



Original Article

Effect of eight weeks of resistance training on the expression of klotho protein and insulin-like growth factor 1 genes in slow twitch and fast twitch skeletal muscles of aged Wistar rats

Somayeh Kasraei^{ID 1}, Seyyed Reza Attarzadeh Hosseini^{ID 1}, Mehrdad Fathei^{ID 1}

ABSTRACT

Background and Aims: Klotho protein is a substance effective in increasing life expectancy. Moreover, it prevents muscle atrophy, osteoporosis, and cardiovascular disease. Therefore, the present aimed to assess changes in the expression of klotho protein and insulin-like growth factor 1 (IGF-1) genes in the muscles of aged Wistar rats after eight weeks of resistance training.

Materials and Methods: The present experimental study was conducted on 16 Wistar male rats, aged 20 months, which were assigned to two groups of resistance training group and control. Resistance training was performed three sessions a week over eight weeks. After dissecting the rats, the soleus and flexor hallucis longus muscles of the rats were extracted to measure the expression of klotho protein and (IGF-1) genes using the real-time polymerase chain reaction technique.

Results: After the resistance training program, Klotho protein in the fast-twitch muscle tissue of the trained rats did not show a significant difference, compared to that in the control group. Furthermore, IGF-1 in the fast-twitch and slow-twitch muscles of the training group did not display a marked difference, compared to that in the control group.

Conclusion: As evidenced by the obtained results, the values of klotho protein and IGF-1 did not improve after a period of resistance training. It can be argued that resistance training should be conducted in longer periods and with different intensities, which should be scrutinized in future research.

Keywords: Elderly, Insulin-like growth factor 1, Klotho protein, Resistance training



Citation: Kasraei S, Attarzadeh Hosseini S.R, Fathei M. [Effect of eight weeks of resistance training on the expression of klotho protein and insulin-like growth factor 1 genes in slow twitch and fast twitch skeletal muscles of aged Wistar rats]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(1): 40-50. [Persian]

DOI: <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.1.104>

Received: July 16, 2020

Accepted: November 21, 2020

¹ Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Corresponding author: Professor in Sport Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Tel: +985138805412

Fax: +985138807381

Email: attarzadeh@um.ac.ir

تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن های پروتئین کلوتو و عامل رشد شبه انسولینی-۱ در عضلات اسکلتی کند انقباض و تند انقباض رت های پیر نژاد ویستار

سمیه کسرائی^۱, سید رضا عطار زاده حسینی^۱, مهرداد فتحی^۱

چکیده

زمینه و هدف: پروتئین کلوتو یک ماده مؤثر در افزایش طول عمر است که از آتروفی عضلانی، پوکی استخوان و بیماری‌های قلبی-عروقی پیشگیری می‌کند. لذا هدف این تحقیق بررسی تغییرات بیان ژن پروتئین کلوتو و عامل رشد شبه انسولینی-۱ در عضلات رت‌های پیر نژاد ویستار پس از هشت هفته تمرین مقاومتی بود.

روش تحقیق: در پژوهش حاضر به روش تجربی، تعداد ۱۶ سر رت نر نژاد ویستار با سن ۲۰ ماهه به دو گروه شامل گروه تمرین مقاومتی و گروه کنترل تقسیم شدند. تمرین مقاومتی به مدت هشت هفته و هر هفته سه جلسه انجام شد. عضله نعلی و تا کننده دراز شست پای رت‌ها تشریح شد و به منظور سنجش تغییرات بیان ژن‌های پروتئین کلوتو و عامل رشد شبه انسولینی-۱ از روش PCR استفاده شد.

یافته‌ها: پروتئین کلوتو متعاقب یک دوره تمرین مقاومتی در بافت عضله تند انقباض گروه رت‌های تمرین کرده تفاوت معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. همچنین متغیر عامل رشد شبه انسولینی در بافت عضله تند انقباض و کند انقباض گروه تمرینی تفاوت معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقادیر کلوتو و عامل رشد شبه انسولینی پس از یک دوره تمرین مقاومتی بهبودی نداشته است و می‌توان اظهار داشت که اجرای تمرینات مقاومتی می‌بایست در دوره‌های طولانی‌تر و با شدت‌های متفاوت تمرینی اجرا گردد که باید در تحقیقات آینده مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: سالمندی، عامل رشد شبه انسولینی-۱، پروتئین کلوتو، تمرین مقاومتی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرونی. ۱۴۰۰: ۵۰-۴۰.

دربافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱ پذیرش:

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

آدرس: مشهد- میدان آزادی- پردیس دانشگاه فردوسی مشهد- دانشکده علوم ورزشی

تلفن: ۰۵۱۳۸۰۵۴۱۲ نامبر: ۰۵۱۳۸۰۷۳۸۱ پست الکترونیکی: attarzadeh@um.ac.ir

مقدمه

حفظ هومئوستاز کلسیم و فسفات بدن نیز می شود. به علاوه کلوتو با شرکت در مسیرهای بیولوژیکی متعدد دیگری مانند مسیرهای wnt^7 و $P53/P21$ در کاهش سرعت پیری موثر است (۷). Semba و همکاران در پژوهش خود اظهار داشتند که در سالمندانی با سطح پلاسمایی بالای کلوتو نسبت به سالمندان دارای سطح پایین کلوتو خطر مرگ و میر کمتر است (۸).

