

تأثیر تمرینات مقاومتی و استقامتی بر بیان ژن‌های درگیر در اتوفازای عضلانی رت‌های نر سالمند

سمیه رستمیان دولت شانلو^۱، صادق چراغ بیرجندی^۲، علی یعقوبی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: یکی از مشکلات عمده در دوران سالمندی، سارکوپنیا یا لاغری عضلانی می‌باشد که با انجام تمرینات مختلف ورزشی می‌توان از گسترش آن جلوگیری نمود. هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی و استقامتی بر بیان عوامل ژنی درگیر در اتوفازای عضلانی رت‌های نر سالمند بود.

روش‌ها: در این مطالعه، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر سالمند ۱۸ ماهه، به‌طور تصادفی به ۳ گروه شاهد (۱۰ سر)، تمرین استقامتی (۱۰ سر) و تمرین مقاومتی (۱۰ سر) تقسیم شدند. تمرینات ۵ جلسه در هفته به مدت ۸ هفته انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی و پس از ناشتایی شبانه، تمامی موش‌ها کشته شدند و از عضله‌ی دوقلوی آن‌ها بافت‌برداری صورت گرفت. سپس میزان بیان ژن‌های AKT و FOXO3 با استفاده از ژن مرجع به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های واریانس یک طرفه و Tukey صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که بین گروه‌های تمرین مقاومتی، استقامتی و شاهد به ترتیب در مقادیر AKT و FOXO3 تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی Tukey برای هر دو پروتئین نشان داد، بین گروه «شاهد و مقاومتی» تفاوت معنی‌داری وجود داشت و تمرین مقاومتی، تأثیر بیشتری نسبت به تمرین استقامتی دارد.

نتیجه‌گیری: تمرینات مقاومتی در عضله‌ی اسکلتی نسبت به تمرینات استقامتی بیشتر، می‌توانند موجب فعال‌سازی مسیرهای اتوفازای شوند. بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی، شیوه‌ی تمرینی مؤثرتری در بهبود بیان ژن‌های درگیر در پیشبرد سارکوپنیا همراه با سالمندی داشته باشد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی؛ استقامت بدنی؛ هایپرتروفی؛ آتروفی؛ اتوفازای

ارجاع: رستمیان دولت شانلو سمیه، چراغ بیرجندی صادق، یعقوبی علی. تأثیر تمرینات مقاومتی و استقامتی بر بیان ژن‌های درگیر در اتوفازای عضلانی

رت‌های نر سالمند. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۹۹): ۱۰۲۲-۱۰۱۶

مقدمه

دست دادن توده و کاهش قدرت عضله‌ی اسکلتی ظاهر می‌شود که در نتیجه منجر به کاهش استقامت و ظرفیت متابولیک می‌گردد (۳). سارکوپنیا یا لاغری عضلانی (Sarcopenia)، یک بیماری مزمن مرتبط با افزایش سن است که با از دست دادن تدریجی توده و عملکرد عضله‌ی اسکلتی مشخص شده و در نتیجه منجر به ناتوانی جسمی، کیفیت پایین زندگی و حتی مرگ می‌شود. اثرات جانبی سارکوپنیا شامل التهاب، آپوپتوز (Apoptosis)، اختلال در سنتز و تخریب پروتئین و اختلال در عملکرد میتوکندری است (۴). اتوفازای (Autophagy) یک روش کاتابولیک بسیار حفاظت شده در سیتوپلاسم یوکاریوت‌ها است که از طریق آن اندامک‌های غیرعادی به

از آن‌جایی که جمعیت جهان به سرعت به سمت سالمندی پیش می‌رود، تعداد بیماران مسن مبتلا به بیماری‌های مرتبط با پیری نیز در حال افزایش است. تخمین زده شده است که تا سال ۲۰۵۰، تعداد افراد بالای ۶۵ سال به بیش از ۱/۵ میلیارد نفر افزایش خواهد یافت (۱). عضلات اسکلتی، بزرگ‌ترین بخش حرکتی و متابولیک بدن انسان است که تقریباً ۴۰ درصد وزن بدن را تشکیل می‌دهد و اساس فعالیت‌های بدنی مختلف است (۲). با این وجود در طول فرایند پیری، ساختار و عملکرد سیستم عصبی-عضلانی به‌طور اجتناب‌ناپذیری دستخوش تغییرات فرسایشی می‌شود که به صورت از

۱- دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی بجنورد، بجنورد، ایران

۲- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی بجنورد، بجنورد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: صادق چراغ بیرجندی؛ استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی بجنورد، بجنورد، ایران

Email: s_birjandi2001@yahoo.com

عضلات اسکلتی موش شده و در موش‌های فاقد LC3 نیز کاهش آتروفی عضلانی را در پی دارد (۱۴). نتیجه‌ی مطالعه‌ی دیگری نشان داد FOXO3a واسطه‌ی اصلی در فرایند آتروفی است که در صورت فعال شدن T وارد هسته شده و با فعال کردن دو پروتئین MURF1 و MAFBx منجر به تخریب بافت عضلانی می‌گردد (۸).

