



اثر هشت هفته تمرین مقاومتی در ترکیب با مکمل BCAA نانولیپوزوم بر بیان ژن های bax و bcl-2 میتوکندری کاردیومیوسیت رت های مدل سکتة قلبی

فاطمه معینی^۱، الهام فرهادفر^۲، محمد عظیم نژاد^۳

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران
۳. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

elhamfarhadfar@gmail.com

چکیده:

مقدمه و هدف: مکانیسم های سلولی زمینه ساز آپوپتوزیس ناشی از انفارکتوس میوکارد در عضله قلبی پیچیده و نیاز به بررسی های بیشتری دارد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین مقاومتی در ترکیب با مکمل BCAA نانولیپوزوم بر بیان ژن های bax و bcl-2 میتوکندری کاردیومیوسیت رت های مدل سکتة قلبی بود.

روش شناسی: ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار مدل سکتة قلبی به صورت تصادفی در ۴ گروه کنترل، مکمل (BCAA نانولیپوزوم)، توام (تمرین مقاومتی + مکمل BCAA نانولیپوزوم) و تمرین (تمرین مقاومتی) تقسیم شدند. تمرین مقاومتی شامل هشت هفته تمرین نردبان با شدت متوسط (۷۰ درصد از MVCC) و پنج روز در هفته بود. در گروه های مکمل و توام ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته، مکمل BCAA نانولیپوزوم و به میزان ۶۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ دریافت شد. bax و bcl-2 با استفاده از روش Real-time PCR به دست آمد. تجزیه و تحلیل آماری با تحلیل واریانس دوطرفه، یکطرفه و آزمون توکی انجام شد.

یافته ها: نتایج پژوهش بیانگر کاهش معنی دار bax و افزایش معنی دار بیان ژن bcl-2 کاردیومیوسیت رت های مدل سکتة قلبی در گروه توام و تمرین به نسبت گروه های مکمل و کنترل بود ($p=0/001$). همچنین تفاوت معنی داری بین دو گروه کنترل و مکمل مشاهده نشد ($p=0/201$).
نتیجه گیری: به نظر می رسد تمرین مقاومتی و مصرف مکمل BCAA تا اندازه ای احتمالاً می تواند آپوپتوز را کمتر کند. این نتایج اثر مثبت فعالیت مقاومتی در حفظ حیات سلول و تعدیل آپوپتوز در بافت قلبی را نشان می دهد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، BCAA، bax و bcl-2 و سکتة قلبی



مجله علوم حرکتی و رفتاری

مجله علمی علوم حرکتی و رفتاری

وب سایت: <http://www.jmbs.ir/>



The effect of eight weeks of resistance training combined with nanoliposome BCAA supplementation on the expression of bax and bcl-2 genes in cardiomyocyte mitochondria of myocardial infarction model rats

Fatemeh Moeini¹, Elham Farhadfar², Mohammad Azimnejad,³

¹ Master's student in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

² Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran.

³ Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract:

Introduction and Purpose: The cellular mechanisms underlying myocardial infarction-induced apoptosis in the heart muscle are complex and require further investigation. The aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of resistance training in combination with BCAA nanoliposome supplementation on the expression of bax and bcl-2 genes in mitochondrial cardiomyocytes of myocardial infarction model rats.

Methods: 32 male Wistar rats in myocardial infarction model were randomly divided into 4 groups: control, supplementation (BCAA nanoliposome), combination (resistance training + BCAA nanoliposome supplementation), and exercise (resistance training). Resistance training consisted of eight weeks of moderate-intensity ladder training (70% of MVCC) five days a week. In the supplementation and combination groups, BCAA nanoliposome supplementation was administered 5 days a week for 8 weeks at a dose of 600 mg/kg body weight by gavage. Bax and bcl-2 were obtained using Real-time PCR. Statistical analysis was performed using two-way, one-way ANOVA, and Tukey's test.

Findings: The results of the study indicated a significant decrease in bax and a significant increase in bcl-2 gene expression in cardiomyocytes of myocardial infarction model rats in the combined and exercise group compared to the supplement and control groups ($p=0.001$). Also, no significant difference was observed between the control and supplement groups ($p=0.201$).

Conclusion: It seems that resistance training and BCAA supplementation can reduce apoptosis to some extent. These results indicate the positive effect of resistance activity in maintaining cell viability and modulating apoptosis in cardiac tissue.

