

## Research Paper

# Effect of Resistance Exercise and Vitamin C Intake on Expression of Telomerase Reverse Transcriptase and Telomere Repeat Binding Factor-2 Genes and the Diameter and Number of Myofibrils in Old Rats



Yousef Shirkhani<sup>1</sup> , \*Maghsoud Peeri<sup>1\*</sup> , Mohammad Ali Azarbayjani<sup>1</sup> , Hassan Matinhomae<sup>1</sup>

1. Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.



**Citation:** Shirkhani Y, Peeri M, Azarbayjani MA, Matinhomae H. [Effect of Resistance Exercise and Vitamin C Intake on Expression of Telomerase Reverse Transcriptase and Telomere Repeat Binding Factor-2 Genes and the Diameter and Number of Myofibrils in Old Rats (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2021; 10(4):396-409. <https://doi.org/10.32598/cmja.10.4.1046.1>

<https://doi.org/10.32598/cmja.10.4.1046.1>



### Article Info:

Received: 09 Sep 2020

Accepted: 15 Nov 2020

Available Online: 01 Jan 2021

### Key words:

Telomerase Reverse Transcriptase, Telomere Repeat Binding Factor 2, Aging, Resistance exercise, Vitamin C

## ABSTRACT

**Objective** Cell aging is one of the most important and fundamental step in cellular behavior and reduces muscle mass and myofibrils. This study aims to investigate the effect of resistance exercise along with vitamin C consumption on the expression of Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) and Telomere Repeat Binding Factor-2 (TRF2) genes and the diameter and number of skeletal muscle myofibrils in old male Wistar rats.

**Methods** This is an experimental study using control groups. Twenty-five male Wistar rats (280-320 g and aged 24 weeks) were randomly divided into five groups of young control, old+resistance exercise, old+vitamin intake, old+resistance exercise+vitamin intake, and old control. In the supplementation groups, rats received liposomal vitamin C daily by gavage per body weight. Weight attached to the tail gradually increased during 8 weeks of exercise (weeks 1 and 2 by 50%; weeks 3 and 4 by 50%; weeks 5 and 6 by 75%; weeks 7 and 8 by 100% of total body weight). Exercises were performed at 3-5 sets of 8-12 repetitions, 3 or 4 days a week. The Quantitative polymerase chain reaction method was used to evaluate the expression of TERT and TRF2 genes in muscle tissue. One-way ANOVA was used to examine the difference between the groups and Tukey's post hoc test was used to determine between which groups the difference was significant.

**Results** Aging significantly reduced the expression of TERT, TRF2 genes and the diameter and number of myofibrils in skeletal muscle of rats ( $P=0.001$ ). Resistance exercise along with vitamin C intake had no significant effect on TERT and TRF2 expression ( $P\geq 0.05$ ), but caused a significant increase in the diameter and number of myofibrils ( $P=0.001$ ).

**Conclusion** Eight weeks of resistance exercise along with vitamin C supplementation can significantly increase the number and diameter of skeletal muscle myofibrils in old rats.

### \* Corresponding Author:

Maghsoud Peeri, PhD.

Address: Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Tel: +98 (21) 22481622

E-mail: m.peeri@gmail.com

Extended Abstract

1. Introduction

The aging cell has certain characteristics, the most important of which are increased cell size, distinct morphology, extensive changes in gene expression, and shortened telomere length [1]. Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) is a catalytic subunit of enzyme telomerase. TERT is a protein with catalytic and transcriptase activity [2]. Other important proteins that play an important role in telomeric structure are telomere repeat binding factors (TRFs) with isoforms 1 and 2 and bind directly to TTAGGG repeats [3]. Oxidative pressure appears to affect the length of telomerase and myofibrils.

Vitamin C is mixed with antioxidant activity. However, there are no clear results about the effect of vitamin C consumption on telomerase length as well as TERT and TRF2. Some studies have shown that long-term physical activity plays an important role in controlling aging by affecting chromosomes [4]. There are no clear results about the effect of resistance exercise as well as the effect of vitamin C intake and their combined effect on telomerase length and especially on TRF2 and TERT gene expression. In this regard, this study aims to evaluate the effect of resistance exercise along with liposomal vitamin C intake on the expression of TERT and TRF2 genes and on the diameter and number of myofibrils in old male Wistar rats.

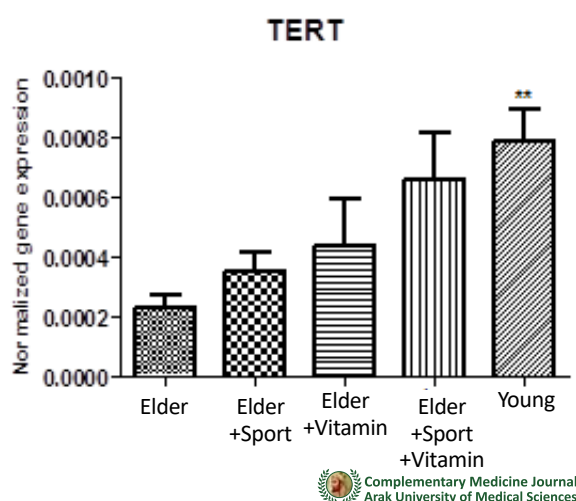


Figure 1. Comparing the TERT expression levels between different groups

\*\*Significant compared to the old control group (P<0.05).

2. Materials and Methods

This is an experimental study on 25 male Wistar rats aged 24 weeks and weighted 280-320 g. They were randomly divided into five groups of young control (n=5), old+resistance exercise (n=5), old+vitamin intake (n=5), old+resistance exercise+vitamin intake (n=5), and old control (n=5). In the exercise groups, 20 minutes of resistance exercise with ladders and weights were performed for 8 weeks, 3 days per week. At the end of the exercise period, rats in each group were examined for further studies. In the supplementation groups, liposomal vitamin C was administered daily by gavage per kg body weight. Shapiro-Wilk test was used to investigate the normality of data distribution. One-way ANOVA test was used to examine the differences between groups and Tukey's post hoc test was used to determine where these differences were found. All analyses were performed in SPSS V. 22 software considering a significance level of 0.05.

3. Results

The results of ANOVA showed a significant difference between the groups in terms of TERT expression (P=0.001). The results of Tukey's post hoc test showed that the significant differences were between the old control and young control groups (P=0.001). For TRF2 expression, ANOVA test results also showed a significant difference between the groups (P=0.001). Tukey's post hoc test showed that the significant differences were between the old control and young control groups

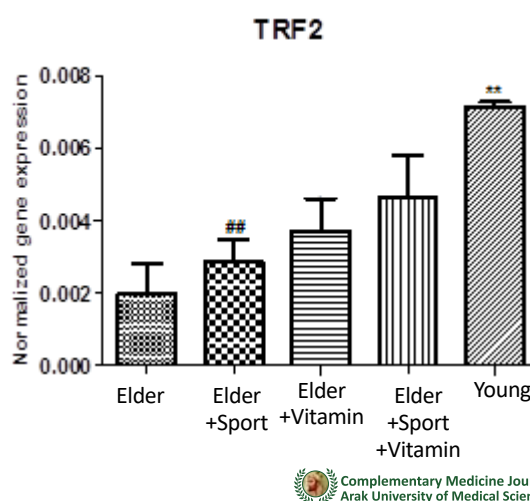
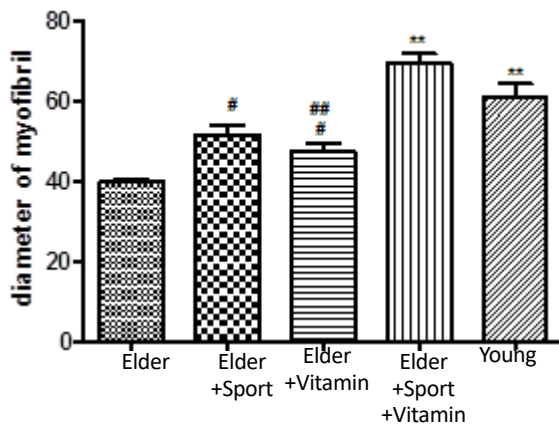


Figure 2. Comparing the TRF2 expression levels between different groups

\*\*Significant compared to the old control group (P<0.05);

##Significant compared to the young control group (P<0.05).



