

اثر تمرین تناوبی و مصرف مکمل نانو سلنیوم بر بیان ژن‌های HSP70 و PGC-1 α بیضه در رت‌های تحت القای دگزامتازون

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۲

خلاصه

مقدمه: تمرین ورزشی و سلنیوم راهکاری مؤثر برای تقویت سیستم ایمنی است. هدف از این پژوهش تأثیر تمرین تناوبی و مصرف مکمل نانو سلنیوم بر بیان ژن‌های HSP70 و PGC-1 α بیضه در رت‌های تحت القای دگزامتازون است.

روش کار: ۴۰ سر رت نژاد ویستار در محدوده سنی ۱۰ هفته که به طور تصادفی در ۵ گروه ۸ نفره (سالم، تحت القای دگزامتازون (بیمار)، بیمار+تمرین تناوبی طولانی مدت، بیمار+ مصرف مکمل نانو سلنیوم، بیمار+تمرین تناوبی طولانی مدت+ مصرف مکمل نانو سلنیوم) تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل ۱۲-۵ تکرار ۱ دقیقه‌ای دویدن روی نوارگردان جوندگان با شدت ۲۴ تا ۳۰ متر در دقیقه، معادل ۷۵ تا ۱۰۰ درصد بیشینه اکسیژن مصرفی، با فواصل استراحت فعال ۷۵ ثانیه‌ای بود. این تمرینات شش روز در هفته به مدت چهار هفته اجرا شد. محلول نانوذرات سلنیوم آماده شده، به میزان ۱۰۰ میلی گرم در سایز ۲۵۰ نانومتر به صورت گاوآژ و یک روز درمیان به موش‌ها داده شد. از تحلیل واریانس سه راهه برای تعیین اختلاف در متغیرهای بین گروه‌ها در سطح معناداری ($P < 0.05$) استفاده شد. کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار Excel و SPSS نسخه ۲۵ انجام گرفت.

نتایج: نتایج به دست آمده از پژوهش نشان داد تمرین تناوبی منجر به افزایش معنادار HSP70 شد ($P < 0.05$). همچنین بیان ژن PGC-1 α در گروه مکمل نانو سلنیوم و تمرین تناوبی منجر به افزایش معناداری شد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: با توجه به پژوهش حاضر به نظر می‌رسد تمرین تناوبی و مصرف مکمل نانو سلنیوم منجر به افزایش معنادار HSP70 و PGC-1 α می‌شود که نقش مهمی در بهبود عملکرد ایمنی، بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی دارد.

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی، مکمل نانو سلنیوم، HSP70، PGC-1 α ، دگزامتازون
پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

امید سلیمانی قلعه^۱

شاهین ریاحی ملایری^{۲*}

بهرام عابدی^۳

^۱کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد

اسلامی تهران، ایران

^۲استاد یار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی تهران،

ایران

^۳استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات،

ایران

Email: shahinriyahi@yahoo.com

مقدمه

دگرآماتازون، یک گلوکوکورتیکوئید مصنوعی که به عنوان یک داروی سرکوب کننده سیستم ایمنی و ضدالتهابی در سراسر جهان استفاده می‌شود. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که گلوکوکورتیکوئیدها بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژی از جمله تولید مثل تأثیر می‌گذارند (۱). مقادیر بالای در گردش گلوکوکورتیکوئید، فعالیت بیضه را در مردان مهار می‌کند. همچنین، تزریق دگرآماتازون باعث کاهش سطح تستوسترون در مطالعات حیوانی از جمله گاو نر، قوچ، اسب و جوندگان شده است (۲، ۳). نشان داده شده است که دگرآماتازون با مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش متعاقب آن در PCNA، آپوپتوز بیضه را تحریک می‌کند. اگرچه شواهدی نیز نشان داده‌اند که دگرآماتازون باعث کاهش آپوپتوز سلولی در بیضه طرف مقابل می‌شود. همچنین دگرآماتازون باعث انحطاط سلول‌های زایا و اختلال در تولید اسپرم در موش می‌شود (۴، ۵). همچنین از نظر متابولیسمی، یک دوز واحد دگرآماتازون ممکن است به طور قابل توجهی متابولیسم کربوهیدرات و چربی را تغییر دهد و باعث عدم تحمل گلوکز شود (۶). PGC-1 α نقش مهمی در حفظ هموستاز گلوکز، لیپید و انرژی در کبد دارد (۱). همچنین PGC-1 α در متابولیسم اکسیداتیو در بافت‌های مختلف نقش دارد و به عنوان یک فعال کننده گیرنده گلوکوکورتیکوئید نامیده می‌شود. از طرفی، دگرآماتازون در دوزهای بالا می‌تواند بیان فاکتور رشد هیپاتوسیت را از طریق گیرنده گلوکوکورتیکوئید مهار کند و فعالیت تکثیری آنها را همراه با تخریب لیپید کاهش دهد (۷). گزارش شده است که PGC-1 α در تنظیم استروئیدوژنز و سیستم آنتی اکسیدانی بیضه نقش دارد. در مطالعه آنی و همکاران (۲۰۱۸) تزریق دگرآماتازون به طور قابل توجهی بیان PGC-1 α را در بیضه موشها کاهش داد (۱). همچنین، این نتایج با گزارش‌های قبلی که دگرآماتازون PGC-1 α را کاهش می‌دهد مطابقت دارد (۸). از سوی دیگر، اسپرم‌زایی طبیعی تا حد زیادی به سنتز چندین پروتئین در هر نوع سلول زایای خاص بستگی دارد.