با توجه به اهمیت مسأله پیشگیری از تجزیه‌ی پروتئین و یا کاهش آن در افراد مسن و یا بیماران در شرایط پاتولوژیک، همچنین تأثیر افزایش سنتز پروتئین و حجم عضلانی در ارتقای سلامتی و عدم وجود نتایج قطعی در زمینه‌ی تأثیر تمرینات مختلف ورزشی بر فاکتورهای دخیل در سارکوپنیا، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی و استقامتی بر بیان عوامل درگیر در هایپرتروفی و آتروفی عضلات رت‌های نر سالمند می‌باشد.

روش‌ها

آزمودنی‌ها: روش مطالعه‌ی حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون با دو گروه تجربی و یک گروه شاهد بود که همه‌ی آزمایش‌ها مطابق با دستورالعمل‌های ارائه شده توسط آزمایشگاه حیوانات تجربی و با توجه به روش‌های مراقبت و استفاده از حیوانات، تهیه شده توسط کمیته‌ی اخلاق در پژوهش زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد (با کد IR.IAU.BOJNOURD.REC.1398.010) انجام شد. موش‌ها در حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی بجنورد در قفس‌های جداگانه ساخته شده از جنس پلی‌اتیلن شفاف، تحت چرخه‌ی روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۵۰ درصد و درجه حرارت 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و خوراک نگهداری شدند. تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر سالمند نژاد ویستار، با سن ۱۸ ماهه از سرم‌سازی رازی مشهد خریداری شدند. پس از یک هفته آشنایی و سازگاری با محیط جدید، موش‌های صحرایی نر سالمند به طور تصادفی به ۳ گروه شامل: ۱- شاهد (۱۰ سر)، ۲- تمرین استقامتی (۱۰ سر) و ۳- تمرین مقاومتی (۱۰ سر) تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی: به منظور آشنایی با نحوه‌ی انجام تمرین، موش‌ها در گروه تمرین استقامتی، ۱۰ جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه به فعالیت بر روی نوارگردان و برای گروه مقاومتی شامل فعالیت بر روی لدر بود.

پروتکل تمرین استقامتی: در گروه تمرین استقامتی، موش‌ها به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوارگردان (شیب صفر درجه) دویدند. بر این اساس، سرعت نوارگردان از ۱۸ متر بر دقیقه به ۲۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین نیز از ۲۵ دقیقه به ۴۰ دقیقه رسید.

لیزرزوم‌ها منتقل می‌شوند تا برای انجام بازیافت و تجدید اندامک‌ها تجزیه شوند. بنابراین، اتوفازی برای حفظ هموستاز سلولی ضروری است (۵) و یک نقش اساسی در متابولیسم، بازسازی ساختار، رشد و توسعه ایفا می‌کند (۶).

مطالعات پیشین ارتباط نزدیکی بین وضعیت عملکردی اتوفازی و آتروفی عضله‌ی اسکلتی را نشان داده‌اند (۷). به طوری که هم اتوفازی بیش از حد و هم اتوفازی ناقص می‌تواند منجر به آتروفی عضلانی شود (۸). تاکنون مداخلات متعدد، مانند مکمل‌های غذایی، محدودیت کالری و ورزش برای کاهش سارکوپنیا به طور گسترده مورد بحث قرار گرفته‌اند که از این میان مداخله‌ی ورزشی ممکن است رویکرد مناسبی باشد (۹). ورزش می‌تواند توده و قدرت عضلانی - اسکلتی را افزایش داده و سارکوپنیا را کاهش دهد. با این حال، مکانیسم‌های اساسی هنوز به طور کامل روشن نیست. در عین حال، برخی از مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌تواند به طور قابل توجهی باعث افزایش اتوفازی در عضلات اسکلتی حیوانات مسن شود (۱۰). از طرف دیگر، واضح است که اثرات مثبت تمرین ورزشی، وابسته به متغیرهای مختلف تمرینی، از جمله مهم‌ترین آن‌ها نوع تمرین ورزشی می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات مقاومتی با افزایش سنتز و تجزیه‌ی پروتئین، به عنوان مؤثرترین راه افزایش حجم عضلانی می‌باشند؛ اگرچه تمرینات استقامتی نیز تا حدودی باعث ایجاد هایپرتروفی می‌شود. علاوه بر این، مسیرهای سیگنالی نظیر Akt/FOXO3a نقش‌های تنظیمی مهمی را برای اتوفازی در عضله‌ی اسکلتی و کاهش سارکوپنیا ایفا می‌کنند (۱۰).