علاوه بر این، $IGF-1$ نیز به عنوان محرك مثبت رشد عضلانی شناخته می شود و از عواملی است که با افزایش سن کاهش یافته و از این رو یکی از واسطه‌های اصلی تحلیل عضلانی مرتبط با سن شناخته شده است (۹). $IGF-1$ عامل آنابولیکی قوی عضلات اسکلتی است و بر اثر فعال سازی مسیر $AKt/TSC2/mTOR$ ^۸ بر اعمالی مثل تمایز سلولی و افزایش سنتر پروتئین از راه افزایش انتقال اسیدهای آمینه و مهار تجزیه پروتئین سلولی تاثیر می گذارد که در نهایت به رشد عضلات اسکلتی منجر می شود (۱۰).

در این راستا تمرین ورزشی از نوع مقاومتی یک راهکار موثر و سالم برای افزایش قدرت و توده عضلانی و همچنین ظرفیت کارکردی افراد مسن معرفی شده است (۱۱). در مطالعه‌ای تنظیم مثبت کلوتوی گردشی در موش‌های جوان و پیر تحت تمرینات ورزشی سرعتی بیانگر ارتباط بین انقباض عضله اسکلتی در طی فعالیت بدنی و بیان زن کلوتو و توضیحی برای عملکرد ضد پیری آن بود (۱۲). حال آنکه در برخی تحقیقات به واسطه افزایش حاد شاخص‌های التهابی و استرس اکسیداتیو بواسطه اجرای تمرینات بدنی تغییرات مقادیر کلوتو در بافت‌های مختلف متفاوت بوده است (۱۳).

تحقیقات نشان داده اند که در آتروفی عضلانی با افزایش سن؛ اندازه و تعداد هر دو نوع تار عضلانی تند انقباض و کند انقباض کاهش می یابند، ولی کاهش تعداد و اندازه تارهای تند انقباض در مقایسه با تارهای کند انقباض در اثر افزایش سن شدیدتر است. از طرفی نشان داده شده است که تارهای تند انقباض در زمینه رشد

پیری جمعیت یک پدیده جهانی است؛ طی چند دهه اخیر با پیشرفت فناوری، زندگی ماشینی، ارتقای سطح بهداشت عمومی و فردی و بالارفتن سن امید به زندگی، جمعیت سالمندان افزایش یافته است (۱). تا سال ۲۰۰۰، حدود ۱۳ درصد از جمعیت جهان را سالمندان تشکیل می دادند، حال آنکه پیش بینی می شود تا سال ۲۰۴۰ این میزان به ۲۰ درصد افزایش یابد (۱). در ایران نیز طبق سرشماری در سال ۱۳۹۴، سالمندان بالای ۶۰ سال حدود ۱۰ درصد از کل جمعیت را تشکیل می دادند و پیش بینی می شود تا سال ۱۴۲۹ این میزان به حدود ۳۳ درصد برسد (۲). افزایش جمعیت سالمندان ضرورت اتخاذ روش‌هایی را برای ارتقای کیفیت زندگی سالمندان نمایان تر می کند.

سالمندان تحت شرایط مختلف هورمونی، کم تحرکی، بیماری و تغذیه دچار کاهش توده عضلانی و کاهش عملکرد عضلانی می‌شوند؛ در همین راستا توجه به تاثیر فعالیت بدنی به عنوان یک عامل کاهنده روند سالمندی و موثر بر شاخص‌های ضدپیری و بهبود وضعیت عضلانی و شاخص‌های مرتبط با آن نظیر پروتئین کلوتو^۱ بسیار حائز اهمیت می باشد (۳،۴).

کلوتو یکی از عوامل ژنتیکی است که در تنظیم زن‌های متعدد سهیم در روند پیری و کاهش طول عمر نقش دارد و مطالعات نشان داده اند که کلوتو به عنوان یک سرکوبگر فرایندهای مرتبط با سالمندی شناسایی شده است (۵). کلوتو به عنوان کورسپتور در اتصال فاکتورهای رشد فیبروبلاست^۲ FGF15/FGF19 به گیرنده FGFR1-4^۳ و آغاز فعالیت سیگنالینگ ERK1/2^۴ نقش مهمی در هیپرتروفی عضله اسکلتی دارد (۶). این پروتئین با فعال کردن فاکتور رونویسی FOXO^۵ و افزایش بیان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)^۶ میتوکندریایی سبب افزایش مقاومت به استرس اکسیداتیو می شود و به عنوان کورسپتور اجباری FGF-23 سبب

¹ Klotho

² Fibroblast growth factors (FGFs)

³ Fibroblast Growth Factor Receptor1-4 (FGFR1-4)

⁴ Extracellular-signal-regulated protein kinase ½ (ERK1/2)

⁵ Members of the class O of forkhead box transcription factors (FOXO)

⁶ Superoxide dismutase (SOD)

⁷ Wnt Signaling Pathway

⁸ Protein kinase B (also known as Akt)/Tuberous Sclerosis Complex 2 (TSC2)/Mammalian target of rapamycin (mTOR)

