

اثر تمرینات مقاومتی، استقامتی و تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن‌های میوستاتین، فولیستاتین و IGF-1 عضلانی موش‌های نر سالمند

نسرین نوبهاری^۱، مهتاب معظمی^۲، علی یعقوبی^۳

چکیده

اهداف: سارکوپنی یکی از اختلالات رایج دوران سالمندی است که با کاهش توده و قدرت عضلانی مشخص می‌شود. از جمله عوامل موثر در بروز این وضعیت، تغییر در بیان ژن‌های تنظیم‌کننده مانند میوستاتین، فولیستاتین و IGF-1 است. هدف این پژوهش بررسی و مقایسه تأثیر سه نوع تمرین (مقاومتی، استقامتی و تناوبی با شدت بالا) بر بیان ژن‌های میوستاتین، فولیستاتین و IGF-1 در عضله دوقلو موش‌های نر سالمند بود.

روش مطالعه: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر و بیستار ۱۸ ماهه به صورت تصادفی به چهار گروه مساوی شامل کنترل، تمرین مقاومتی، تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا تقسیم شدند. پروتکل تمرینی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته اجرا گردید. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بافت عضله دوقلو استخراج و بیان ژن‌ها با استفاده از تکنیک RT-PCR بررسی گردید. داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد تمرینات ورزشی موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن میوستاتین در گروه‌های مقاومتی، استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا نسبت به گروه کنترل شد ($P \leq 0/05$). همچنین افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های فولیستاتین و IGF-1 در هر سه گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($P \leq 0/05$). تمرین استقامتی موجب افزایش معنادار فولیستاتین نسبت به تمرین مقاومتی شد ($P \leq 0/05$) و تمرین مقاومتی و تناوبی نیز افزایش بیشتری در IGF-1 نسبت به استقامتی داشتند ($P \leq 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی در انواع مختلف، به‌طور مؤثر مسیرهای مولکولی مرتبط با رشد و بازسازی عضله را در بافت عضلانی موش‌های نر سالمند تعدیل می‌کنند. این یافته‌ها از تمرین بدنی به عنوان یک مداخله غیر دارویی مؤثر در پیشگیری یا کاهش شدت سارکوپنی پشتیبانی می‌کند و می‌تواند مبنایی برای توسعه پروتکل‌های تمرینی هدفمند در سالمندان فراهم سازد.

واژه‌های کلیدی: سارکوپنی، میوستاتین، فولیستاتین، IGF-1، تمرین مقاومتی، تمرین تناوبی، تمرین استقامتی

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

^۲ دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. نویسنده مسئول: moazami@um.ac.ir

^۳ استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

مقدمه

سارکوپنی به‌عنوان یک اختلال پیش‌رونده و سیستماتیک در توده، قدرت و عملکرد عضلات اسکلتی، یکی از مهم‌ترین نمودهای پیری بیولوژیک به شمار می‌رود که با پیامدهای بالینی و اجتماعی گسترده‌ای همراه است (Villarreal et al., 2017). در سال‌های اخیر، این پدیده نه‌تنها به عنوان پیامد طبیعی افزایش سن، بلکه به عنوان یک بیماری مستقل شناخته شده که پیامدهای قابل توجهی نظیر ناتوانی فیزیکی، افزایش خطر زمین خوردگی، بستری‌های مکرر، کاهش کیفیت زندگی، وابستگی به مراقبت‌های بلند مدت و افزایش مرگ‌ومیر در سالمندان را به دنبال دارد (Cruz-Jentoft et al., 2019). طبق گزارش‌های موجود، شیوع سارکوپنی در افراد بالای ۶۰ سال بین ۱۰ تا ۱۶ درصد و در سالمندان بالای ۸۰ سال تا ۵۰ درصد برآورد شده است (Petermann-Rocha et al., 2022). با توجه به روند صعودی سالمند شدن جمعیت جهانی، انتظار می‌رود بار بهداشتی، اجتماعی و اقتصادی این بیماری در دهه‌های آتی به طرز چشمگیری افزایش یابد. به همین دلیل، شناسایی مکانیزم‌های زیربنایی و توسعه‌ی مداخلات مؤثر جهت پیشگیری و درمان آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

