علوم زیستی ورزشی – پاییز ۱۳۹۹
دورهٔ ۱۲، شمارهٔ ۳، ص: ۳۴۵ – ۳۲۹
تاریخ دریافت : ۲۶ / ۰۵ / ۹۹
تاریخ پذیرش : ۲۵ / ۰۶ / ۹۹

اثر دو ماه تمرینات ترکیبی با و بدون محدودیت کالری بر غلظت و فعالیت سیرتوین-۱ در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی مردان سالم غیرفعال

افشار جعفری*[۱] – فرید اعتمادیان[۲] – علی‌اکبر ملکی راد[۳] – بهزاد برادران[۴]

۱.الف) دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران ب) دانشیار فیزیولوژی ورزشی گروه علوم زیستی ورزش، دانشکدهٔ علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران ۲. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران ۳. دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران،ایران ۴. دانشیار ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

سیرتوین‌ها از جمله مولکول‌های مهم درگیر در فرایند پیری به‌شمار می‌روند. بر این اساس، مطالعهٔ حاضر با هدف مقایسهٔ اثر دو ماه تمرین ترکیبی با و بدون محدودیت کالری بر غلظت و فعالیت سیرتوین-۱ در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) مردان سالم غیرفعال انجام گرفت. بدین‌منظور ۳۰ مرد غیرفعال در سه گروه همگن ۱۰ نفری: محدودیت کالری (CR)، تمرین ترکیبی (T) و تمرین ترکیبی با محدودیت کالری (TCR)، شرکت کردند. محدودیت کالری ۳۰ کیلوکالری/کیلوگرم/هفته بود. تمرین ترکیبی شامل ۵ روز در هفته (۲ جلسه تمرین مقاومتی و ۳ جلسه تمرین تناوبی با شدت بالا) بود. پیش و پس از دورهٔ تحقیق، غلظت و فعالیت سیرتوین-۱ به‌ترتیب با روش اندازه‌گیری الایزا و فلورومتریک در PBMCs اندازه‌گیری شد. ظرفیت ضداکسایشی تام و مالون‌دی‌آلدهید سرمی نیز به‌ترتیب با روش فرپ و اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس ۳*۲ در سطح معناداری برابر و کمتر از ۵ درصد بررسی شد. نتایج حاکی از افزایش معنادار فعالیت سیرتوین-۱ و ظرفیت ضداکسایشی تام سرمی متعاقب دو ماه مداخلهٔ تمرین ترکیبی و محدودیت کالری است ($P<۰/۰۵$). با این حال، تغییرات غلظت پروتئین سیرتوین-۱ و مالون‌دی‌آلدهید در هیچ از گروه‌ها معنادار نبود ($P>۰/۰۵$). با توجه به تغییرات بهینهٔ فعالیت سیرتوین-۱، ظرفیت ضداکسایشی تام سرمی و برخی از اجزای ترکیب بدنی پس از دو ماه تمرین ترکیبی بدون محدودیت کالری، می‌توان نتیجه گرفت که تمرین ترکیبی ممکن است مداخلهٔ مناسب‌تری برای تعدیل شاخص بقای سلول در مردان غیرفعال باشد.

واژه‌های کلیدی

بقای سلولی، پیری، رژیم درمانی، فشار اکسایشی، فعالیت ورزشی.

---

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۹۱۴۱۱۶۸۵۶۱ Email: af_jafari@sbu.ac.ir

مقدمه

برای نخستین‌بار در تاریخ بشر، تعداد افراد بالای ۶۵ سال در سال ۲۰۱۸ از تعداد کودکان زیر ۵ سال بیشتر شده است؛ بر همین اساس، پیش‌بینی می‌شود میزان این جمعیت تا سال ۲۰۵۰ دو برابر شود (۱). در کل، فرایند پیری با تغییرات ناخواستهٔ ترکیبات زیست‌شیمیایی آغاز می‌شود و با کاهش پیشروندهٔ ظرفیت‌های فیزیولوژیایی، افت توانایی پاسخ‌های سازشی به محرک‌های محیطی، افزایش حساسیت و آسیب‌پذیری نسبت به بروز بیماری‌های استحاله‌ای و مزمن ادامه می‌یابد و در نهایت، این روند با مرگ موجود زنده خاتمه می‌یابد (۳، ۲). بنابراین، شناسایی دقیق عوامل و سازوکارهای درگیر در روند پیری به‌منظور ارائهٔ راهکارهای پیشگیرانه یا تعدیل‌کنندهٔ فرایند پیری زودرس و بیماری‌های مرتبط با آن، همواره از جمله چالش‌ها و دغدغه‌های ذهنی اندیشمندان و متخصصان حوزهٔ سلامت است (۴، ۳). در این زمینه، براساس نتایج مطالعات افزایش بیان برخی از انواع پروتئین‌های تنظیم‌کنندهٔ بقای سلولی مانند زیررده‌های خانوادهٔ سیرتوین[1] می‌تواند بر فرایندهای کاهندهٔ طول عمر و بیماری‌های استحاله‌ای[2] (تخریبی) دوران پیری تأثیر بگذارد (۴، ۳). خانوادهٔ سیرتوین به‌عنوان حسگرهای سوخت‌وسازی با هفت زیرردهٔ پروتئینی متفاوت به‌واسطهٔ فعالیت استیل‌زدایی وابسته به NAD^+، به اشکال مختلف بر واکنش‌ها و آبشارهای درون‌سلولی هیستونی و غیرهیستونی تأثیر می‌گذارند (۴۵، ۴). در این بین، نقش زیرردهٔ سیرتوین-۱[3] در فرایندهای میتوزی، سوخت‌وساز مواد مغذی، عملکرد میتوکندریایی و پیری از اهمیت بیشتری برخوردار است (۶). نتایج تحقیقات حاکی است که عواملی مانند محدودیت کالری و محدودسازی رژیم غذایی با افزایش بیان و فعالیت سیرتوین-۱ در بافت‌های مختلف ممکن است با استیل‌زدایی هیستون‌ها و پروتئین‌های التهابی سبب کاهش آسیب‌های وارده به DNA و افت پاسخ‌های التهابی ناشی از افزایش سن شود (۸، ۷). در این زمینه، لی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که بیان سیرتوین-۱ کبدی موش‌های خانگی متعاقب دو روز روزه‌داری افزایش می‌یابد. درحالی‌که در میوکارد و عضلهٔ اسکلتی نعلی بدون تغییر می‌ماند و در عضلهٔ اسکلتی درشت‌نئی قدامی کاهش می‌یابد (۹). با این حال، کروجرس و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که ۸ هفته رژیم کم‌کالری سبب افزایش بیان سیرتوین-۱ در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMCs)[4] زنان و مردان میانسال چاق می‌شود (۷). به‌عبارتی، بخش عمدهٔ

