Research in Sport Medicine and Technology
Kharazmi University
Print ISSN: 2252 - 0708 Online ISSN: 2588 - 3925
Homepage: https://jsmt.khu.ac.ir

The aerobic maternal exercise increases PDK4 gene expression in slow and fast twitch muscles of rat male offspring.

Setareh Beyhaghi [1] | Neda Khaledi [2] | Hossein Askari [2]

1. master of exercise physiology, department of exercise physiology, Kharazmi University, Tehran, Iran.
2. assistant professor, faculty of sport sciences, department of exercise physiology, Kharazmi University, Tehran, Iran.
3. assistant professor, faculty of life sciences, department of plant sciences and biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

corresponding author: Neda Khaledi; neda_khaledi@hotmail.com

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article history:
Received 2021/05/06
Revised: 2021/10/19
Accepted: 2021/11/21

Keywords:
Gene expression, metabolic factors, Epigenetics, Pyruvate Dehydrogenase Complex.

How to Cite:
Beyhaghi, S., Khaledi, N., Askari, H. The aerobic maternal exercise increases PDK4 gene expression in slow and fast twitch muscles of rat male offspring. Research In Sport Medicine and *Technology*,. 2022: 12(23): 13-23.

Recent studies indicate that environment can modify skeletal muscle gene expression and transcriptional factors in offspring genes. Therefore, exercising can lead to changes in the gene expression of the future generations. One of the important metabolic factors is PDK4, which is known as the main factor in Pyruvate Dehydrogenase Complex (PDC). This study examined the effects of maternal exercise on PDK4 expression in slow and fast twitch (soleus and EDL) muscles of male offspring. Twenty Sprague-Dawley rats were divided to three training groups: before pregnancy (TBP), during pregnancy (TDP) and before and during pregnancy (TBDP) and pregnancy without training (control) group. Training groups were running on a treadmill for four, three and seven weeks, respectively. Two months after the birth of the offspring, 6 male rats were chosen randomly from the offspring of each group. The samples were anesthetized using Ketamine (90 mg/kg) and Xylazine (10 mg/kg) and their soleus and EDL muscles were removed immediately for examine. Gene expression of offspring muscles were analyzed using real-time RT-PCR. Fisher test were used to analyze the difference between the training and the control group. PDK4 expression of offspring were significantly increased in all groups except for EDL muscle of the TBP group. According to the results, it seems likely maternal exercise training can affect the metabolic regulation in the offspring by increasing the expression of some metabolic genes.

Published by Kharazmi University, Tehran, Iran. Copyright(c) The author(s) This is an open access article under e: CC BY-NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) DOI:. 10.29252/jsmt.12.1.13.

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

پژوهش در طب ورزشی و فناوری
شاپا چاپی: ۰۷۰۸-۲۲۵۲ شاپا الکترونیکی: ۳۹۲۵-۲۵۸۸
Homepage: https://jsmt.khu.ac.ir

تمرین ورزشی هوازی مادری بیان ژن PDK4 را در عضله اسکلتی تند و کند نسل اول فرزندان نر موش‌های صحرایی افزایش می‌دهد

ستاره بیهقی[۱] | ندا خالدی*[۲] | حسین عسکری[۲]

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی.، تهران، ایران.
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی ، تهران، ایران.
۳. استادیار دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی.

نویسنده مسئول: ندا خالدی neda_khaledi@hotmail.com

اطلاعات مقاله:

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۱۶
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۷/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۳۰

واژه‌های کلیدی:
اپی‌ژنتیک، تنظیم متابولیکی، بیان ژن، چرخه پیروات دهیدروژناز

ارجاع:
ستاره بیهقی، ندا خالدی، حسین عسکری. تمرین ورزشی هوازی مادری بیان ژن PDK4 را در عضله اسکلتی تند و کند نسل اول فرزندان نر موش های صحرایی افزایش می دهد. پژوهش در طب ورزشی و فناوری. ۱۲ (۲۳):۲۳-۱۳

چکیده

پژوهش‌های اخیر نشان دادند که محیط می‌تواند اصلاح کنندهٔ ژن‌ها از طریق اپی‌ژنتیک باشد، بر همین اساس مداخلهٔ ورزش می‌تواند منجر به تغییر بیان ژن در نسل‌های آینده گردد. از جمله عوامل مهم سوخت و ساز می‌توان به PDK4 که یک عامل اصلی چرخه پیروات دهیدروژناز است اشاره کرد. این پژوهش اثر تمرین ورزشی مادری را بر بیان ژن PDK4 در عضلات نعلی و باز کننده طویل انگشتان پا در فرزندان نسل اول مورد بررسی قرار داد. ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ داولی دو ماهه در ۳ گروه تمرینی قبل بارداری، حین بارداری و قبل و حین بارداری و یک گروه کنترل بدون تمرین ورزشی تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به ترتیب تحت پروتکل ٤، ۳ و ۷ هفته ای تمرین هوازی قرار گرفتند. بعد از گذشت ۲ ماه از تولد نوزادان، به طور تصادفی ساده از هر گروه ٦ سر موش صحرایی نر به منظور نمونه‌برداری انتخاب شدند. آزمودنی‌ها بوسیلهٔ ترکیب کتامین (90 mg/kg) و زایلوزین (10 mg/kg) بیهوش و بلافاصله عضلهٔ نعلی و عضله طویل بازکننده انگشتان (EDL) برای بررسی برداشته شد. سنجش بیان ژن‌ها با روش Real time PCR انجام شد. با آزمون آماری فیشر، اختلاف بین گروه‌های تمرینی و کنترل اندازه‌گیری شد. بیان ژن PDK4 فرزندان نسل اول تمامی گروه ها و عضلات به جز گروه تمرین قبل از بارداری و در عضله اسکلتی باز کننده طویل انگشتان پا، افزایش یافت. با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد احتمالا تمرین ورزشی مادری با افزایش بیان ژن‌های متابولیکی می‌تواند تنظیم متابولیکی نسل اول فرزندان را تحت تأثیر قرار دهد.

