

بررسی تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفاژی در دوره‌های زمانی بعد از یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی وامانده‌ساز در عضله درشت نئی قدامی موش‌های بالبسی

افسانه جمالی^۱، مهدیه ملانوری شمس^۲، حوریه سلیمان جاهی^۳، محمد طاهر افشون پور^۴

چکیده

زمینه و هدف: اتوفاژی به عنوان یکی از فرایندهای حفاظتی سلول در سال‌های اخیر مطرح شده است. با توجه به تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفاژی به دنبال فعالیت‌های ورزشی، هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفاژی در دوره‌های زمانی بعد از یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی وامانده‌ساز در عضله درشت نئی قدامی موش‌های بالبسی بود.

مواد و روشها: در راستای اجرای پژوهش، ۱۲ سر موش بالبسی به دو گروه ورزش و کنترل تقسیم شدند. آزمودنی‌ها بلافاصله و ۱۲ ساعت پس از اتمام جلسه فعالیت ورزشی تشریح شدند. جهت بررسی فاکتورهای اتوفاژی از روش Real Time-PCR استفاده شد.

نتایج: نتایج آزمون t مستقل نشان‌دهنده افزایش معنادار و کاهش سطوح بیان عوامل اتوفاژی در زمان‌های بلافاصله و ۱۲ ساعت بعد از یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی وامانده‌ساز بود ($P \leq 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر تایید کننده افزایش سطوح عوامل اتوفاژی بلافاصله بعد از یک وهله ورزش استقامتی وامانده ساز بوده است. ارتباط بین فعال‌سازی اتوفاژی و تغییرات ایجاد شده در عواملی مانند استرس اکسیداتیو، فاکتورهای ایمونولوژیکی و وضعیت متابولیکی می‌تواند در ایجاد این تغییرات موثر باشد.

کلیدواژه‌ها: فعالیت ورزشی استقامتی وامانده‌ساز، اتوفاژی، عضله اسکلتی

۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲ دانشیار گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. نویسنده مسئول molanouri@modares.ac.ir

۳ استاد گروه ویروس شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

مقدمه

اتوفاژی به عنوان یکی از فرایندهای تکاملی حفاظتی سلول در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. اتوفاژی فرایندی است که در آن، سلول می‌تواند برخی از اجزاء خود را تخریب کرده و بلوک‌های ساختاری حاصل را به منظور سنتز مواد جدید به کار گیرد. (۱،۲،۳). این فرایند در پاسخ به محرک‌های سلولی ایجاد شده که نشان‌دهنده آسیب، گرسنگی، تنش اکسیداتیو یا حمله‌ی پاتوژن‌هاست، القا می‌گردد. بسته به مسیر دقیق دنبال شده به منظور معرفی اجزاء هدف درون لیزوزوم‌ها، اتوفاژی به ماکرو اتوفاژی، میکرو اتوفاژی و اتوفاژی به واسطه‌ی چاپرون طبقه‌بندی می‌شود. ژن‌های مرتبط با اتوفاژی (Atg) برای مسیرهای سیگنالینگ و تشکیل اتوفاگوزوم ضروری هستند (۴). Beclin-1 به‌عنوان یک ژن در مسیر اتوفاژی شناخته شده که نقش محوری دارد (۵). همچنین P62، پروتئین متصل به یوبیکوئیتین بوده که تغییر در سطح آن در سلول می‌تواند نشانگر تغییر اتوفاژی باشد (۶). فعالیت‌های ورزشی با توجه به به تحریکات ایجاد شده توسط آن مانند هیپوکسی، افزایش یا تغییر عوامل سیستم ایمنی، آسیب‌های ساختاری احتمالی به سلول و... یکی از عوامل محرک افزایش میزان اتوفاژی سلولی است (۷،۸). پیشنهاد شده است که عضلات اسکلتی در مواجهه با فعالیت‌های ورزشی به عنوان یک استرس حاد، افزایش اتوفاژی را تجربه می‌کنند (۹،۱۰). همچنین مطالعات انجام شده نشان دهنده نقش اتوفاژی در سازگاری‌های ایجاد شده به دنبال فعالیت‌های ورزشی است (۱۱). فعال شدن عوامل اتوفاژی در عضلات اسکلتی به عنوان یک مکانیسم حفاظتی می‌تواند در ایجاد سازگاری‌های ورزشی نیز موثر باشد (۱۰،۱۱). نشان داده شده است پروتئین کیناز فعال کننده AMP که نقش حیاتی در هموستاز انرژی دارد، به‌عنوان فعال‌کننده اصلی اتوفاژی در نظر گرفته می‌شود (۱۲،۱۳).