Keywords: Resistance training, BCAA, bax, bcl-2, and myocardial infarction

در دنیای امروز، الگوی شیوع بیماریها در بسیاری از کشورها به‌ویژه کشورهای در حال توسعه، از بیماریهای واگیر به سمت بیماریهای غیرواگیر همچون دیابت، اماس، سرطان و بیماریهای قلبی-عروقی تغییر کرده است (آن و همکاران، ۲۰۱۸). بیماریهای قلبی-عروقی همچنان یکی از مهمترین تهدیدهای سلامت بشر به شمار می‌آیند و از اصلیترین علل مرگ و میر در جهان محسوب میشوند (آن و همکاران، ۲۰۱۸). در سطح سلولی، عوامل متعددی در بروز بیماریهای قلبی-عروقی دخیل هستند که از جمله آنها میتوان به تغییرات در وضعیت ردوکس سیتوزولی، اختلالات عملکرد میتوکندری، پاسخهای التهابی و ایمنی، فعالیت مولکولهای چسباننده و فرایند آپوپتوز اشاره کرد (آن و همکاران، ۲۰۰۹). آپوپتوز یا مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، به دلیل ظرفیت بسیار محدود سلولهای قلبی در بازسازی و مقابله با آسیبها، یکی از عوامل کلیدی ایجاد بیماریهای قلبی-عروقی، به‌ویژه نارسایی قلبی، تلقی میشود (آلوی، محمد و مایرز، ۲۰۱۷). به همین دلیل، پژوهشگران همواره در جستجوی راهکارهایی برای حمایت از میوکارد در برابر آپوپتوز گسترده و آسیبهای همراه آن هستند (آلوی و همکاران، ۲۰۱۷). میتوکندری که نقش اصلی آن در تولید انرژی از طریق فرآیند تنفس سلولی است، در توسعه بسیاری از بیماریها از جمله اختلالات میتوکندریایی و نارسایی عملکرد قلبی مؤثر است و همچنین در فرایند پیری نیز نقش دارد. این اندامک در همه سلولهای دارای تنفس هوازی به‌جز باکتریها که آنزیمهای تنفسی آنها در غشای سیتوپلاسمی قرار دارد، وجود دارد (آنگری و همکاران، ۲۰۲۰). مسیر داخلی آپوپتوز میتوکندریایی با ایجاد تغییراتی در نفوذپذیری غشای میتوکندری و رهائش عوامل آپوپتوزی، فرآیندهای مولکولی را از طریق تعادل میان پروتئینهای تنظیمکننده پیش‌آپوپتوزی و ضدآپوپتوزی کنترل میکند (بالان و همکاران، ۲۰۱۹). در این مسیر، پروتئینهای خانواده Bcl-2، مانند Bim، Bax و Bid، نقش کلیدی در شکلگیری آپوپتوز و تغییر نفوذپذیری غشای میتوکندریایی بازی میکنند (بالان و همکاران، ۲۰۱۹). پروتئینهای پیش‌آپوپتوزی مانند Bax با کاهش پایداری غشای بیرونی میتوکندری، موجب رهائش عوامل آپوپتوزی از فضای بین‌غشایی میشوند (بالان و همکاران، ۲۰۱۹). در مقابل، پروتئینهای ضدآپوپتوزی خانواده Bcl-2 با مهار فعالیت پیش‌آپوپتوزی Bax به حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری کمک میکنند (بورجز و همکاران، ۲۰۲۱). یکی از مراحل کلیدی در مسیر داخلی آپوپتوز، افزایش نفوذپذیری غشای بیرونی میتوکندری برای خروج عوامل آپوپتوزی مانند سیتوکروم C است. این رویداد به‌عنوان یک مرحله غیرقابل بازگشت در مسیر آپوپتوز شناخته میشود (بورجز و همکاران، ۲۰۲۱). تنظیم این مرحله مهم به‌عهده خانواده پروتئینی Bcl-2

(۲۰۱۸). بیماریهای قلبی-عروقی همچنان به‌عنوان یکی از مهمترین مشکلات سلامت جهانی و عوامل اصلی مرگ و میر در سطح جهان مطرح هستند (آن و همکاران، ۲۰۱۸). در سطح سلولی، عوامل مختلفی در بروز بیماریهای قلبی-عروقی نقش دارند که از جمله آنها میتوان به تغییرات در تعادل ردوکس سیتوزولی، اختلالات میتوکندریایی، عوامل التهابی-ایمنی، فعالیت مولکولهای چسباننده و فرایند آپوپتوز اشاره کرد (آن و همکاران، ۲۰۰۹). آپوپتوز، که مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است، به‌دلیل توان محدود سلولهای قلبی در مقابله با آسیب و ظرفیت پایین بازسازی، یکی از مهمترین عوامل ایجاد بیماریهای قلبی-عروقی، به‌ویژه نارسایی قلبی محسوب میشود (آلوی، محمد و مایرز، ۲۰۱۷). از این رو، پژوهشگران در تلاشاند راهکارهایی برای محافظت از میوکارد در برابر آپوپتوز گسترده و آسیبهای مربوط به آن ارائه دهند (آلوی و همکاران، ۲۰۱۷). میتوکندری، که نقش اصلی آن در فرآیند تنفس سلولی و تولید انرژی است، در پیشرفت بسیاری از بیماریها از جمله اختلالات میتوکندریایی و نارسایی عملکرد قلبی مؤثر بوده و همچنین در فرایند پیری نقش دارد. این اندامک در تمامی یاخته‌های دارای تنفس هوازی به‌جز باکتریها که آنزیمهای تنفسی آنها در غشای سیتوپلاسمی جایگزین شده است، وجود دارد (آنگری و همکاران، ۲۰۲۰). مسیر داخلی آپوپتوز میتوکندریایی با ایجاد تغییراتی در نفوذپذیری غشای میتوکندری و آزادسازی عوامل آپوپتوزی، فرآیندهای مولکولی را از طریق تعادل میان پروتئینهای تنظیمکننده پیش‌آپوپتوزی و ضدآپوپتوزی کنترل میکند (بالان و همکاران، ۲۰۱۹). در این مسیر، پروتئینهای خانواده Bcl-2، مانند Bim، Bax و Bid، نقش کلیدی در شکلگیری آپوپتوز و تغییر نفوذپذیری غشای میتوکندریایی بازی میکنند (بالان و همکاران، ۲۰۱۹). پروتئینهای پیش‌آپوپتوزی مانند Bax با کاهش پایداری غشای بیرونی میتوکندری، موجب رهائش عوامل آپوپتوزی از فضای بین‌غشایی میشوند (بالان و همکاران، ۲۰۱۹). در مقابل، پروتئینهای ضدآپوپتوزی خانواده Bcl-2 با مهار فعالیت پیش‌آپوپتوزی Bax به حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری کمک میکنند (بورجز و همکاران، ۲۰۲۱). یکی از مراحل کلیدی در مسیر داخلی آپوپتوز، افزایش نفوذپذیری غشای بیرونی میتوکندری برای خروج عوامل آپوپتوزی مانند سیتوکروم C است. این رویداد به‌عنوان یک مرحله غیرقابل بازگشت در مسیر آپوپتوز شناخته میشود (بورجز و همکاران، ۲۰۲۱). تنظیم این مرحله مهم به‌عهده خانواده پروتئینی Bcl-2

