Research in Sport Medicine and Technology, Volume 13 - Issue 26 / 2023

Kharazmi University

Research in Sport Medicine and Technology

Print ISSN: 2252 - 0708 Online ISSN: 2588 - 3925

Homepage: https://jsmt.khu.ac.ir

The Effect Of Eight Weeks Of Endurance Training On The Expression Of Glutathione Peroxidase 4 And Malondialdehyde In The Soleus Muscle Of Aged Aale Wistar Rats

Ali Sarlak[1] | Mojtaba salehpour[2] | Hadi samadi[3]

1. Master of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Sports Physiology Department, Faculty of Sports Sciences, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran

corresponding author: Mojtaba salehpour. salehpour@sru.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 3 June 2023
Revised: 14 October 2023
Accepted: 14 October 2023

Keywords:
Endurance training, aged rat, ferroptosis, GPX4, MDA

How to Cite:
Sarlak, A. salehpour, M. samadi, H. The Effect Of Eight Weeks Of Endurance Training On The Expression Of Glutathione Peroxidase 4 And Malondialdehyde In The Soleus Muscle Of Aged Aale Wistar Rats. ***Research In Sport Medicine and Technology, 2023: 13(26): 89-102.***

Introduction: The increase of iron due to aging affects the process of ferroptosis, and the final product of lipid peroxidation, MDA, is the central regulator of ferroptosis. Therefore, the aim of the research was to determine the effect of eight weeks of endurance training on the expression of GPX4 and MDA in the soleus muscle of aged male rats.
Materials and Methods: This study is of an experimental type. 20 healthy rats were divided into two groups of 10 each: training group and control group. The training was done incrementally for eight weeks. 48 hours after the last training session, the soleus muscle of mice was surgically removed and the amount of variables was measured by gene expression and ELISA methods.
Results: There was no significant difference in the level of GPX4 gene expression in the soleus muscle of exercise group rats compared to control group rats (p=0.4079). But the amount of MDA in the training group was significantly reduced compared to the control group (p=0.0028).
Conclusion: According to the findings of the present research, it seems that the effect of endurance training in this research shows a decrease in ferroptosis. The absence of a significant difference in the level of GPX4 gene expression is a sign that endurance training with this intensity does not affect it.

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/)

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

پژوهش در طب ورزشی و فناوری

شاپا چاپی: ۰۷۰۸-۲۲۵۲ شاپا الکترونیکی: ۳۹۲۵-۲۵۸۸

Homepage: https://jsmt.khu.ac.ir

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان بیان GPX4 و MDA در عضله نعلی رت‌های نر سالمند نژاد ویستار

علی سرلک [۱] | مجتبی صالح پور [۲]* | هادی صمدی [۳]

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.

۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.

۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران.

نویسنده مسئول: مجتبی صالح پور salehpour@sru.ac.ir

اطلاعات مقاله:

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۳

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۷/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۲۲

واژه‌های کلیدی:

تمرین استقامتی، رت سالمند، فروپتوز، GPX4، MDA

ارجاع:

علی سرلک، مجتبی صالح‌پور، هادی صمدی. **تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان بیان GPX4 و MDA در عضله نعلی رت‌های نر سالمند نژاد ویستار.** پژوهش در طب ورزشی و فناوری. ۱۴۰۲: ۱۳(۲۶):۱۰۲-۸۹

چکیده

افزایش آهن در اثر افزایش سن در روند فروپتوزیس تأثیر دارد و محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی، MDA است و GPX4 تنظیم‌کننده مرکزی و البته منفی فروپتوز است. فعالیت‌های ورزشی می‌تواند با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی این مسیر سالمندی را تعدیل کند؛ بنابراین هدف از انجام پژوهش، تعیین تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان بیان GPX4 و MDA در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر سالمند بود. این مطالعه از نوع تجربی است. ۲۰ سر موش صحرایی نرسالمند (با میانگین سنی ۲۰ ماهه و میانگین وزنی ۳۷۳ گرم) به دو گروه ۱۰ تایی تقسیم شد: گروه تمرین، گروه کنترل. تمرین به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته با تردمیل ویژه جوندگان به‌طور فزاینده انجام شد. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، عضله نعلی موش‌ها طی جراحی برداشته شد و میزان GPX4 به روش بیان ژن و میزان MDA به روش الایزا اندازه‌گیری شد. برای آنالیز داده‌ها، برای سنجش توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و برا تعیین همگنی واریانس‌ها از آزمون لوین و برای تعیین تفاوت بین دو گروه از آزمون t مستقل استفاده‌شده و از آزمون دی کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر استفاده شد و محاسبات آماری توسط نرم‌افزار Prism Graph Pad نسخه هشت انجام شد. اختلاف معنادار در میزان بیان ژن GPX4 در عضله نعلی موش‌های گروه تمرین نسبت به موش‌های گروه کنترل مشاهده نشد (p=۰/۴۰۷۹) ولی میزان MDA در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت (p=۰/۰۰۲۸). بنا بر یافته‌های تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد اثر تمرین استقامتی در این پژوهش، کاهش فروپتوز را نشان می‌دهد. عدم اختلاف معنادار میزان بیان ژن GPX4 نشان از عدم تأثیر تمرین استقامتی با این شدت بر آن است.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