1. Sirtuin
2. Degenerative
3. Silent Information Regulation Sirtuin
4. Peripheral Blood Mononuclear Cells: PBMCs

تحقیقاتی انجام‌گرفته در خصوص محدودیت کالری بر شاخص سیرتوین-۱ مرتبط با پیرشدگی و بیماری‌های استحاله‌ای مزمن به تأثیرات مفید ناشی از محدودیت کالری اشاره دارند. با این حال، برخی بر این باورند که محدودیت کالری شدید و درازمدت ممکن است پیامدهایی مانند ناباروری، پوکی استخوان، از دست دادن تودهٔ عضلانی و بروز اختلالات روانی را در پی داشته باشد (۱۰). ازاین‌رو، محققان همواره سعی داشته‌اند تا با استفاده از رویکردهای دیگری مانند انجام فعالیت‌های ورزشی از بروز تغییرات نامطلوب سیرتوین-۱ جلوگیری کنند (۱۱-۱۴). برای نمونه، در پژوهشی نشان داده شد که سه روز متوالی دوچرخه‌سواری با ۵۷ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه می‌تواند تأثیرات مفیدی بر بیان mRNA سیرتوین-۱ عضلانی داشته باشد (۱۳). با این حال، برخی محققان بر این باورند که شرکت در برنامه‌های ورزشی به‌همراه اِعمال محدودیت کالری ممکن است تأثیرات مفیدتری در پی داشته باشد (۱۵). در این زمینه، برخی محققان در جمع‌بندی مطالعات انجام‌گرفته اشاره داشته‌اند که تمرینات ترکیبی هوازی-مقاومتی با ایجاد فشارهای مکانیکی-متابولیکی و تحریک سازوکارهای کاتابولیکی-آنابولیکی متفاوت، ممکن است در افزایش فعالیت AMPK/SIRT1 و افت میزان mTOR دخالت داشته باشد (۱۶-۱۸). با این حال، براساس مطالعات موجود، هیچ مطالعه‌ای در خصوص تأثیرات تمرین ترکیبی با و بدون محدودیت کالری بر فعالیت سیرتوین-۱ در PBMCs نمونه‌های انسانی انجام نگرفته است. بنابراین، مطالعهٔ حاضر با هدف مقایسهٔ دو ماه تمرین ترکیبی با و بدون محدودیت کالری بر غلظت و فعالیت سیرتوین-۱ و شاخص‌های فشار اکسایشی در خون محیطی مردان سالم غیرفعال (کم‌تحرک) انجام گرفت.

روش تحقیق

مطالعهٔ حاضر، پس از اخذ مجوز از کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی تبریز (IR.TBZMED.REC.1396.228) در قالب طرح نیمه‌تجربی سه‌گروهی پیش‌آزمون-پس‌آزمون انجام گرفت. نمونهٔ آماری پژوهش شامل ۳۰ نفر از بین ۱۲۵مرد داوطلب ۴۵ - ۳۵ ساله، سالم، کم‌تحرک (بدون شرکت در فعالیت‌های بدنی منظم طی شش ماه قبل از شروع پژوهش و براساس پرسشنامهٔ PARQ[1]) دارای اضافه‌وزن (شاخص تودهٔ بدن ۲۵ تا ۳۰) انتخاب شدند (جدول ۱).

1. Physical Activity Readiness Questionnaire

جدول ۱. میانگین و انحراف استاندارد مشخصات مردان میانسال کم‌تحرک در شروع پژوهش (هر گروه ۱۰ نفر)

شاخص مورد اندازگیری / نام گروه	محدودیت کالری به‌تنهایی	تمرین ترکیبی بدون محدودیت	تمرین ترکیبی با محدودیت
سن (سال)	۳۷/۸ ۲±/۰۵	۳۸/۲±۳/۵	۳۸/۲±۱/۱
شاخص‌تودهٔ بدن (کیلوگرم درمتر مربع)	۲۷/۱±۹/۱	۲۸/۰±۹/۹	۰±۲۹/۶
درصد چربی (درصد)	۲۳/۱±۱/۶	۲۲/۲±۶/۱	۲۲/۱±۷/۸
توان هوازی بیشینه (میلی‌لیتر/کیلوگرم/دقیقه)	۳۳/۳±۳/۱	۳±۳۴/۶	۳۴/۲±۷/۸
انرژی مصرفی روزانه (کیلوکالری)	۱۱۲±۱۸۱۰	۹۲±۱۸۶۲	۱۲۷±۱۹۳۷
انرژی دریافتی روزانه (کیلوکالری)	۲۹۵±۲۳۴۵	۲۵۱±۲۴۷۰	۱۱۸±۲۵۳۹
تعادل کالری (کیلوکالری)	+۲۶۴±۵۳۵	+۲۷۵±۶۰۵	+۱۵۱±۶۰۲
کربوهیدرات مصرفی (کیلوکالری)	۱۸۰±۱۱۸۵	۱۲۴±۱۲۹۹	۱۲۶۰ ۹۳±
چربی مصرفی (کیلوکالری)	۱۶۰±۷۲۳	۱۵۸±۷۸۳	۳۷±۸۶۱
پروتئین مصرفی (کیلوکالری)	۱۱۳±۴۳۶	۳۹±۳۸۸	۶۴±۴۱۷

براساس گزارش‌های فردی و معاینات اولیه توسط پزشک، هیچ‌یک از شرکت‌کنندگان سابقهٔ بیماری قلبی-عروقی، تنفسی، کلیوی، متابولیکی و اختلالات اسکلتی-عضلانی یا جراحی نداشتند. علاوه‌بر این، شرکت‌کنندگان شش هفته قبل از شروع پژوهش هیچ مکمل یا دارویی بدون نسخهٔ مصرف نکردند. پس از اخذ رضایت‌نامهٔ کتبی از داوطلبان شرکت در تحقیق، براساس برخی اندازه‌گیری‌های اولیه، هریک از شرکت‌کنندگان به‌صورت تصادفی و با توجه به مقدار شاخص تودهٔ بدن، درصد چربی، اکسیژن مصرفی بیشینه، تعداد لکوسیت‌ها در گروه‌های همگن ۱۰ نفری محدودیت کالری به‌تنهایی (CR)، تمرین ترکیبی به‌تنهایی (T)، و تمرین ترکیبی همراه با محدودیت کالری (TCR) جایگزین شدند.

