University of Tehran
Faculty of
Physical Education and Sport Sciences

Journal of Sport Biosciences

Online ISSN: 2676-4148

Comparing the Effect of Endurance and Resistance Training on the Senescence-Related Genes Expression in the Visceral Adipose Tissue of Obese Rats

Nastaran Ghorbani Dasht Bayaz [1], Adel Donyaei [2], Elham Vosadi [3]✉

1.Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Physical Education, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. E-mail: nastaranqn74@gmail.com
2.Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Physical Education, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. E-mail: adelldonyai@yahoo.com
3.Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Physical Education, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. E-mail: e.vosadi@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received:
15 April 2023
Received in revised form:
22 July 2023
Accepted:
1 August 2023
Published online:
23 September 2023

Keywords:
Endurance Ttraining,
Obese Rats,
Resistance Training,
Senescence-Related Genes.

ABSTRACT

Introduction: Positive regulation of senescence-related markers in adipose tissue leads to adipose tissue disorders. Training seems to be effective in senescence-related gene expression. This study aimed to compare the effect of endurance and resistance training on senescence-related gene expression.

Methods: In this experimental study, Twenty-four obese male rats were divided into three Endurance Training, Resistance Training, and Control groups. The Training groups worked for 8 weeks. The Endurance group training program consisted of continuous running with moderate intensity on the treadmill and the Resistance group training program included climbing a resistance ladder. Meanwhile, the control group had no training. The expression of P53, P16, and IL-6 genes in the visceral tissue of obese rats were measured, and obtained data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests at the significant level of $P<0.05$.

Results: The results of this study showed that the expression levels of P53, P16, and IL-6 genes in the Endurance Training group (P=0.001, P=0.006, P=0.001) and Resistance Training group (P=0.001, P=0.038, P=0.001) had a significant decrease compared with the control group. There was also no significant difference in the gene expression between the training groups (P=0.439, P=0.584, P=0.300).

Conclusion: According to the results of the present study, it seems that endurance and resistance training play a role in reducing the expression of senescence-related genes, and this effect was not different in endurance and resistance training.

Cite this article: Ghorbani Dasht Bayaz N., Donyaei A., & Vosadi E. Comparing the Effect of Endurance and Resistance Training on the Expression of Senescence-Related Genes Expression in the Visceral Adipose Tissue of Obese Rats. 2023. *Journal of Sport Biosciences*. 15(3); 51-60.
DOI: https://doi.org/10.22059/jsb.2023.351533.1560

Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under CC BY-NC 4.0. | Web site: https://jsb.ut.ac.ir/ | Email: jsb@ut.ac.ir.

© The Author(s). Publisher: The University of Tehran Press.

University of Tehran
Faculty of
Physical Education and Sport Sciences

Journal of Sport Biosciences

Online ISSN: 2676-4148

Extended Abstract

Introduction

Obesity is a multifaceted chronic inflammatory disease associated with excessive accumulation of adipose tissue and energy imbalance conditions. With the increase in the storage demand of fat cells due to the excessive nutrients, their function is ultimately disrupted which interferes with lipid storage, the release of free fatty acids and inflammatory mediators. Fat tissue is very important in the health of the organism and aging. Positive regulation of senescence-related markers in adipose tissue leads to adipose tissue disorders and systemic metabolism. Training seems to improve aging in adipose tissue by reducing the expression of senescence-related genes in visceral adipose tissue. Therefore, this study aimed to compare the effect of eight weeks of endurance and resistance training on the expression of P53, P16, and IL-6 genes in the visceral tissue of obese male rats.

Methods

In this experimental study, Twenty-four male adult Wistar rats were fed with the available high-fat diet for nine weeks. After the rats reached the stage of obesity, they were randomly divided into three groups including (1) Endurance Training, (2) Resistance Training, and (3) Control groups. Then the high-fat diet of the animals was changed into the standard diet. Training groups trained for 8 weeks and 5 days a week. The Endurance group training program consisted of continuous running on a treadmill for 50 minutes with 65 to 70% VO_{2MAX} and the Resistance group training program consisted of climbing a resistance ladder with weights equivalent to 30% of their body weight in the first week to 200% of their body weight in the eighth week. At the same time, the control group had no training. The expression of P53, P16, and IL-6 genes in the visceral tissue of obese rats was measured by Real-time PCR analysis. Finally, the data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests, and statistical differences were considered significant at $P<0.05$.

Results

The results of this study showed the expression levels of P53, P16, and IL-6 genes in the Endurance Training group (P=0.001, P=0.006, and P=0.001, respectively) and Resistance Training group (P=0.001, P=0.038, and P=0.001, respectively) had a significant decrease compared with the control group. There was also no significant difference in the expression of P53, P16, and IL-6 genes between the endurance and resistance training groups (P=0.439, P=0.584, and P=0.300, respectively).

Conclusion

According to the results of the present study, it seems that endurance and resistance training play a role in reducing the expression of senescence-related genes (P53, P16, and IL-6), and this effect was not different in both endurance and resistance training.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines: The present study follows the ethical principles approved by the research ethics committee of medical studies with the ethics code: IR.SHAHROODUT.REC.1401.015.

Funding: Financial resources provided by the authors.

Authors' contribution: The contribution of the authors in conducting this research has been the same.

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgments: The authors thank everyone who contributed to this study.