اما به نظر می‌رسد مدل‌های مختلف فعالیت ورزشی، شدت و مدت زمان‌های متفاوت در فعالیت‌های ورزشی می‌تواند اثرات متفاوتی در فعال شدن مکانیسم اتوفاژی سلولی داشته باشد (۱۴،۱۵،۱۶). جامارت و همکاران (۲۰۱۲)²، افزایش بیان عوامل اتوفاژی را پس از ۲۸ ساعت دویدن فوق استقامت گزارش کردند. همچنین، طی بررسی حاصل از بافت‌برداری عضله، افزایش ۵ برابری در مارکر تشکیل اتوفاگوزوم (LC3II)³، مشاهده شد. درحالی‌که به دنبال یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی کم شدت، کاهش بیان LC3II مشاهده شده است (۱۴،۱۵). از سویی دیگر، در مطالعه دیگری پس از ۳۰ دقیقه دوچرخه‌سواری با شدت ۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی یا ۱۵ دقیقه دوچرخه‌سواری با شدت ۴۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی همراه با محدودیت جریان خون، هیچ تفاوتی در میزان LC3II مشاهده نشد (۱۶).

فریتزن و همکاران (۲۰۱۶)⁴، مارکرهای اتوفاژی را پس از ۷۰ دقیقه حرکت اکستنشن زانو با یک‌پا، بررسی کردند و تفاوتی مشاهده نکردند (۱۷). از سویی دیگر، هی و همکاران (۲۰۱۲)⁵ نشان دادند که ۳۰ دقیقه پس از شروع یک جلسه دویدن طولانی مدت ۱۱۰ دقیقه‌ای روی تردمیل با شدت ۷۵٪ حداکثر ظرفیت دویدن موش‌ها، القاء اتوفاژی شروع شده و تا دقیقه ۸۰، افزایش یافته و پس‌از آن به فلات می‌رسد (۱۸).

با وجود این مطالعات، فعالیت‌های ورزشی شدید و امانده ساز به عنوان فعالیت‌هایی که در تضعیف عملکرد سیستم ایمنی و افزایش شاخص‌های التهابی و استرسی اثر داشته‌اند همواره مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۹،۲۰). به

1- autophagy-related (ATG) genes

2- Jamart et al (2012)

3- LC3-phosphatidylethanolamine conjugate

4- Fritzen et al (2016)

5- He et al (2012)

نظر می‌رسد تغییرات ایجاد شده در عوامل سلولی در ساعات ابتدایی بعد از فعالیت‌های ورزشی وامانده‌ساز یکی از عوامل ایجاد کننده پنجره باز سیستم ایمنی و ایجاد عفونت به ویژه در ورزشکاران می‌باشد (۲۱،۲۲). اتوفاژی به عنوان یکی از مکانیسم‌های تعدیل کننده سیستم ایمنی مورد توجه است (۱،۲۳). همچنین پیشنهاد شده است، عدم وقوع اتوفاژی در عضله منجر به افت تولید نیرو، افزایش استرس اکسیداتیو، تغییرات پاتولوژیک در ساختار و عملکرد میتوکندری، کاهش ظرفیت بازسازی عضله تخریب شده ناشی از ورزش برون‌گرا و عدم ایجاد سازگاری با تمرینات ورزشی می‌شود (۲۴،۲۵،۲۶). با وجود این، تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفاژی به دنبال فعالیت‌های ورزشی وامانده‌ساز به صورت کامل مشخص نیست.

به نظر می‌رسد بررسی تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفاژی در دوره‌های زمانی مختلف به دنبال فعالیت‌های ورزشی وامانده‌ساز می‌تواند به بخشی از تناقضات مطرح در این زمینه پاسخ دهد. بنابراین هدف از پژوهش بررسی تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفاژی در دوره‌های زمانی بعد از یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی وامانده‌ساز در عضله درشت نئئ قدامی مدل موش بود.

