Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2018; 21(130): 1-10

The Effect of 8 Weeks High-intensity Interval Training on Myostatin and Follistatin Gene Expression in Gastrocnemius Muscle of the Rats

Soheil Biglari[1*], Abbas Ali Gaeini[2], Mohammad Reza Kordi[3], Alireza Ghardashi Afousi[4]

1. M.S Student, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
4. PhD Student, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 4 Dec 2017, Accepted: 17 Feb 2018

Abstract

Background: The purpose of the present study is to investigate the effect of 8 weeks High-intensity Interval Training (HIIT) on the expression of two muscle growth regulating genes (myostatin and follistatin) in gastrocnemius muscle of healthy male rats.

Materials and Methods: 16 male Wistar rats were randomly divided into two groups in the same number: control and HIIT. HIIT program was underwent 40 min each session, three sessions in a week for eight weeks. Each exercise training session consisted of 5 min warm-up and cool-down at 40-50 % VO2max, 30 min interval running including 4 min high-intensity (85-90% VO2max) and 2 min active recovery (at 50-60% VO2max). Rats in control group did not do any exercise training program. 48 h after the last training session, rats` gastrocnemius muscle was extracted and the expression of myostatin and follistatin genes was determined by Real Time-PCR. For statistical data analysis, independent t-test was used.

Results: The expression of myostatin was significantly reduced 68% in HIIT group in comparison with the control group ($p<0.05$). However, there was no significant difference in follistatin expression in HIIT group compared to the control group ($p>0.05$). Gastrocnemius muscle weight was significantly increased 23% in the HIIT group compared to the control group ($p<0.05$).

Conclusion: Results indicated that HIIT lead to significant reduction in the expression of myostatin gene and increase in the weight of gastrocnemius muscle in rats.

Keywords: Follistatin, HIIT, Hypertrophy, Myostatin, Real Time-PCR

*Corresponding Author:
Address: Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
Email: s.biglari.physiology@gmail.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۱، شماره ۱ (شماره پیاپی ۱۳۰)، فروردین۱۳۹۷، ۱۰-۱

تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن های میوستاتین و فولیستاتین عضله دوقلوی موش‌های صحرایی

سهیل بیگلری[1*]، عباسعلی گائینی[2]، محمدرضا کردی[3]، علیرضا قارداشی افوسی[4]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۳، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) بر بیان دو ژن تنظیم کننده رشد عضلانی (میوستاتین و فولیستاتین) در عضله دوقلوی موش‌های نر سالم است.

مواد و روش‌ها: ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی و مساوی به دو گروه کنترل و HIIT تقسیم شدند. برنامه تمرینی گروه HIIT به مدت هشت هفته، سه روز در هفته و هر جلسه به مدت ۴۰ دقیقه بود. هرجلسه تمرینی شامل ۵ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO2max)، ۳۰ دقیقه دویدن تناوبی شامل ۴ دقیقه دویدن خیلی شدید (۸۵ تا ۹۰ درصد VO2max) و ۲ دقیقه بازیافت فعال (با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO2max) بود. گروه کنترل در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، عضله دوقلوی موش‌های صحرایی جدا و پس از استخراج RNA میزان بیان ژن میوستاتین و فولیستاتین نمونه‌ها به روش Real time-PCR سنجیده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری از طریق آزمون تی مستقل انجام شد.

یافته‌ها: بیان میوستاتین گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل، کاهش ۶۸ درصدی و معناداری داشت ($p<۰/۰۵$). با وجود این، اختلاف معناداری در بیان فولیستاتین گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). وزن عضله دوقلو در گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل، افزایش ۲۳ درصدی و معناداری داشت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که HIIT باعث کاهش بیان ژن میوستاتین و افزایش وزن عضله دوقلوی موش‌ها شد.

