

## تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین در بافت عضله دوقلوی موش‌های صحرایی سالمند

سیدمسلم اسدپور<sup>۱</sup>، فرهاد دریانوش<sup>۲\*</sup>، محسن ثالثی<sup>۳</sup>، جواد نعمتی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

**مقدمه:** پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین پروتئین‌های کلیدی در تنظیم آتروفی و هیپرتروفی عضلانی هستند. سالمندی و سارکوپنیا می‌تواند منجر به اختلال در سازوکار مولکولی و فعالیت این پروتئین‌ها شود. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین در بافت عضله دوقلوی موش‌های صحرایی سالمند می‌باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی ماده ۲۰ ماهه از نژاد اسپراگوداوی با میانگین وزن  $250 \pm 30$  گرم انتخاب و به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین مقاومتی (۶ سر) و کنترل (۶ سر) تقسیم شدند. برنامه تمرین مقاومتی، ۳ روز در هفته و به مدت ۸ هفته، صعود از یک نردبان عمودی یک متری با ۲۶ پله دو سانتی‌متر فضای بین هر پله با شیب ۸۵ درجه بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS version 16 و آزمون آماری t-مستقل استفاده شد.

**نتایج:** نتایج نشان دادند هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین میوستاتین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل می‌شود ( $P \leq 0/04$ ). در مقابل، هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین فولیستاتین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد ( $P \leq 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج تحقیق حاضر در محتوای پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین، این احتمال وجود دارد که کاهش آتروفی عضلانی در افراد سالمند می‌تواند از طریق دیگر مسیرهای سنتز پروتئین و هیپرتروفی عضلانی باشد.

**واژه‌های کلیدی:** سالمندی، پروتئین فولیستاتین، عضله دو قلو، پروتئین میوستاتین، تمرین مقاومتی

**ارجاع:** اسدپور سیدمسلم، دریانوش فرهاد، ثالثی محسن، نعمتی جواد. تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین در بافت عضله دوقلوی موش‌های صحرایی سالمند. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۹؛ ۲۸ (۱۰): ۴۳-۳۱۳۴.

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲ و ۳- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۴- استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۷۱۳۶۱۳۵۲۵۰، پست الکترونیکی: daryanoosh@shirazu.ac.ir، صندوق پستی: ۷۱۸۵۸۸۳۵۶۶

عامل رشد بتا می‌باشد و به میوستاتین متصل می‌شود و از اتصال آن به گیرندهٔ اکتیوین II جلوگیری به عمل می‌آورد؛ در نتیجه اثر میوستاتین در تحلیل عضلات را خنثی می‌کند (۷). فعالیت بدنی و به‌طور ویژه تمرین مقاومتی می‌تواند از کاهش توده عضلانی جلوگیری کند و حتی روند آن را معکوس سازد (۸). تمرین‌های مقاومتی برای افزایش خصوصیات مانند قدرت عضلانی مطلق، استقامت عضلانی، هیپرتروفی و قدرت عضلانی به یکی از محبوب‌ترین فعالیت‌های بدنی تبدیل شده است. برای تمرینی کارآمد، ایمن و مؤثر، درک بیشتر تعامل بین متغیرهای تمرینی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، که می‌تواند شامل شدت، تعداد ست‌ها، فاصله استراحت بین ست‌ها، نحوه تمرین و سرعت عملکرد عضلات باشد. این عوامل، متغیرهای مهمی هستند که هم پاسخ‌های حاد و هم سازگاری‌های مزمن با برنامه‌های ورزشی مقاومتی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۹). انجام تمرینات مقاومتی توسط سالمندان، منجر به هیپرتروفی عضلانی در این افراد می‌شود. مکانیسم‌های احتمالی که منجر به افزایش عضله ناشی از تمرین مقاومتی در افراد سالمند می‌شود می‌تواند به دلیل افزایش سنتز پروتئین عضلانی، فعال‌سازی و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای، تولید هورمون‌های آنابولیک (تستوسترون) و کاهش فعالیت سایتوکین‌های کاتابولیک باشد. هم‌چنین نشان داده شده است که افزایش سنتز پروتئین مربوط به تمرین مقاومتی، می‌تواند هر دو فیبر عضله نوع I و II را در افراد سالمند افزایش دهد (۱۰). در این راستا در تحقیقی دیگر نگارش و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی اثر هشت هفته تمرینات مقاومتی بر سطوح سرمی میوستاتین و فولیستاتین در مردان مسن (۷۰-۵۵ سال) با و بدون سارکوپنیا پرداختند. غلظت میوستاتین در هر دو گروه سارکوپنیا و بدون سارکوپنیا بعد از تمرین مقاومتی کاهش یافته بود. در مقابل سطوح فولیستاتین افزایش یافته بود (۱۱). با وجود مزیت‌های فراوان فعالیت‌های ورزشی در سلامت فیزیولوژیک عضله اسکلتی افراد سالمند، تحقیقات بسیار اندکی در زمینه تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر محتوای بافتی عضلانی مهم‌ترین پروتئین درگیر در فرایند سارکوپنیا در این افراد

