند. در

حقیقت، مطالعات اخیر از این فرضیه حمایت می کنند که سیرتوئین ها فعالیت بسیاری از آنزیم های متابولیکی درگیر در چرخه کربس، زنجیره انتقال الکترون و چرخه اوره را تنظیم می کنند. به عنوان مثال، بعد از تمرینات استقامتی،  $SIRT_3$  افزایش می یابد تا احتمالاً از کاهش ظرفیت اکسایشی میتوکندریایی در عضله اسکلتی انسان متعاقب افزایش سن جلوگیری کند. در موش هایی که روی نوارگردان دویند نیز، سطح پروتئین  $SIRT_3$  در عضله سه سر بازویی افزایش یافت و تغییرات آن با بیان پروتئین  $PGC1\alpha$  رابطه داشت. هم چنین در مطالعه دیگری بیان  $SIRT_3$  در عضله نعلی موش ها متعاقب از دست دادن حمایت قامتی با تنظیم منفی همراه بود که خود دال بر آن است که توان بخشی ممکن است اثرات مثبت خود را از طریق بازگرداندن ساختارهای قامتی فیزیولوژیک و نهایتاً افزایش فعالیت  $SIRT_3$  اعمال نماید. در مجموع این داده ها دال بر آن هستند که سیرتوئین ها تحت تاثیر تمرین ورزشی هستند و متعاقب تمرینات استقامتی درگیر مکانیسم های سازگاری می شوند (۱).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطح  $SIRT_3$  بافت کبد موش های نر آلبینو ویستار متعاقب ۶ هفته مصرف رزوراترول به نسبت گروه کنترل افزایش معنی داری یافت. برخی از مطالعات انجام شده در این زمینه یافته های مشابهی با مطالعه حاضر گزارش کرده اند (۱۴،۱۵). بر خلاف نتایج پژوهش حاضر، شیرمر و همکاران (۲۰۱۲) کاهش بیان ژن  $SIRT_3$  را در مدل های بدون استرس و بدون هیچ اختلالی متعاقب مصرف رزوراترول نشان دادند، آن ها عدم تغییر ژن- $SIRT_1$  و کاهش بیان ژن  $SIRT_3$  متعاقب مصرف رزوراترول را به دلیل عدم تغییر بیان ژن  $PGC1\alpha$  بیان کردند. رزوراترول خود محرک  $SIRT_3$  می باشد (۱۵). نشان داده شده است که رزوراترول در تنظیم متابولیسم انرژی درگیر است و احتمالاً دوزهای پایین آن باعث تحریک  $NADH$  دهیدروژناز و مخصوصاً فعالیت کمپلکس-۱ میتوکندریایی و افزایش نسبت  $NAD^+/NADH$  گردید. اعتقاد بر آن است که این سطح بالاتر  $NAD^+$  باعث افزایش مسیرهای وابسته به  $SIRT_3$  (مانند چرخه کربس و اکسیداسیون

اسیدهای چرب) می شود (۹). در پرتو پژوهش ها مشخص شده است که فعالیت  $SIRT_3$  با دوزهای مختلف رزوراترول تغییر می کند، به طوری که نتایج پژوهش گرتز و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان می دهد که استفاده از مکمل رزوراترول باعث تحریک فعالیت های استیل زدای  $SIRT_5$  و مهار فعالیت های وابسته به  $SIRT_3$  می شود. در این مطالعه بیان شده است که دوزهای بالای رزوراترول برای اثرات معنی دار لازم است (۳). اولین مطالعه ای که کشف کرد رزوراترول قادر به فعال کردن ژن ضد پیری  $SIRT_1$  است، در دانشکده پزشکی هاروارد و آزمایشگاه پژوهشی بیومول انجام گردید. مطالعات بعدی نشان دادند که رزوراترول نه تنها قادر به فعال سازی  $SIRT_1$  است بلکه  $SIRT_3$  و  $SIRT_4$  را همانند FOXO ها و PBEF که همگی پروتئین های مرتبط با طول عمر هستند، نیز فعال کرد (۱۶). برخلاف مطالعه شیرمر و همکاران (۲۰۱۲)، گروه مصرف کننده پژوهش حاضر تنها در معرض استرس ناشی از گاوژ بود، از آن جایی که در شروع بازه پژوهش دارای ۱۲ هفته سن بودند و در طی انجام بررسی ها حدود ۸ هفته دیگر به سن شان افزوده شد، می توان آن ها را مضمول قانون افزایش سن به حساب آورد (۱۵). نظریه «رادیکال های آزاد پیری» اولین بار توسط هارمن در سال ۱۹۵۶ ارائه شد، به طوری که با افزایش سن به دلیل عدم تعادل بین رادیکال های آزاد و تولید گونه های واکنشی از یک سو و مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدانی سلولی از سوی دیگر، آسیب اکسایشی رخ می دهد (۱۷). با توجه به این که در پژوهش حاضر دوز مصرفی رزوراترول (روزانه به میزان ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جرم بدن) کم بود، با این حال، افزایش معنی دار سطح  $SIRT_3$  در بافت کبد موش ها مشاهده شد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، تمرینات تداومی شدید با و بدون مصرف رزوراترول باعث افزایش معنی دار سطح  $SIRT_3$  کبد گردید، در حالی که متعاقب تمرین تداومی+رزوراترول به نسبت تمرین تداومی، افزایش سطح  $SIRT_3$  به طور معنی داری بیشتر بود. به نظر می آید مصرف رزوراترول در بالا بردن سطح  $SIRT_3$  به تمرین تداومی کمک کرده است.