زیرخانواده فاکتورهای رونویسی FOXO (Forkhead box O3) هدف Akt (Protein kinase B/ Akt) هستند. این زیرخانواده از سه عضو FOXO1 (FKHR)، FOXO3a و FOXO4 تشکیل شده است که همگی توسط Akt غیرفعال می‌شوند. فسفوریلاسیون توسط Akt منجر به حذف و مهار برنامه‌ی رونویسی می‌شود. فاکتورهای رونویسی FOXO در تنظیم عملکردهای سلولی متنوع از جمله تمایز، متابولیسم، تکثیر و بقا نقش دارند. اخیراً نشان داده شده است که فاکتورهای رونویسی FOXO آتروفی را در عضله‌ی اسکلتی تقویت می‌کند (۱۱). در حقیقت، عوامل رونویسی FOXO باعث بیان دو لیگاز یوبیکوئیتین E3 (MAFbx) با نام دیگر Atrogin1 و MuRF1 شده که این مسأله، یوبیکوئیتیناسیون و تجزیه‌ی پروتئین‌های سارکومری به وسیله‌ی پروتئوزوم را در پی دارد (۱۲). از آن‌جا که Akt دارای سوبستراهای متعددی است و از مسیرهای مختلفی می‌تواند مرگ سلولی را مهار کند؛ از آن به عنوان مسیر بقای سلولی نیز نام برده می‌شود (۱۳). نشان داده شده است فعال شدن عامل نسخه‌برداری FOXO3 به طور اختصاصی باعث افزایش LC3 در

استخراج RNA از نمونه‌ها توسط کیت استخراج RNA (پارس توس، ایران) انجام شد. سپس با استفاده از کیت سنتز cDNA (پارس توس، ایران) نمونه‌های RNA توسط دستگاه ترموسایکلر (اپندورف ساخت آلمان) به cDNA تبدیل شدند. توالی پرایمر مربوط به ژن‌های FOXO3 و AKT و ژن مرجع در جدول ۲ آورده شده است. در نهایت میزان بیان ژن‌های مورد نظر با استفاده از تکنیک Rael-time PCR با استفاده از رنگ SYBR Green اندازه‌گیری شدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکنیک Rael-time PCR مطابق جدول ۲ می‌باشد. پس از اتمام واکنش و مشخص کردن خط آستانه، سیکل آستانه‌ی هر نمونه به دست آمد (Ct). در نهایت میزان بیان ژن‌های مورد نظر از طریق معادله‌های زیر به دست آمد (۱۷).

$(\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \quad (\Delta Ct = Ct \text{ Target} - Ct \text{ Housekeeping}))$

$E = 2^{-\Delta\Delta Ct} \quad \text{Target} - \Delta Ct \text{ Reference}$

جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده بین گروه‌های پژوهش، از آزمون‌های واریانس یک طرفه و Tukey استفاده گردید. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ (Armonk, NY) در سطح معنی‌داری ($P \leq 0/05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که بین مقادیر FOXO3 در گروه‌های مقاومتی، استقامتی و شاهد، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P = 0/045$) (جدول ۳). همچنین نتایج آزمون تعقیبی Tukey نشان داد که تمرینات مقاومتی در مقایسه با گروه شاهد، تأثیر معنی‌داری در کاهش FOXO3 داشته است ($P = 0/04$) (جدول ۴).

به علاوه نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که بین مقادیر پروتئین Akt در گروه‌های مقاومتی، استقامتی و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P = 0/001$) (جدول ۳).

همچنین، ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با شدت پایین در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرینی اجرا شد (۱۵).