روش شناسی

تعداد ۱۲ سر موش بالبسی ماده (۶ الی ۸ هفته‌ای با میانگین وزن ۱۸ گرم) از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه کنترل و ورزش تقسیم شدند. موش‌ها دو هفته در حیوان خانه نگهداری شدند تا با محیط آشنا شوند و آمادگی انجام فعالیت ورزشی روی نوارگردان را داشته باشند. گروه کنترل هیچ گونه فعالیت ورزشی نداشتند، و تنها برای هم‌سان سازی استرس روی نوارگردان قرار گرفتند.

پروتکل ورزشی به کار رفته در این مطالعه بدین شرح بود؛ ابتدا مرحله گرم کردن به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۵ متر در دقیقه انجام شد. سپس طی مدت ۶۰ دقیقه، سرعت هر ۱۰ دقیقه یک‌بار افزایش یافت تا اینکه به سرعت ۲۴ متر در دقیقه برسد. در این زمان، مرحله اینتروال شروع شد به طوری که: ۵ تکرار ۱ دقیقه‌ای با سرعت ۳۰ متر در دقیقه که بین هر تکرار، ۴ دقیقه با سرعت ۱۷ متر در دقیقه بود موش‌ها دویدند. سپس موش‌ها، ۱۰ تکرار ۲ دقیقه‌ای با سرعت ۳۰ متر در دقیقه که بین هر تکرار ۲ دقیقه با سرعت ۱۷ متر در دقیقه قرار داشت دویدند. در مرحله آخر اینتروال نیز موش‌ها طی ۳ تکرار ۱ دقیقه‌ای با سرعت ۴۰ متر در دقیقه که بین هر کدام ۴ دقیقه با سرعت ۱۷ متر در دقیقه قرار داشت، دویدند. در این زمان، موش‌ها با سرعت ۱۷ متر در دقیقه تا زمانی که به واماندگی برسند دویدند. شیب در نظر گرفته شده برای این پروتکل در تردمیل، ۱۵- درجه بود. این پروتکل براساس مطالعات قبلی و با هدف رساندن حیوانات به حداکثر تلاش آن‌ها اجرا شد (۲۷،۲۸).

برای اندازه گیری شاخص های پژوهش در شرایط استریل، عضله درشت نئئ قدامی مورد بافت برداری قرار گرفت و تا زمان اندازه گیری بیان mRNA ژن های P62 و Beclin-1 در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. جهت استخراج RNA، ابتدا ۵۰ میلی گرم از بافت عضله درشت نئئ در ۰/۷ میلی لیتر محلول رابوایکس با میکروپستل، هموژنایز و پیپتاز گردید. محلول هموژن شده به مدت ۵-۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. ۲۰۰ میکرولیتر محلول کلروفرم به نمونه اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت ورتکس شده و به مدت ۵-۱۰ دقیقه روی یخ نگه داشته شد. محلول با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ و مایع شفاف رویی به میکروتیوب جدید ریخته شد. ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول که در یخچال قرار داشت به نمونه اضافه

و به آرامی ۱۰ بار وارونه شد. نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. محلول با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ و مایع رویی دور ریخته شد. ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۵٪ به رسوب RNA اضافه و رسوب از ته تیوب جدا شد. محلول با دور ۸۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ و مایع رویی دور ریخته شد تا زمانی که اتانول کاملاً تبخیر شود، نمونه خشک شد. رسوب RNA با ۵۰ میکرولیتر آب دپک (آب بدون هیچ‌گونه آنزیم تخریب‌کننده RNA) حل شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد داخل حمام آب انکوبه شد. برای تعیین کمی (غلظت و خلوص RNA) نمونه موردنظر، با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانش صورت گرفت. همچنین برای بررسی کیفیت، مشاهده باند اختصاصی RNA و تأیید آن، از دستگاه الکتروفورزیس استفاده شد.

سنتر cDNA با استفاده از کیت Viva 2 steps RT-PCR انجام شد. بر اساس غلظت RNA برای هر نمونه، حجمی حاوی ۱۰ میکروگرم RNA، ۰/۵ میکرولیتر رندوم هگزامر و ۰/۵ میکرولیتر الیگو دی تی باهم ترکیب شده و تا میزانی که کل نمونه به حجم ۱۰ میکرولیتر برسد، دی اتیل پیل کرنات (آب دپک) اضافه شد. ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. نمونه ۲-۳ دقیقه روی یخ قرار گرفته سپس ۲ میکرو لیتر بافر، ۰/۵ میکرو لیتر dNTP، ۰/۵ میکرو لیتر آنزیم رورس ترانس کریپتاز و ۷ میکرولیتر آب دپک اضافه شد. نمونه به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد داخل حمام آب، انکوبه شد.