سارکوپنی حاصل یک تعامل پیچیده بین فاکتورهای متعددی از جمله کاهش فعالیت فیزیکی، اختلالات تغذیه‌ای، تغییرات هورمونی، التهاب مزمن، استرس اکسیداتیو و عوامل ژنتیکی است. در سطح سلولی، این بیماری با اختلال در تعادل بین فرایندهای آنابولیک و کاتابولیک، کاهش عملکرد میتوکندری، کاهش تعداد و عملکرد سلول‌های ماهواره‌ای، و افزایش آپوپتوز در سلول‌های عضلانی همراه است. یکی از جنبه‌های مهم درک سارکوپنی، بررسی مسیرهای مولکولی تنظیم‌کننده رشد، بازسازی و تخریب عضله است که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند. سه مسیر مولکولی کلیدی در این زمینه عبارت‌اند از مسیرهای مربوط به میوستاتین (MSTN)، فولیستاتین^۱ (FST) و فاکتور رشد شبه‌انسولین نوع-۱ (IGF-1). میوستاتین که عضوی از خانواده‌ی فاکتور رشد تبدیل‌شونده بتا (TGF- β) است، به‌عنوان مهارکننده‌ی اصلی رشد عضلانی عمل می‌کند (Tsutsumi et al., 2019). مطالعات نشان داده‌اند که افزایش بیان میوستاتین در سالمندان با کاهش توده عضلانی، قدرت و عملکرد فیزیکی همراه است و به‌طور مستقیم در پاتوژنز سارکوپنی دخیل است (Han et al., 2021). در مقابل، فولیستاتین به‌عنوان یک گلیکوپروتئین طبیعی، عملکرد مهارکننده‌ی میوستاتین را خنثی کرده و با تحریک رشد عضلات، نقش محافظتی در برابر تحلیل عضلات ایفا می‌کند. نسبت فولیستاتین به میوستاتین به‌عنوان یک شاخص بیولوژیکی مؤثر در پیش‌بینی عملکرد عضلات و خطر ابتلا به سارکوپنی مطرح شده است (Zbinden et al., 2019). از سوی دیگر، IGF-1 یک عامل آنابولیک قوی است که از طریق فعال‌سازی مسیر PI3K/Akt/mTOR باعث افزایش سنتز پروتئین، تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای و مهار آپوپتوز عضلانی می‌شود (Fluck et al., 2018). کاهش سطح IGF-1 با افزایش سن با ضعف عضلانی، کندی بازسازی بافت عضلانی و افزایش خطر سارکوپنی ارتباط دارد (Derry et al., 2018).

از میان مداخلات غیردارویی مختلف، فعالیت بدنی منظم و به‌ویژه تمرینات ورزشی به‌عنوان مؤثرترین استراتژی برای پیشگیری و کاهش پیشرفت سارکوپنی شناخته شده‌اند. تمرینات مقاومتی با تحریک هیپرتروفی عضلات، افزایش قدرت و بهبود عملکرد حرکتی نقش محوری در پیشگیری از سارکوپنی ایفا می‌کنند (Brooks et al., 2021). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات مقاومتی می‌تواند با کاهش سطح میوستاتین، افزایش بیان

^۱ Follistatin

IGF-1 و فولیستاتین، تعادل آنابولیک-کاتابولیک عضلات را به نفع رشد عضلانی حفظ کنند (Dankel et al., 2016). تمرینات استقامتی، اگرچه به اندازه‌ی تمرینات مقاومتی باعث افزایش توده عضلانی نمی‌شوند، اما با کاهش التهاب، افزایش ظرفیت هوازی و بهبود سلامت متابولیک نقش مهمی در کنترل روند سارکوپنی دارند (Penhera et al., 2020). از سوی دیگر، تمرینات تناوبی با شدت بالا^۱ (HIIT) که اخیراً توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده، قادرند به‌طور هم‌زمان اثرات مثبت تمرینات استقامتی و مقاومتی را القا کرده و از طریق مکانیسم‌های مولکولی مشابه، رشد و عملکرد عضلات را ارتقاء دهند. برخی شواهد نشان می‌دهد که HIIT می‌تواند به‌طور معنی‌داری بیان IGF-1 را افزایش داده و در عین حال از بیان میوستاتین جلوگیری کند (Biglari et al., 2020).

با وجود پیشرفت‌های علمی قابل توجه در دهه‌های اخیر، هنوز ابعاد بسیاری از تعامل بین نوع، شدت و ساختار تمرینات ورزشی با مسیرهای مولکولی مرتبط با سارکوپنی، به‌ویژه در بافت عضلانی سالمندان، به‌خوبی شناخته نشده است. یکی از خلأهای عمده در این حوزه، فقدان مطالعات تجربی مقایسه‌ای است که اثرات انواع مختلف تمرینات ورزشی را بر بیان ژن‌های کلیدی مؤثر در آنابولیسم و کاتابولیسم عضلانی بررسی کرده باشند. همچنین، بسیاری از مطالعات انجام‌شده بر روی انسان‌ها با محدودیت‌های روش‌شناختی، تنوع بالای شرکت‌کنندگان و یا فقدان کنترل رژیم غذایی مواجه بوده‌اند. در پاسخ به این نیاز علمی، مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثر سه نوع تمرین ورزشی (مقاومتی، استقامتی، و HIIT) بر بیان ژن‌های میوستاتین، فولیستاتین و IGF-1 در عضله دوقلو موش‌های نر سالمند طراحی و اجرا شده است. با بهره‌گیری از یک مدل حیوانی کنترل‌شده، این پژوهش می‌کوشد تا با ارائه داده‌های دقیق مولکولی، به شناسایی نوع تمرین مؤثرتر در تنظیم تعادل آنابولیک-کاتابولیک عضلات کمک کرده و مسیر را برای طراحی مداخلات هدفمند در جمعیت سالمندان هموار سازد. نتایج این تحقیق می‌تواند پایه‌ای برای تدوین پروتکل‌های تمرینی مبتنی بر شواهد برای ارتقاء سلامت عضلانی در دوران سالمندی باشد و راه را برای مطالعات در سطح انسانی هموار کند.

