

تأثیر تمرین مقاومتی همراه با دریافت عصاره آبی سیر بر بیان Nrf2 و PPAR γ کبدی موش‌های صحرایی دیابتی

سیما نوری^۱، سقا فرج تبار بهرستاق^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تربیت بدنی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران پست الکترونیکی: farajtabar@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۷

چکیده

سابقه و هدف: فاکتور رونویسی Nrf2 تنظیم کننده اصلی پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی است و همراه با PPAR γ در همه بافت‌های بدن بیان می‌شود. همچنین سیر با جلوگیری از غیرفعال شدن انسولین اثرات هیپوگلیسمی دارد. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین مقاومتی همراه با مکمل سیر بر بیان ژن Nrf2 و PPAR γ کبدی موش‌های صحرایی دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر روش تحقیق از نوع تجربی بود. برای انجام تحقیق آزمایشگاهی حاضر ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار پنج هفته‌ای با وزن $15/24 \pm 162/12$ گرم انتخاب و به طور تصادفی به پنج گروه کنترل-سالم (CN)، دیابت (DM)، دیابت-تمرین (DMT)، دیابت-سیر (DMG) و دیابت-تمرین-سیر (DMTG) تقسیم شدند. موش‌ها با تزریق نیکوتین آمید و بعد از ۱۵ دقیقه تزریق STZ به صورت درون صفاقی دیابتی شدند. موش‌ها در گروه‌های مکمل ۵۰۰ میلی گرم عصاره سیر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن با گاوژ دهانی به صورت روزانه دریافت کردند. تمرین مقاومتی روی نردبانی با شیب ۸۰ درجه و با وزنه‌ای برابر ۱۰۰-۳۰ درصد وزن بدن انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: بیان Nrf2 افزایش معنی‌داری در گروه‌های دیابت-تمرین ($p=0/022$)، دیابت-سیر ($p=0/029$) و دیابت-تمرین-سیر ($p=0/001$) نسبت به دیابت؛ و دیابت-تمرین-سیر نسبت به گروه دیابت-تمرین ($p=0/048$) و دیابت-سیر ($p=0/038$) داشت. همچنین بیان PPAR γ افزایش معنی‌داری در گروه‌های دیابت-تمرین ($p=0/021$)، دیابت-سیر ($p=0/046$) و دیابت-تمرین-سیر ($p=0/006$) نسبت به دیابت داشت.

نتیجه‌گیری: احتمالاً مصرف عصاره سیر، تمرین مقاومتی و ترکیب تمرین مقاومتی با مکمل عصاره سیر از طریق تنظیم افزایشی Nrf2 و PPAR γ موجب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش فشار اکسایشی کبد می‌شود.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، سیر، دیابت، Nrf2 و PPAR γ

• مقدمه

اکسایشی در انواع مختلف اندام‌ها و بافت‌ها می‌شود (۲). فشار اکسایشی در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود که نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی مقاومت انسولین و ایجاد آپوپتوز در شرایط هیپرگلیسمی دارد. در صورت ادامه یافتن استرس اکسیداتیو، آسیب‌های اکسیداتیو به بیومولکول‌های حیاتی (مانند ژنوم) وارد می‌آید و تجمع این آسیب‌ها منجر به برخی اثرات بیولوژیکی مانند تغییر در انتقال پیام، بیان ژن، میتوز، تبدیل، جهش و مرگ سلولی می‌شود

دیابت، اختلالی متابولیک است که منجر به نقص در ترشح انسولین، عملکرد آن یا هر دو می‌شود و با افزایش سطوح پلاسمایی گلوکز (هیپرگلیسمیا) و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است (۱). سطوح بالای گلوکز خون می‌تواند مانع از فعالیت آنزیمی، افزایش سطوح واسطه‌های التهابی و همچنین تغییر در وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی شود. این مسیرها در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) در وضعیت دیابتی دخیل هستند که به طور مستقیم منجر به افزایش فشار

هفته تمرین مقاومتی و استقامتی (همزمان) بر سطوح پلاسمایی NRF2 در مردان جوان پرداختند. نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین همزمان منجر به افزایش سطوح پلاسمایی NRF2 گردید. اما تفاوت معنی داری بعد از هشت هفته در گروه کنترل مشاهده نشد. با توجه به نتایج احتمال می رود که افزایش سطوح NRF2 در اثر تمرین همزمان، منجر به سرکوب کردن رادیکال های آزاد و افزایش ظرفیت ضد اکسایشی بدن خواهد شد (۹).

تنظیم بیان فاکتور رونویسی Nrf2 تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله فعالیت بدنی است (۴). از این رو فعالیت بدنی به عنوان یک راهکار غیر دارویی مفید برای تعدیل بیان ژن این مسیر آنتی اکسیدانی به ویژه در بافت کبدی مطرح است. در شرایط طبیعی، مقادیر ROS و آنتی اکسیدان ها در وضعیتی متعادل قرار دارند؛ بنابراین Nrf2 نقش حادقلی در تنظیم سیستم آنتی اکسیدانی دارد (۱۰). تمرینات ورزشی می تواند فشار اکسایشی کبد را کاهش دهد و باعث بهبود نشانگرهای عملکردی کبد شود (۱۱).

