



The effect of resistance-aerobic training on the gene expression of FNDC5, myostatin and hypertrophy or hyperplasia in the gastrocnemius muscle of immature rats

Mohsen Mohammadi¹, Mohammad Reza Fadaei Chafi^{2*}

1. MSc of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.
2. Assistant Professor at Department of Physical Education and Sport Science, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

Abstract

Background and Aim: Among the many variables that affect muscle growth are myokines and myostatin. This study looked at how resistance-aerobic training affected the expression of genes related to fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5), myostatin and hypertrophy or hyperplasia in the immature rats' gastrocnemius muscle. **Materials and Methods:** A total of ten male Wistar rats, aged two weeks were randomly divided into two control (five rats) and training (five rats) groups. The resistance training program consisted of three sessions each week for six weeks, during which time the participants would carry a weight and climb a one-meter ladder 26 times. For six weeks, on alternate days, aerobic exercise consisted of jogging on a treadmill at an intensity between 25 and 50% of a rat's maximum speed. All of the rats were dissected and their skeletal muscles isolated 48 hours after the previous training session and after fasting for 8 hours. FNDC5 and myostatin expression were measured using Real-Time PCR. Using light microscopy, hypertrophy and hyperplasia were quantified. Prism software was used to analyze the data using an independent t-test at the $p \leq 0.05$ level. **Results:** Following six weeks of training, the training group had higher gene expression of FNDC5 ($p=0.04$) and hypertrophy ($p=0.004$) than the control group, but decreased gene expression of myostatin ($p=0.01$) in comparison. Nonetheless, there was no statistically significant difference between the two groups gastrocnemius muscle hyperplasia ($p=0.22$). **Conclusion:** It appears that resistance-aerobic exercise accompanied by increased expression of FNDC5 genes and decreased myostatin gene expression increased fast twitch fiber hypertrophy. This approach shows that muscle tissue in animal samples before puberty is trainable, independent of natural growth.

Keywords: Resistance training, Aerobic training, Hypertrophy, Hyperplasia, FNDC5 gene, Myostatin gene.

Cite this article:

Mohammadi, M., & Fadaei Chafi, M.R. (2023). The effect of resistance-aerobic training on the gene expression of FNDC5, myostatin and hypertrophy or hyperplasia in the gastrocnemius muscle of immature rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 11(28), 88-99.

* Corresponding Author, Address: Department of Physical Education & Sport Sciences, Islamic Azad University - Rasht Branch, Rasht, Iran; Email: mfadaei2000@yahoo.com

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.5639.1740>





اثر تمرین مقاومتی - هوازی بر بیان ژن های FNDC5، میوستاتین و هایپرتروفی یا هایپرپلازی در عضله دوقلو موش های نابالغ

محسن محمدی^۱، محمد رضا فدائی جافی^{۲*}

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

۲. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: رشد عضلانی، تحت تاثیر عوامل مختلف از جمله مایوکاین ها و میوستاتین قرار می گیرد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین مقاومتی - هوازی بر بیان ژن های فیبرونکتین نوع سه حاوی پروتئین ۵ (FNDC5)، میوستاتین و هایپرتروفی یا هایپرپلازی در عضله دوقلو موش های نابالغ بود. روش تحقیق: تعداد ۱۰ سر موش صحرایی نر ویستار با سن دو هفته ای به طور تصادفی در دو گروه کنترل (پنج سر) و تمرین (پنج سر) قرار گرفتند. برنامه تمرین مقاومتی شش هفته با سه نوبت و هر نوبت چهار بار بالا رفتن از نردبان یک متری (با ۲۶ پله) با حمل وزنه بود. برنامه تمرین هوازی شش هفته در روزهای متناوب شامل دویدن روی نوارگردان با شدت ۲۵ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت موش به اجرا درآمد. مدت ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و پس از هشت ساعت ناشتایی، موش ها تشریح شدند و عضله دوقلو جدا گردید. بیان ژن FNDC5 و میوستاتین با استفاده از روش Real time PCR، و هایپرتروفی و هایپرپلازی توسط میکروسکوپ نوری سنجش شدند. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون t مستقل در سطح معنی داری $p \leq 0/05$ با استفاده از نرم افزار PRISM انجام پذیرفت. یافته ها: پس از شش هفته تمرین مقاومتی - هوازی، بیان ژن FNDC5 ($p=0/04$) و هایپرتروفی ($p=0/004$) در عضله دوقلوی گروه تمرین بالاتر؛ اما بیان ژن میوستاتین ($p=0/01$) در این گروه کمتر بود. با این حال، تفاوت معنی داری بین هایپرپلازی تارهای عضله دوقلوی موش های نابالغ دو گروه مشاهده نشد ($p=0/22$). نتیجه گیری: به نظر می رسد اجرای تمرینات مقاومتی - هوازی با بیان بیشتر ژن های FNDC5 و بیان کمتر ژن های میوستاتین، به هایپرتروفی بیشتر تارهای تند انقباض منجر می شود. این فرآیند فارغ از رشد طبیعی، به تمرین پذیری بافت عضلانی در نمونه های حیوانی قبل از سن بلوغ دلالت دارد.

واژه های کلیدی: تمرین مقاومتی، تمرین هوازی، هایپرتروفی، هایپرپلازی، ژن FNDC5، میوستاتین.

مقدمه

(UCP-1) در سلول های چربی سفید و تغییر فنوتیپ بافت چربی سفید به بافت چربی قهوه ای می شود (تیمونس^{۱۰} و دیگران، ۲۰۱۲). همچنین در رگ زایی، ساخت عضله، تنظیم عروق خونی، محافظت از دستگاه عصبی و احتمالاً حفظ طول تولمر، نقش دارد (حاجی زاده و دیگران، ۲۰۲۰). در پژوهشی نشان داده شده که میزان FNDC5 به دنبال PGC-1 α افزایش می یابد و می تواند در جلوگیری از آتروفی و دیستروفی^{۱۱} بافت ها نقش داشته باشد (سندری^{۱۲} و دیگران، ۲۰۰۶). رشیدلمیر و دیگران (۲۰۱۷) نشان داده اند که هر دو نوع تمرین مقاومتی و هوازی، می توانند به طور مشابهی تولید و ترشح مایوکاین های ناشی از ورزش، از جمله FNDC5 در موش های صحرایی نر را افزایش دهند. عربزاده و دیگران (۲۰۲۲) نیز نشان داده اند که تمرین هوازی با شدت متوسط روی نوارگردان، موجب افزایش قابل توجه بیان ژن FNDC5 در عضله اسکلتی موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو می شود.