روش‌شناسی تحقیق

این مطالعه از نوع تجربی-آزمایشگاهی با طراحی پس‌آزمون با گروه کنترل بود. تعداد ۴۰ سر رت نر ویستار سالمند (۱۸ ماهه، میانگین وزن 353 ± 42 گرم) از مرکز سرم‌سازی رازی مشهد تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی منتقل شدند. حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف (۴ موش در هر قفس) در شرایط کنترل‌شده دما (22 ± 2 درجه سانتی‌گراد)، رطوبت نسبی (۵۰ تا ۶۰ درصد)، تهویه مناسب و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی / ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای استاندارد به‌صورت آزاد در دسترس قرار داشت. پس از یک هفته سازگاری، حیوانات به‌صورت تصادفی به چهار گروه ۱۰ تایی: ۱- تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، ۲- تمرین استقامتی، ۳- تمرین مقاومتی و گروه کنترل تقسیم شدند. این مطالعه مطابق با دستورالعمل‌های بین‌المللی اخلاق در پژوهش‌های حیوانی و مصوبات کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه انجام شد.

پروتکل‌های تمرینی به‌مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته اجرا شدند. تمرین استقامتی شامل: ۱۰ دقیقه گرم‌کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت و سپس ۳۰ دقیقه دویدن با شدت متغیر بود: ۶۰ درصد در هفته‌های ۱ و ۲، ۶۵ درصد در هفته‌های ۳ و ۴، و ۷۰ درصد در هفته‌های ۵ تا ۸ (Delshad et al., 2021). تمرین مقاومتی: صعود از نردبانی به ارتفاع ۱ متر با شیب ۸۵ درجه و ۳۶ پله، در قالب ۳ ست و ۵ تکرار در هر جلسه. وزنه‌ای معادل ۵۰ درصد

^۱ High-Intensity Interval Training

وزن بدن به دم موش‌ها متصل شد و تا هفته هشتم به ۱۲۰ درصد افزایش یافت. استراحت بین تکرارها ۱ دقیقه و بین ست‌ها ۲ دقیقه در نظر گرفته شد (Rostamian et al., 2023). تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT): شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن (۱۰ متر/دقیقه)، سپس اجرای ۱۰ تکرار دو دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد حداکثر سرعت با استراحت فعال یک دقیقه‌ای (۱۰ متر/دقیقه) بین آن‌ها. تعداد تکرارها از ۶ در هفته اول به ۱۲ در هفته هشتم افزایش یافت.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، نمونه‌گیری در شرایط استریل انجام شد. حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش شده و عضله دوقلوی پای راست استخراج گردید. بافت‌ها پس از پاک‌سازی، در کرایوتیوب‌های RNase-free کدگذاری شده، بلافاصله در نیتروژن مایع فریز و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. برای استخراج RNA، ۵۰ میلی گرم از بافت با کیت استخراج RNA شرکت پارس توس (ایران) هموژن و پردازش شد. جهت حذف آلودگی DNA، از آنزیم RNase-free DNase استفاده شد. غلظت و خلوص RNA با دستگاه نانودراپ (NanoDrop ND-1000) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت تولیدی پارس توس بر اساس دستورالعمل شرکت انجام شد. مراحل واکنش شامل انکوباسیون در دماهای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۵ دقیقه)، ۴۲ درجه سانتی‌گراد (۶۰ دقیقه) و ۷۰ درجه سانتی‌گراد (۵ دقیقه) برای غیرفعال‌سازی آنزیم بود. طراحی توالی پرایمرها برای ژن‌های IGF-1، میوستاتین و فولیستاتین با استفاده از پایگاه داده NCBI (Ref Seq) انجام شد. ابزار Primer-BLAST برای طراحی و نرم‌افزار OligoAnalyzer (IDT) برای بررسی دمای ذوب، ساختار ثانویه، دایمرها و غلظت GC استفاده شد. سنتز پرایمرها توسط شرکت پارس توس انجام گرفت. توالی دقیق پرایمرها در جدول ۱ ارائه شده‌اند. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد. شرایط چرخه حرارتی دستگاه (Applied Biosystems) StepOnePlus™ به این شرح می‌باشد: دناتوراسیون اولیه: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (۴۰ چرخه شامل: ۱- دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ ثانیه. ۲- آنیلینگ: ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه و گسترش: ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه). در پایان، منحنی ذوب برای ارزیابی اختصاصی بودن محصولات اجرا شد. مقادیر Ct ژن‌های هدف ابتدا نسبت به ژن مرجع GAPDH نرمال‌سازی و ΔCt محاسبه شد. برای تعیین تغییرات نسبی بیان ژن‌ها، میانگین ΔCt مجموعه‌ای از نمونه‌های مرجع در گروه کنترل به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد و $\Delta\Delta Ct$ هر نمونه نسبت به این مرجع محاسبه گردید (Livak & Schmittgen, 2001).