۶-۸ ثانیه در نظر گرفته شد. در صورتی که هر رت در تکرارها به ۱۰۰ درصد حداکثر ظرفیت حمل خود می‌رسید؛ ۳۰ گرم وزنه جدید اضافه بار اعمال می‌شد. همانند بار اول این اضافه کردن وزنه تا جایی ادامه می‌یافتد که رت توانایی بالا رفتن از نردبان را داشته باشد تا حداکثر توانایی جدید بدست آید. زمان هر صعود ۲ دقیقه بود. در صورتی که رت پس از سه تحريك متواли قادر به بالا رفتن از نردبان نبود؛ تمرين متوقف می‌شد (جدول ۱). گروه کنترل در تمام طول پژوهش در همان محل نگهداری گروه تجربی قرار داشت و دقیقاً با همان غذای گروه تجربی تعذیه می‌شد، اما هیچ برنامه تمرينی بر روی این گروه اجرا نشد.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرين و پس از ۱۲ ساعت ناشتا با تزریق درون عضلانی ترکیبی از کتابین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. پس از تایید بیهوشی توسط عدم عقب کشیدن پا، برشی به طول ۵ تا ۶ سانتی‌متر، در ناحیه شکمی بدن رت ایجاد و به سرعت بافت عضلانی نعلی (به عنوان عضله کند انقباض) و تاکتنه دراز انگشتان (به عنوان عضله تند انقباض) جدا و به داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و در نیتروژن مایع قرار گرفت. بافت‌ها تا زمان سنجش در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد در فریزر آزمایشگاه نگهداری شدند. نمونه‌های بافتی پس از خارج شدن از فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد، به مقدار ۳۰ میلی‌گرم توسط تیغ جراحی برش زده شد و داخل میکروتیوب با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر قرار گرفت و توسط ترازو وزن گردید. بافت مورد نظر در هاون همزمان با ریختن نیتروژن مایع روی آن کوییده شد. سوسپانسیون بدست آمده از پودر بافت و ازت مایع را به یک تیوب از پیش سرد شده در ازت مایع انتقال داده و اجازه دادیم ازت تبخیر گردد. پیش از گرم شدن سوسپانسیون بافر لیزکننده اضافه شد و بلافضله مرحله یکنواخت سازی و هموژنیزاسیون (هموژنایز) دستگاه سانتریفیوژ مدل BRUSHLESS (D.C.MOTOR آغاز شد. سوسپانسیون سلولی و محلول حاصل از لیز بافت را با استفاده از سرنگ و نیدل یکنواخت نموده و با گذراندن Lysate بافتی از سرنگ دو

عضلانی و تغییرات مربوط به عوامل رشدی نظیر IGF-1 مستعدترند (۱۴، ۱۵). لذا هدف پژوهش حاضر بررسی مقادیر پروتئین کلوتو و IGF-1 عضلات تند انقباض و کند انقباض رت‌های پیر پس از هشت هفته تمرين مقاومتی است.

روش تحقیق

پژوهش حاضر از نوع بنیادی و به روش تجربی بود. در این مطالعه ۱۶ سر رت نر نژاد ویستار با سن ۲۰ ماه و میانگین وزن ۷۰ ± ۳۰ گرم از انسنیتو سرم رازی مشهد خریداری و به خانه حیوانات دانشکده علوم ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند (کد کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی مشهد IR.UM.REC.1398.006) در هر شبانه روز آزمایشگاه ۱۲ ساعت روشناهی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای آزمایشگاه بین ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن بین ۴۷ تا ۵۳ درصد بود. تعذیه رت‌ها در مدت هفته اول تا یازدهم با غذای مخصوص جوندگان (تولید شرکت خوارک و دام به پرور) داده شد. آب نیز به وسیله بطیری شیشه‌ای مخصوص همیشه در اختیار رت‌ها قرار داشت. رت‌ها پیش از تقسیم بندی وزن کشی شدند. سپس به روش تصادفی به دو گروه مساوی کنترل (۸ سر) و تمرين مقاومتی (۸ سر) تقسیم شدند.

قبل از اجرای پروتکل تمرينی، آشناسازی گروه تمرين مقاومتی در دو روز غير متواли با فاصله ۴۸ ساعت استراحت بین جلسات تمرينی انجام شد. تمرين شامل بالا رفتن از یک نردبان با شیب ۸۰ درجه و با بستن ابزار وزنه بدون گذاشتن هیچ گونه وزنه ای به دم رت بود. در این پژوهش از نردبانی به ابعاد ۱۱۰×۱۸ سانتی‌متر با دو سانتی‌متر فاصله بین پله‌ها و یک محفظه استراحت در قسمت بالای آن استفاده شد. این مرحله تا زمانی که رت‌ها توانستند ۳ بار متواالی بدون اعمال محرك به بالای نردبان صعود کنند، ادامه یافت. تمرين مقاومتی به مدت ۸ هفته و ۳ روز در هفته انجام شد. فعالیت بالا رفتن از نردبان با حمل وزنه‌ها بود که به صورت افزایشی معادل ۹۵ و ۸۵ و ۱۰۰ درصد حداکثر توانایی هر رت بود. هر جلسه تمرين شامل ۵-۸ تکرار صعود بود و فاصله استراحت بین هر صعود

سایبرگرین (YTA SYBR Green qPCR MasterMix 2X Cat No: YT2551) صورت پذیرفت و توالی نوکلئیدی ژن های هدف با توالی نوکلئیدی ژن رفرنس مقایسه شد. در پایان بیان ژن Real Time PCR و IGF-1 در بافت عضلانی با استفاده از روش کلوتو و استانداردها مطابق (دستگاه NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer) اندازه گیری نانودرایپ و خوانش شد.

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیرو ویلک اکشافی استفاده شد. به سبب نرمال نبودن داده ها از آزمون یوی من ویتنی برای مقایسه دو به دو گروه ها استفاده شد. تمام عملیات آماری توسط نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۳ انجام شد. خاطرطه تصمیم گیری آماری برای آزمون فرضیه ها $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

تعداد ۱۶ نمونه و در هر گروه ۸ نمونه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تعیین تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن کلوتو عضله تند انقباض (عضله تا کننده دراز انگشتان) و عضله کند انقباض (عضله نعلی) رت های پیر نژاد ویستار از آزمون آماری یوی من ویتنی استفاده شد. جدول ۲ نتایج آزمون یوی من ویتنی، مقایسه میانگین رتبه بیان ژن کلوتو عضله تند انقباض و کند انقباض رت های پیر نژاد ویستار را در دو گروه تمرین مقاومتی و کنترل نشان می دهد. براساس نتایج جدول ۲ مشاهده شد، بیان نسبی ژن کلوتو عضله نعلی رت های پیر نژاد ویستار در گروه کنترل و تمرین مقاومتی معنادار نیست. در عضله تند انقباض نیز نتایج معنی داری مشاهده نشده است ($P > 0.05$).

