Research Paper

Effect of Aerobic Exercise Combined With Thyme Extract Supplementation on the PGC-1α Gene Expression in Adult Male Rats

*Arezoo Adelifar[1], Aliasghar Ravasi[2], Rahman Soori[2], Sirous Chobineh[2]

1. Department of Physical Education, Nasibeh Campus, Farhangian University, Tehran, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Tehran University, Tehran, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation: Adelifar A, Ravasi A, Soori R, Chobineh S. [Effect of Aerobic Exercise Combined With Thyme Extract Supplementation on the PGC-1α Gene Expression in Adult Male Rats (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2021; 11(3):226-235. http://dx.doi.org/10.32598/cmja.11.3.991.1

http://dx.doi.org/10.32598/cmja.11.3.991.1

CC BY NC

Article Info:
Received: 24 May 2020
Accepted: 09 Sep 2021
Available Online: 01 Oct 2021

Key words:
PGC-1α, Thyme, Aerobic exercise, Rats

ABSTRACT

Objective Due to the uncertainty of the impact of thyme plant on endurance sport performance, despite its high antioxidant property, this study aims to assess the effect of aerobic exercise combined with thyme extract supplementation on the PGC-1α gene expression in male rats.

Methods This experimental study was conducted on 40 adult male Wistar rats randomly classified into five groups of 8 including control, sham, aerobic exercise, thyme extract (400 mg per kg per day), and aerobic exercise + thyme extract. The rats began their exercise on a treadmill for 10 minutes a day with a speed of 10 m/min and a slope of 10%. Speed and duration of exercise gradually increased over the next two weeks until they reached 27 m/min and one hour per day, respectively. The real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) method was used to investigate the PGC-1α gene expression extracted from the soleus muscle of rats.

Results There was a significant difference in PGC-1α gene expression after intervention between the combined group and control and sham groups (Mean=1.01±0.0306; F=4.238, P=0.05). However, the PGC-1α gene expression rate in aerobic exercise group and supplementation group was no significantly different compared to control and sham groups (Mean=1.01±0.0306; F=0.00001, P=0.005).

Conclusion It seems that thyme extract supplementation along with aerobic exercise increases the PGC-1α gene expression.

Extended Abstract

1. Introduction

Athletic performance in endurance competitions depends on the ability to maintain and produce high energy efficiency per time, and many factors, including exercise and nutrition, play an important role in improving the performance. Therefore, having a good regime and proper use of appropriate supplements have an important role in the performance of athletes [1]. Numerous studies have shown that medicinal plants such as garlic, ginger, fenugreek, pomegranate extract, etc., by preventing platelet aggregation and activating fibrinolytic factors, increase blood fluidity and thus increase blood flow to muscles and increases a person's ability to perform sports activities [2]. A group of antioxidants that are often good candidates for antioxidant therapy because of their potential role in health are flavonoids. Flavonoids are a group of naturally occur-

* *Corresponding Author:*
Arezoo Adelifar
Address: Department of Physical Education, Nasibeh Campus, Farhangian University, Tehran, Iran.
Tel: +98 (912) 5702008
E-mail: arezooadelif100@yahoo.com

Table 1. Results of one-way ANOVA for PGC-1α gene expression in the study groups before and after intervention

Gene Expression	Source	Sum of square	Df	Mean square	Mean±SD	F	P
PGC-1α gene expression before intervention	Model	0.00001	4	0.00001	1.021±0.0408	0.00001	0.99
	Error	0.042	45	0.001			
PGC-1α gene expression after intervention	Model	0.470	4	0.118	1.01±0.0306	4.238	0.005
	Error	1.249	45	0.028			

Complementary Medicine Journal
Arak University of Medical Sciences

ring phenolic compounds commonly found in photosynthetic cells [4]. Thyme is one of the medicinal plants that has many applications in traditional Iranian medicine and is easily accessible due to its wide distribution in most mountainous areas of Iran [5].

Mitochondrial biogenesis is the process by which new mitochondria are formed in a cell. The onset of mitochondrial life is activated by a large number of different signals during cell stimulation or in response to environmental stimuli [6, 7]. One of the major regulators of mitochondrial biogenesis is PGC-1α. It belongs to a relatively large family of nuclear receptors that are associated with a wide range of transcription factors that are involved in a variety of biological responses. It is a potent transcription co-activator. A co-activator is a protein or set of proteins that increases the expression of a gene by binding to an activator or transcription factor that has a region that binds to DNA.

2. Methods

In this study, 40 eight-week-old male white Wistar rats weighing 275-240 g were used prepared from Pasteur Institute of Iran. They were divided into 5 groups of control (n=8), sham (n=8), aerobic exercise (n=8), thyme extract (n=8), aerobic exercise + thyme extract (n=8) by using simple random sampling method (a number was assigned to each rat and then were selected by a lottery method). To prepare thyme extract, the dried thyme powder (400 mg / kg according to LD50) was dissolved in the drinking water of the rats. All rats in all groups got familiar how to run on a treadmill at a speed of 5 m/min and a slope of zero degrees.

Supplementation by thyme extract and aerobic exercise were done for 8 weeks. Aerobic exercise groups practiced 5 sessions per week on a motorized treadmill. Before it, rats trained on the treadmill for 10 minutes a day at a speed of 10 m/min with a slope of 10%. The speed and duration of training gradually increased over the next 2 weeks until the duration and speed of training reached 1 h per day and 27 m/min, respectively [14].

24 hours after the last training session, the rats were dissected and kept at -80 ° C until the start of soleus (SOL) muscle homogenization. Using mortar and liquid nitrogen, the tissues were homogenized and kept in 1.5 ml microtubules with a suitable label [15].