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در تکنیک Real-time PCR

REVERSE	FORWARD	فاکتورها
TTTTTCCCAGGTCCACAGTA	AAGACCGAACTAGCAAGGA	فولیستاتین
CCCATCCAAAAGCTCAA AA	CTGTAACCTTCCCAGGAC CA	میوستاتین
TACATCTCCAGCCTCCTTA	GTGCTGCTTTTGTGATTCTT	IGF-1

توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شد. جهت مقایسه بین گروه‌ها، از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) روی ΔCt نمونه‌ها استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنادار، از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. همچنین سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. کلیه تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان بیان ژن میوستاتین عضله دوقلو موش‌های سالمند تفاوت معناداری وجود دارد ($F=8/4$ و $P=0/001$). همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان بیان ژن میوستاتین عضله دوقلو موش‌های سالمند در گروه‌های تمرین مقاومتی (RE)، تمرین استقامتی (EN) و تمرین تناوبی شدید (HIIT) به طور معناداری نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود ($P=0/001$). اما بین گروه‌های تمرینی از نظر بیان ژن میوستاتین تفاوت معناداری مشاهده نشد. میانگین و انحراف استاندارد بیان ژن میوستاتین گروه‌های تحقیق در شکل ۱ نشان داده شده است.

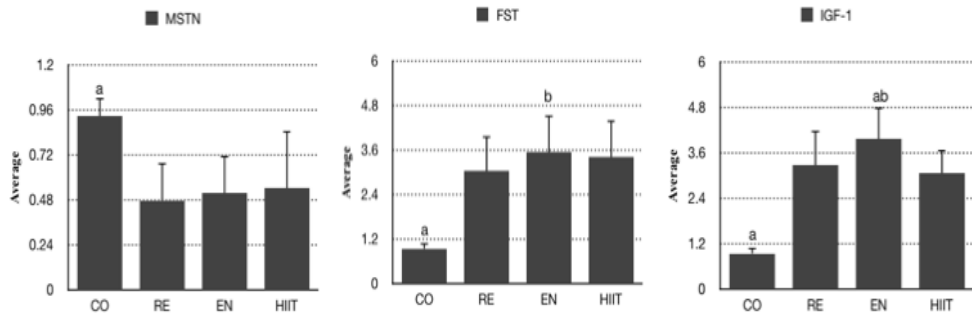
نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان بیان ژن فولیستاتین عضله دوقلو موش‌های سالمند تفاوت معناداری وجود دارد ($F=18/4$ و $P=0/001$). همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان بیان ژن فولیستاتین عضله دوقلو موش‌های سالمند در گروه‌های تمرین مقاومتی (RE)، تمرین استقامتی (EN) و تمرین تناوبی شدید (HIIT) به طور معناداری نسبت به گروه کنترل بالا تر بود ($P=0/001$). اما بین گروه‌های تمرینی HIIT و RE از نظر بیان ژن میوستاتین تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P=0/54$), اما میزان این شاخص در گروه EN به‌طور معناداری نسبت به RE بالاتر بود ($P=0/013$). میانگین و انحراف استاندارد بیان ژن فولیستاتین گروه‌های تحقیق در شکل ۱ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان بیان ژن IGF-1 عضله دوقلو موش‌های سالمند تفاوت معناداری وجود دارد ($F=34/1$ و $P=0/001$). همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان بیان ژن IGF-1 نیز در هر سه گروه تمرینی تمرین مقاومتی (RE)، تمرین استقامتی (EN) و تمرین تناوبی شدید (HIIT)، در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری بالاتر بود ($P=0/001$). بین گروه‌های RE و HIIT تفاوتی مشاهده نشد، اما هر دو در مقایسه با EN افزایش بیشتری در بیان ژن IGF-1 داشتند ($P=0/001$). میانگین و انحراف استاندارد بیان ژن IGF-1 گروه‌های تحقیق در شکل ۱ نشان داده شده است.