در سراسر جهان جمعیت سالمندان رو به افزایش است و باید روش‌هایی برای ارتقای کیفیت زندگی این افراد اتخاذ شود. با افزایش سن و جمعیت و طول عمر، خطرات مرتبط با افزایش سن از جمله خطرات مرتبط با سارکوپنیا افزایش می‌یابد. عضله اسکلتی، یک بافت دینامیکی است که قادر به سازگاری با تحریکات فیزیولوژیکی و عوامل بیرونی متفاوت است (۱). سارکوپنیا کاهش تدریجی و اجتناب‌ناپذیر حجم عضلانی و قدرت است که با افزایش سن رخ می‌دهد. سارکوپنیا همراه با عوامل محیطی نظیر کاهش فعالیت بدنی، مصرف ناکافی پروتئین، اختلال در سیستم هورمونی روی می‌دهد (۲). روند گردش پروتئین عضله اسکلتی ثابت و مداوم است. بازگردش پروتئین (Protein turnover) در عضلات، مجموع فرآیندهای هر دو سنتز پروتئین عضله (MPS) muscle protein synthesis و تجزیه پروتئین عضله (MPB) muscle protein breakdown می‌باشد. آتروفی عضلانی در شرایطی اتفاق می‌افتد که MPB بیشتر از MPS باشد. هیپرتروفی یا جبران آتروفی، هم‌چنین ممکن است یک هدف برای ورزشکاران در بهبودی از آسیب یا برای سالمندان جهت بهبود شرایط عضلانی خود باشد. بنابراین، درک سازوکارهای تنظیم توده عضلانی مهم است (۳). سوپر خانواده عامل تبدیل‌شونده بتا (TGF- $\beta$  Transforming growth factor beta) با بیش از ۳۰ عضو، یکی از عوامل مؤثر بر سلول‌های ماهواره‌ای و سازگاری‌های هیپرتروفیک است. میوستاتین یکی از اعضای این خانواده و عاملی مؤثر و منفی در تنظیم رشد و نگهداری حجم عضلانی می‌باشد و ممکن است در سن موجود زنده تأثیرگذار باشد (۴). نشان داده شده است که در موش‌های فاقد میوستاتین افزایش حجم و تعداد تارهای عضلانی، از دو مسیر هیپرتروفی و هیپرپلازی می‌باشد (۵). هم‌چنین، با بالا رفتن سن، افزایش میوستاتین از طریق کاهش تکثیر، تمایز فعالیت و بازسازی سلول‌های ماهواره‌ای، حجم عضلانی را کاهش می‌دهد (۶). فولیستاتین هم از عوامل دیگر مرتبط با تودهٔ عضلانی است که مانند میوستاتین عضو خانواده

هفته و هفته‌ای ۳ جلسه صعود از یک نردبان عمودی یک متری با ۲۶ پله و دو سانتی‌متر فضای بین هر پله با شیب (۸۵ درجه) بود. هر جلسه شامل سه نوبت با پنج تکرار انجام شد که در فاصله هر تکرار یک دقیقه استراحت و در فاصله بین هر ست دو دقیقه استراحت در نظر گرفته شد. در هفته اول میزان وزنه‌های بسته شده به موش‌ها ۵۰ درصد وزن بدن آن‌ها که به تدریج ۱۰ درصد در هر هفته افزایش یافت و به ۱۰۰ درصد وزن بدن آن‌ها در هفته هشتم رسید. به منظور گرم کردن و سرد کردن، دو مرتبه بالا رفتن از نردبان بدون وزنه، قبل و بعد از هر جلسه تمرین در نظر گرفته شد (۱۲).