RNA extraction was performed using 50 mg of SOL. A biophotometer (Eppendorf, Germany) with a wavelength

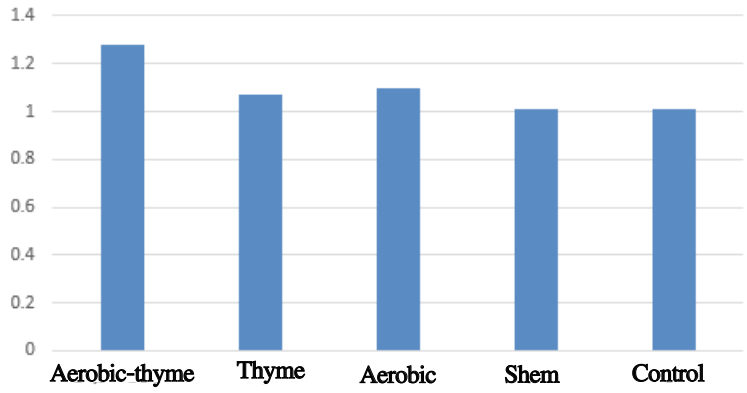


Figure 1. PGC-1α gene expression levels in the study groups after intervention

Complementary Medicine Journal
Arak University of Medical Sciences

of 260 nm was used to measure the quality of extracted RNA. The mean of ODs read was 1.77, which indicates the good quality of the extracted RNA [18].

Transcription to cDNA was performed using a thermo kit according to the manufacturer's instructions. Prior to the final evaluation of gene expression, the Real Time PCR technique needed to evaluate the efficiency of the reference gene (gapdh) and the target gene (Med), which was done. The efficiency for these two genes was 1 (highest level). The Real Time PCR technique (one step) was done using the SYBR Green master mix (Applied Biosystems) and the relative gene expression level was assessed [16, 17].

For data analysis, first the central tendency and dispersion of PGC-1α in different groups before and after the test were examined. Then, the research hypotheses were examined using one-way analysis of variance at the significant level of $P<0.05$ (Figure 1).

3. Results

The results presented in Table 1 showed no significant difference in the expression level of PGC-1α gene between the study groups before the intervention, but there was a significant difference after intervention ($p=0.05$), where there was a significant difference between the aerobic exercise + thyme extract group and control and sham groups, but the exercise and supplementation groups were not significantly different from the control and sham groups.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study obtained its ethical approval from the University of Tehran (Code: IR.UT.SPORT.REC.1397.015).

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

Authors' contributions

All authors equally contributed to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest

Acknowledgements

The authors would like to thank the University of Tehran and Pasteur Institute of Iran for their cooperation.

مقاله پژوهشی

تأثیر ترکیب تمرین هوازی و مکمل‌گیری آویشن بر بیان ژن PGC-1α در رت‌های نر بالغ

*آرزو عادلی‌فر[۱]، علی اصغر رواسی[۲]، رحمان سوری[۲]، سیروس چوبینه[۲]

۱. گروه تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، پردیس نسیبه، تهران، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۰۴ خرداد ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۱۸ شهریور ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۹ مهر ۱۴۰۰

چکیده

هدف عملکرد ورزشی ورزشکاران در مسابقات استقامتی به توانایی حفظ و تولید بازده بالای انرژی در واحد زمان بستگی دارد. عوامل زیادی، از جمله تمرین و تغذیه در بهبود عملکرد نقش بسزایی ایفا می‌کنند. به دلیل نامشخص بودن تأثیر مکمل آویشن بر عملکرد ورزشی استقامتی علی‌رغم بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن، این پژوهش با هدف تهیه یک مکمل نیروبخش از عصاره آویشن و بررسی تأثیر آن بر بیان ژن PGC-1α بر روی موش‌های صحرایی نر انجام شد.

روش‌ها در این مطالعه تجربی ۴۰ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار به عنوان نمونه آماری به صورت تصادفی در ۵ گروه ۸تایی کنترل، شم، تمرین هوازی، عصاره آویشن، تمرین هوازی + عصاره آویشن تقسیم‌بندی شدند. منظور از مکمل‌گیری آویشن، حل کردن عصاره آویشن با دُز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز در آب مصرفی روزانه موش‌های صحرایی بود. در ابتدا موش‌های صحرایی به مدت ۱۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب ۱۰ درصد تمرین خود را آغاز می‌کنند. سرعت و مدت تمرین به تدریج در طول ۲ هفته بعد افزایش یافت تا اینکه مدت و شدت تمرین به ترتیب به ۱ ساعت در روز و ۲۷ متر در دقیقه رسید. در بررسی میزان بیان ژن‌های PGC-1α از روش real time PCR استفاده شد.

یافته‌ها یافته‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقادیر بیان ژن PGC-1α عضله نعلی رت‌های بالغ در مرحله پس‌آزمون در گروهی که همزمان، هم مکمل‌گیری آویشن داشتند و هم تمرین هوازی با گروه کنترل و شم وجود دارد (SD=۰/۰۳۰۶، M=۱/۰۱ (P=۰/۰۵، f=۴/۲۳۸)، با این حال هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری مابین مقادیر بیان ژن PGC-1α در گروهی که فقط تمرین هوازی داشتند و گروهی که فقط مکمل‌گیری با عصاره آویشن داشتند با گروه کنترل و شم مشاهده نشد (SD=۰/۰۳۰۶، M=۱/۰۱)، (P=۰/۰۵، f= ۰/۰۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری با توجه به یافته‌های تحقیق و بررسی ادبیات تحقیق، به نظر می‌رسد مکمل‌گیری با عصاره آویشن در کنار تمرینات هوازی موجب افزایش بیان ژن PGC-1α می‌شود.