جدول ۳ نتایج آزمون یوی من ویتنی، مقایسه میانگین رتبه بیان ژن IGF-1 عضله تند انقباض (عضله تا کننده دراز انگشتان) و عضله کند انقباض (عضله نعلی) رت های پیر نژاد ویستار را در دو گروه تمرین مقاومتی و کنترل نشان می دهد. بیان نسبی ژن IGF-1 عضله تا کننده دراز انگشتان رت های پیر نژاد ویستار در گروه کنترل و تمرین مقاومتی معنادار نبود ($Z = -1/69$; $P = 0.089$). در

میلی لیتری استریل با نیدل شماره ۲۰-۲۳ محلول Lysate هموژن شد.

جهت افزایش هموژنیته محلول Lysate و نیز برای تخریب ژنومیک، حداقل ۱۰ بار با استفاده از سرنگ دو میلی لیتری استریل (Gauge no. 19) محتويات تیوب پر و خالی گردید. از محلول precipitation موجود در کیت، ۳۰۰ ماکرومول به تیوب اضافه و با استفاده از سمپلر به خوبی محلوط شد. ۷۰۰ ماکرومول از محتويات تیوب که دارای رسوب بود به یک ستون استخراج RNA که درون تیوب دو میلی لیتری قرار داشت منتقل شد. در ستون به آرامی بسته شد و سانتریفیوژ گردید. ستون به آرامی از تیوب خارج شد بطوری که با flow-through تماس نداشته باشد و تیوب دو میلی لیتری دور انداخته شد و این عمل چندین بار تکرار شد. ۳۰ میلی لیتری water free RNase که تاکنون در هیتر بلوک ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته بود درست در مرکز غشاء درون ستون اضافه گردید. جهت افزایش غلظت RNA استخراجی در این مرحله در ستون را به آرامی بسته و به مدت سه دقیقه در حرارت اتاق و یا انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه نموده و به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ گردید.

پس از استخراج RNA برای سهولت در کاربرد فورم آمید در ژل RNA Loading Dye(R0641) native ۲× و همچنین چهت تعیین اندازه و برآورد غلظت RNA بر روی ژل native و یا High Range RNA Ladder. SM1821/3 RiborulerTM دناتوره از nanodrop خوانش شد. پس از آن پرایمیرها چهت مراحل انجام تست Real Time PCR آماده سازی شد بعد از بدست آوردن توالی نوکلئوتیدی ژن مورد نظر به منظور تعیین اختصاصی بودن پرایمیرها، بررسی همولوژی توالی پرایمیرها با توالی های ثبت شده ژنتیکی، از نرم افزار Beacon Designer و Primer blast اینترنتی NCBI استفاده گردید. توالی پرایمیر و پروپ برای واکنش RQ-PCR کلوتو از پژوهش Castaneda برداشته شد (۱۷) و سپس سنتز cDNA برای واکنش Reverse-transcriptase PCR توسط کیت سنتز cDNA Cat No: (YT4500) به روش

معنادار نیست ($P=0.46$; $Z=-0.73$). همچنین بین بیان نسبی ژن کلوتو عضله تنده و کند انقباض رت‌های پیر نژاد ویستار در گروه تمرین مقاومتی تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P>0.05$). در نمودارهای ۱ و ۲ مقایسه میانگین رتبه بیان ژن IGF-1 و بیان پروتئین کلوتو عضله تنده و کند انقباض در گروه تمرین مقاومتی و کنترل نمایش داده شده است.

عضویه کندانقباض نیز تغییرات معنی داری مشاهده نشد ($P>0.05$). جدول ۴ نتایج آزمون یوی من ویتنی، مقایسه میانگین رتبه بیان ژن کلوتو و IGF-1 عضله تنده و کند انقباض رت‌های پیر نژاد ویستار را در گروه تمرین مقاومتی نشان می‌دهد. میانگین رتبه بیان نسبی ژن IGF-1 عضله تنده و کند انقباض رت‌های پیر نژاد ویستار در گروه تمرین مقاومتی به ترتیب $7/62$ و $9/38$ بود که این تفاوت

جدول ۱- خریداری، آشنایی سازی، مداخله تمرینی و زمان نمونه برداری از رت‌ها

متغیر	نمونه برداری	اعضلات	گروه‌ها	میانگین \pm انحراف معیار	آماره Z	سطح معناداری	همفته
							۱
							۲
							۳
تمرین مقاومتی	۴ تکرار اول به ترتیب 65 ± 85 و 100 ± 95 درصد حداکثر توان بیشینه و سه تکرار بعدی به ازای هر تلاش موفق 30 ± 45 گرم به وزنه اضافه می‌شود.	کنترل	تمرین مقاومتی	$4-10$			
تمرین مقاومتی	۴ تکرار اول به ترتیب 65 ± 85 و 100 ± 95 درصد حداکثر توان بیشینه بدست آمده از آخرین تکرار جلسه قبل و سه تکرار بعدی به ازای هر تلاش موفق 30 ± 45 گرم به وزنه اضافه می‌شود.	کنترل	تمرین مقاومتی				۱۱

