

The Effect of Simultaneous Administration of Nanoliposomal Selenium and Resistance Training on the Gene Expression of PINK1, Parkin, and ATF6 in the Soleus Muscle of Aged Rats

Mehrdad Rahimzadeh^{ID}, Amir Srashin^{ID}, Foad Feizolahi^{ID}, Mohamad Ali Soleyman Fallah^{ID}

Department of Exercise Physiology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

Abstract

Background and Purpose: Aging is associated with muscle atrophy, which is exacerbated by age-related oxidative stress. Oxidative stress can worsen endoplasmic reticulum (ER) stress by increasing misfolded proteins and protein aggregation, creating a vicious cycle that ultimately leads to muscle atrophy. Resistance training has been identified as an effective tool for preventing and mitigating muscle atrophy. Furthermore, selenium, with its high antioxidant properties closely linked to redox homeostasis, has also been considered in this context. Therefore, this study aims to investigate the effect of simultaneous administration nanoliposomal selenium and resistance training on the gene expression of PINK1, Parkin, and ATF6 in the soleus muscle of aged rats.

Materials and Methods: 20 male Wistar rats, with an average age of 20 months, were randomly allocated into four equal groups: Aged Control + Solvent (distilled water), Aged + Supplement, Aged + Resistance Exercise, and Aged + Supplement + Resistance Exercise. Resistance training was conducted for eight weeks, four times per week. The training protocol involved climbing a resistance ladder with an 85-degree incline, while a weight equivalent to 25% of the rats' body weight was attached to their tails. Each session consisted of three to five sets of 8-12 repetitions, with progressive overload applied every two weeks. Nanoliposomal selenium supplementation at a dosage of 2.5 mg/kg body weight was administered via gavage, coinciding with the training days. Finally, the gene expression of PINK1, Parkin, and ATF6 was measured in the soleus muscle using Real-time PCR. The obtained data were analyzed using two-way ANOVA test at a significance level of $P \leq 0.05$.

Results: Resistance training and nanoliposomal selenium supplementation independently led to a significant reduction in PINK1 ($P=0.001$ for training and $P=0.005$ for supplement), Parkin ($P=0.001$ for training and $P=0.002$ for supplement), and ATF6 ($P=0.001$ for training and $P=0.005$ for supplement) gene expression. However, the interactive effect of resistance training and nanoliposomal selenium on PINK1 ($P=0.120$), Parkin ($P=0.141$), and ATF6 ($P=0.119$) was not significant.

Conclusion: Although the resistance training and nanoliposomal selenium appear to be effective individually in reducing the expression of PINK1, Parkin, and ATF6 genes in aged rats, and could potentially combat age-related muscle atrophy by mitigating oxidative stress and its interplay with ER stress, further research seems necessary to elucidate the interactive effects of resistance training and selenium in this context.

Keywords: Resistance Exercise, Sodium Selenite, Aging, PINK1, ATF6

How to cite this article: Rahimzadeh, M., Sarshin, A., Feizolahi, F., Soleyman Fallah, M.A. The Effect of Simultaneous Administration of Nanoliposomal Selenium and Resistance Training on the Gene

Expression of PINK1, Parkin, and ATF6 in the Soleus Muscle of Aged Rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(3):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: amsarshin@gmail.com

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2026.244022.1447>

Received: 00/00/2025

Revised: 00/00/2025

Accepted: 00/00/2025

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

نسخه پیش انتشار

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۳، صفحه‌های ۹-۴

مقاله پژوهشی

تاثیر تجویز همزمان سلینیوم نانولیپوزومال به همراه تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 در عضله نعلی موش‌های مسن

مهرداد رحیمزاده^{ID}، امیر سرشین*^{ID}، فؤاد فیض‌الهی^{ID}، محمدعلی سلیمان‌فلاح^{ID}

گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

چکیده

زمینه و هدف: یکی از تغییرات پیری که با کاهش عملکرد عضلانی مرتبط است، آتروفی عضلانی می‌باشد که به واسطه افزایش استرس اکسیداتیو مرتبط با سن، تشدید می‌گردد. استرس اکسیداتیو، می‌تواند استرس شبکه اندوپلاسمی (ER) را با افزایش تاخوردگی‌های اشتباه و تجمع پروتئین تشدید کند که این امر یک چرخه معیوب ایجاد می‌کند و نهایتاً به بروز آتروفی عضلانی منجر می‌شود. تمرین مقاومتی به عنوان ابزاری مؤثر برای پیشگیری و کاهش خطر آتروفی عضلانی معرفی شده است. هم‌چنین، دریافت سلینیوم با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا که ارتباط نزدیکی با هموستاز ردوکس دارد نیز در این زمینه مطرح شده است. لذا هدف این تحقیق بررسی تاثیر تجویز همزمان سلینیوم نانولیپوزومال به همراه تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 در عضله نعلی موش‌های پیر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۰ سر موش صحرایی نر ویستار با میانگین سنی ۲۰ ماه به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی شامل کنترل مسن+حلال (آب مقطر)، مسن+مکمل، مسن+تمرین مقاومتی و مسن+مکمل+تمرین مقاومتی تقسیم شدند. تمرین مقاومتی هشت هفته، چهار جلسه در هفته شامل صعود از نردبان مقاومتی با شیب ۸۵ درجه همراه با وزنه‌ای معادل ۲۵ درصد وزن بدن متصل به دم موش‌ها، سه الی پنج ست و ۸-۱۲ تکرار همراه با اعمال اضافه بار به‌صورت دو هفته یک‌بار انجام شد. گاوژ مکمل سلینیوم نانولیپوزومال ۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، مطابق با روزهای تمرین صورت گرفت. در نهایت، بیان ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 به روش Real-time PCR در عضله نعلی اندازه‌گیری شد. داده‌های بدست آمده توسط نرم‌افزار SPSS با آزمون آنوای دوعاملی در سطح $P \leq 0.05$ تحلیل شدند.

نتایج: تمرین مقاومتی و مکمل سلینیوم نانولیپوزومال هر کدام به‌طور مستقل، منجر به کاهش معنی‌دار PINK1 ($P=0.001$) برای تمرین و $P=0.005$ برای مکمل)، Parkin ($P=0.001$ برای تمرین و $P=0.002$ برای مکمل) و ATF6 ($P=0.001$ برای تمرین و $P=0.005$ برای مکمل) شدند. اما اثر تعاملی تمرین مقاومتی و سلینیوم نانولیپوزومال بر PINK1 ($P=0.120$)، Parkin ($P=0.141$) و ATF6 ($P=0.119$) معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: هر چند که تمرین مقاومتی و سلنیوم نانولیپوزومال هر کدام به‌طور جداگانه در کاهش بیان ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 در موش‌های مسن موثر به نظر می‌رسند و احتمالاً می‌توانند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و ارتباط متقابل آن با استرس ER، با آتروفی عضلانی وابسته به افزایش سن مقابله کنند، اما به نظر می‌رسد که برای روشن شدن اثر تعاملی تمرین مقاومتی و سلنیوم در این زمینه نیاز به پژوهش‌های بیشتری باشد.

واژه‌های کلیدی: ورزش مقاومتی، سدیم سلنیت، سالمندی، PINK1، ATF6

نحوه استناد به این مقاله: رحیم‌زاده م، سرشین ا، فیض‌الهی ف، سلیمان‌فلاح م.ع. تاثیر تجویز همزمان سلنیوم نانولیپوزومال به همراه تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 در عضله نعلی موش‌های مسن. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۳): ۹۹.

* رایانامه نویسنده مسئول: amsarshin@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰

مقدمه

آتروفی عضلات اسکلتی یکی از ویژگی‌های افزایش سن است که به اختلال حرکتی، ضعف جسمانی و افزایش احتمال ابتلا به بیماری در افراد مسن منجر می‌شود (۱). افزایش سن، با افزایش استرس شبکه اندوپلاسمی (ER) همراه است که بر سنتز پروتئین، تاخوردگی آن و تشکیل ساختارهای نوع سوم پروتئین‌ها تأثیر منفی می‌گذارد که این موضوع ابتلا به بیماری‌های مرتبط با افزایش سن را تقویت می‌کند (۲). علاوه بر این، استرس ER با استرس اکسیداتیو تعامل دارد و باعث تشدید تاخوردگی اشتباه پروتئین و آسیب‌های مختلف سلولی به ویژه اختلال عملکرد میتوکندری می‌شود (۳).