علوم زیستی ورزشی
دانشگاه تهران
دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۴۱۴۸

مقایسهٔ تأثیر تمرین‌های استقامتی و مقاومتی بر بیان ژن‌های وابسته به پیری در بافت احشایی موش‌های صحرایی چاق

نسترن قربانی دشت بیاض[۱]، عادل دنیایی[۲]، الهام وسدی[۳]✉

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران. رایانامه: nastaranqn74@gmail.com
۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران. رایانامه: adelldonyai@yahoo.com
۳. نویسندهٔ مسئول : گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران. رایانامه: e.vosadi@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۰
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱

کلیدواژه‌ها:
تمرین استقامتی،
تمرین مقاومتی،
ژن‌های وابسته به پیری،
موش‌های صحرایی چاق.

چکیده

مقدمه: تنظیم مثبت نشانگرهای مرتبط با پیری در بافت چربی، اختلال در بافت چربی را به‌همراه دارد. به‌نظر می‌رسد تمرین، در بیان ژن‌های مرتبط با پیری تأثیرگذار است. هدف از تحقیق حاضر مقایسهٔ اثر تمرین استقامتی و مقاومتی بر بیان ژن‌های مرتبط با پیری در بافت چربی احشایی موش‌های چاق است.

روش پژوهش: در این پژوهش تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر چاق، به سه گروه تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی و کنترل تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته به فعالیت پرداختند. تمرین گروه استقامتی، شامل دویدن با شدت متوسط روی نوار گردان به‌صورت مداوم و تمرین گروه مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان مقاومتی بود. در همین زمان، گروه کنترل هیچ‌گونه تمرینی نداشت. میزان بیان ژن‌های P16، P53 و IL-6 در بافت احشایی موش‌های صحرایی چاق اندازه‌گیری شد و داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری P<۰/۰۵ ارزیابی شدند.

یافته‌ها: یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد، مقادیر بیان ژن‌های P16، P53 و IL-6، در گروه‌های تمرین استقامتی (P=۰/۰۰۱، P=۰/۰۰۶، P=۰/۰۰۱) و تمرین مقاومتی (P=۰/۰۰۱، P=۰/۰۳۸، P=۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت. همچنین تفاوت معناداری در میزان بیان ژن‌ها، بین گروه‌های تمرینی مشاهده نشد (P=۰/۴۳۹ ، P=۰/۵۸۴، P=۰/۳۰۰).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش حاضر به‌نظر می‌رسد، تمرین استقامتی و مقاومتی در کاهش بیان ژن‌های مرتبط با پیری نقش دارند که این اثرگذاری در تمرینات استقامتی و مقاومتی تفاوتی نداشت.

استناد: قربانی دشت بیاض، نسترن؛ دنیایی، عادل؛ و وسدی، الهام. مقایسهٔ تأثیر تمرین‌های استقامتی و مقاومتی بر بیان ژن‌های وابسته به پیری در بافت احشایی موش‌های صحرایی چاق. *نشریهٔ علوم زیستی ورزشی*. (۳) ۱۵؛ ۶۰-۵۱.
DOI: https://doi.org/10.22059/jsb.2023.351533.1560

دسترسی به این نشریهٔ علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کریتیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است.| آدرس نشریه: https://jsb.ut.ac.ir/ | ایمیل: jsb@ut.ac.ir

ناشر: انتشارات دانشگاه تهران. © نویسندگان.

مقدمه

چاقی، بیماری التهابی چندوجهی، مزمن است که با تجمع بیش‌ازحد بافت چربی [۱] و شرایط عدم تعادل انرژی همراه است. با افزایش تقاضای ذخیره‌سازی سلول‌های چربی در مواجهه با مواد مغذی اضافی، در نهایت عملکرد آنها به خطر می‌افتد که در ذخیره‌سازی لیپیدها، آزادسازی اسیدهای چرب آزاد و واسطه‌های التهابی اختلال ایجاد می‌کنند [۲].

چربی بافت بسیار مهم در سلامت موجود زنده و پیری است [۳]. پژوهشگران تجمع سلول‌های پیر در بافت چربی را به‌عنوان یکی از محرک‌های اصلی پیری و اختلالات مرتبط با افزایش سن معرفی می‌کنّند، که این سلول‌های پیر در بافت چربی با افزایش سن در انسان انباشته می‌شوند و بر عملکرد موضعی و عمومی اثر می‌گذارند [۴]. تجمع بیش‌ازحد سلول‌های چربی، نشانگرهای مختلف پیری سلولی، مانند مهارکننده‌های چرخهٔ سلولی P16، P53 و IL-6 را افزایش می‌دهد [۱]. فعال‌سازی p۵۳ پیامدهای متعددی از جمله پیری سلول‌های پیش‌ساز، تغییر چربی‌زایی و همچنین اختلال در پیام‌رسانی انسولین برای عملکرد بافت چربی را به‌همراه دارد [۱]. در چاقی، بازسازی بافت چربی به یک فرایند بیماری‌زایی با رسوب بیش‌ازحد تودهٔ چربی تبدیل می‌شود [۵]؛ که در میان بی‌شمار مولکول تولیدشده در بافت چربی، برخی از جمله P16، P53 و IL-6 به‌عنوان واسطه‌های پیری سلولی پیشنهاد می‌شوند [۵]، که این چاقی می‌تواند در بافت چربی احشایی به میزان بیشتری نسبت به بافت چربی زیر جلدی، سبب پیری شود [۶].