برای تأیید سنتر cDNA همه نمونه‌ها، برای ژن کنترل مثبت (کنترل داخلی)، GAPDH، PCR انجام شد. جهت اجرای Real Time-PCR، از مستر میکس Eva Green 5x Plus Rox-Hot FirePol استفاده شد. مشخصات پرایمرها در جدول ۱ نشان داده شده است. برای رقیق‌سازی پرایمرها به غلظت ۵ پیکومولار، ۵ میکرولیتر از پرایمر با ۹۵ میکرولیتر آب تزریقی ترکیب شد. به ازای هر واکنش با حجم ۲۰ میکرو لیتر در استریپ ۱/۰ میلی‌لیتر؛ مقدار ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر آغاز و ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر پایان، ۴ میکرولیتر مستر میکس، ۱۴ میکرولیتر آب دپک و ۱ میکرولیتر cDNA اضافه شد. برای هر ژن از یک نمونه جهت اطمینان داخل دو استریپ ۱ میکرو لیتر cDNA اضافه شد درحالی‌که در استریپ کنترل منفی cDNA اضافه نشد.

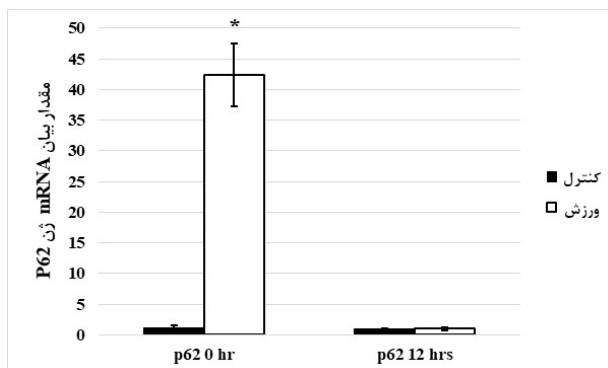
کلیه نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. از آزمون آماری t مستقل برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد. همه آنالیزها در نرم افزار SPSS V22 انجام گرفت و سطح معناداری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

جدول (۱) مشخصات پرایمرهای طراحی شده برای ژن‌های مورد نظر

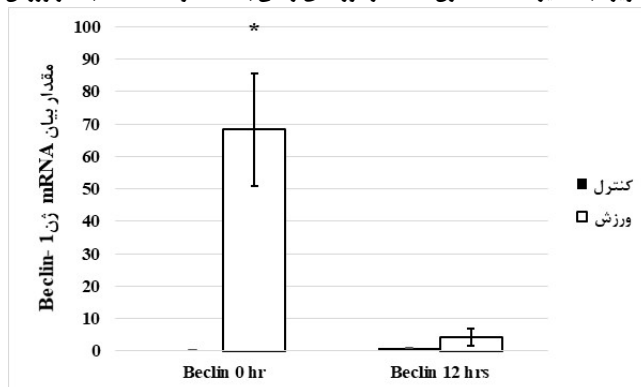
ژن	توالی پرایمر	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)	طول الگو (جفت باز)
GAPDH	F GGAGAGTGTTCCTCGTC	57	199
	R GTGCCGTTGAATTTGCCGTG	59	
Beclin-1	F GGAGTTGCCGTTATACTGTTCTGG	58	165
	R TTGCCTTCTCCACGTCCATCC	60	
P62	F CGGAAGCTGAAACATGGACACTTG	60	222
	R CACATAATGTCAACCTCAATGCCT	59	

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده الگوی مشابه تغییرات در دو فاکتور Beclin-1 و P62 در دوره‌های زمانی بلافاصله و ۱۲ ساعت بعد از فعالیت ورزشی و امانده ساز بوده است (تصاویر ۱ و ۲). نتایج آزمون آماری t مستقل نشان دهنده افزایش میزان mRNA فاکتور P62 در زمان بلافاصله بعد از ورزش می‌باشد (تصویر ۱). تفاوت معناداری بین گروه کنترل و ورزش در این زمان در مورد فاکتور P62 مشاهده می‌شود ($P=0/001$). اما در مورد زمان ۱۲ ساعت بعد از فعالیت ورزشی و امانده‌ساز تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش در مورد این فاکتور مشاهده نشد ($P=0/99$). این نتایج نشان دهنده افزایش در زمان بلافاصله بعد از ورزش و کاهش در زمان ۱۲ ساعت در مورد ژن P62 می‌باشد (تصویر ۱).