در این میان، پروتئین کیناز ۱ ناشی از همولوگ فسفاتاز و تنسین یا PTEN^۱ (PINK1)، یک سرین/ترونین کیناز هدف‌دار میتوکندری است که نقش محافظتی در برابر اختلال عملکرد میتوکندری و آپوپتوز از طریق کنترل کیفیت میتوکندری با فعال کردن مسیر سیگنالینگ آسیب - پاسخ دارد (۴). اهمیت PINK1 در میتوکندری توسط خواص محافظت سلولی آن برای مقابله با استرس اکسیداتیو منعکس شده است. هنگامی که میتوکندری‌ها توسط دپلاریزاسیون سلولی در معرض خطر قرار می‌گیرند، PINK1 در سطح میتوکندری تجمع می‌یابد، جایی که پروتئین پارکین (Parkin) را از سیتوزول جذب می‌کند؛ پروتئینی که به نوبه خود باعث تخریب میتوکندری می‌شود. در واقع، PINK1 و لیگاز E3 یوبیکوئیتین یعنی پارکین، در حس کردن وضعیت عملکردی میتوکندری و علامت‌گذاری میتوکندری‌های آسیب‌دیده برای تخریب از طریق مسیر اتوفاژی با هم عمل می‌کنند (۵). شواهد نشان می‌دهد که آسیب میتوکندری می‌تواند به‌طور متقابل موجب استرس ER و فعال شدن پاسخ پروتئین تانخورده (UPR)^۴ گردد که از طریق فاکتورهای رونویسی آن، به‌ویژه فاکتور رونویسی فعال‌کننده-۶ (ATF6)^۵، بیان

¹ Endoplasmic Reticulum

² Phosphatase and Tensin (PTEN) induced protein kinase-1

³ Parkin

⁴ Unfolded protein response

⁵ Activating Transcription Factor 6

پارکین را افزایش داده و کارایی مسیر میتوفاژی را ارتقا می‌دهد. ATF6 با تنظیم ژن‌های مرتبط با تخریب پروتئین‌ها و برخی اجزای سیستم یوبیکوئیتین‌سازی، نقش واسطه‌ای مهمی در هماهنگی استرس ER با استرس میتوکندری داشته و از این طریق، فعالیت پارکین را تسهیل می‌کند (۶،۷).

تعامل بین UPR و اتوفاژی ممکن است نقش مهمی در حفظ کنترل کیفیت پروتئین عضلانی به ویژه در فرایند پیری ایفا کند. تمرینات ورزشی اثرات مثبت متعددی بر اختلال عملکرد میتوکندری دارند؛ در همین راستا، گزارش شده است که فعالیت بدنی می‌تواند UPR را فعال کرده و اختلال عملکرد شبکه آندوپلاسمی ناشی از سن را کاهش داده یا از آن جلوگیری کند. نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی استبانز^۱ و همکاران (۲۰۱۹) نشان می‌دهد که تمرین مقاومتی ۸ هفته‌ای با فعال‌سازی ATF6، کیناز شبه-PKR شبکه آندوپلاسمی^۲ (PERK) و آنزیم-۱ وابسته به اینوزیتول^۳ (IRE1)، که بازوهای اصلی UPR محسوب می‌شوند، بیوژنز میتوکندری را تحریک کرده، پویایی میتوکندری را حفظ می‌کند و از فعال شدن میتوفاژی توسط پروتئین‌های باز شده جلوگیری می‌کند؛ هر چند که پروتکل تمرین مقاومتی در این تحقیق، تاثیری بر فعال شدن محور PINK1/Parkin نداشته است (۸). در پژوهش دیگری مسکوئیتا^۴ و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که ۱۰ هفته تمرین مقاومتی در سالمندان تمرین نکرده، باعث افزایش محتوای پروتئین‌های زنجیره انتقال الکترون و افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با پویایی میتوکندری در عضله اسکلتی افراد مسن شد. با این حال، جالب توجه است که نشانگرهای پروتئینی بیوژنز میتوکندری شامل هم‌فعال کننده-یک آلفای گیرنده گامای فعال شده با تکثیرکننده پروکسی‌زوم^۵ (PGC-1α)، فاکتور رونویسی A میتوکندریایی^۶ (TFAM) و عامل تنفس هسته‌ای-۱^۷ (NRF1) و میتوفاژی (شامل PINK1 و پارکین) به طور قابل توجهی تغییر نکردند (۹). شواهد نشان می‌دهند که فعالیت بدنی از طریق ارتقای تناسب میتوکندریایی علیه پیشرفت بیماری‌های مختلف مرتبط با سالمندی عمل می‌کند. ورزش ممکن است تأثیر درمانی خود را با معکوس کردن اختلال عملکرد میتوکندری از طریق مسیر میتوفاژی سیرتوئین^۸ (SIRT1) - پروتئین جعبه سرچنگالی^۹ O1,3^۹ (FOXO1/3) - PINK1 - Parkin اعمال کند (۱۰).

با توجه به نقش افزایش استرس اکسایشی وابسته به سن در القای استرس ER و اختلال در عملکرد میتوکندری، ارائه راهکارهای درمانی که بتواند با استرس اکسایشی مقابله کند، حائز اهمیت است. یکی از این راهکارهای پیشنهادی، استفاده از مکمل‌های غذایی با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا از جمله سلنیوم است؛ سلنیوم یک ماده مغذی معدنی ضروری است که ارتباط نزدیکی با هموستاز ردوکس در بدن دارد. منابع غذایی رایج سلنیوم شامل غلات سبوس‌دار، مغزها و دانه‌ها، ماهی‌ها و غذاهای دریایی، تخم‌مرغ، گوشت قرمز و سفید هستند که می‌توانند به عنوان راهکار تغذیه‌ای مکمل، در کنار مکمل‌یاری سلنیوم، به تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی و تعدیل استرس اکسیداتیو کمک کنند. سلنیوم عمدتاً عملکردهای فیزیولوژیکی مختلف خود را به شکل سلنو پروتئین‌ها، به ویژه گلووتاتیون پراکسیداز (GPX) اعمال می‌کند و اثرات آنتی‌اکسیدانی سلنیوم، به تقویت فعالیت گلووتاتیون پراکسیداز درون‌زاد برمی‌گردد (۱۱). در همین زمینه، جینگ^۱ و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که یک دوره مکمل‌یاری با هیدروکسی سلنو متیونین در نمونه‌های آزمایشگاهی مدل استرس اکسیداتیو عضلانی، توانست

¹ Estébanez

² PKR-like endoplasmic reticulum kinase

³ Inositol-requiring enzyme 1

⁴ Mesquita

⁵ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

⁶ Transcription Factor A, Mitochondrial

⁷ Nuclear respiratory factor-1

⁸ Sirtuin 1

⁹ Forkhead box O 1,3

¹ Glutathione peroxidase

¹ Jing

سطوح گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن^۱ (ROS) عضلانی را کاهش دهد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد و به‌طور کلی منجر به کاهش اختلال عملکرد میتوکندری و استرس ER در این نمونه‌ها شد (۱۲). علاوه بر این، اثرات سلنیوم بر میتوفاژی و عملکرد میتوکندریایی به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است؛ در همین راستا، مطالعه‌ای نشان داد که درمان با سلنیوم در نمونه‌های مدل القای میتوفاژی با واسطه کادمیوم، توانست بیان پروتئین‌های میتوکندریایی محور PINK1-Parkin را به‌طور معناداری کاهش دهد (۱۳). در پژوهش جدیدی ژانگ^۲ و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که دریافت کم سلنیوم، به‌تنهایی و در کنار دریافت پایین پروتئین در موش‌های مدل بیماری قلبی، توانست به‌طور معناداری بیان پروتئین‌های PINK1 و پارکین را در قلب افزایش دهد (۱۴).