از طرف دیگر، برخی گیاهان مانند سیر نیز از طریق تعدیل در فشار اکسایشی در کنترل دیابت نوع ۲ (Type 2 Diabetes Mellitus) نقش دارند. سیر دارای خواص مختلفی از جمله کاهش دهنده کلسترول و تری گلیسرید و فشار خون، جلوگیری از تشکیل توده پلاکتی خون، اثرات ضد میکروبی، ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی است. سیر دارای مواد مؤثری مانند آلفین، آلیسین، آنزیم آلیناز، اینولین، ویتامین های C، گروه B و A است (۱۲). خواص دارویی سیر عمدتاً به دلیل حضور ترکیب سولفور آن به نام آلیسین می باشد. تحقیقات انجام شده نشان داده اند که آلیسین رادیکال های آزاد را به خنثی و پراکسیداسیون لیپیدی و تجمع پلاکتی را مهار کرده و میزان چربی های خون را کاهش می دهد (۱۰).

شیوع بالای دیابت نوع ۲ و عوارض متعدد آن از یک طرف، اهمیت نقش ژن های Nrf2 و PPAR γ از طرف دیگر و همچنین نقش فعالیت بدنی و مکمل های گیاهی در درمان و پیشگیری دیابت، نیاز به پژوهش های بیشتر با هدف بهبود رژیم های درمانی ضد دیابت موجود یا توسعه یک راهبرد درمانی جدید بر اساس درک فعلی از پاتوفیزیولوژی و مسیرهای بیوشیمیایی مؤثر بر این بیماری را طلب می کند. افزون بر این، اثر همزمان فعالیت ورزشی به عنوان یک روش غیر دارویی و سیر به عنوان یک مکمل طبیعی می تواند به بهبود وضعیت فشار اکسایشی در دیابت نوع ۲ کمک کند. بنابراین محققین درصدد پاسخگویی به این سوال هستند که آیا تمرین مقاومتی همراه با مصرف عصاره

(۳). هنگامی که فشار اکسایشی روی می دهد، سلول ها برای مقابله با اثرات اکسیدکنندگی ناشی از ROS تلاش می کنند که از طریق فعال کردن یا خاموش کردن ژن های رمزگذاری فاکتورهای رونویسی، آنزیم های آنتی اکسیدانی و پروتئین های ساختاری، تعادل را بازیابی کنند. یکی از مهمترین فاکتورهای رونویسی کنترل کننده اکسیداسیون/احیای سلول ها، فاکتور شبه هسته ای ۲ مشتق از اریترئوئید ۲ (Nrf2) است که از طریق تولید بیش از حد ROS فعال می شود و سبب تولید آنزیم ها و پروتئین های آنتی اکسیدانی و سایتوکین های پیش التهابی می شود (۴). فاکتور رونویسی Nrf2 در همه بافت های بدن بیان می شود، اما بیشترین بیان آن در قلب، مغز، کلیه، عضله، شش و کبد است (۵).

از طرف دیگر گیرنده های فعال کننده تکثیر پراکسیزوم (PPARs) گروهی از گیرنده های هورمونی درون هسته ای هستند که حاوی سه نوع ایزوتیپ مختلف α ، β و γ بوده که عملکردشان در سطح رونویسی است. PPAR γ ، در عضلات اسکلتی و کبد، جایی که در بدن، اسیدهای چرب تجزیه و انتقال پیدا می کنند، تولید می شود. PPAR γ نقش حیاتی در کاهش التهاب هم در دیواره عروق و هم در کبد بازی می کند. PPAR γ به طور عمده در بافت چربی بیان شده است، اما در بافت های دیگر نیز وجود دارد. آگونیست های مصنوعی PPAR γ ، تیازولیدین ها، برای بهبود تحمل گلوکز از طریق افزایش حساسیت به انسولین و بازگرداندن عملکرد سلول های بتا در افراد دیابتی توسعه یافته اند. شواهدی وجود دارد که نشان می دهد آگونیست های PPAR γ به طور مستقیم ژن های سنجش گلوکز را در کبد و سلول های β پانکراس را فعال می کنند. این اطلاعات دخالت مستقیم کبد و سلول های بتای پانکراس در بهبود هموستاز گلوکز در افراد مبتلا به دیابت نوع دو با استفاده از آگونیست های PPAR γ را نشان می دهد (۶).

شناسایی محرک های مؤثر بر فشار اکسایشی از یک طرف و یافتن راهی جهت کاهش یا به حداقل رساندن آثار منفی دیابت از طرف دیگر موضوعی است که محققین بطور پیوسته در پی کشف آنها می باشند. در همین رابطه یکی از محرک های مؤثر بر فشار اکسایشی در دیابت، فعالیت ورزشی است (۷). رستمی و همکاران (۱۳۹۷) در پژوهشی نشان دادند که تمرین استقامتی و مقاومتی همراه و بدون مصرف عصاره سیر سبب کاهش معنی دار بیان ژن پروتئین Bax و مقاومت به انسولین در رت ها شد. به علاوه، دامنه افزایش نیتریک اکساید در گروه عصاره سیر نسبت به گروه های تمرین مقاومتی + عصاره سیر، تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی؛ به طور معنی دار بیشتر بود (۸). آوندی و همکاران (۱۳۹۷) در پژوهشی به بررسی تأثیر هشت