تعادل کالری و محدودیت کالری

تعادل انرژی برای هریک از شرکت‌کنندگان با کم کردن کل هزینهٔ انرژی روزانه از کل کالری دریافتی با استفاده از نرم‌افزار Nutrition 4 (نرم‌افزار تحلیل رژیم غذایی نسخهٔ ۳,۵,۲ سال ۲۰۱۱ ساخت آمریکا[1])

1. Diet analysis module version 3.5.2, 2011, USA

برآورد شد (۷). هزینهٔ انرژی استراحتی با استفاده از فرمول کانینگهام ([kg] تودهٔ خالص بدن× ۲۱/۶) +۳۷۰=RMR [kcal.d^{-1}]) مشخص شد (۱۹). تودهٔ چربی بدن از طریق اندازه‌گیری ضخامت پوستی به‌وسیلهٔ کالیپر و روش سه‌نقطه‌ای جکسون –پولاک[1] برای مردان برآورد شد (۲۰). سپس تودهٔ بدون چربی از تفاضل وزن بدن با تودهٔ چربی بدن محاسبه شد. طبق ارزیابی تغذیه‌ای در ابتدای پژوهش، همهٔ شرکت‌کنندگان تعادل انرژی مثبتی داشتند (جدول ۱). بنابراین، برنامهٔ رژیم غذایی (بدون محدودیت کالری) برای هریک از شرکت‌کنندگان براساس دستورالعمل‌های رژیم و عادت غذایی آزمودنی‌ها طراحی شد. سپس، همهٔ آزمودنی‌ها طی دو هفته قبل از اعمال مداخلات اصلی، از رژیم غذایی حاوی ۶۰ درصد کربوهیدرات، ۲۵ درصد و چربی ۱۵ درصد پروتئین، پیروی کردند (تعادل کالری صفر). پس از این دوره، طی دو ماه مداخلهٔ تمرین و محدودیت کالری، برای آزمودنی‌های گروه CR و TCR، محدودیت کالریایی معادل ۳۰ کیلوکالری در هفته به ازای هر کیلوگرم وزن بدن اعمال شد (تعادل کالری منفی). درحالی‌که برای آزمودنی‌های گروه T، هیچ‌گونه محدودیت کالریایی اعمال نشد (تعادل کالری صفر).

برنامهٔ تمرینی

برنامهٔ تمرینی براساس دستورالعمل انجمن پزشکی ورزشی آمریکا[2] تنظیم شد (۲۰). تمامی شرکت‌کنندگان در ابتدا و پایان پژوهش برای برآورد غیرمستقیم توان هوازی بیشینه (VO_2max: ml.kg^{-1}.min^{-1}) در آزمون دویدن ۱۲ دقیقه‌ای کوپر شرکت کردند (۲۱).

پس از خون‌گیری اولیه شرکت‌کننده‌های گروه‌های تمرینی، به مدت ۲ هفته، ضمن استفاده از رژیم غذایی عادی (بدون محدودیت کالری)، با شرکت در تمرینات ترکیبی (تمرین هوازی ۵۵ تا ۶۵٪ توان هوازی بیشینه؛ تمرین مقاومتی ۵۰ تا ۶۰٪ یک تکرار بیشینه) آشنا شدند. هزینهٔ کالری مصرفی تمرین ترکیبی به‌صورت ۵ جلسه تمرین در هفته (۲ جلسه مقاومتی با ۷۵ تا ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه و ۳ جلسه تمرین هوازی به‌صورت تمرین تناوبی شدت بالا[3] با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد توان هوازی بیشینه در حدود ۳۰ کیلوکالری در هفته به ازای هر کیلوگرم وزن بدن درنظر گرفته شد. البته سعی شد تا همهٔ جلسات تمرین (۵ جلسه در هفته) از نظر کالری مصرفی ایزوکالریک (شش kcal·kg^{-1}·day^{-1}) باشد. به‌علاوه، تلاش شد تا کل مدت تمرینات هوازی و مقاومتی در طول هفته تقریباً برابر باشد. برنامهٔ گرم

1. Jackson- Pollock
2. American College of Sports Medicine: ACSM
3. High Intensity Interval Training: HIIT

کردن عمومی و سرد کردن برای تمامی جلسات تمرینی یکسان بود، به‌طوری‌که گرم کردن عمومی در مجموع در حدود۱۰ دقیقه به‌صورت یک نوبت پنج‌دقیقه‌ای دوی نرم با ۶۰ درصد توان هوازی، همراه با دو دقیقه حرکات کششی، دو دقیقه حرکات نرمشی، یک دقیقه حرکات جهشی بود. همچنین سرد کردن شامل پنج دقیقه حرکات کششی انجام گرفت. برنامهٔ تمرین مقاومتی دو جلسه در هفته (در روزهای یکشنبه و پنج‌شنبه) اجرا شد. هر جلسهٔ تمرین مقاومتی شامل ۸ حرکت پیشنهادی انجمن پزشکی ورزشی آمریکا با شدت ۷۵ تا ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه (زمان اجرای هر تکرار نیز سه ثانیه) بود (جدول ۲). میزان قدرت یک تکرار بیشینهٔ همهٔ شرکت‌کننده‌ها در هر ۸ حرکت وزنهٔ تمرینی با استفاده از فرمول برزیسکی برآورد شد (۲۲). تمرین هوازی نیز به‌صورت ۳ جلسه در هفته (روزهای شنبه، دوشنبه، چهارشنبه) به شکل HIIT اجرا شد. این تمرین شامل پنج تکرار چهاردقیقه‌ای با ۸۰ تا ۸۵ درصد توان هوازی بیشینه و با دو دقیقه استراحت فعال ۶۰ درصد توان هوازی بیشینه بین تکرارها طراحی و اجرا شد (جدول ۳). برای کنترل شدت فعالیت تمرین هوازی (پس از تعیین شدت فعالیت با استفاده از فرمول ضربان قلب ذخیرهٔ کارونن[1]) از ضربان‌سنج پلار استفاده شد (۲۰).