در مجموع، پیشینه تحقیقات موجود به این مساله اشاره کرده‌اند که فعالیت‌های ورزشی به ویژه از نوع مقاومتی در افراد مسن، با اثرات مثبتی که بر پویایی میتوکندری و میتوفاژی می‌گذارد، در کاهش استرس ER، استرس میتوکندریایی و استرس اکسایشی در سالمندی دخیل هستند (۸، ۱۰)؛ اگرچه یافته‌های ضد و نقیضی در این خصوص بر فعالیت محور PINK1/Parkin وجود دارد که نیاز به بررسی‌های بیشتر را مطرح می‌کند (۹). از طرفی دیگر، نقش تمرینات مقاومتی در پیشگیری و مهار آتروفی عضلانی در سنین بالا طی تحقیقات مکرر و مطالعات فراتحلیلی مورد تایید قرار گرفته است (۸، ۱۵). علاوه بر این، ادبیات پیشینه موجود حاکی از آن است که مواد آنتی‌اکسیدانی از جمله سلنیوم به‌طور کلی در کاهش استرس‌های مذکور موثر هستند (۱۱-۱۳). از آنجا که تمرین مقاومتی با ایجاد کنترل‌شده ROS، مسیرهای عامل تنفس هسته‌ای^۳ (NRF2) و پروتئین کیناز فعال‌شده با آدنوزین مونوفسفات^۴ (AMPK) را فعال کرده و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد و فاکتورهای مرتبط با بیوزن میتوکندری را افزایش می‌دهد (۱۰) و در مقابل، سلنیوم به‌عنوان کوفاکتور اصلی آنزیم‌هایی مانند GPx عمل کرده و از طریق فعال‌سازی مسیر NRF2، بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تقویت می‌کند (۱۱)، به‌نظر می‌رسد که تعامل دو مداخله در کاهش استرس اکسایشی دخیل در آتروفی عضلانی مرتبط با سالمندی موثر واقع شود؛ با این حال، مطالعات بسیار معدودی به اثرات همزمان تمرینات مقاومتی و مکمل‌یاری با سلنیوم بر استرس ER، استرس میتوکندری و استرس اکسیداتیو در سالمندان پرداخته‌اند؛ لذا ضرورت تحقیق در خصوص بررسی تاثیر تجویز همزمان سلنیوم نانولیپوزومال به همراه تمرین مقاومتی در کنترل استرس شبکه آندوپلاسمی در فرایند سنتز پروتئین عضلانی از طریق تنظیم آبشار ژنی PINK1/Parkin/ATF6 در دوران سالمندی احساس می‌شود.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این مطالعه تجربی و با هدف بنیادی به منظور تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز در پژوهش، با توجه به دشواری‌های تعیین انحراف معیار و اندازه اثر در زمان‌هایی که بیش از ۳ گروه وجود دارد، توصیه شده است از نرم افزارهای آماری مانند G Power استفاده شود. پس از استفاده از این نرم افزار، با انتخاب آزمون F و سپس روش آماری تحلیل واریانس (اثرات اصلی و تعاملی)، اندازه اثر بزرگ یا قوی، میزان α معادل ۰/۰۵ و توان آماری ۰/۷۰ در نظر گرفته شد و در نهایت ۲۰ سر موش برای ۴ گروه تعیین شد. استفاده از اندازه اثر بزرگ، بر اساس اندازه اثر گزارش شده در نتایج حاصل از پژوهش‌های پیشین است. موش‌های صحرایی مسن (۱۸ تا ۲۲ ماهه) نر و از نژاد ویستار با میانگین وزن بدن 380 ± 20 گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. موش‌های مسن به مدت دو هفته با هدف سازگاری با محیط در قفس‌هایی استاندارد از جنس

¹ Reactive oxygen speices

² Zhang

³ Nuclear respiratory factor-2

⁴ Adenosine monophosphate-activated protein kinase

پلی‌کربنات شفاف، به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند و به آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی که تولید شرکت خوراک دام بهپرو است، به صورت آزادانه دسترسی داشتند. لازم به ذکر است که تمامی روش‌های آزمایشگاهی در این پژوهش مطابق با دستورالعمل مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی ARRIVE و همچنین مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی صورت گرفت. این تحقیق بر اساس طرح پژوهشی رساله دکتری با کد ۱۶۳۲۴۴۰۳۶ که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ثبت شده است، انجام شد.

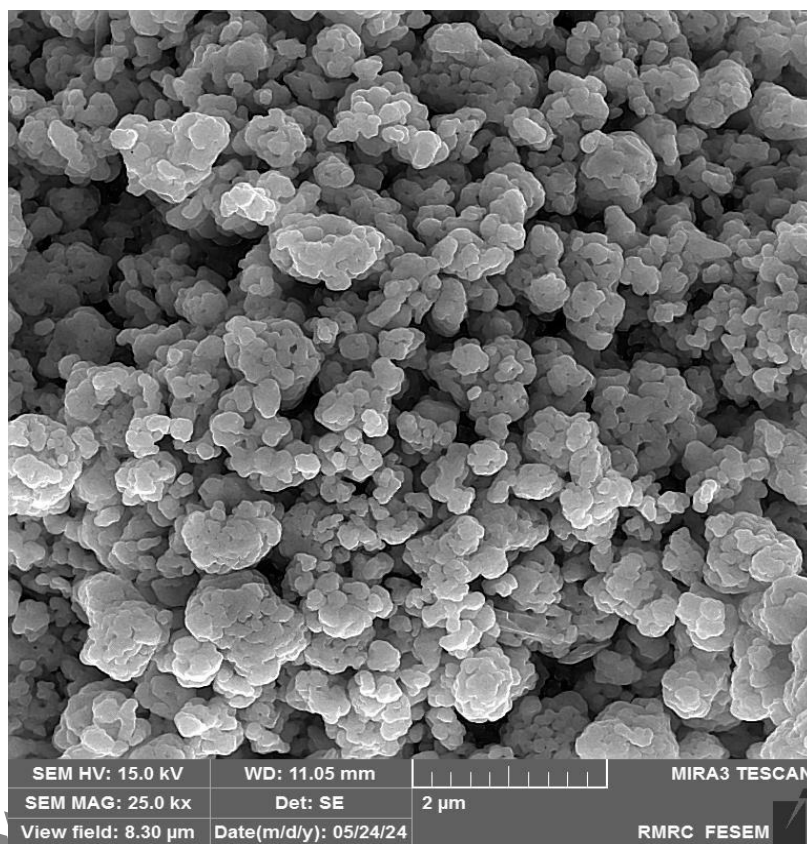
روش اجرای پژوهش: نمونه‌های مسن پس از سازگاری با محیط جدید، به روش تصادفی ساده به چهار گروه شامل پنج سر موش در هر گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل مسن + حلال، شامل موش‌های مسن که به مدت هشت هفته به هیچ نوع فعالیت ورزشی نداشتند و فقط حلال (آب مقطر) دریافت کردند. ۲- گروه مسن + مکمل، شامل موش‌های مسن که به مدت هشت هفته مکمل سلنیوم نانولیپوزومال دریافت کردند. ۳- گروه مسن + تمرین مقاومتی، شامل موش‌های مسن که به مدت هشت هفته به تمرین مقاومتی پرداختند. ۴- گروه مسن + مکمل + تمرین مقاومتی شامل موش‌های مسن که به مدت هشت هفته هم مداخله مکمل و هم مداخله فعالیت بدنی را دریافت کردند. با توجه به محدودیت‌های جدید ارائه شده توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و جلوگیری از کشتار بی‌رویه حیوانات و به منظور اخذ کد اخلاق، پیشنهاد شد که حداقل تعداد حیوانات (پنج سر موش در هر گروه) مد نظر قرار گیرد.

به منظور آشناسازی نمونه‌ها با پروتکل تمرینی، پیش از شروع دوره اصلی پژوهش که شامل هشت هفته می‌شود، نمونه‌های گروه مسن + تمرین مقاومتی و گروه مسن + مکمل + تمرین مقاومتی، به مدت یک هفته با پروتکل تمرین مقاومتی آشنا شدند. پروتکل تمرین مقاومتی مطابق با پروتکل شیرخانی و دیگران (۱۴۰۰) به مدت هشت هفته و چهار جلسه در هفته انجام شد. تمرین مقاومتی مستلزم آن بود که موش‌ها از یک نردبان مقاومتی یک متری، با شبکه دو سانتی‌متری و شیب ۸۵ درجه، همراه با وزنه‌هایی که به دم آن‌ها متصل بود، صعود کنند. موش‌ها پس از قرار گرفتن در پایه نردبان، به صورت دستی برای بالا رفتن تحریک شدند؛ وزنه متصل به دم موش‌ها در هفته اول و دوم، ۲۵ درصد وزن بدن حیوان بود و اضافه بار فزاینده معادل ۲۵ درصد به صورت دو هفته یک‌بار اعمال شد. به‌طوری که وزنه متصل در هفته‌های سوم و چهارم، معادل ۵۰ درصد، هفته‌های پنجم و ششم، معادل ۷۵ درصد و در هفته‌های هفتم و هشتم، معادل ۱۰۰ درصد وزن بدن حیوان بود. تمرین مقاومتی در هر جلسه شامل سه الی پنج ست هشت تا دوازده تکراری، با استراحت دو دقیقه‌ای بین ست‌ها مطابق با دستورالعمل اجرا شد (۱۶).

نانوذرات سلنیوم به روش احیای شیمیایی نمک سدیم سلنیت با اسیدآمینو ال-سیستئین سنتز شد. برای این کار ابتدا ۰/۱۷۳۸ گرم از نمک سدیم سلنیت در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید تا محلول ۰/۱ مولار آن به‌دست آید. همچنین برای تهیه محلول ال-سیستئین ۵۰ میلی‌مولار، مقدار ۰/۳۰۴۴ گرم آن در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم سلنیت حاصل به یک بالن حجمی ۱۰۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس ۴۰ میلی‌لیتر از محلول ال-سیستئین به صورت قطره قطره با پیپت مدرج، به بالن محتوی محلول سدیم سلنیت اضافه شد و با افزودن آب مقطر، به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر افزایش پیدا کرد. ترکیب فوق به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت هم‌زدن مداوم با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. بعد از طی این مدت محلول کلئیدال^۱ نانوذرات سلنیوم به رنگ قرمز تا آجری تشکیل شد که به وسیله دستگاه آون در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک و پودر نانوذرات خشک به منظور مطالعات بعدی جمع‌آوری و

^۱ Cloeidal

نگهداری شد. برای تأیید سنتز نانوذرات سلنیوم، از آزمون‌های شناسایی با میکروسکوپ الکترونی با نشر میدانی^۱ (FESEM) (شکل ۱) و بررسی پراکندگی نور پویا^۲ (DLS) استفاده شد (۱۷). تمامی مواد استفاده شده در این مطالعه از شرکت سیگما، انگلستان تهیه شد.



