Iranian Journal of Diabetes and Metabolism *Original Article*

Official Journal of the Endocrinology and Metabolism Research Institute, Tehran University of Medical Sciences. 2025; Vol. 25; No. 5

The Effect of Aerobic Exercise on Ferritin Levels and Antioxidant System in Sarcopenia Model Mice

Afshin Khaman hatami[1], Kamal Azizbeigi[1]*, Zaher Etemad[1], Parvin Farzanagi[2]

1. *Department of Physical Education, Sa.C., Islamic Azad University, Sanandaj, Iran*
2. *Department of Physical Education, S.C., Islamic Azad University, Sari, Iran*

Abstract

Background: Aging is associated with Sarcopenia as well as oxidative stress (OS) caused by Ferroptosis. The aim of the present study was to investigate the effect of aerobic exercise training (AT) on OS caused by ferroptosis in sarcopenia model mice.
Methods: Twenty-one C57BL/6 mice (16-24 wks. age) sarcopenia model with an average weight (25-35 g), and 21 healthy mice (6-7 weeks age) were randomly assigned to the following (1) healthy-young control (HYC; n= 7), (2) aerobic training-young (ATY; n= 7), (3) healthy-old control (HOC; n= 7), (4) old control-sarcopenia model (OCS; n= 7), (5) aerobic training-healthy-old (ATHO; n= 7), (6) healthy-old sarcopenia model (HOS= 7). The intervention group underwent AT for eight weeks, five sessions per week at an intensity of 60-80% of aerobic capacity (VO2max). The expression of the glutathione peroxidase (GPX-4) and superoxide dismutase (SOD) genes was measured using Real Time PCR. The Malondialdehyde (MDA) and Fe^{2+}concentration in the gastrocnemius muscle was also measured.
Results: It was observed that the enzymes gene expression of SOD and GPX-4 in the (OSC) was significantly decreased compared to the (HOC) (P= 0.001, P= 0.002, respectively), and the MDA and Fe^{2+} was significantly increased (P= 0.001; P= 0.002, respectively). Also, the of SOD and GPX-4 gene expression of enzymes in the ATY, ATHO was significantly increased compared to the HYC, and HOS (P= 0.001; P= 0.002, respectively), and the concentration of MDA and Fe^{2+} was significantly decreased (P= 0.001; P= 0.002, respectively).
Conclusion: Finally, it can be said that aerobic training reduces oxidative stress caused by ferroptosis in Sarcopenia by increasing the enzymes GPX and SOD gene expression and reducing the concentration of MDA and Fe^{2+}.

Keywords: Aerobic Training, Ferroptosis, Oxidative Stress, Sarcopenia

Please cite this article as:
Hatami A, Azizbeigi K, Etemad Z, Farzanagi P. Aerobic training reduces oxidative stress in sarcopenia model mice by reducing ferritin levels and increasing gene expression of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes. *ijdld*. 2025; 25(5):443-452.
DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341

***Corresponding Author:** Kamal Azizbeigi; **Email:** kazizbeigi@iau.ac.ir
Sanandaj Branch, Central Site of Islamic Azad University, Adab Intersection, Kurdistan, Sanandaj. Tel: +989183809548

مجله دیابت و متابولیسم ایران

مقاله پژوهشی

نشریه پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران

دورهٔ ۲۵، شمارهٔ ۵، سال ۱۴۰۴، صفحات ۴۴۳ تا ۴۵۲

تاثیر تمرینات هوازی بر سطح فریتین و سیستم آنتی اکسیدانی در موش های مدل سارکوپنی

افشین خمان حاتمی[1]، کمال عزیزبیگی*[1]، ظاهر اعتماد[1]، پروین فرزانگی[2]

۱- گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲- گروه تربیت بدنی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

چکیده

مقدمه: سالمندی با سارکوپنی و همچنین استرس اکسیداتیو ناشی از فروپتوزیس همراه است. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرینات هوازی بر استرس اکسیداتیو ناشی از فروپتوزیس در موش‌های مدل سارکوپنی بود.

روش‌ها: تعداد ۲۱ سر موش آزمایشگاهی نژاد C57BL/6 (۲٤-۱٦هفته) مدل سارکوپنی با میانگین وزنی (۳۵-۲۵ گرم) و همچنین ۲۱ سر موش سالم (۷-٦ هفته) به‌طور تصادفی در گروه‌های (۱) کنترل سالم- جوان (۷ =n) (۲) تمرین هوازی- جوان (۷ =n) (۳) کنترل پیر- سالم (۷ =n)، (٤) کنترل پیر- مدل سارکوپنی (۷ =n) (۵) تمرینات هوازی- پیر سالم (۷ =n) (٦) تمرینات هوازی- پیر مدل سارکوپنی (۷ =n) قرار داده شدند. گروه مداخله تمرینات هوازی را به مدت هشت هفته و هفته‌ای پنج جلسه با شدت ۸۰-۶۰ درصد توان هوازی انجام دادند. بیان ژن آنزیم گلوتایتون پراکسیداز (GPX-4) و سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و با استفاده از روش Real Time PCR سنجش شد. همچنین غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) و Fe^{2+} در عضلهٔ دوقلو اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: مشاهده شد بیان ژن آنزیم‌های SOD و GPX-4 در گروه پیر مدل سارکوپنی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه پیر کنترل سالم کاهش (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P، ۰/۰۰۲ =P) و غلظت MDA و Fe^{2+} به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P؛ ۰/۰۰۲ =P). همچنین بیان ژن آنزیم‌های SOD و GPX-4 در گروه‌های تمرینات هوازی در مقایسه با گروه‌های کنترل افزایش معنی‌دار (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P؛ ۰/۰۰۲ =P) و غلظت MDA و $Fe\ [2^{+}]$ کاهش معنی‌دار داشت (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P؛ ۰/۰۰۲ =P).

نتیجه‌گیری: در نهایت می‌توان گفت تمرینات هوازی از طریق افزایش بیان ژن آنزیم‌های GPX-4 و SOD و کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید و Fe^{2+} فشار اکسیداتیو ناشی از فروپتوزیس را در وضعیت سارکوپنی کاهش دهد.

واژگان کلیدی: تمرینات هوازی، فروپتوزیس، استرس اکسایشی، سارکوپنی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۱ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۲/۱۰

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Hatami A, Azizbeigi K, Etemad Z, Farzanagi P. Aerobic training reduces oxidative stress in sarcopenia model mice by reducing ferritin levels and increasing gene expression of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes. *ijdld*. 2025; 25(5):443-452.