بحث و بررسی:

نتایج این مطالعه نشان داد که هشت هفته تمرین ورزشی از نوع استقامتی، مقاومتی و تناوبی با شدت بالا (HIIT) منجر به کاهش معنادار بیان ژن میوستاتین و افزایش بیان فولیستاتین و IGF-1 در عضلات موش‌های نر سالمند شد. این یافته‌ها، شواهد مهمی را در حمایت از نقش تمرینات ورزشی به‌عنوان یک مداخله مؤثر برای بهبود وضعیت مولکولی عضلات در دوران پیری ارائه می‌دهند.

اگرچه میان گروه‌های تمرینی تفاوت معناداری در کاهش میوستاتین مشاهده نشد، اما این کاهش در مقایسه با گروه کنترل معنادار بود و نشان می‌دهد که هر سه نوع تمرین می‌توانند در مهار بیان میوستاتین مؤثر باشند. از آنجا که میوستاتین یک تنظیم‌کننده منفی کلیدی در رشد عضلانی است و با مهار تمایز و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای مانع



شکل ۱: میانگین و انحراف استاندارد، بیان ژن‌های میوستاتین (MSTN)، فولیستاتین (FST) و فاکتور رشد شبه‌انسولین-۱ (IGF-1) در گروه‌های پژوهش پس از مداخله. HIIT گروه تمرین تناوبی با شدت بالا، RE گروه تمرین مقاومتی، EN گروه تمرین استقامتی، CO گروه بدون تمرین یا کنترل. a: تفاوت معنادار بین گروه کنترل و سه گروه تمرین، b: تفاوت معنادار بین گروه EN و RE، ab: تفاوت معنادار بین گروه EN و HIIT. $p \leq 0.05$

هیپرتروفی عضلات می‌شود، کاهش بیان آن می‌تواند به‌طور بالقوه در مقابله با تحلیل عضلانی وابسته به سن یا سارکوپنی مؤثر باشد (Qaisar et al., 2016; Yamaguchi., 2018). این مسئله از نظر کاربردی اهمیت دارد، چراکه امکان انتخاب آزادانه‌تر نوع تمرین در طراحی مداخلات تمرینی برای سالمندان را فراهم می‌سازد. با این حال، یافته‌های ما با برخی مطالعات پیشین در جمعیت‌های انسانی تفاوت دارد. برای مثال، مطالعاتی مانند (et al., 2018; Grgic et al., 2016; Little et al., 2016) نشان دادند که HIIT نسبت به تمرینات استقامتی با شدت متوسط کاهش بیشتری در میوستاتین در مردان جوان ایجاد می‌کند، در حالی که نتایج (Kim et al., 2019) و (Liao et al., 2017) نشان دادند تمرینات مقاومتی اثر قوی‌تری بر کاهش میوستاتین در جمعیت سالمند دارند. نبود تفاوت بین گروه‌های مداخله در مطالعه حاضر می‌تواند نشان‌دهنده کاهش ظرفیت تطبیقی عضلات در شرایط پیری در موش‌های سالمند باشد. همچنین، امکان دارد مدت زمان مداخله برای آشکارسازی تفاوت‌های نوع تمرین کافی نبوده باشد. مدل حیوانی استفاده شده در این مطالعه، یعنی موش‌های نر ویستار سالمند، به‌عنوان الگویی قابل قبول برای بررسی سارکوپنی در شرایط پیری است، زیرا کاهش توده و عملکرد عضلانی در این مدل مشابه روندی است که در انسان سالمند دیده می‌شود. با این حال، عدم بررسی جنسیت به‌عنوان یک متغیر مؤثر، محدودیتی برای تعمیم یافته‌ها ایجاد می‌کند. مطالعات انسانی (Lewis et al., 2007) نشان داده‌اند که زنان ممکن است پاسخ متفاوتی به تمرین مقاومتی داشته باشند، که احتمالاً به تفاوت‌های هورمونی و ترکیب بدنی مرتبط است. افزون بر میوستاتین، هر سه نوع تمرین موجب افزایش معنادار بیان ژن فولیستاتین شدند. بیشترین افزایش در گروه استقامتی مشاهده شد، هرچند تفاوت بین گروه‌ها از نظر آماری معنادار نبود. فولیستاتین با اتصال به میوستاتین و مهار اثرات آن، نقش مؤثری در ترمیم و تقویت عضلات دارد (Qaisar et al., 2016). نتایج این مطالعه با یافته‌های (Nunes et al., 2018) در موش‌های چاق و (Viana et al., 2019) در مردان بی‌تحرك همخوانی دارد. مکانیسم‌های این افزایش می‌تواند، تحریک جریان خون و متابولیسم در تمرینات استقامتی، فشار مکانیکی و فعال‌سازی مسیر mTOR در تمرین مقاومتی، و استرس متابولیکی شدید ناشی از HIIT باشد که می‌تواند مسیرهای گلیکولیتیک و اکسیداتیو را درگیر کند. همچنین، افزایش بیان IGF-1 در هر سه نوع تمرین از یافته‌های