یکی از آنها مداخلات تغذیه‌ای می‌باشد. عضلات اسکلتی در طی ورزش از اسیدهای آمینه شاخه‌دار (BCAA) به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند (Farsijani) و همکاران، ۲۰۱۷. (اثرات مثبت مکملهای BCAA در طی تمرینات مقاومتی به‌خوبی شناخته شده است و مطالعات نشان می‌دهد مصرف این مکملها منجر به افزایش توده عضلانی و افزایش هورمونهای آنابولیک میشود- Caldo) Silva و همکاران، ۲۰۲۱. (در این زمینه، فناوری نانولیپوزوم به‌عنوان روشی نوین برای تسهیل انتقال بهتر داروها و مکملها به بافتهای هدف مطرح شده است. لیپوزومها ساختارهای کروی میکروسکوپی با یک لایه لیپیدی هستند که میتوانند مدت زمان بیشتری در گردش خون باقی بمانند (Casuso) و Huertas، ۲۰۲۰. (مصرف BCAA در طول فعالیت بدنی با کاهش رهايش نشانگرهای آسیب عضلانی، موجب کاهش خستگی مرکزی میشود (Casuso) و Huertas، ۲۰۲۰. (همچنین، موریواکی و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که دریافت BCAA باعث افزایش بیوزن میتوکندریایی در بافت عضلانی میگردد. به علاوه، یوشیمارا و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که لوسین با افزایش بیان نیتریک اکساید و تحریک بیوزن میتوکندریایی به بهبود ظرفیت اکسیداتیو عضلات کمک میکند. مطالعات متعددی به طور جداگانه یا در تعامل با یکدیگر نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی و مصرف مکملهای اسیدهای آمینه شاخه‌دار (BCAA) میتوانند سلامت دستگاه قلبی-عروقی را ارتقا داده و پس از ابتلا به سکتة قلبی نیز تأثیرات مثبتی داشته باشند. با این حال، تحقیقات اندکی به بررسی اثر همزمان تمرین مقاومتی و مصرف مکمل BCAA بر بیان ژنهای bax و bcl-2 در میتوکندری کاردیومیوسیتها اختصاص یافته است و نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه احساس میشود. بنابراین، به منظور پاسخ به این ابهامات، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی همراه با مکمل BCAA نانولیپوزوم بر بیان ژنهای bax و bcl-2 در میتوکندری کاردیومیوسیتهای رتهای مدل سکتة قلبی انجام شد.

روش

شناسایی

در این مطالعه، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار دوماهه از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. موشها در شرایط محیطی کنترلشده با دمای 22 ± 3 درجه سانتیگراد، چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی بین ۳۰ تا ۵۰ درصد نگهداری شدند. تغذیه حیوانات با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تمیز فراهم گردید. کلیه مراحل مربوط به نگهداری، آشناسازی، تمرین، بیهوشی

است که در انسان بیش از ۲۰ عضو دارد؛ برخی از این اعضا پیش‌آپوپتوزی و برخی دیگر مهارکننده آپوپتوز هستند (کالدو-سیلوا و همکاران، ۲۰۲۱). تعامل میان اعضای خانواده Bcl-2 نقش حیاتی در پیشرفت مسیر داخلی آپوپتوز دارد (کاسو و هورتاس، ۲۰۲۰). فعالیت پروتئینهای خانواده Bcl-2 از طریق مکانیزمهای متعددی از جمله فسفوریلاسیون و پردازش توسط کاسپازها، به‌ویژه عملکرد Bcl-xL و Bcl-2 تنظیم میشود (چن و همکاران، ۲۰۱۶). از دیدگاه پاتولوژیکی، انفارکتوس میوکارد (MI) ناشی از مرگ سلولهای قلبی به دلیل ایسکمی طولانیمدت تعریف میشود و این وضعیت مهمترین علامت بیماری عروق کرونر (CAD) به شمار می‌آید (Estébanez) و همکاران، ۲۰۱۸. (افزایش بیماری عروق کرونر میتواند به‌صورت مزمن از طریق تخریب اندوتلیوم، تشکیل پلاک و تنگی عروق کرونر بروز کند؛ اما پارگی ناگهانی پلاک و تشکیل ترومبوز موجب ایجاد انفارکتوس میوکارد حاد میشود که اهمیت و شدت بیشتری دارد. در شرایط کمبود اکسیژن، انفارکتوس میوکارد در کمتر از بیست دقیقه آغاز شده و پس از آن، نکروز کامل سلولهای میوکارد طی چند ساعت اتفاق می‌افتد. ایسکمی طولانیمدت منجر به کاهش قدرت انقباض پذیری قلب میشود (Cadore) و همکاران، ۲۰۱۹. (اگرچه بروز آپوپتوز در عضله قلب انسان سالم نادر است، اما در شرایط نارسایی قلبی شیوع آپوپتوز بین ۰٫۱۲ تا ۰٫۷ درصد گزارش شده است که در هر دو شرایط کمتر از یک درصد میباشد (Fragala) و همکاران، ۲۰۱۹. (با این وجود، به دلیل توان محدود کاردیومیوسیتها برای تکثیر، حتی میزان کم آپوپتوز میتواند تأثیرات مهمی داشته باشد. برای مثال، گزارش شده است که حدود ۰٫۱ درصد آپوپتوز در طول یک سال میتواند باعث کاهش ۳۷ درصدی تعداد کل کاردیومیوسیتها شود (Franceschi) و همکاران، ۲۰۱۸. (در حال حاضر، فعالیت ورزشی به‌عنوان مؤثرترین راهکار برای مقابله با بیماریهای قلبی شناخته شده است؛ اگرچه انجام فعالیت بدنی در بیماران مبتلا به بیماری قلبی معمولاً با محدودیتها و شرایط خاص همراه است (Chen) و همکاران، ۲۰۱۸. به نظر میرسد تمرینات مقاومتی میتوانند از کاهش توده عضلانی جلوگیری کرده و حتی روند کاهش آن را تا حدی معکوس نمایند (Di Liu) و همکاران، ۲۰۲۱. (انجام تمرینات مقاومتی در بیماران باعث هیپرتروفی عضلانی میشود که مکانیسمهای احتمالی آن شامل افزایش سنتز پروتئین عضلانی و فعالسازی و تکثیر سلولهای ماهوارهای است (Cadore) و همکاران، ۲۰۱۹. (علاوه بر انواع مختلف فعالیت بدنی، مداخلات درمانی نوآرانهایی نیز در سالهای اخیر به‌منظور درمان سکتةهای قلبی بررسی شده است که