خانواده‌های مختلفی از پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) همچون HSP70 نقش‌های رشدی حیاتی را در اسپرم‌زایی پستانداران ایفا می‌کنند (۹). همچنین مطالعات پیشین نشان داده‌اند، سلول‌های زایای بیضه تحت شرایط اکسیداتیو استرس سطوح بالایی از پروتئین‌های HSP70 را تولید می‌کنند. در مطالعات آزمایشگاهی نشان داده شده است، HSP70 بطور اختصاصی در سطوح بالایی در اسپرماتوسیت‌های پاکتین در طول فاز میوز اسپرماتوژنز بیان می‌شود (۹). همچنین، HSP70 با سرکوب پاسخ‌های ایمنی پیش‌التهابی در واکنش‌های التهابی مختلف سیستم‌های تولید مثل و گوارش تعامل دارد (۱۰). در همین راستا، نونو و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند درمان رت‌ها با دگرآماتازون منجر به افزایش قابل توجه سطح HSP70 سرم شد (۱۱). طی دهه‌های اخیر مشخص شده که گونه‌های واکنشی اکسیژن در ایجاد بخش عمده‌ای از انواع ناباروری مردان نقش دارد و علت آن تولید بیش از حد گونه‌های واکنشی اکسیژن یا کاهش ظرفیت سیستم آنتی اکسیدانی دستگاه تناسلی و اسپرم می‌باشد (۱۲). تمرین ورزشی نیز به عنوان یک وضعیت استرسی شناخته شده که موجب برهم خوردن تعادل هموستاز بدن می‌شود (۱۳-۱۵). مطالعات زیادی تولید سلول‌ها و سایتوکین‌ها ایمنی را به علت تمرین ورزشی نشان داده است که تقویت سیستم ایمنی را در پی داشته‌اند (۱۶)، از طرفی، سلنیوم به عنوان یک آنتی اکسیدان که به مقدار زیاد در فرآورده‌های دریایی، جگر و غلات یافت می‌شود (۱۷). این عنصر برای سیستم آنتی اکسیدانی داخل سلولی به عنوان کوفاکتور آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز است، به طوری که آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز اثرات ویتامین E را تکمیل می‌کند (۱۸). بیضه یکی از ارگانهای مهم هدف برای سلنیوم است. غلظت سلنیوم بافت بیضه در طول بلوغ با شروع اسپرماتوژنز افزایش می‌یابد. شاید علت غلظت بالای سلنیوم در بیضه نقش حمایتی آن و نیز دخالت آن در ساختمان آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز موجود در بافت بیضه باشد (۱۹). مقادیر بالای دگرآماتازون، فعالیت بیضه را در مردان مهار

آشناسازی، از موش‌ها جهت اندازه‌گیری حداکثر سرعت آزمون وامانده ساز گرفته شد. برای آزمون تعیین بیشینه سرعت، موش‌ها چهار ساعت پیش از آزمون ناشتا بودند و آزمون بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح اجرا شد. حیوانات با سرعت ۵ متر در دقیقه به مدت ۵ دقیقه برنامه گرم کردن را اجرا و سپس آزمون را با سرعت ۹ متر در دقیقه شروع کردند. در ادامه آزمون، سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه ۲ متر در دقیقه افزوده شد تا حیوان به واماندگی برسد. معیار واماندگی حیوان عدم توانایی در بازگشت به دویدن روی نوارگردان در مدت زمان ۱۰ ثانیه بود (۲۰).

نحوه تضعیف سیستم ایمنی توسط داروی دگزامتازون

برای تضعیف سیستم ایمنی موش‌ها مقدار ۰/۴ mg/kg/d دگزامتازون (ساخت شرکت اسوه ایران) به مدت سه روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۲۱).

مصرف نانوذرات سلنیوم

برای آماده کردن نانوذرات سلنیوم به طور خلاصه محلول ۵/۲ میلی‌مولار دی‌اکسید سلنیوم آماده و به محلول ۵/۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک در حال میکس شدن اضافه گردید. ترکیب به دست آمده سانتیفریوژ و با استفاده از کاغذ صافی شستشو شد. محلول نانوذرات سلنیوم آماده شده، به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در سایز ۲۵۰ نانومتر از موش‌ها به صورت گاواژ و یک روز درمیان تزریق گردید (۲۲).

پروتکل تمرینی

تمرین تناوبی شامل دویدن روی نوارگردان جوندگان با سرعت ۲۴ تا ۳۰ متر در دقیقه معادل ۷۵ تا ۱۰۰ درصد بیشینه اکسیژن مصرفی شش روز در هفته به مدت چهار هفته اجرا شد. (۲۳). که در جدول ۱ پروتکل تمرین نشان داده شده است.