علاوه بر موارد یاد شده، عوامل دیگری رشد و هایپرتروفی عضلانی را تحت تاثیر قرار می دهند که یکی از آن ها میوستاتین^{۱۳} یا عامل رشدی/تامیزی^{۱۴} (GDF8) می باشد (صالح پور و دیگران، ۲۰۱۳). میوستاتین عضوی از خانواده عامل تغییر شکل رشدی بتا^{۱۵} (TGF- β) است که به عنوان عامل تنظیم کننده منفی توده عضلانی عمل می کند، در عضله اسکلتی بیان شده و سپس به گردش خون می ریزد. کمبود میوستاتین با افزایش رشد عضلانی همراه است. فقدان کامل میوستاتین در موش ها، با افزایش دو تا سه برابری توده عضله اسکلتی همراه است که هم به شکل افزایش اندازه میوفیبریلی (هایپرتروفی)، و هم به شکل افزایش تعداد میوفیبریل ها (هایپرپلازی)؛ نمایان می شود (محمدی و دیگران، ۲۰۲۱). مطالعات آزمایشگاهی حاکی از آن است که میوستاتین مانع از سنتز پروتئین و تکثیر میوبلاست طی فرآیند میوزنزیس^{۱۶} و حتی فعالیت سلول های ماهواره ای عضلات موش های بالغ می شود (تیلور^{۱۷} و دیگران، ۲۰۰۱). در ارتباط با اثر ورزش بر میوستاتین، محمدیاری و دیگران (۲۰۲۱) در پژوهش خود نشان داده اند که هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید، سبب کاهش معنی دار میوستاتین و افزایش معنی دار عامل رشد شبه انسولینی نوع یک^{۱۸} (IGF-1) در نوجوانان چاق می شود. عیسی زاده و دیگران (۲۰۲۰) نیز گزارش

علاوه بر رشد طبیعی بافت عضلانی در دوره کودکی، ساختار و عملکرد فیزیولوژیکی آن تحت تاثیر تمرینات ورزشی قرار می گیرد. یکی از مهم ترین سازگاری های فیزیولوژیکی به دنبال اجرای تمرین، رشد و هایپرتروفی تارهای عضلانی است که با سنتز پروتئین و رشد میوفیبریل ها در این سلول ها همراه است (کریمی و دیگران، ۲۰۲۲). با این حال، شدت و حجم معینی از تمرینات برای هایپرتروفی عضلانی لازم است (نتو^۱ و دیگران، ۲۰۲۲) تا اثر خالص آن از رشد طبیعی در دوران کودکی متمایز گردد.

یکی از شیوه های تمرینی که مورد توجه مربیان و ورزشکاران است، استفاده از تمرینات ترکیبی (اجرای همزمان تمرین مقاومتی-هوازی) است. پژوهش های انجام گرفته نشان داده اند که اجرای تمرینات مقاومتی و هوازی به صورت همزمان، ظرفیت تولید نیرو در عضلات اسکلتی را به دلیل سازگاری های عصبی-عضلانی، بهبود می بخشد (تروول^۲ و دیگران، ۲۰۲۰). مطالعات گذشته نشان داده اند که تمرین ترکیبی، دارای اثرات هر دو نوع تمرین مقاومتی و هوازی بر بافت عضلانی است. هر چند پژوهشگران در رابطه با اثر فیزیولوژیکی تمرین هوازی بر هایپرتروفی عضلانی ناشی از تمرین مقاومتی، نتایج متفاوتی را گزارش کرده اند (فرزانگی و دیگران، ۲۰۲۱). با این حال، بافت عضلانی قابلیت شگفت انگیزی در پاسخ به محرک های محیطی مانند ورزش و ایجاد سازگاری با آن دارد. همچنین این بافت به عنوان یک ارگان درون ریز، موجب بیان پروتئین ها (معروف به مایوکاین^۳) و آزاد شدن آن ها در خون می گردد (علیزاده و دیگران، ۲۰۱۷). مایوکاین ها بخشی از شبکه ارتباطی پیچیده درون بدن هستند و نقش محوری در تعامل بین ارگان ها^۴ میان عضله اسکلتی و سایر بافت ها، مانند بافت چربی، کبد، پانکراس و غیره؛ بازی می کنند (راسچه^۵ و دیگران، ۲۰۱۳).

آیریزین^۶ یکی از انواع مایوکاین ها است که از رونویسی ژن فیبرونکتین نوع سه حاوی پروتئین^۷ (FNDC5) در پاسخ به فعالیت ورزشی و بیان ژن گیرنده گاما فعال شده با تکثیر کننده پروکسی پروکسی زوم هم فعال ساز-۱^۸ (PGC-1 α) به عنوان کنترل کننده اصلی زیست زایی میتوکندریایی در تغییر نوع تار عضلانی (عظیمی و دیگران، ۲۰۱۹)، افزایش می یابد و موجب تحریک بیان پروتئین جفت نشده^۹

1. Neto
2. Trowell
3. Myokine
4. Organ cross talk
5. Raschke
6. Irisin
7. Fibronectin type III domain-containing protein 5

8. Proximosome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α
9. Uncoupling protein 1
10. Timmons
11. Dystrophy
12. Sandri
13. Myostatin

14. Growth differentiation factor-8
15. Transforming growth factor- β
16. Myogenesis
17. Taylor
18. Insulin-like growth factor-1

یک متر دارای ۲۶ پله با وزنه بسته شده به دم حیوانات بود که سه جلسه در هفته (شنبه، دوشنبه و چهارشنبه) به مدت شش هفته اجرا شد. در هر جلسه، سه نوبت و هر نوبت شامل چهار تکرار و بین هر نوبت، ۳۰ ثانیه استراحت در نظر گرفته شد. در هفته اول، میزان وزنه بسته شده به دم حیوان ۳۰ درصد وزن بدن در نظر گرفته شد و به تدریج در هفته دوم به ۷۰ درصد، هفته سوم به ۱۰۰ درصد، هفته چهارم به ۱۲۰ درصد، هفته پنجم به ۱۴۰ درصد، و هفته ششم به ۱۶۰ درصد وزن بدن حیوان افزایش یافت (باقرپور طبالوندانی و دیگران، ۲۰۲۰).