### روش بافت‌برداری

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس در زمان صبح بافت عضله دوقلو بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده و بلافاصله در تانک ازت منجمد شد. سپس نمونه‌های بافتی عضله دو قلو برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- در فریزر گذاشته شد (۱۳).

### اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت عضله دوقلو از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (Sodium Dodecyl Sulfate) به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن و نیم ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته و سپس در یک سانتریفوژ یخچال‌دار (bo,sw14rfroil) در دور

صورت گرفته است. با توجه به نقش دو پروتئین مهم میوستاتین در کاهش توده عضلانی و فولیستاتین در رشد توده عضلانی، بیشتر این مطالعات بر روی سرم یا پلاسما خون می‌باشد که از طریق روش آزمایشگاهی الیزا اندازه‌گیری شده است؛ همچنین دیگر مطالعات بیان ژن این پروتئین‌ها را از طریق روش آزمایشگاهی Real-Time PCR اندازه‌گیری کرده‌اند. روش آزمایشگاهی تحقیق حاضر وسترن بلات است که محتوا و میزان پروتئین را در سلول و درون بافت اندازه‌گیری می‌کند؛ بنابراین هدف از انجام تحقیق تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین در بافت عضله دوقلوی موش‌های صحرایی سالمند می‌باشد.

### روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی می‌باشد که به صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی ماده ۲۰ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزنی  $25.0 \pm 3.0$  گرم از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شدند. معیار ورود آزمودنی‌ها سن موش‌های صحرایی بود که سن ۲۰ ماه و بالاتر در نظر گرفته شد. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری می‌شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت. موش‌های صحرایی سالمند به صورت تصادفی به ۲ گروه (۱) کنترل (۶ سر) و (۲) تمرین مقاومتی (۶ سر) تقسیم شدند. گروه کنترل در طول انجام تحقیق هیچ‌گونه فعالیتی نداشتند.

### پروتکل تمرین مقاومتی

موش‌های صحرایی سالمند گروه تمرین مقاومتی یک هفته با نردبان و صعود از آن آشنا شدند. تمرین مقاومتی شامل ۸

### تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک t-مستقل برای مقایسه گروه‌ها استفاده شده است. اطلاعات در قالب عکس‌های روش آزمایشگاهی وسترن بلات و نمودار مربوطه ارائه شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 16 انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر،  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شده است.

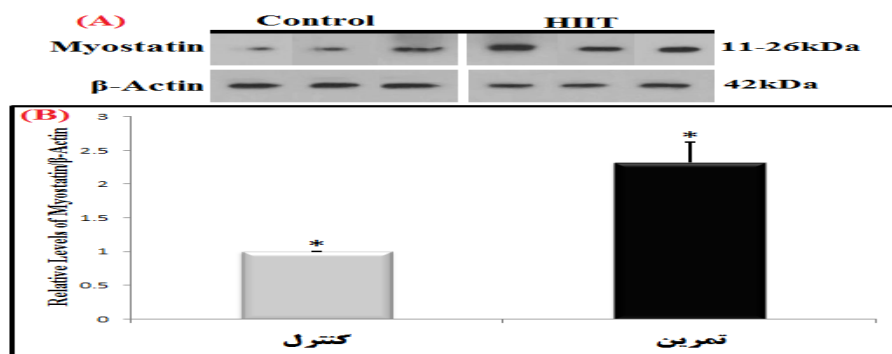
### ملاحظات اخلاقی

اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز با شماره IR.SUMS.REC.1399.828 مورد توجه قرار گرفت.