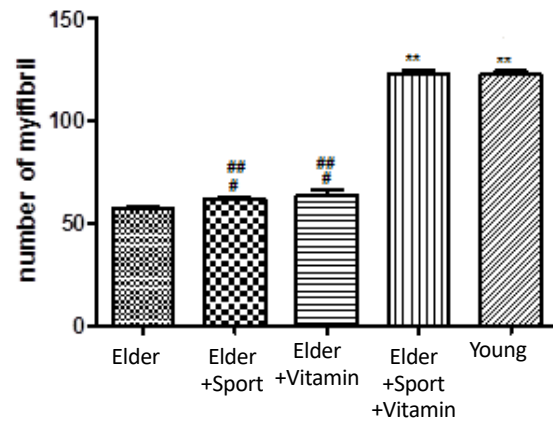
Complementary Medicine Journal  
Arak University of Medical Sciences

**Figure 3.** Comparing the myofibril diameters between different groups

\*\* Significant compared to the old control group ( $P < 0.05$ );

## Significant compared to the young control group ( $P < 0.05$ );

# Significant compared to the old+resistance exercise+vitamin intake group ( $P < 0.05$ ).



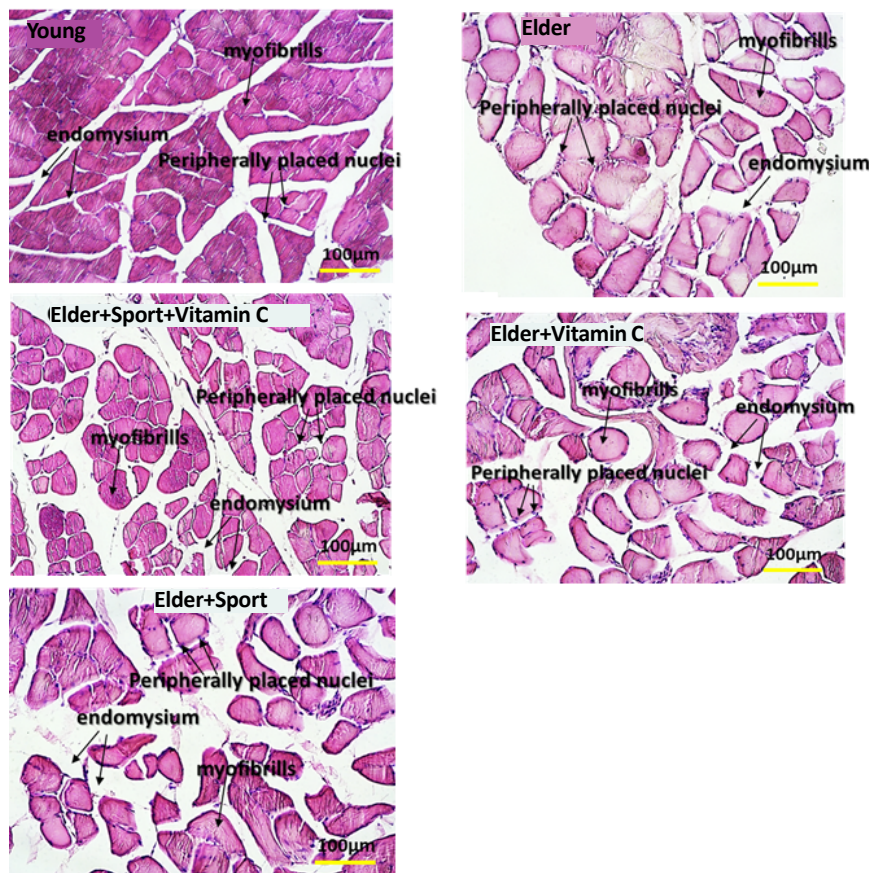
Complementary Medicine Journal  
Arak University of Medical Sciences

**Figure 4.** Comparing the number of myofibrils between different groups

\*\* Significant compared to the old control group ( $P < 0.05$ );

## Significant compared to the young control group ( $P < 0.05$ );

# Significant compared to the old+resistance exercise+vitamin intake group ( $P < 0.05$ ).



**Figure 5.** Muscle tissue cross-sectional area of a Wistar rat

Complementary Medicine Journal  
Arak University of Medical Sciences

( $P=0.001$ ) and between the old+resistance exercise and young control groups ( $P=0.001$ ). There was also a significant difference between the groups in terms of myofibril diameter ( $P=0.001$ ). The results of Tukey's post hoc test showed that the significant difference was between the young control and the old control groups, between the old+resistance exercise+vitamin intake and the old control groups ( $P=0.001$ ), between the old+resistance exercise and the old+resistance exercise+vitamin intake groups ( $P=0.001$ ), between the old+vitamin intake and the old+resistance exercise+vitamin intake groups, and between the old+vitamin intake and the young control groups ( $P=0.001$ ). There was also a significant difference between the groups in terms of the number of myofibrils ( $P=0.001$ ). The results of Tukey's post hoc test showed that the significant difference was between the young control and the old control groups, between the old+resistance exercise+vitamin intake and the old control groups ( $P=0.001$ ), between the old+resistance exercise and the old+resistance exercise+vitamin intake groups ( $P=0.001$ ), between the old+resistance exercise and the young control groups ( $P=0.001$ ), between the old+vitamin intake and the old+resistance exercise+vitamin intake groups, and between the old+vitamin intake and the young control groups ( $P=0.001$ ) (Figures 1, 2, 3, 4 & 5).

#### 4. Conclusion

The purpose of this study was to investigate the effect of resistance exercise along with vitamin C consumption on the expression of TERT, TRF2 genes and the diameter and number of skeletal muscle myofibrils in old male Wistar rats. The results showed that there was a significant difference between the old and young control groups. However, no significant difference was observed between the other groups. Regarding TRF2 level, a significant difference was observed between the old and young control group ( $P=0.001$ ) and between the trained old group and the young control group. In a study, rats with Manganese superoxide dismutase deficiency in muscle or heart tissue had inhibited telomerase activity and decreased expression of TERT and TRF2. However, antioxidant supplements prevented this process [5]. Part of the adaptation of telomerase to exercise should be attributed to the MAPK pathways. Activation of MAPK leads to a change in the positional activity of a variety of transcription factors that are associated with altered expression of telomere gene components [6]. On the other hand, exercise increases the antioxidant content and reduces the oxidative pressure [7]. It seems that the interactive effect of exercise and vitamin C intake is effective in reducing the maximum oxidative pressure on telomere length.

In the present study, the expression of TERT and TRF2, and the diameter and number of myofibrils in the group of old rats that did resistance exercise and took vitamin C, was close to those of young control rats. Increased TERT and especially TRF2 levels can be considered as the reasons for the increase in diameter and number of myofibrils in old rats. Due to the limited research on TERT and TRF2 levels in the elderly, as well as the effects of vitamin C and resistance exercise on it, no other rational mechanisms can be mentioned.

Eight weeks of resistance exercise along with vitamin C supplementation can significantly increase the number and diameter of skeletal muscle myofibrils in older rats.

#### Ethical Considerations

##### Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of Sport Sciences Research Institute of Iran (Code: IR.SSRI.REC.1399.115).