پژوهش‌ها تأثیر بیان ژن P53 را بر رشد، عملکرد و نگهداری سلول‌های چربی نشان داده‌اند. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد P53 فرایندهای زیستی مانند پاسخ استرس، چرخهٔ سلولی، تکثیر، تهاجم، پیری، آپوپتوز و اتوفاژی را تنظیم می‌کند. اخیراً، عملکردهای متنوع P53 در تنظیم سوخت‌وساز بافت چربی در مطالعات مورد توجه قرار گرفته است که P53 را با ناهنجاری‌های سوخت‌وساز مشاهده‌شده در پیری، چاقی، التهاب و سرطان مرتبط می‌کند [۷].

اگرچه یک نشانگر که تنها در سلول‌های پیر بیان می‌شود شناسایی نشده است، به‌نظر می‌رسد که بیشتر سلول‌های پیرشده P16 را بیان می‌کنند، که یک مهارکنندهٔ کیناز وابسته به سیکلین و سرکوب‌کنندهٔ تومور است و سبب توقف رشد می‌شود. افزون بر این، بیان P16 با افزایش سن در چندین بافت جوندگان و انسان افزایش یافته است. داده‌های تجربی منتشرشده نقش سلول‌های P16 را در پیری و بیماری‌های مرتبط با افزایش سن نشان داده است [۸]؛ که در توقف چرخهٔ سلولی در سلول‌های پیر نقش دارد. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که P16 ممکن است نقشی در تنظیم رونویسی فاکتورهای وابسته به پیری در سلول‌ها داشته باشد.

در مطالعه‌ای نشان داده شده است که حذف نشانگر P16 از سلول‌های پیر در موش‌های مسن، شروع اختلالات مرتبط با افزایش سن، از جمله سارکوپنیا، آب مروارید، تصلب شرایین، از بین رفتن بافت چربی، و تومورزایی را به تأخیر می‌اندازد و طول عمر سالم آنها را افزایش می‌دهد. به این ترتیب، تعریف ماهیت دقیق سلول‌های P16 جهت پیشگیری و درمان پیری و بیماری‌های مرتبط با افزایش سن بسیار مهم است. امروزه، زمینهٔ پیری بر توسعهٔ ترکیبات سنولیتیک متمرکز شده است که دلیل توانایی در کشتن انتخابی سلول‌های پیر تولیدشده در شرایط آزمایشگاهی را دارا هستند [۹].

اینترلوکین-۶ (IL-6) یک سایتوکین است که در تنظیم سوخت‌وساز انرژی نقش دارد. IL-6 می‌تواند به‌طور مداوم در افراد چاق و به‌دنبال عفونت و ورزش افزایش یابد، به‌طوری‌که افراد چاق بیان بالاتری از IL-6 و TNF-α (ژن‌های مربوط به فنوتیپ ترشحی پیری) در بافت چربی احشایی نشان دادند [۱۰]. IL-6 در پاسخ به ورزش به‌شدت تنظیم می‌شود و تحت تأثیر عواملی مانند شدت و مدت ورزش و همچنین در دسترس بودن انرژی قرار می‌گیرد. اگرچه پاسخ IL-6 به ورزش به‌طور گسترده بررسی شده است، اطلاعات کمی در مورد چگونگی تنظیم پاسخ IL-6 وجود دارد. اینترلوکین ۶ لیپولیز را تحریک می‌کند و در حین ورزش از عضلات اسکلتی آزاد می‌شود [۱۱]. تزریق IL-6 به افراد سالم سبب تحریک هیدرولیز لیپیدها و بتااکسیداسیون می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که بیان IL-6 به‌طور چشمگیری با چاقی احشایی ارتباط مثبت دارد و همچنین اهمیت کاهش چاقی و چاقی احشایی را برای جلوگیری از افزایش سطوح سیتوکین نشان می‌دهد [۱۲].

فعالیت ورزشی، نشانگرهای فنوتیپ ترشحی وابسته به پیری[1]را در بافت چربی احشایی کاهش می‌دهد و از تجمع سلول‌های پیر و بیان SASP جلوگیری می‌کند [۴]. مطالعات نشان داده است که فعالیت ورزشی سبب کاهش بیان P16 در موش‌ها حتی پس از چاقی و عواقب آن می‌شود. فعالیت ورزشی ممکن است دستگاه‌های دفاعی مانند آسیب، فرسایش تلومر، فشار اکسایشی، تجمع پروتئین و اختلال عملکرد میتوکندری را برای جلوگیری از پیری سلول‌های بافت چربی در برابر محرک‌های پیری سلولی ایجاد کند. همچنین توان کاهش عوارض ناشی از چاقی را که تهدیدکنندهٔ سلامتی است، حتی در صورت عدم کاهش وزن داراست [۹، ۱۰]. روی‌هم‌رفته به‌نظر می‌رسد فعالیت ورزشی می‌تواند در برابر پیری و بیماری‌های متعدد، عملکرد نویدبخشی داشته باشد که مستلزم مطالعات بالینی بیشتری است [۴]. با وجود تأثیرات شناخته‌شدهٔ رژیم غذایی و ورزش بر سلامتی، سازوکارهای اساسی که توسط آن‌ها بر زیست‌شناسی پیری و بیماری‌های مزمن تأثیر می‌گذارند، هنوز مبهم باقی مانده‌اند. داده‌های این مطالعه از این فرض حمایت می‌کند که اختلال عملکرد بافت چربی احشایی و عواقب آن تا حدی از طریق پیری سلولی واسطه می‌شوند. با توجه به پیری جمعیت، همه‌گیری چاقی و کاهش جهانی فعالیت بدنی، این یافته‌ها پیامدهای مهمی بر سلامت انسان می‌گذارند. با توجه به آنچه بیان شد و عدم مشاهدهٔ مطالعه‌ای در زمینهٔ مقایسهٔ فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی بر بیان ژن‌های مرتبط با پیری در بافت چربی؛ محققان در این مطالعه به بررسی و مقایسهٔ دو شیوهٔ تمرین استقامتی و مقاومتی بر بیان ژن‌های مرتبط با پیری در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی چاق پرداختند.