مقدمه

سالمندی، فرسایش تدریجی ساختار و ارگانیسم بدن که بر اثر گذر زمان، پیش می‌آید، سالمندی را با شروع سن ٦٥ سالگی می‌دانند (١). افزایش سهم افراد سالخورده در جامعه، یکی از مهم‌ترین تحولات اجتماعی قرن ٢١ است (٢). در سال ١٩٧٥ جمعیت جهان دارای ٣٥٠ میلیون سالمند بوده است، در سال ٢٠٢٥ تعداد سالمندان به بیش از یک میلیارد نفر خواهد رسید (٣)، با توجه به آهنگ پرشتاب کاهش باروری ایران طی دو دهه اخیر، پیش‌بینی می‌شود، شروع قرن ١٥ هجری شمسی سرآغاز روند افزایشی جمعیت سالخورده در ایران باشد (٤). سالمندی، تغییراتی را در ساختمان و عمل اعضاء مختلف بدن به وجود می‌آورد (١) و یکی از بارزترین تأثیرات افزایش سن، کاهش توده عضلانی است (٥). بدن انسان از ٣٠ سالگی، سالانه حدود ٪٠,١ تا ٪٠,٥ توده عضلانی اسکلتی را از دست می‌دهد و این کاهش، پس از ٦٥ سالگی شتاب قابل‌توجهی می‌گیرد. کاهش تدریجی و از دست دادن توده عضلانی و قدرت اغلب به عنوان سارکوپنی نامیده می‌شود. (٦, ٧)

اصطلاح سارکوپنی برای اولین بار توسط روزنبرگ معرفی شد (٨)، پژوهشگران اروپایی، سارکوپنی سالمندان را یک سندروم می‌پندارند که تعریف آن را این‌گونه ارائه دادند که با از دست دادن پیش‌رونده توده عضلات اسکلتی و قدرت عضلات به همراه پیامدهای ناگوار، ناتوانی جسمی و کاهش کیفیت زندگی است و سرانجام منجر به مرگ می‌گردد (٨). سارکوپنی دارای پاتوژنز مولکولی پیچیده‌ای است که شامل تغییرات مرتبط با سن در عملکرد عصبی عضلانی، جایگزینی پروتئین‌های عضلانی و سطح هورمون‌ها و حساسیت به آن‌ها است. وضعیت به وجود آمده حاصل یک حالت مزمن التهابی شامل استرس اکسیداتیو و تغییر در فاکتورهای رفتاری به ویژه میزان فعالیت بدنی است (٩). همچنین، تجمع آهن وابسته به سن در عضلات مدل‌های حیوانی سارکوپنی مشاهده می‌شود که در ارتباط با مرگ سلولی فروپتوزیس هست (١٠).

مطالعات اخیر نشان داده است که علاوه بر نکروز و آپوپتوز و ...، حالت‌های مرگ برنامه‌ریزی‌شده دیگری نیز وجود دارد که دارای فرآیندهای بیولوژیکی منحصربه‌فرد و ویژگی‌های ریخت‌شناسی است. در سال ٢٠١٢، دیکسون برای اولین بار مفهوم فروپتوز، یک حالت وابسته به آهن و غیر آپوپتوتیک مرگ سلولی را توصیف کرد که با تجمع گونه‌های اکسیژن فعال مشخص می‌شود. فروپتوز عمدتاً به صورت جمع شدن آشکار میتوکندری با افزایش تراکم غشا و کاهش یا از بین رفتن کریستاهای میتوکندری ظاهر می‌شود (١١). معمولاً فرآیند فروپتوزیس با مقدار زیادی تجمع آهن و پراکسیداسیون لیپید همراه است. فاکتورهای القاکننده فروپتوز می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم GPX4[1] را از طریق مسیرهای مختلف تحت تأثیر قرار دهند (١٢). GPX4 یک هیدروپراکسیداز فسفولیپید است که از سلول‌ها در برابر پراکسیداسیون

1. Glutathione peroxidase 4

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

لیپیدی غشایی محافظت می‌کند (۱۳). غیرفعال سازی GPX4 منجر به تجمع پراکسیدهای لیپیدی می‌شود که مرگ سلولی فروپتوز را به همراه دارد (۱٤). مطالعات اخیر نشان داده است در مسیر فروپتور القاکننده‌ها و مهارکننده‌هایی وجود دارد(۱۱).

فروپتوز توسط یک سری عوامل، از جمله[2]فروستاتین -۱،[3]دفروکسامین و [4]زیلوتون مهار می‌گردد (۱۵). القاکنندگان فروپتوز به دو دسته تقسیم می‌شوند، القاکنندگان کلاس۱[5] به‌عنوان‌مثال، اراستین، سورافنیب، سالفاسالازین و القاءکنندگان کلاس ۲، RSL-3[5] که به‌طور مستقیم فعالیت GPX4 را مهار می‌کنند (۱٦).

محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی، MDA[6] است که نقش اصلی را در القای فروپتوز دارد (۵۰) و ثابت‌شده است که MDA، محصول تخریب‌شده لیپیدهای غیراشباع است (۱۷) که می‌تواند برای اندازه‌گیری سطح پراکسیداسیون لیپیدی استفاده شود (۵۱). گونه‌های فعال اکسیژن، لیپیدهای غیراشباع را تجزیه می‌کنند و MDA را تشکیل می‌دهند (۵۲). پس MDA در سلول‌ها برای ارزیابی درجه فروپتوز سلولی اندازه‌گیری می‌شوند (٥٤).