تعیین شد (۲۲). پروتکل تمرین مقاومتی شامل بالارفتن از یک نردبان تمرینی مخصوص (طول ۱۱۰ سانتیمتر، شیب ۸۰ درجه، ۲۶ پله و دو سانتیمتر فضای بین هر پله) شامل بود. گروه‌های تمرینی هشت هفته تمرین مقاومتی نردبان را در ۸۰ درصد از MVCC، نه تا ده بار بالارفتن در هر جلسه و پنج روز در هفته انجام دادند. برای تعیین حداکثر ظرفیت حمل ارادی، وزنه ای دارای ۷۵ درصد وزن بدن حیوان به دمش متصل شد و حیوان شروع به بالارفتن از نردبان با حمل این بار کرد. سپس، به‌ازای هر تکرار موفق ۳۰ گرم به بار تمرینی تکرار شده قبلی اضافه شد. در بالای نردبان دو دقیقه استراحت بین هر صعود وجود داشت. این روش تا زمانی تکرار شد که موش به صعود کل طول نردبان در سه تلاش متوالی موفق می‌شد (۲۲). رت‌های گروه مکمل و توام در زمان‌های مشابه با تمرین (۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته)، مکمل BCAA نانولیپوزوم دریافت نمودند این مکمل بعد از تمرین و به میزان ۴۶ درصد لوسین، ۲۸ درصد والین و ۲۳ درصد ایزولوسین و به میزان ۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن گاوژ شد.

فرمول $ct\Delta\Delta$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از master mix (Applied Biosystems) PCR SYBR Green (Applied Biosystems, دستگاه در دستگاه Sequence ABI Step One Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ ارائه شده است. برای سنجش کمی بیان ژن‌های مورد نظر از کیت (-SYBR green Real Time RT-PCR, TAKARA) (ساخت کشور ژاپن) استفاده و غلظت‌های ۱/۲۰، ۱/۱۰ و ۱/۵۰ میکرولیتر از cDNA تهیه و غلظت ۱/۲۰ به عنوان الگو برای Real-time PCR استفاده شد. cDNA با پرایمرهای مخصوص برای ژن‌های Bax و Bcl-2 تکثیر شد. طبق دستورالعمل کیت، واکنش تکثیری در حجم ۲۰ میکرولیتر که مشتمل بر ۱۰ میکرولیتر از محلول اصلی (Master Mix)، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Forward، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Reverse، دو میکرولیتر از cDNA سنتز و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر بود انجام شد. در ادامه دو میکرولیتر از cDNA رقیق سازی شده داخل میکروتیوب‌های مخصوص RT-PCR ریخته و سپس ۰/۶ میکرولیتر از مخلوط پرایمر حاوی ۰/۳ میکرولیتر پرایمر Forward و ۰/۳ میکرولیتر

و کشتار حیوانات طبق دستورالعمل‌های انجمن بین‌المللی ارزیابی و اعتباربخشی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت. پس از طی دوره دو هفته‌ای آشناسازی و تطبیق حیوانات با محیط آزمایشگاه، موشها برای ایجاد مدل انفارکتوس میوکارد مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور القای انفارکتوس تجربی میوکارد، ایزوپروترونول به میزان ۱۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، به صورت محلول در نرمال سالین (بدین صورت که برای هر میلیگرم ایزوپروترونول، یک میلیلیتر نرمال سالین استفاده شده است) در دو روز متوالی و با فاصله ۲۴ ساعت، به صورت تزریق داخل صفاقی به حیوانات داده شد. صحت القای انفارکتوس میوکارد تجربی با اندازه‌گیری سطح تروپونین I قلبی (cTnI) که به عنوان شاخص طلایی آسیب قلبی شناخته میشود، تأیید گردید. سپس هر دو گروه تمرین مقاومتی به مدت پنج جلسه در هفته و به مدت هشت هفته تمرین مقاومتی را انجام دادند. با توجه به سازگاری حیوانات با تمرین در انتهای هر چهار هفته، از حیوانات آزمون حداکثر ظرفیت حمل ارادی گرفته شد و شدت تمرین حیوانات براساس آزمون جدید

در این تحقیق سعی بر آن بود تا حیوانات مورد مطالعه در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار کشته شوند. تمامی رت‌ها، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، توسط تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش، جراحی انجام و رت‌ها تشریح شدند و در ادامه پس از شکافتن و کنار زدن بافت‌های سطحی، بافت قلب خارج شد. برای این منظور پس از تخلیه خون قلب و وزن‌کشی آن، بلافاصله دهلیزها از بطن جدا شده و بخشی از بافت بطن چپ آزمودنی‌ها در کرایوتویوب در نیتروژن مایع قرار گرفت. استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموژن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر انجام شد. نمونه‌های هموژن به مدت ۴۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ روی یخ سانتیفریژ شدند. سپس بخش سطحی سانتیفریژ جمع‌آوری شد و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. بافت عضله قلبی نمونه برداری شده پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه ور گردیده و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های بافت عضله قلبی به وسیله تکنیک Real-time PCR سنجش و پس از کمی سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از

افزایش محصولات اندازه‌گیری می‌شود. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس بر این اساس CT تعیین شد. در پایان قبل از آنالیز داده‌ها، منحنی ذوب (Melting curve) بدست آمده از هر واکنش Real-time PCR بررسی شد تا پیک مربوط به ژن مورد نظر و فقدان پرایمر دایمر تایید شود. برای آنالیز داده‌ها ابتدا، ΔCt ژن در هر نمونه از افتراق Ct ژن مربوطه و Ct ژن β -actin به عنوان رفرنس محاسبه شد (۱۲). داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو ویلک و آنالیز واریانس دو طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

پرایمر Reverse به داخل میکروتیوپ اضافه و در نهایت ۱۰ میکرولیتر Syber green master mix و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر به محلول نهایی ریخته شد. سپس میکروتیوپ به مدت ۳۰ ثانیه بر روی دستگاه Shacker میکروویژ و داخل دستگاه RT-PCR قرار گرفت. الگوی دمایی PCR برای ژن‌های مربوطه به صورت ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه برای سیکل اول بود که با ۴۵ سیکل به صورت دو مرحله‌ای ۹۵ درجه به مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه به مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. با استفاده از رنگ SYBR Green، میزان آمپلی فیکاسیون (Amplification) در هر چرخه دنبال شد. در چرخه‌ای که واکنش تکثیر، وارد مرحله لگاریتمی شده و تحت عنوان CT (Threshold cycle) گفته می‌شود، میزان

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول
Bax	Forward	CCAAGGCACCCAGCATGCGA	۹۲۰۰
	Reverse	GGGCAGGTTTGTCTGACCTCA	۹۲۰۰
Bcl-2	Forward	ATCCAAGACCAGGGCACAGC	۹۴۰۰
	Reverse	CACAGTCCAAGGCAGTGGGA	۹۲۰۰

یافته‌ها

البته وزن بدنی گروه‌های تمرینی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. در رابطه با وزن قلب تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد ($p=0/124$). با این حال وزن قلب گروه‌های تمرین و تمرین-مکمل به طور غیرمعنی‌داری به ترتیب حدود ۵ و ۸ درصد بیشتر از گروه کنترل بود و گروه تمرین تناوبی-مکمل در مقایسه با دو گروه دیگر دارای وزن قلب بیشتری بودند.