علاوه بر این ها، نتایج پژوهش حاضر هم چنین نشان داد که سطح  $OGG_1$  بافت کبد در گروه های تمرینی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری یافته؛ به طوری که این افزایش در مورد گروه تمرین تداومی با مصرف رزوراترول به طور معنی دار بزرگ تر بود. برخی از مطالعات انجام شده در این زمینه یافته های مشابهی با مطالعه حاضر گزارش کرده اند (۷، ۱۸). در حالی که گزارش شده است که تمرین شنا، شاخص  $OGG_1$  افراد را تغییر نمی دهد (۱۹). هم چنین متعاقب ۱۶ هفته تمرینات ورزشی ترکیبی که کاهش معنی دار در شکست تارهای DNA دیده شد، فعالیت آنزیم  $OGG_1$  تغییر نکرد، ولی ظرفیت تام آنتی اکسیدانی افزایش و سطوح پراکسیداسیون چربی کاهش یافت؛ این نتایج به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن مرتبط بود (۸). تمرینات ورزشی باعث افزایش فعالیت  $OGG_1$  در هسته تارهای قرمز و کاهش فعالیت آن در هسته تارهای سفید و میتوکندری تارهای سفید و قرمز موش گردید. راداک و همکاران (۲۰۰۶) اعلام کردند که احتمالاً تنظیم آنزیم ها در هسته و میتوکندری متفاوت می باشد (۱۹). در میان جایگاه های هسته ای، گوانین به دلیل پتانسیل ردوکس پایین خود، حساسیت زیادی به ROS دارد و مهم ترین فرآورده های اکسیداسیون گوانین می تواند 8-OHG و 8-OHdG باشد. از آن جایی که این دو فرآورده می توانند با سیتوزین و آدنین جفت شوند، به شدت جهش زا و سرطان زا هستند و تولیدات آن بیشترین عامل آسیب های DNA در شرایط اکسایشی می باشد (۲۰). در مراحل اولیه، 8-oxo-G توسط ترمیم برشی بازاها با چندین آنزیم مخصوصاً  $OGG_1$  و  $OGG_2$  و گلیکوسیلزهای نیلیک ترمیم می شود؛ و DNA برش خورده توسط AP اندونوکلازها قبل از این که شکاف هایشان توسط پلیمرآزها بسته و پر شود، ترمیم می گردد (۲۱). آنزیم ۸-اگزو گوانین DNA گلیکوسیلز ( $OGG_1$ ) و  $NEIL_1$  به آنزیم های گلیکوسیلز DNA تعلق دارند و آسیب های DNA ناشی از فشار اکسایشی را ترمیم می کنند و همراه با موتی DNA گلیکوسیلزها از آسیب های مرتبط با 8-oxoG جلوگیری می کنند (۶). ترمیم DNA کارآمد،