برای اجرای برنامه تمرین هوازی، ابتدا موش‌ها به مدت سه روز تحت برنامه آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان مخصوص جوندگان قرار گرفتند. سپس جهت تعیین حداکثر سرعت تا سرحد واماندگی، با سرعت دو متر بر دقیقه شروع به دویدن کردند و هر دو دقیقه، دو متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده شد. این روند افزایشی سرعت تا جایی ادامه یافت که موش‌ها دیگر قادر به ادامه حرکت روی نوارگردان نبودند. برنامه تمرین هوازی شامل سه جلسه در هفته (یکشنبه، سه شنبه و پنجشنبه، در روزهای متناوب با تمرینات مقاومتی) به صورت دویدن بر روی نوارگردان با شدت ۲۵ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت موش، به مدت ۳۰ دقیقه بود که در طول شش هفته اجرا شد (فدائی چافی و دیگران، ۲۰۲۱).

وزن هر گروه ابتدا و انتهای مطالعه بررسی شد. مدت زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها با استفاده از گاز CO₂ بی هوش شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت خلفی ساق پا، عضله دوقلو که بخش زیادی از تارهای عضلانی آن از نوع تند انقباض است (آگاسکیوگلو^۲ و دیگران، ۲۰۲۲)، استخراج گردید و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد تا جهت انجام آزمایش‌های پاتولوژیکی و بررسی بیان ژن مورد استفاده قرار گیرد. جهت بررسی رشد عضلانی، ابتدا بافت مورد نظر با همتوکسیلین^۳ به جهت متمایز کردن سلول‌ها و اجزاء آن و همچنین عناصر موجود در بافت، رنگ آمیزی شد و سپس به وسیله میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری گردید. به منظور بررسی بیان ژن میوستاتین و FNDC5 از روش Real-time PCR استفاده شد. به منظور انجام این تکنیک ابتدا طراحی پرایمر ساخت شرکت سیناکلون ایران انجام گردید (جدول یک).

به منظور استخراج RNA، به ازای هر یک میلی‌لیتر تریزول اضافه شده، ۲۰۰ میکرولیتر کلوفورم به نمونه‌ها

کرده‌اند که اجرای تمرین ترکیبی (هوازی-مقاومتی)، موجب کاهش غیرمعنی دار میوستاتین در زنان سالمند می‌گردد. همچنین برخی مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که اجرای تمرینات هوازی تناوبی به مدت هشت هفته، ۴۰ دقیقه و سه بار در هفته، با شدت ۴۰ تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی؛ سبب کاهش معنی‌دار میوستاتین و افزایش هایپرتروفی و وزن عضله دوقلو موش‌های صحرایی نر می‌گردد (بیگلری و دیگران، ۲۰۲۰). در پژوهشی مشابه، باقرپور طبالوندانی و دیگران (۲۰۲۰) نشان داده‌اند که تمرین مقاومتی - هوازی می‌تواند با افزایش غلظت تستوسترون، رشد و هایپرتروفی عضله نعلی موش‌ها در سنین مختلف را تسهیل نماید.

در کل، پژوهش‌های انجام گرفته حاکی از اثربخشی اجرای تمرینات هوازی و مقاومتی بر رشد و هایپرتروفی عضلانی است؛ با این حال، مطالعات اندکی به بررسی و تشریح سازوکارهای درگیر در سازگاری عضلات اسکلتی در پاسخ به محرک‌های همزمان مقاومتی و هوازی خصوصاً در دوران کودکی پرداخته‌اند. بنابراین، سوال اساسی در پژوهش حاضر این است که آیا تمرین مقاومتی - هوازی بر رشد عضلانی و بیان ژن‌های FNDC5 و میوستاتین در عضله دوقلو موش‌های نابالغ اثر گذار است؟

روش تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی با رویکرد کاربردی می‌باشد. نمونه‌های پژوهش را ۱۰ سر موش صحرایی نر نابالغ با سن دو هفته و محدوده وزنی ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم تشکیل می‌دادند که از موسسه پاستور تهیه شدند و برای انجام پروتکل پژوهش، به شرکت دانش بنیان بافت و ژن پاسارگاد منتقل گردیدند. نمونه‌ها پس از یک هفته سازگاری با محیط جدید، به صورت تصادفی در دو گروه کنترل (پنج سر) و تمرین (پنج سر) تقسیم شده و مورد مطالعه قرار گرفتند. شرایط نگهداری نمونه‌ها بدین صورت بود که در گروه‌های ۳-۵ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۳±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته قرار گرفتند. طرح پژوهش حاضر توسط سامانه ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی بررسی شده و با شناسه IR.IAU.RASHT.REC.1401.014 ثبت گردیده است. همچنین کلیه اصول نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، مطابق دستورالعمل موسسه ملی سلامت^۱ (NIH) رعایت گردید.