نهایت عصاره‌آبی سیر در لوله‌های آزمایش ریخته شده و تا زمان مصرف در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شد (۱۴). برای انجام تمرین مقاومتی نیز پس از آشناسازی با شیوه تمرین، تمرین با شدت ۳۰ درصد وزن بدن موش‌ها در هفته اول شروع شد و به شدت ۱۰۰ درصد وزن بدن در هفته هشتم رسید. دوره تمرین ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته، هر جلسه ۴ دوره، ۵ ست و ۵ تکرار با وزنه آویزان شده به دم موش و روی نردبان مخصوص موش (نردبان ۱ متری با ۸۰ درجه شیب و ۲۶ پله، فاصله پله‌ها ۲ سانتی‌متر) اجرا شد. فاصله‌های استراحتی بین دوره‌ها، ست‌ها و تکرارها به ترتیب ۳ دقیقه، ۴۵ ثانیه و ۸ ثانیه بود. برای گرم کردن ۲ ست ۵ تکراری بدون وزن و برای سرد کردن ۱ ست ۵ تکراری بدون وزن انجام شد (جدول ۱) (۱۵). جهت تحریک موش‌ها برای بالا رفتن از پله، از شوک الکتریکی استفاده شد، در طول پروتکل، موش‌های گروه کنترل نیز برای آشنایی با نردبان، یک جلسه در هفته، با شدت ۳۰ درصد وزن بدن تمرین کردند. در پایان مداخله‌ها همه حیوانات با شرایط کاملاً مشابه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. بافت کبدی حیوان بلافاصله پس از جداسازی، به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. روش انجام Real Time PCR برای اندازه‌گیری تغییرات بیان ژن Nrf2 و PPAR γ بدین صورت بود که بافت کبدی با استفاده از بافر RLT (Rneasy Mini kit; Qiagen, Inc., Valencia, CA, USA) به‌دنبال حذف کلروفرم همگن شد. RNA کل با استفاده از روش مبتنی بر ستون چرخشی سیلیکون استخراج شد. cDNA با استفاده از ۱ میکروگرم RNA کل طبق قرارداد شرکت سازنده (Invitrogen; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) سنتز شد و سپس cDNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس (SuperScript III) به کار رفت. الگوی پرایمر Nrf2 و PPAR γ مورد استفاده (Shanghai Saibaisheng Gene Technology Co. Ltd., Shanghai, China) در پژوهش حاضر در جدول ۲ آورده شده است. از β -actin mRNA به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. تجزیه و تحلیل با استفاده از روش $\Delta(\Delta Ct)$ انجام گرفت. قرارداد چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل ۵۰ درجه به مدت ۲ دقیقه و به‌دنبال آن ۴۰ چرخه ۱۵ ثانیه‌ای در حرارت ۹۵ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۴ ثانیه بود.

آبی سیر بر بیان ژن‌های Nrf2 و PPAR γ در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی تأثیر دارند؟

• مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر ۴۰ سر موش صحرایی نر پنج‌هفته‌ای با وزن $15/24 \pm 162/12$ گرم از نژاد ویستار از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور تهیه و به مرکز تحقیقات منتقل شدند (نمونه‌گیری بر اساس نرم افزار جی پاور انجام شد). حیوانات پس از ورود به محیط پژوهش و آشنایی یک هفته‌ای با محیط جدید به صورت تصادفی به پنج گروه کنترل-سالم (CN)، دیابت (DM)، دیابت-تمرین (DMT)، دیابت-سیر (DMG) و دیابت-تمرین-سیر (DMTG) تقسیم شدند.

در طول دوره پژوهش، حیوانات در قفس‌های پلی کربنات شفاف با ابعاد $15 \times 15 \times 30$ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد در دمای محیطی با ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵ تا ۶۵ درصد نگهداری شده و با غذاهای تولید مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت تغذیه شدند. ۳۲ سر از موش‌ها با تزریق نیکوتین آمید و استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) دیابتی شدند. ابتدا نیکوتین آمید (۹۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش محلول در سالین) و پس از ۱۵ دقیقه STZ به مقدار ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تهیه شده در بافر سیترات سدیم با $PH=4/7$) به صورت زیر صفاقی تزریق شدند (۱۳). موش‌های صحرایی گروه‌های کنترل به همان میزان بافر دریافت کردند. ۵ روز بعد از تزریق با استفاده از جراحی کوچک توسط لنست در دم حیوان با استفاده از نوار گلوکومتری (نوع mini-01 ساخت ژاپن)، موش‌هایی که گلوکز سرم آن‌ها از ۳۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر بالاتر بود دیابتی در نظر گرفته شدند.

به گروه‌های دیابت-سیر و دیابت-تمرین-سیر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن موش‌های صحرایی، یک میلی‌لیتر (حدود ۰/۴ گرم در هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) عصاره سیر روزانه گاوآژ شد (۱۴). شایان ذکر است که وزن موش‌ها در آخر هفته ارزیابی شد و میزان مصرف عصاره سیر نیز با تغییرات وزن متناسب بود. به گروه‌های دیگر همان میزان سالیین گاوآژ شد. همچنین جهت تهیه عصاره سیر، سیر همدان با هماهنگی کارشناسان گروه گیاه‌شناسی دانشگاه، خریداری شد. سیر پوست گرفته شده و پس از شست‌وشو با آب مقطر به قطعات کوچک‌تر برش داده شد. برای آماده‌سازی عصاره آبی سیر، ۱۰۰ گرم سیر با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در مخلوط‌کن ریخته شد و پس از ۱۰ دقیقه مخلوط شدن، از کاغذ صافی (بافت متوسط) عبور داده شد و در