مهم دیگر این مطالعه بود. IGF-1 به عنوان یک فاکتور کلیدی در حفظ توده و عملکرد عضلانی، از طریق تحریک مسیر PI3K-AKT-mTOR و مهار مسیرهای پروتئولیتیک عمل می‌کند (Yamaguchi, 2018). یافته‌های ما با نتایج (Adams et al., 2018) همخوانی دارد که افزایش IGF-1 را در پاسخ به تمرین در موش‌های چاق گزارش کردند. با این حال، مطالعاتی چون (Lewis et al., 2007) نشان داده‌اند که تمرینات مقاومتی ممکن است اثرات قوی‌تری بر IGF-1 داشته باشند، در حالی که (Mitchell et al., 2013) تفاوت معناداری بین تمرینات مقاومتی و استقامتی نیافتند. مطالعه حاضر نیز با نشان دادن اثربخشی مشابه تمرینات مختلف در موش‌های نر سالمند، از این یافته حمایت می‌کند.

از دیدگاه روش‌شناسی، استفاده از مدل حیوانی در این پژوهش یک مزیت و هم‌زمان یک محدودیت محسوب می‌شود. این مدل امکان کنترل دقیق متغیرها و دسترسی به بافت عضلانی را فراهم می‌کند، اما تعمیم‌پذیری نتایج به انسان محدود است. همچنین، عدم بررسی جنسیت به عنوان یک متغیر، یکی از کاستی‌های مطالعه است؛ شواهد متعددی از تفاوت‌های جنسیتی در پاسخ عضلانی به تمرین حمایت می‌کنند (Lewis et al., 2007). افزون بر این، مطالعه حاضر تنها به سطح بیان ژن محدود بود و پیامدهای عملکردی نظیر توده عضلانی، قدرت یا تحرک عضله بررسی نشد. در مجموع، یافته‌های این پژوهش مبنایی برای طراحی مداخلات ورزشی در افراد سالمند فراهم می‌کند، به‌ویژه در شرایطی که کاهش میوستاتین و افزایش فولیستاتین و IGF-1 بتواند به پیشگیری یا کاهش سارکوپنی کمک کند. مطالعات آتی باید بر روی جمعیت انسانی، با لحاظ جنسیت، مدت‌زمان طولانی‌تر و ترکیب مداخلات تمرینی و تغذیه‌ای متمرکز شوند. همچنین، بررسی میوکین‌های دیگر نظیر IL-6 می‌تواند به ترسیم دقیق‌تری از اثرات مولکولی تمرین در پیری منجر شود.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که تمرینات استقامتی، مقاومتی، و تناوبی با شدت بالا همگی موجب کاهش بیان ژن میوستاتین و افزایش بیان فولیستاتین و IGF-1 در موش‌های نر سالمند می‌شوند. این نتایج نشان‌دهنده نقش بالقوه و مشترک انواع مختلف تمرینات ورزشی در تنظیم مثبت مسیرهای مولکولی مرتبط با حفظ و ترمیم عضلات در دوران پیری هستند. با توجه به شیوع فزاینده سارکوپنی و اهمیت آن در کاهش کیفیت زندگی و استقلال عملکردی سالمندان، یافته‌های این مطالعه بر ضرورت گنجاندن برنامه‌های تمرینی منظم در راهبردهای سلامت عمومی تأکید دارند. با این حال، پیش از توصیه گسترده، مطالعات انسانی با طراحی دقیق، مدت‌زمان طولانی‌تر، و ارزیابی پیامدهای عملکردی و بالینی مورد نیاز است. بررسی ترکیب ورزش با تغذیه یا دارو نیز می‌تواند راهکارهای نوینی برای پیشگیری یا بهبود تحلیل عضلانی وابسته به سن یا سارکوپنی ارائه دهد.

تضاد منافع

این پژوهش هیچ‌گونه تضاد و تعارض منافی ندارد.