کلیدواژه‌ها:
مکمل‌گیری آویشن، PGC-1α، تمرین هوازی، رت بالغ

مقدمه

عملکرد ورزشی ورزشکاران در مسابقات استقامتی به توانایی حفظ و تولید بازده بالای انرژی در واحد زمان بستگی دارد که عوامل زیادی از جمله تمرین و تغذیه در بهبود عملکرد نقش بسزایی ایفا می‌کنند. بنابراین داشتن یک تغذیه خوب و استفاده بجا از مکمل‌های مناسب در عملکرد ورزشکاران نقش مهمی دارد [۱]. بنابراین امروز تحقیقات زیادی به منظور تهیه مکمل‌های غذایی مناسب با کمترین عوارض و بیشترین بازدهی صورت گرفته است.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که گیاهان دارویی همانند سیر، زنجبیل، شنبلیله، عصاره انار و غیره به دلیل جلوگیری از تجمع پلاکت‌ها و فعال شدن فاکتورهای فیبرینولیز، موجب افزایش سیالیت خون و درنتیجه افزایش خون‌رسانی به عضلات و افزایش توان فرد در انجام فعالیت‌های ورزشی می‌شود [۲]. همچنین این‌گونه مکمل‌های گیاهی می‌توانند از تجمع لاکتات و آمونیاک جلوگیری کنند و به علت بالا بردن بایوژنز میتوکندریایی، تولید انرژی هوازی را بهبود بخشیده و وقوع خستگی مرکزی و محیطی را به تأخیر اندازند [۳]. پژوهش‌های متعدد، علت چنین تأثیراتی را ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی دانسته‌اند.

* نویسنده مسئول:
آرزو عادلی‌فر
نشانی: تهران، پردیس نسیبه، دانشگاه فرهنگیان، گروه تربیت‌بدنی.
تلفن: ۵۷۰۲۰۰۸ (۹۱۲) ۹۸+
پست الکترونیکی: arezooadelif100@yahoo.com

یک گروه از آنتی‌اکسیدان‌ها که اغلب کاندیدای مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌درمانی به علت نقش بالقوه‌شان در سلامتی هستند، فلاونوئیدها هستند. فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات فنولیک با منشأ طبیعی‌اند که به طور متداول در سلول‌های فتوسنتزکننده وجود دارند. بیش از ۵ هزار نوع از فلاونوئیدهای طبیعی از قبل شناسایی شده است که این تعداد در حال افزایش است [۴، ۵]. بیوژنز میتوکندری فرایندی است که طی آن میتوکندری جدید در سلول تشکیل می‌شود. پیدایش حیات میتوکندری توسط تعداد زیادی سیگنال‌های مختلف در زمان تحریک سلولی[1] یا در پاسخ به محرک‌های محیطی فعال می‌شود. بنابراین میتوکندری یک تنظیم‌کننده کلیدی از فعالیت متابولیک سلول و اندامکی مهم در تولید و تخریب رادیکال‌های آزاد است. تنظیم سوخت‌وساز سلولی و میتوکندری، توسط شبکه‌های رونویسی متعدد کنترل می‌شود. از آنجا که یکی از شاخص‌های تعیین‌کننده عملکرد ورزشی محتوای میتوکندری سلول‌هاست، تقسیم و افزایش تعداد میتوکندری‌ها در طول دوره تمرین موجب افزایش VO_{2max}، تغییر سوبسترا از کربوهیدرات به چربی و تأخیر در تجمع لاکتات شده، درنتیجه خستگی را به تعویق می‌اندازد [۶، ۷].

یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی بیوژنز میتوکندری، PGC-1α است. PGC-1α متعلق به یک خانواده نسبتاً بزرگ از گیرنده‌های هسته‌ای است که با طیف وسیعی از فاکتورهای رونویسی که در پاسخ‌های گوناگون بیولوژیکی درگیرند ارتباط دارد. PGC-1α درحقیقت یک کواکتیویتور رونویسی است. کواکتیویتور یک پروتئین یا مجموعه‌ای از پروتئین‌هاست که به وسیله اتصال به یک Activator یا فاکتور رونویسی که دارای ناحیه اتصال به DNA است، میزان بیان ژن را افزایش می‌دهد.