نشانه ای از حفاظت در برابر تخریب نورونی و بنا بر این تقویت ترمیم آسیب های DNA در سیستم تحت فشار است (۲۲). احتمالاً ارتباط معکوسی بین فعالیت OGG<sub>1</sub> و سطح 8-oxoG وجود دارد (۲۳). آنزیم ۸-اگزوگوانین DNA گلیکوسیلاز انسانی (HOGG<sub>1</sub>) در دو نوع پیوند h-OGG<sub>1</sub>α (موجود در سیتوپلاسم، هسته و میتوکندری) و h-OGG<sub>1</sub>β (موجود در میتوکندری) یافت می شود. آنزیم ۸-اگزو گوانین DNA گلیکوسیلاز توسط P<sub>30</sub> در Lys<sub>۳۳۸</sub>/Lys<sub>۳۴۱</sub> استیل و فعالیت آن، افزایش می یابد (۲۴). در مقابل، استوارت و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که موش های فاقد OGG<sub>1</sub>، فنوتیپ غیر طبیعی را نشان نمی دهند (۲۵). این حیوانات در میتوکندری DNA دارای تجمع ۹ تا ۲۰ برابری 8-oxoG به نسبت گونه های وحشی خود بودند، اما به نظر نمی رسد که شرایط نامساعدی داشته باشند. حتی گزارش شده است موش هایی با کمبود OGG<sub>1</sub>، در برابر التهاب مقاوم هستند که این شواهد حاکی از آن است که OGG<sub>1</sub> در پیام دهی التهابی دخیل است (۲۶). تمرین ورزشی ROS تولید می کند و مفید یا مضر بودن آن به غلظت ROS، مدت قرار گرفتن در معرض ROS و وضعیت تمرینی فرد بستگی دارد (۸). تمرینات ورزشی می تواند ظرفیت آنتی اکسیدانی را افزایش (۸)، نیازهای متابولیکی سلولی را تغییر و بدن را به سطح سازگاری در برابر فشارهای اکسایشی برساند (۱) احتمالاً افزایش سطح OGG<sub>1</sub> کبد متعاقب تمرین تداومی شدید به همین دلایل رخ داده است.

نتایج پژوهش حاضر بیان کرد که متعاقب ۶ هفته مصرف رزوراترول تغییری در سطح OGG<sub>1</sub> کبد موش های صحرایی نر دیده نشد. قدرت آنتی اکسیدانی رزوراترول به قابلیت بالا بردن بیان آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند گلوکوتایون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و هموکسی ژناز-۱ نسبت داده می شود. هم چنین منجر به حفاظت در برابر آسیب های DNA ناشی از سوء مصرف اتانول در نفوسیت های محیطی انسان می شود (۲۷). لودوویچی و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند مصرف ۱۴ روز رزوراترول با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم

وزن بدن باعث تغییر دفاع آنتی اکسیدانی و افزایش OGG<sub>1</sub> کبد موش هایی شد که دچار آسیب اکسایشی توسط القای ۲NP شده بودند ولی در گروهی که سالم بودند، مصرف رزوراترول تغییری در سطح OGG<sub>1</sub> کبد ایجاد نکرد (۲۸). از طرفی بر خلاف نتایج پژوهش حاضر در بعضی مطالعات نشان داده شد که متعاقب مصرف رزوراترول به مدت ۸ ماه، سطح OGG<sub>1</sub> بافت پستان افزایش یافت که این نتیجه به تنظیم افزایشی NRF<sub>2</sub> نسبت داده شد (۲۹). در سلول های بنیادی جنین یا جنین موش هایی که در معرض مسمومیت با اتانول بودند، مصرف رزوراترول باعث جلوگیری از آپوپتوزیس و افزایش شانس نجات گردید (۳۰). میکلا پتراسیک و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند، با مصرف ۰/۵ میکرومول رزوراترول، آزادسازی گونه های واکنشی اکسیژن افزایش یافت، همراه با آن بیوترنز میتوکندریایی دچار تنظیم افزایشی گردید و پتانسیل غشاء میتوکندری فرو پاشید، با این حال فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و سطح OGG<sub>1</sub> افزایش و آسیب های DNA و سطح 8-oxoG کاهش یافت، افزایش قابلیت ترمیم 8-oxoG به افزایش فعالیت OGG<sub>1</sub> نسبت داده شد، با چنین نتایجی پژوهشگران پیشنهاد دادند که تاخیر در پیری سلول های مزوتلیال صفاقی در اثر مصرف رزوراترول، احتمالاً به دلیل تحرک آنتی اکسیدانی و مکانیسم های ترمیم DNA می باشد (۳۰). در بررسی نتایج سایر پژوهشگران با این که فواید زیادی در رابطه با مصرف رزوراترول بیان شده است ولی موارد ضد و نقیضی در تغییر سطح شاخص OGG<sub>1</sub> مشاهده می شود، این در حالی است که دوز مصرفی و بازه زمانی این پژوهش ها متفاوت هستند که این خود می تواند دلیلی بر این نتایج گوناگون باشد. رزوراترول یک محصول گیاهی است که قادر به تغییرات وسیع درون سلولی می باشد (۲۸). مصرف این ماده قادر به افزایش بسیاری از آنزیم های آنتی اکسیدانی و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بدن می شود (۲۸). عدم تغییر محتوای OGG<sub>1</sub> کبد متعاقب مصرف ۶ هفته ای رزوراترول در پژوهش حاضر احتمالاً به دلیل افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی می باشد. به طور کلی، نتایج نشان داد که دویدن شدید به صورت تداومی با و بدون