* **نویسندهٔ مسئول:** کمال عزیزبیگی، **آدرس:** کردستان، سنندج، بلوار پاسداران، سایت مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، تلفن: ۰۹۱۸۳۸۰۹۵٤۸، پست الکترونیک: kazizbeigi@iau.ac.ir

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]

مقدمه

افزایش سن و سالمندی با تحلیل و ناتوانی سیستم‌های فیزیولوژیکی مانند سیستم عصبی- عضلانی همراه است. با شروع دورهٔ میان‌سالی و سالمندی تغییرات ترکیب بدن روند پیشرونده‌ای به خود گرفته و تودهٔ عضلانی به‌تدریج کاهش خواهد یافت [۱]. کاهش تودهٔ عضلانی ناشی از افزایش سن را سارکوپنی[1] می‌گویند. در هر حال سارکوپنی با کاهش حجم و متعاقباً قدرت عضلات اسکلتی همراه بوده [۲] و با ضعف پیشرونده و تحلیل عضلات و ناتوانی جسمی به شکل کلی همراه است [۳]. گزارش شده است سارکوپنی با اختلال عملکرد میتوکندری، التهاب و بسیاری از پدیده‌های دیگر مانند استرس اکسیداتیو[2] در ارتباط است [٤]. شواهد نشان می‌دهد طی پدیدهٔ سارکوپنی، استرس اکسیداتیو از طریق انباشتگی و تجمع آهن با کاتالیز رادیکال‌های هیدروکسیل عملکرد سلول را مختل کرده و نهایتاً با اختلالات متعدد و آسیب رساندن به DNA، لیپیدها و پروتئین‌ها، سلول را از طریق پدیده فروپتوزیس دچار آسیب می‌کند [٥]. فروپتوزیس[3] نوعی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی وابسته به آهن است که با تجمع پراکسیدهای لیپیدی مشخص می‌شود. فروپتوز از نظر بیوشیمیایی، ژنتیکی و مورفولوژیکی از سایر اشکال مرگ سلولی تنظیم شده مانند آپوپتوز و نکروز متمایز است [٦]. اکسیتوز/فروپتوزیس با کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی وابسته به گلوتاتیون شروع شده و نهایتاً منجر به پراکسیداسیون لیپیدی و مرگ سلولی می‌شود [۳]. طی فروپتوزیس، فعال شدن کانال‌های آنیونی وابسته به ولتاژ میتوکندری و پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن، تنظیم مثبت استرس شبکه آندوپلاسمی، و مهار یک ضد پورت سیستین/گلوتامات روی خواهد داد که در نهایت منجر به فشار اکسیداتیو و تجمع محصولات پراکسیداسیون لیپیدی مانند مالون دی آلدئید[4](MDA) می‌شود [٦]. این مساله نهایتاً منجر به بروز برخی از بیماری‌ها مانند سرطان‌ها، آسیب‌های ناشی از ایسکمی/ریرفیوژن در برخی از اندام‌ها خواهد شد [۷]. در هر حال عضلات اسکلتی حاوی ١٥ -١٠درصد از کل محتوای آهن بدن بوده و طی دورهٔ سالمندی با شروع پدیدهٔ سارکوپنی به‌دلیل افزایش غلظت وفور آهن در بافت عضلانی استرس اکسیداتیو ناشی از تجمع آهن افزایش خواهد یافت؛ به‌طوری که تجمع و افزایش غلظت آهن ناشی از سارکوپنی و کاهش تودهٔ عضلانی منجر به آتروفی عضلانی شده و موجب اختلال عملکرد عضلانی ناشی از فروپتوزیس باشد [۲]. در هر حال عوامل آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مانند گلوتاتیون پراکسیداز[5] (GPX) و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌توانند فروپتوزیس را از طریق مهار واکنش‌های پراکسیداسیون لیپیدی مهار کنند [۸]. پراکسیدازهایی مانند گلوتاتیون پراکسیدازو پراکسیردوکسین به‌سرعت رادیکال پراکسید هیدروژن را از محیط سلول حذف کرده و تصور می‌شود که علاوه بر کیلاسیون آهن، آنزیم‌ها و ترکیباتی که الکترون‌های رادیکال آزاد را در مراحل اولیه از پاکسازی می‌کنند، می‌توانند فروپتوزیس را مهار کنند [۹]. در هر حال با شروع فشار اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی رخ داده و مالون دی‌آلدئید به تولیدی به‌عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدی غشار سلول‌ها نقش اصلی در القای فروپتوزیس دارد [۲]. در هر حال مطالعات اثرات مثبت تمرینات هوازی بر سلامت عمومی سالمندان را تأیید کرده‌اند [١٠]. گزارش شده است که تمرینات هوازی باعث کاش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش بیان آنزیمی‌های آنتی‌اکسیدای مهار کننده با فروپتوزیس مانند گلوتاتیون پراکسیداز-٤ می‌شود [١١]. علاوه بر ایـن گزارش شده است تمرینات ورزشی قادر بـه کاهش اضافه بار آهن و مالون دی‌آلدئید و افزایش گلوتاتیون احیا و گلوتاتیون پراکسیداز-٤ بوده و از این طریق اثرات ضد فروپتوزیس داشته باشد [١٢]. با وجود این با توجه به اینکه سالمندی بخشی از زندگی است که همهٔ افراد این مرحله را تجربه خواهند کرد و یکی از عوارض مهم سالمندی فروپتوزیس ناشی از سارکوپنی است، بنابراین شناخت و کنترل فروپتوزیس به‌عنوان یک رویکرد درمانی موفق برای کنترل بیماری‌های ناشی از فروپتوزیس ناشی از سارکوپنی همچون بیماری‌های قلبی- عروقی و التهاب و سرطان مؤثر خواهد بود. علی‌رغم بسیاری از راهکارهای مختلف مبتنی بر جلوگیری پدیدهٔ فروپتوزیس ناشی از سالمندی، در حال حاضر رویکرد غیر دارویی مانند استفاده از تمرینات ورزشی هوازی مورد بررسی دقیق قرار نگرفته است. لذا این سؤال مطرح می‌شود که آیا تمرینات هوازی بر فروپتوزیس ناشی از استرس اکسیداتیو در موش‌های مدل سارکوپنی تأثیر مثبتی خواهد داشت یا خیر؟

[1] Sarcopenia
[2] Oxidative stress
[3] Feroptosis
[4] Malone dialdehyde
[5] Glutathione peroxidase

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]