بافت‌هایی که PGC-1α mRNA در آن‌ها بیشتر بیان می‌شود آن‌هایی هستند که برای تولید ATP عمدتاً به متابولیسم اکسایشی متکی هستند. این بافت‌های غنی از میتوکندری شامل عضله اسکلتی، قلب و مغز است. در عضله اسکلتی، تأثیر فعالیت ورزشی بر mRNA و سطوح پروتئین PGC-1α متعاقب یک وهله منفرد یا با فعالیت‌های ورزشی مزمن مورد مشاهده قرار گرفته است [۸]. حداقل در مورد فعالیت ورزشی مزمن، تنظیم افزایشی mRNA و سطوح پروتئین PGC-1α با افزایش بایوژنز میتوکندریایی توأم است. اثرات سودمند افزایش بیان ژن PGC-1α در عضله اسکلتی شامل افزایش تنفس سلولی و تمایل به ایجاد دگرگونی در تارهای عضلانی از نوع تند به کند می‌شود. در غیاب PGC-1α، محتوا و عملکرد تنفسی میتوکندریایی کاهش می‌یابد، عملکرد استقامتی رو به وخامت می‌گراید و میتوکندری‌ها بیشتر مستعد رهایش پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی می‌شوند [۹]. با این حال بایوژنز میتوکندریایی در طول فعالیت ورزشی تا آن حد هم مختل نمی‌شود، زیرا حیواناتی که PGC-1α آن‌ها از بین رفته است هنوز هم می‌توانند با شرکت در تمرینات استقامتی بایوژنز میتوکندریایی را افزایش دهند [۱۰]. این امر پیشنهاد می‌کند پروتئین‌های تنظیمی دیگری وجود دارند که فقدان PGC-1α در مدت محرک فعالیت ورزشی را جبران می‌کنند. با این حال، درک کامل از چگونگی تنظیم بیان PGC-1α و کنترل فعالیت آن به تحقیقات بیشتری نیاز دارد تا درک ما از روند کلی بایوژنز و عملکرد میتوکندریایی در طول سلامت، بیماری و فعالیت ورزشی را جامع‌تر کند [۸، ۱۱]. بنابراین به دلیل نامشخص بودن تأثیر آویشن بر عملکرد ورزشی استقامتی، علی‌رغم بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن، این پژوهش با هدف تهیه یک مکمل نیروبخش از عصاره آویشن و بررسی تأثیر آن بر عملکرد استقامتی با تکیه بر بایوژنز میتوکندریایی موش‌های صحرایی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

برای تهیه عصاره هیدروالکلی از بخش هوایی آویشن آذربایجانی[2]، گیاه تازه از شهرستان اهرخریداری و به شکل سیستماتیک تأیید شد. سپس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در سایه خشک شد. به منظور عصاره‌گیری، ساقه و برگ خشک‌شده توسط دستگاه خردکننده پودر شد و سپس ۱۰۰ گرم از پودر گیاه در ارلن یک‌لیتری ریخته شد و به آن ۴۰۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۹۶ درصد اضافه شد. به گونه‌ای که سطح پودر را بپوشاند. ارلن به مدت ۲۴ ساعت بر روی تکان‌دهنده قرار گرفت و پس از آن محلول به وسیله کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف شد. در مرحله بعد، به تفاله باقی‌مانده، الکل ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت ۱۲ ساعت بر روی تکان‌دهنده قرار گرفت. این محلول نیز صاف شد و سپس دو محلول صاف‌شده در دو مرحله با یکدیگر مخلوط شدند و محلول به‌دست‌آمده توسط دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا یک‌سوم حجم اولیه تغلیظ شد. در مرحله بعد به منظور جداسازی پروتئین‌ها، چربی و کلروفیل، محلول تغلیظ‌شده ۵ بار توسط کلروفرم دکانته شد. در هر مرحله دکانته کردن دو فاز تشکیل می‌شود که فاز کلروفرمی خارج شده و فاز آبکی برای مرحله بعد نگه داشته شد. محلول به‌دست‌آمده از آخرین مرحله در پتری دیش ریخته شد و سپس در اتوکلاو و دمای زیر ۵۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط استریل خشک شد. به این ترتیب بعد از چند روز، پودر خشک عصاره آماده شد. برای تهیه محلول عصاره، مقدار موردنیاز آن (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با توجه به LD۵۰ عصاره در آب آشامیدنی رت‌ها حل شده و در قفس قرار داده شد [۱۲] در آب آشامیدنی رت‌ها حل شد و در قفس قرار داده شد. پس از پایش آب آشامیدنی موش‌های صحرایی، در مرحله آشناسازی مشخص شد که هر رت در هر شبانه روز در حدود ۳۰ میلی‌لیتر آب می‌نوشد.

1. Stimulation Cell

2. Thymus migricus Klokov & Desj.-Shost.

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر سفید نژاد ویستار (n=۴۰) (انستیتو پاستور، تهران) ۸هفته‌ای در محدوده وزنی ۲۴۰-۲۷۵ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم‌پزشکی تهران در یک محیط کم‌استرس (دمای ۲۰-۲۲ سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ درصد و کم‌سروصدا) و سیکل روشنایی‌تاریکی ۱۲ساعته به صورت انفرادی در هر قفس قرار داده شدند. ضمناً حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای فشرده مخصوص موش به مدت دو ماه دسترسی داشتند. به منظور ایجاد حالت سازش با محیط، تمامی مداخلات پس از گذشت حداقل دو هفته استقرار حیوانات و در آغاز سیکل شبانه در آزمایشگاه حیوانات به انجام رسید. ابتدا موش‌های صحرایی به روش تصادفی ساده (به هریک از موش‌ها عددی اختصاص داده می‌شود و بعد به صورت قرعه‌کشی هر گروه انتخاب می‌شود) به ۵ گروه کنترل، شم، تمرین هوازی، عصاره آویشن، تمرین هوازی + عصاره آویشن تقسیم‌بندی شدند که در هر گروه ۸ موش صحرایی قرار داشتند.

سپس تمامی موش‌های صحرایی در همه گروه‌ها با سرعت ۵ متر در دقیقه و شیب صفر درجه با نحوه دویدن روی نوارگردان آشنا شدند و بدین طریق مشخص شد که عملکرد استقامتی موش‌های صحرایی در ابتدای مطالعه تا حد زیادی همگن بود. مکمل‌دهی با آویشن و تمرینات هوازی به مدت ۸ هفته ادامه یافت. گروه‌های تمرین هوازی ۵ جلسه در هفته بر روی نوار گردان موتوردار تمرین کردند. در ابتدا موش‌های صحرایی به مدت ۱۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب ۱۰ درصد تمرین خود را آغاز کردند. سرعت و مدت تمرین به‌تدریج در طول ۲ هفته بعد افزایش یافت تا اینکه مدت و شدت تمرین به ترتیب به یک ساعت در روز و ۲۷ متر در دقیقه رسید [۱۳]. مطابق تحقیقات گذشته، بایوژنز میتوکندریایی با شدت‌های تمرینی در حد ۱۳ متر در دقیقه به مدت ۶ هفته نیز گزارش شده است [۱۴]. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی به‌وسیله تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. با استفاده از دستگاه گیوتن، گردن آن‌ها جدا شد و خون موش‌ها از همان نقطه جمع‌آوری و برای آزمایشات بعدی در لوله‌های آزمایش نگهداری شد. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموژن عضله نعلی، همه آن‌ها در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع بافت‌ها هموژن و در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شد [۱۵].