بافت برداری و آنالیز بیوشیمیایی متغیرها

در پایان مداخلات تمرین و مکملدهی، رت‌ها به آزمایشگاه برده و قربانی شدند و نمونه بافت ژن‌های HSP70 و PGC-1α جهت بررسی بیان ژن‌ها گرفته شد. در هر گروه بررسی بافت‌ها از تکنیک PCR Real Time استفاده گردید. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها

میکند (۲)؛ همچنین، تزریق دگزامتازون باعث کاهش سطح تستوسترون در مطالعات حیوانی شده است (۴، ۵). از طرفی، سلنیوم قادر به کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد. همچنین، مطالعات زیادی به نقش موثر فعالیت ورزشی بر تقویت سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی اشاره کرده اند اما هنوز در مورد اینکه تمرینات تناوبی همراه با مکمل نانو سلنیوم می‌تواند نقش موثرتری بر کاهش اثرات منفی دگزامتازون در بافت بیضه داشته باشد مطالعه‌های محدودی وجود دارد. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر همزمان تمرین تناوبی و مکمل نانو سلنیوم بر بیان ژن‌های HSP70 و PGC-1α بیضه در رت‌های تحت القای دگزامتازون است.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع تحقیق تجربی و طرح پژوهش پس‌آزمون با پنج گروه انجام گرفت. در این مطالعه ۴۰ سر رت نژاد ویستار در محدوده سنی ۱۰ هفته بود که به طور تصادفی در ۵ گروه ۸ نفره سالم، تحت القای دگزامتازون (بیمار)، بیمار+تمرین تناوبی، بیمار+ مصرف مکمل نانوسلنیوم، بیمار+تمرین تناوبی + مصرف مکمل نانوسلنیوم تقسیم شدند. همچنین این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه آزاد اسلامی تهران شرق به شماره ثبتی IR.IAU.ET.REC.1401.013 است. تعداد ۴۰ رت نژاد ویستار نر در سن هشت هفتگی از موسسه انستیتو پاستور تهیه شد. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات بخش فیزیولوژی در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی شش صبح و شروع خاموشی شش عصر) دما (۲۲±۳ سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. تعداد سه تا پنج عدد رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگهداری که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. پس از سه روز آشناسازی با محیط نگهداری، حیوانات به مدت یک هفته روزانه به مدت ۱۰ دقیقه و پنج بار در هفته با تردمیل و چگونگی دویدن بر روی آن آشنا شدند. پس از ۴۸ ساعت استراحت از آخرین جلسه

Reverse: 5'-
CCCCATTTGATGTTAGCGGG
-3'

نتایج

به منظور بررسی اثر تمرین تناوبی و مصرف نانوسلنیوم بر بیان ژن HSP70 در رت‌های تحت القای دگرگزامتازون یک تحلیل واریانس سه راهه انجام شد. نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس سه راهه نشان داد میانگین‌ها در دو گروه بیمار (۰/۱۳ = P)، تمرین (۰/۳۲ = P) در مورد HSP70 تفاوت معنی داری آماری وجود دارد. بنابراین تمرین تناوبی به تنهایی بر بیان ژن HSP70 کبدی رت‌های تحت القای دگرگزامتازون تاثیر معنی داری دارد و باعث افزایش آن می‌شود. اثر متقابل بین تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل نانو سلنیوم بر ژن HSP70 با توجه به سطح معنی داری (۰/۲۶۶ = P) معنی داری بزرگتر از ۰/۰۵ تفاوت معنی داری وجود ندارد.

از طرفی نتایج نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس سه راهه نشان داد میانگین‌ها در سه گروه بیمار (۰/۰۰۲ = P)، مکمل (۰/۰۰۲ = P)، تمرین (۰/۰۰۰ = P) در مورد PGC-1 α تفاوت معنی داری آماری وجود دارد. و دگرگزامتازون باعث کاهش PGC-1 α می‌شود و تمرین تناوبی و نانوسلنیوم باعث افزایش آن می‌شود. بنابراین مصرف مکمل نانو سلنیوم و تمرین تناوبی هر کدام به تنهایی بر بیان ژن PGC-1 α کبدی رت‌های تحت القای دگرگزامتازون تاثیر معنی داری دارد. اثر متقابل بین تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل نانو سلنیوم بر ژن PGC-1 α با توجه به سطح معنی داری (۰/۲۶۴ = P) معنی داری بزرگتر از ۰/۰۵ تفاوت معنی داری وجود ندارد.

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس سه راهه برای

عامل	مجموع مجذور	d f	میانگین مجذور	F	Sig	HSP70 در پنج گروه پژوهش	
						اندازه اثر	معنی داری
مدل	۲/۳۰۲	۴	۰/۵۷۶	۱۹/۲۶	۰/۰۰۰*	۰/۶۸۸	
بیمار(دگرگ)	۰/۳۱۹	۱	۰/۳۱۹	۱۰/۶۶	۰/۰۰۲*	۰/۳۳۳	
مکمل	۰/۸۱۷	۱	۰/۸۱۷	۳/۹۱	۰/۰۵۶	۰/۱۰۱	
تمرین	۰/۷۷۲	۱	۰/۷۷۲	۲۵/۸۳	۰/۰۰۰*	۰/۴۲۵	

استخراج و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شد و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. این تکنیک دارای ۴ مرحله اساسی بود:

۱. RNA کل از سلول‌های جمعاوری شده در هر گروه استخراج گردید. ۲. با استفاده از آنزیم کپی برداری معکوس به cDNA تبدیل شد. ۳. cDNA حاصل جهت حذف DNA ژنومی با آنزیم DNase I تیمار شد. ۴. به روش PCR Real time تکثیر گردید. جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. همچنین جهت کمی‌سازی بیان mRNA HSP70 و PGC-1 α از روش $\Delta\Delta CT$ مقایسه‌ای استفاده گردید.

اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS ۲۵ در سطح معناداری $p < 0/05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون تحلیل واریانس سه راهه جهت مقایسه میانگین‌ها در پنج گروه استفاده شد.

جدول ۱. پروتکل تمرینی

هفته	(شدت فعالیت سبک) مدت فعالیت سبک ×
هفته	۷۵sec (۵m/min) × ۱ min (۲۴m/min) × ۵
هفته	۷۵sec (۵m/min) × ۱ min (۲۶m/min) × ۸
هفته	۷۵sec (۵m/min) × ۱ min (۲۸m/min) × ۱۰
هفته	۷۵sec (۵m/min) × ۱ min (۳۰m/min) × ۱۲

جدول ۲. توالی پرایمرها

Genes name	Primer sequences
1 PGC1 alpha (PPARGC1 A)	Forward: 5'- CACCAAACCCACAGAGAAC AG-3'
	Reverse: 5'- GGTGACTCTGGGGTCAGAG- 3'
2 HSP70	Forward: 5'- ACCGTGGAGCCCGGGAGAA G-3'
	Reverse: 5'- TTGGTGGGGATGGTGGAGTT G-3'
3 GAPDH	Forward: 5'- CAAGTTCAGGGCACAGTC A-3'

شده وضعیت التهابی است و به طور گسترده‌ای به عنوان ابزاری برای پیشگیری و درمان بیماری‌های مربوط به التهاب و تقویت سیستم ایمنی توصیه می‌شود (۲۶). برخی از مکانیسم‌های پیشنهادی اصلی برای اثرات ضد التهابی ورزش عبارتند از: ۱. کاهش توده چربی احشایی (با کاهش انتشار آدیپوکین‌های التهابی و کاهش فعال‌سازی مزمن محور HPA). ۲. فعال شدن حاد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و سیستم عصبی سمپاتیک: باعث مهار TNF- α توسط مونوسیت‌ها می‌شود. ۳. آزادسازی میوکین (مانند IL-6) با انقباض عضلات اسکلتی: ایجاد چندین اثر ضد التهابی ۴. افزایش انتشار IL-10 (از سلول‌های T تنظیمی). ۵. کاهش نفوذ ماکروفاژ و تغییر از M1 به M2 فوטיפ ماکروفاژ. ۶. کاهش گیرنده ۴ (TLR4): گیرنده‌ای که باعث فعال شدن مسیرهای التهابی می‌شود. ۷. افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (در نتیجه کاهش فعالیت فاکتورهای هسته‌ای وابسته به ردوکس التهابی مانند NF- κ B) ۸. افزایش HSR (بیان HSP70) (۲۸, ۲۷). نتایج پژوهش تاروردی زاده و همکاران با نتایج پژوهش حاضر ناهمسو بود. از دلایل ناهمسو بودن می‌توان به نوع آزمودنی و بافت مورد نظر اشاره کرد در پژوهش تاروردی زاده و همکاران تست‌ها انسانی بود و روی بافت سینه زنان بود، اما در پژوهش حاضر تست روی رت‌های نر و بافت بیضه بوده است (۲۹). دیگر نتیجه مطالعه حاضر نشان داد مصرف مکمل نانو سلنیوم و تمرین تناوبی هر کدام به تنهایی بر بیان ژن PGC1 α بیضه رت‌های تحت القای دگرا متازون تاثیر معنی داری دارد و باعث افزایش آن می‌شود. اثر متقابل بین تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل نانو سلنیوم بر ژن PGC1 α تفاوت معنی داری وجود ندارد. نتایج پژوهش باقریان و همکاران، با قدم و همکاران، ممینی و همکاران با نتایج پژوهش حاضر همسو بود (۳۲-۳۰). برخی مطالعات نشان دادند که تمرین تناوبی باعث افزایش آبشار PGC1 α می‌شود در نتیجه PGC1 α می‌تواند تنظیم عملکرد میتوکندری و ظرفیت اکسیداتیو را بهبود ببخشد (۳۱). و در نهایت احتمالاً به بهبود عملکرد بافت بیضه تحت القای دگرا متازون قرار گرفته منجر می‌شود.

عامل	مجموع مجذورات	df	میانگین مجذورات	F	Sig	اندازه اثر
مدل	۹/۶۴۰	۴	۲/۴۱۰	۱۴/۴۲	۰/۰۰۰*	۰/۶۲۳
بیمار (دگرا)	۱/۸۹	۱	۱/۸۹	۱۱/۳۳	۰/۰۰۲*	۰/۲۴۵
مکمل	۱/۹۴	۱	۱/۹۴	۱/۶۵	۰/۰۰۲*	۰/۲۵۰
تمرین	۷/۴۶	۱	۷/۴۶	۴۴/۸۱	۰/۰۰۰*	۰/۵۶۱
مکمل × تمرین	۰/۲۱۵	۱	۰/۲۱۵	۱/۲۸	۰/۲۶۴	۰/۰۳۵