جدول ۲- نتایج آزمون یوی من ویتنی مقایسه میانگین رتبه بیان ژن کلوتو عضله تنده انقباض و کندانقباض در دو گروه کنترل و تمرین مقاومتی

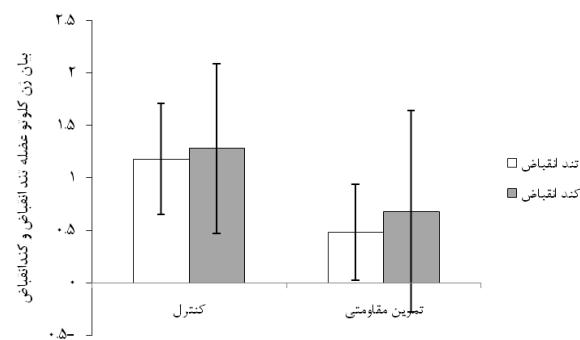
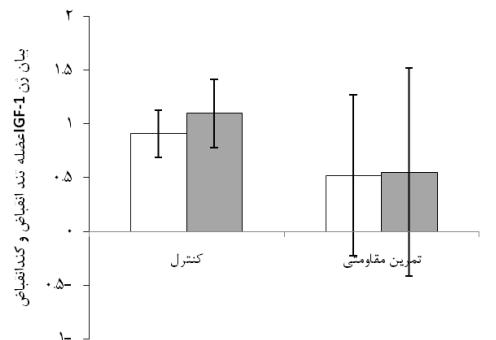
متغیر	کنترل	تند انقباض	کلوتو
	$1/18 \pm 0.53$		
	- $1/91$		
		0.48 ± 0.46	
		- $1/91$	
			$1/28 \pm 0.81$
			- $1/92$
		0.68 ± 0.96	
		- $1/92$	

جدول ۳- نتایج آزمون یوی من ویتنی مقایسه میانگین رتبه بیان ژن IGF-1 عضله تنده انقباض و کندانقباض در دو گروه کنترل و تمرین مقاومتی

متغیر	اعضلات	گروه‌ها	میانگین \pm انحراف معیار	آماره Z	سطح معناداری
IGF-1	تند	کنترل	0.91 ± 0.22	- $1/69$	0.1089
	انقباض	تمرین مقاومتی	0.52 ± 0.75		
	کند	کنترل	1.10 ± 0.32	- $1/69$	0.10
	انقباض	تمرین مقاومتی	0.55 ± 0.97		

جدول ۴- نتایج آزمون بیوی من ویتنی مقایسه میانگین رتبه بیان ژن کلوتو و IGF-1 بین عضله تند و کند انقباض در گروه تمرین مقاومتی

گروه	متغیر	عضلات	میانگین رتبه بیان ژن (بیان نسبی)	Z	آماره Z	سطح معناداری
تمرین مقاومتی	کلوتو	عضله تند انقباض	۹	-۰/۴۷	-۰/۶۳	
	کلوتو	عضله کند انقباض	۸			
IGF-1	کند انقباض	عضله تند انقباض	۷/۶۲	-۰/۷۳	۰/۴۶	
	کند انقباض	عضله کند انقباض	۹/۳۸			



ورزشی، تنظیم کاهشی (منفی) بیان فاکتور نکروز دهنده ی تومور آلفا (TNF- α)^۱ از طریق سازوکارهای وابسته به فاکتور هسته‌ای تقویت‌کننده زنجیره سبک کاپا از لنفوسیت‌های B فعال شده است. حال آنکه در برخی تحقیقات عدم تغییر معنی دار شاخص TNF- α به دنبال تمرینات مقاومتی نشان داده شده است (۱۹). فشار اکسایشی نیز مقادیر بیان ژن پروتئین را کاهش می‌دهد که در تحقیق حاضر احتمالاً یکی از دلایل کاهش مقادیر کلوتو را می‌توان به عدم تعادل آنتی اکسیدانی آزمودنی ها نسبت داد (۲۰). این موضوع می‌تواند دلیلی بر این باشد که شاید تمرینات مقاومتی در تحقیق حاضر به دلیل فشار بالای تمرین و ایجاد آسیب و پس از آن ترمیم بافت تحت فشار، مقادیر کلوتو را کاهش داده است (۲۱). علاوه بر این ها نشان داده است که پروتئین ترشحی کلوتو به طور مستقیم مانع فعالیت عامل پیش فیبروزی TGF- β 1^۲ می‌

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقادیر کلوتو در عضله نعلی (به عنوان عضله کند انقباض) و تاکننده دراز انگشتان (به عنوان عضله تندانقباض) در گروه تمرین مقاومتی، تغییرات معنی دار نداشته است. همچنین تغییرات معناداری در IGF-1 در رت‌های تمرین کرده در مقایسه با گروه کنترل در عضلات کند انقباض و تند انقباض مشاهده نشد. نتایج پژوهش حاضر با پژوهش Saghiv و همکاران (۲۰۱۷) که به بررسی اثرات تمرین مقاومتی طولانی مدت بر گردش کلوتو محلول و IGF-1 خون بزرگسالان جوان پرداختند همخوانی دارد. در پژوهش سانگوی که روی مدل انسانی انجام شد؛ نتایج نشان داد اختلاف معناداری بین سطوح کلوتو وزنه برداران و افراد غیر آموزش دیده مشاهده نشد. با این حال سطح IGF-1 در وزنه برداران به طور معناداری بالاتر از افراد غیر آموزش دیده بود. به نظر می‌رسد که تمرین مقاومتی طولانی مدت بر روی سطح گردش خون کلوتو محلول تاثیر نمی‌گذارد (۱۸). یکی از سازوکارهای احتمالی تنظیم مثبت بیان ژن کلوتو بر اثر فعالیت

¹ Tumor necrosis factor- α (TNF- α)

² Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B)

³ Transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1)

کردن.