استخراج RNA با استفاده از ۵۰ میلی‌گرم از SOL (عضلات نعلی) به طور جداگانه انجام گرفت. بافت‌ها با استفاده از یک میلی‌لیتر محلول تریزول لیز شدند و با همگن‌کننده بافت کمپانی دامل اروپا (دستگاه Bead Mill) کاملاً هموژن شدند. در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم انجام پذیرفت RNA استخراج‌شده با ۱ میلی‌مول اتانول سرد ۷۰ درصد شست‌وشو داده و خشک شد. سپس به آن آب استریل (۱/۵ میکرولیتر برای هر گرم از بافت عضلانی) اضافه شد. برای سنجش کیفیت RNA استخراج‌شده از دستگاه بایوفتومتر از برند ep-pendorf آلمان با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین ODهای خوانده‌شده ۱/۷۷ بود که بیانگر کارایی مناسب RNA استخراج‌شده بود [۱۶].

ارزیابی بیان ژن

رونویسی به cDNA با استفاده از کیت thermo و بر اساس دستور شرکت سازنده انجام شد. قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن، طبق دستورالعمل، تکنیک PCR Real Time نیاز بود که میزان کارآیی ژن رفرنس (gapdh) و ژن هدف (Med) بررسی شود. میزان کارایی برای این دو ژن در بالاترین میزان خود یعنی ۱ بود. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک (PCR Real Time one step)، و دستگاه شرکت آپلاید بایوسیستم و سایبرگرین مسترمیکس استفاده شد که در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا با Cat # RR820L بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه ۱۰ لاندایی ترکیبی از مسترم یکس (۵ لاندا) پرایمر (۱ لاندا)، cDNA (۱ لاندا) و آب‌مقطر (۳ لاندا) در نظر گرفته شد و درنهایت میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد [۱۷، ۱۸].

روش تجزیه‌وتحلیل آماری

از آمار توصیفی برای محاسبه شاخص‌های مرکزی و پراکندگی و برای تشخیص طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. همچنین آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه تغییرات معناداری بین گروه‌های مختلف در نظر گرفته شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از آزمون تعقیبی بنفرونی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSSویرایش ۲۲ انجام گرفت.

یافته‌ها

طبق جدول شماره ۱ در ابتدا شاخص‌های گرایش به مرکز و پراکندگی PGC-1α در گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه فرضیه‌های تحقیق با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در سطح معنی‌داری P=۰/۰۵ بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین متغیر بیان ژن PGC-1α در گروه‌های تحقیق پیش از مرحله تمرین وجود ندارد، ولی تفاوت معنی‌داری بین متغیر بیان ژن PGC-1α در گروه‌های تحقیق پس از مرحله تمرین وجود دارد.

نتایج جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین متغیر بیان ژن PGC-1α در گروه‌های تحقیق پیش از مرحله تمرین وجود ندارد، ولی تفاوت معنی‌داری بین متغیر بیان ژن

جدول ۱. توصیف میانگین و انحراف استاندارد PGC-1α (واحد نسبی)

	گروه‌های تحقیق	میانگین±انحراف معیار	
		پیش آزمون	پس آزمون
A	کنترل	۱/۰۲۱±۰/۰۴۰۸	۱/۰۲۱±۰/۰۳۰۶
B	شم تمرین	۱/۰۲۱±۰/۰۴۰۸	۱/۰۱±۰/۰۳۰۶
C	مکمل گیری آویشن	۱/۰۲۱±۰/۰۴۰۸	۱/۰۷±۰/۱۰۵
D	تمرین هوازی	۱/۰۲۱±۰/۰۴۰۸	۱/۰۱۰±۰/۰۷۴۲
E	تمرین هوازی- مکمل آویشن	۱/۰۲۱±۰/۰۴۰۸	۱/۲۸±۰/۳۴۶

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

PGC-1α در گروه‌های تحقیق پس از مرحله تمرین وجود دارد.

در مرحله بعد در تصویر شماره ۲ نتایج آزمون بنفرونی در سطح معنی‌داری P=۰/۰۵ در بررسی معنی‌داری اختلاف بین گروه‌ها نشان داده شده است.

بیان ژن PGC-1α در عضله نعلی رت‌های بالغ در مرحله پس‌آزمون در گروهی که هم‌زمان، هم مکمل‌گیری آویشن داشتند و هم تمرین هوازی، با گروه کنترل و شم تفاوت معنی‌داری دارد. با این حال هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری مابین مقادیر بیان ژن PGC-1α در گروهی که فقط تمرین هوازی داشتند و گروهی که فقط مکمل‌گیری با عصاره آویشن داشتند، با گروه کنترل و شم مشاهده نشد.