* سطح معنی داری (P < ۰/۰۵) در نظر گرفته شده است

بحث

در این مطالعه بررسی نتایج نشان داد تمرین تناوبی به تنهایی بر بیان ژن HSP70 رت‌های تحت القای دگرا متازون تاثیر معنی داری دارد و موجب افزایش آن می‌شود. همسو با نتایج حاضر عیسی نژاد و همکاران نشان دادند ۸ هفته تمرینات هوازی موجب افزایش معنادار سطوح سرمی HSP70 در موش‌های صحرایی شد (۲۴). با این وجود که در موش‌های مطالعه حاضر سیستم ایمنی موش‌ها سرکوب شده بود با این حال تمرین تناوبی باعث افزایش HSP70 شد. با توجه به اینکه یکی از مهمترین اعمال HSP70 در محیط برون سلولی تحریک سلولهای ایمنی و افزایش تولید سایتوکین‌های پیش التهابی است. بنابراین انتظار می‌رود تمرین به تنهایی نقش اساسی در بهبود عملکرد ایمنی داشته باشد. البته قابل ذکر است HSP70 در گروه سلنیوم و تعامل تمرین تناوبی و سلنیوم افزایش داشته ولی معنی دار نشده است. با توجه به تضعیف ایمنی ابتلا به التهاب سیستمیک افزایش سطوح سایتوکین‌های پیش التهابی مشاهده می‌شود، از اینرو با توجه به نقش پروتئین شوک گرمایی در محافظت سلولی از آسیب و تحریک کنندگی سیستم ایمنی ذاتی و جلوگیری از التهاب، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش بیان ژن HSP70 می‌تواند نقش مثبتی بر بهبود ایمنی سلول‌های بیضه بر اثر دگرا متازون تضعیف شده است، داشته باشد (۲۵). بطور کلی تمرین ورزشی یک تعدیل کننده شناخته

است. سلولها به واسطه تغییر در این اندامک که سازش پذیری مورفولوژیک و عملکردی بسیار بالایی دارد، به تغییرات فیزیولوژیک، متابولیک و پاتولوژیک پاسخ می‌دهد. بدن در شرایط فیزیولوژیک گوناگونی دست خوش بیورژنر میتوکنندری می‌شود از جمله این شرایط می‌توان به افزایش توانمندی عضلات اسکلتی در پی انجام تمرینات ورزشی و پاسخ دهی نرمال بافت به هورمون‌های تیروئیدی اشاره کرد (۳۶) α -PGC1 نقش محوری در بیورژنر میتوکنندری دارد و تنظیم کننده اصلی محسوب می‌شود α -PGC1 از طریق فعال کردن فاکتورهای رونویسی ویژه‌ای به نام‌های فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ۲ نقش خود را ایفا میکند. این عوامل رونویسی سبب افزایش بیان ژنهای میتوکندریایی کد شونده توسط هسته و نیز افزایش بیان فاکتور رونویسی میتوکنندری می‌شوند. احتمالاً تاثیر تمرین تناوبی و مکمل نانوسلنیوم که باعث افزایش α -PGC1 شد و بهبود عملکرد ایمنی و همچنین تاثیر در عملکرد میتوکنندری بافت بیضه می‌گذارد می‌تواند در نهایت منجر به تحرک اسپرم شود.

نتیجه گیری

با توجه به پژوهش حاضر به نظر می‌رسد تمرین تناوبی و مصرف مکمل نانوسلنیوم منجر به افزایش معنادار HSP70 و α -PGC1 می‌شود که نقش مهمی در بهبود عملکرد ایمنی، بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی دارد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر حاصل یافته‌های پایان نامه کارشناسی ارشد، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق می‌باشد. همچنین پژوهشگرها مراتب قدردانی و تشکر خود را از مسئولان محترم آزمایشگاه که در این طرح ما را یاری فرمودند، اعلام می‌دارند.

در مطالعات مختلف اثر مکمل سلنیوم به فرم آلی و غیرآلی بر پارامترهای کمی اسپرم مورد بررسی قرار گرفته است. اندازه-گیری پارامترهای بیوشیمیایی مایع منی و پارامترهای مربوط به اسپرم هر کدام به تنهایی میتواند نشانگر کیفیت مایع منی در موجودات مختلف باشد. تا به امروز از نمکهای معدنی غیرآلی مانند سلنیت سدیم و یا سلنات و اشکالی دیگر مانند مخمر غنی شده با سلنیوم و یا سلنوتیونین به صورت تجاری استفاده شده است. در این تحقیق از نانوذرات سلنیوم برای بررسی تاثیر این عنصر بر عملکرد ایمنی استفاده شد. غشای پلاسمایی اسپرم برای نگه داشتن اندامکها و اجزای داخل سلولی، آن را احاطه کرده است و با ویژگیهای نیمه تراوایی خود گرادیان شیمیایی یونها و دیگر اجزای محلول را حفظ می‌کند. اگر غشای پلاسمایی اسپرم آسیب ببیند باید اسپرم را مرده در نظر گرفت و در داخل بدن قادر به باروری نیست (۳۳). فاکتوری که بیشترین تاثیر را بر تحرک اسپرم می‌گذارد، میتوکنندری‌های موجود در قطعه میانی است که به اسپرم توان تحرک می‌دهد. پروکسیداسیون لیپیدی به همراه کاهش فعالیت آنزیم گلوکاتایون پروکسیداز باعث شکنندگی کپسول میتوکنندری و تغییر یافتگی قطعه میانی اسپرم و کاهش تحرک آنها می‌شود. سلنیوم که برای سیستم آنتی اکسیدانی داخل سلول به عنوان کوفاکتور آنزیم گلوکاتایون پروکسیداز عمل می‌کند برای ایجاد انرژی جهت حرکت اسپرم ضروری می‌باشد همچنین کمبود این عنصر در موشهای صحرایی باعث تغییر شکل غیر طبیعی دمهای اسپرما توژوئید و بی حرکت شدن آنها می‌گردد (۳۴). جرویس و روبایر نشان دادند که استرس اکسیداتیو با فرایند پیری در موشها ارتباط دارد و این موضوع مهمترین علت کاهش کیفیت اسپرم در موشهای مسن می‌باشد (۳۵). عملکرد میتوکنندری فراتر از مرزهای سلول است و با تنظیم ارتباط بین سلولها و بافتها، بر فیزیولوژی موجود زنده اثر می‌گذارد. بنابراین اختلال در عملکرد میتوکنندریها، عامل اساسی در بروز بسیاری از بیماریها مثل دیابت و بیماریهای مرتبط با ایمن است. تعادل بیورژنر و میتوفاژی میتوکنندریها برای تنظیم و تعدیل فرآیندهایی همچون متابولیسم سلول و تولید انرژی، سیگنالینگ کلسیم، تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن، آپوپتوز و روند پیری امری حیاتی