جدول ۱. برنامه تمرین مقاومتی

هفته‌های تمرین	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
متغیرهای تمرین	۳۰٪	۴۰٪	۵۰٪	۶۰٪	۷۰٪	۸۰٪	۹۰٪	۱۰۰٪
شدت (درصد وزن بدن)								
مدت تمرین	۸ هفته (هر هفته ۳ جلسه)							
برنامه در هر جلسه	گرم کردن: ۲ ست ۵ تکراری بدون وزنه-کار با وزنه: (۵×۵ تکرار) ۴ با وزنه آویزان شده به دم رت- استراحت: بین هر تکرار ۸ ثانیه، بین هر ست ۴۵ ثانیه، بین هر دوره ۳ دقیقه-سرد کردن: یک ست ۵ تکرار بدون وزنه							

جدول ۲. توالی آغازگرهای (پرایمرهای) Nrf2 و PPAR γ به همراه ژن کنترل

Genes	Primer Sequences	GenBank Accession number
β -Actin	Forward: 5'-ACACCCGCCACCAGTTCGC-3' Reverse: 5'-TCTCCCCCTCATCACCCACAT-3'	NM_031144
Nrf2	Forward: 5'-TGGACTCTGAGCCGCAATGA-3' Reverse: 5'-CTCCACCCGAAAGTGAAGG-3'	NM_031789.2
PPAR γ	Forward: 5'-CAACCGCACCTTTATGCTGG-3' Reverse: 5'-ATCCTTGGCTTTGACTCCTCG-3'	NM_001145367

برای بررسی بیان ژن‌ها از تکنیک Real time PCR توسط دستگاه Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Australia) با تعداد ۴۰ سیکل استفاده شد. پرایمرهای ۳ ژن همراه با ۱ ژن کنترل یا رفرانس GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) طراحی شد و برای سنتز به شرکت سیناکلون سفارش داده شد. برای PCR از 2x master mix buffer، ترکیب پرایمر forward و reverse cDNA و آب تزریقی استفاده شد. ترکیب حاصله به میزان ۱۰ مایکرولیتر در ویال مخصوص دستگاه کوربت تهیه شد و سپس در روتر دستگاه قرار گرفت. میزان سطح mRNAs هر یک از ژن‌ها به طور نسبی در مقایسه با میزان سطح mRNAs ژن GAPDH محاسبه گردید. این مطالعه با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات و با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد IR.IAU.SARI.REC.1401.214 به تصویب رسیده است.

در ادامه و برای توصیف داده‌ها از شاخص‌های گرایش مرکزی، بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف و جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS21 و برای آزمون فرضیه‌های تحقیق نیز سطح معنی‌داری $\alpha \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

در این پژوهش جهت نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف (جدول ۳) و بعد از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی استفاده شده و سپس در صورت مشاهده اختلاف آماری معنی‌دار برای شناسایی و مقدار آن از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. ضریب اطمینان در سطح $(p \leq 0/05)$ در نظر گرفته شد.

جدول ۳. نتایج آزمون کلموگروف اسمیرنوف جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها

متغیر	گروه	نرمال		دیابت		دیابت - تمرین		دیابت - مکمل		دیابت - تمرین - مکمل	
		p	z	p	z	p	z	p	z	p	z
Nrf2		۰/۵۶۸	۰/۹۰۳	۰/۶۱۹	۰/۸۳۹	۰/۸۴	۰/۴۸۱	۰/۵۵۷	۰/۹۱۵	۰/۶۰۸	۰/۸۵۴
PPAR γ		۰/۴۹۲	۰/۹۶۹	۰/۹۲۲	۰/۸۳۳	۰/۴۶۳	۰/۹۸۳	۰/۴۹۶	۰/۹۶۶	۰/۴۴۹	۰/۹۸۸

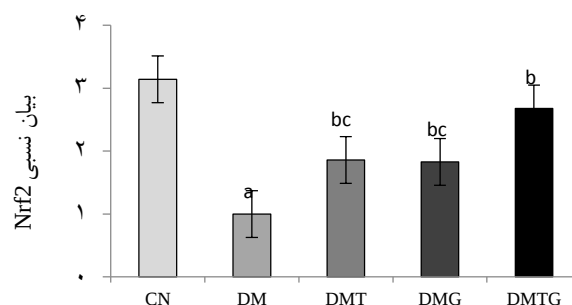
• بحث

نتایج نشان داد که القای دیابت موجب کاهش معنادار بیان ژن *Nrf2* و *PPAR γ* در موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل شد. در این رابطه باید عنوان کرد که افزایش قند خون در طولانی مدت (دیابت) موجب افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و تولید بیش از حد ROS موجب آسیب بافتی می‌شود (۱۶). دیابت با شرایط افزایش فشار اکسایشی همراه بوده و این وضعیت نقش مهمی در پیشرفت دیابت دارد (۱۷). در تحقیق حاضر مشخص شد که عصاره سیر در موش‌های دیابتی باعث افزایش معنادار بیان *Nrf2* و *PPAR γ* گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه دیابتی شد. نشان داده شده که مصرف سیر از افزایش شاخص‌های التهابی جلوگیری به عمل می‌آورد (۱۹-۱۸). به نظر می‌رسد تأثیرات ضد دیابت، ضد اکسایش و ضد التهاب سیر ناشی از S-allyl-cysteine باشد. برخی ترکیبات (گوگردی) سیر بیان سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF، IL-1 β و IL-6 را مهار می‌کند (۲۰). افزون بر این، سیر بیان سنتاز اسید چرب (FAS) را از طریق فعال‌سازی AMPK مهار می‌کند (۲۱). FFA سطوح FAS را تنظیم می‌کند، بنابراین سیر می‌تواند با تأثیرات ضد التهابی ناشی از فعال کردن AMPK، موجب بهبود هیپرگلیسمی و مقاومت به انسولین در موش‌های دیابتی شود (۲۲). در پژوهش حاضر ترکیب تمرین با عصاره سیر اثر بیشتری بر بیان نسبی *Nrf2* و *PPAR γ* داشت. از آنجا که هم فعالیت ورزشی و هم سیر دارای تأثیرات ضد اکسایشی بوده و قادر به مهار مسیرهای سیگنالینگ التهابی مختلف هستند، از این رو ترکیب تمرین و سیر تأثیرات هم‌افزایی را توجیه می‌کند. محمدی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که هشت هفته تمرین مقاومتی همراه با مصرف سیر موجب بهبود وضعیت شاخص التهابی و مقاومت به انسولین زنان دارای اضافه وزن می‌شود (۲۳).