جدول ۲. جزئیات دو ماه برنامهٔ تمرینات مقاومتی

	گرم کردن			تمرین اصلی		
نام حرکت	**تکرار/٪1RM**	R1	**تعداد نوبت**	R2	R3	**تکرار/٪1RM**
۱. پرس پا دستگاه	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸
۲. پرس سینهٔ هالتر	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸
۳. جلوپا سیم کش	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸
۴. بالا سینه هالتر	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸
۵. زیربغل پارویی سیم کش	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸
۶. پشت پا سیم کش	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸
۷. زیربغل دست بازسیم کش	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸
۸. ساق پا دستگاه	٪۵۰/۱۰	۶۰	۳	۱۲۰	۹۰	٪۸۰/۸

1RM%: درصد یک تکرار بیشینه؛ **R1**: زمان استراحت (ثانیه) بین نوبت‌های گرم کردن؛ **R2**: زمان استراحت (ثانیه) بین نوبت‌های تمرین اصلی در هر ایستگاه؛ **R3**: زمان استراحت (ثانیه) بین ایستگاه‌ها؛

1. Karvonen’s heart rate reserve

جدول ۳. جزئیات دو ماه برنامهٔ تمرینات هوازی

نام فعالیت	زمان (دقیقه)	تکرار	شدت تمرین هوازی (٪ توان هوازی بیشینه)	مدت استراحت فعال (دقیقه)	شدت استراحت فعال (٪ توان هوازی بیشینه)
گرم کردن اختصاصی	۲	۱	۷۰-۷۵٪	۲	۶۰تا ۶۵٪
تمرین اصلی	۴	۵	۸۰-۸۵٪	۲	۶۰تا ۶۵٪

نمونه‌گیری خونی و روش اندازه‌گیری

تهیهٔ نمونه‌های خونی در حالت ناشتا ۲۴ ساعت قبل از شروع دوره و ۷۲ ساعت بعد از اتمام دورهٔ پژوهش انجام گرفت. افراد شرکت‌کننده در پژوهش به‌صورت ناشتا سر ساعت هشت صبح در آزمایشگاه حضور پیدا کردند. در هر مرحله از آزمودنی‌ها ۱۵ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ بازویی گرفته شد. حدود ۱۲ میلی‌لیتر نمونهٔ خون مخلوط سیاهرگی در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد. باقیماندهٔ خون به‌منظور تهیهٔ سرم استفاده شد. به‌منظور جداسازی سرم نمونه به مدت ۱۵تا ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه ۲۵-۲۲ قرار داده شد تا لخته شود. پس از جدا کردن خون از دیوارهٔ لولهٔ آزمایش، سرم به‌وسیلهٔ دستگاه سانتریفیوژ (۸۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه) جدا و در یخچال منفی ۸۰ درجه برای انجام مراحل بعدی نگهداری شد.

سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به روش شیب غلظتی فایکول و سانتریفیوژ جدا شد. به‌طور خلاصه ابتدا نمونهٔ خونی به نسبت مساوی با محلول PBS رقیق شد؛ سپس نمونهٔ خون رقیق‌شده به‌آرامی روی فایکول ساخت شرکت اینو ترین[1] آلمان (اندازهٔ فایکول نصف خون رقیق‌شده) ریخته شد. سپس با سرعت ۶۰۰ g به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۱۸ تا ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و شتاب یک و ترمز صفر سانتریفیوژ شد. محتوای PBMC پس از برداشت از طریق پیپت پاستور، دو بار با اضافه کردن PBS شست‌وشو (هر بار ۱۰ دقیقه با ۶۰۰ g) شد. سپس زنده بودن و شمارش سلولی، PBMCs جداشده پس از رنگ‌آمیزی با تریپان آبی (ساخت شرکت مرک آلمان) به‌وسیلهٔ شمارش لام نئوبار انجام گرفت.

سطح کمی پروتئین سیرتوین-۱ در سلول‌های PBMC با استفاده از کیت الیزا شرکت ابکم[2] (ab171573) ساخت آمریکا با حداقل غلظت قابل تشخیص ۱۳۲پیکوگرم/ میلی‌لیتر تعیین شد. به‌طور خلاصه ابتدا ۲×۱۰^{۷} سلول در میلی‌لیتر برای تهیهٔ لیزات سلولی (طبق دستورالعمل کیت) با اضافه کردن بافر استخراج TPR همراه کیت و مهارکنندهٔ پروتئاز PMSF و انجام انکوباسیون و سانتریفیوژ به مدت ۲۰

1. Inno-train
2. Abcam kit

دقیقه با سرعت g ۱۸۰۰۰ در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد و جداسازی محلول رویی تهیه شد. سپس غلظت پروتئینی نمونه‌ها (برای یکسان‌سازی نمونه‌ها) با استفاده از روش رنگ سنجی برادفورد اندازه‌گیری شد. در نهایت طبق دستورالعمل کیت میزان کمی پروتئین سیرتوین-۱ با دستگاه الایزا ریدر مدل تیکن[1] در لیزات سلولی اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت سیرتوین-۱ ابتدا با استفاده از کیت استخراج پروتئین هستهٔ شرکت ابکم (ab113474)نمونهٔ لیزات سلولی PBMCs طبق دستورالعمل کیت تهیه شد. از مهارکنندهٔ پروتئاز (PIC) داخل کیت نیز استفاده شد، به‌طوری‌که پس از جداسازی و لیز هسته، به‌نسبت مساوی یک به یک با عصارهٔ سیتوپلاسمی مخلوط شد. پس از اندازه‌گیری و یکسان‌سازی غلظت پروتئینی نمونه‌ها به رنگ‌سنجی برادفورد در دمای منفی ۸۰ درجه نگهداری شد. فعالیت سیرتوین-۱ در سلول‌های لیز PBMCs به روش فلورومتری و کیت شرکت ابکم (ab156065) اندازه‌گیری شد. طبق دستورالعمل و حجم‌های ذکرشدهٔ کیت نمونه‌ها، آب دیونیزه، بافر اندازه‌گیری، سوبسترای فلورسنس، NAD^+، developer و همچنین کنترل‌های آنزیم، نمونه و NAD در چاهک‌های میکرپلیت مشکی ریخته شد. در نهایت خوانش شدت فلورسنس به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در هر دقیقه به‌صورت پی‌درپی برای محاسبهٔ زمان ثابت شدن واکنش در نشر ۴۴۰ و تابش ۳۴۰ به‌وسیلهٔ دستگاه سایتشن پنج[2]ساخت آمریکا اندازه‌گیری شد. در پایان میزان فعالیت سیرتوین-۱ براساس شدت تغییرات فلورسنس (AFU[3]) در دقیقه بیان شد.

شاخص ظرفیت ضداکسایشی تام سرم، با آزمون فرپ[4]و دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت شرکت بیوتک آمریکا) در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان مالوندی آلدهید سرمی نیز بر پایهٔ واکنش با تیوباربیتوریک اسید، و با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین شد.

روش‌های آماری

داده‌ها به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد با استفاده از نرم‌افزار آماریSPSS نسخهٔ ۲۳ تحت ویندوز بررسی شد. پس از تأیید وضیعت توزیع طبیعی داده‌ها (با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک)، همگنی داده‌های پایه با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، و تأثیرات عوامل محدودیت و تمرین با استفاده

1. Tecan Sunrise Microplate Reader
2. Live cell imaging-multi mode reader :Cytation 5
3. Arbitrary Fluorescence Unit (AFU)
4. Ferric Reducing Ability Plasma (FRAP)

از آزمون تحلیل واریانس مکرر با عامل بین‌گروهی و آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (برای مشخص کردن تفاوت دامنهٔ تغییرات بین‌گروهی) در سطح معناداری مساوی و کمتر از ۰/۰۵ بررسی شد.