روش‌ها

تعداد ۲۱ سر موش نر آزمایشگاهی نژاد C57BL/6 (۹۰-۲۵هفته؛ میانگین وزن ۱/۵±۴۲ گرم) با مدل سارکوپنی و ۲۱ سر موش سالم (۷-۶ هفته؛ میانگین وزن ۱/۷±۲۱ گرم) به طور تصادفی در گروه ۱) کنترل سالم- جوان (n= ۷) ۲) تمرینات هوازی- جوان (n= ۷) ۳) کنترل پیر- سالم (n= ۷)، ٤) کنترل پیر- مدل سارکوپنی (n= ۷) ٥) تمرینات هوازی- پیر سالم (n= ۷) ٦) تمرینات هوازی- پیر مدل سارکوپنی (n= ۷) قرار داده شدند. لازم به ذکر است تعداد حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار جی پاور (GPower 3.1.9.7) و و با توجه به ادبیات تحقیق تعداد ٤۲ سر در نظر گرفته شده است. موش‌ها در قفس از جنس پُلی‌کربنات (۳۰ × ۱٥ × ۱٥سانتی‌متر) در شرایط کنترل شده (دما ۲ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ٥ ± ٥۰ درصد و سیکل شبانه روزی ۱۲:۱۲) و در اختیار گذاشتن آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی نگه‌داری می‌شدند. در پژوهش حاضر تمامی پروتکل‌های مرتبط با حقوق حیوانات (براساس روش و اصول قرارداد هلسینکی) رعایت گردیده و قوانین راهنمای مؤسسهٔ ملی سلامت در نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. همچنین این پژوهش با تأیید کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج با کُد IR.IAU.SDJ.REC.1402.134 به تصویب رسیده است.

پروتکل تمرینات هوازی

قبل از شروع پروتکل اصلی تمرینات هوازی، موش‌های موجود در گروه‌های تمرینات هوازی به‌منظور آشنایی با چگونگی تمرین و دویدن بر تردمیل، در یک هفته طی پنج جلسه به‌مدت پنج دقیقه با سرعت (m/min) ۱۰-۸ با شیب صفر تمرین هوازی به‌منظور آشنایی انجام دادند. در هر حال تمرینات اصلی شامل ٦۰ دقیقه دویدن بر تردمیل با سرعت (m/min) ۱٥ و به‌مدت ۲۷ دقیقه معادل (٦۰ ~ ۸۰ درصد حداکثر توان هوازی موش‌ها)، پنج روز در هفته به‌مدت هشت هفته بود. تمرینات هوازی در هر جلسه شامل گرم کردن (پنج دقیقه)، دویدن (٥۰-٤۸ دقیقه بدنهٔ اصلی تمرین) و سرد کردن (پنج دقیقه) بود. سرعت و زمان تمرین به‌طور تدریجی با(m/min) ۲ و ۳ دقیقه به‌ترتیب در هر هفته افزایش می‌یافت. نهایتاً سرعت و زمان تمرینات هوازی در هفتهٔ آخر به (m/min) ۳۰-۲۸ رسید. گروه‌های کنترل در طول اعمال تمرینات هوازی در همان اتاق و شرایط بدون مداخله باقی ماندند [۱۰]. جزئیات تمرینات هوازی در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- جزئیات تمرینات هوازی در طول هشت هفته

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
مدت (دقیقه)	۲۷	۳۰	۳۳	۳٦	۳۹	٤۲	٤٥	٥۰-٤۸
شدت (دقیقه/متر)	۱٥	۱۷	۱۹	۲۱	۲۳	۲٥	۲۷	۳۰-۲۹

سنجش متغیرهای مورد مطالعه

وزن موش‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتالی (Kent Scientific; Capacity: 4000g, Resolution: 0.5g) با دقت ۰/٥ گرم سنجش شد و به گرم محاسبه گردید. سپس شاخص سارکوپنیک موش‌ها بعد از قربانی کردن حیوانات از طریق وزن عضلهٔ دوقلو (میلی‌گرم) بر وزن موش (گرم) زیر محاسبه گردید.

اندازه‌گیری بیان ژن‌ها

پس از اتمام دورهٔ تمرینات هوازی تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به‌دنبال ۱٤ - ۱۲ ساعت ناشتایی و ٤۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینات هوازی با تزریق داخل صفاقی کتامین (٤۰ میلی‌گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلوزین (٤ میلی‌گرم بازای هر کیلوگرم وزن) بی‌هوش شدند. سپس عضلهٔ دوقلوی حیوانات جدا شده و مورد تحلیل بافت شناسی قرار گرفت.

نمونه‌ها در دمای ۸۰- سانتی‌گراد ذخیره شد تا برای بررسی‌های بعدی جهت اندازه‌گیری بیومارکرهای مورد مطالعه قرار گرفت. اندازه‌گیری مولکولی بیان ژن آنزیم‌های SOD و GPX-4 در هر گروه با تکنیک PCR Time Real استفاده شد. تمامی بافت فریزشده پس از پودر شدن (ساییده شدن) در نیتروژن مایع، در بافر پروتئاز (pH 4.7 ،PBS) هموژنیزه شد؛ سپس به‌مدت۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲هزار دور در دقیقه در دمای C4 سانتریفوژ شد. در فرآیند اندازه‌گیری mRNA، مقدار ثابتی از محلول هموژنیزه شده بافتی در داخل میکروتیوب RNase free منتقل شده و روی آن یک سی‌سی ترایزول (شرکت THERMO) اضافه شد. برای جداسازی RNA از فاز پروتئین و DNA حدود ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به داخل هر میکروتیوب اضافه و برای رسوب RNA از ایزوپروپانول استفاده

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]

شد. برای تعیین غلظت RNA استخراج شده و اطمینان از عدم آلودگی به DNA و پروتئین از دستگاه نانودراپ (شرکت THERMO FISHER) استفاده شد. غلظت RNA به‌دست آمده بین ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر بوده که برای اطمینان از خلوص آن، محصول به‌دست آمده روی آگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز شد. همچنین جهت اطمینان از عدم آلودگی RNA تام، نمونه‌ها با آنزیم DNase تیمار شدند. در روش RT- PCR، با استفاده از دستورالعمل کیت ساخت کشور آمریکا، ابتدا cDNA از mRNA استخراج شد و فرایند محصول تکمیل شد. سطوح mRNA متناسب با ژن مرجع و GAPDH، و برآورد سطوح بیان ژن با فرمول Ct2 – Δ درنظر گرفته خواهد شد. طراحی پرایمرها برای هر دو آنزیم‌ها مطابق جدول زیر صورت گرفت. سنجش غلظت بافتی MDA به این صورت بود که طی فرآیندی MDA با اســـید تیوباربیتوریک (TBA) واکنش می‌دهد و رنگ صورتی تولید می‌کند که در طول موج ۵۳۲ nm حداکثر جذب را ایجاد می‌کند. شدت جذب به‌دست آمده در این طول موج متناسب با تشکیل کمپلکس MDA-TBA است. همچنین میزان غلظت و تغییرات آهن نیز با با دامنهٔ سنج ۵۰۰–۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر با حساسیت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر توسط کیت الایزا شرکت Eastbiopharm اندازه‌گیری شدند.