هم چنین، پروتئین کلوتو ممکن است به کمک واسطه‌های عوامل رشدی مانند IGF-1 ایجاد گردد، حال آنکه در تحقیق حاضر IGF-1 تغییر معنی داری نداشته است. کاهش سطح IGF-1 در عضلات در حال کار ممکن است به علت کاهش چشمگیر توانایی عضله در سنتر پروتئین منجر به دیستروفی عضلات باشد. IGF-1 با مهار تخریب پروتئین اثرات آنانولیک بر محتوای پروتئین ماهیچه‌ها دارد. در نتیجه توانایی عملکردی IGF-1 در عضلات در حال کار محدود است. در پاسخ به تمرین مقاومتی در برابر انعطاف پذیری بالای سلول‌های ماهواره‌ای، نشان می‌دهد که تغییر در اندازه فیبرهای عضلانی اسکلتی می‌تواند بدون افروزن هسته‌های فیبر عضله جدید حاصل شود (۲۶). به علاوه، پاسخ هورمون رشد و IGF-1 به نحوه تغییر غلظت گلوکز، انسولین و اسیدهای چرب آزاد و پروتئین های پیوندی حین و پس از انجام فعالیت ورزشی بستگی دارد. غلظت این سوبستراها بر ترشح هورمون رشد و IGF-1 اثر گذاشته و یک تنظیم بازخوردی ایجاد می‌کند (۲۷). Scudese و همکاران ۲۰۱۶ اظهار داشتند که تمرین مقاومتی با شرایط مناسب در شدت (۸۰ درصد یک تکرار پیشینه) و مدت (یک جلسه‌ی سی دقیقه ای) بر ترشح IGF-1 تاثیر داشته و این افزایش احتمالاً از طریق تسهیل ورود گلوکز به درون عضله اسکلتی بدون وابستگی به انسولین، میانجی گری می‌شود (۲۸). همچنین Razi و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیق خود اظهار داشتند که برخی از تغییرات مرتبط با سن در سیگنال‌های مکانیکی، هورمون‌ها، عوامل رشد و سیتوکین‌ها، موجب کاهش پاسخ فیزیولوژیکی سالماندان به بار مکانیکی می‌شوند (۲۹). تناقض گزارشات موجود می‌تواند ریشه در تفاوت گروه‌های مورد مطالعه، روش‌های ارزیابی و اندازه‌گیری شده، شدت، مدت تمرین، نوع برنامه‌های تمرینی، زمان خونگیری و فاصله‌ی استراحت بین دو تمرین داشته باشد. محققین نیز در این رابطه اظهار داشته‌اند که تمرینات مقاومتی می‌بایست به صورت جلسه‌های پیاپی و در بلند مدت اجرا شود تا از طریق تنظیم افزایش برخی سایتوکاین‌ها نقش ضدالتهابی داشته باشد و باعث کاهش عامل TNF- α و افزایش سنتر پروتئین کلوتو شود چرا که سطح

گردد. TGF- β 1 نه تنها تنظیم کننده فیبروز بافتی است، بلکه به نظر می‌رسد مانع فعالیت سلول‌های ماهواره‌ای و تمایز سلول‌های میوبلاست باشد. شواهد بیانگر آن است که عضلات مسن حاوی مقادیر بالاتر TGF- β 1 بوده و ممانعت از پیامرسانی TGF- β 1 بازسازی عضلات را افزایش می‌دهد. شکل ترشحی کلوتو مستقیماً با گیرنده‌های نوع TGF- β 1II وارد واکنش شده و باعث کاهش میل ترکیبی لیگاند درون‌زا TGF- β 1 می‌گردد. بیشتر پژوهش‌ها بیانگر آن است که تمرینات مقاومتی منجر به افزایش TGF- β 1 می‌گردد (۲۲). لذا افزایش همزمان TGF- β 1 و پروتئین کلوتو به دنبال تمرینات مقاومتی از سویی و اثر بازدارنده کلوتو بر پیامرسانی-TGF- β 1 از سویی دیگر با یکدیگر متقاض بوده و لذا نیازمند بررسی بیشتر اثر این دو بر یکدیگر می‌باشد (۲۳). یکی از چالش‌های موجود در زمینه فعالیت ورزشی و سطح کلوتو، پاسخ یا سازگاری آن به نوع تمرینات ورزشی است. در یکی از مطالعات طراحی شده، ارتباط بین کلوتو سرمی و تمرینات ورزشی بی‌هوایی بررسی شد. در این مطالعه مشخص شد که سطح سرمی کلوتو در دوندگان سرعت بی‌هوایی در مقایسه با همتایان هوایی آن‌ها پایین‌تر بود. در واقع حتی مقدار آن مشابه با افراد همتای کم تحرک بود (۲۴). در نتیجه می‌توان گفت که کلوتو به نوع تمرینات حساس است و تمرینات دویدن سرعت بی‌هوایی روی افزایش مقدار آن تاثیری نداشته است، مشابه با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر که نشان داد تمرینات مقاومتی تاثیری روی مقادیر کلوتو نداشته است. حال آنکه در تمرین فاطمی و همکاران (۱۳۹۷) مشاهده شد که تمرینات هوایی شنا منجر به افزایش سطح کلوتو شده است (۲۵)؛ معین و همکاران (۱۳۹۶) نیز در تحقیق خود به بررسی تاثیر هشت هفته تمرینات هوایی روی تردیمیل بر پروتئین کلوتو موش‌های صحرایی نر پرداختند و اظهار داشتند که تمرین هوایی می‌تواند موجب افزایش پروتئین کلوتو گردد و احتمالاً با کاهش شاخص التهابی-IL-6 و TNF- α ارتباط دارد که بیانگر سازگاری مثبت نسبت به بروز التهاب در ورزشکاران رشته‌های استقامتی و هوایی می‌باشد (۱۲). این یافته‌ها می‌توانند تایید کننده نتایج مطالعات پیشین باشد که تاثیر مثبت تمرینات ورزشی هوایی روی سطح سرمی کلوتو را خاطر نشان