نتایج پژوهش صادقی و غلامی (۱۳۹۶) نشان داد که مکمل یاری سیر از طریق افزایش ظرفیت ضد اکسایشی تام می‌تواند از آسیب فشار اکسایشی پس از انجام فعالیت برون‌گرا در مردان فعال بکاهد (۲۴). همچنین جعفری و همکاران (۱۳۹۰) در پژوهشی نشان دادند که مکمل عصاره سیر می‌تواند با افزایش ظرفیت ضد اکسایشی تام سرم پایه، از آسیب‌های فشار اکسایشی و التهاب ناشی از انجام فعالیت‌های ورزشی هوازی در مردان غیر ورزشکار بکاهد (۲۵).

اختلال در *Nrf2* در افراد دیابتی موجب تجمع رادیکال‌های پراکسید و صدمات بافتی می‌شود. گیرنده‌های فعال کننده پروکسیزوم‌ها نیز موجب فعال‌سازی آنتی اکسیدان‌ها شده و

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان *Nrf2* بافت کبدی بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات *Nrf2* در گروه‌های دیابت نسبت به کنترل-سالم وجود دارد ($p=0/001$). همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های دیابت-تمرین ($p=0/022$)، دیابت-سیر ($p=0/029$) و دیابت-تمرین-سیر ($p=0/001$) نسبت به دیابت؛ و دیابت-تمرین-سیر نسبت به گروه دیابت-تمرین ($p=0/048$) و دیابت-سیر ($p=0/038$) مشاهده شد (نمودار ۱).

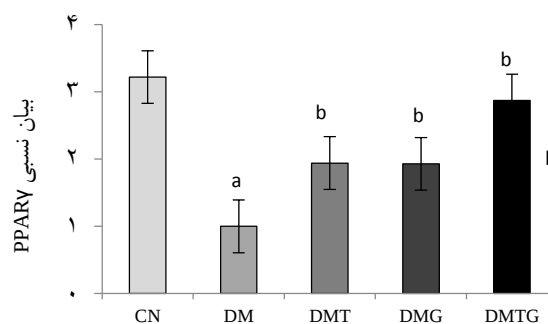


نمودار ۱. تغییرات بیان *Nrf2* بافت کبد در گروه‌های مختلف با

آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p<0/05$)

a تفاوت با CN، b تفاوت با گروه DM، c تفاوت با گروه DMTG
CN: کنترل-سالم، DM: دیابت، DMT: دیابت-تمرین، DMG: دیابت-سیر، DMTG: دیابت-تمرین-سیر

همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان *PPAR γ* بافت کبدی بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات *PPAR γ* در گروه‌های دیابت نسبت به کنترل-سالم وجود دارد ($p=0/002$). همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های دیابت-تمرین ($p=0/021$)، دیابت-سیر ($p=0/046$) و دیابت-تمرین-سیر ($p=0/006$) نسبت به دیابت مشاهده شد (نمودار ۲).



نمودار ۲. تغییرات بیان *PPAR γ* بافت کبد در گروه‌های مختلف با

آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p<0/05$)

a تفاوت با CN، b تفاوت با گروه DM
CN: کنترل-سالم، DM: دیابت، DMT: دیابت-تمرین، DMG: دیابت-سیر، DMTG: دیابت-تمرین-سیر

پاسخ‌های ضدالتهابی را موجب می‌شود (۲۶). همچنین فعال-سازی Nrf2 و PPAR γ موجب محافظت کبد از آسیب‌های ناشی از دارو یا فشار اکسایشی می‌شود (۲۶).