شکل ۱. تصویر آزمون FESEM جهت تأیید سنتز کافی نانوذرات سدیم سلنیت

سپس مکمل‌یاری با سلنیوم نانولیپوزومال، به میزان ۲/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مطابق با روزهای تمرین و در زمان‌های پس از تمرین گاواژ شد (۱۸).

به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، ۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و گاواژ مکمل، بافت‌برداری عضله نعلی در هر گروه انجام شد. حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی گرم کتامین به زایلازین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و برداشت بافت بلافاصله انجام شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله در میکروتیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید.

^۱ Field emission scanning electron microscopy

^۲ Dynamic light scattering

روش‌های آزمایشگاهی: بیان ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی^۱ (Real-time PCR) (سیستم‌های زیستی کاربردی، دستگاه‌های تشخیص توالی پرایمرها) مورد بررسی قرار گرفت. استخراج ریبونوکلئیک اسید^۳ (RNA) به صورت RNX-Pluse (یک معرف تجاری برای استخراج RNA) و به منظور بررسی کیفیت و کمیت آن از روش اسپکتروفتومتری^۴ و الکتروفورز بروی ژل آگارز استفاده شد. ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. آغازگرها^۵ (پرایمرها) توسط نرم‌افزار کامپیوتری AllelID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST (ابزار پایه‌ی تطابق محلی توالی‌ها) جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از استخراج RNA، محصول دئوکسی نوکلئیک اسید مکمل^۶ (cDNA) ساخته شد؛ به این منظور، ۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج شده با یک میکرولیتر رندوم هگزامر به هر نمونه اضافه و یک میکرولیتر دئوکسی نوکلئوتید تری فسفات‌ها^۷ (dNTPs) به هر میکروتیوب اضافه شد. میکروتیوب حاوی محلول بالا به مدت پنج دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده شد تا ساختارهای ثانویه از بین برود. به ازای هر نمونه، دو میکرولیتر از بافر x10، یک میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس و یک میکرولیتر از مهارکننده آنزیم تجزیه گر RNA^۸، اضافه و بلافاصله میکروتیوب‌ها به مدت یک دقیقه روی یخ قرار داده شد. نمونه‌ها داخل دستگاه ترموسایکلر^۹ قرار داده شده و زمان‌بندی شامل ۲۵ درجه سلسیوس در پنج دقیقه، ۵۵ درجه سلسیوس برای ۶۰ دقیقه و ۸۵ درجه سلسیوس در پنج دقیقه اجرا شد. پس از پایان کار، نمونه‌ها به دمای ۲۰- درجه سلسیوس منتقل شدند. روش cDNA سازی مربوط به شرکت Gene All کره است. فرایند Real Time به صورت دو مرحله‌ای انجام شد. مرحله سنتز cDNA با استفاده از کیت هایپراسکرپت شرکت GeneAll کره جنوبی طبق روش ذکر شده انجام گرفت. مرحله تکثیر نیز با استفاده از مستر آماده سایبرگرین^{۱۰} متعلق به شرکت AMPLIQON با نام تجاری RealQ Plus 2x Master Mix Green صورت گرفت. این مستر به صورت شروع سریع در دمای بالا^{۱۱} است و برای انجام مرحله تکثیر، تنها به مستر پرایمر، آب و cDNA اضافه شد. روش دمایی نیز شامل یک چرخه ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، فعال سازی آنزیم شروع سریع DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت^{۱۲} (TEMPase) و در پی آن ۲۵-۳۵ چرخه ۱۵-۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس (واسرشت اولیه) و ۶۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس (ثبت انعکاس نور فلوروسنت در طول مراحل اتصال پرایمر و گسترش) و انتخاب دمای مناسب بر پایه دمای اتصال آغازگرها انجام شد. برای کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف موردنظر، از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. در این تحقیق از ژن گلیسر آلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز^{۱۳} (GAPDH) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Genes	Primer Sequence	Primer length (nucleotides)
r-PINK1-F	CATGGCTTTGGATGGAGAGT	20

¹ Real-time polymerase chain reaction² Applied Biosystems, Sequence Detection Systems³ Ribonucleic acid⁴ Spectrophotometry⁵ Primers⁶ Complementary deoxynucleic acid⁷ Deoxynucleotide triphosphate⁸ RNase inhibitor⁹ Thermocycler¹⁰ HyperScript 0¹¹ Cybergreen master 1¹² Hot Start 2¹³ Thermostable DNA polymerase hot start¹⁴ Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

r- PINK1-R	TGGGAGTTTGCTCTTCAAGG	20
r-Parkin-F	CTTGGCTACTCGCTGCCGTGTGT	23
r- Parkin-R	TACCTGTTGTACTGCTCTTCTCC	23
r-ATF6-F	GAACCTCGAGGCTGGGTTCA	20
r-ATF6-R	AACTTCCAGGCGAAGCGTAA	20
r-GAPDH-F	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	21
r-GAPDH-R	TGTAGACCATGTAGTTGAGGT	21

تحلیل آماری: قبل از تجزیه و تحلیل آماری، همه متغیرها از نظر توزیع طبیعی با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ و از نظر همگنی واریانس‌ها با آزمون لون^۲ بررسی شدند. جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوعاملی 2×2 در سطح معنی داری $P \leq 0.05$ استفاده شد.

نتایج

یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه در پس‌آزمون نمونه‌های پژوهش حاضر در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. میانگین (M) و انحراف استاندارد (SD) بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه پس از اجرای پژوهش در مقیاس $2^{-\Delta\Delta CT}$

ATF6		Parkin		PINK1		گروه‌ها
M	SD	M	SD	M	SD	
۱/۰۸۸	۰/۴۸۳	۱/۰۵۴	۰/۳۸۷	۱/۰۱۶	۰/۲۰۳	کنترل مسن
۰/۵۲۷	۰/۱۴۳	۰/۵۸۶	۰/۰۵۹	۰/۶۷۱	۰/۲۲۲	مسن + مکمل
۰/۴۰۰	۰/۱۰۲	۰/۴۲۲	۰/۰۸۹	۰/۳۰۴	۰/۰۵۲	مسن + تمرین مقاومتی
۰/۲۱۸	۰/۱۶۹	۰/۲۳۵	۰/۰۵۷	۰/۱۹۱	۰/۰۷۳	مسن + مکمل + تمرین مقاومتی

نتایج روش آماری تحلیل واریانس دو عاملی در بررسی اثرسنجی تمرین مقاومتی، مکمل سلنیوم نانولیپوزومال و همچنین بررسی اثر تعاملی تمرین و مکمل بر بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه در جدول ۳ قابل مشاهده است:

جدول ۳. نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی برای تغییرات بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه

¹ Shapiro-wilk

² Levene

متغیرها	منبع	SS	df	MS	F	Sig.	η^2
PINK1 (mRNA – $2^{-\Delta\Delta CT}$)	تمرین	۱/۷۷	۱	۱/۷۷	۷۱/۳۵	۰/۰۰۱*	۰/۸۲
	مکمل	۰/۲۶	۱	۰/۲۶	۱۰/۵۵	۰/۰۰۵**	۰/۴۰
	تمرین×مکمل	۰/۰۶	۱	۰/۰۶	۲/۷۰	۰/۱۲۰	۰/۱۴
	خطا	۰/۳۹	۱۶	۰/۰۲			
Parkin (mRNA – $2^{-\Delta\Delta CT}$)	تمرین	۱/۲۰	۱	۱/۲۰	۲۹/۲۶	۰/۰۰۱*	۰/۶۵
	مکمل	۰/۵۴	۱	۰/۵۴	۱۳/۰۰	۰/۰۰۲**	۰/۴۵
	تمرین×مکمل	۰/۰۹	۱	۰/۰۹	۲/۳۹	۰/۱۴۱	۰/۱۳
	خطا	۰/۶۶	۱۶	۰/۰۴			
ATF6 (mRNA – $2^{-\Delta\Delta CT}$)	تمرین	۱/۲۴	۱	۱/۲۴	۱۸/۷۹	۰/۰۰۱*	۰/۵۴
	مکمل	۰/۶۹	۱	۰/۶۹	۱۰/۴۱	۰/۰۰۵**	۰/۳۹
	تمرین×مکمل	۰/۱۲	۱	۰/۱۲	۲/۷۱	۰/۱۱۹	۰/۱۴
	خطا	۱۰۶/۰۵	۱۶	۰/۰۶			

* نشان دهنده اثر معنادار تمرین مقاومتی بر تغییرات متغیرهای تحقیق ($P \leq 0.05$)

** نشان دهنده اثر معنادار مکمل سلنیوم نانولیپوزومال بر تغییرات متغیرهای تحقیق ($P \leq 0.05$)

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، نتایج حاصل از آزمون آماری تحلیل واریانس دو عاملی در تعیین اثر مستقل و جداگانه تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که ۸ هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش معنادار بیان ژن‌های PINK1 ($P=0/001$)، Parkin ($P=0/001$) و ATF6 ($P=0/001$) در عضله نعلی موش‌های مسن شد.