یافته‌های تحقیق

میانگین و انحراف استاندارد داده‌های قبل و بعد از مداخله در جدول ۴ اشاره داده شده است. براساس یافته‌های تحقیق حاضر، تغییرات شاخص تودهٔ بدن (BMI[1])، تودهٔ چربی (FM[2])، تودهٔ بدون چربی (FFM[3]) و توان هوازی بیشینه (VO_2max) پس از دو ماه مداخلهٔ تمرین و محدودیت کالری معنادار بود (جدول ۴). با این حال، کاهش شاخص تودهٔ بدن گروه TCR در مقایسه با دو گروه دیگر (T و CR) به‌طور معناداری بیشتر بود (جدول ۴). درحالی‌که تغییرات تودهٔ چربی (FM) و توان هوازی بیشینه (VO_2max) در گروه‌های تمرین‌کرده با و بدون محدودیت کالری (T و TCR) به‌طور معناداری بیشتر از گروه محدودیت کالری تنها (CR) بود (جدول ۴). با وجود کاهش معنادار تودهٔ بدون چربی بدن (FFM) در گروه CR، مقدار این شاخص در گروه‌های تمرین‌کرده با و بدون محدودیت کالری (T و TCR) به‌طور معناداری افزایش پیدا کرد (جدول ۴).

شاخص ظرفیت ضداکسایشی تام سرم در همهٔ گروه‌ها پس از دو ماه مداخله به‌طور معنادار افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). با این حال، اختلافات بین‌گروهی در TAC معنادار نبود ($P>۰/۰۵$). به‌علاوه، تغییرات شاخص مالون‌دی‌آلدهید سرمی در هیچ‌یک از مراحل اندازه‌گیری (جدول ۴) معنادار نبود ($P>۰/۰۵$).

تغییرات فزاینده در غلظت پروتئین سیرتوین-۱ در PBMCs مردان میانسال کم‌تحرک در هیچ‌یک از مراحل اندازه‌گیری معنادار نبود ($P>۰/۰۵$) (جدول ۴). درحالی‌که افزایش فعالیت سیرتوین-۱ پس از دو ماه مداخلهٔ تمرین و محدودیت کالری معنادار بود ($P<۰/۰۵$) (جدول ۴). با این حال، تفاوت بین‌گروهی فعالیت سیرتوین-۱ (جدول ۴) معنادار نبود ($P<۰/۰۵$).

1. Body mass index
2. Fat mass:
3. Fat-free mass

جدول ۴. میانگین و انحراف استاندارد شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مردان میانسال کم‌تحرک متعاقب دو ماه تمرین ترکیبی با و بدون محدودیت کالری (۳۰ نفر)

شاخص ها	مرحله	CR (۱۰ نفر)	T(۱۰نفر)	TCR(۱۰ نفر)	معناداری بین‌گروهی
شاخص‌تودهٔ بدن	قبل	۲۷/۱±۹/۱	۲۸/۰±۹/۹	۰±۲۹/۶	P=۰/۰۰۳
(کیلوگرم / متر^{۲})	بعد	۲۶/۱±۸/۲$	۱±۲۸/۲۲*†	۲۷/۰±۵/۷*$	
تودهٔ چربی بدن	قبل	۲۰/۲±۸/۳	۲۰/۳±۶۴/۶	۲۱/۲±۷/۴	P<۰/۰۰۱
(کیلوگرم)	بعد	۱۷/۲+۳/۴# $	۱۵/۳±۹/۱#	۱۶/۲±۷/۳*$	
تودهٔ بدون چربی بدن	قبل	۶۶/۵±۶/۱	۴±۶۹/۲	۷۲/۵±۵/۸	P=۰/۰۱
(کیلوگرم)	بعد	۵±۶۶/۱#	۷۰/۴±۵/۹#	۷۳/۵±۳/۷	
توان هوازی بیشینه	قبل	۳۳/۱±۱/۶	۳۴/۳±۰۸/۶	۳۴/۲±۷۲/۸	P<۰/۰۰۱
(میلی‌لیتر/کیلوگرم/دقیقه)	بعد	۳۵/۱+۷/۴# $	۴۶/۳+۱۲/۸#	۴۸/۲+۸۳/۵*$	
میانگین **1RM** تمرینات	قبل	۶۷/۸±۲/۴	۶۵/۸±۱/۱	۷۱/۷±۳/۱	P<۰/۰۰۱
قدرتی(کیلوگرم)	بعد	۶۸/۸±۵/۹# $	۸۹/۹±۷/۹#	۹۵/۸±۰۶/۹*$	
ظرفیت ضداکسایشی سرمی	قبل	۱/۰±۸۲/۳	۱/۰±۸۵/۱۷	۱/۰±۶۸/۱۷	P=۰/۹
(میلی مول/لیتر)	بعد	۱/۰±۹۷/۳۱*	۲/۰±۰۳/۲۸*	۱/۰±۸۸/۱۵*	
مالون‌دی‌آلدهید سرمی	قبل	۱/۰±۹۶/۲۷	۲/۰±۲۱/۳۴	۲/۰±۰۵/۳۱	P=۰/۶
(نانومول/ میلی‌لیتر)	بعد	۱/۰±۹/۲۱	۲/۰±۱۵/۳۲	۲/۰±۰۱/۲۷	
غلظت پروتئین سیرتوین-۱ (نانوگرم/	قبل	۱/۰±۳۴/۲۵	۱/۰±۲۵/۲۴	۱/۰±۴۶/۳۶	P=۰/۹
میلی‌لیتر)	بعد	۱/۰±۳۹/۲۷	۱/۰±۳۱/۲۲	۱/۰±۵/۳۹	
فعالیت تام سیرتوین-۱ واحد فولرسنس	قبل	۱۰۰±۸۹۷/۹	۹۰۲/۷۰±۸/۶	۷۰±۸۶۲/۷	P=۰/۳
(**AFU**)	بعد	۱۰۲±۱۱۱۳*	۱۳۳±۱۱۱۶/۶*	۵۰±۱۰۳۸/۹*	

CR= گروه محدودیت کالری به‌تنهایی، T = گروه تمرین ترکیبی به‌تنهایی، TCR = گروه تمرین‌ترکیبی با محدودیت‌کالری،