با توجه به اینکه همه انسان‌ها به مرحله سالمندی که جزئی از زندگی است می‌رسند، مشکلاتی از جمله سارکوپنی در این افراد ایجاد می‌شود که موجب کاهش قدرت و توده عضلانی و چگالی استخوان‌ها می‌شود. طبق پژوهش‌های صورت گرفته، تمرینات ورزشی از جمله تمرین استقامتی موجب کاهش افت قدرت، توده عضلانی و چگالی استخوان‌ها و درنتیجه جلوگیری از سارکوپنی می‌شود. ازآنجایی‌که در سالمندی بر اثر سارکوپنی، افزایش آهن در عضلات در روند فروپتوزیس تأثیر دارند که موجب مرگ سلولی تارهای عضلانی می‌شود، از جهتی تمرینات استقامتی موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود و تقویت وضعیت آنتی‌اکسیدانی در فروپتوز و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش ROS می‌شود و با توجه به اثر آنتی‌اکسیدانی فعالیت ورزشی استقامتی و اثر محافظتی GPX4 در برابر آسیب اکسیداتیو و در نتیجه فروپتوز، این سؤال مطرح می‌شود که آیا هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان بیان GPX4 و MDA عضله نعلی موش‌های صحرایی نر مسن اثرگذار هست یا خیر؟

مواد و روش‌ها

در این مطالعه هدف، توسعه‌ای و روش، تجربی و اجرا به صورت، آزمایشگاهی و طرح، به صورت پس آزمون بود.

نمونه‌های پژوهش: در این مطالعه، ۲۰ سر موش سالمند نر نژاد ویستار سالم با میانگین سنی ۲۰ ماهه و با میانگین وزنی ۳۷۳ گرم از موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی خریداری شد و سپس به آزمایشگاه حیوانات دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی تهران منتقل و با استناد به پیشینه موجود در این زمینه به عنوان نمونه آماری

2. Ferrostatin-1
3. Deferoxamine
4. Zileuton
5. RAS-selective lethal
6. Malon Dialdehyde

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

انتخاب شدند. این پژوهش در آذرماه و دی‌ماه سال ۱۴۰۰ هجری شمسی انجام شد. حیوانات در شرایط دمایی ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵٪ و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی نگهداری و به وسیله آب و غذای مخصوص رت، تغذیه شدند.

روش اجرای پژوهش: موش‌ها پس از ورود به محیط پژوهش به منظور آشناسازی با محیط جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲-۸ متر بر دقیقه به مدت سه روز فعالیت کردند. بعد از گذشت یک هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه) آزمودنی‌ها به صورت تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی، شامل گروه تمرینی (n=10)و گروه کنترل (n=10) تقسیم شدند. تمامی مراحل کار این پژوهش زیر نظر کارگروه اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با شناسه IR/SSRI.REC.2021.11548.1305 انجام شد.

در طول اجرای مطالعه موش‌ها در قالب گروه‌های ۲ تایی در قفس‌های پلی کربنات شفاف در ابعاد ۱۵×۱۵×۳۰ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی نگهداری شدند. غذای آزمودنی‌ها تولید شرکت خوراک دام پاس بود. ازآنجاکه موش‌ها به بیماری‌های تنفسی بسیار حساس هستند، تهویه مناسب برای جلوگیری از تجمع آمونیاک حاصل از ادرار حیوانات در محل نگهداری قرار داده شد و تعویض پوشال قفس موش‌ها سه روز یک‌بار انجام شد. در پروتکل تمرینی، گروه تمرینی به مدت هشت هفته، هر هفته پنج روز تمرین کردند. کل دوره تمرین به سه مرحله آشنایی، اضافه‌بار و حفظ یا تثبیت شدت کار تقسیم شدند. در مرحله آشنایی (هفته اول) موش‌ها هر روز به مدت ۱۵—۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان ویژه جوندگان فعالیت کردند. در مرحله اضافه‌بار (هفته دوم تا چهارم)، موش‌ها ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه دویدند و به تدریج در مدت سه هفته، شدت و مدت فعالیت افزایش یافت تا به میزان نهایی تعیین‌شده رسید. در مرحله حفظ یا تثبیت (هفته پنجم تا هشتم)، موش‌ها به مدت چهار هفته با شدت ۲۸ متر بر دقیقه، معادل ۸۰—۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و به مدت ۶۰ دقیقه روی نوار گردان دویدند (۱۰). در تمام مراحل شیب نوارگردان صفر درجه بود و هرگز از شوک الکتریکی استفاده نگردید. هر جلسه تمرینی با پنج دقیقه برای گرم کردن در قالب راه رفتن روی نوارگردان با سرعت هفت متر بر دقیقه شروع شد و در نهایت، پنج دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد (۱۰). برای سنجش کیفیت تمرین در طول دوره تمرینی دو مرتبه آزمون Vvo_2 max و BMI انجام گرفت. در جدول ۱ پروتکل تمرینی ارائه شد. در جدول ۱ پروتکل تمرینی بیان شد.

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی

مراحل تمرین	هفته	زمان فعالیت (دقیقه)	سرعت تردمیل (متر در دقیقه)
آشنایی	اول	۱۵—۱۰	۱۰
اضافه‌بار	دوم	۳۰—۱۵	۱۷—۱۲
	سوم	۴۵—۳۰	۲۳—۱۷
	چهارم	۶۰—۴۵	۲۳—۲۸
تثبیت	پنجم تا پایان	۶۰	۲۸

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

روش‌های آزمایشگاهی: چهل‌وهشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰–۵۰mg/kg) و زایلازین (۳–۵g/kg) بیهوش و به منظور بافت برداری از محفظه خارج و به روی میز جراحی انتقال داده شدند و عضله نعلی جدا شد و سپس جسد موش‌ها توسط کوره آتش از بین رفت. عضله نعلی ابتدا، در نیتروژن مایع قرار گرفت و بعد به یخچال ۷۰- درجه منتقل شد و بعدازآن از روش آزمایشگاهی الایزا برای اندازه‌گیری MDA و روش بیان ژن برای اندازه‌گیری GPX4 انجام شد.