### نتایج

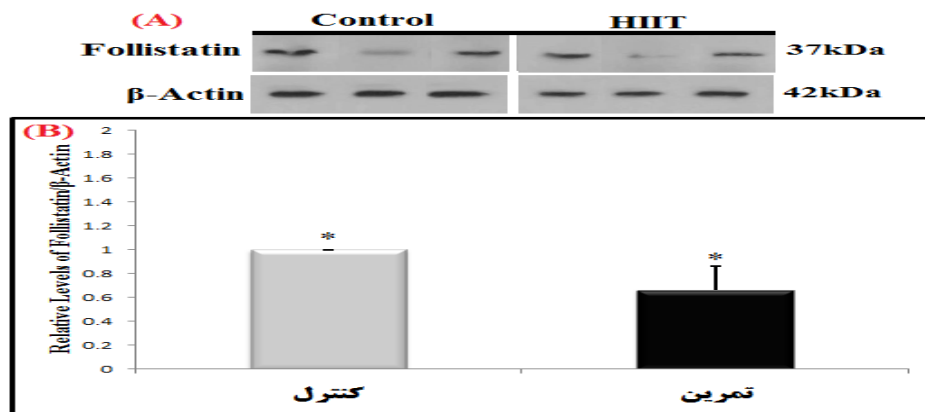
نتایج نشان دادند که به دنبال هشت هفته تمرین مقاومتی، افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین میوستاتین بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت عضله دوقلو وجود دارد ( $P \leq 0.04$ ) (شکل ۱، A و B). در مقابل، هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین فولیستاتین بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت دوقلو شد ( $P \leq 0.05$ ) (شکل ۲، A و B).

۱۲۰۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری گردید (در طول موج ۵۹۵ نانومتر). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگهداری و سپس هموژن به دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه لودینگ بافر (۵۰ mM Tris-کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد Tween 20 (TBST) مسدود و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ۴ درصد TBST انجام گردید. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی‌های anti-Myostatin (SC-393335) و anti-Follistatin (SC-365003) شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند (۱۴).



شکل ۱: مقایسه محتوای پروتئین میوستاتین در گروه‌های مورد مطالعه.

(A). تصاویر وسترن بلات پروتئین میوستاتین و  $\beta$ -actin به عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت عضله دوقلو. (B). نمودار ستونی (میانگین و انحراف معیار) نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین میوستاتین در مقابل کنترل داخلی. \* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در سطح  $P \leq 0.05$



شکل ۲: مقایسه محتوای پروتئین فولیستاتین در گروه‌های مورد مطالعه.

(A). تصاویر وسترن بلات پروتئین فولیستاتین و  $\beta$ -actin به‌عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت عضله دوقلو. (B). نمودار ستونی (میانگین و انحراف معیار) نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باند‌های پروتئین فولیستاتین در مقابل کنترل داخلی. (\* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در سطح  $p \leq 0.05$ )

میوستاتین و فولیستاتین نشد. به‌طور کلی اغلب تحقیقات نشان می‌دهند که انجام تمرینات مقاومتی سبب کاهش بیان میوستاتین (۱۶) و افزایش بیان فولیستاتین (۱۷) می‌شود، که نتایج تحقیق حاضر متناقض با این مشاهدات یعنی کاهش بیان میوستاتین و افزایش بیان فولیستاتین است. علت این نتایج معکوس با دیگر نتایج می‌تواند سارکوپنیا باشد، که می‌تواند بر نتایج و اثرات مفید تمرینات ورزشی فائق آید. هم‌چنین جنسیت می‌تواند عامل مهم دیگر باشد؛ با این وجود در تحقیقی دیگر گزارش شده است که تغییرات فولیستاتین تحت تأثیر جنسیت نمی‌باشد (۱۸) و در افراد سالمند میزان فولیستاتین نسبت به افراد جوان بالاتر می‌باشد (۱۹)؛ در مقابل مشخص شده است که در زنان سالمند نسبت به مردان سالمند سطوح پروتئین میوستاتین متفاوت است. در راستا با عامل جنسیت در تحقیقی، باقری و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرینات مقاومتی بالاتنه، پایین‌تنه و ترکیبی منجر به افزایش سطوح فولیستاتین در سه گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل در مردان میانسال (۴۷ سال) می‌شود. در حالیکه سطوح میوستاتین در گروه پایین‌تنه و ترکیبی کاهش معنی‌دار یافته بود (۲۰). این تضاد در جنسیت را نیز می‌توان در تحقیق مافی و همکاران (۲۰۱۸) که نشان دادند انجام تمرینات مقاومتی منجر به افزایش سطوح پلاسمایی فولیستاتین در مردان سالمند می‌شود (۲۱) و در تحقیق ابراهیم‌نیا و همکاران (۲۰۱۹) که نشان دادند هشت هفته برنامه ترکیبی (مقاومتی و هوازی) در زنان سالمند سطوح