جدول ۲- پرایمرهای استفاده شده برای آنالیز بیان ژن‌ها

گلوتاتیون پراکسیداز-٤	پرایمر فروارد	CCTCTGCTGCAAGAGCCTCCC
	پرایمر معکوس	CTTATCCAGGCAGACCATGTGC
سوپر اکسید دسموتاز	پرایمر فروارد	CTCACTCTCAGGAGACCATTGC
	پرایمر معکوس	CCACAAGCCAAACGACTTCCAG

تجزیه‌وتحلیل آماری

توصیف داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی میانگین و انحراف استاندارد انجام شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین برای بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین محل اختلاف بین‌گروهی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات ۰/۰۵ >P در نظر گرفته شد. کلیهٔ عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۰ انجام شد.

یافته‌ها

وزن موش‌ها، وزن عضلهٔ دوقلو در هر گروه و همچنین شاخص سارکوپنیک به‌عنوان متغیرهای توصیفی در مطالعهٔ حاضر مورد بررسی و در جدول ۱ ارایه شده است. نتایج نشان داد بیان ژن‌های SOD و GPX-4 در گروه پیر مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم کاهش (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P، ۰/۰۰۲ =P) و غلظت MDA و Fe^{2+} در گروه پیر مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم افزایش داشت (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P؛ ۰/۰۰۲ =P). همچنین بیان ژن‌های SOD و GPX-4 در گروه کنترل- جوان سالم در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم افزایش (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P؛ ۰/۰۰۲ =P) و سطوح MDA و Fe^{2+} در گروه کنترل- جوان سالم در مقایسه با گروه کنترل- پیر کاهش (به‌ترتیب ۰/۰۰۱ =P؛ ۰/۰۰۲ =P) داشت.

مشاهده شد که تغییرات بیان ژن سوپر اکسید دسموتاز [1] (SOD) و GPX-4 در گروه‌های مداخله (تمرینات هوازی در مقایسه با دیگر گروه‌ها) تفاوت معناداری دارد (به‌ترتیب ٥/٦٣٤ =F و ۰/۰۰۳ =P؛ ٧/٥١٤ =F و ۰/۰۱۵ =P). تغییرات بیان ژن SOD و GPX در گروه‌های مختلف در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است.

دیده شد که تفاوت معناداری در مورد غلظت MDA و Fe^{2+} در گروه‌های مداخله (تمرینات هوازی در مقایسه با دیگر گروه‌ها) تفاوت معنی‌داری وجود دارد (به‌ترتیب ٦/٦٦٣ =F و ۰/۰۰۱ =P؛ ٦/٦٦٣ =F و ۰/۰۰۲ =P). تغییرات غلظت بافتی MDA و Fe^{2+} در گروه‌های مختلف در شکل‌های ۳ و ٤ نشان داده شده است.

همچنین شاخص سارکوپنی در گروه پیر کنترل- مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم روند کاهشی داشته است (۰/۰۲۱ =P). با این حال شاخص سارکوپنی در گروه تمرین هوازی- پیرمدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل پیر- مدل سارکوپنی تغییر معنادار نداشت (۰/۱۰۲ =P).

[1] Superoxide dismutase

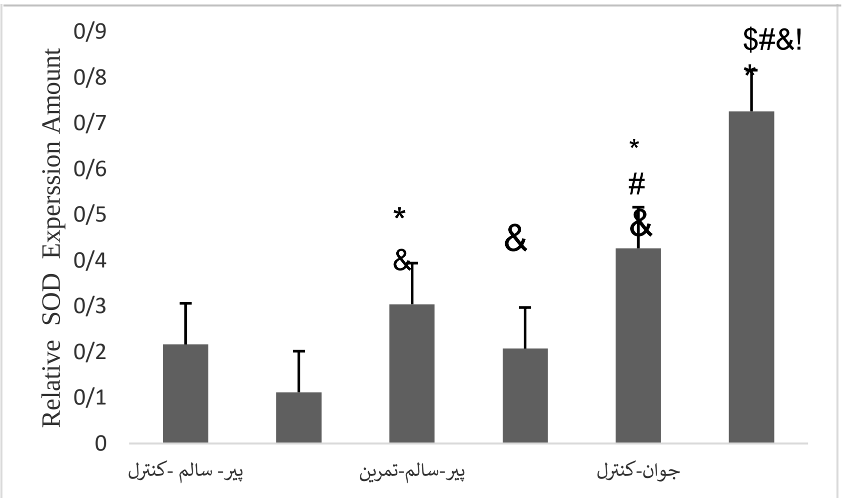
[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]

جدول ۱- وزن موش‌ها، وزن عضلهٔ دو قلو و شاخص سارکوپنیک در گروه‌های مورد مطالعه

عضله دو قلو	۶/۴۳ ± ۰/۷۹	۶/۱۶ ± ۰/۸۸	۶/۳۳ ± ۰/۷۹	۵/۹۸ ± ۰/۶۹	۶/۰۷ ± ۰/۶۴	۵/۸۸ ± ۰/۶۷
وزن موش (گرم)	۶۸۵/۷ ± ۲۹	۷۲۹/۶ ± ۳۱	۶۷۰/۵ ± ۲۵	۶۹۰/۴ ± ۳۷	۴۹۷/۵ ± ۵۵	۴۴۴/۲ ± ۴۳
شاخص سارکوپنی	۰/۹۳ ± ۰/۱۳	۰/۸۴ ± ۰/۱۱	۰/۹۴ ± ۰/۱۹	۰/۸۶ ± ۰/۲۱	۱/۲۲ ± ۰/۲۴	۱/۳۲ ± ۰/۲۶

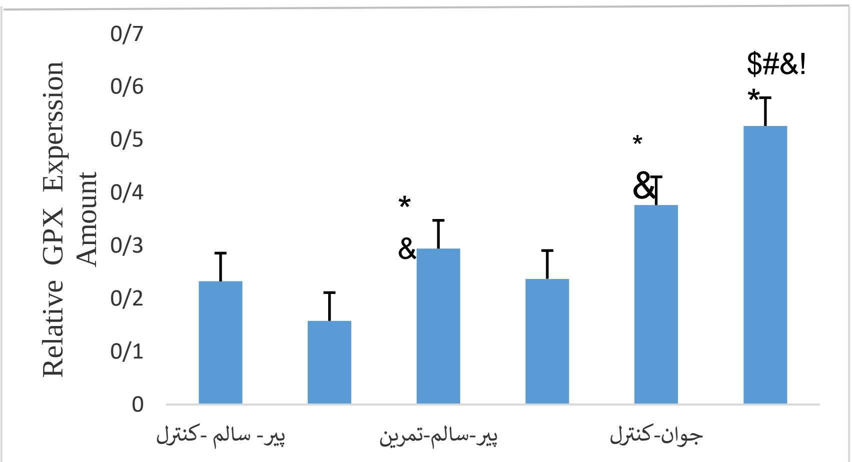
جدول ۲- نتایج توصیفی متغیرهای پژوهش به‌صورت میانگین و انحراف معیار