از سویی دیگر، نتایج پژوهش در مورد ژن Beclin-1 نشان دهنده افزایش در زمان بلافاصله بعد از ورزش می‌باشد (تصویر ۲). در این زمان تفاوت معناداری بین گروه‌های کنترل و ورزش مشاهده می‌شود ($P=0/05$). اما در مورد زمان ۱۲ ساعت تغییرات مربوط به ژن Beclin-1 معنادار نمی‌باشد ($P=0/28$). این نتایج نشان دهنده افزایش در زمان بلافاصله بعد از ورزش و کاهش در زمان ۱۲ ساعت در مورد ژن Beclin-1 همانند ژن P62 می‌باشد (تصویر ۲).



تصویر ۱) مقادیر mRNA ژن P62 در دوره‌های زمانی بلافاصله و ۱۲ ساعت بعد از ورزش



تصویر ۲) مقادیر mRNA ژن Beclin-1 در دوره‌های زمانی بلافاصله و ۱۲ ساعت بعد از ورزش

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های Beclin-1 و P62 بلافاصله بعد از یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی و امانده‌ساز بوده است. در مورد زمان ۱۲ ساعت بعد از ورزش روند کاهشی در بیان این ژن‌ها مشاهده می‌شود. این نتایج نشان دهنده افزایش بیان عوامل اتوفآژی بلافاصله بعد از فعالیت ورزشی و امانده‌ساز استقامتی و کاهش یا مهار این فاکتورها در زمان ۱۲ ساعت بعد از این مدل فعالیت می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های جامارت و همکاران (۲۰۱۲) که افزایش بیان mRNA عوامل اتوفآژی را پس از ۲۸ ساعت دویدن فوق استقامت مشاهده کردند، همسو بود (۱۵،۱۶). اسکوالم و همکاران (۲۰۱۵)^۱ نیز که به بررسی پاسخ‌های اتوفآژی به یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی پرداخته بودند، مشاهده کردند که تمرین شدید همراه با گرسنگی شدید منجر به بیشترین میزان اتوفآژی می‌شود (۲۹). همچنین، القاء عوامل اتوفآژی در پاسخ به یک جلسه دویدن طولانی‌مدت در مطالعه هی و همکاران نیز تایید شده است (۱۸).

از سویی دیگر، در مطالعه‌ای که به بررسی پاسخ‌های اتوفآژی به یک جلسه دوچرخه سواری همراه با محدودیت جریان خون پرداخته بود، هیچ تفاوتی در فعال‌سازی اتوفآژی مشاهده نشد (۱۶). همچنین، در تحقیق دیگری که آزمودنی‌ها یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی کم شدت انجام داده بودند، کاهش بیان LC3 گزارش شد. نشان داده شده است عوامل اتوفآژی طی ۷۰ دقیقه فعالیت ورزشی تغییر معناداری ندارند (۱۷). در مطالعات انسانی، اثرات کاهنده فعالیت ورزشی قدرتی بر عوامل اتوفآژی مشاهدات شده است (۳۰) که این مطالعات با نتایج مطالعه حاضر به ویژه در مورد زمان بلافاصله بعد از ورزش ناهمسو بود.