Nrf2 یک عامل رونویسی است که رونویسی ژن‌های مختلفی را برای حفظ هومئوستاز و فشارهای مضر سلولی تنظیم می‌کند. در شرایط فشار اکسایشی Nrf2 از Keap-1 جدا شده و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را از طریق اتصال به عناصر آنتی‌اکسیدان ARE (Antioxidant Response Element) پس از جابجایی در هسته القا می‌کند (۱۲). به نظر می‌رسد افزایش فشار اکسایشی در شرایطی نظیر دیابت، می‌تواند باعث تنظیم کاهشی Nrf2 شده و استفاده از سیر می‌تواند با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی که دارد، باعث افزایش بیان Nrf2 شود (۲۷). در پژوهش حاضر افزایش بیان Nrf2 با افزایش PPAR γ نیز همراه بود. به نظر می‌رسد سیر می‌تواند باعث سرکوب بیان NF- κ B و واسطه‌های التهابی از طریق PPAR γ شود. فعال شدن PPAR γ باعث محافظت کبد در برابر آسیب‌های کبدی از طریق کاهش فشار اکسایشی، التهاب و آپوپتوز شود (۲۷). همچنین نشان داده شده که عناصر ضدالتهابی نظیر سیر می‌تواند باعث تنظیم PPAR γ کبدی موش‌های دیابتی شود (۲۸). شواهد تجربی نشان می‌دهد که فعال شدن PPAR γ می‌تواند بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد (۲۸). به نظر می‌رسد افزایش بیان Nrf2 کبدی در نتیجه تمرین مقاومتی، پاسخ جبرانی به افزایش فشار اکسایشی ناشی از STZ باشد. همراستا با نتایج پژوهش حاضر، فتحی و همکاران (۲۰۲۰) در پژوهشی نشان دادند که دویدن روی تردمیل با حداکثر سرعت ۶۵ درصد به مدت ۶۰ دقیقه به مدت پنج جلسه در هفته به مدت هشت هفته باعث بهبود بیان Nrf2 در برابر آسیب ناشی از اتانول در کبد و قلب موش‌ها می‌شود (۲۹). به نظر می‌رسد تمرین ورزشی با کنترل فشار اکسایشی و بهبود وضعیت التهابی از طریق افزایش بیان Nrf2 و NF- κ B آسیب ناشی از دیابت را کاهش می‌دهد. نشان داده شده که تمرین منظم با افزایش فعالیت مسیر Nrf2/Keap1/HO-1 در کبد، کلیه و قلب نقش مهمی در جلوگیری از آسیب اکسایشی سلولی دارد (۳۰).

از دیگر نتایج مطالعه حاضر افزایش بیان PPAR γ کبدی به دنبال تمرین مقاومتی بود. PPAR γ به عنوان یک هدف درمانی برای چاقی، چربی بالا و دیابت می‌باشد. تمرینات ترکیبی باعث افزایش سطوح PPAR γ کبدی و عضلانی شده و به دنبال آن باعث کاهش مقاومت به انسولین و میزان چربی کبد و همچنین افزایش جذب گلوکز و

اکسیداسیون اسیدهای چرب عضلات اسکلتی در موش‌های دیابتی می‌شود (۳۱). Zhang و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند که فعالیت ورزشی باعث تنظیم افزایشی ژن PPAR γ کبدی در موش‌های چاق می‌شود (۳۲). مکانیزم‌هایی که باعث افزایش PPAR γ ناشی از تمرین می‌شود ناشناخته است. Kawanishi و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی نشان دادند که تمرین ورزشی با کاهش بیان CD-36 ماکروفاژهای کبدی باعث تنظیم افزایشی PPAR γ کبدی می‌شود (۳۳). همچنین بیان شد که تمرینات ورزشی با شدت کم باعث افزایش سطوح سرمی oxLDL4 شده و به دنبال آن باعث افزایش بیان PPAR γ می‌شود (۳۴). تمرین نیز می‌تواند تأثیر مثبتی بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن داشته باشد. تحقیقات نشان دادند که تمرین از طریق تنظیم افزایشی Nrf2 و سوپراکسیددیسموتاز موجب کاهش فشار اکسایشی و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شود (۳۵). وافی و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهش خود عنوان داشتند که فعالیت ورزشی موجب تنظیم بیان Nrf2 و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در آزمودنی‌های حیوانی می‌شود (۳۶). همچنین Gomes و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که تمرین مقاومتی در موش‌های صحرایی جوان تغییر معنی‌داری را در بیان Nrf2 موجب نشد، در حالی که در موش‌های سالمند Nrf2 کاهش یافت (۳۷). شاید علت تناقض و عدم معناداری در تحقیق یادشده با تحقیق حاضر به آزمودنی‌های شرکت کننده در پژوهش مربوط باشد. در تحقیق Gomes و همکاران (۲۰۱۶) آزمودنی‌ها موش‌های صحرایی سالم بودند، در حالی که در تحقیق حاضر آزمودنی‌ها موش‌های صحرایی دیابتی بودند.

با توجه به این که در این مطالعه فقط بیان ژن‌های Nrf2 و PPAR γ اندازه‌گیری شد، می‌توان در تحقیقات آینده وضعیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی، شاخص‌های عمومی مرتبط با دیابت مانند سطح انسولین، گلوکز، مقاومت به انسولین، نیمرخ چربی و ... مورد اندازه‌گیری قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

القای دیابت بواسطه افزایش فشار اکسایشی و گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از استرپتوزوتوسین موجب کاهش معنادار بیان ژن Nrf2 و PPAR γ در موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل شد. از طرفی مصرف عصاره سیر همراه با تمرین مقاومتی احتمال دارد از طریق تنظیم افزایشی Nrf2 و PPAR γ موجب کاهش فشار اکسایشی و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شود.

سپاسگزاری

صمیمانه ما را در اجرای این پژوهش یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

این مطالعه برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدینوسیله از تمامی اشخاصی که