روش بیان ژن برای سنجش میزان GPX4: ابتدا عصاره سلولی را تهیه کرده و سپس با کیت و ستون استخراج، استخراج انجام شد. بررسی غلظت و کیفیت RNA با استفاده از نانودراپ انجام شد و در ادامه سنتز cDNA بر اساس غلظت RNA با آنزیم ترانس کرپتاز معکوس و کیت اختصاصی بر اساس روش مندرج در بروشور توسط Mastermin Srbergreen انجام شد. ادامه کار با Real Time Pcr با دستگاه Corbet Kiagenrctor Gene 6000 انجام شد و ct ژن مبنا (GAP) و ژن GPX4 در ورد دریافت و سپس وارد محیط اکسل شد و محاسبه Δct با به دست آوردن اختلاف بین ct GAP و ct GPX4 انجام شد تا میزان بیان ژن مورد بررسی قرار گیرد. در جدول ۲ مشخصات پرایمر استفاده‌شده در روش بیان ژن گزارش‌شده است.

جدول ۲. مشخصات پرایمر استفاده‌شده در روش بیان ژن

ژن	توالی پرایمر	شماره الحاق
GPX4	R1:TGGGAGTTGCTGTTGAAGTCAC F1:ATCAAGAAGGTGGTGAAGCAGG	NM_001039849.3

روش الایزا برای سنجش میزان MDA: نمونه خونی ٤٨ ساعت بعد از آخرین جلسه از پروتکل تمرین ناشتا گرفته شد و بعد از ۱۵ دقیقه نگهداری در حرارت آزمایشگاه سپس با یک سانتریفیوژ، جداسازی سرم انجام و در فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا قبل از انجام آزمایش از آن نگهداری گردید. اندازه‌گیری MDA، در شرایط اسیدی و دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد یک مولکول MDA با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و کمپلکس صورتی‌رنگ را ایجاد می‌کند. در ابتدا پروتئین سرم با استفاده از تری کلرواستیک اسید جدا و با سانتریفوژ رسوب جدا و از محلول صاف شده جهت اندازه‌گیری MDA استفاده گردید. با روش اسپکتروفتومتری جذب نوری کمپلکس رنگی در طول موج ۵۳۲ نانومتر پس از کسر جذب زمینه در طول موج ۵۷۲ نانومتر انجام گردید. نتایج حاصل از آنالیز بیوشیمیایی وارد محیط اکسل گردید و سپس برای محاسبات آماری وارد نرم‌افزار Prism ورژن ۸ شد و با استفاده از کیت به شماره ZB-MDA-48A ساخت کشور آلمان انجام شد. سنجش توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیروویلک و تعیین همگنی واریانس‌ها با آزمون لوین بررسی شدند و همچنین از آزمون T مستقل برای اندازه‌گیری تفاوت بین دو گروه استفاده شد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

روش‌های آماری: در بخش مقایسه بین دو گروه در متغیرهای پژوهش ابتدا میزان توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیروویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لوین بررسی شد. پس‌ازآن برای بررسی آزمون‌های پژوهش از آزمون T مستقل استفاده شد و تمامی محاسبات آماری در نرم‌افزار Graph Pad Prism ورژن ۸ انجام شد.

نتایج

در جدول ۳ یافته‌های توصیفی مربوط به Δct GPX4 و MDA و نتایج آزمون **t** مستقل Δct GPX4 **و** MDA موش‌ها گزارش‌شده است.

جدول ۳. یافته‌های توصیفی مربوط Δct GPX4 و MDA و آزمون t مستقل Δct GPX4 و MDA

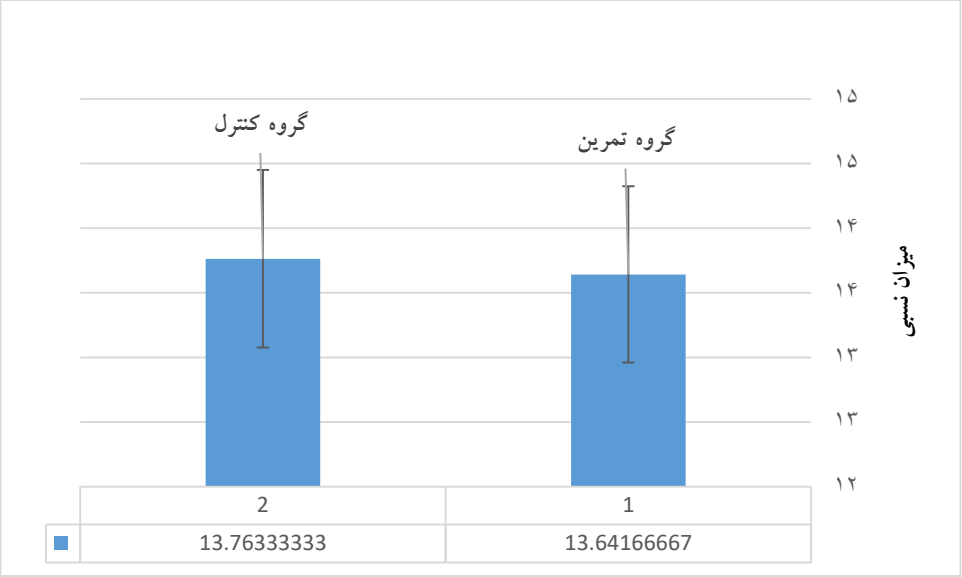
ردیف	متغیر	گروه	نوع آزمون	میانگین و انحراف معیار	مقدار t	درجه آزادی	سطح معناداری
۱	Δct GPX4	تمرین	پس آزمون	۱۴ ±۱/۱	۰/۲۴	۱۰	۰/۴۰۷۹
		کنترل	پس آزمون	۱۴ ±۰/۶۳			
۲	MDA (ngr/ml)	تمرین	پس آزمون	۱/۲ ±۰/۲۴	۳/۱	۱۸	*۰/۰۰۲۸
		کنترل	پس آزمون	۱/۶ ±۰/۳۲			

* در سطح $P \leq 0.05$ معنادار است.