##### Funding

This study was extracted from a PhD. dissertation of the first author, at the Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran.

##### Authors' contributions

Performing training, writing, editing & review: Yousef shirkhani; Data analysis: Mohammad ali Azarbayjani; Editing & review: Hassan Matinhomae, Maghsoud Peeri.

##### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

This Page Intentionally Left Blank

## اثر تمرین مقاومتی به همراه دریافت ویتامین C بر بیان TERT، TRF2 و قطر و تعداد میوفیبریل‌های عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر ویستار مسن

یوسف شیرخانی<sup>۱</sup>، \*مقصود پیری<sup>۱</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۱</sup>، حسن متین‌همایی<sup>۱</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

### چکیده

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۹ شهریور ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۲۵ آبان ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۲ دی ۱۳۹۹

**هدف:** پیری سلول از مراحل مهم و اساسی در رفتار سلولی محسوب شده و باعث کاهش حجم عضلات و میوفیبریل‌ها می‌شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی به همراه مصرف ویتامین C بر بیان ژن‌های TERT، TRF2 و قطر و تعداد میوفیبریل‌های عضله اسکلتی رت‌های نر ویستار مسن بود.

**روش‌ها:** تحقیق حاضر از نوع تجربی با گروه کنترل بود. ۲۵ رأس موش صحرایی نر نژاد ویستار با گروه سنی ۲۴ هفته‌ای (۲۸۰-۳۲۰ گرم) به صورت تصادفی در پنج گروه تقسیم شدند: گروه کنترل جوان، گروه سالمند+تمرین مقاومتی، گروه سالمند+ویتامین C لیپوزومال، گروه سالمند+تمرین مقاومتی+ویتامین C لیپوزومال و گروه کنترل دوران سالمندی. در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C لیپوزومال، روزانه ویتامین C لیپوزومال به صورت گاوژ بر اساس کیلوگرم وزن بدن برای هر گروه تجویز شد. وزن متصل به دم به تدریج طی هشت هفته تمرین (هفته‌های اول و دوم ۵۰ درصد، هفته‌های سوم و چهارم ۵۰ درصد، هفته‌های پنجم و ششم ۷۵ درصد و هفته‌های هفتم و هشتم تا ۱۰۰ درصد از وزن کل) افزایش یافت. تمرینات سه تا پنج ست بین ۸ تا ۱۲ تکرار به مدت سه یا چهار روز در هفته انجام شد. به منظور بررسی بیان ژن‌های TERT و TRF2 در بافت عضله، از روش qPCR استفاده شد. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نیز برای بررسی تفاوت بین گروهی و از آزمون تعقیبی توکی برای مشخص کردن محل اختلاف گروه‌ها استفاده شد.

**یافته‌ها:** افزایش سن باعث کاهش معنی‌دار بیان TERT، TRF2، قطر و تعداد میوفیبریل در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی شد ( $P=0/001$ ). تمرین مقاومتی به همراه مصرف ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر بیان TERT و TRF2 نداشت ( $P\geq 0/05$ )، اما باعث تغییر معنی‌دار قطر و تعداد میوفیبریل شد ( $P=0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** هشت هفته تمرین مقاومتی به همراه مکمل‌یاری ویتامین C در موش‌های صحرایی سالمند احتمالاً باعث افزایش معنی‌دار تعداد و قطر میوفیبریل عضله اسکلتی شد، اما تغییر معنی‌داری در بیان TRF2 و TERT مشاهده نشد.

### کلیدواژه‌ها:

ترانس کریپتاز معکوس  
تولومراز، عامل اتصال  
تکراری تولمریک ۲،  
سالمندی، ورزش  
مقاومتی، ویتامین C

### مقدمه

پیری سلولی از مراحل مهم و اساسی در رفتار سلولی محسوب می‌شود. سالمندی باعث کاهش حجم عضلات و میوفیبریل‌ها می‌شود. علاوه بر این، در میوفیبریل‌ها متعاقب سالمندی اختلالاتی در فعالیت فیبرهای عضلانی، برهم کنش متقابل اکتین میوزین، تولید انرژی و ترمیم و بازسازی رخ می‌دهد [۱].

فرایند تکثیر و رشد سلول‌های سوماتیک اولیه در شرایط آزمایشگاهی محدود است. در واقع، پس از یک دوره سریع تکثیر، میزان تقسیم سلولی کند شده و سلول‌ها به هم نزدیک می‌شوند و به محرک‌های میتوژنیک پاسخ نمی‌دهند. این فرایند در اصطلاح «پیری سلولی یا عدم فعالیت سلولی» نامیده می‌شود. در همین راستا مشخص شده است که سلول پیر ویژگی‌های خاصی را به

خود می‌گیرد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به افزایش اندازه سلول، مورفولوژی مجزا، تجمع گرانول‌های لیپوفیوسین، تغییرات گسترده در بیان ژنی و کوتاه شدن طول تلومر اشاره کرد [۲]. «تلومر» ساختار انتهایی کروموزوم در یوکاریوت‌هاست که وظیفه حیاتی حفاظت از انتهای کروموزوم را بر عهده دارد. در انسان و مهره‌داران تلومر از هزاران تکرار 5-TTAGGG-3 که به شکل پشت سر هم در انتهای کروموزوم قرار دارند، تشکیل شده و وظیفه اصلی آن حفاظت و پایداری کروموزوم است. در هر تقسیم سلولی به شکل پیوسته بخشی از درازای تلومر کوتاه می‌شود؛ کوتاه شدن پیوسته تلومر به جدا شدن یک سری از پروتئین‌ها از ساختار تلومر و تغییر بیان ژن منجر شده و نیز موجب کاهش قلمرو اثر آن در سرکوب ژن‌های مجاور می‌شود و ژن‌هایی که تا کنون خاموش بوده‌اند، روشن می‌شوند. همچنین کوتاه شدن مداوم تلومر به

\* نویسنده مسئول:

دکتر مقصود پیری

نشانی: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، دانشکده تربیت‌بدنی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: ۲۲۴۸۱۶۲۲ (۲۱) ۰۹۸+

پست الکترونیکی: m.peeri@gmail.com

توقف چرخه سلولی و مرگ سلولی می‌انجامد [۴، ۳].

بین فعالیت ورزشی منظم با شدت متوسط و کوتاهی طول و فعالیت تلومراز مشاهده نکردند [۱۷]. ورنه و همکاران نشان دادند تمرینات ورزشی فعالیت آنزیم تلومراز، پروتئین‌های متصل شده به تلومر و بیان mRNA آن‌ها را افزایش و سطوح p53، Chk2 و p16 را در آنورت رت‌ها کاهش داده است [۱۸]. لودلوو و همکاران نشان دادند ورزش طولانی مدت باعث افزایش فعالیت تلومراز در عضلات اسکلتی گروه ورزش در مقایسه با گروه کنترل بی تحرک می‌شود، اما در بافت کبدی و قلب بین دو گروه تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد [۱۹]. اسکندری و همکاران نشان دادند شش هفته تمرین تناوبی تأثیر معنی‌داری بر بیان TRF2 در بافت قلب رت‌های پیر دارد، اما بیان TERT تغییر معنی‌داری نداشت [۲۰]. آنچه باعث نتایج مختلف می‌شود، نوع پروتکل تمرینی و همچنین بافت مورد بررسی است. در مجموع به نظر می‌رسد در مورد اثر تمرین مقاومتی و همچنین اثر مصرف ویتامین C و اثر توأم این دو بر طول تلومراز و به خصوص بر بیان ژن TRF2 و TERT نتایج روشنی در دست نیست. بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین مقاومتی به همراه ویتامین C لیپوزومال بر بیان ژن‌های TRF2، TERT و قطر و تعداد میوفیبریل‌های عضله اسکلتی رت‌های نر ویستار سالمند بود.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق از نوع تجربی است که در تیر و مرداد سال ۱۳۹۹ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز انجام شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و سازگاری با محیط جدید به مدت یک هفته، به صورت گروه‌های سه‌تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. طی پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت. در این پژوهش، ۲۵ رأس موش صحرایی نر (نژاد ویستار) با گروه سنی ۲۴ هفته‌ای (۲۸۰-۳۲۰ گرم) به صورت تصادفی در پنج گروه پنج‌تایی در هر رده سنی به ترتیب زیر تقسیم شده و مورد مطالعه قرار گرفتند:

۱. گروه «کنترل جوان» شامل پنج سر موش صحرایی جوان ۶ تا ۸ هفته‌ای ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرمی

۲. گروه «سالمند+تمرین مقاومتی» شامل پنج سر موش صحرایی سالمند و تمرین بدنی

۳. گروه «سالمند+ویتامین C لیپوزومال» شامل پنج سر موش صحرایی سالمند و ویتامین C لیپوزومال

۴. گروه «سالمند+تمرین مقاومتی+ویتامین C لیپوزومال» شامل پنج سر موش صحرایی سالمند+تمرین مقاومتی+ویتامین C لیپوزومال

آنزیم تلومراز دارای زیرواحد تجزیه‌کننده‌ای است که به رونویسی معکوس تلومراز (TERT) معروف است. پروتئینی بوده و دارای فعالیت کاتالیتیکی و ترانس کریپتازی است. در همین راستا RNA موجود در ساختمان تلومراز به عنوان یک الگو قرار گرفته و آنزیم از طریق قسمت TERT خود دزوکسی ریبونوکلیئوتیدها را به انتهای 3' DNA بسط می‌دهد [۵]. هنگامی که انتهای 3' DNA گسترش پیدا کرد، جای خالی RNA پرایمر وسیع‌تر می‌شود. با ساخته شدن RNA پرایمر جدید در جای خالی، DNA در جهت 5' به 3' سنتز می‌شود. سپس دوباره پرایمر جدید برداشته می‌شود و چون این RNA پرایمر جدید مربوط به توالی تلومری است، برداشته شدن آن برای ذخایر ژنتیکی سلول مشکلی ایجاد نمی‌کند. بنابراین آنزیم تلومراز موجب پایداری DNA می‌شود [۵]. سرکوب فعالیت آنزیم تلومراز با پیشبرد آپوپتوزیس و افزایش بیان TERT نیز با کاهش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول همراه است [۶]. دیگر پروتئین‌های مهمی که در ساختار تلومریک نقش مهمی دارند شامل عوامل اتصال تکراری تلومر (TRF) با ایزوفورم ۱ و ۲ هستند و به صورت مستقیم به تکرارهای TTAGGG متصل می‌شوند. پروتئین TRF2 برای حفظ ساختار انتهایی کروموزوم و طول عمر سلول ضروری است [۷].

به نظر می‌رسد فشار اکسایشی بر طول تلومراز و میوفیبریل‌ها مؤثر باشد. هر اندازه سن افزایش پیدا می‌کند فشار اکسایشی نیز دچار تغییراتی شده و روند افزایشی پیدا می‌کند. در همین راستا مطالعات نشان داده‌اند افراد سالمندی که از محتوای آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سالمندان دیگر برخوردار هستند، طول تلومراز بیشتری نیز دارند [۸، ۹]. مطالعات دیگری نیز نشان داده‌اند در زنان و مردان ۴۰ تا ۸۰ سال که در رژیم غذایی خود از آنتی‌اکسیدان کافی بهره می‌برند، طول تلومراز افزایش یافته است [۱۰]. ویتامین C از جمله آنتی‌اکسیدان‌هایی است که دارای اثرات ضد اکسایشی است. با این حال نتایج روشنی در مورد اثر مصرف ویتامین C بر طول تلومراز و همچنین ترانس کریپتاز معکوس تلومراز (TERT) و عامل اتصال تکراری تلومریک ۲ (TRF2) ارائه نشده است. برونز و همکاران گزارش کردند مصرف ویتامین C باعث سازگاری‌های بهتر عضلات با ورزش می‌شود [۱۱].

سالمندی با بروز سارکوپینا همراه است و قدرت و حجم عضلانی ارتباط قوی با متغیرهای مرتبط با سارکوپینا دارد [۱۲]. بر اساس پژوهش‌های انجام گرفته، ورزش می‌تواند بر طول تلومر، فعالیت آنزیم تلومراز و همچنین بهبود سارکوپینا مؤثر باشد [۱۳-۱۵]. در تحقیقی نشان داده شد تمرین مقاومتی باعث بهبود برخی شاخص‌های هایپرتروفی عضلانی و بهبود سارکوپینا در مردان مسن می‌شود [۱۵]. برخی مطالعات نیز نشان داده‌اند فعالیت بدنی طولانی مدت از طریق تأثیر بر کروموزوم‌ها در کنترل پیری نقش مهمی دارد [۱۶]. لیکن پون‌سوت و همکاران هیچ ارتباطی

1. Checkpoint kinase 2

## بیان ژن

به منظور بررسی بیان ژن‌های TERT و TRF2 در بافت عضله، از روش qPCR استفاده شد. در این بررسی از ژن رفرنس Gapdh به عنوان ژن کنترل استفاده شد و بیان سایر ژن‌ها با آن مورد مقایسه قرار گرفت. به منظور انجام این تکنیک ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج شده و به cDNA تبدیل شد. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

## پروتکل تمرین مقاومتی

تمرین قدرت مستلزم این بود که موش‌ها از نردبان یک متر با شبکه ۲ سانتی متری و شیب ۸۵ درجه، با برخی تغییرات طبق مطالعه شفر و همکاران صعود کنند [۲۲، ۲۱]. موش‌ها به مدت یک هفته با تمرین داده شده آشنا شدند. سپس تمرین مقاومت شروع شد. برای این پروتکل، سیلندرهای حاوی وزنه با نوار فوم به پایه دم موش وصل شده بودند. سیلندرها با پیچیدن قسمت بالایی دم (۲ تا ۳ سانتی متر از انتهای خارجی) با ولکرو در بالای نوار فوم به دم بسته شدند. سپس وزنه‌های اولیه (۲۵ درصد از وزن بدن) وارد سیلندرها شدند. موش‌ها سپس در پایه دستگاه کوهنوردی قرار گرفتند و به صورت دستی برای بالا رفتن از نردبان تحریک شدند. وزن متصل به دم به تدریج در طی هشت هفته تمرین (هفته‌های اول و دوم ۵۰ درصد، هفته‌های سوم و چهارم ۵۰ درصد، هفته‌های پنجم و ششم ۷۵ درصد و هفته هفتم و هشتم ۱۰۰ درصد از وزن کل) افزایش یافت. تمرینات سه تا پنج ست بین ۸ تا ۱۲ تکرار، با استراحت یک دقیقه بین تکرارها و استراحت دودقیقه‌ای بین ست‌ها، به مدت سه یا چهار روز در هفته صورت گرفت. هر جلسه ۴۰ تا ۵۰ دقیقه، با فاصله ۴۸ ساعت بین جلسات انجام شد. پس از رسیدن به بالای نردبان، به موش‌ها اجازه داده شد تا در منطقه استراحت ریکاوری کنند. این روش تا زمانی که موش‌ها سه مجموعه تمرین را تمام کردند یا نتوانستند طول کل نردبان را صعود کنند تکرار شد [۲۱].