پروتکل تمرین مقاومتی: پروتکل تمرین مقاومتی به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نردبان یک متری با فاصله‌ی پله‌های ۲ سانتی‌متری و شیب ۸۵ درصد اجرا شد. موش‌ها با وزنه‌ی متصل شده به دم (به میزان ۱۰ درصد وزن بدنشان) از نردبان بالا می‌رفتند و هر هفته وزنه به میزان ۱۰ درصد وزن بدن موش‌ها افزایش می‌یافت، در هر جلسه ۱۰ تکرار و بعد از رسیدن به بالای نردبان ۱۰ تا ۲۰ ثانیه استراحت داده می‌شد (۱۶). برنامه‌های تمرین استقامتی و مقاومتی در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. برنامه‌های تمرین استقامتی و مقاومتی

گروه	هفته‌ها	شدت تمرین	مدت تمرین
تمرین استقامتی	۴-۱	۱۹-۱۸ متر بر دقیقه	۲۵-۳۲ دقیقه
	۸-۵	۲۰-۱۹ متر بر دقیقه	۳۳-۴۰ دقیقه
تمرین قدرتی	۴-۱	۴۰-۱۰ درصد وزن بدن	۲۵-۳۵ دقیقه
	۸-۵	۸۰-۵۰ درصد وزن بدن	۲۵-۳۵ دقیقه

نحوه‌ی نمونه‌گیری و اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی: با توجه به اهداف پژوهش، بافت‌برداری عضله‌ی دوقلو در انتهای پروتکل‌های تمرینی انجام شد. برای این منظور، تمامی موش‌های صحرایی با استفاده از ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. پس از بیهوشی، عضله‌ی دوقلو پای چپ تمامی موش‌های صحرایی برداشته شد و پس از برداشتن و پاک‌سازی از خون به درون کرایوتیوب‌های کلدگاری شده، منتقل و سپس با استفاده از ازت مایع منجمد شده و در ادامه در یخچال منفی ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در ادامه برای اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق، نمونه‌های فریز شده به آزمایشگاه تخصصی - تحقیقاتی دانشگاه آزاد مشهد منتقل شده و تمامی اندازه‌گیری‌ها زیر نظر متخصص علوم پزشکی صورت گرفت.

جدول ۲. پرایمرهای مورد استفاده در تکنیک Rael-time PCR

نام پرایمر	توالی پرایمر	دمای Tm (درجه‌ی سانتی‌گراد)
ACTB -F	CACCATTGGCAATGAGCGGTTC	۶۰
ACTB -R	AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT	
rAKT-F	ATCGTTGCCAAGGATG	۶۰
rAKT-R	GAGACAGGTGGAAGAAGA	
rFOXO3-F	GCTGTGTGCCCTACTTC	۶۰
rFOXO3-R	CCAGTCCCCTCGTTCTG	

جدول ۳. نتایج مربوط به تحلیل واریانس یک طرفه بیان ژن FOXO3 و Akt

متغیر	منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
FOXO3	بین گروهی	۲۳/۵۴۳	۲	۱۱/۷۷۱	۴/۸۶۸	۰/۰۴۵
	درون گروهی	۱۴/۵۰۸	۶	۲/۴۱۸		
	کل	۳۸/۰۵۱	۸			
Akt	بین گروهی	۷/۳۶۲	۲	۳/۶۸۱	۲۷/۵۹۷	۰/۰۰۱
	درون گروهی	۰/۸۰۰	۶	۰/۱۳۳		
	کل	۸/۱۶۲	۸			

°: معنی‌داری در سطح ۵ درصد و با اطمینان ۹۵ درصد

جلوی آتروفی عضلانی را بگیرد (۱۸). همراستا با نتایج مطالعه‌ی حاضر با Bae و همکاران نشان دادند که در موش‌هایی که تزریق سیسپلاتین (Cisplatin) (ماده‌ای که باعث از دست رفتن و تحلیل عضلات می‌شود) داشتند، هشت هفته تمرین مقاومتی باعث کاهش بیان FOXO3 و افزایش بیان Akt گردید (۱۹).

همچنین Zeng و همکاران نشان دادند که ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی و استقامتی در موش‌های ۲۱ ماهه، باعث افزایش نسبت Akt به FOXO3 گردید (۱۰).