برنامه تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبانی به ارتفاع

1. National institutes of health

2. Agascioglu

3. Haematoxylin

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در روش Real-time PCR

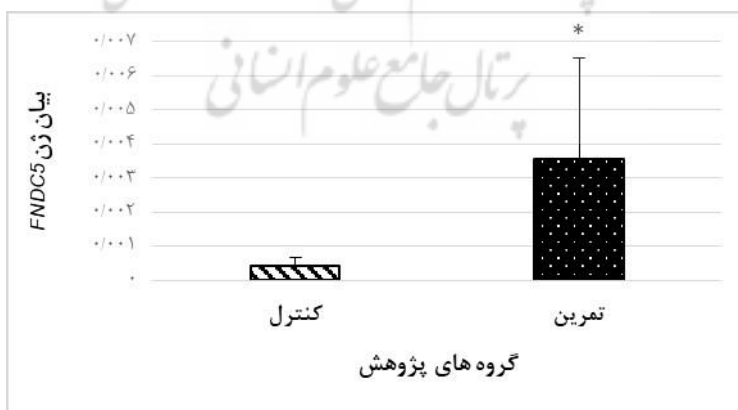
rMSTN-F	AGACTTTGGATGGGACTGGA
rMSTN-R	AAGGGGAGACATTTTTGTTGG
rGap-R	CAT ACT CAG CAC CAG CAT CAC C
rGap-F	AAG TTC AAC GGC ACA GTC AAG G
rFndc5-F	CAGCCATTGTCACTACTGGCC
rFndc5-R	GGGAGAGAGAGAGGGAGAAGGAG

آستانه، منحنی‌های تکثیر و ذوب مربوط به هر ژن توسط نرم افزار Oligo آماده شد و تجزیه و تحلیل گردید. تغییرات بیان نسبی هر ژن با معادله $2^{-\Delta CT}$ و بر اساس CT مربوط به ژن رفرنس و ژن اصلی هر نمونه، محاسبه شد. به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌های پژوهش، از آزمون شاپیرو - ویلک^۳ استفاده شد. همچنین برای مقایسه بین دو گروه شرکت کننده، از آزمون آماری t مستقل بهره‌برداری گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PRISM و در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها

وزن موش‌ها در ابتدای پروتکل پژوهش در گروه تمرین، 30.40 ± 1.60 گرم و در گروه کنترل، 29.40 ± 2.30 گرم بود که پس از شش هفته مداخله، با افزایش معنی‌دار ($p=0.001$) همراه بود و به ترتیب به 179.60 ± 0.40 گرم و 198.60 ± 16.50 گرم در دو گروه رسید. مقایسه میزان FNDC5 دو گروه در شکل یک ارائه شده است. نتایج آزمون t مستقل نشان داد که میزان بیان ژن FNDC5 عضله^۱ دوقلو موش‌های صحرائی نابالغ در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری ($p=0.04$) بالاتر است.

اضافه شده و پس از انکوبه شدن، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به محلول شفاف به دست آمده، ایزوپروپانول^۱ اضافه گردید و پس از انکوبه شدن، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس RNA استخراج شده از کل بافت‌ها، به cDNA تبدیل شد و بدین منظور، از کیت محصول شرکت پارس توس ساخت کشور ایران استفاده گردید. برای ساخت cDNA، بافر RT، آنزیم RT، پرایمر Oligo dT و آب DEPC با یکدیگر مخلوط شدند و سپس در حجم‌های نه میکرولیتر در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری توزیع گردید. میکروتیوب‌های آماده شده حاوی RT mix و RNA در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شدند و پس از اجرای برنامه دمایی، نمونه‌های cDNA استخراج گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شد و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه^۲ (CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از پایان آزمایش QPCR، داده‌های حاصل شامل اعداد CT با سیکل

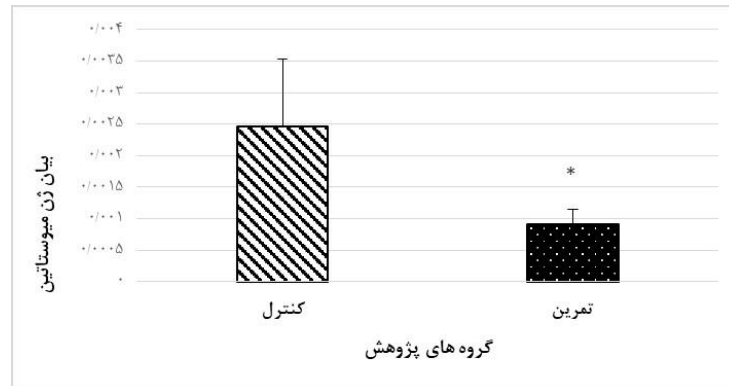


شکل ۱. مقایسه بیان ژن FNDC5 عضله^۱ دوقلوی موش‌های صحرائی؛ * نشانه تفاوت

معنی‌دار با گروه کنترل در سطح معنی‌داری $p < 0.05$.

مقایسه میزان بیان ژن میوستاتین گروه‌های شرکت کننده در شکل دو ارائه شده است. نتایج آزمون t مستقل نشان داد که میزان بیان ژن میوستاتین عضله دوقلو موش‌های

صحرائی نابالغ در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری ($p=0/01$) پایین‌تر است.



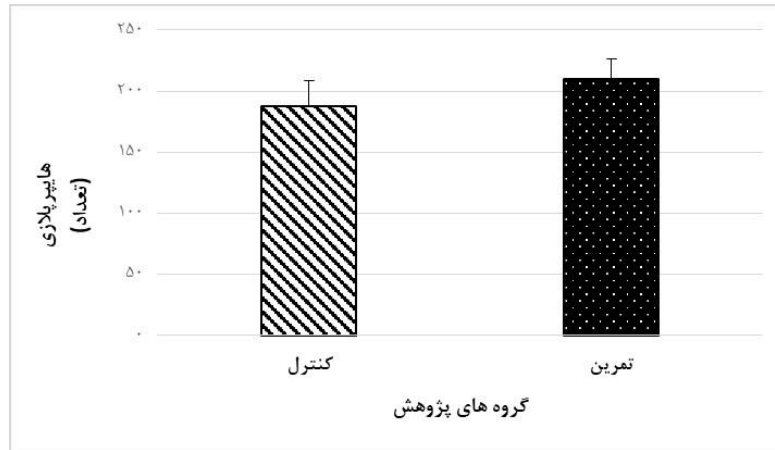
شکل ۲. مقایسه میوستاتین عضله دوقلو موش‌ها؛ * نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل؛ در سطح معنی‌داری $p < 0/05$.