## روش هیستوشیمیایی

در این روش از رنگ همتوکسیلین که از مغز ساقه درختی به دست می‌آید و با روش مخصوص که در ذیل آمده است به صورت محلول ساخته می‌شود و هسته را رنگ می‌کند و آنوزین که قسمت‌های دیگر بافت را رنگ می‌کند استفاده می‌شود.

۱۰۰۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر را در ارلن ریخته روی اجاق گذاشتیم تا به جوش آید. سپس از روی اجاق برداشته به آرامی پودر آلن دوپتاس را در آن ریخته و مجدداً روی اجاق گذاشتیم و به هم زدیم تا کاملاً حل شود. پودر همتوکسیلین را در ۵۰ سانتی‌متر مکعب الکل اتیلیک ۹۶ درجه حل کرده و دمای محلول آلن دوپتاس و آب را به حدود ۸۵ درجه رساندیم. سپس محلول

۵. گروه «کنترل دوران سالمندی» شامل پنج سر موش صحرایی سالم سن ۲۴ هفته‌ای در گروه‌های تمرین مقاومتی به مدت سه روز در هفته هر روز ۲۰ دقیقه تمرین مقاومتی با نردبان و وزنه، به مدت هشت هفته انجام شد. در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C لیپوزومال، در هر گروه روزانه ویتامین C لیپوزومال به صورت گاوآژ بر اساس کیلوگرم وزن بدن تجویز شد. در هر گروه وزن در ابتدا و انتهای مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. موش‌ها پس از بیهوشی، خون‌گیری و سپس کشته شدند. سپس سرم خون جداسازی شد و در نهایت بافت مغزی برای انجام تست‌های پاتولوژیکی و بررسی بیان آنزیم و ژن مورد استفاده قرار گرفت. جهت بررسی میزان فیبروز بافت عضله، ابتدا نمونه بافت عضله در محلول ثابت‌کننده تثبیت شد. در این مرحله بعد از مرگ موجود زنده، فعالیت آنزیم‌های درون سلولی باعث فاسد شدن و تخریب ساختمان سلولی و بافتی می‌شود. بنابراین برای جلوگیری از تغییرات پس از مرگ، نمونه بافتی جدا شده از بدن بایستی بلافاصله در داخل محلول‌های ثابت‌کننده قرار گیرد. محلول‌های ثابت‌کننده ضمن پیوند با پروتئین‌ها، باعث غیرفعال شدن آنزیم‌ها شده و از انهدام ساختمان سلول‌ها و بافت‌ها جلوگیری می‌کنند.

سپس به ترتیب مراحل آب‌گیری با الکل، شفاف‌سازی با گزلیول، آغشتگی با پارافین، قالب‌گیری و سپس برش‌گیری انجام شد. در پروسه آب‌گیری، بافت‌ها به طور طبیعی دارای مقداری آب هستند که اگر از بافت خارج نشود، مانع نفوذ برخی از مواد آماده‌کننده مانند پارافین به داخل بافت می‌شود. به منظور آب‌گیری بافت، نمونه را به ترتیب در الکل ۵۰ درصد، ۷۰ درصد، ۹۰ درصد و مطلق قرار می‌دهند که با این عمل آب بافت، جذب الکل شده و الکل جایگزین آن می‌شود. سپس نمونه را در داخل محلولی به نام گزلیول قرار می‌دهند که آن نیز جایگزین الکل می‌شود. در مرحله آغشتگی، نمونه را در داخل پارافین مذاب قرار می‌دهند تا به داخل بافت نفوذ کند. پارافین در دمای اطاق جامد است و در حرارت ۵۰ درجه به صورت مذاب درمی‌آید. تا این مرحله از آماده‌سازی بافت، هم به طور دستی و هم به طور اتوماتیک توسط دستگاهی به نام اتوتکنیکون امکان‌پذیر است. نمونه آغشته‌شده با پارافین در این مرحله، در داخل قالب پر از پارافین مذاب، قرار می‌گیرد. ضمن انجماد پارافین، نمونه نیز در داخل قالب باقی مانده و آماده مقطع‌گیری می‌شود. نمونه همراه با قالب پارافین توسط دستگاهی به نام میکروتوم به ضخامت ۵ تا ۱۰ میکرون، برش داده می‌شود. به منظور بررسی سطح فیبروز بافتی از رنگ آمیزی تری کروم ماسون استفاده شد. در این رنگ‌آمیزی، میزان کلاژن بافتی بین هپاتوسیت‌ها با رنگ آنیلین بلو به رنگ آبی درمی‌آید و سلول‌ها و هسته سلول‌ها به رنگ قرمز دیده می‌شوند. سپس درصد فیبروز بافتی در هر گروه به لحاظ آماری مورد مقایسه قرار گرفت.



توکی بین گروه کنترل سالمند با گروه کنترل جوان ( $P=0/001$ ) و بین گروه سالمند تمرین کرده با گروه کنترل جوان ( $P=0/001$ ) تفاوت معنی داری مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

از نظر قطر میوفیبریل در بین گروهها با استفاده از آزمون آنوا تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $P=0/001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد بین گروه کنترل جوان و گروه سالمند ورزش مصرف ویتامین C با گروه کنترل سالمند تفاوت معنی داری وجود دارد ( $P=0/001$ ). بین گروه سالمند ورزش با گروه سالمند ورزش مصرف ویتامین C تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $P=0/001$ ). همچنین بین گروه سالمند مصرف ویتامین C با گروه سالمند ورزش مصرف ویتامین C و گروه کنترل جوان نیز تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P=0/001$ ) (تصویر شماره ۳).

طبق نتایج آزمون آنوا، از نظر تعداد میوفیبریلها نیز در بین گروهها تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P=0/001$ ) و آزمون تعقیبی توکی نشان داد بین گروه کنترل جوان و گروه سالمند ورزش مصرف ویتامین C با گروه کنترل سالمند تفاوت معنی داری وجود دارد ( $P=0/001$ ). بین گروه سالمند ورزش با گروه سالمند ورزش مصرف ویتامین C و گروه کنترل جوان تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $P=0/001$ ). همچنین بین گروه سالمند مصرف ویتامین C با گروه سالمند ورزش مصرف ویتامین C و گروه کنترل جوان نیز تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P=0/001$ ) (تصویر شماره ۴).

**تصویر شماره ۵** مقطع عرضی از بافت عضله موش صحرایی را نشان می دهد که با رنگهای هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی شده است. طبق نتایج حاصل از این تصاویر مشخص شد که بافت عضله در گروه جوان و گروه سالمند+ویتامین C+ورزش منسجم بوده و در مقایسه با سایر گروهها دارای بافت یکدست است که میوفیبریلها در کنار همدیگر قرار گرفته اند. همچنین بررسیها نشان دادند قطر این میوفیبریلها در گروه سالمند+ویتامین C+ورزش نسبت به سایر گروهها بیشتر بوده و با گروههای سالمند+ویتامین C و سالمند اختلاف معنی دار دارد ( $P=0/001$ ). از سوی دیگر تعداد میوفیبریلها در گروه جوان و گروه سالمند+ویتامین C+ورزش بیشتر بود، به گونه ای که این دو گروه با هم اختلاف معنی دار نداشتند، اما نسبت به گروههای سالمند، سالمند+ویتامین C و سالمند+ورزش دارای اختلاف معنی دار بود ( $P=0/001$ ).

### بحث

این تحقیق با هدف بررسی اثر تمرین مقاومتی به همراه مصرف ویتامین C بر بیان ژنهای TERT، TRF2، قطر و تعداد میوفیبریلهای عضله اسکلتی رت های نر و بیستار سالمند انجام شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد در رت های سالمند بیان TERT و TRF2 در مقایسه با رت های جوان کاهش معنی داری

هماتوکسیلین را روی آن ریخته و به هم زدیم و بعد از اضافه کردن پودر اکسید مرکوریک ظرف را زیر شیر آب سرد قرار دادیم و ضمن به هم زدن به وسیله میله شیشه ای سریع سرد کردیم. سپس ۱۰ سانتی متر مکعب اسید استیک گلاسیال اضافه کردیم و ۲۴ ساعت گذاشتیم بماند که بعد از آن قابل مصرف است. ضمناً نگهداری آن در شیشه های تیره، مناسب است.