است که احتمالاً اثرات تجمعی تمرین تداومی و مصرف رزوراترول بر سازگاری ناشی از فشار اکسایشی و بهبود بیوژنز میتوکندریایی در بافت کبد، موثرتر است.

مصرف رزوراترول روی نوارگردان باعث افزایش  $OGG_1$  و  $SIRT_3$  کبد می شود، این در حالی است که مصرف رزوراترول حین انجام این تمرینات، افزایش بیشتر این دو شاخص را در پی دارد؛ این بدان معنی

### References

- Pucci B, Villanova L, Sansone L, Pellegrini L, Tafani M, Carpi A, et al. Sirtuins the molecular basis of beneficial effects of physical activity. *Int Emerg Med* 2013; 8:23-5. doi:10.1007/s11739-013-0920-3.
- Chen Y, Fu LL, Wen X, Wang XY, Liu J, Cheng Y, et al. Sirtuin3 a therapeutic target with oncogenic and tumor-suppressive function in cancer. *Cell Death Dis* 2014 Feb; 5:1-7. doi:10.1038/cddis.2014.14.
- Gertz M, Nguyen GT, Fischer F, Suenkel B, Schlicker C, Franzel B, et al. A molecular mechanism for direct sirtuin activation by resveratrol. *Plos One* 2012; 7:1-12. doi.org/10.1371/journal.pone.0049761.
- Cheng A, Yang Y, Zhou Y, Maharana C, Lu D, Peng W, et al. Mitochondrial SIRT3 mediates adaptive responses of neurons to exercise and metabolic and excitatory challenges. *Cell Metab* 2016; 23:128-42. doi.org/10.1016/j.cmet.2015.10.013.
- Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, Chen KY, Manabe Y, Ward Iii JL, et al. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC1 $\alpha$  in skeletal muscle. *Aging* 2009; 1:771-83. doi. 10.18632/aging.100075.
- Marfe G, Tafani M, Pucci B, Di Stefano C, Indelicato M, Andreoli A, et al. retracted article the effect of marathon on mRNA expression of anti apoptotic and pro apoptotic proteins and sirtuins family in male recreational long distance runners. *BMC Physiol* 2010; 10:1-9. doi.org/10.1186/1472-6793-10-7.
- Bo H, Li L, Duan FQ, Zhu J. Exercise training in hypoxia prevents hypoxia induced mitochondrial DNA oxidative damage in skeletal muscle. *Acta Physiol Sin* 2014; 66:597-604.
- Soares JP, Silva AM, Oliveira MM, Peixoto F, Gaivao I, Mota MP. Effects of combined physical exercise training on DNA damage and repair capacity: role of oxidative stress changes. *Ageing* 2015; 37:1-12. doi.org/10.1007/s11357-015-9799-4.
- Desquiret V, Gueguen N, Leman G, Baron S, Nivet V, Chupin S. Resveratrol induces a mitochondrial complex I dependent increase in NADH oxidation responsible for sirtuin activation in liver cells. *J Biol Chem* 2013; 31: 36662-75. doi: 10.1074/jbc.M113.466490.
- Gordon BS, Delgado DC, Carson J, Fayad R, Wilson LB, Kostek MC. Resveratrol improves muscle function but not oxidative capacity in young mdx mice. *Canadian J Physiol Pharmacol* 2014; 92:243-51. doi.org/10.1139/cjpp-2013-0350.
- Zhou X, Chen M, Zeng X, Yang J, Deng H, Yi L, et al. Resveratrol regulates mitochondrial reactive oxygen species homeostasis through Sirt3 signaling pathway in human vascular endothelial cells. *Cell Death Dis* 2014; 12:1-13. doi.org/10.1038/cddis.2014.530.
- Chilibeck P, Bell G, Farrar R, Martin T. Higher mitochondrial fatty acid oxidation following intermittent versus continuous endurance exercise training. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 891-4. https://doi.org/10.1139/y98-094.
- Brandauer J, Andersen MA, Kellezi H, Risis S, Frosig C, Vienberg SG, et al. AMP activated protein kinase controls exercise training and AICAR induced increases in SIRT3 and MnSOD. *Front Physiol* 2015; 6:2-16. doi.org/10.3389/fphys.2015.00085.
- Fu J, Jin J, Cichewicz RH, Hageman SA, Ellis TK, Xiang L, et al. Trans viniferin increases mitochondrial sirtuin 3 activates AMP activated protein kinase and protects cells in models of huntington disease. *J Biol Chem* 2012; 287:24460-72. doi: 10.1074/jbc.M112.382226.
- Das M, Das DK. Resveratrol and cardiovascular health. *Mole Asp Med* 2010; 31:503-12. doi.org/10.1016/j.mam.2010.09.001.