گروه/متغیر	پیر-کنترل سالم	پیر- مدل سارکوپنی	پیر- سالم تمرین هوازی	پیر- مدل سارکوپنی تمرین	جوان- کنترل	جوان- تمرین
SOD (بیان نسبی)	۰/۲۱۶۴۸۶ ± ۰/۰۱۹	۰/۱۱۱۹۰۹ ± ۰/۰۰۱	۰/۳۰۴۲۷۱ ± ۰/۰۰۱	۰/۲۰۷۳۰۴ ± ۰/۰۰۶	۰/۴۲۶۴۷ ± ۰/۰۰۲	۰/۷۲۵۸۶۹ ± ۰/۰۰۳
GPX (بیان نسبی)	۰/۲۳۲۴۸۶ ± ۰/۰۲۳	۰/۱۵۷۹۱۱ ± ۰/۰۱۱	۰/۲۹۴۲۷۲ ± ۰/۰۴	۰/۲۳۷۳۰۳ ± ۰/۰۴۵	۰/۳۷۶۴۶۸ ± ۰/۰۳۱	۰/۵۲۵۸۶۵ ± ۰/۰۲۴
MDA (μmol/g protein)	۰/۵۶۵۲۷۴ ± ۰/۰۰۴	۰/۶۹۲۴۱۳ ± ۰/۰۳۲	۰/۲۹۸۳۴۲ ± ۰/۰۲۱	۰/۴۵۹۲۵۶ ± ۰/۰۴۵	۰/۲۶۵۶۳۳ ± ۰/۰۱۱	۰/۱۳۳۸۴۶ ± ۰/۰۰۷
Fe^{2+} (μmol/g protein)	۰/۶۷۸۳۴۷ ± ۰/۰۰۵	۰/۸۹۴۵۳۲ ± ۰/۰۲۳	۰/۳۵۸۹۱۶ ± ۰/۰۴۲	۰/۵۲۳۱۴۵ ± ۰/۰۱۲	۰/۳۸۵۶۲۴ ± ۰/۰۴۳	۰/۱۸۹۳۴۱ ± ۰/۰۰۶



شکل ۱- مقایسهٔ میانگین SOD در گروه‌های مختلف

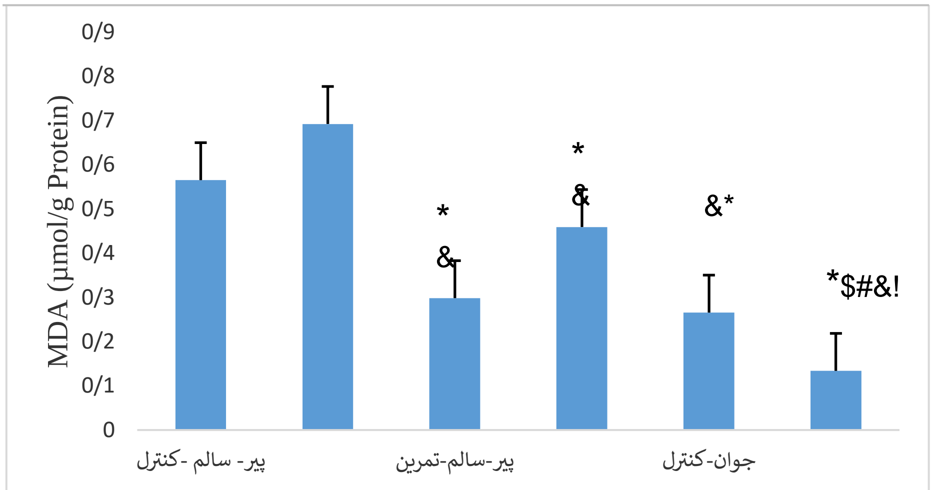
*معنی‌داری نسبت به گروه پیر- کنترل- سالم، & معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل سارکوپنی، $ معنی‌داری نسبت به گروه جوان- کنترل، # معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل سارکوپنی- تمرین، ! معنی‌داری نسبت به گروه پیر- سالم- تمرین.



شکل ۲- تغییرات سطوح GPX در گروه‌های مختلف تحقیق

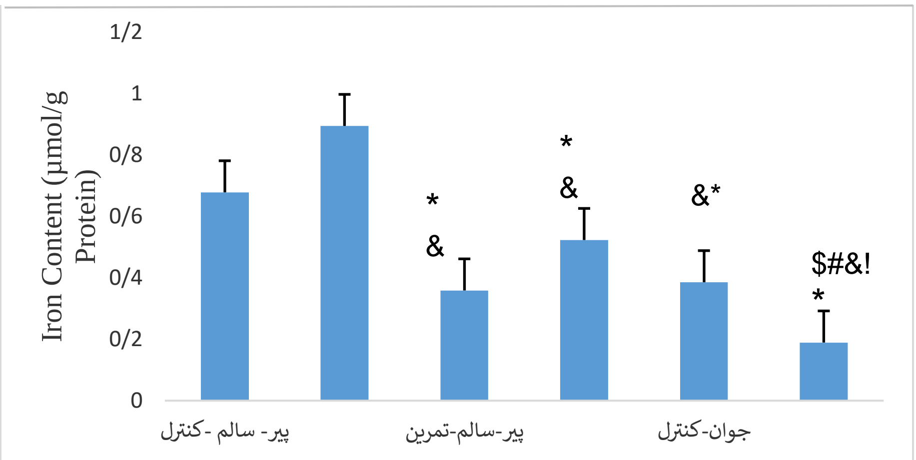
* معنی‌داری نسبت به گروه پیر- کنترل- سالم، & معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل سارکوپنی، $ نشانه معنی‌داری نسبت به گروه جوان- کنترل، # نشانه معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل- تمرین، ! نشانه معنی‌داری نسبت به گروه پیر- سالم- تمرین

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]