### ساختن اتوزین

۱۰ گرم پودر اتوزین را در ۱۰۰ سانتی متر مکعب آب مقطر ریخته و حل کردیم. سپس آن را در ۹۰۰ سانتی متر مکعب الکل اتیلیک ۹۶ درجه ریخته و ۱۰ سانتی متر مکعب اسید استیک گلاسیال به آن اضافه کردیم. این رنگ بلافاصله قابل مصرف است.

### ساختن اسید الکل

۱۰ سانتی متر مکعب اسید کلریدریک در ۱۰۰۰ سانتی متر مکعب الکل اتیلیک ۷۰ درجه ریخته شد.

### ساختن لیتوم کربنات

پودر لیتوم کربنات را در مقداری آب معمولی ریخته به هم زدیم تا حل شود، به طوری که بعد از ته نشین شدن رسوب باقی ماند. سپس از روی محلول برداشته و استفاده شد و مجدداً آب ریخته تا برای دفعه دیگر آماده باشد.

به کمک رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، هسته ها رنگ آبی و سیتوپلاسم رنگ صورتی به خود می گیرند.

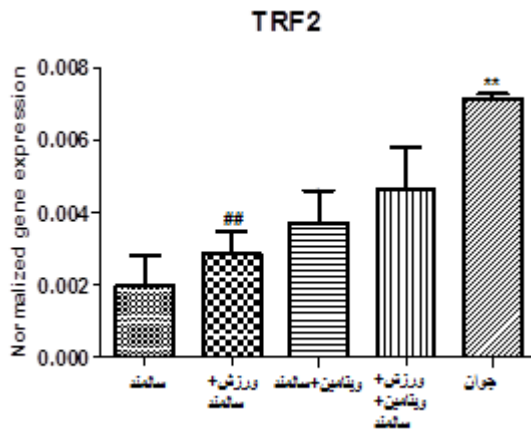
### روش آماری

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. سپس از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) برای بررسی تفاوت بین گروهی و از آزمون تعقیبی توکی برای مشخص کردن محل اختلاف گروهها استفاده شد. تمامی بررسیها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ صورت گرفت.

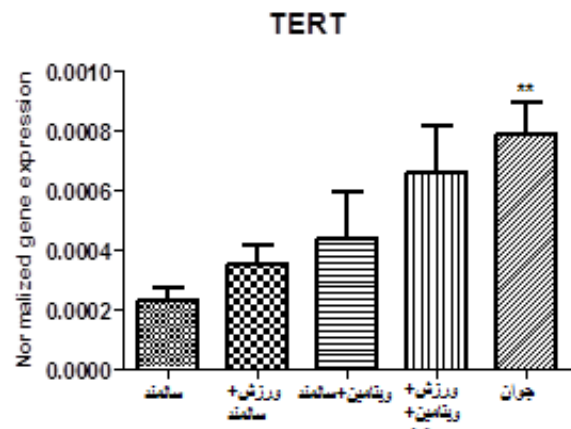
### یافته ها

نتایج آزمون آنوا نشان داد بین گروهها از نظر بیان TERT تفاوت معنی داری وجود دارد ( $P=0/001$ ) که بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، بین گروه کنترل سالمند با کنترل جوان تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P=0/001$ ). با این حال بین سایر گروهها تفاوت معنی داری مشاهده نشد (تصویر شماره ۱).

همچنین برای بیان TRF2 نیز تفاوت معنی داری بین گروهها وجود داشت ( $P=0/001$ )، به نحوی که بر اساس نتایج آزمون تعقیبی



تصویر ۲. بیان TRF2 در گروه‌های مختلف  
مقایسه با گروه سالمند،  $P < 0.05^{**}$  مقایسه با گروه جوان.

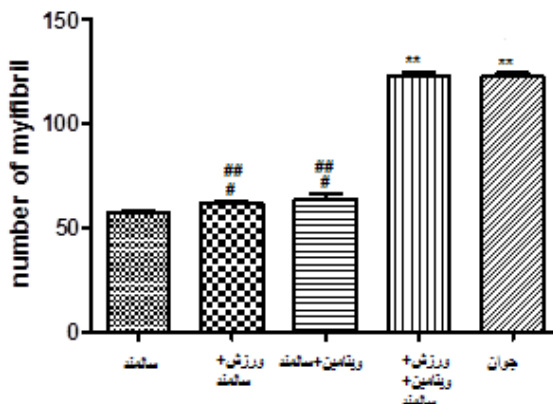


تصویر ۱. بیان TERT در گروه‌های مختلف  
مقایسه با گروه سالمند،  $P < 0.05^{**}$

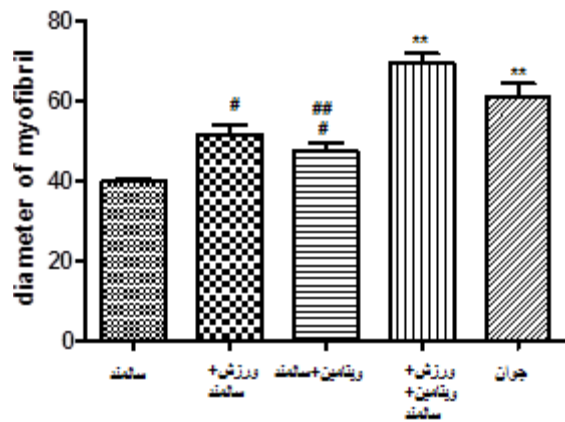
این نتایج با یافته‌های اسکندری و همکاران که اثر تمرین تناوبی را در بافت قلب بررسی کرده بودند، در مورد TERT همسو بوده، اما در مورد TRF2 هم‌خوانی ندارد [۲۰]. از دلایل متفاوت بودن نتایج می‌توان به نوع تمرین و نیز نوع بافت اشاره کرد. همچنین داماس و همکاران افزایش تعداد میوفیبریل‌ها در اثر تمرین مقاومتی را گزارش کردند [۲۳]. قبریل و همکاران نیز نشان دادند مصرف ویتامین C اثرات محافظتی در جلوگیری از آسیب عضله اسکلتی دارد. بر اساس نتایج آن‌ها ویتامین C باعث کاهش آسیب‌های ناشی از فشار اکسایشی و التهاب در عضلات می‌شود [۲۴].