توزیع داده‌ها در همه متغیرها طبیعی بود. تفاوتی بین رت‌ها در ابتدای پژوهش وجود نداشت و برخی ویژگی‌های آن‌ها در جدول شماره ۲ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری بین وزن بدن گروه‌های مورد مطالعه وجود داشت ($P<0/05$)، به همین علت از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. در بین گروه‌ها گروه کنترل دارای بیشترین وزن بدن بود، به طوری که وزن بدن گروه‌های تمرین به طور معنی‌داری به ترتیب حدود ۸ و ۱۰ درصد کمتر از گروه کنترل بود.

برخی ویژگی‌های فیزیکی موش‌های صحرایی مورد مطالعه

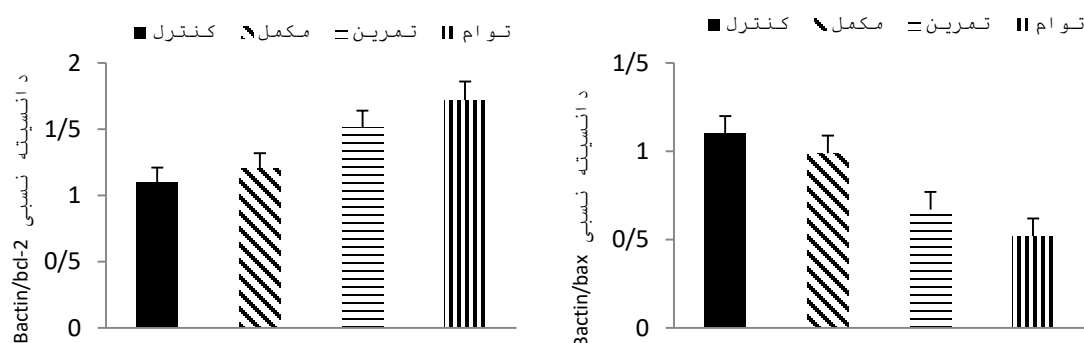
شاخص‌های اندازه‌گیری شده	گروه	تعداد	میانگین
وزن بدن (گرم)	کنترل	۸	۳۴۵/۱۴
	تمرین	۸	۳۲۴/۸۳
	مکمل (BCAA)	۸	۳۳۲/۷۵
	تمرین+ مکمل	۸	۳۱۹/۷۱
وزن قلب (گرم)	کنترل	۸	۰/۸۷
	تمرین	۸	۰/۹۱
	مکمل (BCAA)	۸	۰/۹۰
	تمرین+ مکمل	۸	۰/۸۷

تحلیل واریانس دوراهه برای مقایسه بیان ژن های *bax* و *bcl-2* میتوکندری کاردیومیوسیت رتهای مدل سگته قلبی در ۴ گروه تفاوت معنی داری را نشان داد ($p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی بیانگر کاهش معنی دار بیان ژن *Bax* و افزایش *bcl-2* عضله قلبی رتها در گروه های تمرین به نسبت گروه کنترل و مکمل بود ($p=0/001$). همچنین تفاوت معنی داری بین دو گروه کنترل و مکمل مشاهده نشد ($p=0/451$).

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه

ANOVA	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	Sig	مجذور آتا
bax	تمرین	۱	۲۸/۳۰۵	۸۵۱/۲	* ۰/۰۰۱	۰/۹۷۶
	مصرف مکمل	۱	۹۷/۸۱۱	۲۹۴۲/۶	۰/۳۲۱	۰/۲۰۸
	تمرین × مکمل	۱	۳/۱۶۰	۹۵/۱	۰/۰۰۱	۰/۸۱۹
	خطا	۳۱	۰/۶۹۸	۰/۰۳۳		
	کل	۳۲	۲۳۳/۴۷۱	۲۸/۳۰۵		
Bcl-2	تمرین	۱	۲۶/۷۰۸	۴۰۳۲/۱	۰/۰۰۱	۰/۹۹۵
	مصرف مکمل	۱	۵۵/۱۶۳	۸۳۲۸/۲	۰/۰۰۱	۰/۹۹۷
	تمرین × مکمل	۱	۱/۴۲۲	۲۱۴/۳	۰/۰۰۱	۰/۹۱۱
	خطا	۳۱	۰/۱۳۹	۰/۰۰۷		
	کل	۳۲	۱۴۴/۰۶۹	۲۶/۷۰۸		

* تفاوت معنی دار



شکل ۱. میانگین بیان ژن های *bax* و *bcl-2* میتوکندری کاردیومیوسیت رتهای مدل سگته قلبی در ۴ گروه

و کنترل نیز بدون تفاوت معنی دار بودند که نشان دهنده بی تاثیر بودن

مصرف مکمل BCAA به تنهایی است. ($P=0.274$)

مرنت (۲۰۲۳) به وجود اختلاف بین گروه تمرین و کنترل بر بیان ژن *Bcl2* پس از هشت هفته تمرین مقاومتی اشاره ای نداشت. اما کو و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که شش هفته تمرین مقاومتی تأثیر معنی داری بر بیان ژن *Bcl2* و قطعه قطعه شدن DNA در عضله اسکلتی موشهای صحرایی جوان و سالم دارد. به نظر می رسد دلیل اصلی تناقض مطالعه حاضر با برخی دیگر مطالعات، سن حیوانات مورد مطالعه باشد؛ زیرا استرس اکسایشی، سایتوکینهای التهابی و اختلال در محافظت از استرس سلول از سازوکارهای احتمالی افزایش آپوپتوز در بافتهای پیر هستند. به عبارتی، افزایش سن و پیری با افزایش قابل توجه آپوپتوز همراه بوده و در این شرایط