نتایج ضد و نقیض مشاهده شده در فعال‌سازی عوامل اتوفآژی در مطالعات مختلف با مدل‌های مختلف فعالیت‌های ورزشی، شدت‌ها و مدت زمان‌های مختلف ورزش متفاوت بوده است. به نظر می‌رسد شدت فعالیت‌های ورزشی استقامتی یکی از عوامل اثرگذار در تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفآژی می‌باشد. هی و همکاران (۲۰۱۲) پیشنهاد دادند القاء اتوفآژی به دنبال فعالیت ورزشی با شدت زیاد صورت می‌گیرد (۱۸). از سویی دیگر، زمان‌های نمونه‌گیری انجام شده نیز می‌تواند در ایجاد تناقضات بین مطالعات مختلف موثر باشد. براساس نتایج مطالعه حاضر بلافاصله بعد از ورزش افزایش مشخصی در بیان عوامل اتوفآژی ایجاد می‌شود و از سوی دیگر، ۱۲ ساعت پس از یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی و امانده‌ساز کاهش بیان عوامل اتوفآژی مشاهده می‌شود. به نظر می‌رسد افزایش میزان رادیکال‌های آزاد ناشی از تولید انرژی از طریق زنجیره انتقال الکترون و هیپوکسی حین فعالیت ورزشی برون‌گرایی استقامتی و امانده‌ساز (۳۱،۳۲،۳۳) و همچنین به دلیل افزایش فعالیت نوتروفیل‌های فراخوانده شده در ریز محیط عضله جهت پروتئین‌های ساختاری ناشی از فعالیت ورزشی (۳۲،۳۴) می‌تواند از دلایل مطرح در مورد تغییرات ایجاد شده در عوامل اتوفآژی بلافاصله بعد از این مدل فعالیت ورزشی باشد. از سویی دیگر، و با توجه به اینکه نیاز به انرژی و فعالیت نوتروفیل‌ها در مرحله ریکاوری کم می‌شود و همچنین کم بودن نیمه‌عمر مارکرهای اتوفآژی (۳۲،۳۵)؛ می‌تواند دلیلی بر کاهش بیان این عوامل در زمان ۱۲ ساعت پس از یک جلسه فعالیت ورزشی برون‌گرایی استقامتی باشد.

از سویی دیگر، ارتباط بین فعال‌سازی سیستم ایمنی و اتوفآژی در مطالعات مختلف مشاهده شده است. اتوفآژی فرایند دفاعی بدن در مقابل میکروارگانیسم‌هاست که دارای دو مرحله تخریب مواد دفعی در اتوفآگولیزوزوم و تحویل اسیدهای نوکلئیک میکروبی و آنتی‌ژنی به بخش آندولیزوزومی برای فعال شدن ایمنی ذاتی و اکتسابی می‌باشد. بنابراین کاهش یا مهار اتوفآژی می‌تواند در تضعیف پاسخ‌های سیستم ایمنی موثر باشد. ارتباط بین اتوفآژی و

پاسخ‌های سلول‌های $CD4^+$ لنفوسیت T نشان می‌دهد که القای اتوفاژی می‌تواند در درمان عفونت حاد (از طریق بهبود ایمنی ذاتی و اکتسابی) نقش داشته باشد (۳۶). پاسخ‌های سیستم ایمنی و التهاب ایجاد شده به دنبال فعالیت ورزشی و امانده‌ساز استقامتی در مطالعات مختلف مشاهده شده است (۲۱، ۲۲، ۳۴). این احتمال وجود دارد که یکی از عوامل درگیر در پاسخ‌های سیستم ایمنی به ویژه در ساعات ابتدایی ریکاوری فعال سازی اتوفاژی باشد که مطالعه حاضر نیز این موضوع را تایید کرده است. با این وجود مطالعات بیشتر در این زمینه و بررسی ارتباط بین پاسخ‌های سیستم ایمنی و فعال‌سازی اتوفاژی می‌تواند دیدگاه جدیدی در این زمینه ارائه دهد.

براساس نتایج پژوهش حاضر یک وهله فعالیت ورزشی و امانده ساز استقامتی باعث افزایش بیان عوامل اتوفاژی در فاصله زمانی بلافاصله بعد از ورزش و کاهش بیان این فاکتورها در عضله اسکلتی در زمان ۱۲ ساعت بعد از این نوع ورزش شده است. ارتباط بین فعال‌سازی اتوفاژی و تغییرات ایجاد شده در عواملی مانند استرس اکسیداتیو، فاکتورهای ایمنونولوژیکی، وضعیت متابولیکی و... می‌تواند در ایجاد این تغییرات موثر باشد. با این وجود مطالعات بیشتر در این زمینه و استفاده از فعالیت‌های ورزشی با شدت، زمان‌ها و مدل‌های مختلف می‌تواند به ابهامات موجود در این زمینه پاسخ دهد.