به نظر می‌رسد تنظیم FOXO به نوع و شدت تمرین، همچنین سابقه‌ی ورزشی بستگی داشته باشد. این فاکتور با تنظیم رونویسی ژن‌های مرتبط با اتوفاژی برای تنظیم و تعدیل این فرایند ضروری می‌باشد. Akt که یکی از اعضای خانواده‌ی سرین-ترئونین پروتئین کینازها می‌باشد، با فعال کردن mTOR و فسفریلاسیون FOXO3، اتوفاژی را تنظیم منفی می‌نماید. نسبت Akt به FOXO3 به عنوان یکی از مسیرهای سیگنالینگ اصلی که می‌تواند اتوفاژی را در عضله‌ی اسکلتی تنظیم نماید، شناخته می‌شود. با توجه به اینکه FOXO3 در عضلات اسکلتی هنگام آتروفی افزایش می‌یابد، بنابراین انتظار می‌رود تمرین مقاومتی که با افزایش سنتز پروتئین همراه است، بیان این ژن درگیر در آتروفی را کاهش دهد (۲۰). همچنین با توجه به تأثیری که به نظر می‌رسد Akt مستقیماً بر FOXO3 می‌گذارد، زمانی که محرک‌های رشدی مانند تمرینات بدنی وجود دارد، Akt فاکتور آتروفی یعنی FOXO3 را فسفریله می‌کند، FOXO3 فسفریله شده در سیتوزول باقی می‌ماند و تأثیر آن بر آتروفی عضلانی غیرفعال می‌شود. اما زمانی که محرک رشدی برداشته شود، Akt غیرفعال شده و به دفسفریله شدن FOXO3 منجر می‌شود و اجازه می‌دهد که FOXO3 از سیتوزول به هسته منتقل شود و ژن‌های درگیر در مهار سیکل سلولی، متابولیسم و مرگ سلول را فعال کند (۱۰). نتایج مطالعه‌ی حاضر با پژوهش Kwon و همکاران همراستا می‌باشد. آن‌ها نشان دادند هشت هفته تمرین مقاومتی (سه جلسه در هر هفته) باعث کاهش بیان Akt در بافت عضله‌ی

نتایج آزمون تعقیبی Tukey، نشان داد در مقدار Akt بین گروه‌های شاهد و مقاومتی و همچنین بین گروه‌های استقامتی و مقاومتی تفاوت معنی‌داری وجود دارد و تمرینات مقاومتی نسبت به تمرینات استقامتی باعث افزایش بیشتر Akt شد ($P = 0/002$)، ولی بین گروه‌های شاهد و استقامتی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه‌ی میانگین‌های مربوط به بیان ژن FOXO3 با استفاده از

آزمون تعقیبی Tukey

متغیر	گروه	اختلاف میانگین	P
FOXO3	شاهد	۱/۸۸	۰/۳۶۳
	مقاومتی	۳/۹۶	۰/۰۴
Akt	مقاومتی	۲/۰۸	۰/۳۰۲
	شاهد	-۰/۰۴	۰/۹۸۹
مقاومتی	مقاومتی	-۱/۹۴	۰/۰۰۲
	مقاومتی	-۱/۹۰	۰/۰۰۲

°: معنی‌داری در سطح ۵ درصد و با اطمینان ۹۵ درصد

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین مقاومتی، منجر به افزایش بیان Akt و کاهش بیان FOXO3 در بافت عضله‌ی موش‌های صحرایی مسن ۱۸ ماهه شد، اما تمرینات استقامتی، تغییر معنی‌داری در بیان این پروتئین ایجاد نکرد. همچنین در مقایسه‌ی بین گروه‌های تحقیق، تمرینات مقاومتی بیشتر از تمرینات استقامتی باعث افزایش بیان Akt گردید اما در بیان FOXO3 تفاوتی بین گروه‌های مقاومتی و استقامتی مشاهده نشد.

مشخص شده است که ورزش می‌تواند سنتز پروتئین‌های عضلانی را توسط هورمون‌ها و فاکتورهای رونویسی تنظیم نماید. تمرین مقاومتی می‌تواند کارایی عضلات را بالا ببرد و با افزایش تستوسترون و هورمون رشد باعث افزایش Akt گردد. فعال شدن Akt به نوبه‌ی خود می‌تواند باعث تنظیم عوامل پایین دست شده و

موش‌های صحرائی گردید (۲۱).

علاوه بر این، همسو با مطالعه‌ی حاضر، Kavazis و همکاران گزارش کردند که تمرین ورزشی استقامتی کوتاه‌مدت منجر به کاهش رونویسی شدید از FOXO1 و FOXO3 در ماهیچه‌ی اسکلتی و قلب تحت درمان با دوکسوروبیسین (داروی ضدسرطان) شد. از آنجایی که استفاده از دوکسوروبیسین فعالیت مسیرهای اتوفازژی را افزایش می‌دهد، فعالیت ورزشی شدید می‌تواند این فعالیت را کاهش دهد (۲۲).