روش‌شناسی پژوهش

در تحقیق تجربی حاضر، ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ سالم نژاد ویستار (میانگین وزن ۷/۱۱±۱۷۴ گرم)[2] از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. نمونه‌ها در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی در دمای ۳ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و چرخهٔ روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. در ابتدا غذای استاندارد مربوط به مؤسسهٔ سرم و واکسن‌سازی رازی تجزیه‌وتحلیل شد و غذای پرچرب با همکاری این مؤسسه و چند متخصص تغذیهٔ دام تهیه شد. نتایج تجزیه‌وتحلیل رژیم‌ها نشان داد رژیم غذایی استاندارد شامل ۲۵ درصد چربی، ۱۸ درصد پروتئین و ۵۷ درصد کربوهیدرات و رژیم غذای پرچرب به‌ترتیب ۵۰ ۲۰ و ۳۰ درصد بود. حیوانات به مدت نه هفته رژیم غذایی پرچرب مصرف می‌کردند. پس از گذشت نه هفته وزن موش‌های صحرایی ۱۲±۳۱۸ گرم بود که بر اساس شاخص لی، چاق محسوب می‌شدند. پس از همسان‌سازی، به‌صورت تصادفی به سه گروه هشت‌تایی شامل گروه کنترل، گروه تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی تقسیم شدند. در ادامه رژیم غذایی پرچرب حیوانات به رژیم غذایی استاندارد تغییر یافت. مطالعه حاضر کد اخلاق به شمارهٔ IR.SHAHROODUT.REC.1401.015 از کمیتهٔ اخلاق دانشگاه صنعتی شاهرود دارد و در این مطالعه، همهٔ اصول و موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین مصوب کمیتهٔ اخلاق در پژوهش‌های پزشکی رعایت شده است. در تمرین مقاومتی از نردبان مقاومتی با یک متر ارتفاع و شیب ۸۵ درجه و میله‌هایی با دو سانتی‌متر فاصله استفاده شد. پس از مرحلهٔ آشناسازی، تمرین در هفتهٔ اول با وزنه‌ای معادل ۳۰ درصد وزن بدن آن‌ها شروع شد و این وزنه‌ها به دم آن‌ها متصل شد. بار تمرین تا ۲۰۰ درصد وزن بدن تا پایان هفتهٔ آخر ادامه داشت. یک تکرار موفق وقتی بود که حیوان بتواند پله‌ها را کامل و در زمان حدود ۸ ثانیه بالا برود. تمرینات به‌صورت پنج جلسه در هفته بود که هر جلسهٔ تمرین سه نوبت با پنج تکرار را شامل می‌شد. فاصلهٔ استراحتی بین هر ست دو دقیقه و بین هر تکرار یک دقیقه بود. موش‌های صحرایی در ابتدا (فاصله بین تکرارها یک دقیقه) و پایان (فاصلهٔ بین تکرارها سه دقیقه) هر جلسه یک نوبت ۵ تکراری بدون وزنه با هدف گرم و سرد کردن انجام می‌دادند [۱۳]. برای سنجش VO_2max در گروه تمرین استقامتی بعد از ده دقیقه گرم کردن، سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یک بار به میزان دو متر در دقیقه افزایش داشت تا موش‌ها دیگر قادر به دویدن بر نوار گردان نباشند. ملاک رسیدن به VO_2max، عدم افزایش VO_2max با وجود افزایش سرعت بود. سرعت اکسیژن مصرفی بیشینهٔ گزارش‌شده، سرعتی بود که در آن VO_2 به فلات می‌رسید؛ که با سنجش غلظت لاکتات از طریق لاکتومتر (ساخت شرکت Sens Lab

[1]. Senescence-associated secretory phenotype (SASP)

[2]. Wistar

Gmbh، ساخت آلمان) به‌دست می‌آمد و اگر بیشتر از شش میلی‌مول در لیتر بود، به معنای رسیدن به سرعت VO_2max بود. سپس موش‌های صحرایی طبق برنامهٔ ورزشی، هشت هفته و پنج جلسه در هفته به تمرین پرداختند. تمرین گروه استقامتی به این شکل بود که بعد از ۵ تا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه، به مدت ۵۰ دقیقه با شدت ۶۵ تا ۷۰ درصد VO_2max به‌طور مداوم به تمرین پرداختند و در پایان نیز پنج دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2max سرد کردند و در همین زمان گروه کنترل هیچ‌گونه تمرینی نداشت [۱۴، ۱۵].