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

مقدمه

تحقیقات اخیر بیانگر این موضوع است که فاکتورهای محیطی می‌توانند ژنوم را از طریق اپی‌ژنتیک در طی نسل‌ها اصلاح کنند (۱). اخیراً با بررسی تأثیرات اپی‌ژنتیک، متوجه شدند که اپی ژنتیک نقش مهمی را به وسیله تغییرات قابل بازگشت ساختار کروماتینی در بیان ژن ایفا می‌کند که این تغییرات بدون ایجاد تغییر در توالی ژن است (۲). در حال حاضر یکی از جدیدترین علوم نوین وابسته به ژنتیک بررسی ارث‌پذیری آثار تمرین ورزشی، یعنی اپی‌ژنتیک فعالیت ورزشی است. به‌طورکلی اپی‌ژنتیک تغییراتی است که در DNA یا ساختار کروماتین اتفاق می‌افتد و می‌تواند رونویسی از چند ژن را به‌طور مستقل تحت تأثیر قرار دهد. شایع‌ترین تغییرات اپی‌ژنتیک ناشی از فعالیت ورزشی، تغییرات هیستونی شامل متیلاسیون و استیلاسیون هیستونی و تغییرات DNA شامل متیلاسیون DNA و بیان انواع مختلف micro RNA ها است (Ntanasis-Stathopoulos et al., 2013)(3)(3)(3). ۳)(۳)(۳)(۳)(۳)اپی‌ژنتیک تغییرات مستقل از تغییر در ساختار DNA یا جهش است. محصول تغییرات اپی‌ژنتیک، تغییر در فنوتیپ بدون تغییر در ژنوتیپ است. اپی‌ژنتیک توانایی اصلاح کردن تغییرات ناخوشایند در کدهای ژنتیکی را توسط فاکتورهای تغذیه‌ای دارد (٤). مکانیزم‌های اپی‌ژنتیک که سبب افزایش بی‌تنظیمی و آغاز بیماری‌های متابولیکی می‌شوند توسط عوامل محیطی مؤثر بر تکامل جنین همچون تمرین ورزشی، روال معکوس پیدا می‌کنند (۵). رفتارهای مادر در حین بارداری بر روی سلامت فرزند در بزرگ‌سالی تأثیر می‌گذارد (٦). ازاین‌رو شیوع و گسترش اختلالات و بیماری‌های مادران منجر به مستعد شدن فرزندان در ابتلا به بیماری‌های متابولیکی در زندگی آینده‌شان خواهد شد (۷)؛ اما از طرفی فعالیت ورزشی مادری اثرات مثبتی روی سلامت فرزندان ازجمله بهبود عملکرد متابولیکی آن‌ها می‌گذارد (۸). فعالیت ورزشی تغییرات را در بیان ژن ایجاد می‌کند که آغازکننده سازگاری‌های متابولیکی و ساختاری در عضله اسکلتی می‌شود. یکی از مکانیزم‌های سلامتی و تأثیر ورزش بر تغییرات اپی‌ژنتیک کاهش خطر چاقی و بیماری‌ها است. فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها بیانگر تغییر در متیلاسیون DNA و اصلاحات هیستونی و فرایند بعد از ترجمه و نسخه‌برداری در متابولیت‌ها در طول ورزش و بعد از ورزش است. مکانیزم‌های اپی‌ژنتیک که سبب توسعه‌ی بی تنظیمی متابولیکی و آغاز بیماری‌های متابولیکی چاقی می‌شود توسط عوامل محیطی مانند برنامه فعالیت ورزشی و مداخلات دارویی مؤثر بر تکامل جنین، روال معکوس میابد و برعکس می‌شود (۹). فعالیت ورزشی هوازی بیان mRNA تعداد زیادی از ژن‌های تنظیم‌کننده عملکرد میتوکندریایی را افزایش می¬دهد که از این جمله می‌توان به PDK4 اشاره کرد (۱۰). PDK4 یکی از چهار ایزوفرم آنزیم تنظیمی PDK است که با فسفوریله شدن منجر به غیرفعال شدن PDC در پاسخ به شرایط فیزیولوژیکی می‌شود که با تغییر منبع انرژی از گلوکز به اسید چرب اتفاق می‌افتد (۲). PDC یک مجموعه چند آنزیمی است از ۳ آنزیم کاتابولیکی (E1، پیروات دهیدروژناز) (E2، دی