هم‌چنین، یافته‌های آماری نشان داد که ۸ هفته دریافت مکمل سلنیوم نانولیپوزومال به‌طور مستقل باعث کاهش معنادار بیان ژن‌های PINK1 ($P=0/005$)، Parkin ($P=0/002$) و ATF6 ($P=0/005$) در عضله نعلی موش‌های مسن شد.

با بررسی اندازه‌های اثر، به نظر می‌رسد که اثر جداگانه تمرین مقاومتی در قیاس با اثر جداگانه مکمل سلنیوم نانولیپوزومال در کاهش بیان ژن‌های PINK1 ($\eta^2=0/82$ برای تمرین و $\eta^2=0/40$ برای مکمل)، Parkin ($\eta^2=0/65$ برای تمرین و $\eta^2=0/45$ برای مکمل) و ATF6 ($\eta^2=0/54$ برای تمرین و $\eta^2=0/39$ برای مکمل) به مراتب بیشتر باشد.

نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی هم‌چنین نشان داد که ۸ هفته تمرین مقاومتی همراه با مکمل سلنیوم نانولیپوزومال اثر تعاملی معنادار آماری بر بیان ژن‌های PINK1 ($\eta^2=0/14$ ، $P=0/120$)، Parkin ($\eta^2=0/13$ ، $P=0/141$) و ATF6 ($\eta^2=0/14$ ، $P=0/119$) در عضله نعلی موش‌های مسن نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه تجربی، به اثرات بالقوه تمرین مقاومتی همراه با دریافت سلنیوم نانولیپوزومال بر عوامل استرس ER و تشدید استرس اکسایشی مرتبط با پیری و آتروفی عضلانی وابسته به آن پرداخته شد. این مطالعه بررسی می‌کند که آیا مکمل سلنیوم نانولیپوزومی که فراهمی زیستی بالاتری دارد، در کنار تمرین مقاومتی می‌تواند اختلال عملکرد میتوکندری مرتبط با آتروفی عضلانی دوران سالمندی را کاهش دهد و از بروز بیماری‌های مختلف مرتبط با آن در این دوران پیشگیری نماید. از آنجا که تعامل استرس ER و استرس اکسایشی وابسته به سن در آتروفی عضلانی سالمندان نقش دارد، پیوند دادن این تغییرات مولکولی به یک نتیجه عملکردی واضح از نظر بالینی مهم است و ممکن است استراتژی‌های ایمن و مبتنی بر مواد مغذی را برای حفظ سلامت عضلات در پیری ارائه دهد.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که یک دوره تمرین مقاومتی به تنهایی منجر به کاهش بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 در بافت عضلانی موش‌های مسن می‌گردد. در همین راستا، یافته‌های برخی مطالعات با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، همسو می‌باشد؛ سیلوکا^۱ و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که یک وهله رکاب‌زنی با شدت متوسط در مردان تمرین‌کرده باعث کاهش معنادار PINK1 و Parkin-2 در عضله پهن خارجی در زمان ۳ ساعت پس از ورزش شد (۱۹). هم‌چنین چن^۲ و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای بنیادی روی موش‌های صحرایی نشان دادند که اگرچه افزایش موقت Parkin برای میتوفاژی ناشی از ورزش حاد ضروری است، اما پس از یک دوره ۶ هفته‌ای تمرین استقامتی، میتوفاژی ناشی از ورزش متعاقباً کاهش می‌یابد. این کاهش به دلیل بهبود کیفیت میتوکندری در نتیجه تمرینات ورزشی رخ می‌دهد و نشان‌دهنده کاهش نیاز به میتوفاژی مخرب پس از فعالیت ورزشی منظم می‌باشد (۲۰). علاوه بر این، یک مطالعه دیگر نشان داد که میتوفاژی و نشانگرهای ویژه آن از جمله Parkin، با بالا رفتن سن در حالت پایه افزایش می‌یابد اما با تمرین ورزشی، سازگاری‌های القا شده توسط ورزش باعث کاهش میتوفاژی وابسته به Parkin می‌شود (۲۱). نتایج تحقیق پارک^۳ و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان داد که یک دوره تمرین هوازی در موش‌های چاق تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، منجر به کاهش معنادار بیان ATF6 در عضله شد (۲۲). محققان در پژوهش آزمایشگاهی جدید در سال ۲۰۲۱، روی مگس‌های سرکه با نقص ژن Pink1 نشان دادند که ورزش منجر به کاهش ۱۲ پروتئین در پاسخ به ورزش و بازگشت پروفایل پروتئوم به سمت سطح طبیعی (wild-type) می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که در شرایط کمبود Pink1، ورزش می‌تواند مسیرهای سنتز پروتئین را که در این مدل افزایش یافته بودند، معکوس کند و به سمت نرمال شدن سوق دهد (۲۳).

به نظر می‌رسد که ساز و کار اصلی اثر تمرین مقاومتی بر کاهش بیان ژن‌های مسیر PINK1/Parkin و ATF6، بهبود کیفیت میتوکندری و کاهش استرس اکسیداتیو است. افزایش سن با اختلال در عملکرد میتوکندری، کاهش کارایی زنجیره انتقال الکترون و در نتیجه تولید بیش از حد ROS همراه است. در این شرایط، سلول برای مقابله، مسیر PINK1/Parkin را برای برچسب‌گذاری و حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده فعال می‌کند که با افزایش سطح پایه این پروتئین‌ها همراه است (۲۴). هم‌چنین در پاسخ به این شرایط، سلول‌ها به‌طور جبرانی، اما اغلب ناکارآمد، مسیرهای میتوفاژی و UPR را فعال می‌کنند که با افزایش بیان ژن‌های PINK1، Parkin و ATF6 در سلول‌های عضلانی پیر همراه است. با این حال، شواهد متقاعدکننده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد تمرینات ورزشی منظم از جمله تمرین مقاومتی، با تغییر شرایط زمینه‌ای سلول، بیان این ژن‌ها

¹ Slivka

² Chen

³ Park

را کاهش می‌دهد (۲۳-۲۱). به عنوان مثال، مطالعه‌ای اخیراً نشان داد که ۱۲ هفته تمرین ترکیبی قدرتی و تمرین تناوبی پرشدت^۱ (HIIT) در بزرگسالان میانسال و سالمند، منجر به کاهش ۲۰ درصدی انتشار پراکسید هیدروژن^۲ (H_2O_2) در عضله اسکلتی شد که نشان‌دهنده افزایش کارایی میتوکندری و بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است (۲۴). هم‌چنین، تمرینات ورزشی می‌توانند سیگنالینگ مسیر Nrf2 را که در سالمندی مختل می‌شود، به وضعیت مطلوب بازگردانند. Nrf2 به عنوان تنظیم‌کننده اصلی بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان، با افزایش آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز^۳ (SOD)، کاتالاز^۴ (CAT) و GPx، ظرفیت خنثی‌سازی ROS را بالا می‌برد. نتیجه این سازگاری‌ها کاهش استرس اکسیداتیو مزمن و بهبود سلامت عمومی میتوکندری است. هنگامی که کیفیت میتوکندری بهبود یابد و تعداد میتوکندری‌های آسیب‌دیده کاهش یابد، سلول دیگر نیازی به فعال‌سازی مداوم و پرسرعت مسیر PINK1/Parkin ندارد، در نتیجه بیان پایه این ژن‌ها (پس از دوره تمرین) به سطح طبیعی و پایین خود باز می‌گردد (۲۵). به موازات این فرآیند، تمرین مقاومتی با کاهش بار پروتئین‌های غلط تاخورد (misfolded proteins) و استرس ER، بیان ژن ATF6 را کاهش می‌دهد (۲۶). در سالمندی، افزایش ROS و اختلال در هموستاز کلسیم، محیط شبکه آندوپلاسمی را اکسیداتیو کرده و فرآیند تاخوردگی صحیح پروتئین‌ها را مختل می‌سازد. تجمع این پروتئین‌های غلط تاخورد، حسگرهای غشایی ER از جمله ATF6 را فعال کرده و آبشار UPR را به راه می‌اندازد. فعال‌سازی مزمن UPR می‌تواند به جای بازگرداندن هموستاز، از طریق مسیرهای آپوپتوزی به آتروفی و مرگ سلولی منجر شود (۲۷). از این رو، هنگامی که تمرین مقاومتی از طریق مسیرهای ذکر شده، استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد میتوکندری را کاهش می‌دهد، به طور غیرمستقیم منبع اصلی ایجاد استرس ER را از بین می‌برد. در نتیجه، سلول نیاز کمتری به فعال‌سازی شاخه ATF6 از سیستم UPR برای مدیریت پروتئین‌های غلط تاخورد خواهد داشت (۲۶).