* معناداری درون‌گروهی نسبت به حالت پایه

$معناداری بین گروه‌های CR و TCR

#معناداری بین گروه‌های CR وT

† معناداری بین گروه‌های TCRو T

بحث و نتیجه‌گیری

براساس مطالعات موجود، زیرردهٔ سیرتوین-۱ اغلب با استیل‌زدای پروتئین‌های هیستونی و بسیاری از پروتئین‌های سیتوپلاسمی درگیر در فرایندهای پیام‌رسانی[1]درون‌سلولی، از تجمع آسیب‌های وارده به DNA و بروز آسیب‌های متابولیکی، اکسایشی و التهابی درگیر در فرایند پیری و بیماری‌های مرتبط با آن جلوگیری می‌کند (۲۳، ۳). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که با افزایش سن در میزان فعالیت و پروتئین سیرتوین-

1. Signaling

۱، در خون محیطی به‌طور همزمان به‌ترتیب کاهش و افزایش می‌یابد. برای نمونه، کیلیک و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که غلظت سرمی پروتئین سیرتوین-۱ در افراد پیر، دو برابر مقادیر مشاهده‌شده در کودکان است (۲۴). همچنین، نتایج برخی مطالعات حاکی است که سطح سرمی سیرتوین-۱ در بزرگسالان پیر مبتلا به ضعف عمومی بیشتر از افراد پیر فعال و آماده است. این موضوع ممکن است به رابطهٔ فعالیت بدنی با تغییرات این شاخص اشاره داشته باشد (۲۵). به‌نظر می‌رسد افزایش غلظت سیرتوین-۱ در خون محیطی، نوعی پاسخ جبرانی به کاهش ظرفیت ضداکسایشی و افزایش میزان التهاب و آسیب DNA هنگام کاهش فعالیت سیرتوین-۱ در افراد پیر به ظاهر سالم باشد (۲۶، ۲۴). با این حال، افزایش سطح پروتئین سیرتوین-۱ با افزایش سن در خون محیطی با کاهش ضعف و افزایش تودهٔ خالص بدن رابطه دارد (۲۵). از طرفی، نتایج برخی مطالعات حاکی است که غلظت و فعالیت سیرتوین-۱ در افراد چاق و بیمار نسبت به افراد همسن و سالم پایین است (۲۳). با این حال، روند تغییرات بیان سیرتوین-۱ در پاسخ به محدودیت کالری و فعالیت ورزشی معمولاً افزایشی است (۲۸، ۲۷، ۱۲). غلظت پروتئین سیرتوین-۱ در مطالعهٔ حاضر در پاسخ به دو ماه تمرین ترکیبی و محدودیت کالری، حدود ۳ تا ۴ درصد افزایش یافت. بنابراین، این احتمال وجود دارد که افزایش غلظت سیرتوین-۱ ناشی از افزایش بیان این پروتئین باشد. هرچند، ما و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی اثر ۴ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و حجم کم، تغییرات معناداری در بیان پروتئینی سیرتوین-۱ مشاهده نکردند (۲۹). از طرفی، نتایج برخی مطالعات حاکی است که شرکت در یک دوره فعالیت ورزشی ممکن است سبب کاهش محتوای پروتئین سیرتوین-۱ به‌ویژه در عضلات اسکلتی شود؛ هرچند اشاره شده است که فعالیت تام و نسبی سیرتوین-۱ متعاقب یک دوره فعالیت ورزشی افزایش پیدا می‌کند (۳۱، ۳۰). در حقیقت، تغییرات محتوای سیرتوین-۱ بافت‌های مختلف در پاسخ به راهبردهای کاهش وزن، به‌صورت کاهشی، افزایشی یا حتی بدون تغییر گزارش شده است (۲۵، ۹). برای نمونه، در برخی مطالعات گزارش شده است که شش ماه محدودیت کالری با و بدون تمرینات ورزشی سبب افزایش بیان سیرتوین-۱ در عضلهٔ اسکلتی می‌شود. هرچند دامنهٔ تغییرات بیان سیرتوین-۱ متعاقب اعمال محدودیت کالری همراه با تمرین ورزشی کمتر اعلام شده است (۲۷). درحالی‌که یافته‌های مطالعهٔ حاضر نشان داد غلظت پروتئین سیرتوین-۱ درPMBCs پس از اعمال مداخلات تمرین ترکیبی و محدودیت کالری افزایش می‌یابد، البته عدم اندازه‌گیری بیان این پروتئین، از محدودیت‌های مطالعهٔ حاضر به‌شمار می‌رود. به هر حال، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اعمال دو ماه محدودیت کالری و تمرین با و بدون محدودیت کالری سبب افزایش معناداری فعالیت سیرتوین-۱ می‌شود. اگرچه تفاوت حدود ۵ درصدی دامنهٔ تغییرات فعالیت سیرتوین-۱ در گروه تمرین ترکیبی با محدودیت کالری (افزایش

۲۴ درصدی)، نسبت به دو گروه دیگر معنادار نبود (P>۰/۰۵). به‌عبارتی، میزان اثر تمرین ترکیبی با و بدون محدودیت کالری بر فعالیت سیرتوین-۱ نسبتاً مشابه است. شاید نبود اختلاف معناداری ناشی از کوتاه بودن دورهٔ پژوهش برای شرکت‌کننده‌های سالم باشد. به هر حال، نتیجهٔ مطالعهٔ حاضر با نتایج مطالعات مبنی بر بهبود فعالیت سیرتوین-۱ در اثر مداخلهٔ محدودیت کالری و تمرینات بدنی در بافت‌های مختلف همسوست (۲۷، ۷). به‌نظر می‌رسد تغییرات فعالیت سیرتوین-۱ از غلظت و بیان این پروتئین مهم‌تر باشد (۳۱). در این زمینه، برخی محققان پاسخ فعالیت سیرتوین-۱ در PBMCs افراد چاق و کم‌تحرک به محدودیت کالری را به وضعیت توان ضداکسایشی و عملکرد میتوکندری نسبت داده‌اند. برخی محققان نیز معتقدند که تغییرات سیرتوین-۱ متعاقب یک دوره محدودیت کالری و فعالیت ورزشی ممکن است با تغییرات فزایندهٔ نیتریک اکساید پلاسمایی مرتبط باشد (۲۷، ۷). البته در پژوهش حاضر، میزان نیتریک اکساید در خون محیطی افراد شرکت‌کننده اندازه‌گیری نشد. به هر حال، پاسخ فزایندهٔ فعالیت سیرتوین-۱ متعاقب محدودیت کالری و فعالیت ورزشی ممکن است ناشی از افزایش نیتریک اکساید و فرایند استیل‌زدایی آنزیم نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی (eNOS[1]) و افت تولید بنیان‌های آزاد مانند سوپراکسید باشد (۲۳، ۷). افزایش ظرفیت آنزیم‌های ضداکسایندگی برای تعادل واکنش اکسایش- احیا لازم است (۳۳، ۳۲).