علاوه بر این، مقایسه هایپرتروفی عضله دوقلو دو گروه در شکل‌های سه تا پنج ارائه شده است. نتایج شکل سه دال بر آن است که قطر تار (معیار میزان هایپرتروفی) عضله اسکلتی موش‌های صحرائی نابالغ در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌داری ($p=0/004$) بالاتر است؛ در حالی که مطابق شکل چهار، تعداد تار (معیار میزان هایپرپلازی) عضله دوقلو موش‌های صحرائی نابالغ در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری ($p=0/22$) ندارد. تصاویر برش عرضی عضله دوقلو موش‌ها (شکل پنج) در گروه‌های تمرین و کنترل با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ میکرومتر، نشان دهنده مقادیر بالاتر هایپرتروفی در موش‌های نابالغ تمرین کرده در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

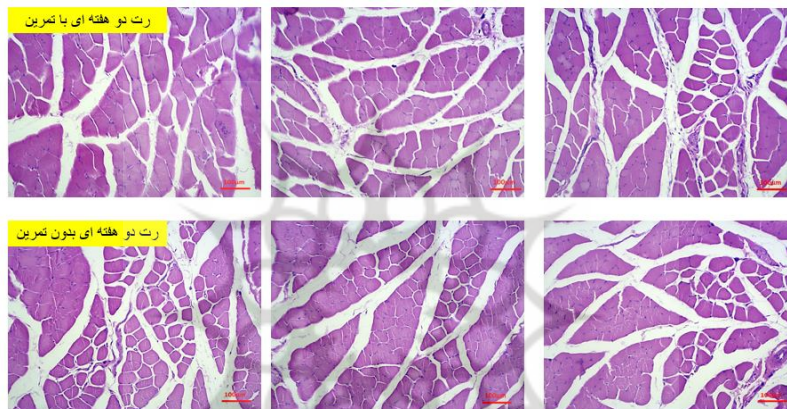
یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که اجرای تمرینات هوازی - مقاومتی شش هفته‌ای، به ترتیب موجب افزایش و کاهش بیان ژن‌های FNDC5 و میوستاتین در عضله دوقلو موش‌های صحرائی نابالغ می‌شود. در همین راستا، حسین‌زاده و دیگران (۲۰۱۸)، در پژوهش خود نشان دادند که اجرای تمرینات مقاومتی و هوازی، موجب افزایش بیان ژن FNDC5 در عضله قلبی موش‌های صحرائی نر می‌شود. همچنین، رئیسی و دیگران (۲۰۱۳)، در پژوهش خود گزارش کرده‌اند که اجرای تمرین مقاومتی بر روی نردبان، میزان بیان ژن FNDC5 را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. علاوه بر این، بیگلری و دیگران (۲۰۲۰)، در پژوهش



شکل ۳. مقایسه قطر تار (هایپرتروفی) عضله دوقلو موش‌ها؛ * نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل؛ در سطح معنی‌داری $p < 0/05$.



شکل ۴. مقایسه تعداد تار (هائپرپلازی) عضله دوقلو موش ها.



شکل ۵. مقایسه تارهای عضله دوقلو موش ها.

که نه تمرین بلندمدت و نه تمرین حاد، به طور محسوس FNDC5 عضلات را افزایش نمی دهند. به نظر می رسد که نوع تمرین، طول و دوره و شدت تمرین از جمله عوامل ناهمسوپی به شمار می رود.

به طور کلی به دنبال فعالیت ورزشی، مقادیر PGC-1a به عنوان یک مولکول فعال کننده رونویسی و محرک بیان پروتئین غشایی FNDC5، در سلول های عضلانی افزایش می یابد (خدادادی و دیگران، ۲۰۱۴). از سوی دیگر، میوستاتین مانع فعال شدن، تکثیر و تمایز سلول های عضلانی می گردد (مک کروسکری^۴ و دیگران، ۲۰۰۳). در مطالعات گذشته نشان داده شد که حذف کامل میوستاتین در موش ها، باعث افزایش توده عضلانی به میزان دو تا سه برابر می شود که خود حاصل افزایش اندازه میوفیبریل ها است (هیتل^۵ و دیگران، ۲۰۱۰). از آنجایی که مهار میوستاتین به عنوان یک نوع تنظیم کننده

خود نشان داده اند که اجرای تمرینات هوازی متناوب، سبب کاهش معنی دار میوستاتین عضله دوقلو موش های صحرایی نر شده و هائپرتروفی عضلانی را موجی می گردد، گزارش شده است که میوستاتین در درجه اول از راه عوامل رونویسی^۱ (Smad) عمل می کند و PKB/Akt را تنظیم می نماید (بیگلری و دیگران، ۲۰۲۰). همچنین، محمدنژاد و دیگران (۲۰۲۰)، در پژوهش خود نشان داده اند که تمرین مقاومتی موجب تنظیم منفی میوستاتین در عضلات تند و کند انقباض موش های صحرایی نر می گردد؛ تغییری که در عضله تند انقباض نسبت به عضله کند انقباض بیشتر است. در مقابل، برنمول^۲ و دیگران، (۲۰۱۴) گزارش کرده اند که میزان FNDC5 در پلاسما و عضله موش های صحرایی، به دنبال تمرین داوطلبانه بر روی چرخ گردان و تمرین حاد زیر بیشینه بر روی نوارگردان؛ تغییر معنی داری نمی کند همچنین، پیکالا^۳ و دیگران (۲۰۱۳) نشان داده اند