بحث:

نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که میانگین بیان ژن های *bcl-2* و *bax* کاردیومیوسیتها در گروههای تمرین کرده با و بدون مصرف BCAA (تمرین + مکمل و تمرین) به طور معنی داری به ترتیب کمتر و بیشتر از گروههای تمرین نکرده با و بدون مصرف BCAA (مکمل و کنترل) است، در نتیجه میتوان گفت که اثر هشت هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل BCAA بر بیان ژن های *bcl-2* و *bax* میوکارد معنی دار است ($P<0.001$). همچنین بین دو گروه تمرین و تمرین + مکمل تفاوت معنی داری مشاهده نشد. ($P=0.255$) گروههای مکمل

احتمال تأثیر تمرینات ورزشی بر شاخصهای آپوپتوزی بیشتر و بارزتر میشود. همچنین، تفاوت در نوع بافت مورد مطالعه و زمان برداشت بافت نیز میتواند بر بیان و بروز متغیرهای درگیر تأثیرگذار باشد؛ به گونه‌های که در مطالعه حاضر، بافت عضله قلبی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین مقاومتی برداشت شد، ولی کو و همکاران بلافاصله پس از آخرین جلسه تمرین بافت عضله قلبی را استخراج کردند. اگرچه سازوکارهای متعددی مانند تغییر مستقیم در بیان ژنهای مرتبط با آپوپتوز، کاهش آزادسازی عوامل آپوپتوتیک میتوکندری، تغییرات تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و وضعیت ضد اکسایشی برای اثرات محافظتی تمرینات ورزشی در مقابل آپوپتوز مطرح شده است، ولی هنوز ابهامات بسیاری در این زمینه وجود دارد. به نظر میرسد میتوکندری نقش مهمی در تنظیم آپوپتوز سلولهای عضله قلب بازی میکند. اعضای خانواده Bcl2، شامل پروتئینهای Bax و Bcl2 به عنوان پروتئینهای اصلی، در شکلگیری کانالهای آپوپتوزی، تنظیم نفوذپذیری میتوکندری و پیامهای آپوپتوزی میتوکندریایی درگیرند. اگرچه سازوکار دقیق میانجیگری پروتئین Bcl2 در ممانعت از رهاش عوامل آپوپتوزی از فضای بین غشایی میتوکندری هنوز در دست بررسی است، اما به اثبات رسیده است که پروتئین Bcl2 با فعالیت پیش‌آپوپتوزی پروتئین Bax مخالفت میکند. علاوه بر این، پروتئین Bcl2 با ورود به غشای خارجی میتوکندری، یکپارچگی غشا را با خارج ساختن یونهای H⁺ از طریق کانالهای یونی حفظ کرده و با اتصال به Apaf-1، فعالسازی کاسپازها را مهار میکند. لذا نسبت Bax به Bcl-2 نشانگر پتانسیل آپوپتوز میتوکندریایی است. در این راستا، وینشتین و همکاران (۲۰۲۱) اشاره داشتند که آپوپتوز میتوکندریایی اغلب با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن همراه است و تمرینات ورزشی میتوانند با کاهش تولید ROS و افزایش دفاع ضد اکسایشی، روند آپوپتوز را کندتر کنند. در پاسخ به فشار اکسایشی، جابهجایی و استقرار پروتئین Bax در غشای بیرونی میتوکندری افزایش مییابد. این موضوع تا حدی ناشی از فعال شدن c-Jun-N-terminal kinase (JNK) است، به طوری که JNK در حضور محرکهای استرس سلولی فسفریله شده و موجب مهار پروتئین Bcl-2 میشود، لذا پروتئین Bax اجازه جابهجایی به سمت میتوکندری را مییابد. در واقع، در پاسخ به تمرین مقاومتی، سطوح مشابهی از فشار اکسایشی ایجاد میشود و با فسفریله شدن کمتر JNK سبب کاهش بیان پروتئین Bax و جابهجایی آن به سمت میتوکندری و همچنین افزایش بیان پروتئین Bcl2 میگردد.

Liu

علاوه بر این، افزایش جابهجایی و انتقال AIF که در شرایط فشار اکسایشی مشاهده میشود، در عضله اسکلتی تمرینکرده کاهش مییابد که نشانگر مهار پیامرسانی آپوپتوتیک است. در حین فعالیت ورزشی، متابولیسم عضلانی افزایش مییابد که منجر به تولید ROS می‌شود. کمیت زیاد ROS می‌تواند آسیب اکسیداتیو تولید کرده و بدین گونه منجر به آپوپتوزیس از طریق مسیر داخلی شود (۲۸). به علاوه، اگرچه در مطالعه حاضر به دلیل برخی محدودیت‌ها امکان ارزیابی شاخص‌های التهابی مانند TNF- α و IL-6 نبود، این احتمال نیز دور از انتظار نیست که افزایش TNF- α و IL-6 پلاسما با فعال کردن مستقیم کاسپاز-۳ از طریق مسیر خارجی میانجی‌گری کرده باشد (۱۹). چرا که افزایش سطوح TNF- α گردش خون، منجر به افزایش لیگاند متصل شونده به گیرنده TNF- α در سارکولما شده و باعث افزایش آپوپتوز از طریق مسیر خارجی می‌شود (۳۰). لذا به نظر می‌رسد که در گذر از نوع و شکل تمرین، دو ماه تمرین مقاومتی با و بدون مکمل تأثیر مناسبی بر بیان برخی از ژنهای مسیر میتوکندریایی آپوپتوز عضله قلبی رتهای مدل سگته قلبی داشته باشد. با این حال اظهار نظر قطعی در مورد تأثیر تمرین ورزشی بر شاخص‌های مربوط به آپوپتوز، منوط به انجام مطالعات بیشتری است. از طرفی، نتایج برخی از مطالعات قبلی با مطالعه حاضر در تناقض بوده و اشاره به تسریع فرآیند آپوپتوز و افزایش قابل ملاحظه بیان پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی متعاقب تمرینات ورزشی دارد (۹۶، ۶۰). در این راستا، لیو^۱ و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی تأثیر نه هفته تمرین مقاومتی بر میزان بیان ژنهای Bax، Bcl-2 و نسبت Bax به Bcl-2 در عضله ساق پای موش‌های صحرایی نشان دادند که میزان بیان ژن Bax در هر دو گروه تمرینی به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است. به علاوه، میزان بیان ژن Bcl-2 در گروه‌های تمرینی به طور غیر معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود. از طرفی ژین^۲ و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند که ۶ ماه تمرین مقاومتی موجب کاهش بیان ژن Bcl2 و افزایش بیان ژن Bax در میوکارد موش‌های صحرایی می‌شود. به نظر می‌رسد مهمترین علت مغایرت نتایج این تحقیقات با مطالعه حاضر، ویژگی‌های شدت و مدت قرارداد تمرینی مورد مطالعه باشد. هر دوی مطالعات مذکور اشاره داشتند که تمرینات مقاومتی و طولانی‌مدت به دلیل افزایش فشار اکسایشی می‌تواند موجب تسریع آپوپتوز شود، لذا این قرارداد تمرینی با افزایش فشار اکسایشی و کاهش ظرفیت ضد اکسایشی موجب افزایش بیان ژن Bax و کاهش بیان ژن Bcl-2 و احتمالاً موجب