References

- Annie L, Gurusubramanian G, Kumar Roy V. Dexamethasone mediated downregulation of PGC-1α and visfatin regulates testosterone synthesis and antioxidant system in mouse testis. *Acta Histochem.* 2019 Feb;121(2):182-188. doi: 10.1016/j.acthis.2018.12.004. Epub 2018 Dec 19. PMID: 30579591.
- Whirlledge S, Cidlowski JA. Glucocorticoids, stress, and fertility. *Minerva Endocrinol.* 2010 Jun;35(2):109-25. PMID: 20595939; PMCID: PMC3547681.
- Vieira JS, Saraiva KL, Barbosa MC, Porto RC, Cresto JC, Peixoto CA, Wanderley MI, Udrisar DP. Effect of dexamethasone and testosterone treatment on the regulation of insulin-degrading enzyme and cellular changes in ventral rat prostate after castration. *Int J Exp Pathol.* 2011 Aug;92(4):272-80. doi: 10.1111/j.1365-2613.2011.00772.x. Epub 2011 Apr 21. PMID: 21507087; PMCID: PMC3144516.
- Orazizadeh M, Khorsandi LS, Hashemitabar M. Toxic effects of dexamethasone on mouse testicular germ cells. *Andrologia.* 2010 Aug;42(4):247-53. doi: 10.1111/j.1439-0272.2009.00985.x. PMID: 20629648.
- Er H, Acar N, Kipmen-Korgun D, Celik-Ozenci C, Ustunel I, Asar M, Korgun ET. Determination of PCNA, cyclin D3, p27, p57 and apoptosis rate in normal and dexamethasone-induced intrauterine growth restricted rat placentas. *Acta Histochem.* 2015 Mar;117(2):137-47. doi: 10.1016/j.acthis.2014.11.010. Epub 2015 Jan 13. PMID: 25596037.
- Kewalramani G, Puthanveetil P, Kim MS, Wang F, Lee V, Hau N, Beheshti E, Ng N, Abrahani A, Rodrigues B. Acute dexamethasone-induced increase in cardiac lipoprotein lipase requires activation of both Akt and stress kinases. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008 Jul;295(1):E137-47. doi: 10.1152/ajpendo.00004.2008. Epub 2008 May 6. PMID: 18460599.
- Rius-Pérez S, Torres-Cuevas I, Millán I, Ortega ÁL, Pérez S. PGC-1α, Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Mar 9;2020:1452696. doi: 10.1155/2020/1452696. PMID: 32215168; PMCID: PMC7085407.
- Rahnert JA, Zheng B, Hudson MB, Woodworth-Hobbs ME, Price SR. Glucocorticoids Alter CRTC-CREB Signaling in Muscle Cells: Impact on PGC-1α Expression and Atrophy Markers. *PLoS One.* 2016 Jul 12;11(7):e0159181. doi: 10.1371/journal.pone.0159181. PMID: 27404111; PMCID: PMC4942104.
- Widlak W. Odpowiedź na stres komórkowy i ekspresja genów HSP70 w meskich komórkach rozrodczych [The heat shock response and HSP70 gene expression in male germ cells]. *Postepy Biochem.* 2006;52(3):289-95. Polish. PMID: 17201064.
- Asano T, Tanaka K, Yamakawa N, Adachi H, Sobue G, Goto H, Takeuchi K, Mizushima T. HSP70 confers protection against indomethacin-induced lesions of the small intestine. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009 Aug;330(2):458-67. doi: 10.1124/jpet.109.152181. Epub 2009 May 20. PMID: 19458285.
- Asano T, Tanaka K, Yamakawa N, Adachi H, Sobue G, Goto H, Takeuchi K, Mizushima T. HSP70 confers protection against indomethacin-induced lesions of the small intestine. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009 Aug;330(2):458-67. doi: 10.1124/jpet.109.152181. Epub 2009 May 20. PMID: 19458285.
- Fanaeei H, Azizi Y, Khayat S. The role of stress oxidative in infertility male. A review *Fasa Medical University Journal (FMUJ).* 2014;2:93-103.
- Hosseini M, Eftekhari B, Riyahi Malayeri S. Effect of Interval Training with Curcumin Consumption on Some Adipokines in Menopausal Obese Rats. *JRUMS.* 2017; 16 (6) :505-516 URL: <http://journal.rums.ac.ir/article-1-3644-en.html>.
- Hedayati S, Riyahi Malayeri S, Hoseini M. The Effect of Eight Weeks of High and Moderate Intensity Interval Training Along with Aloe Vera Consumption on Serum Levels of Chemerin, Glucose and Insulin in Streptozotocin-induced Diabetic Rats: An Experimental Study. *JRUMS.* 2018; 17 (9) :801-814. URL: <http://journal.rums.ac.ir/article-1-4209-en.html>.
- Asgari Hazaveh D, Riyahi Malayeri S, Babaei S. Effect of Eight Weeks High Intensity Interval Training and Medium Intensity Interval Training and Aloe vera Intake on Serum Vaspin and Insulin Resistance in Diabetic Male Rats. *J Arak Uni Med Sci.* 2018; 20 (11) :67-75