1. Small mothers against decapentaplegic
2. Brenmoehl

3. Pekkala
4. McCroskery

5. Hittel

این حال، هایپربلازی سلول‌های عضلانی در گروه تمرین مقاومتی - هوازی در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود، اما به سطح معنی‌دار نرسید. در واقع، بهبود ۱۱۲ درصدی هایپرتروفی در گروه تمرین مقاومتی - هوازی نسبت به گروه کنترل، حاکی از آن است که بخش تمرین مقاومتی از طریق افزایش سنتز پروتئین در تارهای عضلانی، موجب هایپرتروفی عضلانی می‌گردد (آدامز^۵، ۲۰۰۶). بررسی‌های انجام گرفته نشان از آن دارد که روند رشد بافت عضلانی ناشی از هایپرتروفی در دوران کودکی، یعنی در وضعیت قبل از بلوغ، آغاز و دوران بلوغ، خصوصاً در جنس نر، با سرعت بالایی تداوم دارد؛ اما در اواخر نوجوانی سرعت رشد کاهش یافته و نهایتاً، در دوره جوانی متوقف می‌شود. از این زمان به بعد، اعمال محرک‌هایی چون تمرینات مقاومتی می‌تواند چنین فرآیندی را تغییر دهد. باقرپور و دیگران (۲۰۲۰) نشان داده‌اند که اجرای تمرینات مقاومتی - هوازی می‌تواند بر هایپرتروفی عضله نعلی موش‌های صحرایی نر نابالغ، بالغ و سالمند؛ موثر واقع گردد و بیشترین تمرین پذیری در رده‌های سنی نابالغ و سالمند روی می‌دهد (باقرپور طبالوندانی و دیگران، ۲۰۲۰). اگرچه در پژوهش حاضر، امکان اندازه‌گیری تعداد و اندازه سلول‌های عضلانی موش‌های صحرایی نر نابالغ (در حالت زنده) در ابتدای پروتکل پژوهش وجود نداشت؛ اما تفاوت معنی‌دار هایپرتروفی تارهای عضلانی و نشانگرهای رشد عضلانی در موش‌های نابالغ تمرین کرده در برابر گروه کنترل، نشانه‌ای از آثار مثبت تمرین مقاومتی - هوازی در سنین کودکی می‌باشد. با این وجود، به منظور تفکیک آثار تمرین هوازی از تمرین مقاومتی بر متغیرهای پژوهش حاضر در دوران رشد، انجام پژوهش‌های بیشتر ضروری است.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد اجرای تمرینات مقاومتی - هوازی با بیان بیشتر ژن FNDC5 و مهار بیان ژن میوستاتین، به هایپرتروفی بیشتر تارهای تند انقباض منجر می‌شود. این فرآیند فارغ از رشد طبیعی، به تمرین‌پذیری بافت عضلانی در نمونه‌های حیوانی قبل از سن بلوغ دلالت دارد.

تعارض منافع: تضاد منافعی بین نویسندگان گزارش نشده است.

قدردانی و تشکر

پژوهش حاضر حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی فعالیت بدنی و تندرستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت است که با هزینه شخصی دانشجو انجام شده است.

منفی رشد عضلانی است؛ به طوری که احتمالاً کاهش میوستاتین از طریق تحریک PGC-1α و پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات^۱ (AMPK)، باعث ترشح برخی مایوکاین‌ها از بافت عضلانی شده و در این صورت افزایش سطوح مایوکاین‌ها از طریق نقش اتوکراینی خود، باعث افزایش IGF-1 و نهایتاً مسیرهای منتهی تنظیم کننده هایپرتروفی در عضله اسکلتی می‌گردد. شاخص AMPK نیز به عنوان یک تنظیم کننده بالادستی و یک نوع آغازگر مسیر آبشار سیگنالی داخل سلولی، نقش مهمی در بیان ژن FNDC5 در سلول عضله اسکلتی و سوخت و ساز آن بر عهده دارد (کانسیت^۲ و دیگران، ۲۰۱۸). بنابراین، در پژوهش حاضر مقادیر بالاتر بیان ژن FNDC5 (۷۲ درصد) و مقادیر پایین‌تر بیان ژن میوستاتین (۶۳ درصد) در گروه تمرین مقاومتی - هوازی نسبت به گروه کنترل، در تعادل مثبت این دو متغیر آگونیست - آنتاگونیست (موافق - مخالف) به نفع رشد بافت عضلانی نقش دارد که خود حاکی از اثربخشی نوع برنامه تمرینی ترکیبی در دوران رشد است. علاوه بر استرس‌های مکانیکی از جمله ورزش، رشد عضلانی می‌تواند ناشی از سازگاری‌های متابولیکی و فعالیت غدد درون‌ریز باشد. افزایش غلظت هورمون‌های آنابولیک، سبب اتصال راحت‌تر به گیرنده و تسهیل سوخت و ساز پروتئین شده و در نتیجه، موجب توسعه رشد عضلانی می‌گردد (اولیری^۳ و دیگران، ۲۰۱۴؛ نظامی و دیگران، ۲۰۱۷). در دوره کودکی، محور هورمون رشد و IGF-1 نقش بسزایی در رشد و تکامل بافت عضلانی بر عهده دارد. ارتباط معکوس بین سطوح IGF-1 و میوستاتین که در مطالعات قبلی به آن اشاره شد، به عنوان یک فرآیند تنظیمی توده عضلانی بر اساس چندین مسیر احتمالی نشان داده شده است؛ به طوری که گفته شده بیان درون عضلانی IGF-1 به دنبال کاهش و مهار میوستاتین، افزایش می‌یابد (بارب^۴ و دیگران، ۲۰۱۵). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که هایپرتروفی در عضله دوقلوی موش‌های نابالغ پس از تمرین، نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌دار بالاتر می‌رود. این یافته همسو با نتایج بسیاری از پژوهش‌های گذشته مانند اثر تمرین مقاومتی بر عضله دوسر بازویی موش‌های نر ویستار (نتو و دیگران، ۲۰۲۲)، اثر تمرین با شدت بالا بر عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر (بیگلری و دیگران، ۲۰۲۰)، و اثر تمرین مقاومتی - هوازی بر عضله نعلی موش‌های صحرایی نر در سنین مختلف (باقرپور طبالوندانی و دیگران، ۲۰۲۰) می‌باشد. با