16. Masullo LF, Magalhaes RA, Lemes RG, Almeida TP, Maia PA, Castro MF, et al. Levothyroxine replacement improves oxidative status in primary hypothyroidism. *Front Endocrinol* 2018; 9:1-5. doi.org/10.3389/fendo.2018.00655.
17. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiol Behavior* 2015; 147:78-83. doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.04.012.
18. Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G. The effects of training and detraining on memory neurotrophins and oxidative stress markers in Rat brain. *Neurochem Int* 2006; 49:387-92. doi.org/10.1016/j.neuint.2006.02.004.
19. Filomeni G, Zio D, Cecconi F. Oxidative stress and autophagy the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death Dif* 2015; 22:377-88. https://doi.org/10.1038/cdd.2014.150.
20. Shah A, Bennett M. Controlling inflammation through DNA damage and repair. *Am Heart* 2016;2: 698-700. doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309505.
21. Liu GS, Zhang ZS, Yang B, He W. Resveratrol attenuates oxidative damage and ameliorates cognitive impairment in the brain of senescence accelerated Mice. *Life Sci* 2012; 91:872-7. doi.org/10.1016/j.lfs.2012.08.033.
22. Radicella JP, Dherin C, Desmaze C, Fox MS, Boiteux S. Cloning and characterization of the OGG1 a human homolog of the OGG1 gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc National Acad Sci* 1997; 94:8010-5. doi.org/10.1073/pnas.94.15.8010.
23. Robey SM, Barrantes R, Bond JP, Wallace SS, Bandaru V. Clostridium acetobutylicum 8-oxoguanine DNA glycosylase differs from eukaryotic oggs with respect to opposite base discrimination. *Biochemistry* 2008; 47:7626-36. doi.org/10.1021/bi800162e.
24. Stuart JA, Bourque BM, Souza NC, Bohr VA. No evidence of mitochondrial respiratory dysfunction in OGG1 null Mice deficient in removal of oxodeoxyguanine from mitochondrial DNA. *Free Rad Biol Med* 2005; 38:737-45. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.12.003.
25. Touati E, Michel V, Thiberge JM, Ave P, Huerre M, Bourgade F, et al. Deficiency in OGG1 protects against inflammation and mutagenic effects associated with *H. pylori* infection in Mouse. *Helicobacter* 2006; 11:494-505. doi.org/10.1111/j.1523-5378.2006.00442.x.
26. Abdel BA, Wahab MM. Protective effect of resveratrol against chronic intermittent hypoxia-induced spatial memory deficits hippocampal oxidative DNA damage and increased p47Phox NADPH oxidase expression in young Rats. *Behaviour Brain Res* 2016; 305:65-75. doi.org/10.1016/j.bbr.2016.02.030.
27. Lodovici M, Bigagli E, Luceri C, Manni EM, Zaid M. Protective effect of resveratrol against oxidation stress induced by 2 nitropropane in rat liver. *Pharmacology* 2011; 2:127-35. doi:10.4236/pp.2011.23017.
28. Singh B, Shoulson R, Chatterjee A, Ronghe A, Bhat NK, Dim DC, et al. Resveratrol inhibits estrogen induced breast carcinogenesis through induction of NRF2 mediated protective pathways. *Carcinogenesis* 2014; 35:1872-80. doi.org/10.1093/carcin/bgu120.
29. Denissova NG, Nasello CM, Yeung PL, Tischfield JA, Brenneman MA. Resveratrol protects mouse embryonic stem cells from ionizing radiation by accelerating recovery from DNA strand breakage. *Carcinogenesis* 2011; 33:149-55. doi.org/10.1093/carcin/bgr236.
30. Mikula J, Kuczmarska A, Rubis B, Filas V, Murias M, Zielinski P, et al. Resveratrol delays replicative senescence of human mesothelial cells via mobilization of antioxidative and DNA repair mechanisms. *Free Rad Biol Med* 2012; 52:2234-45. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.014.