Xin

۲. Allen, D. L., Bandstra, E. R., Harrison, B. C., Thorng, S., Stodieck, L. S., Kostenuik, P. J., et al. (2009). Effects of spaceflight on murine skeletal muscle gene expression. *Journal of Applied Physiology*, 106(2), ۵۸۲-۵۹۵.
۳. Alway, S. E., Mohamed, J. S., & Myers, M. J. (2017). Mitochondria initiate and regulate sarcopenia. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 45(2), ۵۸-۶۹. <https://doi.org/10.1249/00000000-201706000-00004>
۴. Angleri, V., Soligon, S. D., da Silva, D. G., Bergamasco, J. G. A., & Libardi, C. A. (2020). Suspension training: A new approach to improve muscle strength, mass, and functional performances in older adults? *Frontiers in Physiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01576>
۵. Balan, E., Schwalm, C., Naslain, D., Nielens, H., Francaux, M., & Deldicque, L. (2019). Regular endurance exercise promotes fission, mitophagy, and oxidative phosphorylation in human skeletal muscle independently of age. *Frontiers in Physiology*, 10, 1088. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01088>
۶. Balan, E., Schwalm, C., Naslain, D., Nielens, H., Francaux, M., & Deldicque, L. (2019). Regular endurance exercise promotes fission, mitophagy, and oxidative phosphorylation in human skeletal muscle independently of age. *Frontiers in Physiology*, 10, 21.
۷. Borges, I. B. P., de Oliveira, D. S., Marie, S. K. N., Lenario, A. M., Oba-Shinjo, S. M., & Shinjo, S. K. (2021). Exercise training attenuates ubiquitin-proteasome pathway and increases the genes related to autophagy on the skeletal muscle of patients with inflammatory

تسریع آپوپتوز شده است. از طرف دیگر نشان داده شده برخی اسیدهای آمینه، cAMP را فعال می‌کنند و در حال حاضر به عنوان القا کننده ذاتی بیوژنز میتوکندریایی تحت بررسی هستند. یکی از این اسیدهای آمینه قطعا لوسین است که میتواند از آسیب ناشی از ایسکمی- خونرسانی بافت قلبی جلوگیری نموده و بیوژنز میتوکندریایی را افزایش دهد. در این راستا نشان داده شده استفاده طولانی مدت از BCAA به عنوان مکمل غذایی در رتها، بیان پروتئین PGC-1 α را افزایش داده و پتانسیل غشای میتوکندری و سطوح ATP را بهبود بخشیده است. بنابراین می‌توان گفت که انفارکتوس میوکارد باعث مختل شدن بیوژنز میتوکندریایی می‌شود و تمرین و BCAA هرکدام به صورت جداگانه توانایی این را دارند که این اختلال را بهبود بخشند.

نتیجه گیری

آپوپتوز نقش بسیار مهمی در هومئوستاز بافت و میتوکندری نقش مهمی در تنظیم آپوپتوز سلول‌های عضله قلبی دارد به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی نقش مهمی در محافظت و بازسازی عضله قلبی در زمان انفارکتوس قلبی دارند. تمرینات مقاومتی با افزایش در حجم عضلانی توانایی ایجاد شرایط آنابولیک داشته و می‌تواند از کاهش توده عضلانی جلوگیری و منجر به هیپرتروفی عضلانی در این افراد شود.

تشکر

بدینوسیله از اساتید و مدیریت دانشگاه علوم پزشکی البرز که در انجام این مطالعه کمال همکاری را داشته‌اند سپاسگزاری می‌گردد.

Reference:

۱. Ahn, B., Ranjit, R., Piekarz, K., Poopal, A., Bian, J., Sataranatarajan, K., et al. (2018). Skeletal muscle specific overexpression of the mitochondrial H2O2 scavenger, peroxiredoxin 3, rescues mitochondrial dysfunction and sarcopenia phenotypes elicited by redox imbalance. *Free Radical Biology and Medicine*, 128, S123. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.302>

control in sarcopenia: Updated overview of mechanisms and interventions. *Aging and Disease*, 12, 2016–2030. <https://doi.org/10.14336/ajcd.12016-2030>