بحث

نتایج نشان داد که ترکیب مکمل‌گیری آویشن و تمرینات هوازی بر بیان ژن PGC-1α در عضله نعلی رت‌های نر بالغ تأثیر مثبت و معنی‌داری دارد. PGC-1α به عنوان تنظیم‌کننده اصلی بایوژنز میتوکندری و همچنین عامل مهم در کنترل رونویسی سلولی برای تنظیم عملکرد میتوکندریایی در پاسخ به محرک‌های متابولیکی مختلف شناخته شده است.

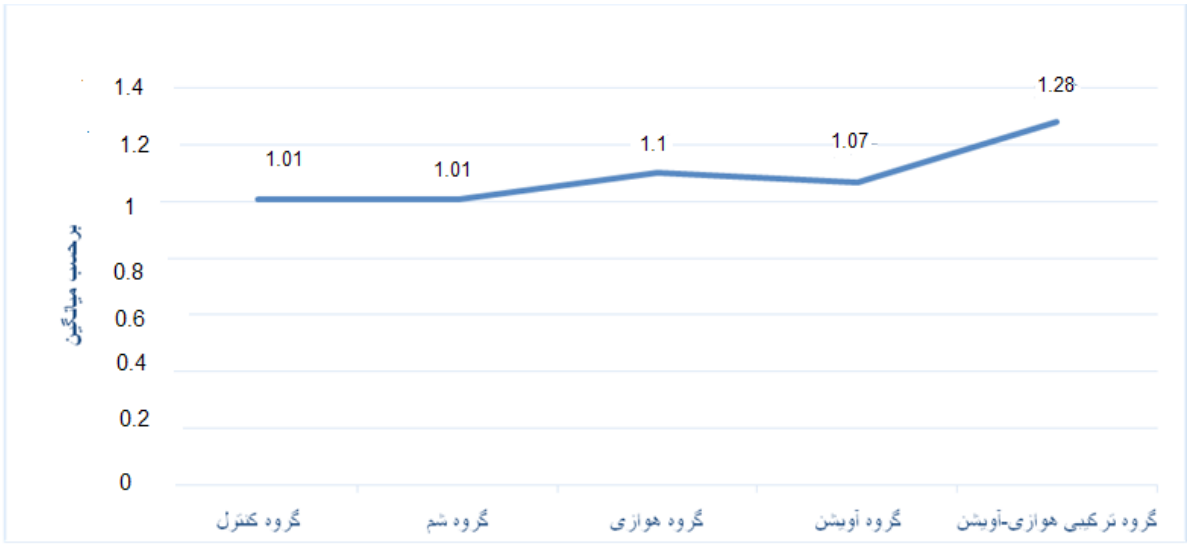
با توجه به یافته‌های تحقیق و بررسی ادبیات تحقیق، به نظر می‌رسد مکمل‌گیری با عصاره آویشن در کنار تمرینات هوازی موجب افزایش بیان ژن PGC-1α در موش‌های صحرایی می‌شود. ارحامی و همکاران تأثیر ۱ هفته تمرین تناوبی سرعتی همراه با مصرف عصاره زعفران بر میزان بیان ژن PGC-1α را بررسی کردند. نتایج حاکی از آن بود که بین ۸ هفته تمرین تناوبی سرعتی و مصرف عصاره زعفران در مقادیر PGC-1α بافت عضله دوقلو تفاوت معنی‌داری وجو دارد و مقادیر PGC-1α گروه تمرین، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. همچنین بین گروه تمرین به همراه مصرف مکمل زعفران و گروه مکمل زعفران تفاوت معنی داری وجود داشت. این نتایج نشان می‌دهد که علاوه بر تمرینات استقامتی و مصرف مکمل آویشن، تمرینات تناوبی سرعتی و مصرف مکمل زعفران که هر دو آنتی‌اکسیدان هستند، بر بایوژنز میتوکندی تأثیر می‌گذارد [۱۸]. در راستای پژوهش حاضر گراناتا[3] و همکاران در بررسی تأثیر شدت تمرین به عنوان تنظیم‌کننده تغییرات در محتوای PGC-1α در عضله اسکلتی نشان دادند که از میان ۳ تمرین تناوبی با شدت بالا، تناوبی سرعتی و تمرین استقامتی با شدت کمتر از آستانه لاکتات، تنها تمرین تناوبی سرعتی قادر به افزایش ۶۰ تا ۹۰درصدی در مقادیر PGC-1α است. در حالی که این اتفاق در مورد دو تمرین دیگر نیفتاده است که نشان از اهمیت شدت تمرین در تغییر فعالیت میتوکندریایی ناشی از تمرین دارد [۱۹].

3. Granta

جدول ۲. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه بیان ژن PGC-1α در ۴ گروه تحقیق (قبل و بعد از مرحله تمرین)

آزمون	منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	میانگین±انحراف استاندارد	F	P
بیان ژن PGC-1α در ۴ گروه تحقیق (قبل از مرحله تمرین)	واریانس عوامل	۰/۰۰۰۰۱	۴	۰/۰۰۰۰۱	۱/۰۲۱±۰/۰۴۰۸	۰/۰۰۰۰۱	۰/۹۹
	واریانس خطا	۰/۰۴۲	۴۵	۰/۰۰۱			
بیان ژنPGC-1α در ۴ گروه تحقیق (پس از مرحله تمرین)	واریانس عوامل	۰/۴۷۰	۴	۰/۱۱۸	۱/۰۱±۰/۰۳۰۶	۴/۲۳۸	۰/۰۰۵
	واریانس خطا	۱/۲۴۹	۴۵	۰/۰۲۸			