منابع

- 1) Deretic V. Autophagy as an immune defense mechanism. *Curr Opin Immunol*. 2006; 18(4):375-82.
- 2) Hussain SN, Sandri M. Role of autophagy in COPD skeletal muscle dysfunction. *J Appl Physiol* (1985). 2013; 114(9):1273-81.
- 3) Bartolome A, Guillen C, Benito M. Autophagy plays a protective role in endoplasmic reticulum stress-mediated pancreatic β cell death. *Autophagy*. 2012; 8(12):1757-68.
- 4) Karantzis V, White E. Role of autophagy in breast cancer. *Autophagy*. 2007; 26; 3(6):610-3.
- 5) Li X, Wu C, Chen N, Gu H, Yen A, Cao L, Wang E, Wang L. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and targeted therapy for glioblastoma. *Oncotarget*. 2016; 31; 7(22):33440.
- 6) Wu TT, Li WM, Yao YM. Interactions between autophagy and inhibitory cytokines. *International journal of biological sciences*. 2016; 12(7):884.
- 7) He C, Sumpter R Jr, Levine B. Exercise induces autophagy in peripheral tissues and in the brain. *Autophagy*. 2012; 8(10):1548-51.
- 8) Grumati P, Coletto L, Schiavinato A, Castagnaro S, Bertaggia E, Sandri M, Bonaldo P. Physical exercise stimulates autophagy in normal skeletal muscles but is detrimental for collagen VI-deficient muscles. *Autophagy*. 2011; 7(12):1415-23.
- 9) Nair U, Klionsky DJ. Activation of autophagy is required for muscle homeostasis during physical exercise. *Autophagy*. 2011; 7(12):1405-6.
- 10) Vainshtein A, Hood DA. The regulation of autophagy during exercise in skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2016; 15; 120(6):664-73.
- 11) Lira VA, Okutsu M, Zhang M, Greene NP, Laker RC, Breen DS, Hoehn KL, Yan Z. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. *FASEB J*. 2013; 27(10):4184-93.
- 12) Mihaylova MM, Shaw RJ. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nat Cell Biol*. 2011; 2; 13(9):1016-23.
- 13) Ha J, Guan KL, Kim J. AMPK and autophagy in glucose/glycogen metabolism. *Mol Aspects Med*. 2015 Dec; 46:46-62.

- 14) Jamart C, Benoit N, Raymackers JM, Kim HJ, Kim CK, Francaux M. Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise. *European journal of applied physiology*. 2012; 1; 112(8):3173-7.
- 15) Jamart C, Francaux M, Millet GY, Deldicque L, Frère D, Féasson L. Modulation of autophagy and ubiquitin-proteasome pathways during ultra-endurance running. *Journal of applied physiology*. 2012 Feb 16; 112(9):1529-37.
- 16) Stefanetti RJ, Lamon S, Wallace M, Vendelbo MH, Russell AP, Vissing K. Regulation of ubiquitin proteasome pathway molecular markers in response to endurance and resistance exercise and training. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2015 Jul 1; 467(7):1523-37.
- 17) Fritzen AM, Madsen AB, Kleinert M, Treebak JT, Lundsgaard AM, Jensen TE, Richter EA, Wojtaszewski J, Kiens B, Frøsig C. Regulation of autophagy in human skeletal muscle: effects of exercise, exercise training and insulin stimulation. *The Journal of physiology*. 2016 Feb 1; 594(3):745-61.
- 18) He C, Bassik MC, Moresi V, Sun K, Wei Y, Zou Z, An Z, Loh J, Fisher J, Sun Q, Korsmeyer S. Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. *Nature*. 2012 Jan; 481(7382):511.
- 19) Jin CH, Paik IY, Kwak YS, Jee YS, Kim JY. Exhaustive submaximal endurance and resistance exercises induce temporary immunosuppression via physical and oxidative stress. *J Exerc Rehabil*. 2015; 30; 11(4):198-203.
- 20) Nieman DC, Berk LS, Simpson-Westerberg M, Arabatzis K, Youngberg S, Tan SA, Lee JW, Eby WC. Effects of long-endurance running on immune system parameters and lymphocyte function in experienced marathoners. *Int J Sports Med*. 1989; 10(5):317-23.
- 21) Kakanis MW, Peake J, Brenu EW, Simmonds M, Gray B, Hooper SL, Marshall-Gradisnik SM. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev*. 2010; 16:119-37.
- 22) Peake JM, Neubauer O, Walsh NP, Simpson RJ. Recovery of the immune system after exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2017 May 1; 122(5):1077-1087.
- 23) Oh JE, Lee HK. Autophagy as an innate immune modulator. *Immune Netw*. 2013 Feb; 13(1):1-9.
- 24) Masiero E, Agatea L, Mammucari C, Blaauw B, Loro E, Komatsu M, Metzger D, Reggiani C, Schiaffino S, Sandri M. Autophagy is required to maintain muscle mass. *Cell metabolism*. 2009; 2; 10(6):507-15.
- 25) Mammucari C, Milan G, Romanello V, Masiero E, Rudolf R, Del Piccolo P, Burden SJ, Di Lisi R, Sandri C, Zhao J, Goldberg AL. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell metabolism*. 2007; 5; 6(6):458-71.
- 26) Raben N, Hill V, Shea L, Takikita S, Baum R, Mizushima N, Ralston E, Plotz P. Suppression of autophagy in skeletal muscle uncovers the accumulation of ubiquitinated proteins and their potential role in muscle damage in Pompe disease. *Human molecular genetics*. 2008; 9; 17(24):3897-908.
- 27) Parise G, McKinnell IW, Rudnicki MA. Muscle satellite cell and atypical myogenic progenitor response following exercise. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*. 2008; 37(5):611-9.
- 28) Crameri RM, Langberg H, Magnusson P, Jensen CH, Schröder HD, Olesen JL, Suetta C, Teisner B, Kjaer M. Changes in satellite cells in human skeletal muscle after a single bout of high intensity exercise. *The Journal of physiology*. 2004; 558(1):333-40.
- 29) Schwalm C, Jamart C, Benoit N, Naslain D, Prémont C, Prévét J, Van Thienen R, Deldicque L, Francaux M. Activation of autophagy in human skeletal muscle is