محققین به بررسی سطح FOXO3a در عضله‌ی دو قلو و عضله‌ی نعلی موش‌های ۱۲ ماهه تحت ورزش شنا پرداختند. این محققین گزارش کردند که سطح FOXO3a در عضله‌ی دو قلو گروه تحت شنا نسبت به شاهد افزایش یافته است در حالی‌که در عضله‌ی نعلی کاهش مشاهده شد (۸). Tharrington پژوهشی را در ارتباط بررسی تمرین مقاومتی شدید در زنان و مردان جوان و پیر بر بیان FOXO3a انجام داد و گزارش کرد، تغییرات معنی‌دار نیست (۲۳). Williamson و همکاران گزارش کردند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی در زنان جوان می‌تواند میزان فسفو-FOXO3a را افزایش دهد که این نتیجه ممکن است به دلیل فعالیت بیشتر مسیر سیگنالینگ Akt-FoxO3a در حیوان نسبت به انسان باشد (۲۴).

نشان داده شده است که Akt از طریق فعال کردن mTOR و غیرفعال کردن FOXO3 باعث تنظیم منفی اتوفازژی می‌گردد. اگرچه نقش Akt در پاسخ به بار مکانیکی در عضلات آزمودنی‌های سالمند هنوز به طور کامل روشن نشده است. مطالعاتی که بر روی میزان Akt در عضلات آزمودنی‌های سالمند انجام شده است نتایج متفاوتی از کاهش قابل ملاحظه، تغییرات اندک و افزایش قابل ملاحظه داشته است (۲۴-۲۶). این اختلافات ممکن است ناشی از تنوع گونه‌های حیوانی مورد بررسی، نحوه‌ی تمرین مقاومتی، نوع عضلات مورد بررسی، سن و جنس مورد استفاده برای مقایسه، زمان برداشت عضله و محل فسفوریلایون Akt و FOXO3 باشد. همچنین این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از مسیرهای سیگنالینگ متفاوت هایپرتروفی باشد. از جمله‌ی این مسیرها می‌توان به MGF، IGF1 و PGC1α4 اشاره کرد. Akt یک پروتئین سرین/ترئونین کیناز خاص است که نقش کلیدی در فرایندهای سلولی متعدد از جمله رشد و بقاء سلول، تکثیر و سوخت و ساز بدن ایفا می‌کند. نشان داده شده است که فعال شدن

این پروتئین به مدت ۲ الی ۳ هفته برای سنتز پروتئین و در نتیجه هایپرتروفی کافی است (۲۷). در مطالعه‌ی حاضر، تمرین مقاومتی بیشترین تأثیر را بر افزایش بیان پروتئین Akt داشت که با توجه به اینکه بیان ژن‌های مرتبط با سنتز پروتئین توسط تمرین مقاومتی افزایش می‌یابد و ژن‌های درگیر در روند تجزیه d پروتئین توسط پروتکل مقاومتی و استقامتی سرکوب می‌شوند؛ بنابراین کاربرد عملی دو پروتکل به طور همزمان به منظور کاهش آتروفی عضلانی در شرایط پاتولوژیک و سالمندی برای بهبود عملکرد ورزشی پیشنهاد می‌شود. در مطالعه‌ی پیشنهاد شد که تمرینات هوازی و مقاومتی هر دو به طور ایمن می‌توانند آتروفی عضلات اسکلتی را با فعال کردن مسیر PI3K/Akt کاهش دهند. صرف نظر از نوع تار عضلانی-اسکلتی، تمرینات مقاومتی بالا رفتن از نردبان، با تعدیل مسیر Akt-FoxO3a بر توده‌ی عضلانی-اسکلتی تأثیر می‌گذارد (۱۹).

فعالیت ورزشی به علت تغییر شرایط متابولیکی از طریق افزایش فعالیت AMPK سبب افزایش فعالیت PGC1α و Akt از طریق مسیرهای سیگنالینگ متفاوتی شده اما مطالعات نشان داده‌اند که بسته به نوع و شدت تمرین، فعال شدن مسیرها بر دیگری غلبه دارد و بعضاً ممکن است مسیرها همزمان فعال شوند (۲۸).