منابع

- Adams, G. R., Simmons, J. R., Smith, A. E., & Wolfe, R. R. (2018). Voluntary wheel running attenuates diet-induced metabolic dysfunction in male rats. *Nutrients*, 10(6), 714. <https://doi.org/10.3390/nu10060714>
- Biglari, S., Afousi, A. G., Mafi, F., & Shabkhiz, F. (2020). High-intensity interval training-induced hypertrophy in gastrocnemius muscle via improved IGF-

- I/Akt/FoxO and myostatin/Smad signaling pathways in rats. *Physiological International*, 107(2), 220–230. <https://doi.org/10.1556/2060.2020.00020>
- Brooks, S. A., Butcher, L. R., Cronin, J. B., & Human Kinetics Editorial Staff. (2021). *Essentials of strength training and conditioning* (5th ed.). Human Kinetics.
- Cruz-Jentoft, A. J., Bahat, G., Bauer, J., Boirie, Y., Bruyère, O., Cederholm, T., ... & Zamboni, M. (2019). Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and Ageing*, 48(1), 16–31. <https://doi.org/10.1093/ageing/afy169>
- Dankel, S. J., Counts, B. R., Barnett, B. E., Buckner, S. L., Abe, T., & Loenneke, J. P. (2017). Muscle adaptations following 21 consecutive days of strength test familiarization compared with traditional training. *Muscle & Nerve*, 56(2), 307–314. <https://doi.org/10.1002/mus.25488>
- Delshad S, Yaghoubi A, Rezaeian N. The Effect of Moderate Intensity Continuous Training on Skeletal Muscle Autophagy Biomarkers in Elderly Male Rats. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2021;12(4):94-99. DOI: 10.29252/nkjms-120413. doi: 10.29252/nkjmd-120413
- Derry, S., Sattenau, S., Walsh, M., & Lang, C. H. (2018). The role of IGF-1 in the development of sarcopenia. *Translational Andrology and Urology*, 7(Suppl 2), S155–S161. <https://doi.org/10.21037/tau.2018.04.13>
- Fluck, D., Stallknecht, B., & Grunwald, K. (2018). IGF-1 signalling pathway in skeletal muscle diseases. In *Encyclopedia of Food and Health Sciences* (pp. 139–147). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20839-6>
- Grgić, V., Mikulić, P., Jurakić, I., Marković, G., Gasparov, M., Rašković, A., Šarić, T., & Ivanišević, I. (2018). High-intensity interval training reduces circulating myostatin levels more than moderate continuous endurance training. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(3), 546. <https://doi.org/10.3390/ijerph15030546>
- Han, H. Q., Zhou, X., Mitch, W. E., & Goldberg, A. L. (2013). Myostatin/activin pathway antagonism: Molecular basis and therapeutic potential. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 133, 105927. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.05.019>
- Kim, J.-S., Kim, H.-Y., Lee, S. P., Cho, J. H., Park, J. H., & Song, W. K. (2019). Effects of 12 weeks of progressive resistance vs. combined resistance and balance training on muscle mass, strength, power, balance, and serum myokines in community-dwelling frail older women. *Current Gerontology and Geriatrics Research*, 2019, 8503931. <https://doi.org/10.1155/2019/8503931>
- Lewis, R. D., Groeller, H., Taylor, N. F., & Stewart, C. E. (2007). The effects of varying doses of heavy resistance and endurance training on serum IGF-1 levels. *European Journal of Applied Physiology*, 101(2), 155–165. <https://doi.org/10.1007/s00421-007-0483-y>
- Liao, Y.-H., Chen, Y.-W., Su, Y.-C., Yang, H.-Y., & Lin, Y.-C. (2017). Comparison of the effectiveness of resistance and aerobic training programs on body