دیگر نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که یک دوره مکمل‌یاری با سلنیوم نانولیپوزومال به‌طور مستقل منجر به کاهش بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 در بافت عضلانی موش‌های مسن شد. همسو با این یافته‌ها، ژانگ^۵ و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که درمان با سلنیوم در نمونه‌های مدل القای میتوفاژی با واسطه کادمیوم، توانست بیان پروتئین‌های میتوکندریایی محور PINK1-Parkin را به‌طور معناداری کاهش دهد (۱۳). اخیراً مطالعه‌ای تجربی در سال ۲۰۲۶ بر روی سلول‌های کبد و کلیه جوجه‌های نژاد کانگل زرد (Kangle Yellow) اثر محافظتی مخمر سلنیوم را در برابر سم دی‌کوات (Diquat) بررسی کرد؛ نتایج نشان داد که تیمار با دی‌کوات به‌طور معناداری باعث افزایش بیان mRNA و پروتئین PINK1 و Parkin در بافت‌های کبد و کلیه شد. با این حال، تجویز مخمر سلنیوم (۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم در جیره پایه) این روند افزایشی را به‌طور معناداری کاهش داد و سطح بیان ژن‌های مذکور به سطوح پایه نزدیک شد (۲۸). پژوهش دیگری بر روی جوجه‌های گوشتی با سندرم آسیت (ناشی از استرس اکسیداتیو و فشار خون بالا) نشان داد که تجویز نانوذرات سلنیوم (۱ میکرومول در لیتر) به‌طور قابل توجهی بیان ژن و پروتئین ATF-6، CHOP و کاسپاز-۱۲ را در مسیر سیگنالینگ استرس ER کاهش می‌دهد (۲۹). در مقابل، یک مطالعه در سال ۲۰۱۶ نشان داد که مصرف بیش از حد سلنیوم می‌تواند با القای استرس اکسیداتیو، منجر به افزایش ATF6 و فعال‌سازی استرس ER در طحال جوجه شود. این یافته تأکید می‌کند که اثر سلنیوم بر ATF6 وابسته به دوز است و تنها در محدوده درمانی و فیزیولوژیک اثر کاهشی دارد (۳۰).

ساز و کار اثر سلنیوم بر کاهش بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 در سالمندی را می‌توان بر سه محور اصلی تبیین کرد:

- ۱- کاهش بار استرس اکسیداتیو و بهبود کیفیت میتوکندری از طریق فعال‌سازی مسیر Nrf2. ۲- تنظیم مستقیم بیان ژن‌ها

¹ High-intensity interval training

² Hydrogen peroxide

³ Superoxide dismutase

⁴ Catalase

⁵ Zhang

توسط سلنوپروتئین‌های خاص از جمله سلنوپروتئین M (SELENOM) و سلنوپروتئین H (SELENOH). ۳- حفظ هموستاز شبکه آندوپلاسمی از طریق مهار مسیر ATF6/CHOP (۳۱). سلنیوم به عنوان یک ریزمغذی ضروری، از طریق ورود به ساختار سلنوپروتئین‌ها و تقویت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند GPx، TrxR و SELENOH، ظرفیت خنثی‌سازی ROS را افزایش می‌دهد. نانوفرمولاسیون سلنیوم به دلیل فراهمی زیستی بالاتر و توانایی هدف‌گیری سلولی، اثرات بارزتری در کاهش استرس اکسیداتیو نشان می‌دهد (۳۱). از طرفی مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات سلنیوم با فعال‌سازی فاکتور رونویسی Nrf2، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده و از این طریق، ROS میتوکندریایی را کاهش (۳۲). با کاهش استرس اکسیداتیو مزمن و بهبود کیفیت میتوکندری، نیاز سلول به فعال‌سازی اضطراری مسیر PINK1/Parkin برای برچسب‌گذاری و حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۵). در خصوص کاهش بیان ATF6 در پژوهش حاضر، سلنیوم از طریق چندین مکانیسم به صورت هم‌افزا عمل می‌کند. سلنوپروتئین S (SEPS1) که بیان آن وابسته به دریافت سلنیوم است، دارای فعالیت چپرون در شبکه آندوپلاسمی بوده و به طور مستقیم سطح ATF6 فعال را کاهش می‌دهد. مطالعه سنو و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که افزایش بیان SEPS1 منجر به کاهش سطح ATF6 فعال می‌شود و این اثرات در حضور مکمل سلنیوم تقویت می‌گردد (۳۳). از سویی دیگر، با کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد آنتی‌اکسیدانی از طریق تقویت GPx و سایر آنزیم‌ها، تجمع پروتئین‌های غلط تاخورد در شبکه آندوپلاسمی کاهش می‌یابد و در نتیجه، فعال‌سازی مزمن حسگرهای UPR از جمله ATF6 متوقف می‌شود. سلنیوم نانولیپوزومال با ساختار لیپیدی منحصر به فرد خود، نه تنها نفوذ سلولی و فراهمی زیستی بالایی دارد، بلکه می‌تواند با تثبیت غشای شبکه آندوپلاسمی و کاهش نشت کلسیم، مستقیماً در کاهش استرس ER نقش داشته باشد (۳۴). در نتیجه، کاهش مشاهده‌شده در بیان ATF6 در پژوهش حاضر، احتمالاً حاصل ترکیب اثر مستقیم SEPS1 بر کاهش ATF6 فعال و اثر غیرمستقیم کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود هموستاز ER است (۳۳، ۳۴).

در مجموع، با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر در خصوص اثرات جداگانه تمرین مقاومتی و سلنیوم نانولیپوزومال بر بیان ژن‌های مورد مطالعه در موش‌های مسن، با بررسی اندازه‌های اثر، به نظر می‌رسد که اثر جداگانه تمرین مقاومتی در قیاس با اثر جداگانه مکمل سلنیوم نانولیپوزومال در کاهش بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 به مراتب بیشتر باشد. با توجه به ساز و کارهای مذکور، علت اصلی این تفاوت به ماهیت چند مسیره و سیستمیک اثرات فعالیت ورزشی در مقابل اثر عمدتاً آنتی‌اکسیدانی و تک‌هدفه سلنیوم بازمی‌گردد. تمرین مقاومتی به عنوان یک استرسور فیزیولوژیک کنترل‌شده، از طریق فعال‌سازی همزمان چندین مسیر سیگنالینگ مستقل اما همگرا، تغییرات پایدار و عمیقی در هموستاز سلولی ایجاد می‌کند. این مسیرها شامل فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال‌شده با آدنوزین مونو فسفات^۲ (AMPK)، PGC-1 α ، Nrf2 و SIRT1 است که به ترتیب منجر به افزایش بیوژنز میتوکندری، بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد، کاهش التهاب مزمن و افزایش اتوفاژی کارآمد می‌شوند (۳۵). در مقابل، سلنیوم نانولیپوزومال اگرچه یک آنتی‌اکسیدان قوی است، اما عمدتاً از طریق تقویت آنزیم‌های سلنوپروتئینی مانند GPx و TrxR عمل می‌کند و تأثیر چندجانبه‌ای بر شبکه‌های سیگنالینگ مرتبط با بیوژنز میتوکندری و بازسازی بافت ندارد (۳۶). به عبارت دیگر، ورزش یک بازسازی ساختاری و عملکردی در عضله ایجاد می‌کند، در حالی که سلنیوم عمدتاً یک محافظت شیمیایی موقتی فراهم می‌آورد. در همین زمینه، مطالعه‌ای مروری در موش‌های مسن نشان داد که فعالیت ورزشی منجر به افزایش ۴۵ درصدی PGC-1 α و کاهش ۳۰ درصدی نشانگرهای استرس اکسیداتیو شد؛ در حالی که مکمل سلنیوم در وضعیتی مشابه، تنها ۱۵ درصد کاهش در استرس اکسیداتیو ایجاد کرد (۳۷). موضوع مهم دیگر، تفاوت در پایداری و ماندگاری اثر دو مداخله است. تمرین مقاومتی از طریق تغییرات اپی‌ژنتیک مانند استیل‌اسیون هیستون‌ها و متیل‌اسیون DNA، تغییرات پایداری در الگوی بیان ژن‌های عضلانی ایجاد می‌کند که می‌تواند هفته‌ها تا ماه‌ها پس از توقف