اندازه‌گیری بیان ژن‌های P53، P16 و IL-6 بافت چربی احشایی

استخراج RNA و سنتز cDNA

برنامهٔ تمرین ۴۸ ساعت پیش از نمونه‌برداری موش‌های صحرایی پایان یافت. استخراج RNA کل از بافت چربی احشایی با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent[1] و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. به این شکل که حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت چربی احشایی به‌صورت جداگانه، برای استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent به روش هاون‌کوبی هموژن شد، سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به مخلوط هموژن‌شده افزوده و تکان داده شد. محصول در ۴°C، ۱۵min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴°C،۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ µL آب RNAS-Free حل شد. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. سنتز cDNA بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

Real time – PCR [۲]

اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های P53، P16 و IL-6 بافت چربی احشایی از روش کمی Real time-PCR با استفاده از روش سایبر گرین انجام گرفت. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ µL و هر واکنش به‌صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی آغازگرها بر اساس اطلاعات در بانک ژنی NBCI[3] و توسط شرکت پیشگام[4]انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است، ضمن اینکه از Gapdh[5]به‌عنوان ژن مرجع استفاده شد. برنامهٔ دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه (تکرار ۴۰ دور) بود. نمودار Melt برای بررسی صحت داده‌ها و نمودار استاندارد به‌منظور بهینه‌سازی شرایط آزمایش رسم شد و بیان داده‌ها توسط نسبت بیان ژن‌های P53، P16 و IL-6 به ژن مرجع محاسبه شد. میزان بیان ژن‌ها نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

داده‌های مورد نیاز پس از جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۶ و همهٔ نتایج به‌صورت (Mean±SEM) بیان و در سطح معناداری $P\leq$ ۰/۰۵ تجزیه‌وتحلیل شد. پس از اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرهای پژوهش با استفاده از آزمون شاپیروویلک، از آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه برای مقایسهٔ میانگین‌های سه گروه استفاده شد و در صورت معناداری از آزمون تعقیبی توکی برای روشن کردن محل اختلاف استفاده شد.

جدول ۱. توالی، طول محصول و دمای ذوب پرایمرهای استفاده‌شده

نام ژن	کد ژن	توالی پرایمر ('3'-5')	طول محصول (bp)	دمای ذوب (C°)
P53	XM_001060107.5	Forward: 5'- GGCAAGCTCTGGAAAGCAAGG-3' Reverse: 5'- AGAGCAACCCAGGAGTCATTCAG-3'	۱۵۹ bp	۸۰/۳۰

[1] .Qiagen, Hilden, Germany
[2] .Real-time polymerase chain reaction
[3]National Center for Biotechnology . Informatio
[4] .Pishgam, Iran
[5]. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

P16	NM_001270981.1	Forward: 5'- CAGCCATTGTCACTACTGGCCTG-3' Reverse: 5'- GGGAGAGAGAGAGGGAGAAGGAG-3'	۱۷۷ bp	۸۰/۹۵
IL-6	NM017008.4	Forward: 5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3' Reverse: 5'- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT-3'	۹۲ bp	۷۹/۹۱
GAPDH	NM017008.4	Forward: 5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3' Reverse: 5'- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT-3'	۹۲ bp	۷۹/۹۱

یافته‌های پژوهش

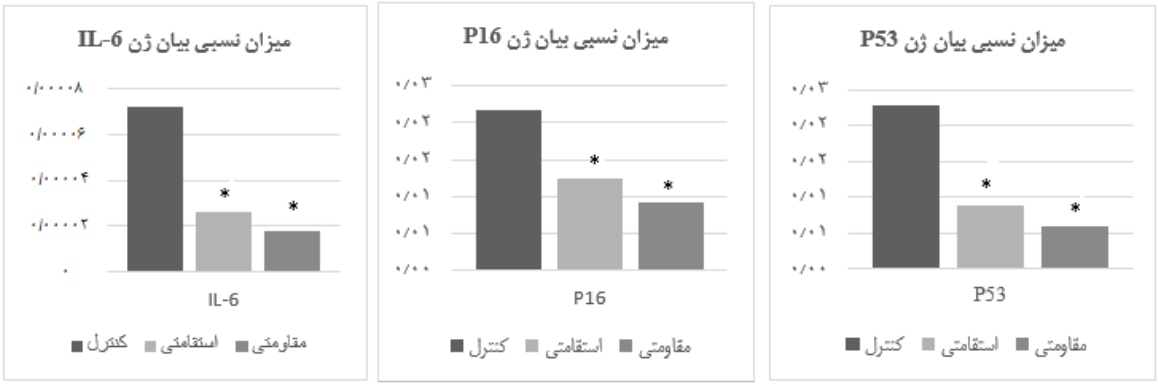
در تحقیق حاضر بین وزن موش‌های صحرایی در پایان هفتهٔ هشتم در گروه کنترل و گروه‌های تمرینی با تعدیل اثر وزن هفتهٔ اول تفاوت وجود داشت (P=۰/۰۲۲) و گروه‌های تمرینی به نسبت گروه کنترل تفاوت کمتری در وزن داشتند.

جدول ۲. مقادیر میانگین و انحراف استاندارد وزن پایانی بدن در گروه‌های مختلف در پایان هفتهٔ هشتم

گروه‌ها	وزن هفتهٔ اول (گرم)	وزن هفتهٔ هشتم (گرم)
گروه کنترل	۳۲۰/۶۰ ± ۱۶/۱۸	۴۱۸/۴۰ ± ۲۸/۵۸
گروه تمرین استقامتی	۳۲۱ ± ۵/۶۱	۳۷۹/۲۵ ±۰۰/۶۱
گروه تمرین مقاومتی	۳۲۲/۴ ± ۱۲/۶۸	۴۰۶/۶۰ ± ۳۹/۸۰

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شده‌اند.