- composition, insulin resistance, and cardiorespiratory capacity in obese children. *Journal of Obesity*, 2017, 4287976. <https://doi.org/10.1155/2017/4287976>
- Little, J. P., Safdar, A., Wilkin, G. P., Tarnopolsky, M. A., & Gibala, M. J. (2016). Low-volume sprint interval but not traditional endurance-type training increases muscle microvessel density and perfusion in overweight young males. *Frontiers in Physiology*, 7, 200. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00200>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Mitchell, C. J., Churchley, E., van Ommen, B., & Coffey, V. G. (2013). Acute responses and long-term adaptations to resistance and endurance exercise in older individuals. *Aging Research Reviews*, 12(3), 815–833. doi:10.1080/17461391.2022.2040597.
- Núñez, J., García-Alvarez, A., Carbajo-Pescador, M., Rodríguez-Rodríguez, E., Ortega, J. F., Castillo, M. J., ... & Del Pozo-Cruz, J. (2018). The beneficial impact of combined endurance plus resistance exercise versus either alone on glycaemic control, lipids profile, and antioxidant enzyme activities in obese rats fed with standard chow diet. *Experimental Gerontology*, 101, 44–53. doi: 10.1038/s41598-024-51832-y
- Penhera, P. V., Sharma, N., Singh, A., Kumar, G. A., & Tripathi, Y. (2020). Role of exercise in healthy aging: Its importance and limitation. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 14(5), BC01–BC03. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2020/42484.13625>
- Petermann-Rocha, F., Balntzi, V., Gray, S. R., Lara, J., Ho, F. K., Pell, J. P., ... & Celis-Morales, C. (2022). Global prevalence of sarcopenia and severe sarcopenia: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 13(1), 86–99. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12783>
- Qaisar, R., Karim, A., & Elmoselhi, A. (2016). Muscle unloading: A comparison between spaceflight and ground-based models. *Acta Physiologica*, 218(3), 177–196. doi: 10.1111/apha.13431
- Rostamian Dolatshanlou S, Cheragh-Birjandi S, Yaghoubi A. The Effects of Different Training on Gene Expression Involved in Muscle Autophagy in eElderly Rats. *J Isfahan Med Sch* 2023; 40(699): 1016-22. doi:10.48305/JIMS.V40.1699.1016
- Tsutsumi, T., Okamoto, T., Nakajima, T., Yamada, Y., & Tabata, I. (2019). Effects of low-load blood flow restriction training on skeletal muscle hypertrophy and molecular signaling pathways in young and old humans. *Physiological Reports*, 7(17), e14185. doi: 10.3390/jcm11247389
- Viana, R. B., da Silva, E. R., de Oliveira, R. G., Fernandes, R. F., Barbosa, R. M., Leite, J. O., ... & Franco, J. R. (2019). Four weeks of high-intensity interval training enhanced fatty acid handling capabilities and glucose tolerance in

- previously sedentary subjects. *European Journal of Applied Physiology*, 119(7), 1475–1487. <https://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2023.28299.1541>
- Villarreal, F. S., Chacon-Cruz, B., Shoemaker, J. K., & Tanaka, H. (2017). Physical activity guidelines for older adults. *American Journal of Lifestyle Medicine*, 11(6), 481–491. doi: 10.1101/2024.01.09.23299774.
- Yamaguchi, K. (2018). Emerging roles of IGF-1 signaling in muscle adaptation to disuse and mechanical loading. *World Journal of Clinical Cases*, 6(1), 17–27. doi: 10.1007/978-981-13-1435-3_6
- Zbinden-Reymond, R., Schuler, G., Freyssenet, A., Jacquet, A., & Bonny, O. (2019). Biomarkers of skeletal muscle damage and adaptation to exercise. *Frontiers in Physiology*, 10, 600. doi: 10.1080/026404197367498

Effects of Resistance, Endurance, and High-Intensity Interval Training on Myostatin, Follistatin, and IGF-1 Gene Expression in Skeletal Muscle of Aged Male Rats

Nasrin Nobahari ¹, Mahtab Moazzami ^{2*}, Ali Yaghoubi ¹

¹ Department of Physical Education, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

² Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

*Corresponding author: moazami@um.ac.ir

Abstract

Objectives: Sarcopenia is a common age-related disorder characterized by a decline in muscle mass and strength. One of the contributing factors to the development of this condition is alterations in the expression of regulatory genes such as myostatin, follistatin, and insulin-like growth factor-1 (IGF-1). The purpose of this study was to investigate and compare the effects of three types of exercise training—resistance training, endurance training, and high-intensity interval training (HIIT) on the expression of myostatin, follistatin, and IGF-1 genes in the gastrocnemius muscle of aged male rat.

Methods: In this experimental study, forty 18-month-old male Wistar rats were randomly assigned into four equal groups: control, resistance training, endurance training, and high-intensity interval training (HIIT). The training protocols were performed for eight weeks, five days per week. Forty-eight hours after the final training session, gastrocnemius muscle tissue was harvested, and gene expression levels were analyzed using the RT-PCR technique. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test.

Results: The results showed that exercise training significantly reduced myostatin gene expression in the resistance training, endurance training, and high-intensity interval training (HIIT) groups compared with the control group ($P \leq 0.05$). In addition, a significant increase in the expression of follistatin and IGF-1 genes was observed in all three training groups compared with the control group ($P \leq 0.05$). Endurance training resulted in a significantly greater increase in follistatin expression compared with resistance training ($P \leq 0.05$), whereas resistance and HIIT protocols induced a greater increase in IGF-1 expression than endurance training ($P \leq 0.05$).

Conclusion: The findings indicate that different types of exercise training effectively modulate molecular pathways associated with muscle growth and regeneration in the skeletal muscle tissue of aged male rats. These results support physical exercise as an effective non-pharmacological intervention for the prevention or attenuation of sarcopenia and may provide a basis for the development of targeted exercise protocols in older adults.

Key words: Sarcopenia; Myostatin; Follistatin; Insulin-like Growth Factor-1; Resistance Training; High-Intensity Interval Training (HIIT); Endurance Training