البته نتایج حاصل از اندازه‌گیری ظرفیت ضداکسایشی تام افراد شرکت‌کننده در پژوهش حاضر مانند فعالیت سیرتوین-۱ حاکی از افزایش درون‌گروهی در تمامی گروه‌ها (بدون اختلاف معنادار بین‌گروهی) معنادار بود. به‌علاوه نشان داده شده که با تنظیم مثبت سیرتوین-۱ تولید آنزیم‌های ضداکسایشی افزایش پیدا می‌کند (۳۳، ۳۲). به هر حال فعالیت سیرتوین-۱در ارتباط با عملکرد ضداکسایشی و روند پیری، می‌تواند با تأثیر بر مسیر FOXO، NF-KB و داستیله کردن P53 موجب تنظیم و تعدیل آپوپتوز سلولی شود (۳۴، ۲۶). اگرچه سازوکار دقیق تنظیم غلظت و فعالیت سیرتوین-۱ مشخص نیست، تغییرات وضعیت شارژ انرژی سلولی و دسترس بودن سوبسترای NAD^+ برای واکنش سیرتوین-۱ و تغییر اصلاح پس‌ترجمه‌ای در پروتئین سیرتوین-۱ به‌طور ذاتی بسیار مهم است (۳۰). برای نمونه، یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر افزایش فعالیت سیرتوین-۱ و همراه با افزایش غیرمعنادار غلظت سیرتوین-۱ به‌دنبال محدودیت کالری و تمرین ترکیبی ممکن است ناشی از اصلاح کووالانسی یا آلوستریک باشد. البته افزایش فعالیت سیرتوین-۱ می‌تواند مستقل از تغییر در غلظت پروتئینی و یا بیان آن اتفاق بیفتد. برای نمونه، تغییرات وضعیتی

1. Endothelial NO synthase

شارژ انرژی سلولی ممکن است به‌طور مستقیم با تغییرات NAD^+ یا به‌طور غیرمستقیم از طریق پروتئین‌کیناز فعال‌شده با AMP (AMPK) سبب افزایش فعالیت سیرتوین-۱ شود (۳۰، ۳). افزایش فشار اکسایشی ناشی از روند پیری ممکن است موجب افزایش فعالیت PARP[1] (آنزیم مصرف‌کنندهٔ NAD^+ وابسته به بازسازی DNA) و کاهش سطح NAD^+ و به‌تبع آن، کاهش فعالیت سیرتوین-۱ شود (۲۴، ۴). به هر حال، نتایج این پژوهش نشان داد که دو ماه محدودیت کالری به‌تنهایی یا تمرین ترکیبی با و بدون محدودیت کالری می‌تواند به‌طور تقریباً مشابهی افزایش ظرفیت توان ضداکسایشی تام و فعالیت سیرتوین-۱ به‌عنوان یک شاخص بقای سلولی در مردان سالم غیرفعال شود.

با درنظر گرفتن افزایش معنادار ظرفیت‌های جسمانی متعاقب تمرین ترکیبی (به‌ویژه بدون محدودیت کالری) و افت تودهٔ بدون چربی در پی اعمال محدودیت کالری به‌تنهایی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که انجام تمرین ترکیبی (با و بدون محدودیت کالری) برای بهبود و تعدیل سیرتوین-۱ یا شاخص بقای سلولی مناسب‌تر باشد؛ ازاین‌رو، به مردان سالم غیرفعال توصیه می‌شود که به‌منظور بالا بردن فعالیت شاخص بقای سلولی و عامل مؤثر در افزایش طول عمر از مداخلهٔ تمرین ترکیبی و محدودیت کالری طبق دستورالعمل دانشکدهٔ آمریکایی پزشکی ورزشی پیروی کنند.

سپاسگزاری

از همکاری تمامی شرکت‌کننده‌ها در زمینهٔ اجرای مراحل عملی پژوهش، سپاسگزاریم. شایان ذکر است که مقالهٔ حاضر، براساس رسالهٔ دکتری ثبت‌شده در دانشگاه تبریز، تهیه شده است.

منابع مالی

بخشی از بودجهٔ تحقیقاتی توسط منابع مالی دانشگاه تبریز و مابقی به‌طور شخصی تأمین شده است.

منابع و مآخذ

1. DESA U. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Prospects 2019: Highlights. 2019.
2. Wijshake SI, Hayflick L. Cellular ageing and replicative senescence: Springer; 2016.
3. Tang BL. Sirt1 and the Mitochondria. Mol Cells. 2016;39(2):87-95.

1. Poly-ADP Ribose polymerases

4. Imai S. The NAD World: a new systemic regulatory network for metabolism and aging--Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance. Cell Biochem Biophys. 2009;53(2):65-74.
5. Imai S. From heterochromatin islands to the NAD World: a hierarchical view of aging through the functions of mammalian Sirt1 and systemic NAD biosynthesis. Biochim Biophys Acta. 2009;1790(10):997-1004.
6. Ido Y. Diabetic complications within the context of aging: Nicotinamide adenine dinucleotide redox, insulin C-peptide, sirtuin 1-liver kinase B1-adenosine monophosphate-activated protein kinase positive feedback and forkhead box O3. J Diabetes Investig. 2016;7(4):448-58.
7. Crujeiras A, Parra D, Goyenechea E, Martínez J. Sirtuin gene expression in human mononuclear cells is modulated by caloric restriction. European journal of clinical investigation. 2008;38(9):672-8.
8. Handschin C. Caloric restriction and exercise "mimetics": Ready for prime time? Pharmacol Res. 2016;103:158-66.
9. Lee D, Goldberg AL. SIRT1 protein, by blocking the activities of transcription factors FoxO1 and FoxO3, inhibits muscle atrophy and promotes muscle growth. J Biol Chem. 2013;288(42):30515-26.
10. Dirks AJ, Leeuwenburgh C. Caloric restriction in humans: potential pitfalls and health concerns. Mechanisms of ageing and development. 2006;127(1):1-7.
11. Liu H-W, Kao H-H, Wu C-H. Exercise training upregulates SIRT1 to attenuate inflammation and metabolic dysfunction in kidney and liver of diabetic db/db mice. Nutrition & metabolism. 2019;16(1):1-10.
12. Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha protein expressions in rat skeletal muscle. Metabolism. 2008;57(7):986-98.
13. Dumke CL, Davis JM, Murphy EA, Nieman DC, Carmichael MD, Quindry JC, et al. Successive bouts of cycling stimulates genes associated with mitochondrial biogenesis. European journal of applied physiology. 2009;107(4):419.
14. Huang C-C, Wang T, Tung Y-T, Lin W-T. Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC-1α expression levels in rats of different age. International journal of medical sciences. 2016;13(4):260.
15. Palee S, Minta W, Mantor D, Sutham W, Jaiwongkam T, Kerdphoo S, et al. Combination of exercise and calorie restriction exerts greater efficacy on Cardioprotection than monotherapy in obese-insulin resistant rats through the improvement of cardiac calcium regulation. Metabolism. 2019;94:77-87.
16. Wilson JM, Marin PJ, Rhea MR, Wilson SM, Loenneke JP, Anderson JC. Concurrent training: a meta-analysis examining interference of aerobic and resistance exercises. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2012;26(8):2293-307.
17. Baar K. Using molecular biology to maximize concurrent training. Sports Medicine. 2014;44(2):117-25.