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

هیدرولیپوآمید استیل ترانسفراز) و دی هیدرولیپو آمید دهیدروژناز (E3) و یک پروتئین ساختاری اتصالی E3 و ۲ آنزیم تنظیمی PDK و پیروات دهیدروژناز فسفاتاز (PDP) است. PDK4 به عنوان یکی از فاکتورهای دخیل در متبولیسم میتوکندریایی تولید ATP را به وسیله فسفوریلاسیون اکسیداتیو حمایت می‌کند (۱۱). پس احتمالاً تغییرات بیان ژن PDK4 در عضله کند انقباض نعلی به عنوان یک عضله اکسیداتیو که حاوی تعداد بیشتری میتوکندری است (۱۲) بیشتر خواهد بود رونویسی PDK4 و mRNA PDK4 طی فعالیت ورزشی بلندمدت و پس از فعالیت ورزشی کوتاه مدت شدید و بلندمدت با شدت پایین به صورت معنی‌دار افزایش می‌یابد. پاسخ رونویسی ناشی از فعالیت ورزشی PDK4 زمانی بالا می‌رود که گلیکوژن عضله قبل از فعالیت ورزشی کاهش یابد و رژیم پرچرب کم کربوهیدرات مصرف شود. در طی ریکاوری بعد از فعالیت ورزشی رونویسی و میزان RNA، PDK4 در مقایسه با زمانی که رژیم پرکربوهیدرات مصرف می‌شود افزایش می‌یابد (۱۱). مشخص است که فعالیت ورزشی فواید متعددی بر سلامتی دارد اما اثرات فعالیت ورزشی مادری روی فنوتایپ متابولیکی فرزندان هنوز به خوبی شناخته‌نشده است (۱۳). در تنها مطالعه مشابه، استفورد و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که فعالیت ورزشی داوطلبانه موش‌ها قبل و حین بارداری می‌تواند از نیمرخ متابولیکی فرزندان در مقابل اثرات مضر رژیم غذایی پرچرب مادران محافظت کند (۱۳). تغییر سبک زندگی مادران امروزی به سمت کاهش فعالیت¬های بدنی روزانه، کاهش شرکت در فعالیت‌های منظم ورزشی و مصرف رژیم غذایی پرچرب و پرکالری تهدیدی برای سلامتی و تندرستی مادر و نسل‌های بعدی است. بر این اساس، با توجه به مطالعات انجام‌شده درباره اپی‌ژنتیک و تأیید تأثیر عوامل محیطی در بیان ژن‌های نسل بعد، به نظر می‌رسد تأثیر مداخله‌های ورزشی به عنوان یک مداخله محیطی مؤثر خیلی کم موردمطالعه قرارگرفته است؛ بنابراین آنچه موردمطالعه قرار نگرفته است این است که آیا فعالیت ورزشی منظم قبل از بارداری، حین بارداری می‌تواند موجب افزایش تأثیر فاکتور متابولیکی PDK4 در فرزندان نسل بعد شود که در نتیجه باعث بهبودی در نسل‌های آینده گردد. پژوهش حاضر با مطالعات حیوانی به تعیین اثر فعالیت ورزشی مادری (مستقل از فعالیت ورزشی پدری)، روی بیان ژن متابولیکی PDK4 عضلات تند و کند انقباض نسل اول فرزندان نر، پرداخته است. سؤال پژوهش نیز این‌گونه بیان می‌گردد که آیا فعالیت ورزشی هوازی مادری قبل بارداری، حین بارداری و قبل و حین بارداری می‌تواند موجب بهبود بیان ژن PDK4 در فرزندان نسل اول شود؟

روش‌شناسی پژوهش

روش پژوهش حاضر از نوع تجربی – آزمایشگاهی و با مدل حیوانی و طرح پژوهش، طرح پس آزمون با گروه کنترل است.

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]

[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]