شکل ۳- تغییرات سطوح MDA در گروه‌های مختلف تحقیق

* معنی‌داری نسبت به گروه پیر- کنترل- سالم، & معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل سارکوپنی، $ معنی‌داری نسبت به گروه جوان-کنترل، # معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل سارکوپنی- تمرین، ! نشانهٔ معنی‌داری نسبت به گروه پیر- سالم- تمرین



شکل ۴- تغییرات سطوح Fe^{2+} در گروه‌های مختلف تحقیق

* معنی‌داری نسبت به گروه پیر- کنترل- سالم، & معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل سارکوپنی، $ معنی‌داری نسبت به گروه جوان- کنترل، # معنی‌داری نسبت به گروه پیر- مدل- تمرین، ! نشانهٔ معنی‌داری نسبت به گروه پیر- سالم- تمرین

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن آنزیم‌های SOD و GPX-4 در گروه کنترل پیر- مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه پیر- کنترل سالم کاهش و غلظت بافتی MDA و Fe^{2+} در گروه کنترل پیر- مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل پیر- کنترل سالم افزایش داشت. همچنین بیان ژن آنزیم‌های SOD و GPX-4 در گروه کنترل سالم- جوان در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم افزایش و غلظت بافتی MDA و Fe^{2+} در گروه کنترل سالم- جوان در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم کاهش داشت. به‌نظر می‌رسد تغییرات این متغیرها در گروه کنترل پیر- مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل سالم- جوان ناشی از افزایش سن و تغییرات فیزیولوژیکی ناشی از این دوره باشد چرا که گزارش شده است افزایش سن منجر به اختلال عملکرد میتوکندری، استرس اکسیداتیو، التهاب و همچنین اختلال در متابولیسم آهن شده و نهایتاً موجب فروپتوزیس خواهد شد [۱۲].

در تحقیق حاضر بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPX-4 و SOD در گروه کنترل پیر- مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل سالم- جوان کاهش معنی‌داری داشته است این مسأله نشان می‌دهد با شروع فرآیند سارکوپنی کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی روند فزاینده‌ای به خود خواهد گرفت [۲].

در تحقیق حاضر مشاهده شد که تمرینات هوازی به‌طور معنی‌داری بیان ژن آنزیم‌های GPX-4 و SOD افزایش داد با وجود این بر خلاف نتایج تحقیق حاضر Salehpour و همکاران (۲۰۲۳) در بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر بیان GPX4 در عضلهٔ نعلی موش‌های صحرایی نر سالمند گزارش دادند هشت هفته تمرین استقامتی تأثیر معنی‌داری بر GPX4 نداشت [۱۳]. در تحقیق حاضر عضلهٔ دو قلو

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]

موش‌های نژاد C57BL/6 مورد مطالعه قرار گرفت ولی در تحقیق Salehpour و همکاران عضلهٔ نعلی رت‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. به‌نظر می‌رسد اختلاف در نمونه‌های مورد مطالعه و همچنین شدت تمرینات منجر به این تناقضات باشد. عضلهٔ نعلی یک عضلهٔ کند انقباض بوده درحالی‌که عضلهٔ دو قلو عمدتاً یک عضلهٔ تند انقباض است. گزارش شده است انواع مختلف عضلات- مانند تارهای کند انقباض (نوع I) و تند انقباض (نوع II)- پاسخ های متابولیکی و استرس اکسیداتیو متفاوتی دارند [۱٤]. تحقیقات نشان می‌دهد که تارهای نوع I که بیشتر استقامت محور هستند، ممکن است فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی بالاتری داشته باشند، از جمله GPX-4، در مقایسه با تارهای نوع II، که به‌دلیل تکیه بر متابولیسم بی‌هوازی بیشتر در معرض آسیب اکسیداتیو هستند [۱٥]. بنابراین چون در عضلهٔ نعلی GPX-4 از فعالیت بیشتری برخوردار بوده است جای پیشرفت کمتری داشته است و نسبت به تمرین پاسخ و نهایتاً سازگاری کمتری در مقایسه با آنزیم GPX-4 تحقیق حاضر که از عضلهٔ دو قلو بررسی شده است، داشته است. با وجود این Chen و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که فعالیت ورزشی بر روی نوارگردان موجب افزایش GPX-4 و GSH شده و فروپتوزیس را کاهش خواهد داد [۱٦]. Liu و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهشی عنوان داشتند که تمرین هوازی با فعال کردن Nrf2/Gpx4 و سرکوب فروپتوزیس در موش، عوارض اکسایشی ناشی از رژیم غذایی پُرچرب را تعدیل می‌کند [۱۷]. تمرینات هوازی عواملی مانند Nrf2 را افزایش می‌دهد. افزایش Nrf2 می توا‌ند سطح GPX4 را افزایش دهد و از حذف مؤثر پراکسیدهای لیپیدی مضر اطمینان حاصل کند [۱۸]. از طرفی دیگر تمرینات هوازی با بهبود کارایی عملکرد میتوکندریایی به وضعیت آنتی‌اکسیدان‌های بدن همچون GPX-4 کمک خواهد کرد چرا که با بهبود عملکرد میتوکندری، تمرین هوازی استرس اکسیداتیو بر سلول‌ها را کاهش می‌دهد. این نه تنها تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] را محدود می‌کند، بلکه بار کلی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند GPX4 را نیز کاهش می‌دهد [۱۹].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد بیان ژن آنزیم سوپر اکسیددسموتاز در گروه کنترل پیر- مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم کاهش؛ در گروه کنترل سالم- جوان در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم افزایش داشت. همچنین تمرینات هوازی منجر به افزایش سوپراکسید دسموتاز در گروه تمرینات هوازی در مقایسه با گروه‌های کنترل شد. در مورد اثر بخشی تمرینات هوازی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دسموتاز همسو با نتایج تحقیق حاضر Molaie و همکاران (۲۰۲۳) گزارش دادند تمرین هوازی بیان ژن آنتی اکسیدان‌ها از جمله سوپراکسید دسموتاز را در بافت کلیه در موش‌های سالم میانسال افزایش می‌دهد [۲۰]. با وجود این مطالعه Lambertucci و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اینکه چگونه تمرینات ورزشی هوازی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف در عضلهٔ کف پای موش‌های جوان و مسن تأثیر می‌گذارد گزارش دادند که در موش‌های جوان، فعالیت آنزیم مس، روی- سوپراکسید دیسموتاز (Cu، Zn-SOD) با تمرین ورزش هوازی تغییر معنی‌داری نداشت [۲۱]. به‌نظر می‌رسد تقابل عضلهٔ دوقلو در تحقیق حاضر در مقابل عضلهٔ نعلی در تحقیق مذور موجب این تناقض شده باشد. عضلهٔ نعلی یک عضلهٔ بسیار اکسیداتیو است که عمدتاً از الیاف نوع I تشکیل شده است. این فیبرها به‌طور طبیعی سطح پایه بالایی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند Cu، Zn-SOD را حفظ می‌کنند. در موش‌های جوان، سطح آنزیم ممکن است نزدیک به ظرفیت بهینه خود باشد و فضای کمی برای تنظیم بیشتر از طریق تمرین هوازی متوسط باقی بگذارد [۲۱]. با این حال، اگر سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی اولیه از قبل به اندازه کافی فعال باشند، پاسخ و نهایتاً سازگاری این آنزیم‌ها ممکن است به سقف محدوده و ظرفیت خود برسند و بنابراین تمرینات هوازی منجر به افزایش قابل ملاحظه بیشتری در آنزیم Cu، Zn-SOD نخواهد شد. همچنین اخیراً آهن به‌دلیل تأثیر آن در تسریع روند پیری مورد توجه قرار گرفته است و انتظار می‌رود که نقش مهمی در این فرآیند ایفا کند.