18. Roldan M, Agerholm M, Nielsen TS, Consitt LA, Søgaard D, Helge JW, et al. Aerobic and resistance exercise training reverses age-dependent decline in NAD+ salvage capacity in human skeletal muscle. Physiological reports. 2019;7(12).
19. Cunningham JJ. Body composition as a determinant of energy expenditure: a synthetic review and a proposed general prediction equation. The American journal of clinical nutrition. 1991;54(6):963-9.
20. Riebi. ACSMs Guidelines for exercise testing and prescription, Thenth edition. American College of Sports Medicine. 2018:p150.
21. Penry JT, Wilcox AR, Yun J. Validity and reliability analysis of Cooper's 12-minute run and the multistage shuttle run in healthy adults. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2011;25(3):597-605.
22. Brzycki M. Strength testing—predicting a one-rep max from reps-to-fatigue. Journal of Physical Education, Recreation & Dance. 1993;64(1):88-90.
23. Lin Z, Fang D. The Roles of SIRT1 in Cancer. Genes Cancer. 2013;4(3-4):97-104.
24. Kilic U, Gok O, Erenberk U, Dundaroz MR, Torun E, Kucukardali Y, et al. A remarkable age-related increase in SIRT1 protein expression against oxidative stress in elderly: SIRT1 gene variants and longevity in human. PloS one. 2015;10(3):e0117954.
25. Ma L, Niu H, Sha G, Zhang Y, Liu P, Li Y. Serum SIRT1 is Associated with Frailty and Adipokines in Older Adults. The journal of nutrition, health & aging. 2019;23(3):246-50.
26. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: impact on the aging process. International journal of molecular sciences. 2013;14(2):3834-59.
27. Civitarese AE, Carling S, Heilbronn LK, Hulver MH, Ukropcova B, Deutsch WA, et al. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. PLoS med. 2007;4(3):e76.
28. Mansur AP, Roggerio A, Goes MF, Avakian SD, Leal DP, Maranhão RC, et al. Serum concentrations and gene expression of sirtuin 1 in healthy and slightly overweight subjects after caloric restriction or resveratrol supplementation: A randomized trial. International journal of cardiology. 2017;227:788-94.
29. Ma JK, Scribbans TD, Edgett BA, Boyd JC, Simpson CA, Little JP, et al. Extremely low-volume, high-intensity interval training improves exercise capacity and increases mitochondrial protein content in human skeletal muscle. Open Journal of Molecular and Integrative Physiology. 2013;3(04):202.
30. Gurd BJ, Perry CG, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Bonen A. High-intensity interval training increases SIRT1 activity in human skeletal muscle. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2010;35(3):350-7.
31. Gurd BJ, Yoshida Y, McFarlan JT, Holloway GP, Moyes CD, Heigenhauser GJ, et al. Nuclear SIRT1 activity, but not protein content, regulates mitochondrial biogenesis in rat and human skeletal muscle. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2011;301(1):R67-R75.

32. Cheng Y, Takeuchi H, Sonobe Y, Jin S, Wang Y, Horiuchi H, et al. Sirtuin 1 attenuates oxidative stress via upregulation of superoxide dismutase 2 and catalase in astrocytes. Journal of neuroimmunology. 2014;269(1-2):38-43.
33. Rippe C, Lesniewski L, Connell M, LaRocca T, Donato A, Seals D. Short-term calorie restriction reverses vascular endothelial dysfunction in old mice by increasing nitric oxide and reducing oxidative stress. Aging cell. 2010;9(3):304-12.
34. Wu J, Xia S, Kalionis B, Wan W, Sun T. The role of oxidative stress and inflammation in cardiovascular aging. BioMed research international. 2014;2014.

The Effect of Two-month Concurrent Training with and without Calorie Restriction on Sirtuin-1 Activity and Content in the Peripheral Blood Mononuclear Cells of Inactive Men

Afshar Jafari*[1] - Farid Etemadian[2] - Ali Akbar Malekirad[3] - Behzad Baradaran[4]

1. a: Associate Professor, Department of exercise physiology, Faculty of physical education and sport sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran,b: Associate Professor, Department of Biological Sciences in Sport, Faculty of Sport Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran 2. PhD Student, Department of exercise physiology, Faculty of physical education and sport sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran 3. Associate Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran 4. Associate Professor, Department of Immunology research center, faculty of medicine, Tabriz University of medical sciences, Tabriz, Iran

(Received :2020/08/16 ; Accepted:2020/09/15)

Abstract

Sirtuins have become prominent molecules in the aging process. Therefore, the present study was conducted to compare the effect of two months of concurrent training with and without calorie restriction on sirtuin-1 activity and content in the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of inactive men. Therefore, thirty inactive men participated in three homogeneous groups: calorie restriction (CR: n=10), concurrent training (T: n=10), and concurrent training with calorie restriction (TCR: n=10). The calorie restriction was about -30 $kcal \cdot kg^{-1} \cdot week^{-1}$. The training consisted of five days a week (Resistance Training: two sessions / $week^{-1}$, and High- Intensity Interval Training: three sessions / $week^{-1}$) .Sirtuin-1 content and activity in PBMCs were measured by ELISA and fluorometric assay, respectively. To measure oxidative stress, Plasma total antioxidant capacity (TAC) and serum malondialdehyde (MDA) levels were determined by FRAP and spectrophotometry, respectively. Data were analyzed using analysis of variance at a significance level ≤ 0.05. The results showed that Sirtuin-1 activity and TAC of all three groups were significantly increased after two-month interventions ($P< 0.05$). However, the changes in sirtuin-1 content and MDA levels were not significant in any groups ($P> 0.05$). Given the optimal changes in sirtuin-1 activity in PBMCs, TAC, and somebody composition components following two-months of concurrent training without calorie restriction, it can be concluded that concurrent training may be a more appropriate intervention for modulating the cell survival indicator in inactive men.

Keywords

Cell Survival; Aging; Diet Therapy; Oxidative Stress; Exercise.

* Corresponding Author: Email: af_jafari@sbu.ac.ir ; Tel: +989141168561