[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

این پژوهش با دریافت کد اخلاق "IR.QUMS.REC.1396.288" از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی قزوین مورد تأیید قرار گرفت. جامعه آماری را فرزندان نر ۲۰ سر موش صحرایی ماده نژاد اسپراگ داولی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تشکیل دادند. نمونه‌های این جامعه آماری فرزندان نر ۲ ماهه‌ای بودند که به صورت تصادفی ساده به منظور تشریح و نمونه‌برداری از هر گروه انتخاب شدند. این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. حجم نمونه برای هر گروه برابر با ٦ در نظر گرفته شد. ۲۰ سر موش صحرایی ماده نژاد اسپراگ داولی ٦ هفته‌ای که تجربه بارداری را نداشتند، پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه به‌طور تصادفی ساده در ٤ گروه: ۱) تمرین قبل از بارداری (n=۵، ۲) تمرین حین بارداری (n =۵، ۳) تمرین قبل و حین بارداری (n=۵) و ٤) کنترل (بدون هیچ‌گونه فعالیت ورزشی) (n =۵) تقسیم شدند. بعد از اتمام پروتکل ٤ هفته تمرین هوازی قبل از بارداری (که فقط گروه‌های ۱ و ۳ تحت آن قرار گرفتند)، به مدت ۳ روز یک موش صحرایی نر با دو موش صحرایی ماده در یک قفس جهت جفت‌گیری قرار داده شدند. تشخیص و تأیید بارداری در موش‌های صحرایی ماده با مشاهده پلاک واژنی صورت پذیرفت. سپس تا پایان دوران بارداری که ۲۱-۱۹ روز بود، موش‌های صحرایی ماده گروه‌های ۲ و ۳ تحت پروتکل تمرینی هوازی مخصوص آن دوره قرار گرفتند. پس از زایمان، نوزادان دوره ۲۱ روزه شیردهی را طی کردند. سپس نوزادان نر جدا شدند و بر اساس گروه‌هایی که مادرانشان در آن‌ها حضور داشتند در ٤ گروه: ۱) تمرین قبل از بارداری، ۲) تمرین حین بارداری، ۳) تمرین قبل و حین بارداری و ٤) کنترل (بدون هیچ‌گونه فعالیت ورزشی) تقسیم شدند. این گروه‌ها در قفس و با دسترسی آزاد به آب و غذا برای مدت ۲ ماه نگهداری شدند. در این دوران وزن موش‌های صحرایی و میزان غذای مصرفی آن‌ها به صورت هفتگی اندازه‌گیری گردید. بعد از ۲ ماه از هر گروه به صورت تصادفی ٦ موش صحرایی به منظور نمونه‌گیری انتخاب شد. حیوانات در آزمایشگاه با دمای محیط ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۵۵ تا ٦۰ درصد کنترل شده نگهداری شدند. برای تنظیم چرخه روشنایی-تاریکی (۱۲:۱۲) از تایمر خودکار استفاده شد.

پروتکل فعالیت ورزشی: در ابتدا تمامی گروه‌ها (تمرین و کنترل) به مدت یک هفته با نحوه فعالیت روی نوار گردان آشنا شدند. آزمودنی‌های گروه ۱ (تمرین قبل از بارداری) به مدت ٤ هفته و گروه ۲ (تمرین حین بارداری) به مدت ۳ هفته گروه ۳ (تمرین قبل و حین بارداری) به مدت ۷ هفته تحت برنامه تمرین هوازی با شدت متوسط (٦۵-۵۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) قرار گرفتند. پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط در تحقیق حاضر با رعایت اصل اضافه‌بار شامل هفته‌های تمرینی تردمیل، ۵ روز در هفته صورت پذیرفت. ابتدا آزمودنی‌ها به منظور گرم کردن ۳ دقیقه با سرعت ۱٦ متر بر دقیقه روی نوار گردان می‌دویدند و سپس بدنه اصلی تمرین اجرا می‌گردید (۱٤). دوران بارداری آزمودنی‌ها بین ۲۱-

۱۹ روز بود که برنامه تمرینی بر اساس این مدت طرح‌ریزی شد و آزمودنی‌های گروه ۲ (تمرین در حین بارداری) و گروه ۳ (تمرین قبل و در حین بارداری) این تمرین را برای ۵ روز در هفته انجام دادند (۱۵) (شکل ۱). ۴۸ ساعت قبل از زایمان فعالیت ورزشی متوقف شد تا زایمان صورت گیرد.

شکل ۱ – طرح آزمایش

آشنایی با محیط (یک هفته)	سازگاری با تردمیل (یک هفته)	پروتکل تمرین ورزشی قبل از بارداری				هفت گیری با موش نر (سه روز)	پروتکل تمرین ورزشی حین بارداری			زایمان نوزدان و شیردهی (۲۱ روز)	نمونه برداری (بعد از ۲ ماه)
		هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ٤		هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳		
		۵ جلسه	۵ جلسه	۵ جلسه	۵ جلسه		۵ جلسه	۵ جلسه	۵ جلسه		
		۲۸-۲۰ دقیقه	۳۸-۳۰ دقیقه	٤٨-٤٠ دقیقه	٦٠-٥٢ دقیقه		۱۸-۱۰ دقیقه	۲۸-۲۰ دقیقه	۳۰ دقیقه		
		۱۸ متر بر دقیقه	۱۸ متر بر دقیقه	۲۰ متر بر دقیقه	۲۰ متر بر دقیقه		۱۰ متر بر دقیقه	۱۲-۱۰ متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه		
		۱ ست	۱ ست	۱ ست	۱ ست		۱ ست	۱ ست	۱ ست		