## بحث

مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین میوستاتین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل می‌شود؛ در مقابل کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین فولیستاتین به دنبال هشت هفته تمرین مقاومتی مشاهده شد. بیشتر مطالعات انجام شده بر روی پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین بر روی سطوح سرمی بوده است که نتایج ضد و نقیضی به‌دست آمده است. در این راستا در تحقیقی عیسی‌زاده و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر ترتیب تمرینات ترکیبی (گروه هوازی- مقاومتی، مقاومتی-هوازی) بر سطوح سرمی میوستاتین و فولیستاتین در زنان سالمند پرداختند. نتایج نشان داد غلظت میوستاتین و فولیستاتین بین گروه‌ها تفاوت معناداری ندارد (۶). هم‌چنین در تحقیقی دیگر امینیان و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تمرین مقاومتی بر روی پروتئین فولیستاتین در زنان سالمند پرداختند. سطوح سرمی فولیستاتین در هیچ یک از گروه‌ها معنی‌دار نبود (۱۵). نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق عیسی‌زاده و همکاران و هم‌چنین امینیان و همکاران متناقض می‌باشد. در تحقیق حاضر ما افزایش محتوای پروتئین میوستاتین و کاهش بیان فولیستاتین را مشاهده کردیم و این در حالی است که در تحقیق‌های گزارش شده تمرینات مقاومتی منجر به تغییر معنی‌داری در سطوح پروتئین‌های

هیپرتروفی و هایپرپلازیای عضلانی می‌شود (۳۱). میوستاتین تنها زمانی فعال می‌شود که با گیرنده نوع TGFβ II متصل شود که گیرنده نوع I را فسفریله می‌کند و به آن متصل می‌شود و پس از آن Smad 2/3 را در انتهای C- فسفریله می‌کند. Smad 2/3 فسفریله شده، همراه با Smad4 وارد هسته می‌شوند. در آنجا، ژن‌های کنترل‌کننده توده عضلانی (کاهش توده عضلانی) را تنظیم می‌کنند (۳۲). بنابراین، تمرینات مقاومتی می‌تواند از این آبخار سیگنالینگ و کاهش توده عضلانی از طریق میوستاتین جلوگیری کند. البته، سنجش پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین به تنهایی برای ارزیابی تغییرات (آتروفی یا هیپرتروفی) در پاسخ به تمرین‌های مقاومتی کافی نیست و به نظر می‌رسد که نقش سایر پروتئین‌ها و مسیرهای درگیر مانند FOXO، mTOR و MAP کیناز در فرآیند آتروفی و هیپرتروفی عضلانی قابل توجه باشند. بنابراین، اندازه‌گیری این پروتئین‌ها و مسیرها می‌تواند به درک بهتر آتروفی و هیپرتروفی عضلانی کمک کند.

### نتیجه‌گیری

در نهایت با توجه به نتایج تحقیق حاضر و میسر نشدن نتایج مثبت (کاهش میوستاتین و افزایش فولیستاتین) این احتمال وجود دارد که کاهش آتروفی عضلانی در افراد سالمند می‌تواند از طریق دیگر مسیرهای سنتز پروتئین و هیپرتروفی عضلانی باشد. اندازه‌گیری تاثیر دیگر مسیرهای سلولی بر پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین به دنبال تمرین مقاومتی می‌تواند درک درستی از سازوکارهای سلولی آشکار کند؛ بنابراین، تمرین مقاومتی به عنوان یک مداخله ورزشی برای سالمندان هنوز ناشناخته است و نیاز به تحقیقات بسیار در زمینه انواع، مدت زمان، شدت، تکرار و زمان ریکاوری این نوع تمرینات دارد.

### سپاس‌گزاری

این پژوهش حاصل رساله دکتری و تلاش نویسندگان این تحقیق می‌باشد که در دانشگاه شیراز انجام شده است. از تمامی افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تشکر می‌شود.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