¹ Seo² Adenosine mono phosphate activated protein kinase

تمرین باقی بماند (۳۸). به‌ویژه، تنظیم مثبت PGC-1 α توسط تمرین مقاومتی منجر به افزایش بیوژنز میتوکندری می‌شود که یک تغییر ساختاری برگشت‌پذیر اما نسبتاً پایدار است. این تغییرات ساختاری به این معناست که پس از دوره تمرین، عضله سالمند از نظر کیفیت میتوکندری و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح بالاتری قرار دارد و در نتیجه نیاز به فعال‌سازی PINK1/Parkin و ATF6 به طور پایدار کاهش می‌یابد (۳۸، ۳۹). در مقابل، سلنیوم نانولیپوزومال عمدتاً از طریق افزایش موقت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند و نیمه‌عمر این آنزیم‌ها نسبتاً کوتاه است. به عنوان مثال، نیمه‌عمر GPx در عضله حدود ۳-۷ روز است و پس از قطع مکمل، سطح آن به تدریج به حالت پایه بازمی‌گردد (۴۰).

بر اساس یافته‌های جدید مطالعه حاضر، اثر تعاملی و همزمان تمرین مقاومتی به همراه مکمل‌یاری با سلنیوم نانولیپوزومال، تاثیر معناداری بر بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 در بافت عضلانی موش‌های مسن نداشت. در تفسیر این یافته‌ها، مهم‌ترین ساز و کار سلولی برای عدم وجود اثر تعاملی، همگرایی عملکردی تمرین مقاومتی و سلنیوم نانولیپوزومال بر مسیرهای سیگنالینگ نهایی مشترک است. به بیان دیگر، این دو مداخله اگرچه از نقاط شروع متفاوتی عمل می‌کنند، اما در نهایت با فعال‌سازی یکسان آشکارهای سیگنالینگ پایین‌دست، وضعیت هموستاز سلولی را بهبود می‌بخشند. تمرین مقاومتی از طریق تولید کنترل‌شده ROS، مسیرهایی مانند NRF2 و AMPK را فعال کرده و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد و فاکتورهای بیوژنز میتوکندری مانند PGC-1 α را افزایش می‌دهد (۳۵، ۳۹). از سوی دیگر، سلنیوم مستقیماً به عنوان کوفاکتور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اصلی مانند GPx عمل کرده و با فعال‌سازی مسیر NRF2، بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را القا می‌کند (۳۶، ۴۰). هنگامی که هر دو مداخله به‌طور همزمان اعمال می‌شوند، این مسیرها تا حداکثر ظرفیت خود فعال می‌شوند و به اصطلاح، نقطه اشباع یا اثر سقف حاصل می‌شود. به عبارت دیگر، اگر تمرین مقاومتی به تنهایی بتواند بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 را تا سطح مطلوبی کاهش دهد، افزودن مکمل سلنیوم که مسیرهای یکسان یا بسیار همپوشانی را هدف قرار می‌دهد، فضایی برای کاهش بیشتر باقی نمی‌گذارد. در همین راستا، پژوهشی نشان داد که اگرچه ترکیب تمرین شنا و سلنیوم تأثیر هم‌افزایی بر فعالیت آنزیم GPx دارد، اما چنین اثری بر بیان ژن‌های هدف نهایی مانند PINK1، Parkin و ATF6 مشاهده نشد که نشان می‌دهد این ژن‌ها در انتهای یک آشکار سیگنالینگ قرار دارند که ظرفیت پاسخ آن محدود است (۴۱). در مجموع، عدم مشاهده اثر تعاملی معنادار دو مداخله بر بیان ژن‌ها در پژوهش حاضر، اشاره به یک رویکرد مهم در مورد ماهیت خودتنظیمی سلول‌های پیر است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اثر نهایی کاهش بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 به یک سطح آستانه محدود می‌شود که دستیابی به آن توسط هر یک از مداخلات به‌طور مستقل امکان‌پذیر است. تمرین مقاومتی و سلنیوم نانولیپوزومال با مکانیسم‌های متفاوت اما همگرا، سیستم هموستاز سلولی را به نقطه تعادل مطلوب‌تری سوق می‌دهند و اعمال همزمان آن‌ها فراتر از این سطح تعادل، اثر قابل ملاحظه‌ای ایجاد نمی‌کند. این نتیجه از نظر بالینی بسیار ارزشمند است، زیرا نشان می‌دهد که برای دستیابی به مزایای کاهش استرس سلولی در سالمندی، لزوماً نیازی به ترکیب مداخلات نیست و هر کدام از این رویکردها به تنهایی می‌توانند استراتژی مؤثری باشند و انتخاب بین آن‌ها باید بر اساس شرایط فردی، ترجیحات و امکان‌پذیری انجام گیرد.

عدم اندازه‌گیری سطح بافتی سلنیوم تجویزی، عدم ارزیابی نشانگرهای استرس اکسیداتیو و استرس ER، عدم کنترل تاثیر احتمالی استرس ناشی از تحریک دستی موش‌ها برای صعود از نردبان مقاومتی و بستن وزنه به دم موش‌ها، عدم داشتن گروه کنترل جوان (با توجه به محدودیت‌های اعمال‌شده توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و جلوگیری از کشتار بی‌رویه موش‌ها)، محدودیت‌های این مطالعه را شامل می‌شوند.

هر چند که تمرین مقاومتی و سلنیوم نانولیپوزومال هر کدام به‌طور جداگانه در کاهش بیان ژن‌های PINK، Parkin و ATF6 در موش‌های مسن موثر به نظر می‌رسند و احتمالاً می‌توانند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و ارتباط متقابل آن با استرس

ER، با آتروفی عضلانی وابسته به افزایش سن مقابله کنند، اما به نظر می‌رسد که برای روشن شدن اثر تعاملی تمرین مقاومتی و سلنیوم در این زمینه نیاز به پژوهش‌های بیشتری باشد.

انجام پژوهش‌های بیشتر با توجه به محدود بودن تحقیقات در زمینه اثر تعاملی تمرینات ورزشی و دریافت سلنیوم بر عملکرد میتوکندری، تنظیم استرس ER و ارتباط متقابل آن با میتوفاژی، با توجه به نقش اساسی آن‌ها در آتروفی عضلانی وابسته به افزایش سن، ضروری به نظر می‌رسد. لذا پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای مشابه با دوزهای پایین‌تر سلنیوم در کنار تمرین مقاومتی روی نمونه‌های مسن، در آینده اجرا شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج بخاطر همکاری صمیمانه تشکر می‌کنند.

حمایت مالی

هزینه‌های مطالعه بر عهده محقق بوده و هیچ‌گونه حمایت مالی از سازمان خاصی دریافت نشده است.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان به‌طور یکسان در این پژوهش مشارکت داشتند.

تعارض منافع

نویسندگان پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافع ندارند.

منابع

1. Hepple RT. When motor unit expansion in ageing muscle fails, atrophy ensues. *J Physiol*. 2018;596(9):1545. <https://doi.org/10.1113/JP275981>
2. Glembotski CC. Endoplasmic reticulum stress in the heart. *Circ Res*. 2007;101(10):975-84. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.161273>
3. Miglioranza Scavuzzi B, Holoshitz J. Endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, and rheumatic diseases. *Antioxidants*. 2022;11(7):1306. <https://doi.org/10.3390/antiox11071306>
4. Wilhelmus MM, van der Pol SM, Jansen Q, Witte ME, van der Valk P, Rozemuller AJ, et al. Association of Parkinson disease-related protein PINK1 with Alzheimer disease and multiple sclerosis brain lesions. *Free Radic Biol Med*. 2011;50(3):469-76. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.033>
5. Eiyama A, Okamoto K. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in mammalian cells. *Curr Opin Cell Biol*. 2015;33:95-101. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.01.002>
6. Bouman L, Schlierf A, Lutz AK, Shan J, Deinlein A, Kast J, et al. Parkin is transcriptionally regulated by ATF4: evidence for an interconnection between mitochondrial stress and ER stress. *Cell Death Differ*. 2011;18(5):769-82. <https://doi.org/10.1038/cdd.2010.142>