14. Englund, D. A., Zhang, X., Aversa, Z., & LeBrasseur, N. K. (2021). Skeletal muscle aging, cellular senescence, and senotherapeutics: Current knowledge and future directions. *Mechanisms of Ageing and Development*, 200, 111595.
15. Estébanez, B., de Paz, J. A., Cuevas, M. J., & González-Gallego, J. (2018). Endoplasmic reticulum unfolded protein response, aging and exercise: An update. *Frontiers in Physiology*, 9, 1144.
16. Cadore, E. L., Moreira, O. C., Almar, M., de Paz, J. A., Gonzalez-Gallego, J., & Cuevas, M. J. (2019). Effects of a resistance-training programme on endoplasmic reticulum unfolded protein response and mitochondrial functions in PBMCs from elderly subjects. *European Journal of Sport Science*, 19, 931–940.
17. Estébanez, B., Moreira, O. C., Almar, M., de Paz, J. A., Gonzalez-Gallego, J., & Cuevas, M. J. (2019). Effects of a resistance-training programme on endoplasmic reticulum unfolded protein response and mitochondrial functions in PBMCs from elderly subjects. *European Journal of Sport Science*, 19, 931–940.
18. Farsijani, S., Payette, H., Morais, J. A., Shatenstein, B., Gaudreau, P., & Chevalier, S. (2017). Even mealtime distribution of protein intake is associated with greater muscle strength, but not with 3-y physical function decline, in free-living older adults: The Quebec longitudinal study on Nutrition as a Determinant myopathies. *Journal of Clinical Rheumatology*, 27, S224–S231. <https://doi.org/10.1097/rct.0000000000000400>
19. Borges, I. B. P., de Oliveira, D. S., Marie, S. K. N., Lenario, A. M., Oba-Shinjo, S. M., & Shinjo, S. K. (2021). Exercise training attenuates ubiquitin-proteasome pathway and increases the genes related to autophagy on the skeletal muscle of patients with inflammatory myopathies. *Journal of Clinical Rheumatology*, 27, S224–S231.
20. Caldo-Silva, A., Furtado, G. E., Chupel, M. U., Letieri, R. V., Valente, P. A., Farhang, M., Barros, M. P., Bachi, A. L. L., Marzetti, E., Teixeira, A. M., et al. (2021). Effect of a 40-weeks multicomponent exercise program and branched chain amino acids supplementation on functional fitness and mental health in frail older persons. *Experimental Gerontology*, 155, 111592.
21. Casuso, R. A., & Huertas, J. R. (2020). The emerging role of skeletal muscle mitochondrial dynamics in exercise and ageing. *Ageing Research Reviews*, 58, 101025.
22. Chen, J.-F., Mandel, E. M., Thomson, J. M., Wu, Q., Callis, T. E., Hammond, S. M., et al. (2016). The role of microRNA-1 and microRNA-133 in myoblast proliferation and differentiation. *Nature Genetics*, 38(2), 228–233.
23. Chen, P. B., Yang, J. S., & Park, Y. (2018). Adaptations of skeletal muscle mitochondria to obesity, exercise, and polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 53(3), 271–278.
24. Di Liu, Y. B., Tao, X. H., Pan, W. L., Wu, Y. X., Wang, X. H., He, Y. Q., et al. (2021). Mitochondrial quality

- exercise training on muscle mass and function in older adults with lower-extremity osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Nutrients*.
۲۵. Moriwaki, M., Wakabayashi, H., Sakata, K., & Domen, K. (2019). The effect of branched chain amino acids-enriched nutritional supplements on activities of daily living and muscle mass in inpatients with gait impairments: A randomized controlled trial. *Journal of Nutrition, Health & Aging*, *23*, 348–353.
۲۶. Neinast, M., Murashige, D., & Arany, Z. (2019). Branched Chain Amino Acids. *Annual Review of Physiology*, *۸۱*, ۱۳۹–۱۶۴.
۲۷. Oliveira, V., Borsari, A. L., Cardenas, J., Alves, J. C., Castro, N. F., Marinello, P. C., Padilha, C. S., Webel, A. R., Erlandson, K. M., & Deminice, R. (2021). Low agreement between initial and revised European consensus on definition and diagnosis of sarcopenia applied to people living with HIV. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *86*, e106–e113.
۲۸. Soci, U. P. R., Fernandes, T., Hashimoto, N. Y., Mota, G. F., Amadeu, M. A., Rosa, K. T., et al. (2017). MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. *Physiological Genomics*, *43*(11), 665–6۷۳.
۲۹. Ter Borg, S., Luiking, Y. C., van Helvoort, A., Boirie, Y., Schols, J., & de Groot, C. (2019). Low levels of branched chain amino acids, eicosapentaenoic acid and micronutrients are associated with low muscle mass, strength and function in community-dwelling of Successful Aging (NuAge study). *American Journal of Clinical Nutrition*, *106*, 113–124.
۳۰. Fragala, M. S., Cadore, E. L., Dorgo, S., Izquierdo, M., Kraemer, W. J., Peterson, M. D., & Ryan, E. D. (2019). Resistance training for older adults: Position statement from the National Strength and Conditioning Association. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *33*, 2019–۲۰۵۲.
۳۱. Franceschi, C., Garagnani, P., Morsiani, C., Conte, M., Santoro, A., Grignolio, A., Monti, D., Capri, M., & Salvioli, S. (2018). The continuum of aging and age-related diseases: Common mechanisms but different rates. *Frontiers in Medicine*, *5*, 61.
۳۲. Gasparotto, A. S., Borges, D. O., Sassi, M. G., Milani, A., Rech, D. L., Terres, M., et al. (2019). Differential expression of miRNAs related to angiogenesis and adipogenesis in subcutaneous fat of obese and nonobese women. *Molecular Biology Reports*, *46*(1), 965–973.
۳۳. Krug, A. L., Macedo, A. G., Zago, A. S., Rush, J. W., Santos, C. F., & Amaral, S. L. (2016). High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. *Muscle & Nerve*, *53*(5), 779–۷۸۸.
۳۴. Lee, D. Y., & Shin, S. (2022). Sarcopenia is associated with metabolic syndrome in Korean adults aged over 50 years: A cross-sectional study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*, 1330.
۳۵. Liao, C. D., Wu, Y. T., Tsao, J. Y., Chen, P. R., Tu, Y. K., Chen, H. C., et al. (2020). Effects of protein supplementation combined with

- physiology of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. *Ageing Research Reviews*, 47, 123–132.
32. Yoshimura, Y., Bise, T., Shimazu, S., Tanoue, M., Tomioka, Y., Araki, M., Nishino, T., Kuzuhara, A., & Takatsuki, F. (2019). Effects of a leucine-enriched amino acid supplement on muscle mass, muscle strength, and physical function in post-stroke patients with sarcopenia: A randomized controlled trial. *Nutrition*, 58, 1–6.
- older adults. *Journal of Nutrition, Health & Aging*, 23, 27–34.
30. Thomas, R., Wang, W., & Su, D. M. (2020). Contributions of age-related thymic involution to immunosenescence and inflammaging. *Immunity & Ageing*, 17, 2.
31. Wilkinson, D. J., Piasecki, M., & Atherton, P. J. (2018). The age-related loss of skeletal muscle mass and function: Measurement and