1. Adenosine monophosphate-activated protein kinase

2. Consitt
3. O'leary

4. Barbé
5. Adams

منابع

- Adams, G.R. (2006). Satellite cell proliferation and skeletal muscle hypertrophy. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 31(6), 782-790. <https://doi.org/10.1139/h06-053>.
- Agascioglu, E., Çolak, R., & Çakatay, U. (2022). Redox status biomarkers in the fast-twitch extensor digitorum longus resulting from the hypoxic exercise. *Nagoya Journal of Medical Science*, 84, 433-447. <https://doi.org/10.18999/nagjms.84.2.433>.
- Alizadeh, H., Safarzadeh, A., & Talebi-Garakani, E. (2017). Effect of resistance training on serum meteorin-like hormone level and insulin resistance index in overweight adolescent boys. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 20(7), 54-64. [In Persian]. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5233-fa.html>.
- Alizadeh, R., Rezaei Nejad, R., Salehpour, M., & Sheikhi, S. (2017). The effect of acute circuit resistance exercise on plasma concentration of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in young men. *Ebnesina*, 19(4), 30-37. [In Persian] <http://ebnesina.ajaums.ac.ir/article-1-508-en.html>
- Arabzadeh, E., Shirvani, H., Ebadi Zahmatkesh, M., Riyahi Malayeri, S., Meftahi, G. H., & Rostamkhani, F. (2022). Irisin/FNDC5 influences myogenic markers on skeletal muscle following high and moderate-intensity exercise training in STZ-diabetic rats. *3 Biotech*, 12(9), 1-13. [In Persian]. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03253-9>.
- Azimi Dokht, S.M.A., Gharakhanlou, R., Naghdi, N., Khodadadi, D., & Zare Zade Mehrizi, A.A. (2019). The effect of the treadmill running on genes expression of the PGC-1 α , FNDC5 and BDNF in hippocampus of male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 7(14), 91-101. [In Persian]. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2017.1037.1321>.
- Bagherpour Tabalvandani, M.M., Fadaei, M.R., & Elmieh, A. (2020). The effect of resistance-aerobic training on the growth of muscle fibers, serum testosterone and androgen receptors on soleus muscles, in different ages groups of male rats. *Metabolism and Exercise*, 10(2), 111-122. [In Persian]. <https://doi.org/10.22124/jme.2021.19982.217>.
- Bazgir, B., Fathi, R., Valojerdi, M.R., Mozdziaik, P., & Asgari, A. (2017). Satellite cells contribution to exercise mediated muscle hypertrophy and repair. *Cell Journal (Yakhteh)*, 18(4), 473. [In Persian]. <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4714>.
- Biglari, S., & Gaeini A. (2019). The effect of eight weeks of High-intensity Interval Training on the gene expression of the myogenic regulatory factors Myf5 and myogenin in the skeletal muscle of rats. *Sport and Exercise Physiology*, 2(11), 109-116. [In Persian]. https://joepa.sbu.ac.ir/article_98928.html.
- 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. *Physiology International*, 107(2), 220-230. [In Persian]. <https://doi.org/10.1556/2060.2020.00020>.
- Brenmoehl, J., Albrecht, E., Komolka, K., Schering, L., Langhammer, M., Hoeflich, A., & Maak, S. (2014). Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *International Journal of Biological Sciences*, 10(3), 338. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00226>.
- Consitt, L.A., & Clark, B.C. (2018). The vicious cycle of myostatin signaling in sarcopenic obesity: myostatin role in skeletal muscle growth, insulin signaling and implications for clinical trials. *The Journal of Frailty & Aging*, 7(1), 21-27. <https://doi.org/10.14283/jfa.2017.33>.
- Engbers, J.D., Anderson, D., Tadayonnejad, R., Mehaffey, W.H., Molineux, M.L., & Turner, R.W. (2011). Distinct roles for IT and IH in controlling the frequency and timing of rebound spike responses. *The Journal of Physiology*, 589(22), 5391-5413. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.215632>.

- Esazadeh, L., Hosseini Kakhk, A., Khajeie, R., & Hejazi, S.M. (2020). The effect of concurrent training order (resistance-aerobic) on some factors of physical fitness, functional capacity and serum levels of myostatin and follistatin hormones in postmenopausal women (clinical trial). *Journal of Sport Biosciences*, 12(2), 189-206. [In Persian]. <https://doi.org/10.22059/jsb.2020.282311.1345>.
- Fadaei Chafy, M.R., Mohebbi, H., Rahmani Nia, F., & Arabzadeh, E. (2021). Possible cross-talk between leptin and insulin resistance in sedentary obese boys at different stages of puberty. *Journal of Exercise & Organ Cross Talk*, 1(1), 15-23. [In Persian]. <https://doi.org/10.22034/jeoct.2021.290898.1008>.
- Farzanegi, P. (2021). TGF- β 1 response to eight weeks combined training with different orders in slow and fast twitch muscles in Wistar rats. *Razi Journal of Medical Sciences*, 28(9), 11-20. [In Persian]. <https://doi.org/10.1037/bul0000130>.
- Hadjizadeh Anvar, S., Kordi, M., Pournemati, P., Farajnia, S., Gharadaghi, N., & Rahmati, M. (2020). The effects of cold water immersion post repeated sprint activity on serum PGC-1 α and irisin in young active men. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 8(15), 8-20. [In Persian]. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2018.993.1313>.
- Hittel, D.S., Axelson, M., Sarna, N., Shearer, J., Huffman, K.M., & Kraus, W.E. (2010). Myostatin decreases with aerobic exercise and associates with insulin resistance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 42(11), 2023. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181e0b9a8>.
- Hosseinzadeh, M., Rashid Lamir, A., & Hejazi, S.M. (2018). Are heart muscle irisin levels and FNDC5 gene expression regulated by endurance and resistance exercises? *Annals of Applied Sport Science*, 6(1), 21-28. [In Persian]. <http://aassjournal.com/article-1-524-en.html>.
- Karimi, R., Fakhrpour, R., & Zarneshan, A. (2022). Effect of resistance training with milk protein concentrate (MPC) supplementation on serum levels of follistatin and myostatin and muscle hypertrophy in beginner bodybuilders. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 9(1), 151-163. [In Persian]. <https://doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27812.1471>.
- Khodadadi, H., Rajabi, H., Seyyed Reza Attarzadeh, S.R., & Abbasian, S. (2014). The effect of high intensity interval training (HIIT) and pilates on levels of irisin and insulin resistance in overweight women. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(3), 190-196. [In Persian]. <http://ijem.sbmu.ac.ir/article-1-1709-en.html>.
- Lanzi, C.R., Perdicaro, D.J., Tudela, J.G., Muscia, V., Fontana, A.R., Oteiza, P.I., & Prieto, M.A.V. (2020). Grape pomace extract supplementation activates FNDC5/irisin in muscle and promotes white adipose browning in rats fed a high-fat diet. *Food & Function*, 11(2), 1537-1546. <https://doi.org/10.1039/C9FO02463H>.
- McCroskery, S., Thomas, M., Maxwell, L., Sharma, M., & Kambadur, R. (2003). Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. *Journal of Cell Biology*, 162(6), 1135-1147. <https://doi.org/10.1083/jcb.200207056>.
- Mohammadi, R., Pourrahim-e- Ghouroghchi, A., & Khajehlandi, M. (2021). The effect of 8 weeks of resistance training with and without blood flow restriction on serum levels of insulin-like growth factor-1 and myostatin of athletic girls: A semi-experimental study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 20(1), 53-68. [In Persian]. <http://journal.rums.ac.ir/article-1-5758-en.html>.
- Mohammadnezhad, G., Matin Homayi, H., & Ghazalian, F. (2020). Effect of a 6-week resistance training program on transforming growth factor Beta-1 and myostatin genes expression in tendons of extensor digitorum longus and soleus muscles in rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 23(1), 82-91. [In Persian]. <https://doi.org/10.32598/jams.23.1.5849.1>.