یافته‌های مربوط به بیان ژن حاکی از این بود که مقادیر بیان ژن P53، P16 و IL-6 پس از هشت هفته فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری داشت (P=۰/۰۰۱، P=۰/۰۳۸، P=۰/۰۰۱)، از سوی دیگر در میزان بیان این ژن‌ها بین گروه تمرین استقامتی و مقاومتی تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۴۳۹ ، P=۰/۵۸۴ ، P=۰/۳۰۰) (نمودار ۱).



نمودار ۱. میزان تغییرات مقادیر p53، p16 و IL-6 در گروه کنترل و تمرین استقامتی و مقاومتی پس از هشت هفته فعالیت ورزشی

* معناداری در سطح P< ۰/۰۵

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد مقادیر بیان ژن‌های P53، P16 و IL-6، در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری داشت. همچنین تفاوت معناداری در میزان بیان ژن‌ها، بین گروه‌های تمرینی مشاهده نشد.

سرکوبگر تومور p53 یک القاکنندهٔ متعارف پیری سلولی است (از دست دادن برگشت‌ناپذیر پتانسیل تکثیر و ریخت‌شناسی پیری)، که می‌تواند سبب توقف برگشت‌پذیر بدون ریخت‌شناسی پیری شود، که معمولاً به‌عنوان شکست P53 در القای پیری تفسیر می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند کـه تمـرین اسـتقامتی و مقاومتی موجـب کاهش یا حداقل تعدیل بـروز فرآینـد آپوپتـوز از طریق مسیر داخلی می‌شود [۱۶]. در این زمینه برخـی از تحقیقات گذشته بـه کاهش پـروتئین‌هـای درگیـر در مسـیر میتوکنـدریایی آپوپتوز متعاقب تمرین‌های ورزشی اشـاره داشتند. همسو با پژوهش حاضر بیفاس و همکاران (۲۰۱۸) تأیید کردند که p53 برای تنظیم محتوا و عملکرد میتوکندری و همچنین پروتئین‌ها در مسیرهای اتوفاژی و آپوپتوز مهم است، ولی در یک برنامهٔ تمرینی شش‌هفته‌ای بررسی کردند که ورزش استقامتی هیچ تأثیری بر بیان ژن P53 در موش‌ها ندارد [۱۷]. کیو و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه خود نشان دادند، تمرین ورزشی سطوح پروتئین P53 را در عضلهٔ اسکلتی کاهش می‌دهد [۱۸]. همچنین دشتیان و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که تمرینات استقامتی بیان ژن‌های سرکوب‌کنندهٔ تومور P53 را کاهش می‌دهد [۱۹].

عسگری و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه خود نشان دادندکه انجام هشت هفته تمرین مقاومتی بیان ژن P53 را در موش‌های صحرایی ویستار کاهش می‌دهد [۱۶]. نکتـهٔ مهم قابـل بحث در اینجـا ایـن اسـت کـه اگرچـه کاهـش P53 نشـانهٔ کاهش فشارهای سلولی و آسیب DNA است که از تأثیرات مفید تمرینات ورزش در حفاظت از حیات سلول‌های سالم است و می‌تواند بازیافت سلول‌ها پس از فشارهای ورزشی را بهتر فراهم کند، به‌نظر می‌رسد کاهش بیش‌ازحد P53 مطلوب محیط بافتی نیست و در این تحقیق نیز تمرین مقاومتی مانع از کاهش زیاد P53 شده است، زیرا همان‌طورکه پیشتر ذکر شد، مقادیر فیزیولوژیکی P53 جهت حفاظت و تسهیل ترمیم آسیب DNAضروری است [۲۰].

نتایج حاضر نشان داد که بیان ژن P16 عضلانی پس از فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل است و تفاوت معناداری در میزان بیان ژن P16 نسبت به ژن مرجع، بین گروه استقامتی و مقاومتی وجود ندارد. ماریسا اسشفر و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیقی روی موش‌های تراریخته، به بررسی تأثیرات مضر رژیم غذایی پرچرب بر چندین نشانگر پیری، از جمله p16 و فنوتیپ ترشحی مرتبط با پیری پرداختند و به‌طور خاص با افزایش این نشانگرها در بافت چربی احشایی مواجه شدند. آنها همچنین نشان دادند که ورزش از تجمع سلول‌های پیر و بیان SASP جلوگیری می‌کند و موجب کاهش بیان ژن‌های وابسته به پیری از جمله p16 می‌شود. ورزش بیان p16 را در موش‌های چاق و عواقب آن را کاهش می‌دهد [۲۱]. چی یانگ و همکاران (۲۰۱۸) نیز تغییرات سلول‌های پیر p16Ink4aرا در عضلهٔ اسکلتی مردان جوان قبل و بعد از تمرین مقاومتی بررسی کردند و نتیجه گرفتند که تمرین مقاومتی سبب کم شدن میزان بیان p16Ink4a در عضلهٔ اسکلتی مردان جوان می‌شود و همچنین سلول‌های پیر در عضله پس از تمرین به مدت ۴۸ ساعت کاهش یافت [۲۲]. همچنین ژیانک کی چن و همکاران (۲۰۲۰) در تحقیق خود اظهار کردند که سطح بالاتر فعالیت بدنی و تمرین ورزشی سبب کاهش سطح p16INK4a در انسان می‌شود [۲۳].