سرمی پروتئین فولیستاتین را تغییر معنی‌داری نمی‌دهد، دید (۲۲). با این حال، در راستا با نتایج تحقیق حاضر که تمرین مقاومتی منجر به افزایش محتوای پروتئین میوستاتین شد در تحقیقی Willoughby و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد یک تکرار بیشینه منجر به افزایش بیان ژن میوستاتین (۳۲ درصد) می‌شود (۲۳). با توجه به این نتایج می‌توانیم بگوییم که هنوز مکانیسم دقیق کاهش میوستاتین در افراد سالمند مشخص نشده است؛ با این حال مشخص شده است که تغییرات میوستاتین در سالمندان و به ویژه در زنان بیشتر از مردان می‌باشد (۲۴). این تغییرات را به کلیانس میوستاتین از سنتز تا تجزیه و هم‌چنین تغییرات هورمون‌های آنابولیکی مسئول رشد از جمله تستوسترون، هورمون رشد و IGF-1 نسبت داده‌اند (۲۲). دیگر مکانیسم‌های احتمالی تاثیرگذار بر پروتئین میوستاتین و فولیستاتین علاوه بر مسیر اصلی میوستاتین-SMAD، مسیر سیگنالینگ mTOR که تمرین‌های مقاومتی نقش بسزایی در فعال کردن این مسیر دارد اشاره کرد. پروتئین میوستاتین با تاثیرگذاری بر روی این مسیر به‌خصوص پروتئین‌های PI3K و AKT می‌تواند از فعال شدن این مسیر و رشد عضلانی جلوگیری کند. (۲۵). هم‌چنین مسیر اتوفازی از طریق خانواده پروتئین‌های FOXO (۲۶)، مسیر MAP کیناز (۲۷) می‌تواند تنظیم‌کننده پروتئین‌های میوستاتین و فولیستاتین باشد. بر اساس پژوهش‌های انجام گرفته در این حوزه، اقداماتی که بتواند عوامل مهم تنظیم‌کننده رشد عضلانی مانند فولیستاتین را تحت تاثیر قرار دهد سرعت تحلیل عضلانی ناشی از سارکوپنیا در افراد سالمند را کاهش می‌دهد (۲۸). در ارتباط با کاهش سطوح پروتئین میوستاتین به دنبال تمرینات مقاومتی در تحقیقی شبخیز و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تمرین‌های مقاومتی منجر به کاهش میوستاتین در مردان سالمند با و بدون دیابت نوع ۲ می‌شود (۲۹). به نظر می‌رسد در حال حاضر فعالیت بدنی تنها مداخله پایداری است که، افت عملکرد در افراد سالمند را کاهش می‌دهد (۳۰). تمرینات مقاومتی با افزایش عوامل تنظیمی مثبت رشد عضلانی و سرکوب عوامل تنظیمی منفی سبب تحریک رشد عضلانی از طریق افزایش

## References

- 1-Rodríguez AJ, Ebeling P, Scott D. *Sarcopenia and Physical Activity in Older Australians*. *Australas Epidemiol* 2015; 22(1): 11-13.
- 2-Vlietstra L, Hendrickx W, Waters DL. *Exercise Interventions in Healthy Older Adults with Sarcopenia: A Systematic Review and Meta-Analysis*. *Australas J Ageing* 2018; 37(3): 169-83.
- 3-Negaresh R, Ranjbar R, Gharibvand MM, Habibi A, Mokhtarzade M. *Effect of 8-Week Resistance Training on Hypertrophy, Strength, And Myostatin Concentration in Old and Young Men*. *Iran J Ageing* 2017; 12(1): 56-67
- 4-Phillips SM. *A Brief Review of Critical Processes in Exercise-Induced Muscular Hypertrophy*. *Sports Med* 2014; 44(1): 71-7.
- 5-Castonguay R, Lachey J, Wallner S, Strand J, Liharska K, Watanabe AE, et al. *Follistatin-288-Fc Fusion Protein Promotes Localized Growth of Skeletal Muscle*. *J Pharmacol Exp Ther* 2019; 368(3): 435-45.
- 6-Esazadeh L, Hosseini-Kakhk A, Khajeie R, Hejazi S. *Effects of Concurrent Training Order on Physical Fitness and Functional Capacity and Myostatin and Follistatin Serum Levels in Postmenopausal Females*. *J Sport Bio* 2020; 12(2): 189-206.
- 7-Elliott B, Shinwari ZB, Altayar Z, Barrios L, Chaudhary GA, Hanifa E, et al. *Circulating Myostatin is Reduced with Aging in Humans but Not Altered By Short-Term, High Intensity Training*. *Pro Physiol Soc* 2017; 37: PCB158.
- 8-Hansen J, Rinnov A, Krogh-Madsen R, Fischer CP, Andreasen AS, Berg RM, et al. *Plasma Follistatin is Elevated in Patients with Type 2 Diabetes: Relationship to Hyperglycemia, Hyperinsulinemia, And Systemic Low-Grade Inflammation*. *Diabetes Metabol Res Rev* 2013; 29(6): 463-72.
- 9-De Salles BF, Simao R, Miranda F, Da Silva Novaes J, Lemos A, Willardson JM. *Rest Interval between Sets in Strength Training*. *Sports Med* 2009; 39(9): 765-77.
- 10-Forbes SC, Little JP, Candow DG. *Exercise and Nutritional Interventions for Improving Aging Muscle Health*. *Endo* 2012; 42(1): 29-38.
- 11-Negaresh R, Ranjbar R, Baker JS, Habibi A, Mokhtarzade M, Gharibvand MM, et al. *Skeletal Muscle Hypertrophy, Insulin-Like Growth Factor 1, Myostatin and Follistatin in Healthy and Sarcopenic Elderly Men: The Effect of Whole-Body Resistance Training*. *Inte J Prev Med* 2019; 10: 29.
- 12-Karbasi S, Zaeemi M, Mohri M, Rashidlamir A, Moosavi Z. *Effects of Testosterone Enanthate and Resistance Training on Myocardium in Wistar Rats; Clinical and Anatomical Pathology*. *Androl* 2018; 50(3): e12908.
- 13-Shadmehri S, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Jahani Golbar S, Tanideh N. *The Effect of 8 Weeks Endurance Exercise on the Content of Total and Phosphorylated AKT1, Mtor, P70S6K1 and 4E-BP1 in Skeletal Muscle FHL of Rats with Type 2 Diabetes*. *JSSU* 2018; 26 (12): 1063-74. [Persian]
- 14-Sherafati Moghadam M, Salesi M, Daryanoosh F, Hemati Nafar M, Fallahi A. *The Effect of 4 Weeks of High Intensity Interval Training on the Content of AKT1, Mtor, P70S6K1 and 4E-BP1 in Soleus*