مطالعات نشان داده‌اند افزایش سن به کوتاه شدن طول تلومر منجر می‌شود و فشار اکسایشی نقش مهمی در این زمینه دارد. سلول‌های اندوتلیال در نمونه‌های سالمند، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) بیشتری تولید می‌کنند که با اختلال عملکرد میتوکندری همراه است [۲۵]. در همین راستا مشخص شده است موش‌هایی

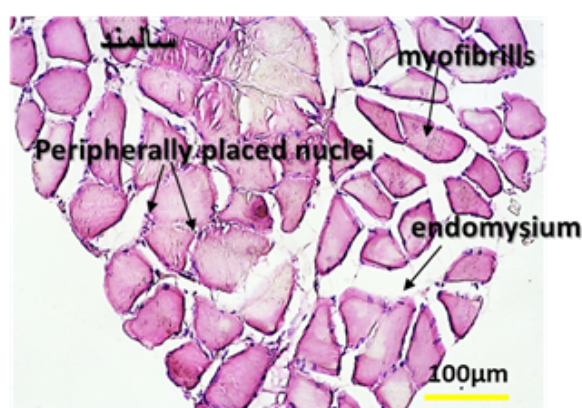
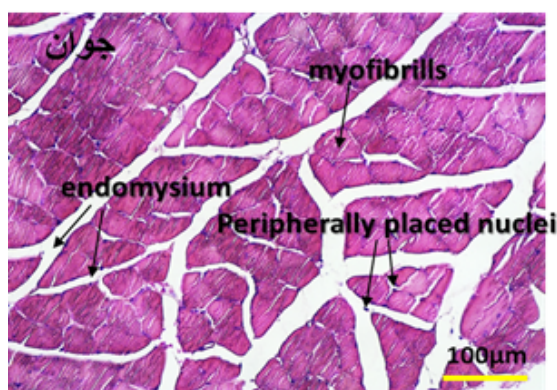
دارد. با این حال تمرین مقاومتی و مصرف ویتامین C علی‌رغم افزایش بیان TERT و TRF2، تغییر معنی‌داری در مقایسه با رت‌های کنترل سالمند ایجاد نکرد، هرچند بیان TERT و TRF2 به مقادیر آن در رت‌های کنترل جوان نزدیک شد. از نظر بیان TRF2 بین رت‌های گروه تمرین مقاومتی و رت‌های کنترل جوان تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، هرچند بین گروه تمرین مقاومتی به همراه مصرف ویتامین C با گروه کنترل جوان تفاوت معنی‌دار گزارش نشد. این مقادیر نشان می‌دهند که تمرین مقاومتی به همراه مصرف ویتامین C باعث بهبود TRF2 در موش‌های سالمند نسبت به موش‌های جوان شده است، هرچند این تغییرات معنی‌دار نبود. از سوی دیگر نتایج این تحقیق نشان داد موش‌های جوان و موش‌های گروه سالمند ورزش به همراه مصرف ویتامین C از مقادیر بالای قطر و تعداد میوفیبریل در مقایسه با دیگر گروه‌ها برخوردار بودند. به عبارت دیگر، انجام ورزش مقاومتی به همراه مصرف ویتامین C بیشترین تأثیر را در افزایش قطر و تعداد میوفیبریل داشت.



تصویر ۴. تعداد میوفیبریل‌ها در گروه‌های مختلف  
مقایسه با گروه سالمند،  $P < 0.05^{**}$  مقایسه با گروه جوان؛  
مقایسه با گروه ورزش به همراه ویتامین سالمند،  $P < 0.05^{*}$



تصویر ۳. قطر میوفیبریل‌ها در گروه‌های مختلف  
مقایسه با گروه سالمند،  $P < 0.05^{**}$  مقایسه با گروه جوان؛  
مقایسه با گروه ورزش به همراه ویتامین سالمند،  $P < 0.05^{*}$



تصویر ۵. مقطع عرضی از بافت عضله موش صحرایی

منجر به تغییر فعالیت و موقعیت قرارگیری انواعی از عوامل رونویسی می‌شود که با تغییر بیان ژن اجزای تلومر ارتباط دارد [۲۷].

از سوی دیگر، ورزش باعث افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان و کاهش فشار اکسایشی نیز می‌شود. نتایج پژوهش بقایی و همکاران نشان داد ورزش به کاهش فشار اکسایشی در موش‌های میانسال منجر شده و عوامل مؤثر در پیری سلول را تعدیل می‌کند [۲۸]. به نظر می‌رسد اثر تعاملی ورزش و ویتامین C در کاهش حداکثری فشار اکسایشی بر طول تلومر مؤثر است. در پژوهش حاضر بیان TERT و TRF2 و به‌خصوص قطر و تعداد میوفیبریل‌ها در گروه موش‌های سالمندی که ورزش مقاومتی انجام داده و ویتامین C مصرف کرده بودند به مقادیر گروه کنترل

که با کمبود  $MnSOD^2$  بافت عضله یا قلب مواجه هستند، فعالیت تلومراز در آن‌ها مهار و بیان TERT و TRF2 کاهش یافته است، اما تجویز مکمل‌های حاوی آنتی‌اکسیدان مانع از این روند می‌شود [۲۶]. فعالیت ورزشی می‌تواند تأثیر مثبتی بر ثبات و جلوگیری از کوتاه شدن طول تلومر و کاهش آنزیم تلومراز داشته باشد. لودلوو و همکاران افزایش فعالیت تلومراز در عضله اسکلتی و عدم تغییر فعالیت تلومراز در بافت کبد و قلب موش‌ها را به دنبال تمرین استقامتی گزارش کردند [۱۹]. بخشی از سازگاری‌های تلومراز به تمرینات را باید به مسیرهای  $MAPK^3$  نسبت داد. فعال شدن MAPK

2. Manganese superoxide dismutase
3. Mitogen-activated protein kinase

## تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

جوان نزدیک بود. در همین راستا نتایج برونز و همکاران نشان داده است مصرف ویتامین C باعث سازگاری‌های بهتر عضلات به تمرینات ورزشی می‌شود. به عبارت دیگر، کاستن از فشار اکسایشی و دیگر عوامل آسیب‌رسان باعث می‌شود عضلات بهتر بتوانند با تمرینات سازگاری پیدا کنند [۱۱]. از سوی دیگر افزایش TERT و به خصوص TRF2 را می‌توان از دلایل افزایش قطر و تعداد میوفیبریل‌ها در گروه موش‌های سالمند دانست. با توجه به محدود بودن تحقیقات در مورد TERT و TRF2 در افراد سالمند و نیز اثرات ویتامین C و ورزش مقاومتی بر آن نمی‌توان به مکانیزم‌های مستدل دیگری اشاره کرد. با این حال با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان چنین استنباط کرد که ورزش مقاومتی و مصرف ویتامین C باعث افزایش قطر و طول میوفیبریل عضله اسکلتی می‌شود. هرچند افزایش TRF2 و TERT در مقایسه با گروه کنترل سالمند معنی‌دار نبود، این احتمال وجود دارد در صورتی که مدت‌زمان دوره تحقیق افزایش پیدا کند بتوانیم به نتایج متفاوتی دست یابیم.

## نتیجه‌گیری

در نهایت نتایج این تحقیق نشان داد هشت هفته تمرین مقاومتی به همراه مکمل‌یاری ویتامین C در موش‌های صحرائی مسن احتمالاً باعث افزایش معنی‌دار تعداد و قطر میوفیبریل عضله اسکلتی می‌شود. همچنین علی‌رغم افزایشی که در بیان TRF2 و TERT مشاهده شد، این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود. تغییرات فشار اکسایشی و آنتی‌اکسیدان‌ها در این تحقیق اندازه‌گیری نشده است و از محدودیت‌های این تحقیق به شمار می‌رود.

## ملاحظات اخلاقی

### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این تحقیق به شماره IR.SSRI.REC.1399.115 در کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی تأیید شده است.

### حامی مالی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری نویسنده اول در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی است.

### مشارکت‌نویسندگان

نوشتن، ویرایش و مرور: یوسف شیرخانی؛ ویرایش و بررسی نهایی: مقصود پیری، حسن متین‌همایی؛ تحلیل داده‌ها: محمدعلی آذربایجانی.