## Effect of Continuous Exercise Training on Protein Levels of SIRT<sub>3</sub> and OGG<sub>1</sub> in the Liver Tissue of Male Wistar Rats

Zanjirian Z<sup>1</sup>, Afzalpour ME<sup>1</sup>, Sarir H<sup>2</sup>, Mohammadnia Ahmadi M<sup>\*1</sup>

(Received: November 4, 2018)

Accepted: April 10, 2019)

### Abstract

**Introduction:** Sirtuin-3 (SIRT<sub>3</sub>) acetylates and activates the mitochondrial enzymes and helps to preserve mitochondrial integrity and prevents apoptosis through regulating Oxo-Guanine Glycosylase-1 (OGG<sub>1</sub>). Resveratrol could stimulate SIRT<sub>3</sub> and the athletes use this supplement to support the effects of training. This study aimed to evaluate the effect of continuous training and Resveratrol consumption on SIRT<sub>3</sub> and OGG<sub>1</sub> proteins in the liver tissue of male rats.

**Materials & Methods:** In total, 32 adult male rats were divided randomly into four equal groups of control (1. Con), Resveratrol supplement consumption (2.R), Continuous exercise training (3.C), and Continuous exercise+Resveratrol (4.C+R). Continuous exercise training was performed for 6 weeks (6 days per week) at 80% of VO<sub>2</sub>max on a treadmill. In addition, groups 2 and 4 received 50 mg/kg body mass/day of Resveratrol. At the end of the protocol, the rats were anesthetized with Ketamine/Xylazine, and their liver samples were removed to evaluate the protein levels of SIRT<sub>3</sub> and OGG<sub>1</sub> using an enzyme linked immunosorbent assay. The data were analyzed through a one-way Anova test. A

pvalue less than 0.05 were considered statistically significant.

**Findings:** The results indicated that Resveratrol consumption was significantly increased the SIRT<sub>3</sub> levels in the second group (i.e., R) (P=0.01) and the fourth group (i.e., C+R) (P=0.0001); moreover, it led to an increase in the OGG<sub>1</sub> level in the fourth group (i.e., C+R) (P=0.0001); however, it had no effects on the OGG<sub>1</sub> levels in the R group (P=0.91). In addition, SIRT<sub>3</sub> and OGG<sub>1</sub> levels were significantly increased in the third group (i.e., C) (P=0.0001), compared to the R group.

**Discussion & Conclusions:** A combination of Resveratrol supplement with continuous exercise training would have probably more positive effects on SIRT<sub>3</sub> and OGG<sub>1</sub> levels, compared to the training or the consumption of the supplement alone; therefore, this supplement is recommended to be used with continuous exercises.

**Keywords:** Continuous training, Oxo-guanine glycosylase-1, Resveratrol, Sirtuin-3

1. Dept of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Birjand University, Birjand, Iran

2. Dept of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, Iran

\*Corresponding author Email: m.m.ahmadi2005@birjand.ac.ir