استخراج و سنجش بیان ژن

آماده سازی نمونه: ابتدا آزمودنی‌ها به وسیلهٔ ترکیب کتامین (90 mg/kg) و زایلوزین (10 mg/kg) بیهوش شدند (۱۶). سپس برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، ابتدا فوراً با جدا کردن قلب، حیوانات معدوم شدند و بلافاصله عضلهٔ نعلی و عضله طویل بازکننده انگشتان (EDL) آن‌ها جهت بررسی برداشته شدند و سریعاً بعد از قرارگیری در کرایوتیوب-DNA RNA Freeدرون ازت مایع قرار داده شدند. عضلات تا زمان سنجش بیان ژنی درون فریز با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند RNA. کل با استفاده از کیت ترایزول استخراج گردید. به منظور بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراج‌شده از دو روش UV اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد RNA. استخراج‌شده، با استفاده از دستگاه NanoDrop 2000 UV-Vis spectrophotometer شرکت Thermo scientific, USA غلظت سنجی شد. غلظت RNA با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر به دست آمد. برای ژن موردنظر آغازگرهای رفت و برگشتی به کمک نرم‌افزار (Primer 3) و بر اساس توالی کد کننده ژن‌ها (CDS) آغازگرهای انتخابی طراحی گردید. پرایمر رفت ژن**PDK4**، با توالی ´CACCTTCACCACATGCTCTT۵ ´۳ و پرایمر برگشت ژنPDK4، با توالی´CCACCTCGGTCAGAAATCTTGA۵´۳ و با سایز ۱۴۹ bp طراحی گردید. همچنین پرایمر رفت ژنGAPDH، با توالی۵´AACTCCCATTCTTCCACCTTTGAT ´۳ و پرایمر برگشت ژنGAPDH، با توالی ´۵ AGCCATATTCATTGTCATACCAGGA´۳ و با سایز ۹۴ bp طراحی گردید.

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

به منظور ارزیابی بیان ژن‌های موردمطالعه آزمون qRT-PCR در ۳ تکرار آزمایشی و ۲ تکرار دستگاهی انجام گرفت. آزمون qRT-PCRبا استفاده از معرف سایبرگرین شرکت Bioneer انجام گرفت. دستگاه مورداستفاده، دستگاه ترمال سایکلر مدل ABI StepOne ساخت شرکت Applied Biosystems بود و واکنش qRT-PCRدر میکروپلیت‌های ۴۸ چاهکی و در حجم نهایی ۱۰ مایکرو لیتر انجام شد. کمیت سنجی بیان ژن در آزمون QRT-PCR به صورت Relative انجام گرفت.

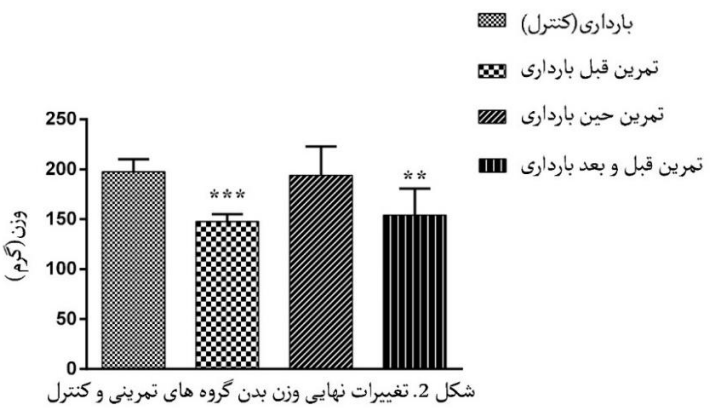
در کمیت سنجی نسبی ارزیابی میزان بازده PCR بسیار حائز اهمیت است. پس از اندازه‌گیری میزان**Ct** ، برای ژن‌های موردمطالعه در نمونه‌های تحت بررسی، کارایی **PCR** با استفاده از نرم‌افزار **(**LinRegPCR (Ruijter et al. 2009 تعیین و پس از محاسبات آماری با استفاده از برنامهExcell ، میزان نسبت بیان (FC) و یا طبق فرمول pfaffl محاسبه شد**:**

$$\boldsymbol{FC = Ratio = \frac{(E_{ref})^{Ct_{Sample}}}{(E_{target})^{Ct_{Sample}}} \div \frac{(E_{ref})^{Ct_{calibrator}}}{(E_{target})^{Ct_{calibrator}}}}$$

از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و تنظیم جدول‌ها و از برنامه‌های excel و Ms tat c برای تنظیم نمودارها و انجام محاسبات استفاده شد. آزمون نرمال بودن توزیع خطاهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و آزمون بارتلت برای بررسی فرض یکنواختی واریانس‌ها انجام شدند. از روش ΔΔCT-2 برای محاسبه کمی میزان افزایش یا کاهش بیان ژن هدف در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل استفاده شد. از آزمون فیشر (F-test) با سطح معنی‌داری P ۰/۰۱ ≥ برای تعیین معنی‌داری فرض صفر استفاده شد.

یافته‌ها

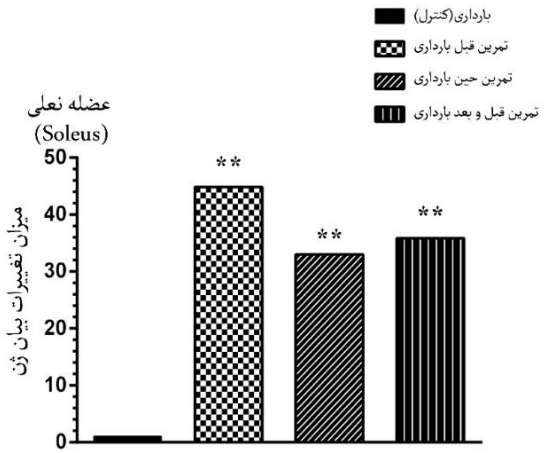
میانگین و انحراف معیار وزن بدن گروه‌های کنترل و تمرینی بعد از اتمام دوره‌های تمرین در شکل ۲ آمده است.