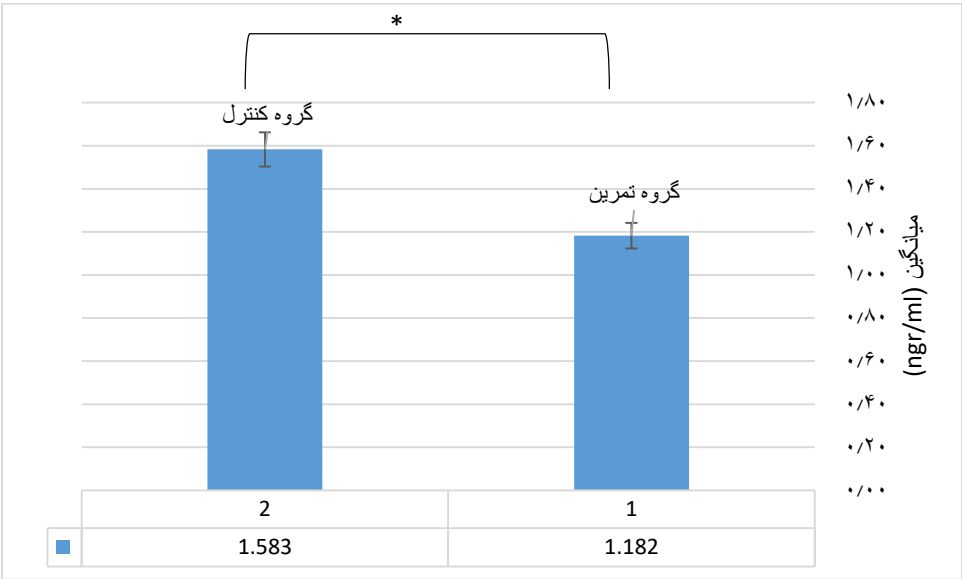
همان‌گونه که در جدول ۳ مشخص است، آزمون تی مستقل متغیر Δct GPX4، اختلاف غیر معنادار را بین دو گروه را نشان می‌دهد (t=۰/۲۴، ۰/۴۰۷۹=سطح معناداری،۱۰=درجه آزادی) و در متغیر MDA، اختلاف معنادار بین دو گروه را نشان می‌دهد (t=۳/۱، ۰/۰۰۲۸=سطح معناداری،۱۸=درجه آزادی).

در نمودار ۱ و ۲ میزان میانگین و انحراف استانداردΔct GPX4 و MDA نمایش داده‌شده است.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]



نمودار ۱. میانگین و انحراف استاندارد Δct GPX4 در هر دو گروه



نمودار ۲. میانگین و انحراف استاندارد MDA در گروه‌ها

با توجه به جدول ۳ میزان Δct GPX4 به صورت پس آزمون در گروه تمرینی کمی بیشتر از گروه کنترل بوده ولی این تفاوت معنادار نیست و نشان می‌دهد که بیان ژن GPX4 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری نداشت.

با توجه به جدول ۳، سطح معناداری این متغیر بزرگ‌تر از ۰/۰۵ است. پس اختلاف معناداری بین گروه‌ها وجود ندارد. با توجه به معنی‌دار نبودن آزمون، یعنی تمرین استقامتی بر میزان GPX4 تأثیر نداشته و باعث شده که Δct GPX4 در

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

گروه‌ها تفاوت معناداری با هم نداشته باشند و این به منظور این هست که میزان بیان ژن GPX4 در گروه‌ها با هم اختلاف معناداری نداشته‌اند. ازآنجاکه میزان GPX4 در دو گروه تقریباً یکسان بوده و پروتکل تمرین پژوهش حاضر بر میزان آن اثر نداشته است. در نمودار ۱ عدم معناداری مشهود است.

با توجه به جدول ۳ سطح معناداری در متغیر MDA کوچک‌تر از ۰/۰۵ است پس اختلاف معناداری بین گروه‌ها وجود دارد. این اختلاف معنادار مؤثر بودن تمرین را نشان می‌دهد. بین گروه تمرین و گروه کنترل اختلاف معنادار وجود دارد و تمرین بر روی میزان MDA مؤثر بوده است و باعث شده در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش‌یافته است. میزان MDA در گروه‌ها در نمودار ۲ نشان داده‌شده است.

برای سنجش کیفیت تمرین دو آزمون BMI و Vvo2 max ابتدا و انتهای دوره تمرین گرفته شد که در جدول زیر نمایش داده‌شده است.