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

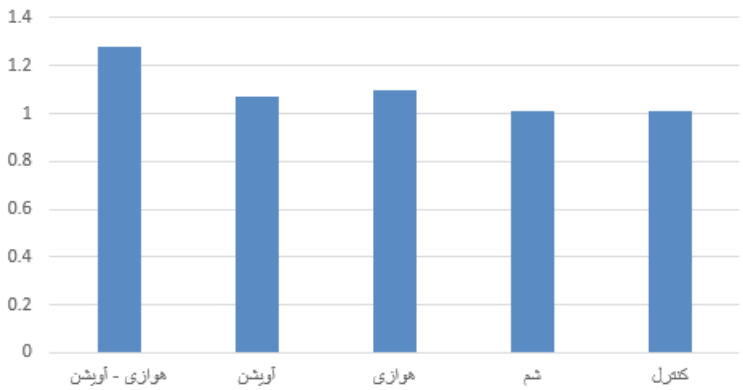


تصویر ۱. توصیف میانگین PGC-1α در گروه‌ها

خانی و همکاران تأثیر مصرف مکمل آویشن همراه با تمرینات استقامتی را بر محتوای PGC-1α و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌ها را بررسی کردند و یافته‌های این مطالعه نشان داد محتوای PGC-1α در گروه مکمل‌گیری آویشن همراه با فعالیت بدنی کاهش پیدا کرده است که با نتیجه تحقیق ما غیرهمسوست. توجه به اینکه یکی از مسیرهای اصلی در تحریک سنتز این پروتئین‌ها افزایش مقادیر ROS است، مصرف آویشن منجر به مهار این مسیر شده است و سازگاری ناشی از تمرین، به دلیل مهار ROS در بیان این پروتئین‌ها مؤثر نبوده است. از طرفی ممکن است دُز و مدت‌زمان مصرف آویشن با الگوی متفاوت نتایج دیگری را حاصل کند. وون و همکاران [۱۶] نشان دادند تمرین یا فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان ژن یا پروتئین یا دیگر ژن‌های دخیل در بایوژنز میتوکندریایی می‌شود که با نتایج مطالعه ما همسوست. دیویس و همکاران [۲۰] نیز گزارش کرده بودند که مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدها، مانند کوئرستین موجب افزایش بیان ژن PGC-1α می‌شود که با یافته تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین این یافته به گونه‌ای با نتایج ریستو و همکاران که نشان داده اند این ماده با داشتن مواد مؤثر کروسین، کروستین و سافرنال موجب تقویت دفاع آنتی اکسیدانی بدن شده که میتواند از ROS ناشی از فعالیت جلوگیری کند غیر همسو با نتایج ما می باشد [۲۱]. این دلیل ناهم‌خوانی را می‌توان ناشی از یکسان نبودن پروتکل‌های تمرینی دانست که با شدت و مدت متفاوتی با مطالعه حاضر انجام یافته‌اند. علاوه بر این اکثر مطالعات فقط به گزارش افزایش بیان ژن PGC-1α اکتفا کرده‌اند و آن را نشانه‌ای از افزایش بایوژنز میتوکندریایی دانسته‌اند. این در حالی است که بعد از بیان ژن، تغییرات پس‌ترجمه‌ای زیادی صورت می‌گیرد که بر محتوای نهایی یک پروتئین تأثیر می‌گذارد [۲۲].

نتیجه‌گیری

اگر چه نمی‌توان به صورت قطعی در مورد مصرف



تصویر ۲. نتایج آزمون بنفرونی در بررسی معنی‌داری اختلاف میانگین گروه‌ها

آنتی‌اکسیدان آویشن در ارتباط با بایوژنز میتوکندری اظهار نظر کرد، ولی با توجه به نتایج تحقیق به نظر می‌رسد مکمل‌گیری آویشن همراه با تمرین هوازی در بیان ژن PGC-1α مؤثر است و بایوژنز میتوکندری را افزایش می‌دهد که این افزایش می‌تواند در بهبود عملکرد ورزشکار استقامتی مؤثر باشد. این تحقیق محدودیت‌هایی داشت که عبارت بودند از: محدودیت در تعداد بیوپسی‌های ممکن از هر آزمودنی و توزیع نوع تارهای عضلانی بین گروه‌ها علی‌رغم گروه‌بندی تصادفی آزمودنی‌ها که شاید بر نتایج تحقیق تأثیر گذاشته باشند.

توصیه می‌شود دُزهای دیگری از آویشن یا آنتی‌اکسیدان‌های دیگر با شدت‌های مختلف تمرینی مطالعه شود. همچنین می‌توان علاوه بر میزان بیان ژن‌های PGC-1α به بیان محتوای پروتینی PGC-1α پرداخت و علاوه بر بیان ژن و محتوای پروتیینی PGC-1α می‌توان سایر عوامل درگیر همچون NRF-1و NRF-2 را مورد مطالعه قرار داد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله با تأیید کمیته اخلاق با شماره IR.UT.SPORT.REC.1397.015 در دانشگاه تهران اجرا شد.

حامی مالی

این تحقیق هیچ گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی ، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت‌نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد..