- Skeletal Muscle of Rats with Type 2 Diabetes: An Experimental Study.* JRUMS 2018; 17(9): 843-54. [Persian]
- 15-Aminian F, Hejazi M, Birjandi SC. *Low-Intensity Blood Flow Restriction Training Does Not Modulate Myostatin Concentration in Elderly Females.* Med Lab J 2020; 14(5): 30-4
- 16-Benatti FB, Pedersen BK. *Exercise as an Anti-Inflammatory Therapy for Rheumatic Diseases-Myokine Regulation.* Nat Rev Rheumatol 2015; 11(2): 86-97.
- 17-Sharp M, Lowery RP, Shields K, Ormes J, McCleary SA, Rauch J, et al. *The Effects of a Myostatin Inhibitor on Lean Body Mass, Strength, and Power in Resistance Trained Males.* J Inter Soc Sports Nutri 2014; 11(S1): P42.
- 18-Hansen JS, Rutti S, Arous C, Clemmesen JO, Secher NH, Drescher A, et al. *Circulating Follistatin is Liver-Derived and Regulated by the Glucagon-To-Insulin Ratio.* J Clin Endocrinol Metabol 2016; 101(2): 550-60.
- 19-Jensky NE, Sims JK, Rice JC, Dreyer HC, Schroeder ET. *The Influence of Eccentric Exercise on Mrna Expression of Skeletal Muscle Regulators.* Eur J Appl Physiol 2007; 101(4): 473-80.
- 20-Bagheri R, Rashidlamir A, Motevalli MS, Elliott BT, Mehrabani J, Wong A. *Effects of Upper-Body, Lower-Body, Or Combined Resistance Training on the Ratio of Follistatin and Myostatin In Middle-Aged Men.* Eur J Appl Physiol 2019; 119(9): 1921-31.
- 21-Mafi F, Biglari S, Ghardashi Afousi A, Gaeini AA. *Improvement in Skeletal Muscle Strength and Plasma Levels of Follistatin and Myostatin Induced By an 8-Week Resistance Training and Epicatechin Supplementation in Sarcopenic Older Adults.* J Aging Phys Act 2019; 27(3): 384-91.
- 22-Ebrahimnia M, Hosseini kakhk A, Haghghi A. *Comparison of the Effect of Three Combined Training Method (Aerobic and Resistance) with and Without Vascular Occlusion on Some Indices of Hypertrophy in Elderly Women.* J Neyshabur Univ Med Sci 2019; 7(1): 82-97.
- 23-Willoughby DS. *Effects of an Alleged Myostatin-Binding Supplement and Heavy Resistance Training on Serum Myostatin, Muscle Strength and Mass, and Body Composition.* Int J Sport Nutr Exerc Metab 2004; 14(4): 461-72.
- 24-Gholamali M, Nourshahi M, Hedayati M. *The Effects of Gender on Plasma Myostatin at Rest and in Response to Acute Resistance Exercise in Elderly Men and Women.* Iran J Ageing 2012; 7(3): 45-56. [Persian]
- 25-Riuzzi F, Sorci G, Arcuri C, Giambanco I, Bellezza I, Minelli A, et al. *Cellular and Molecular Mechanisms of Sarcopenia: The S100B Perspective.* J Cachexia Sarcopenia Muscle 2018; 9: 1255-68.
- 26-Fan X, Gaur U, Sun L, Yang D, Yang M. *The Growth Differentiation Factor 11 (GDF11) and Myostatin (MSTN) uin Tissue Specific Aging.* Mech Ageing Develop 2017; 164: 108-12.
- 27-Hinkley JM, Konopka AR, Suer MK, Harber MP. *Short-Term Intense Exercise Training Reduces Stress Markers and Alters the Transcriptional Response to Exercise in Skeletal Muscle.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2017; 312(3): R426-33.