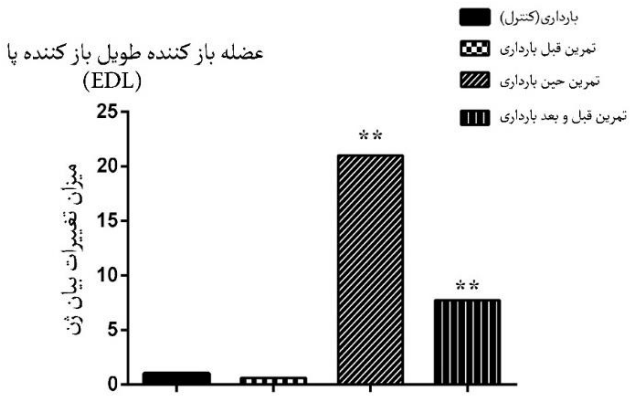
شکل 2. تغییرات نهایی وزن بدن گروه های تمرینی و کنترل

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

تغییرات بیان ژن :PDK4 در عضله نعلی، سطح بیان mRNA PDK4 در سه گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (تمرین قبل از بارداری: ۸٤/٤٤ برابر و **p**۰/۰۰۷۸ **=** ، تمرین حین بارداری:۳۳ برابر و **p=**۰/۰۰۲۸، تمرین قبل و حین بارداری: ۸٤/۳۵ برابر و(p=۰/۰۳۳) شکل ۳) در عضلهEDL، بیان mRNA PDK4 به‌طور معنی‌داری در گروه تمرین حین بارداری (۲۱ برابر و p=۰/۰۰۳۱) و گروه قبل و حین بارداری (۷/۷۳ برابر و p= ۰/۰۰۸۹ در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت، ولی تغییر معنی‌داری بین گروه تمرین قبل از بارداری و گروه کنترل (۰/٦۱ برابر و p= ۰/۰۸٦ مشاهده نشد (شکل ٤).



شکل3.تغییرات بیان ژن PDK4 در عضله نعلی در گروه های پژوهش



شکل4.تغییرات بیان ژن PDK4 در عضله باز کننده طویل انگشتان پا در گروه های پژوهش

بحث

این پژوهش نشان داد تمرین هوازی مادری قبل و حین بارداری بیان ژن PDK4 را در دو عضله تند و کند انقباض بازکننده طویل انگشتان پا و نعلی فرزندان نر دوماهه افزایش داد؛ اما تمرین قبل از بارداری فقط موجب افزایش بیان این ژن در عضله کند انقباض نعلی فرزندان شد. در اواخر بارداری مصرف گلوکز رحم تقریباً ٪۵۰-۳۰ از ذخیره گلوکز مادری را تشکیل می‌دهد که این مقدار به وسیلهٔ مجموعه‌ای از سازگاری‌های متابولیکی در بافت‌های مادری حمایت می‌شود (۱۷). بعلاوه تغییراتی در سوسبتراهای موجود در جریان خون زنان بارداری که فعالیت ورزشی می‌کنند رخ می‌دهد. سطوح کاهش‌یافته گلوکز در حین بارداری هیچ منافاتی با مصرف شتاب گرفته گلوکز در حین فعالیت ورزشی ندارد که این ممکن است ناشی از نیازهای بیشتر به ذخیره گلوکز در جریان خون باشد که به وسیله مصرف هم‌زمان گلوکز توسط جنین در حال رشد و همچنین برداشت بیشتر در عضلات فعال صورت می‌گیرد (۱۸). در نتیجه غلظت اسیدهای چرب به منظور فراهم کردن انرژی افزایش می‌یابد (۱۷). با نگاه به این سازگاری‌ها احتمالاً تفاوت‌های معناداری در ژن‌های متابولیکی فرزندانی با فعالیت ورزشی مادری و فرزندانی بدون فعالیت ورزشی مادری باید وجود داشته باشد.

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

نتایج ما نشان داد که وزن فرزندان در گروه تمرین ورزشی قبل از بارداری و گروه تمرین ورزشی قبل و حین بارداری به‌طور معناداری کاهش یافت، اما هیچ تغییری در فرزندان گروه تمرین ورزشی حین بارداری رخ نداد. نشان داده‌شده است که فعالیت ورزشی مادری درصد توده چربی و وزن فرزندان نر را کاهش می‌دهد و در مطالعه دیگر نشان داده شد که وزن هنگام تولد فرزندان نر کاهش‌یافته است (۱۳, ۱۹) و در نتیجه موجب بهبود نیمرخ متابولیکی فرزندان می‌شود. این نتایج همسو با نتایج ما در گروه‌های تمرین ورزشی قبل، قبل و حین بارداری هستند. نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت‌های ورزشی با شدت بیشتر و تعداد تکرارهای بالاتر در دوره بارداری ممکن است منجر به کاهش وزن فرزندان شود (۲۰). در مطالعه حاضر ازآنجایی‌که شدت فعالیت ورزشی مادری در حین بارداری کاهش‌یافته بود، این احتمال وجود دارد که تغییری در وزن فرزندان گروه تمرین ورزشی حین بارداری ایجاد نشود.