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه تهران و مؤسسه پاستور به دلیل همکاری با این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

[1] Kelkar G, Subhadra K, Chengappa RK. Effect of antioxidant supplementation on hematological parameters, oxidative stress and performance of Indian athletes. Journal of Human Ecology. 2008; 24(3):209-13. [DOI:10.1080/09709274.2008.11906116]

[2] Ince DI, SÖNMEZ GT, İNCE ML. Effects of garlic on aerobic performance. Turkish Journal of Medical Sciences. 2000; 30(6):557-61. https://journals.tubitak.gov.tr/medical/issues/sag-00-30-6/sag-30-6-8-9909-19.pdf

[3] Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD, Davis B. Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2009; 296(4):R1071-7. [DOI:10.1152/ajpregu.90925.2008] [PMID]

[4] Kazeminasab F, Marandi SM, Ghaedi K, Safaeinejad Z, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. A comparative study on the effects of high-fat diet and endurance training on the PGC-1α-FNDC5/irisin pathway in obese and nonobese male C57BL/6 mice. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2018; 43(7):651-62. https://cdnsciencepub.com/doi/abs/10.1139/apnm-2017-0614

[5] Li L, Pan R, Li R, Niemann B, Aurich AC, Chen Y, et al. Mitochondrial biogenesis and peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α (PGC-1α) deacetylation by physical activity: Intact adipocytokine signaling is required. Diabetes. 2011; 60(1):157-67. [DOI:10.2337/db10-0331] [PMID] [PMCID]

[6] Ljubicic V, Joseph AM, Saleem A, Uguccioni G, Collu-Marchese M, Lai RY, et al. Transcriptional and post-transcriptional regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle: Effects of exercise and aging. Biochimica et Biophysica Acta. 2010; 1800(3):223-34. [DOI:10.1016/j.bbagen.2009.07.031] [PMID]

[7] Arany Z. PGC-1 coactivators and skeletal muscle adaptations in health and disease. Current Opinion in Genetics & Development. 2008; 18(5):426-34. [DOI:10.1016/j.gde.2008.07.018] [PMID] [PMCID]

[8] Adhihetty PJ, Uguccioni G, Leick L, Hidalgo J, Pilegaard H, Hood DA. The role of PGC-1alpha on mitochondrial function and apoptotic susceptibility in muscle. American Journal of Physiology. Cell Physiology. 2009; 297(1):C217-25. [DOI:10.1152/ajpcell.00070.2009] [PMID].

[9] Etebari M, Sajjadi SE, Jafarian-Dehkordi A, Panahi M. Antigenotoxic Effects of Methanolic and Aqueous Extracts of Kelussia Odoratissima Mozaffarian against Damage Induced by Methyl Methanesulfonate. Journal of Isfahan Medical School. 2013; 30(215):2062-71. https://web.p.ebscohost.com/abstract?

[10] Leick L, Wojtaszewski JF, Johansen ST, Kiilerich K, Comes G, Hellsten Y, et al. PGC-1α is not mandatory for exercise-and training-induced adaptive gene responses in mouse skeletal muscle. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2008; 294(2):E463-74. [DOI:10.1152/ajpendo.00666.2007]

[11] Farrell PA, Joyner MJ, Caiozzo V. ACSM's advanced exercise physiology. King's College, London: Wolters Kluwer Health Adis (ESP); 2011. https://mayoclinic.pure.elsevier.com/en/publications/acsm

[12] Ramazani M, Hoseinzadeh H, Sami Zadeh S. [Antinociceptive effect of zataria multiflora leavesfractions in mice (Persian)]. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2002; 4(4):232-3. https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=32168

[13] Osborn BA, Daar JT, Laddaga RA, Romano FD, Paulson DJ. Exercise training increases sarcolemmal GLUT-4 protein and mRNA content in diabetic heart. Journal of Applied Physiology. 1997; 82(3):828-34. [DOI:10.1152/jappl.1997.82.3.828]

[14] Terada S, Tabata I. Effects of acute bouts of running and swimming exercise on PGC-1α protein expression in rat epitrochlearis and soleus muscle. American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism. 2004; 286(2):E208-16. [DOI:10.1152/ajpendo.00051.2003] [PMID]

[15] Nikookheslat SD, Khani M, Sadri K, Azadi B. The effect of exercise inducedhemorheological adaptation on respiratory function and sport performance. Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Researches. 2013; 3(4):161-75. https://ajmpr.science-line.com/attachments/article/22/AJMPR,C35,2013,161-175.pdf

[16] Sun Y, Qi Z, He Q, Cui D, Qian S, Ji L, et al. The effect of treadmill training and N-acetyl-l-cysteine intervention on biogenesis of cytochrome c oxidase (COX). Free Radical Biology & Medicine. 2015; 87:326-35. [DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.035] [PMID]

[17] Kwon SM, Park HG, Jun JK, Lee WL. Exercise, but not quercetin, ameliorates inflammation, mitochondrial biogenesis, and lipid metabolism in skeletal muscle after strenuous exercise by high-fat diet mice. Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry. 2014; 18(1):51-60. [DOI:10.5717/jenb.2014.18.1.51] [PMID] [PMCID]

[18] Nourshahi M, Ebrahim K, Mousavi Mozafar M, Hedayati M. [The effect of 8-week sprint interval training with consuming saffron extract on the factors affecting longevity in male rats (Persian)]. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 2019; 14(1):19-26. http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-2681-en.html

[19] Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Training intensity modulates changes in PGC-1α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. FASEB Journal. 2016; 30(2):959-70. [DOI:10.1096/fj.15-276907] [PMID]

[20] Rousseau AS, Hininger I, Palazzetti S, Faure H, Roussel AM, Margaritis I. Antioxidant vitamin status in high exposure to oxidative stress in ompetitive athlete. The British Journal of Nutrition. 2004; 92(3):461-8. [DOI:10.1079/BJN20041222] [PMID]

[21] Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. Asian Journal of Sports Medicine. 2015; 6(1):e24898. [DOI:10.5812/asjsm.24898] [PMID] [PMCID]

[22] Yaghoobpour Yekani O, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. [Effect of type of training on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet (Persian)]. Yafte. 2018; 19(5):106-16. https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=578019