7. Narendra DP, Youle RJ. The role of PINK1–Parkin in mitochondrial quality control. *Nature cell biology*. 2024;26(10):1639-51. <https://doi.org/10.1038/s41556-024-01513-9>
8. Ahn N, Koh J, Kim K. Endoplasmic reticulum stress of skeletal muscle and exercise training effects in aging and obesity. *Asian J Kinesiol*. 2018;20(3):1-10. <https://doi.org/10.15758/ajk.2018.20.3.1>
9. Estébanez B, Moreira OC, Almar M, de Paz JA, Gonzalez-Gallego J, Cuevas MJ. Effects of a resistance-training programme on endoplasmic reticulum unfolded protein response and mitochondrial functions in PBMCs from elderly subjects. *Eur J Sport Sci*. 2019;19(7):931-40. <https://doi.org/10.1080/17461391.2018.1561950>
10. Zhao N, Xia J, Xu B. Physical exercise may exert its therapeutic influence on Alzheimer's disease through the reversal of mitochondrial dysfunction via SIRT1–FOXO1/3–PINK1–Parkin-mediated mitophagy. *J Sport Health Sci*. 2021;10(1):1. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2020.08.009>
11. Gao PN, Wang CL, Xu JL, Liu SL, Zhou L. Role of selenium in cell death. *J Nutr Oncol*. 2023;8(2):94-100. <https://doi.org/10.1097/JN9.000000000000009>
12. Jing J, He Y, Liu Y, Tang J, Wang L, Jia G, et al. Selenoproteins synergistically protect porcine skeletal muscle from oxidative damage via relieving mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress. *J Anim Sci Biotechnol*. 2023;14(1):79. <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00877-6>
13. Zhang L, Yang F, Li Y, Cao H, Huang A, Zhuang Y, et al. The protection of selenium against cadmium-induced mitophagy via modulating nuclear xenobiotic receptors response and oxidative stress in the liver of rabbits. *Environ Pollut*. 2021;285:117301. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117301>
14. Zhang LW, Feng HQ, Fu SB, Sun DJ. Low Selenium and Low Protein Exacerbate Myocardial Damage in Keshan Disease by Affecting the PINK1/Parkin-mediated Mitochondrial Autophagy Pathway. *Curr Med Sci*. 2024;44(1):93-101. <https://doi.org/10.1007/s11596-024-2834-x>
15. Lippi L, de Sire A, Mezian K, Curci C, Perrero L, Turco A, Andaloro S, Ammendolia A, Fusco N, Invernizzi M. Impact of exercise training on muscle mitochondria modifications in older adults: a systematic review of randomized controlled trials. *Aging clinical and experimental research*. 2022;34(7):1495-510. <https://doi.org/10.1007/s40520-021-02073-w>
16. Shirkhani Y, Peeri M, Azarbayjani M A, 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. *Complementary Medicine Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2021;10(4):396-409. [In Persian] <http://cmja.arakmu.ac.ir/article-1-789-en.html>
17. Li Q, Chen T, Yang F, Liu J, Zheng W. Facile and controllable one-step fabrication of selenium nanoparticles assisted by L-cysteine. *Materials letters*. 2010;64(5):614-7. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2009.12.019>
18. Ali HF, El-Sayed NM, Ahmed AA, Hanna PA, Moustafa YM. Nano selenium ameliorates oxidative stress and inflammatory response associated with cypermethrin-induced neurotoxicity in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2020;195:110479. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110479>
19. Slivka D, Heesch M, Dumke C, Cuddy J, Ruby B. Skeletal muscle mitophagy in response to cold exposure during exercise. In: *SRCAF 2019 Proceedings*. Omaha (NE): University of Nebraska Omaha; 2019.
20. Chen CCW, Erlich AT, Hood DA. Role of Parkin and endurance training on mitochondrial turnover in skeletal muscle. *Skelet Muscle*. 2018;8(1):10. <https://doi.org/10.1186/s13395-018-0157-y>
21. Chen CCW. The role of Parkin-mediated mitophagy during aging and exercise in skeletal muscle [dissertation]. Toronto (ON): York University; 2018.

22. Park JG, Kim YA, Park HG, Lee WL. Effects of aerobic exercise and polyphenol supplementation on endoplasmic reticulum stress in skeletal muscle of high fat diet-induced obese mice. *J Life Sci.* 2018;28(10):1186-1192. <https://doi.org/10.5352/JLS.2018.28.10.1186>
23. Ebanks B, Ingram TL, Katyal G, et al. The dysregulated Pink1- Drosophila mitochondrial proteome is partially corrected with exercise. *Aging.* 2021;13(11):14721-14745. <https://doi.org/10.18632/aging.203128>
24. Flensted-Jensen M, Weinreich CM, Kleis-Olsen AS, Hansen F, Skyggelund NS, Pii JR, et al. Resistance-based training improves mitochondrial capacity and redox balance in aging adults, independent of polyphenol supplementation. *Redox Biol.* 2026 Feb;89:103972. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2025.103972>
25. Ostrom EL, Traustadóttir T. Aerobic exercise training partially reverses the impairment of Nrf2 activation in older humans. *Free Radic Biol Med.* 2020 Dec;160:580-588. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.016>
26. Mesquita PHC, Lamb DA, Parry HA, et al. Acute and chronic effects of resistance training on skeletal muscle markers of mitochondrial remodeling in older adults. *Physiol Rep.* 2020;8(15):e14523. <https://doi.org/10.14814/phy2.14526>
27. Bohnert KR, McMillan JD, Kumar A. Emerging roles of ER stress and unfolded protein response pathways in skeletal muscle health and disease. *J Cell Physiol.* 2018;233(1):67-78. <https://doi.org/10.1002/jcp.25852>
28. Jin Y, Cheng X, Tan Y, Luo J, Liu B, Wang M, Wang Y. Effect of yeast selenium on autophagy and PINK1/Parkin expression in Diquat-induced chicken liver and kidney cells. *Poult Sci.* 2026;105(6):106786. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2026.106786>
29. Yang X, Liu X, Liu J, Wu P, Fu Y, Kyein SL, Zhang J, Zhang M, Peng Y, Zhou D. Selenium nanoparticles reduce oxidative stress-induced cardiomyocyte apoptosis in ascites syndrome in broiler chickens via the ATF6-DR5 signaling pathway. *Animal Diseases.* 2023;3:22. <https://doi.org/10.1186/s44149-023-00086-8>
30. Wang Y, Jiang L, Li Y, Luo X, He J. Excessive Selenium Supplementation Induced Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress in Chicken Spleen. *Biol Trace Elem Res.* 2016;172(2):481-487. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0596-9>
31. Xu C, Qiao L, Ma L, et al. Biogenic selenium nanoparticles synthesized by *Lactobacillus casei* ATCC 393 alleviate intestinal epithelial barrier dysfunction caused by oxidative stress via Nrf2 signaling-mediated mitochondrial pathway. *Int J Nanomedicine.* 2019;14:4491-4505. <https://doi.org/10.2147/IJN.S199193>
32. Zhao H, Yan F, Zhao T, et al. Selenium nanoparticles attenuate fluoride-induced mitophagy defect and neurotoxicity via PINK1/Parkin pathway. *Food Sci Hum Wellness.* 2025;14. <https://doi.org/10.26599/FSHW.2025.9250739>
33. Seo JY, Lee SM, Lee JH, et al. Selenoprotein S/SEPS1 modifies endoplasmic reticulum stress in Z variant α 1-antitrypsin deficiency. *J Biol Chem.* 2009;284(17):11253-11261. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.006288>
34. Marafon BB, Pinto AP, Ropelle ER, de Moura LP, Cintra DE, Pauli JR, da Silva AS. Muscle endoplasmic reticulum stress in exercise. *Acta Physiologica.* 2022 May;235(1):e13799. <https://doi.org/10.1111/apha.13799>
35. Cartee GD, Hepple RT, Bamman MM, Zierath JR. Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. *Cell Metab.* 2016;23(6):1034-1047. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.007>
36. Steinbrenner H, Speckmann B, Klotz LO. Selenoproteins: antioxidant selenoenzymes and beyond. *Arch Biochem Biophys.* 2016;595:113-119. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.06.024>

37. Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, Latini A, Pinho RA. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2012 Dec;37(6):1239-46. <https://doi.org/10.1139/h2012-115>
38. Sharples AP, Stewart CE, Seaborne RA. Does skeletal muscle have an 'epi-memory'? The role of epigenetics in nutritional programming, metabolic disease, aging and exercise. *Aging Cell*. 2016;15(4):603-616. <https://doi.org/10.1111/acer.12486>
39. Ruas JL, White JP, Rao RR, Kleiner S, Brannan KT, Harrison BC, et al. A PGC-1 α isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell*. 2012;151(6):1319-31. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.050>
40. Flohé L. Selenium in mammalian spermiogenesis. *Biol Chem*. 2007;388(10):987-995. <https://doi.org/10.1515/BC.2007.112>
41. Nameni F, Elikaei F. The response of glutathione oxidase and cytochrome c to exercise training and sodium selenite in the heart tissue of male rats. *Biochem Biophys Rep*. 2025;44:102337. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2025.102337>