16. URL: <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5406-en.html>.
17. Riyahi Malayeri S, Abdolhay S, Behdari R, Hoseini M. The combined effect of resveratrol supplement and endurance training on IL-10 and TNF- α in type 2 diabetic rats. *RJMS*. 2019; 25 (12):140-149. URL: <http://ijdlld.tums.ac.ir/article-1-5708-en.html>
18. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr*. 2003 May;133(5 Suppl 1):1517S-20S. doi: 10.1093/jn/133.5.1517S. PMID: 12730456.
19. Surai P, Kostjuk I, Wishart G, Macpherson A, Speake B, Noble R, Ionov I, Kutz E. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. *Biol Trace Elem Res*. 1998 Summer;64(1-3):119-32. doi: 10.1007/BF02783329. PMID: 9845467.
20. Zhou JC, Zheng S, Mo J, Liang X, Xu Y, Zhang H, Gong C, Liu XL, Lei XG. Dietary Selenium Deficiency or Excess Reduces Sperm Quality and Testicular mRNA Abundance of Nuclear Glutathione Peroxidase 4 in Rats. *J Nutr*. 2017 Oct;147(10):1947-1953. doi: 10.3945/jn.117.252544. Epub 2017 Aug 16. PMID: 28814533.
21. Mohammadi, S., Rostamkhani, F., Riyahi Malayeri, S. et al. High-intensity interval training with probiotic supplementation decreases gene expression of NF- κ B and CXCL2 in small intestine of rats with steatosis. *Sport Sci Health* 18, 491–497 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11332-021-00829-5>.
22. Dehghani F, Hossieni SA, Noorafshan A, Panjehshahin MR, Esmailpour T. Effect of Selenium on Quantitative Structural Changes in Dexamethasone-Induced Immunodeficiency Rat Models. *Iran J Med Sci*. 2021 Mar;46(2):128-135. doi: 10.30476/ijms.2020.81137.0. PMID: 33753957; PMCID: PMC7966932.
23. Moayeri, P., Kojouri, G., Jafari dehkordi, A., Ahadi, A. M. Study of Selenium Nanoparticles and Sodium Selenite Supplementation Effects on Expression of Leptin Gene in Pregnant Ewes Placenta. *Journal of Veterinary Research*, 2018; 73(4): 475-482. doi: 10.22059/jvr.2019.228023.2592.
24. Riyahi Malayeri S, Azadnia A, Rasaee M J. Effect of eight-week High intensity interval training and resveratrol intake on serum adiponectin and resistin in type 2 diabetic rats. *Ijdlld* 2019; 18 (1):8-1. URL: <http://ijdlld.tums.ac.ir/article-1-5708-en.html>.
25. Isanejad, A., HasanSarraf, Z., Mahdavi, M., Gharakhanlou, R. The Effect of Aerobic Exercise Training on Serum Levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and HSP70 in Rats. *Journal of Sport Biosciences*, 2013; 4(15): 91-106. doi: 10.22059/jsb.2013.29780.
26. Gomez CR. Role of heat shock proteins in aging and chronic inflammatory diseases. *Geroscience*. 2021 Oct;43(5):2515-2532. doi: 10.1007/s11357-021-00394-2. Epub 2021 Jul 9. PMID: 34241808; PMCID: PMC8599533.
27. Riyahi Malayeri S, Hoseini M. The effect of acute exercise on vaspin and chemerin levels in obese men. *JBRMS*. 2021; 8 (1):58-66. URL: <http://jbrms.medilam.ac.ir/article-1-528-en.html>.
28. Krause M, Heck TG, Bittencourt A, Scomazzon SP, Newsholme P, Curi R, Homem de Bittencourt PI Jr. The chaperone balance hypothesis: the importance of the extracellular to intracellular HSP70 ratio to inflammation-driven type 2 diabetes, the effect of exercise, and the implications for clinical management. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:249205. doi: 10.1155/2015/249205. Epub 2015 Feb 26. PMID: 25814786; PMCID: PMC4357135.
29. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol*. 2011 Aug 5;11(9):607-15. doi: 10.1038/nri3041. PMID: 21818123.
30. Tarverdizadeh, B., Bedrous Oghoubian Salmasi, M. The Effect of Interval Training on HSP70 and Some Inflammatory, Growth and Functional Markers among Women with Breast Cancer. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*, 2016; 19(37): 16-24. doi: 10.22038/ijogi.2016.818.
31. Bagherian M, Banaeifar A, Arshadi S, Azarbayjani M. THE EFFECT OF EXERCISE TYPE ON THE EXPRESSION OF PGC-1A AND HEART TISSUE TRIGLYCERIDE CONTENT IN RATS WITH FATTY LIVER (NAFLD). *Studies in Medical Sciences*. 2020; 31 (4):282-294. URL: <http://umj.umsu.ac.ir/article-1-5114-fa.html>.