پژوهش‌های اندکی به بررسی تأثیر تمرین ورزشی مادری قبل، حین و قبل و حین بارداری بر بیان ژن PDK4 در عضلات تند و کند انقباض (بازکننده طویل انگشتان پا و نعلی) فرزندان نر دوماهه پرداخته است. وگا و همکاران ۲۰۱۵ نشان دادند که فعالیت ورزشی مادری گلوکز، شاخصHOMA، تری گلیسرید بالاو لپتین فرزندان مادران چاق را کاهش می‌دهد (۲۱). لاکر و همکاران ۲۰۱٤ نشان دادند که ٦ هفته تمرین ورزشی مادری قبل و حین بارداری از اختلالات متابولیکی ناشی از رژیم غذایی پرچرب مادران در فرزندان جلوگیری کرد و بیان ژن‌هایی همچون PGC1-α را افزایش داد و همچنین عملکرد متابولیکی فرزندان را حفظ کرد (۷). از طرف دیگر مویو و همکاران ۲۰۰۷ در نمونه‌های انسانی و حیوانی نشان دادند که تمرین ورزشی موجب افزایش بیان ژن PDK4 در عضله اسکلتی شده است (۱۲, ۲۲) که با بهبود متابولیسم اکسیداتیو همراه می‌شود (۲۳). بلیز و همکاران ۲۰۱۵ یافتند که فعالیت ورزشی مادری عملکرد متابولیکی فرزندان را به وسیله افزایش بیان ژن‌های متابولیکی و کاهش وزن بدن فرزندان بهبود می‌بخشد (٦). پیلگارد و همکاران ۲۰۰۱ یافتند القا ژن PDK4 به عنوان تنظیم‌کننده مجموعه پیروات دهیدروژناز (PDC) منجر به غیرفعال شدن آن و جلوگیری از ورود کربوهیدرات به درون میتوکندری جهت اکسیداسیون می‌کند؛ که در نتیجه اکسیداسیون اسیدهای چرب را افزایش می¬دهد و درنهایت به سمت کاهش وزن می‌رود (۱۱). با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت تمرین ورزشی مادری قبل، حین و قبل و حین بارداری می‌تواند وزن فرزندان را کاهش دهد و احتمالاً به وسیله افزایش بیان ژن PDK4 موجب بهبود عملکرد متابولیکی شود.

از طرفی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین ورزشی قبل از بارداری بیان ژن PDK4 را در عضله تند انقباض بازکننده طویل انگشتان پا تغییرنیافته و تنها موجب افزایش بیان آن در عضله کند انقباض نعلی شد. ازآنجایی‌که PDK4 به عنوان یک تنظیم‌کننده میتوکندریایی شناخته می‌شود (۱۱) و عضله EDL بیشتر از تارهای نوع II تشکیل‌شده است (۲٤)، این احتمال وجود دارد که عضله EDL محتوی میتوکندریای کمتری دارد و در نتیجه بیان PDK4 نیز کمتر خواهد بود.

از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم اجرای فعالیت ورزشی با شدت بالا بود؛ زیرا طبق مطالعات بلیز و همکاران ۲۰۱۵ نشان داده شد که شدت متوسط برای زنان باردار مناسب‌تر است (٦). از طرفی، با توجه به محدودیت‌های زمان و امکانات،

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

پژوهش بر روی نسل دوم انجام نشد؛ بنابراین مطالعات بعدی نیاز دارند تا تغییرات ناشی از تمرین ورزشی مادری را بر روی فرزندان نسل دوم بررسی کنند.

نتیجه‌گیری

در نتیجه، یافته‌های این مطالعه مشخص کرد که تمرین ورزشی مادری منجر به افزایش بیان PDK4 به عنوان یک ژن متابولیکی مهم در عضلات تند و کند انقباض (بازکننده طویل انگشتان پا و نعلی) فرزندان نر می‌شود. بعلاوه، وزن فرزندان مادرانی که تمرین ورزشی قبل و قبل و حین بارداری داشتند کاهش پیدا می‌کند. به نظر می‌رسد مسیرهای اصلاح نسخه‌برداری متأثر از انواع تمرینات ورزشی می‌توانند بیان ژن‌های متابولیسم عضله اسکلتی را در نسل‌های بعد تحت تأثیر قرار دهد. تغییرات بیان ژن PDK4 در عضله تند و کند نشان داد هر دو عضله علی‌رغم تفاوت‌های متابولیکی تحت تأثیر تمرین هوازی مادری قرارگرفته‌اند. ویژگی‌های متابولیکی عضلات کودکان با ماهیت هوازی احتمالاً می‌تواند اثر تمرین هوازی مادری بر قابلیت‌های هوازی عضلات نسل بعد را تقویت کند. پیشنهاد می‌شود در جهت تأیید تأثیر تمرین مادری بر فرآیندهای پس نسخه‌برداری و نسخه‌برداری ژن‌های متابولیکی عضله اسکلتی پژوهش‌های بیشتری در نسل‌های دوم و سوم موش‌ها صورت گیرد.