جدول ۳. یافته‌های مربوط به BMI و Vvo2max موش‌های نر سالمند نژاد ویستار

ردیف	متغیر	گروه	نوع آزمون	میانگین و انحراف معیار
۱	Vvo_2 max (m/min)	تمرین	پیش آزمون	۲۱ ± 0/97
			پس آزمون	۳۸ ± ۱/1*
		کنترل	پیش آزمون	۱۹ ±۵ /۵
			پس آزمون	۲۰ ± ۸/۵
۲	BMI $(gr/(cm^2)^{-1})$	تمرین	پیش آزمون	0/۷۸ ± ۰/075
			پس آزمون	* 0/٦٨ ±۰ /۰۷۳
		کنترل	پیش آزمون	0/74 ± 0/024
			پس آزمون	0/75 ± 0/042

در جدول ۳ میزان BMIدر هر دو گروه مشخص شد که در هر دو گروه شاهد کاهش میزان BMI هستیم که در گروه تمرین معنادار بود و تغییرات Vvo_2 max (m/min)در هر دو گروه در هفته اول و هفته آخر پژوهش سنجیده شد و گروه تمرین میزان Vvo_2 max در هفته آخر نسبت به هفته اول افزایش معناداری داشته است ولی گروه کنترل بدون تغییر معنادار بود.

بحث

هدف پژوهش حاضر تعیین تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان GPX4 و MDA در عضله نعلی موش‌های نر سالمند نژاد ویستار بود. هشت هفته تمرین استقامتی موجب کاهش معنادار میزان MDA و عدم‌تغییر معنادار GPX4 شد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

در نتیجه آماری این پژوهش، میزان GPX4 در دو گروه بدون اختلاف معناداری گزارش‌شده که با پژوهش‌های تونگ لئو و همکاران (۱۸) و یانگ هون سون و همکاران (۱۹) غیرهمسو بوده است ولی با پژوهش‌های مرادی و همکاران (۲۰) و یینینگ لو و همکاران (۲۱) و یانگان یو و همکاران (۲۲) و ابراهیمی و همکاران (۲۳) همسو بوده است.

علت اختلاف نتایج پژوهش حاضر با سایر پژوهش‌ها به علت‌های مختلفی نظیر متفاوت بودن نمونه‌ها (انسانی یا حیوانی) و سلامت نمونه‌ها (دیابتی، سالمندی و...)، تفاوت در نوع تمرین و مدت و شدت آن و نوع بافت موردپژوهش است و دسترسی آزادانه به آب و غذا و سالمندی موش‌ها از محدودیت‌های پژوهش حاضر بود.

GPX4 یک هیدروپراکسیداز فسفولیپید است که از سلول‌ها در برابر پراکسیداسیون لیپیدی غشایی محافظت می‌کند. غیرفعال‌سازی GPX4 منجر به تجمع پراکسیدهای لیپیدی می‌شود که منجر به مرگ سلولی فروپتوز می‌شود (۱٤).GPX4 خنثی‌سازی درون‌زا PUFAs-OOH به PUFAs-OH و تجمع ROS را کاهش می‌دهد (۱۲). در واقع، GPX4 متعلق به خانواده گلوتاتیون پراکسیدازها است و در محافظت از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو عمل می‌کند. شکل اکسیدشده گلوتاتیون (گلوتاتیون دی سولفید) که در طی احیای هیدروپراکسیدها توسط GPX4 تولید می‌شود، توسط گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH/H+بازیافت می‌شود. غیرفعال شدن GPX4 منجر به تجمع پراکسیدهای لیپیدی می‌شود که منجر به مرگ سلولی فروپتوز می‌گردد (۲٤).

RSL3 ترکیبی است که به صورت کووالانسی GPX4 را به صورت غیرقابل‌برگشت مهار می‌کند، فعالیت GPX4 نه‌تنها مستقیماً توسط RSL3 مهار می‌شود، بلکه با کاهش اراستین یا سیستین از طریق کاهش GSH نیز مهار می‌شود (۲۵). در مسیر گلوتاتیون–GPX4 در فروپتوزیس، سلنوپروتئین GPX4 اولین بازدارنده مرکزی فروپتوز شناسایی شد. GPX4 وابسته به گلوتاتیون می‌تواند پراکسیدهای لیپیدی PL-PUFA-OOHرا کاهش دهد که به عنوان محرک اصلی فروپتوز عمل می‌کند (۲٦). فروپتوز به‌طور خاص با از دست دادن فعالیت‌های GPX4 فعال می‌شود. GPX4، به عنوان یک آنزیم دفاعی آنتی‌اکسیدانی برای ترمیم آسیب اکسیداتیو به لیپیدها عمل می‌کند و یک مهارکننده اصلی فروپتوز است. فروپتوز با کاهش GSH، اختلال در دفاع ردوکس GPX4، التهاب و تشکیل ROS مضر لیپید مشخص می‌شود (۲۵). هیدروپراکسیدهای لیپیدی واسطه‌های کلیدی در فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی هستند. لیپید هیدروپراکسیداز GPX4 هیدروپراکسیدهای لیپیدی را به الکل‌های لیپیدی تبدیل می‌کند و این فرآیند از تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال لیپیدی سمی جلوگیری می‌کند. مهار عملکرد GPX4 منجر به پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود و منجر به القای فروپتوزیس شود که یک‌شکل غیر آپوپتوتیک مرگ سلولی وابسته به آهن است. این بررسی تشکیل گونه‌های لیپیدی فعال، عملکرد GPX4 در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو لیپیدی و ارتباط بین اختلال عملکرد GPX4، اکسیداسیون لیپید و القای فروپتوز را توصیف می‌کند (۲۷).