- Mohammadyari, S., Hadi, H., & Zohrabi, A.R. (2021). The effect of intense intermittent exercise on plasma levels of myostatin and IGF-1 in obese adolescents. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 8(2), 18-24. [In Persian]. <https://doi.org/10.22049/JAHSSP.2021.27319.1369>.
- Nezami, S., Sharif, S., & Chezani Sharahi, A. (2017). The effect of resistance training with split method on hormones levels and muscle mass in young bodybuilder. *Research in Sport Medicine and Technology*, 15(13), 35-48. [In Persian]. <http://jsmt.khu.ac.ir/article-1-212-en.html>.
- Neto, W.K., de Assis Silva, W., de Oliveira, T.V.A., Boas, A.E.D.S.V., Ciena, A.P., Anaruma, C.A., ... & Gama, E.F. (2022). Muscle hypertrophy is correlated with load progression delta, climb volume, and total load volume in rodents undergoing different ladder-based resistance training protocols. *Tissue and Cell*, 75, 101725. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101725>.
- Nikooie, R., Jafari-Sardoie, S., Sheibani, V., & Nejadvaziri Chatroudi, A. (2020). Resistance training-induced muscle hypertrophy is mediated by TGF- β 1-Smad signaling pathway in male Wistar rats. *Journal of Cellular Physiology*, 235(7-8), 5649-5665. [In Persian]. <https://doi.org/10.1002/jcp.29497>.
- O'Leary, C., & Hackney, A. (2014). Acute and chronic effects of resistance exercise on the testosterone and cortisol responses in obese males: a systematic review. *Physiological Research*, 63(6). <https://doi.org/10.33549/physiolres.932627>.
- Pekkala, S., Wiklund, P.K., Hulmi, J.J., Ahtainen, J.P., Horttanainen, M., Pöllänen, E., ... & Nyman, K. (2013). Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *The Journal of Physiology*, 591(21), 5393-5400. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.263707>.
- Raschke, S., & Eckel, J. (2013). Adipo-myokines: two sides of the same coin—mediators of inflammation and mediators of exercise. *Mediators of Inflammation*, page of 320724. <https://doi.org/10.1155/2013/320724>.
- Rashidlamir, A., Hoseinzadeh, M., & Zeiaddini Dashtkhaki, L. (2017). The effects of resistance and endurance training on the liver tissue FNDC5 mRNA gene expression in male rats. *Annals of Applied Sport Science*, 5(2), 51-60. [In Persian]. <https://doi.org/10.18869/acadpub.aassjournal.5.2.51>.
- Reisi, J., Rajabi, H., Ghaedi, K., Marandi, S.-M., & Dekhoda, M.-R. (2013). Effect of acute resistance training on plasma irisin protein level and expression of muscle FNDC5 and adipose tissue UCP1 genes in male rats. *Journal of Isfahan Medical School*, 31(256). [In Persian]
- Sabag, A., Najafi, A., Michael, S., Esgin, T., Halaki, M., & Hackett, D. (2018). The compatibility of concurrent high intensity interval training and resistance training for muscular strength and hypertrophy: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Sports Sciences*, 36(21), 2472-2483. <https://doi.org/10.1080/02640414.2018.1464636>.
- Spinetti, J., De Salles, B.F., Rhea, M.R., Lavigne, D., Matta, T., Miranda, F., ... & Simão, R. (2010). Influence of exercise order on maximum strength and muscle volume in nonlinear periodized resistance training. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24(11), 2962-2969. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181e2e19b>.
- Taylor, W.E., Bhasin, S., Artaza, J., Byhower, F., Azam, M., Willard Jr, D.H., ... & Gonzalez-Cadavid, N. (2001). Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C2C12 muscle cells. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 280(2), E221-E228. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2001.280.2.E221>.
- Timmons, J.A., Baar, K., Davidsen, P.K., & Atherton, P.J. (2012). Is irisin a human exercise gene? *Nature*, 488(7413), E9-E10. <https://doi.org/10.1038/nature11364>.

Trowell, D., Vicenzino, B., Saunders, N., Fox, A., & Bonacci, J. (2020). Effect of strength training on biomechanical and neuromuscular variables in distance runners: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 50(1), 133-150. <https://doi.org/10.1007/s40279-019-01184-9>.



پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
رتال جامع علوم انسانی