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در عضله‌ی دو قلو در رت‌های نر سالمند، تمرینات مقاومتی به دلیل فعال کردن و فراخوانی بیشتر واحدهای حرکتی به ویژه واحدهای حرکتی تند انقباض، نسبت به تمرینات استقامتی تأثیر بیشتری در فعال‌سازی مسیرهای منتهی به اتوفازژی دارند. اگرچه تمرینات استقامتی نیز می‌توانند مسیرهای ذکر شده را به میزان کمتری فعال نمایند. بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی، شیوه‌ی تمرینی مؤثرتری در بهبود عوامل درگیر در پیشبرد سارکوپنیا همراه با سالمندی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری رشته‌ی تربیت بدنی گرایش فیزیولوژی ورزش می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد به تصویب رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات تمام کسانی که در انجام پژوهش کمک کرده‌اند، تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Maiese K. Sirtuins: developing innovative treatments for aged-related memory loss and Alzheimer's disease. *Curr Neurovasc Res* 2018; 15(4): 367-71.
2. Iizuka K, Machida T, Hirafuji M. Skeletal muscle is an endocrine organ. *J Pharmacol Sci* 2014; 125(2): 125-31.
3. Larsson L, Degens H, Li M, Salvati L, Lee YI, Thompson W, et al. Sarcopenia: aging-related loss of

- muscle mass and function. *Physiol Rev* 2019; 99(1): 427-511.
4. Chumlea WC, Cesari M, Evans WJ, Ferrucci L, Fielding R, Pahor M, et al. Sarcopenia: designing phase IIb trials: international working group on sarcopenia. *J Nutr Health Aging* 2011; 15(6): 450-5.
 5. Bellot G, Garcia-Medina R, Gounon P, Chiche J, Roux D, Pouyssegur J, et al. Hypoxia-induced autophagy is mediated through hypoxia-inducible factor induction of BNIP3 and BNIP3L via their BH3 domains. *Mol Cell Biol* 2009; 29(10): 2570-81.
 6. Bento CF, Renna M, Ghislat G, Puri C, Ashkenazi A, Vicinanza M, et al. Mammalian autophagy: how does it work. *Annu Rev Biochem* 2016; 85(1): 685-713.
 7. Masiero E, Agatea L, Mammucari C, Blaauw B, Loro E, Komatsu M, et al. Autophagy is required to maintain muscle mass. *Cell Metab* 2009; 10(6): 507-15.
 8. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(44): 16260-5.
 9. Luo L, Lu AM, Wang Y, Hong A, Chen Y, Hu J, et al. Chronic resistance training activates autophagy and reduces apoptosis of muscle cells by modulating IGF-1 and its receptors, Akt/mTOR and Akt/FOXO3a signaling in aged rats. *Exp Gerontol* 2013; 48(4): 427-36.
 10. Zeng Z, Liang J, Wu L, Zhang H, Lv J, Chen N. Exercise-induced autophagy suppresses sarcopenia through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a signal pathways and AMPK-mediated mitochondrial quality control. *Front Physiol* 2020; 11: 583478.
 11. Skurk C, Izumiya Y, Maatz H, Razeghi P, Shiojima I, Sandri M, et al. The FOXO3a transcription factor regulates cardiac myocyte size downstream of AKT signaling. *J Biol Chem* 2005; 280(21): 20814-23.
 12. Goodman CA, Frey JW, Mabrey DM, Jacobs BL, Lincoln HC, You JS, et al. The role of skeletal muscle mTOR in the regulation of mechanical load-induced growth. *J Physiol* 2011; 589(Pt 22): 5485-501.
 13. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(7): 489-501.
 14. Dobrowolny G, Aucello M, Rizzuto E, Beccafico S, Mammucari C, Boncompagni S, et al. Skeletal muscle is a primary target of SOD1G93A-mediated toxicity. *Cell Metab* 2008; 8(5): 425-36.
 15. Azali Alamdari K, Khalafi M. The effects of high intensity interval training on serum levels of fgf21 and insulin resistance in obese men [in Persian]. *IJDM* 2019; 18(1): 41-8.
 16. Matinhomae H, Ziaolhagh SJ, Azarbayjani MA, Piri M. Effects of Boldenone consumption and resistance exercise on hepatocyte morphologic damages in male wistar rats. *Eur J Exp Biol* 2014; 4(2): 211-4.
 17. Pukajło K, Kolackov K, Łaczmański Ł, Daroszewski J. Irisin--a new mediator of energy homeostasis [in Polish]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2015; 69: 233-42.
 18. Yu J, Hu Y, Li Y, Han T, Zhu R, Fu P. Resistance training relieves skeletal muscle atrophy induced by hypoxia via the Akt-FoxO1-MuRF1/Atrogin-1 signaling pathway. [Online]. [cited 2022 May 04]; Available from: URL: file:///C:/Users/Bitasys/Downloads/Resistance_training_relieves_skeletal_muscle_atrop.pdf
 19. Bae JH, Seo DY, Lee SH, Shin C, Jamrasi P, Han J, et al. Effects of exercise on AKT/PGC1- α /FOXO3a pathway and muscle atrophy in cisplatin-administered rat skeletal muscle. *Korean J Physiol Pharmacol* 2021; 25(6): 585-92.
 20. Kou X, Li J, Liu X, Yang X, Fan J, Chen N. Ampelopsin attenuates the atrophy of skeletal muscle from d-gal-induced aging rats through activating AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling cascade. *Biomed Pharmacother* 2017; 90: 311-20.
 21. Kwon I, Jang Y, Cho JY, Jang YC, Lee Y. Long-term resistance exercise-induced muscular hypertrophy is associated with autophagy modulation in rats. *J Physiol Sci* 2018; 68(3): 269-80.
 22. Kavazis AN, Smuder AJ, Powers SK. Effects of short-term endurance exercise training on acute doxorubicin-induced FoxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)* 2014; 117(3): 223-30.
 23. Tharrington IH. Skeletal muscle forkhead box 3A (FOXO3A) response to acute resistance exercise in young and old men and women: Relationship to muscle glycogen content and 5'-AMP activated protein kinase (AMPK) activity. Greenville, Carolina: East Carolina University; 2010.
 24. Williamson DL, Raue U, Slivka DR, Trappe S. Resistance exercise, skeletal muscle FOXO3A, and 85-year-old women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010; 65(4): 335-43.
 25. Gaugler M, Brown A, Merrell E, DiSanto-Rose M, Rathmacher JA, Reynolds 4th TH. PKB signaling and atrogene expression in skeletal muscle of aged mice. *J Appl Physiol (1985)* 2011; 111(1): 192-9.
 26. Paturi S, Gutta AK, Katta A, Kakarla SK, Arvapalli RK, Gadde MK, et al. Effects of aging and gender on muscle mass and regulation of Akt-mTOR-p70s6k related signaling in the F344BN rat model. *Mech Ageing Dev* 2010; 131(3): 202-9.
 27. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 2001; 294(5547): 1704-8.
 28. Bogdanis GC. Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue. *Front Physiol* 2012; 3: 142.