• References

- Sanie-Jahrom F, Zia Z, Afarid M. A review on the effect of garlic on diabetes, BDNF, and VEGF as a potential treatment for diabetic retinopathy. *Chinese medicine*. 2023; 18(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s13020-023-00725-9>
- Ghorbani A, Zarvandi M, Rakhshandeh H. A randomized controlled trial of a herbal compound for improving metabolic parameters in diabetic patients with uncontrolled dyslipidemia. *Endocr Metab Immune Disord Drug*. 2019;19(7):1075-82.
- Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 2014; 24(10): R453-462
- Xu D, Xu M, Jeong S, Qian Y, Wu H, Xia Q & Kong X. The Role of Nrf2 in Liver Disease: Novel Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Frontiers in pharmacology*. 2019; 9, 1428. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01428>.
- Kandola K, Bowman A & Birch-Machin M A. Oxidative stress--a key emerging impact factor in health, ageing, lifestyle and aesthetics. *International journal of cosmetic science*. 2015; 37 Suppl 2, 1-8. <https://doi.org/10.1111/ics.12287>
- Muralidaran S, Roy A. The Role of PPAR Agonists in Diabetes Mellitus. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2016; 8(8): 864-866
- Davies KJA. Cardiovascular Adaptive Homeostasis in Exercise. *Frontiers in Physiology*. 2018 ;9:369. DOI: 10.3389/fphys.2018.00369. PMID: 29765327; PMCID: PMC5938404.
- Rostami A, Tadibi V, Behpoor N, Ahmadiasl N. Effects of 8 weeks of endurance and resistance training with garlic extract consumption on Bax protein gene expression and insulin resistance in rats with metabolic syndrome. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 2018; 6(12): 21-34. doi: 10.22077/jpsbs.2017.242.1100
- Avandi S M, Hagh Shenas R, Abbasi S. The effects of eight weeks of Concurrent Training on Plasma Levels of NRF2 in Young Men. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 2018; 5(2): 78-83. doi: 10.22049/jassp.2019.26567.1231
- Gounder S S, Kannan S, Devadoss D, Miller CJ, Whitehead KJ, Odelberg SJ, Firpo MA, Paine R III, Hoidal JR, Abel ED, Rajasekaran NS. Correction: Impaired Transcriptional Activity of Nrf2 in Age-Related Myocardial Oxidative Stress Is Reversible by Moderate Exercise Training. *PLoS One*. 2012 Oct 3;10(10):10.1371/annotation/8690bb36-3c5d-48a6-b3be-39a2b50896e1. doi: 10.1371/annotation/8690bb36-3c5d-48a6-b3be-39a2b50896e1. Erratum for: *PLoS One*. 7:e45697. PMCID: PMC3471973.
- Hejazi K, Hackett D. Effect of Exercise on Liver Function and Insulin Resistance Markers in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Clinical Medicine*. 2023; 12(8):3011.
- Ukwenya V, Ashaolu O, Adeyemi D, Obuotor E, Tijani A, Biliaminu A, et al. Evaluation of antioxidant potential of methanolic leaf extract of *Anacardium Occidentale* (Linn) on the testes of streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Eur J Anat* 2013; 17(2): 72-81.
- Bodea F, Bocea A, Decea N. L-carnitine decreases oxidative stress induced by experimental hypobaric hypoxia. *Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism*. 2010; 16(2): 78-81.
- El-Demerdash F, Yousef MI, El-Naga NA. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food and chemical toxicology*. 2005;43(1):57-63.
- Esfahani P S, Gharakhanlou R, Karimian J, Khazaei M, Feizi A & Safarzade A. Effect of resistance training on plasma nitric oxide and asymmetric dimethylarginine concentrations in type I diabetic rats. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013; 4(1), S78-S84.
- Nithya R, Devi VR, Selvam R, Subramanian SP. Sinapic acid regulates glucose homeostasis by modulating the activities of carbohydrate metabolizing enzymes in high fat diet fed-low dose STZ induced experimental type 2 diabetes in rats. *Glob J Obes, Diabetes Metab Syndr*. 2017 Aug 22; 4(2):54-61
- Tebay, L. E., Robertson, H., Durant, S. T., Vitale, S. R., Penning, T. M., Dinkova-Kostova A T & Hayes J D. Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015; 88, 108-146.
- Ota N, Takano F, Muroga S, Kawabata T, Ishigaki Y, Yahagi N, et al. Garlic extract and its selected organosulphur constituents promote ileal immune responses ex vivo. *Journal of Functional Foods*. 2012;4(1):243-52.
- Falahatian S, Haddad R, Pakravan N. Modulatory effects of R10 fraction of garlic (*Allium sativum* L.) on hormonal levels, T cell polarization, and fertility-related genes in mice model of polycystic ovarian syndrome. *Journal of Ovarian Research*. 2022;15(1):1-10.
- Lee DY, Li H, Lim HJ, Lee HJ, Jeon R, Ryu J-H. Anti-inflammatory activity of sulfur-containing compounds from garlic. *Journal of medicinal food*. 2012;15(11):992-9.
- Miki S, Inokuma Ki, Takashima M, Nishida M, Sasaki Y, Ushijima M, et al. Aged garlic extract suppresses the increase of plasma glycated albumin level and enhances the AMP-activated protein kinase in adipose tissue in TSOD mice. *Molecular nutrition & food research*. 2017;61(5):1600797.
- Miki S, Suzuki JI, Kunimura K, Morihara N. Mechanisms underlying the attenuation of chronic inflammatory diseases by aged garlic extract: Involvement of the activation of AMP-activated protein kinase. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2020 Feb;19(2):1462-1467.