ریکاوری کافی همراه باشد که منجر به تعادل آنتی اکسیدانی و بهبود شاخص های التهابی شود و در نهایت احتمالاً به افزایش شاخص های کلوتو و IGF-1 منجر شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد، رشته فیزیولوژی ورزش با کد طرح ۴۷۹۳۰ دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. نویسندهای از تمامی عوامل اجرایی دانشگاه، مرکز تحقیق، عوامل نگهداری و تکنسین آزمایشگاه که در این پژوهش همکاری صمیمانه داشتند، کمال تشکر را دارند.

تضاد منافع

نویسندهای اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

بالای TNF- α با کاهش سنتز پروتئین کلوتو در ارتباط است (۳۰).

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی نمی تواند تغییری بر پروتئین کلوتو عضله اسکلتی تند انقباض ایجاد کند، از سوی دیگر نمی تواند موجب افزایش کلوتو در بافت عضله اسکلتی کند انقباض و هم چنین افزایش IGF-1 بافت عضله تند انقباض و کند انقباض گردد. بنابراین احتمالاً می توان گفت تمرین مقاومتی در کوتاه مدت نمی تواند باعث افزایش پروتئین کلوتو گردد. پیشنهاد می شود تحقیقات بعدی به مقایسه تأثیر تمرینات مقاومتی و استقامتی با مدت زمان طولانی تر و با شدت های متفاوت و هم چنین تمرین های ترکیبی بر شاخص های کلوتو و IGF-1 پردازند. هم چنین می توان اظهار داشت که اجرای تمرینات مقاومتی می بایست همراه با تغذیه مناسب و دوره های

منابع:

- 1- Negarest R, Ranjbar R, Gharibvand M, Habibi A, Moktarzade M. Effect of 8-week resistance training on hypertrophy, strength, and myostatin concentration in old and young men. Salmand: Iran J Ageing. 2017; 12(1): 56-67. [Persian] DOI: [10.21859/sija-120154](https://doi.org/10.21859/sija-120154).
- 2- Mahmodi M. Population aging: a socio-demographic phenomenon. Women's Strategic Studies. 2016; 19(73): 178-83. [Persian] DOI: [10.22095/jwss.2016.44406](https://doi.org/10.22095/jwss.2016.44406).
- 3- Maltese G, Karalliedde J. The putative role of the antiageing protein klotho in cardiovascular and renal disease. Int J Hypertens 2012; 757469. DOI: [10.1155/2012/757469](https://doi.org/10.1155/2012/757469).
- 4- Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, et al. Relationship of low plasma klotho with poor grip strength in older community-dwelling adults: the InCHIANTI study. Eur J Appl Physiol. 2012; 112(4): 1215-20. DOI: [10.1007/s00421-011-2072-3](https://doi.org/10.1007/s00421-011-2072-3).
- 5- Kuro-o M. Klotho and the aging process. Korean J Intern Med. 2011; 26(2): 113-22. DOI: [10.3904/kjim.2011.26.2.113](https://doi.org/10.3904/kjim.2011.26.2.113)
- 6- Benoit B, Meugnier E, Castelli M, Chanon S, Vieille-Marchiset A, Durand C, et al. Fibroblast growth factor 19 regulates skeletal muscle mass and ameliorates muscle wasting in mice. Nat Med. 2017; 23(8): 990-96. DOI: [10.1038/nm.4363](https://doi.org/10.1038/nm.4363).
- 7- Jebreil Azimzadeh M, Shidfar F, Jazayeri S, Agha Hosseini F. The effect of vitamin D supplementation on plasma levels of anti-aging protein in elderly. Razi j Med Sci. 2018; 25(9): 84-93. [Persian] [Link](#)
- 8- Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, et al. Plasma klotho and mortality risk in older community-dwelling adults. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2011; 66: 794-800. DOI: [10.1093/gerona/glr058](https://doi.org/10.1093/gerona/glr058).
- 9- Puche JE, Castilla-Cortázar I. Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency. J Transl Med 2012; 10: 224. DOI: [10.1186/1479-5876-10-224](https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-224).