The Effects of Different Training on Gene Expression Involved in Muscle Autophagy in Elderly Rats

Somayeh Rostamian Dolatshanlou¹, [Sadegh Cheragh-Birjandi²](#), Ali Yaghoubi²

Original Article

Abstract

Background: One of the major problems in old age is sarcopenia, which can be prevented by doing various exercise training. The purpose of the study was to investigate the effect of resistance and endurance training on the expression of genetic factors involved in muscle autophagy in elderly male rats.

Methods: In this study, thirteen male rats aged 18 months were randomly assigned to three groups: control (n = 10), endurance training (n = 10), and resistance training (n = 10). Training programs were done 5 sessions per week for 8 weeks. Then, all subjects were anesthetized 48 hours after the experiment finished and sampling was performed from the bicep. Then, the expression of AKT and FOXO3 genes was measured using the reference gene by Real-Time PCR method. Finally, statistical analysis was conducted using a one-way analysis of variance, and the pairwise differences were evaluated using Tukey's test.

Findings: The results of the analysis variance of FOXO3 and AKT proteins values showed that there is a significant difference between resistance, endurance, and control training groups respectively. Tukey's test for both proteins showed that there is a significant difference between resistance and control groups, and resistance training has a greater effect than endurance training.

Conclusion: Overall, the present study showed that resistance exercises in skeletal muscle can activate autophagy pathways more than endurance exercises. Therefore, resistance training seems to be a more effective training method in improving the expression of genes involved in advancing sarcopenia with aging.

Keywords: Resistance training; Physical endurance; Hypertrophy; Atrophy; Autophagy

Citation: Rostamian Dolatshanlou S, Cheragh-Birjandi S, Yaghoubi A. **The Effects of Different Training on Gene Expression Involved in Muscle Autophagy in eElderly Rats.** J Isfahan Med Sch 2023; 40(699): 1016-22.

1- PhD Candidate, Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Bojnourd, Iran
2- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Bojnourd, Iran

Corresponding Author: Sadegh Cheragh-Birjandi, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Bojnourd, Iran; Email: s_birjandi2001@yahoo.com