32. Baghadam M, Mohamadzadeh salamat K, Azizbeidi K, Baesi K. THE EFFECT OF 8 WEEKS AEROBIC TRAINING ON CARDIAC PGC-1A AND PLASMA IRISIN IN STZ-INDUCED DIABETICS' RATS. *ijddl*. 2019; 18 (5) :228-235. URL: <http://ijddl.tums.ac.ir/article-1-5880-fa.html>.
33. Mombeyni A, Bahmanzade M, Sarami A, Changizi-Ashtiyani S, Parastesh M. The Effect of Increasing Resistance Training on Testicular Oxidative Stress and Quality of Spermatogenesis in Male Rats. *J Arak Uni Med Sci*. 2018; 21 (4) :86-97. URL: <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5197-fa.html>.
34. Drevet JR, Aitken RJ. Oxidation of Sperm Nucleus in Mammals: A Physiological Necessity to Some Extent with Adverse Impacts on Oocyte and Offspring. *Antioxidants (Basel)*. 2020 Jan 23;9(2):95. doi: 10.3390/antiox9020095. PMID: 31979208; PMCID: PMC7070651.
35. Omid Z, Piravar Z, Ramezani M. The effect of acrylamide on mitochondrial membrane potential and glutathione extraction in human spermatozoa: A laboratory study. *Int J Reprod Biomed*. 2020 Oct 13;18(10):855-864. doi: 10.18502/ijrm.v13i10.7770. PMID: 33134798; PMCID: PMC7569713.
36. Jervis KM, Robaire B. The effects of long-term vitamin E treatment on gene expression and oxidative stress damage in the aging Brown Norway rat epididymis. *Biol Reprod*. 2004 Oct;71(4):1088-95. doi: 10.1095/biolreprod.104.028886. Epub 2004 Jun 2. PMID: 15175234.
37. Srivastava S. The Mitochondrial Basis of Aging and Age-Related Disorders. *Genes (Basel)*. 2017 Dec 19;8(12):398. doi: 10.3390/genes8120398. PMID: 29257072; PMCID: PMC5748716.

Original Article

The effect of interval training and Nano selenium supplementation on the expression of testicular HSP70 and PGC-1 α genes in dexamethasone induced rats

Received: 07/03/2022 - Accepted: 22/04/2022

Omid Soleimani Ghaleh¹
Shahin Riyahi Malayeri^{2*}
Bahram Abedi³

¹MSc in Exercise Physiology,
Department of Physical Education and
Sport Sciences, East Tehran Branch,
Islamic Azad University, Tehran, Iran.

²Assistant Professor of Exercise
Physiology, Department of Physical
Education and Sport Sciences, East
Tehran Branch, Islamic Azad
University, Tehran,
Iran. (Corresponding Author)

³ Professor of Exercise Physiology,
Department of Physical Education,
Mahallat Branch, Islamic Azad
University, Mahallat, Iran.

Email: shahinriyahi@yahoo.com

Abstract

Introduction: Exercise Training and selenium is an effective way to strengthen the immune system. The purpose of this research is the effect of interval training and nano selenium supplementation on the expression of testicular HSP70 and PGC-1 α genes in dexamethasone induced rats.

Materials and Methods: 40 Wistar rats aged 10 weeks were randomly divided into 5 groups of 8 (healthy, under dexamethasone induction (patient), patient + interval training, patient + Nano selenium supplement, patient + interval training + consumption Nano selenium supplement) were divided. The exercise program consisted of 5-12 repetitions of 1-minute running on the rodent treadmill with an intensity of 24-30 m/min, equivalent to 75-100% of maximal oxygen consumption, with active rest intervals of 75 seconds. These exercises were performed six days a week for four weeks. The prepared selenium nanoparticle solution, 100 mg in 250 nm size, was given to mice by gavage every other day. Three-way analysis of variance was used to determine the difference in variables between groups at a significant level ($P < 0.05$). All statistical calculations were done using Excel and SPSS version 25 software.

Results: The results obtained from the research showed that interval training led to a significant increase in HSP70 ($P < 0.05$). Also, the expression of PGC-1 α gene in the group of Nano selenium supplementation and interval training led to a significant increase ($P < 0.05$).

Conclusion: According to the present study, it seems that interval training and Nano selenium supplementation leads to a significant increase in HSP70 and PGC-1 α , which plays an important role in improving the immune function of patients with weak immune system.

Key words: Interval training, Nano selenium supplement, HSP70, PGC-1 α , dexamethasone

Acknowledgement: There is no conflict of interest