ازآنجایی‌که پژوهش‌های مختلف با شدت‌های متفاوت تمرین، نتایج مختلفی را نشان می‌دهد، از طرفی مرگ سلولی فروپتوز هم به‌طورکلی شناخته‌شده نیست. می‌توان گفت با کاهش GPX4 که دلیل آن می‌تواند پیوند کووالانسی RSL3 با GPX4 دلیل دیگر کاهش آن نیز می‌تواند به دلیل اراستین یا سیستئین از طریق کاهش GSH باشد. در تحقیقات که

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

همسو با نتیجه این تحقیق می‌باشند، بیان‌شده است که میزان آنزیم‌های ضد اکسایشی در بافت‌های مختلف بدن متفاوت است و پاسخ آن به ورزش نیز متفاوت است، به‌عنوان‌مثال گزارش‌شده است که سازگاری دستگاه ضد اکسایشی عضلات و تارهای عضلانی به ورزش استقامتی متفاوت است و از طرفی ثابت‌شده است که با افزایش مصرف اکسیژن به هنگام ورزش تولید گونه‌های اکسیژن فعال افزایش می‌یابد، در زمینه اثر فعالیت بدنی بر سیستم دفاع اکسایشی باید این نکته را در نظر گرفت که در هنگام ورزش شدید، مصرف اکسیژن در بدن حدود ۸ تا ۱۰ برابر افزایش می‌یابد، به همین دلیل با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به علت افزایش مصرف اکسیژن ممکن است ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن تضعیف گردد (۲۸). فاکتورهای القاکننده فروپتوز می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم گلوتاتیون پراکسیداز را از طریق مسیرهای مختلف تحت تأثیر قرار دهند. در نتیجه باعث کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدان و تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر چربی در سلول‌ها می‌شوند و در نهایت منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود.RSL3 و Erastin تنظیم‌کننده‌های فروپتوز محسوب می‌شوند (۱۲،۲۹).

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از هر دو گروه، در گروه تمرین میزان MDA نسبت به گروه کنترل کمتر بوده است و این اختلاف معنادار بوده است و در پژوهش‌های دیگری مثل پژوهش هوشمند و همکاران (۳۰)، پژوهش صالحی و همکاران (۳۱) و پژوهش فتوت و همکاران (۳۲) کاملاً مشهود است و همسو است و از طرفی کاهش MDA، نشان از کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو است و باعث افزایش میزان ROS می‌شود.

محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی، MDA است که نقش اصلی را در القای فروپتوز دارد (۵۰) ثابت‌شده است که MDA، محصول تخریب‌شده لیپیدهای چند غیراشباع است که می‌تواند برای اندازه‌گیری سطح پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو استفاده شود (۵۱). گونه‌های فعال اکسیژن، لیپیدهای چند غیراشباع را تجزیه می‌کنند و MDA را تشکیل می‌دهند (۵۲). MDA داخل سلولی به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی تعیین‌شده است (۵۳). مالون دی آلدئید، گونه‌های اکسیژن فعال و اکسیداسیون لیپید در سلول‌ها برای ارزیابی درجه فروپتوز سلولی اندازه‌گیری شد (٥٤). تمرین با شدت بالا در مقایسه با حالت استراحت، استرس اکسیداتیو را القا می‌کند. تمرین با شدت بالا می‌تواند در تعادل بین سیستم‌های اکسیداسیون و ضد اکسیداسیون در بدن اختلال ایجاد کند. در طی تمرین با این شدت یا طی یک دوره کوتاه پس از تمرین، تولید ROS به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد که به افزایش شدید مصرف اکسیژن، فعال شدن سلول‌های التهابی و انقباض عضلانی مربوط می‌شود (۲۱). در ورزش ممکن است تولید رادیکال آزاد ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش یابد و باعث ایجاد فشار اکسایشی گردد (۳۳). میزان MDA در این پژوهش در گروه تمرین به نسبت گروه کنترل کمتر بوده است و این کاهش معنادار بوده است که نشان از کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو است و باعث افزایش میزان ROS می‌شود.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های موجود، تمرین ورزشی از نوع استقامتی می‌تواند مستقل از میزان GPX4 در موش‌های صحرایی‌های نر سالمند، باعث کاهش MDA که نشان از کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نهایت احتمالاً کاهش فروپتوز را در پی دارد. با این حال برای اظهارنظر قطعی در زمینه فروپتوز در عضله اسکلتی به تحقیقات بیشتری نیاز دارد. با توجه به اثرگذار بودن این نوع پروتکل تمرین استقامتی بر متغیر MDA رت‌های سالمند، این مدل تمرینی در مسیر کاهش فروپتوز پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد در گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی است. از تمام کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، کمال تشکر را دارم.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی برای نویسندگان این مقاله وجود ندارد.

References

1. Ameri G, Govari F, Nazari T, Rashidinejad M, Afsharzadeh P. The adult age theories and definitions. Hayat Journal. 2002;8(1):4-13.
2. Safarkhanlou H, Rezaei Ghahroodi Z. The evolution of the elderly population in Iran and the world. Statistics J. 2017;.16-8:(3)5
3. Aram S, Ezatollah. Elderly issues in Iran. Social Science Quarterly. 1992;1(1.2):113-28[in Persian].
4. Mirzai, Qahfarkhi S, Mehri. Demography of the elderly in Iran based on the censuses of 1325 to 1385. Salamand: Iranian Journal of Geriatrics. 2007;2(3):326-31 [in Persian].
5. Allen T, Anderson E, Langham W. Total body potassium and gross body composition in relation to age. Journal of Gerontology. 1960;15:348-57.
6. Curcio F, Ferro G, Basile C, Liguori I, Parrella P, Pirozzi F, et al. Biomarkers in sarcopenia: a multifactorial approach. Experimental gerontology. 2016;85:1-8.
7. Morley JE, Baumgartner RN, Roubenoff R, Mayer J, Nair KS. Sarcopenia. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 2001;137(4):231-43.
8. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. The Journal of nutrition. 1997;127(5):990S-1S.
9. Behrad, Hamed, farmer a, Borujani B, Asadi, subspecies, et al. Sarcopenia disease and recovery strategies: a review article. Journal of Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences. 2020;78(10):632-43[in Persian].
10. Huang Y, Wu B, Shen D, Chen J, Yu Z, Chen C. Ferroptosis in a sarcopenia model of senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8). International Journal of Biological Sciences. 2021;17(1):151.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