در تحقیق حاضر نیز سطوح Fe^{2+} در گروه کنترل پیر- مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل پیر- سالم افزایش داشت. تغییرات سطوح آهن به‌دلیل تأثیر آن در تسریع روند پیری مورد توجه قرار گرفته است و انتظار می‌رود که نقش مهمی در این فرآیند ایفا کند. پیری با اختلال در تنظیم هموستاز فلزات مرتبط است و آهن- به‌ویژه در حالت Fe^{2+}آن- همراه بوده که نقش بسیار مهمی در این فرآیند دارد. Fe^{2+} بسیار واکنش‌پذیر است و می‌تواند هنگام تعامل با پراکسید هیدروژن می‌تواند رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار آسیب‌رسان را تولید کند [۲۲]. همچنین مشاهده شد که سطوح آهن در گروه‌های تمرینات هوازی در مقایسه با گروه‌های کنترل کاهش معنی‌دار داشت. احتمال دارد فعالیت بدنی باعث افزایش هپسیدین در خون شود، بنابراین می‌توان فرض کرد که کاهش ذخایر آهن بدن با افزایش سطح هپسیدین مرتبط است [۲۲]. در هر حال تمرینات هوازی

[1]Reactive oxygen species

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]

می‌تواند بر متابولیسم آهن تأثیر بگذارد، امّا به‌نظر می‌رسد اثرات آن پیچیده و وابسته به عواملی مانند شدت تمرین، مدت زمان، وضعیت پایه آهن خواهد بود. نشان داده شده است هشت هفته تمرین هوازی (با شدت متوسط، تقریباً ۷۰-۶۰ درصد حداکثر ضربان قلب) منجر به کاهش قابل توجهی در سطح آهن و فریتین سرم شد [۲۳]. این نشان می‌دهد که ورزش هوازی منظم ممکن است ذخایر آهن در گردش را کاهش دهد، به‌طور بالقوه با افزایش استفاده از آهن یا حتی با افزایش دفع جزئی از طریق سازِکارهای ناشی از تمرینات هوازی مانند همولیز یا تعریق صورت خواهد گرفت [۲۳]. تمرینات هوازی نقش چندوجهی در کاهش این اثرات نامطلوب دارد. نشان داده شده است که ورزش هوازی متوسط و منظم باعث بهبود عملکرد میتوکندری و تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی در بافت عضلانی می‌شود. بیوژنز و کارایی میتوکندری بهبود یافته برخی از کمبودهای اکسیداتیو مرتبط با سن را معکوس می‌کند، که ممکن است به تثبیت تعادل پیچیده تنظیم آهن کمک کند [۲٤]. به‌عنوان مثال، تمرین هوازی می‌تواند پروتئین‌های تنظیم‌کننده کلیدی مانند هپسیدین، فریتین و گیرنده ترانسفرین را که هم جذب و هم ذخیره‌سازی آهن را کنترل می‌کنند، تعدیل کند. این سازگاری‌ها می‌توانند تجمع مضر آهن آزاد در ماهیچه‌ها را کاهش دهند و پتانسیل آسیب اکسیداتیو کاتالیزور آهن و حتی خطر مرگ سلولی ناشی از آهن را از طریق سازِکارهای مانند فروپتوز کاهش دهند [۲].

مشاهده گردید که میزان غلظت بافتی مالون دی‌آلدئید در گروه کنترل- پیر مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل سالم- جوان به‌طورمعنی‌داری بیشتر بود درحالی‌که تمرینات هوازی در گروه‌های مداخله (تمرینات هوازی) به‌طور معنی‌داری غلظت مالون دی‌آلدئید را نسبت به گروه‌های کنترل پیر- مدل سارکوپنی و حتی کنترل پیر- سالم کاهش معنی‌دار را موجب شد. هم‌راستا با تحقیق حاضر Aboudeya و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند یک دوره تمرینات شنا با افزایش بیان Nrf2 همزمان سطوح غلظتی سطوح مالون دی‌آلدئید را کاهش داد [۲۵]. هر چند Piralaiy و همکاران (۲۰۲٤) در بررسی تأثیر تمرینات هوازی بر سطوح مالون دی‌آلدئید در بافت قلب موش‌های صحرایی نژاد ویستار عدم تأثیرگذاری تمرینات هوازی بر سطوح MDA را گزارش دادند [۲٦]. شاید این تناقضات ناشی از متفاوت بودن بافت‌ها به‌عنوان نمونه مورد مطالعه باشد چرا که هر بافتی ویژگی‌های متابولیکی و پروفایل‌های آنتی‌اکسیدانی منحصر به فردی را نشان می‌دهد که بر نحوهٔ بروز و کنترل استرس اکسیداتیو ناشی از تمرینات ورزشی تأثیر می‌گذارد [۲۷]. احتمال دارد کاهش سطح MDA در تحقیق حاضر به روند کاهشی تولید رادیکال‌های آزاد و یا افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی مربوط باشد. نشان داده شد که در تحقیق حاضر بیان ژن GPX و SOD در پاسخ به تمرینات هوازی روند افزایشی داشت که می‌تواند عامل محافظتی در مقابل استرس اکسایشی فراهم کند و از افزایش تولید رایدکال‌های آزاد جلوگیری به‌عمل آورد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سالمندی با افزایش سطوح آهن و MDA و کاهش بیان ژن GPX و SOD در موش‌های مدل سارکوپنی در مقایسه با گروه کنترل شد. در نهایت می‌توان گفت احتمال دارد تمرینات هوازی بتواند از طریق افزایش بیان ژن آنزیم‌های GPX و SOD و کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید و آهن، فشار اکسیداتیو ناشی از فروپتوزیس را در وضعیت سارکوپنی کاهش دهد.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش با تایید کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج با کد IR.IAU.SDJ.REC.1402.134 به تصویب رسیده است.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

سپاسگزاری

از مسئولان آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی و واحد بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری که در زمینه انجام سنجش‌های بیوشیمیایی زحمات فراوانی را متقبل شدند، نهایت سپاس و قدردانی را داریم.