- 10- Armakolas N, Armakolas A, Antonopoulos A, Dimakakos A, Stathaki M, Koutsilieris M. The role of the IGF-I Ec in myoskeletal system and osteosarcoma pathophysiology. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016; 108: 137-45. DOI: [10.1016/j.critrevonc.2016.11.004](https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.11.004)
- 11- Negaresh R, Ranjbar R, Habibi A, Gharibvand MM. The effects of eight weeks of resistance training on some muscle hypertrophy and physiological parameters in elderly men. *J Gerontol Nurs.* 2016; 3 (1): 62-75. [Persian] DOI: [10.21859/jgn.3.1.62](https://doi.org/10.21859/jgn.3.1.62).
- 12- Moein A, Nikbakht H, Ghazalian F. The effect of aerobic training on Klotho protein and a selected of inflammatory indices in kidney of Male Rats. *Res Med.* 2017; 41(3): 175-82. [Persian] [Link](#)
- 13- Nasrollahi H, Gaeini AA, Biglari S, Ghardashi Afousi A. Changes of insulin-like growth factor I gene expression in gastrocnemius muscle of male wistar rats after a period of high-intensity interval training. *Daneshvar Med.* 2018; 132: 31-39. [Persian] [Link](#)
- 14- Ghadimi Ilkhanlar H, Nourshahi M, Gharakhanloo R, Khodaghli F. Effect of 8 weeks of resistance training on neurotropin levels in fast-twitch and slow-twitch muscles of elderly rats. *J Appl Execr Physiol (JAEP).* 2014; 10(20): 129-38. [Persian] DOI: [10.22080/JAEP.2015.925](https://doi.org/10.22080/JAEP.2015.925).
- 15- Roostaei M, Gaeini AA, Kordi M. The difference of myostatin gene expression in fast and slow twitch healthy male rat after eight weeks of high intensity interval training. *Physiol Execr Phys Act.* 2016; 9(1): 1301-06. [Persian] [Link](#)
- 16- Marqueti RC, Durigan JL, Oliveira AJ, Mekaro MS, Guzzoni V, Aro AA, et al. Effects of aging and resistance training in rat tendon remodeling. *FASEB J.* 2017; 32(1): 353-68. DOI: [10.1096/fj.201700543r](https://doi.org/10.1096/fj.201700543r)
- 17- Muñoz-Castañeda JR, Herencia C, Pendón-Ruiz de Mier MV, Rodriguez-Ortiz ME, Diaz-Tocados JM, Vergara N, et al. Differential regulation of renal Klotho and FGFR1 in normal and uremic rats. *FASEB J.* 2017; 31(9): 3858-67. DOI: [10.1096/fj.201700006R](https://doi.org/10.1096/fj.201700006R).
- 18- Sagiv M, Sherve C, Ben Sira D, Sagiv M, Goldhammer E. Aerobic training effect on blood s-Klotho levels in coronary artery disease patients. *J Clin Exp Cardiol.* 2016; 7(8): 464. DOI: [10.4172/2155-9880.1000464](https://doi.org/10.4172/2155-9880.1000464).
- 19- Dolgari R, Amirsasan R, Vakili J. Effects of Pilates training with and without turmeric supplementation on serum Klotho and quality of life in post-menopausal overweight women: A randomized clinical trial. *Daneshvar Med.* 2019; 27(3): 1-8. [Persian] DOI: [10.22070/DMED.27.142.1](https://doi.org/10.22070/DMED.27.142.1)
- 20- Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev.* 1997; 18(1): 4-25. DOI: [10.1210/edrv.18.1.0287](https://doi.org/10.1210/edrv.18.1.0287).
- 21- Nourshahi M, Farahmand F, Soleimani M, Rajabi H, Power K. The effect of high intensity interval training preconditioning on Klotho and TNF- α female mice with multiple sclerosis. *J Appl Exerc Physiol (JAEP).* 2019; 15(30): 15-30. [Persian] DOI: [10.22080/JAEP.2020.17766.1921](https://doi.org/10.22080/JAEP.2020.17766.1921).
- 22- Czarkowska B, Zendzian M, Bartłomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The effect of acute and prolonged endurance exercise on transforming growth factor-beta1 generation in rat skeletal and heart muscle. *J physiol pharmacol.* 2009; 60(4): 157-62. PMID: 20065510 [Link](#)
- 23- Kuro-o M, Phosphate and klotho. *Kidney Int.* 2011; 79: S20-S23. DOI: [10.1038/ki.2011.26](https://doi.org/10.1038/ki.2011.26).
- 24- Devaraj S, Syed B, Chien A, Jialal I. Validation of an immunoassay for soluble Klotho protein: decreased levels in diabetes and increased levels in chronic kidney disease. *Am J Clin Pathol.* 2012; 137(3): 479-85. DOI: [10.1309/AJCPGPMAF7SFRBO4](https://doi.org/10.1309/AJCPGPMAF7SFRBO4).
- 25- Fatemi S, FallahMohammadi Z. The effect of vitamin D supplementation on the levels of Klotho in the brain tissue of female lewis rats after 6 weeks of swimming. *J Sports Sci.* 2018; 10(2), 207-19. [Persian]. DOI: [10.22059/JSB.2018.230041.1159](https://doi.org/10.22059/JSB.2018.230041.1159)
- 26- Schiaffino S, Mammucari C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. *Skelet Muscle.* 2011; 1(1): 4. DOI: [10.1186/2044-5040-1-4](https://doi.org/10.1186/2044-5040-1-4).
- 27- Amirsasan R, Sari-Saraf V, Pourgholi T, Armanfar M. Comparing the effects of combined endurance-resistance training versus resistance-endurance on growth hormone and insulin-like growth factor-I in non-athlete prepubertal girls. *Feyz.* 2015; 19(3): 214-22. [Persian] [Link](#)

- 28- Scudese E, Simão R, Senna G; Vingren JL, Willardson JM, Baffi M, et al. Long rest interval promotes durable testosterone responses in high-intensity bench press. *J Strength Cond Res.* 2015; 1275–86. DOI: [10.1519/JSC.0000000000001237](https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001237).
- 29- Razi H, Birkhold AI, Weinkamer R, Duda GN, Willie BM, Checa S. Aging leads to a dysregulation in mechanically driven bone formation and resorption. *J Bone Miner Res* 2015; 30(10): 1864-73. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.2528>.
- 30- Fatemi S, FalahMohammadi Z, Hoseini H, Talebi V. The preventive effect of one course of resistance training with injections of vitamin D3 on the levels of klotho in the brain tissue of female rats with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Armaghane-danesh.* 2018; 23(4): 401-12. [Persian] [Link](#)