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مقادیر IL-6 پس از هشت هفته تمرین به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل است و تفاوت معناداری در میزان بیان ژن IL-6 نسبت به ژن مرجع، بین گروه استقامتی و مقاومتی وجود ندارد. سایتوکاین‌ها، گروهی از پروتئین‌ها هستند که نقش اصلی را در پاسخ‌های التهابی به محرک‌های آسیب‌شناسی مانند التهاب و آسیب بافتی ایفا می‌کنند. تولید سایتوکاین به‌وسیلهٔ دامنه‌ای از محرک‌های فیزیولوژیک مانند ورزش تنظیم می‌شود. از آنجا که تجمع سلول‌های پیری در بافت احشایی سبب فعال شدن ابشار کموکاین‌ها و سایتوکاین‌هایی از جمله اینترلکوین ۶ می‌شود، این احتمال وجود دارد که فعالیت ورزش استقامتی و مقاومتی سبب کاهش بیان این ژن شود. لیباردی و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیق خود تأثیر ۱۶ هفته تمرین مقاومتی، تمرین استقامتی و تمرین همزمان بر نشانگرهای التهابی IL-6 ، TNF-α و سطوح CRP را در مردان میانسال اندازه‌گیری کردند که تفاوت معناداری در مقایسهٔ پیش و پس از تمرین وجود نداشت [۲۴]. پرستس و همکاران تمرین مقاومتی دوره‌ای را در زنان مسن تجویز و کاهش غلظت IL-6 را پس از دورهٔ آزمایش مشاهده کردند [۲۵].

در تحقیق کیمورو و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی رابطهٔ بین نشانگرهای مرتبط با پیری در بافت چربی پس از یک دوره فعالیت ورزش در موش‌های صحرایی پرداخته شد و پژوهشگران نشان دادند که فنوتیپ ترشحی p53، p16 و IL-6 در پاسخ به ده هفته فعالیت ورزشی

کاهش داشته است [۴]. از سوی دیگر، فعالیت ورزشی از کاهش توانایی شناختی مرتبط با افزایش سن که توسط آزمایش ماز آبی ارزیابی شد، جلوگیری کرد و با افزایش سطح سروتونین مغز و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم مرتبط بود. شاید بتوان تغییرات نشانگرهای مرتبط با پیری را به تغییرات سطح سروتونین ناشی از فعالیت ورزشی نسبت داد [۲۶]. با وجود پژوهش‌های اندک در زمینهٔ تأثیر ورزش بر نشانگرهای مرتبط با پیری، سازوکارهای تأثیرات ورزش بر این نشانگرها تا حدودی ناشناخته بوده و نیازمند تحقیقات بیشتری است. پیشنهاد می‌شود با توجه به اثر شدت و مدت تمرین بر نشانگرهای مرتبط با پیری، اثر میراثی فعالیت ورزشی با توجه به محدودیت زمانی در این پژوهش بررسی شود.

تقدیر و تشکر

از مدیریت آزمایشگاه دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی و تمام کسانی که در انجام این پژوهش همکاری داشتند، سپاسگزاریم.

References

[1] Baker DJ, Wijshake T, Tchkonia T, LeBrasseur NK, Childs BG, Van De Sluis B, Kirkland JL, Van Deursen JM. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. Nature. 2011 Nov;479(7372):232-6. Doi: 10.1038/nature10600

[2] De Carvalho FG, Justice JN, Freitas EC, Kershaw EE, Sparks LM. Adipose tissue quality in aging: how structural and functional aspects of adipose tissue impact skeletal muscle quality. Nutrients. 2019 Oct 23;11(11):2553. Doi: 10.3390/nu11112553

[3] Ogrodnik M, Zhu YI, Langhi LG, Tchkonia T, Krüger P, Fielder E, Victorelli S, Ruswhandi RA, Giorgadze N, Pirtskhalava T, Podgorni O. Obesity-induced cellular senescence drives anxiety and impairs neurogenesis. Cell metabolism. 2019 May 7;29(5):1061-77. Doi: 10.1016/j.cmet.2018.12.008.

[4] Kimura M, Suzuki S, Moriya A, Nogami K, Uchida R, Saito Y, Saito H. The Effects of Continuous and Withdrawal Voluntary Wheel Running Exercise on the Expression of Senescence-Related Genes in the Visceral Adipose Tissue of Young Mice. International journal of molecular sciences. 2020 Dec 29;22(1):264. Doi: 10.3390/ijms22010264

[5] Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, Campisi J, Collado M, Evangelou K, Ferbeyre G, Gil J. Cellular senescence: defining a path forward. Cell. 2019 Oct 31;179(4):813-27. Doi: 10.1016/j.cell.2019.10.005

[6] Conley SM, Hickson LJ, Kellogg TA, McKenzie T, Heimbach JK, Taner T, Tang H, Jordan KL, Saadiq IM, Woollard JR, Isik B. Human obesity induces dysfunction and early senescence in adipose tissue-derived mesenchymal stromal/stem cells. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2020 Mar 26; 8:197. Doi: 10.3389/fcell.2020.00197

[7] Villaret A, Galitzky J, Decaunes P, Estève D, Marques MA, Sengenès C, Chiotasso P, Tchkonia T, Lafontan M, Kirkland JL, Bouloumié A. Adipose tissue endothelial cells from obese human subjects: differences among depots in angiogenic, metabolic, and inflammatory gene expression and cellular senescence. Diabetes. 2010 Nov 1;59(11):2755-63. Doi: 10.2337/db10-0398.