- 28-Woo J. *Sarcopenia*. Clin Geriatric Med 2017; 33(3): 305-14.
- 29-Shabkhiz F, Khalafi M, Rosenkranz S, Karimi P, Moghadami K. *Resistance Training Attenuates Circulating FGF-21 and Myostatin and Improves Insulin Resistance in Elderly Men with and Without Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomised Controlled Clinical Trial*. Eur J Sport Sci 2020; 1-10.
- 30-Buford TW, Anton SD, Clark DJ, Higgins TJ, Cooke MB. *Optimizing the Benefits of Exercise on Physical Function in Older Adults*. PM R 2014; 6(6): 528-43.
- 31-Gundersen K. *Muscle Memory and a New Cellular Model for Muscle Atrophy and Hypertrophy*. J Exper Biol 2016; 219(2): 235-42.
- 32-Han HQ, Mitch WE. *Targeting the Myostatin Signaling Pathway to Treat Muscle Wasting Diseases*. Curr Opinion Support Palliat Care 2011; 5(4): 334-41.

## Effect of Eight Weeks of Resistance Training on Myostatin and Follistatin Proteins Content in Gastrocnemius Muscle Tissue of Elderly Rats

Seyed Moslem Asadpour<sup>1</sup>, Farhad Daryanoosh<sup>1,2</sup>, Mohsen Salesi<sup>3</sup>, Javad Nemati<sup>4</sup>

### Original Article

**Introduction:** Myostatin and follistatin proteins are key proteins in the regulation of muscle atrophy and hypertrophy. Aging and sarcopenia can lead to disruption of cellular mechanisms and the activity of these proteins. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of resistance training on myostatin and follistatin proteins content in Gastrocnemius muscle tissue of elderly rats.

**Methods:** In this experimental study, 12 female Sprague-Dawley rats (20-month-old) with an average weight of 250±30 g were selected and randomly divided into 2 groups: resistance training (n=6) and control (n=6). The resistance-training program was as followed: 3 days a week for 8 weeks, climbing a one-meter vertical ladder with 26 steps and two centimeters of space between each step with a slope of 85 degrees. SPSS software version 23 and independent t-test were used to analyze the data.

**Results:** The results showed that eight weeks of resistance training led to a significant increase in myostatin protein content in the training group compared to the control group ( $P \leq 0.04$ ). In contrast, eight weeks of resistance training led to a significant reduction in follistatin protein content in the training group compared to the control group ( $P \leq 0.05$ ).

**Conclusion:** According to the results of the present study on the content of myostatin and follistatin proteins, it is possible that the reduction of muscle atrophy in the elderly can be through other pathways of protein synthesis and muscle hypertrophy.

**Keywords:** Aging, Follistatin Protein, *Gastrocnemius* Muscle, Myostatin Protein, Resistance Training.

**Citation:** Asadpour S.M, Daryanoosh F, Salesi M, Nemati J. **Effect Of Eight Weeks of Resistance Training on Myostatin and Follistatin Proteins Content in Gastrocnemius Muscle Tissue of Elderly Rats.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 28(10): 3134-43

<sup>1-4</sup>Department of Sports Science, Faculty of Education and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 07136135250, email: daryanoosh@shirazu.ac.ir