References

1. Barres, R., Yan, J., Egan, B., Treebak, J.T., Rasmussen, M., Fritz, T., Caidahl, K., Krook, A., O'Gorman, D.J., Zierath, J.R. (2012). Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. Cell Metabolism. 15(3): 405-411.
2. Araki, M., Nozaki, Y., Motojima, K. (2007). Transcriptional regulation of metabolic switching PDK4 gene under various physiological conditions. Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 127(1): 153-162.
3. Ntanasis-Stathopoulos, J., Tzanninis, J.G., Philippou, A., Koutsilieris, M. (2013). Epigenetic regulation on gene expression induced by physical exercise. Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions. 13(2): 133-146.
4. Prather, H., Spitznagle, T., Hunt, D. (2012). Benefits of exercise during pregnancy. PM&R. 4(11): 845-850.
5. Knowler, W.C., Barrett-Connor, E., Fowler, S.E., Hamman, R.F., Lachin, J.M., Walker, E.A., Nathan, D.M. (2002). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. The New England Journal of Medicine. 346(6): 393-403.
6. Blaize, A.N., Pearson, K.J., Newcomer, S. (2015). Impact of maternal exercise during pregnancy on offspring chronic disease susceptibility. Exercise and Sport Sciences Reviews. 43(4): 198-203.
7. Laker, R.C., Lillard, T.S., Okutsu, M., Zhang, M., Hoehn, K.L., Connelly, J.J., Yan, Z. (2014). Exercise prevents maternal high-fat diet–induced hypermethylation of the Pgc-1α gene and age-dependent metabolic dysfunction in the offspring. Diabetes. 63(5):1605-1611.
8. Wolfe, L.A., Mottola, M.F. (1993). Aerobic exercise in pregnancy: an update. Canadian Journal of Applied Physiology. 18(2): 119-147.
9. Dhasarathy, A., Roemmich, J.N., Claycombe, K.J. (2017). Influence of maternal obesity, diet and exercise on epigenetic regulation of adipocytes. Molecular Aspects of Medicine. 54: 37-49. doi:10.1016/j.mam.2016.10.003.

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]

10. Oberg, E. (2007). Physical activity prescription: our best medicine. Integrative Medicine. 6(5): 18-22.
11. Pilegaard, H., Neufer, P.D. (2004). Transcriptional regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 in skeletal muscle during and after exercise. Proceedings of the Nutrition Society. 63(2): 221-226.
12. Luginbuhl, A., Dudley, G., Staron, R. (1984). Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. Histochemistry. 81(1): 55-58.
13. Stanford, K.I., Lee, M.-Y., Getchell, K.M., So, K., Hirshman, M.F., Goodyear, L.J. (2015). Exercise before and during pregnancy prevents the deleterious effects of maternal high-fat feeding on metabolic health of male offspring. Diabetes. 64(2): 427-433.
14. Carter, L.G., Qi, N.R., De Cabo, R., Pearson, K.J. (2013). Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. Medicine and Science in Sports and Exercise. 45(5): 832-840.
15. Roger, V.L., Go, A.S., Lloyd-Jones, D.M., Adams, R.J., Berry, J.D., Brown, T.M., Carnethon, M.R., Dai, S., De Simone, G., Ford, E.S. (2011). Heart disease and stroke statistics—2011 update. Circulation. 123 (4): e18-e209.
16. Hau, J., Schapiro, S.J. (2002). Handbook of laboratory animal science: essential principles and practices, CRC Press.
17. Li, G., Wang, J., Ye, J., Zhang, Y., Zhang, Y. (2015). PPARα protein expression was increased by four weeks of intermittent hypoxic training via AMPKα2-dependent manner in mouse skeletal muscle. PloS one. 10 (4): e0122593.
18. Burri, L., Thoresen, G.H., Berge, R.K. (2010). The role of PPAR activation in liver and muscle. PPAR Research. 2010. doi:10.1155/2010/542359.
19. Raipuria, M., Bahari, H., Morris, M.J. (2015). Effects of maternal diet and exercise during pregnancy on glucose metabolism in skeletal muscle and fat of weanling rats. PLoS One. 10(4): e0120980.
20. Oliveira, V., Silva Junior, S.D., de Carvalho, M.H., Akamine, E.H., Michelini, L.C., Franco, M.C. (2017). Intrauterine growth restriction increases circulating mitochondrial DNA and Toll-like receptor 9 expression in adult offspring: could aerobic training counteract these adaptations? Journal of Developmental Origins of Health and Disease. 8(2): 236-243.
21. Vega, C.C., Reyes-Castro, L.A., Bautista, C.J., Larrea, F., Nathanielsz, P.W., Zambrano, E. (2015). Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. International Journal of Obesity. 39(4): 712-719.
22. Horowitz, J.F., Leone, T.C., Feng, W., Kelly, D.P., Klein, S. (2000). Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPARα in the metabolic response to training. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism. 279(2): E348-E355.
23. Muoio, D.M., Koves, T.R. (2007). Skeletal muscle adaptation to fatty acid depends on coordinated actions of the PPARs and PGC1α: implications for metabolic disease. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 32(5): 874-883
24. Bobinac,D., Malnar-Dragojevic,D., Bajek,S., Soic-Vranic, T., Jerkovic, R. (2000). Muscle fiber type composition and morphometric properties of denervated rat extensor digitorum longus muscle. Croatian Medical Journal. 41(3): 294-297.

[Downloaded from jsmt.khu.ac.ir on 2024-05-21]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.7.2]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.13]