[8] Mijit M, Caracciolo V, Melillo A, Amicarelli F, Giordano A. Role of p53 in the Regulation of Cellular Senescence. Biomolecules. 2020 Mar 8;10(3):420. Doi:10.3390/biom10030420

[9] Dang Y, An Y, He J, Huang B, Zhu J, Gao M, Zhang S, Wang X, Yang B, Xie Z. Berberine ameliorates cellular senescence and extends the lifespan of mice via regulating p16 and cyclin protein expression. Aging Cell. 2020 Jan;19(1):e13060. Doi: 10.1111/acel.13060

[10] Kern L, Mittenbühler MJ, Vesting AJ, Ostermann AL, Wunderlich CM, Wunderlich FT. Obesity-induced TNFα and IL-6 signaling: the missing link between obesity and inflammation—driven liver and colorectal cancers. Cancers. 2018 Dec 27;11(1):24. Doi: 10.3390/cancers 11010024

[11] Wedell-Neergaard AS, Lehrskov LL, Christensen RH, Legaard GE, Dorph E, Larsen MK, Launbo N, Fagerlind SR, Seide SK, Nymand S, Ball M. Exercise-induced changes in visceral adipose tissue mass are regulated by IL-6 signaling: a randomized controlled trial. Cell metabolism. 2019 Apr 2;29(4):844-55. Doi: 10.1016/j.cmet.2018.12.007

[12] Jorge, A.S.B., Andrade, J.M.O., Paraíso, A.F., Jorge, G.C.B., Silveira, C.M., de Souza, L.R., Santos, E.P., Guimaraes, A.L.S., Santos, S.H.S. and De-Paula, A.M.B., 2018. Body mass index and the visceral adipose tissue

expression of IL-6 and TNF-alpha are associated with the morphological severity of non-alcoholic fatty liver disease in individuals with class III obesity. Obesity research & clinical practice, 12(1), pp.1-8. Doi: 10.1016/j.orcp.2016.03.009
[13] Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. Journal of Exercise physiology online. 2003 May 1;6(2).
[14] Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisløff U, Ellingsen Ø. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. Cardiovascular research. 2005 Jul 1;67(1):161-72. Doi: 10.1016/j.cardores.2005.03.010
[15] Iemitsu M, Maeda S, Miyauchi T, Matsuda M, Tanaka H. Gene expression profiling of exercise-induced cardiac hypertrophy in rats. Acta Physiologica Scandinavica. 2005 Dec;185(4):259-70. Doi: 10.1111/j.1365-201x.2005. 01494.x
[16] Askari B, bijeh N, rashidlamir A. The effect of 8 weeks IGF-1 injection and resistance training on Cox-2 and p53 expression in colorectal of male Wistar rats. Gournal of Sport and Exercise Physiology. 2019; 12(1):115-27. (In Persian) Doi: 10.52547/joeppa.12.1.115
[17] Beyfuss K, Hood DA. A systematic review of p53 regulation of oxidative stress in skeletal muscle. Redox Report. 2018 Jan 1;23(1):100-17. Doi: 10.1080/13510002.2017.1416773
[18] Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. Free radical biology and medicine. 2011 Apr 1;50(7):794-800. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022
[19] Dashtiyan AA, Sepehrimanesh M, Tanideh N, Afzalpour ME. The effect of endurance training with and without vitamin E on expression of p53 and PTEN tumor suppressing genes in prostate glands of male rats. Biochimie open. 2017 Jun 1; 4:112-8. [In Persian] Doi: 10.1016/j.biopen.2017.03.005
[20] Shirvani H, Isanejad A, Rahim M, Bazgir B, Alizadeh AM. Changes in monocarboxylate transporter 1 and p53 gene expression by aerobic interval training in the experimental colon carcinoma of mouse. Tehran University Medical Journal. 2018 Aug 15;76(5). [In Persian]
[21] Schafer MJ, White TA, Evans G, Tonne JM, Verzosa GC, Stout MB, Mazula DL, Palmer AK, Baker DJ, Jensen MD, Torbenson MS. Exercise prevents diet-induced cellular senescence in adipose tissue. Diabetes. 2016 Jun 1;65(6):1606-15. Doi: 10.2337/db15-0291
[22] Yang C, Jiao Y, Wei B, Yang Z, Wu JF, Jensen J, Jean WH, Huang CY, Kuo CH. Aged cells in human skeletal muscle after resistance exercise. Aging (Albany NY). 2018 Jun;10(6):1356. Doi: 10.18632/aging.101472
[23] Chen XK, Yi ZN, Wong GT, Hasan KM, Kwan JS, Ma AC, Chang RC. Is exercise a senolytic medicine? A systematic review. Aging Cell. 2021 Jan;20(1): e13294. Doi: 10.1111/acel.13294
[24] Libardi CA, De Souza GV, Cavaglieri CR, Madruga VA, Chacon-Mikahil M. Effect of resistance, endurance, and concurrent training on TNF-a, IL-6, and CRP. Med Sci Sports Exerc. 2012;44(1):50-6. Doi: 10.1249/mss.0b013e318229d2e9
[25] Prestes J, Shiguemoto G, Botero JP, Frollini A, Dias R, Leite R, Pereira G, Magosso R, Baldissera V, Cavaglieri C, Perez S. Effects of resistance training on resistin, leptin, cytokines, and muscle force in elderly post-menopausal women. Journal of sports sciences. 2009 Dec 1;27(14):1607-15. Doi: 10.1080/02640410903352923
[26] Melancon MO, Lorrain D, Dionne IJ. Changes in markers of brain serotonin activity in response to chronic exercise in senior men. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2014;39(11):1250-6. Doi: 10.1139/apnm-2014-0092