References

1. Mazhar M, Din AU, Ali H, Yang G, Ren W, Wang L, Fan X, Yang S. Implication of ferroptosis in aging. *Cell Death Discov*. 2021; 7(1):149.
2. Kordi N, Saydi A, Karami S, Bagherzadeh-Rahmani

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]

B, Marzetti E, Jung F, et al. Ferroptosis and aerobic training in ageing. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2024; 87(3):347-366.
3. Wang Y, Zhang Z, Jiao W, Wang Y, Wang X, Zhao Y, et al. Ferroptosis and its role in skeletal muscle diseases. *Front Mol Biosci*. 2022; 9:1051866.
4. Zhao G. Is Iron Accumulation a Possible Risk Factor for Sarcopenia?. *Biol Trace Elem Res*. 2018; 186(2):379-383.
5. Aydemir TB, Troche C, Kim J, Kim MH, Teran OY, Leeuwenburgh C, et al. Aging amplifies multiple phenotypic defects in mice with zinc transporter Zip14 (Slc39a14) deletion. *Exp Gerontol*. 2016; 85:88-94.
6. Coradduzza D, Congiargiu A, Chen Z, Zinellu A, Carru C, Medici S. Ferroptosis and Senescence: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(4):3658.
7. Yan HF, Zou T, Tuo QZ, Xu S, Li H, Belaidi AA, Lei P. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6(1):49.
8. Ursini F, Maiorino, M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4. *Free Radic. Biol. Med*. 2020; 20;152:175-185.
9. Yan Hf, Zou T, Tuo Qz, *et al.* Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Sig Transduct Target Ther*. 2021; 6, 49.
10. Riebe D, Franklin BA, Thompson PD, Garber CE, Whitfield GP, Magal M, et al. Updating ACSM's Recommendations for Exercise Preparticipation Health Screening. *Med Sci Sports Exerc*. 2015; 47(11):2473-9.
11. Liu T, Cui Y, Dong S, Kong X, Xu X, Wang Y, et al. Treadmill training reduces cerebral ischemiareperfusion injury by inhibiting ferroptosis through activation of SLC7A11/GPX4. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022; 6;2022:8693664.
12. Chen J, Zhu T, Yu D, Yan B, Zhang Y, Jin J, et al. Moderate Intensity of Treadmill Exercise Rescues TBI-Induced Ferroptosis, Neurodegeneration, and Cognitive Impairments via Suppressing STING Pathway. *Molecular Neurobiology*. 2023; 60(9):4872-4896.
13. Salehpour M, Sarlak A, Samadi H. The Effect Of Eight Weeks Of Endurance Training On The Expression Of Glutathione Peroxidase 4 And Malondialdehyde In The Soleus Muscle Of Aged Aale Wistar Rats. *RSMT*. 2023; 21 (26):89-102.
14. Higashida K, Tabata I, Higuchi M, & Terada S. Regulation of skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise and nutritional stimuli. *Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*. 2013; 2(3):355-360.
15. Macaluso F, Isaacs A W, & Myburgh KH. Preferential Type II Muscle Fiber Damage From Plyometric Exercise. *Journal of Athletic Training*. 2012; 47(4):414–420.
16. Chen J, Zhu T, Yu D, Yan B, Zhang Y, Jin J, et al. Moderate intensity of treadmill exercise rescues TBI-induced ferroptosis, neurodegeneration, and cognitive impairments via suppressing STING pathway. *Molecular Neurobiology*. 2023; 60(9):4872-4896.
17. Liu, Yuqian and Yang, Wenqian and Yang, Guang and Wang, Haitao, Aerobic Exercise Relieves High-Fat Diet-Induced MAFLD by Activating Nrf2/GPX4 and Suppressing Ferroptosis in Mice a Concise and Informative Title: Exercise Relieves Mafld by Nrf2/Gpx4. Available at *SSRN: https://ssrn.com/abstract=4333383* or *http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4333383*
18. Qu Z, Sun J, Zhang W, Yu J, Zhuang C. Transcription factor NRF2 as a promising therapeutic target for Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med*. 2020; 159:87-102.
19. Sorriento D, Di Vaia E, & Iaccarino G. Physical Exercise: A Novel Tool to Protect Mitochondrial Health. *Frontiers in Physiology*. 2021; 12, 660068.
20. Molaie A, Gaeini AA, Nouri R, & Hemmatinafar M. Vitamin D Supplementation Combined With Aerobic Training Increases the Gene Expression of Antioxidants in Kidney Tissue in Healthy Middle-Aged Rats. *Hormozgan Medical Journal*. 2023; 27(3): 146-152.
21. Lambertucci RH, Levada-Pires AC, Rossoni LV, Curi R, & Pithon-Curi T. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2007; 128(5); 267–275.
22. Toyokuni S, Yanatori I, Kong Y, Zheng H, Motooka Y, Jiang L. Ferroptosis at the crossroads of infection, aging and cancer. *Cancer Science*. 2020; 111(8):2665-2671.
23. Bijeh N, Askari A, Ramezani S, & Askari B. Effect of eight weeks of aerobic exercise on iron status and coagulation and immune indices in non-athlete females. *Medical Laboratory Journal*. 2018; 12(1): 37–43.
24. Liu S, Yu C, Xie L, Niu Y, & Fu L. Aerobic exercise improves mitochondrial function in sarcopenia mice through Sestrin2 in an AMPKα2-dependent manner. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2021; 76(7):1161–1168.
25. Aboudeya HM, Michel TN, Attia MM, Abdou AS. Neuroprotective effect of Exercise on Alzheimer's disease in rats: Role of Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (NRF2). *Bulletin of Egyptian Society for Physiological Sciences*. 2021; 41(3): 331-343.
26. Piralaiy E, Rashwan Ismael B, Hamidiyan G. The Effect of Eight Weeks of Aerobic Training on MDA, TAC, GPX, and SOD in Heart Tissue of Wistar Rats. *Journal of Sports and Biomotor Sciences*. 2024; 16(31): 44-55.
27. El Assar M, Álvarez-Bustos A, Sosa P, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Effect of Physical Activity/Exercise on Oxidative Stress and Inflammation in Muscle and Vascular Aging. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(15):8713.

[DOI: 10.18502/ijdl.v25i5.20341]