- dependent on exercise intensity and AMPK activation. *The FASEB Journal*. 2015; 8; 29(8):3515-26.
- 30) Fry CS, Drummond MJ, Glynn EL, Dickinson JM, Gundermann DM, Timmerman KL, Walker DK, Volpi E, Rasmussen BB. Skeletal muscle autophagy and protein breakdown following resistance exercise are similar in younger and older adults. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2012 Oct 22; 68(5):599-607.
- 31) Balcı SS, Pepe H. Effects of gender, endurance training and acute exhaustive exercise on oxidative stress in the heart and skeletal muscle of the rat. *Chin J Physiol*. 2012; 31; 55(4):236-44.
- 32) Mukhopadhyay P, Eid N, Abdelmegeed MA, Sen A. Interplay of Oxidative Stress, Inflammation, and Autophagy: Their Role in Tissue Injury of the Heart, Liver, and Kidney. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 22; 2018:2090813.
- 33) Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*. 2015; 10; 5(2):356-77
- 34) Syu GD, Chen HI, Jen CJ. Differential effects of acute and chronic exercise on human neutrophil functions. *Med Sci Sports Exerc*. 2012; 44(6):1021-7.
- 35) Zhang T, Shen S, Qu J, Ghaemmaghami S. Global Analysis of Cellular Protein Flux Quantifies the Selectivity of Basal Autophagy. *Cell Rep*. 2016 Mar 15; 14(10):2426-39.
- 36) Rubinsztein DC, Codogno P, Levine B. Autophagy modulation as a potential therapeutic target for diverse diseases. *Nature reviews Drug discovery*. 2012; 11(9):709.

Assessment of Changes in Autophagy Factors in Time Courses of Acute Exhaustive Endurance Exercise in Tibialis Anterior Skeletal Muscle of BALB/c Mice

Afsaneh Jamali¹, Mahdieh Molanouri Shamsi^{1*}, Hoorieh Soleimanjahi², Mohammad Taher Afshoonpour¹

¹ Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

² Department of Medical Virology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Corresponding author, Email: molanouri@modares.ac.ir

Abstract

Background&Purpose: Autophagy has been introduced as a protective mechanisms in cell in recent years. Regarding to the changes induced in autophagy factors following an acute physical exercise. The purpose of this study was to investigate the changes in autophagy factors in time courses of acute exhaustive endurance exercise in Tibialis Anterior skeletal muscle of BALB/c mice.

Methodology: Regarding the purpose of the study, 12 BALB/c mice were divided into two groups of exercise and control. Subjects were anatomized immediately and 12 hours after the end of the exercise session. The Real Time-PCR method was used to determine the expression of autophagy factors.

Results: Independent t-test showed significant increases in autophagy activation immediately after exercise and significant decreases 12 hours following acute exhaustive endurance exercise ($P \leq 0.05$).

Conclusion: Our results proposed that significant increases induced in autophagy factors immediately after acute exhaustive exercise. Possible correlations between autophagy activation and changes in oxidative stress, some immunological factors and metabolic responses could be some of mechanisms of autophagy activation following acute exercise.

Key words: Exhaustive Endurance Exercise, Autophagy, Skeletal Muscle.