11. Freiberger E, Sieber C, Pfeifer K. Physical activity, exercise, and sarcopenia–future challenges. Wiener Medizinische Wochenschrift. 2011;161(17):416-25.
12. Mou Y, Wang J, Wu J, He D, Zhang C, Duan C, et al. Ferroptosis, a new form of cell death: opportunities and challenges in cancer. Journal of hematology & oncology. 2019;12(1):1-16.
13. Sahra Gard H, Rajabi H. Comparison of acute and chronic effects of high-intensity interval training in warm and normal environments on the serum levels of glutathione peroxidase and HSP72 in active men. Physiology of exercise and physical activity journal. 2015;8(1):1201-12[in Persian].
14. Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. Cell. 2014;156(1-2):317-31.
15. Weiland A, Wang Y, Wu W, Lan X, Han X, Li Q, et al. Ferroptosis and its role in diverse brain diseases. Molecular neurobiology. 2019;56(7):4880-93.
16. Ju J, Song Y-n, Wang K. Mechanism of Ferroptosis: A Potential Target for Cardiovascular Diseases Treatment. Aging and disease. 2021;12(1):261.
17. Fazelzadeh M, Fallah Mohammadi Z. The effect of 4 weeks of plyometric exercises on changes in the serum levels of brain-derived nutritional factor, MDA and SOD in active men. Physiology of exercise and physical activity journal. 2016;9(2):1447-54[in Persian].
18. Liu T, Cui Y, Dong S, Kong X, Xu X, Wang Y, et al. Treadmill Training Reduces Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting Ferroptosis through Activation of SLC7A11/GPX4. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2022.
19. Son YH, Lee S-M, Lee SH, Yoon JH, Kang JS, Yang YR, et al. Comparative molecular analysis of endurance exercise in vivo with electrically stimulated in vitro myotube contraction. Journal of Applied Physiology. 2019;127(6):1742-53.
20. Moradi, Habibi, Shakerian, Radiant. The effect of continuous and periodic aerobic exercise on malondialdehyde, dopamine and glutathione peroxidase levels in the hippocampus of rats with pseudo-Parkinsonism. Jundishapur Medical Scientific Journal. 2020;19(2):187-201[in Persian].
21. Lu Y, Wiltshire HD, Baker JS, Wang Q. Effects of High Intensity Exercise on Oxidative Stress and Antioxidant Status in Untrained Humans: A Systematic Review. Biology. 2021;10(**.١٢٧٢:(١٢**
22. Yu Y, Niu R, Li R, Wang J, Cao Q, Sun Z. EFFECTS OF PHYSICAL EXERCISE ON FLUORIDE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN THE LIVER OF MICE. Fluoride. 2021;54(1):43-57.
23. Ebrahimi M, Huanlu DF, Hedayati DM. The effect of different time periods of endurance training on the activity of antioxidant enzymes in rat serum. Researcher's Journal. 2013;18(1):16-22[in Persian].
24. Ighodaro O, Akinloye O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX **:(**Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria journal of medicine. 2018;54(4):287-93.
25. Song X, Wang X, Liu Z, Yu Z. Role of GPX4-mediated ferroptosis in the sensitivity of triple negative breast cancer cells to gefitinib. Frontiers in oncology. 2020;10:597434.
26. Xiang W, Yi X, Xue-Hai Z, Ding-Sheng J. Posttranslational Modifications in Ferroptosis. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2020;2020.
27. Forcina GC, Dixon SJ. GPX4 at the crossroads of lipid homeostasis and ferroptosis. Proteomics. 2019;19(18):1800311.
28. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. Free Radical Biology and Medicine. 2008;44(2):153-9.
29. Devi SA, Kiran TR. Regional responses in antioxidant system to exercise training and dietary vitamin E in aging rat brain. Neurobiology of aging. 2004;25(4):501-8.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

30. Babak HM, Seyedreza AH, Reza KM, Taimaz D. The effect of eight weeks of aerobic training with spirulina supplementation on the plasma levels of MDA, SOD and TAC in men with type 2 diabetes [in Persian].
31. Zahra SA, Masoume H. The effect of aerobic training on renal levels of apelin and nitric oxide in kidney tissue of male rats exposed to zinc oxide nanoparticles [in Persian].
32. Fatot, Jalali, Taghian, Farzaneh. The effect of eight weeks of aerobic training with nano eugenol supplementation on pancreatic tissue UPC3 gene expression and MDA serum levels in diabetic rats. Research in sports science and medicinal plants. 2020;1(1):7۸۹-۹[in Persian].
33. Fazelzadeh, Mohammadi F, Zia. The effect of 4 weeks of plyometric training on changes in serum levels of brain-derived nutritional factor, MDA and SOD in active men. Journal of Exercise Physiology and Physical Activity. 2016;9(2):14 47-54)[in Persian].

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]