## References

- [1] Miljkovic N, Lim JY, Miljkovic I, Frontera WR. Aging of skeletal muscle fibers. *Annals of Rehabilitation Medicine*. 2015; 39(2):155-92. [DOI:10.5535/arm.2015.39.2.155] [PMID] [PMCID]
- [2] Morsiani C, Bacalini MG, Santoro A, Garagnani P, Collura S, D'Errico A, et al. The peculiar aging of human liver: A geroscience perspective within transplant context. *Ageing Research Reviews*. 2019; 51:24-34. [DOI:10.1016/j.arr.2019.02.002] [PMID]
- [3] Ho RT, Chan JS, Wang CW, Lau BW, So KF, Yuen LP, et al. A randomized controlled trial of qigong exercise on fatigue symptoms, functioning, and telomerase activity in persons with chronic fatigue or chronic fatigue syndrome. *Annals of Behavioral Medicine*. 2012; 44(2):160-70. [DOI:10.1007/s12160-012-9381-6] [PMID] [PMCID]
- [4] Pejenaute Á, Cortés A, Marqués J, Montero L, Belouqui Ó, Fortuño A, et al. NADPH oxidase overactivity underlies telomere shortening in human atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(4):1434. [DOI:10.3390/ijms21041434] [PMID] [PMCID]
- [5] Heidenreich B, Kumar R. TERT promoter mutations in telomere biology. *Mutation Research*. 2017; 771:15-31. [DOI:10.1016/j.mrev.2016.11.002] [PMID]
- [6] Slattery ML, Herrick JS, Pellatt AJ, Wolff RK, Mullany LE. Telomere length, TERT, and miRNA expression. *PLoS One*. 2016; 11(9):e0162077. [DOI:10.1371/journal.pone.0162077] [PMID] [PMCID]
- [7] Monaghan P, Eisenberg DT, Harrington L, Nussey D. Understanding diversity in telomere dynamics. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 2018; 373(1741):20160435. [DOI:10.1098/rstb.2016.0435] [PMID] [PMCID]
- [8] Prasad KN, Wu M, Bondy SC. Telomere shortening during aging: Attenuation by antioxidants and anti-inflammatory agents. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2017; 164:61-6. [DOI:10.1016/j.mad.2017.04.004] [PMID]
- [9] de Vos-Houben JM, Ottenheim NR, Kafatos A, Buijsse B, Hageman GJ, Kromhout D, et al. Telomere length, oxidative stress, and antioxidant status in elderly men in Zutphen and Crete. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2012; 133(6):373-7. [DOI:10.1016/j.mad.2012.04.003] [PMID]
- [10] Kiecolt-Glaser JK, Epel ES, Belury MA, Andridge R, Lin J, Glaser R, et al. Omega-3 fatty acids, oxidative stress, and leukocyte telomere length: A randomized controlled trial. *Brain, Behavior and Immunity*. 2013; 28:16-24. [DOI:10.1016/j.bbi.2012.09.004] [PMID] [PMCID]
- [11] Bruns DR, Ehrlicher SE, Khademi S, Biela LM, Peelor III FF, Miller BF, et al. Differential effects of vitamin C or protandim on skeletal muscle adaptation to exercise. *Journal of Applied Physiology*. 2018; 125(2):661-71. [DOI:10.1152/jappphysiol.00277.2018] [PMID] [PMCID]
- [12] Negaresh R, Ranjbar R, Habibi A, Gharibvand MM. The relationship between muscle volume and strength and some factors associated with sarcopenia in old men compared with young men. *Zanko Journal of Medical Sciences*. 2016; 17(54):23-34. <https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=520044>
- [13] Harris SE, Deary IJ, MacIntyre A, Lamb KJ, Radhakrishnan K, Starr JM, et al. The association between telomere length, physical health, cognitive ageing, and mortality in non-demented older people. *Neuroscience Letters*. 2006; 406(3):260-4. [DOI:10.1016/j.neulet.2006.07.055] [PMID]
- [14] Jiang H, Schiffer E, Song Z, Wang J, Züribig P, Thedieck K, et al. Proteins induced by telomere dysfunction and DNA damage represent biomarkers of human aging and disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008; 105(32):11299-304. [DOI:10.1073/pnas.0801457105] [PMID] [PMCID]
- [15] 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. *Journal of Geriatric Nursing*. 2016; 3(1):62-75. [DOI:10.21859/jgn.3.1.62]
- [16] Rae DE, Vignaud A, Butler-Browne GS, Thornell LE, Sinclair-Smith C, Derman EW, et al. Skeletal muscle telomere length in healthy, experienced, endurance runners. *European Journal of Applied Physiology*. 2010; 109(2):323-30. [DOI:10.1007/s00421-010-1353-6] [PMID]
- [17] Ponsot E, Lexell J, Kadi F. Skeletal muscle telomere length is not impaired in healthy physically active old women and men. *Muscle & Nerve*. 2008; 37(4):467-72. [DOI:10.1002/mus.20964] [PMID]
- [18] Werner C, Fürster T, Widmann T, Pöss J, Roggia C, Hanhoun M, et al. Physical exercise prevents cellular senescence in circulating leukocytes and in the vessel wall. *Circulation*. 2009; 120(24):2438-47. [DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.861005] [PMID]
- [19] Ludlow AT, Witkowski S, Marshall MR, Wang J, Lima LC, Guth LM, et al. Chronic exercise modifies age-related telomere dynamics in a tissue-specific fashion. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2012; 67(9):911-26. [DOI:10.1093/gerona/gls002] [PMID] [PMCID]
- [20] Eskandari A, Fashi M, Dakhili AB. Effect of high intensity interval and continuous endurance training on TRF2 and TERT gene expression in heart tissue of aging male rats. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*. 2019; 21(2):43-9. <https://www.sid.ir/fa/journal/ViewPaper.aspx?id=538969>
- [21] Thirupathi A, da Silva Pieri BL, Queiroz JAMP, Rodrigues MS, de Bem Silveira G, de Souza DR, et al. Strength training and aerobic exercise alter mitochondrial parameters in brown adipose tissue and equally reduce body adiposity in aged rats. *Journal of physiology and biochemistry*. 2019; 75(1):101-8. [DOI:10.1007/s13105-019-00663-x] [PMID]
- [22] Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, et al. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2012; 37(6):1239-46. [DOI:10.1139/h2012-115] [PMID]
- [23] Damas F, Phillips SM, Libardi CA, Vechin FC, Lixandrão ME, Jannig PR, et al. Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. *Journal of Physiology*. 2016; 594(18):5209-22. [DOI:10.1113/JP272472] [PMID] [PMCID]
- [24] Gabriel SG, Shakib M-CR, Gabriel GN. Protective role of vitamin C intake on muscle damage in male adolescents performing strenuous physical activity. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2018; 6(9):1594-8. [DOI:10.3889/oamjms.2018.337] [PMID] [PMCID]
- [25] Haendeler J, Hoffmann Jr, Diehl JF, Vasa M, Spyridopoulos I, Zeher AM, et al. Antioxidants inhibit nuclear export of telomerase reverse transcriptase and delay replicative senescence of endothelial cells. *Circulation Research*. 2004; 94(6):768-75. [DOI:10.1161/01.RES.0000121104.05977.F3] [PMID]
- [26] Makino N, Maeda T, Oyama JI, Sasaki M, Higuchi Y, Mimori K, et al. Antioxidant therapy attenuates myocardial telomerase activity reduction in superoxide dismutase-deficient mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2011; 50(4):670-7. [DOI:10.1016/j.yjmcc.2010.12.014] [PMID]

- [27] Rose BA, Force T, Wang Y. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: Angels versus demons in a heart-breaking tale. *Physiological Reviews*. 2010; 90(4):1507-46. [DOI:10.1152/physrev.00054.2009] [PMID] [PMCID]
- [28] Baghaiee B, Karimi P, Siahkoughian M, Pescatello LS. Moderate aerobic exercise training decreases middle-aged induced pathologic cardiac hypertrophy by improving Klotho expression, MAPK signaling pathway and oxidative stress status in Wistar rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2018; 21(9):911-9. [https://ijbms.mums.ac.ir/article\\_11238.html](https://ijbms.mums.ac.ir/article_11238.html)