- 23- Mohammadi Sarableh N, Tahmasebi W, Azizi M, Abdullahzad H. The effect of eight weeks of progressive resistance training with garlic supplementation on serum levels of C-reactive protein and insulin resistance in overweight women. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2022;15(3):46-56.
- 24- Sadeghi A, Gholami M. The Impact of Short-Term Garlic Supplements on Serum Total Antioxidant Capacity and Malondialdehyde in Active Men after Eccentric Exercise. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 2017; 15(1): 57-64.
- 25- Jafari A, Zekri R, Dehghan G, Malekiran A A. Effect of short-term garlic extract supplementation on oxidative stress and inflammatory indices in non-athlete men after an aerobic exercise. *Cell and Tissue Journal*, 2011; 2(1): 25-33. doi: 10.52547/JCT.2.1.25.
- 26- Abdella EM, Mahmoud AM, El-Derby AM. Brown seaweeds protect against azoxymethane-induced hepatic repercussions through up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and attenuation of oxidative stress. *Pharm Biol*. 2016 Nov; 54(11):2496-2504.
- 27- Mahmoud AM, Germoush MO, Alotaibi MF, Hussein OE. Possible involvement of Nrf2 and PPAR γ up-regulation in the protective effect of umbelliferone against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity. *Biomed Pharmacother*. 2017 Feb; 86:297-306.
- 28- Cheng L, Jin Z, Zhao R, Ren K, Deng C & Yu S. Resveratrol attenuates inflammation and oxidative stress induced by myocardial ischemia-reperfusion injury: role of Nrf2/ARE pathway. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2015; 8(7), 10420.
- 29- Fathi R, Nasiri K, Akbari A, Ahmadi-KaniGolzar F, Farajtabar Z. Exercise protects against ethanol-induced damage in rat heart and liver through the inhibition of apoptosis and activation of Nrf2/Keap-1/HO-1 pathway. *Life Sci*. 2020 Sep 1; 256:117958.
- 30- Golbidi S, Badran M, Laher I. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. *Exp Diabetes Res*. 2012 Oct; 2012: 1-16.
- 31- Kim J. C. The effect of exercise training combined with PPAR γ agonist on skeletal muscle glucose uptake and insulin sensitivity in induced diabetic obese Zucker rats. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2016; 20(2), 42-50. <https://doi.org/10.20463/jenb.2016.06.20.2.6>
- 32- Zhang B, Shen Q, Chen Y, Pan R, Kuang S, Liu G, Sun X. Myricitrin alleviates oxidative stress-induced inflammation and apoptosis and protects mice against diabetic cardiomyopathy. *Scientific reports*. 2017; 7(1), 1-16.
- 33- Kawanishi N, Mizokami T, Yada K, Suzuki K. Exercise training suppresses scavenger receptor CD36 expression in kupffer cells of nonalcoholic steatohepatitis model mice. *Physiol Rep*. 2018 Dec; 6(23):1-8.
- 34- Butcher LR, Thomas A, Backx K, Roberts A, Webb R, Morris K. Low-intensity exercise exerts beneficial effects on plasma lipids via PPAR γ . *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Jul; 40(7):1263-1270
- 35- Ryu JH, Kang D. Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: a review. *Molecules*. 2017;22(6):919. doi: 10.3390/molecules22060919.
- 36- Wafi A M, Yu L, Gao L & Zucker I H. Exercise training upregulates Nrf2 protein in the rostral ventrolateral medulla of mice with heart failure. *Journal of Applied Physiology*. 2019; 127(5), 1349-1359.
- 37- Gomes F, Chuffa L, Scarano W, Pinheiro P, Fávaro W, Domeniconi RF. Nandrolone decanoate and resistance exercise training favor the occurrence of lesions and activate the inflammatory response in the ventral prostate. *Andrology*. 2016 May; 4(3):473-480.

Effects of Resistance Training with Intake of Aqueous Garlic Extract on the Expression of Nrf2 and PPAR γ in the Liver of Diabetic Rats

Noori S¹, Farajtabar Behrestaq S^{2*}

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

2- *Corresponding author: Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. E-mail: farajtabarp@yahoo.com

Received 29 Oct, 2023

Accepted 25 Dec, 2023

Background and Objectives: Nrf2 transcription factor is the major regulator of antioxidant proteins and is expressed with PPAR γ in all tissues of the body. Furthermore, garlic includes hypoglycemic effects by preventing the inactivation of insulin. The aim of this study was to explain effects of resistance training with garlic supplementation on Nrf2 and PPAR γ gene expression in streptozotocin-treated diabetic rats.

Materials & Methods: In the present study, study method was experimental. To carry out the present laboratory study, 40 5-w-old male Wistar rats weighing $162.12 \text{ g} \pm 15.24$ were selected and randomly divided into five control groups of healthy, diabetes, diabetes-exercise, diabetes-garlic and diabetes-exercise-garlic groups. Rats became diabetics by injecting nicotinamide and intraperitoneally injecting STZ after 15 min. Rats in the supplement groups received 500 mg of garlic extract per kilogram of the body weight daily by oral gavage. Resistance training was carried out on a ladder with a slope of 80° and with weights equal to 30–100% of the body weight. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for inferential analysis of data.

Results: In general, Nrf2 expression significantly increased in diabetes-exercise ($p = 0.022$), diabetes-garlic ($p = 0.029$) and diabetes-exercise-garlic ($p = 0.001$) groups, compared to diabetic group; and diabetes-exercise-garlic compared to diabetes-exercise ($p = 0.048$) and diabetes-garlic group ($p = 0.038$). Expression of PPAR γ increased significantly in diabetes-exercise ($p = 0.021$), diabetes-garlic ($p = 0.046$) and diabetes-exercise-garlic ($p = 0.006$) groups, compared to diabetic group.

Conclusion: Possibly, consumption of garlic extract, resistance training and a combination of resistance training with garlic extract supplement improve the antioxidant status and decrease the oxidative stress of the liver through the upregulation of Nrf2 and PPAR γ .

Keywords: Resistance training, Garlic, Diabetes, Nrf2 and PPAR γ