واژگان کلیدی: HIIT ، هیپرتروفی، میوستاتین، فولیستاتین، Real time-PCR

***نویسنده مسئول:** ایران، تهران ، دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش

Email: s.biglari.physiology@gmail.com

مقدمه

عضله اسکلتی نقش مهمی در حفظ وضعیت بدن، حرکت، صحبت کردن، تنفس، تأمین حرکت و نیازهای متابولیکی دارد. از این رو، حفظ و افزایش توده عضله اسکلتی برای تمامی افراد ضروری است (۱). از منظر فیزیولوژی، عضله اسکلتی، بافتی دینامیک است که در پاسخ به تحریکات فیزیولوژیایی گوناگون مانند فعالیت ورزش کوتاه‌مدت و بلندمدت سازگار می‌شود. به دنبال این سازگاری‌ها، ظرفیت عملکردی و عملکرد جسمانی افراد بهتر می‌شود (۲).

یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های فیزیولوژیایی، رشد و هیپرتروفی عضله اسکلتی است که با افزایش سنتز پروتئین در تارهای عضلانی و به دنبال آن افزایش حجم یا توده تار-های عضلانی، مشخص می‌شود. با این حال، سازوکارهای زیادی وجود دارد که سنتز پروتئین و رشد میوفیبریل‌ها را کنترل می‌کند. یکی از مهم‌ترین مسیرهای انتقال پیام تنظیم‌کننده سنتز پروتئین در تارهای عضله اسکلتی، مسیر پیام‌رسانی میوستاتین-Smad می‌باشد که توسط دو عامل میوستاتین و فولیستاتین تنظیم می‌شود (۳).

پروتئین میوستاتین یا عامل رشدی/تمایزی ۸ (GDF8) عضوی از خانواده عامل تغییر شکل رشدی بتا (TGF-β) است ـ بزرگترین خانواده‌ی ترشح کننده فاکتورهای رشد ـ که رشد عضله اسکلتی را مهار می‌کند. میوستاتین در عضله اسکلتی تولید می‌شود؛ پس از سنتز در عضله، وارد خون می‌شود و به گیرنده‌اش (اکتیوین IIb) در تارهای عضلانی پیوند می‌خورد و به فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی میوستاتین-smad منجر می‌شود و رشد عضله اسکلتی را مهار می‌کند (۴). یکی دیگر از سازوکارهای مهار رشد، حفظ و بازسازی عضله اسکلتی ناشی از میوستاتین با مهار فعال شدن و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای رخ می‌دهد (۵). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که ناک اوت کامل میوستاتین در موش‌ها با افزایش دو تا سه برابری توده عضله اسکلتی همراه است که در نتیجه افزایش اندازه میوفیبریل‌ها به وقوع می-پیوندد (۶). با وجود این، مشخص شده است که اعمال میوستاتین می‌تواند تحت تأثیر عوامل تعاملی دیگری همانند فولیستاتین قرار گیرد (۷).

فولیستاتین یک پروتئین پیوندی ترشحی منومریک از خانواده عامل تغییر شکل رشدی بتا است. فولیستاتین تقریباً از تمام بافت‌های بدن ترشح می‌شود و به‌عنوان قوی‌ترین عامل آنتاگونیست میوستاتین می‌تواند با پیوند به گیرنده میوستاتین (اکتیوین IIb)، فعالیت میوستاتین را مهار کند (۷). حذف ژن فولیستاتین در عضله باعث کاهش تودهٔ عضلانی می‌شود، در حالی که بیان بیش از حد ژن آن باعث رشد خارج از حد عضله می‌شود. ترکیب حذف میوستاتین با بیان بیش از حد فولیستاتین باعث افزایش توده عضلانی به میزان چهار برابر می‌شود (۶). با این وجود، بیان ژن پروتئین میوستاتین و فولیستاتین تحت تأثیر شرایط گوناگون فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی از جمله آتروفی عضلانی، سکته قلبی، بی‌وزنی و فعالیت ورزشی قرار می‌گیرد (۸).

مطالعات گوناگون، تأثیر انواع فعالیت ورزشی بر میوستاتین و فولیستاتین را بررسی کرده‌اند (۱۲-۸). پژوهش‌ها نشان داده‌اند، میوستاتین در پاسخ به اعمال بارهای گوناگون از جمله یک دوره تمرین کوتاه مدت شنا (۸)، رکاب زدن طولانی مدت روی چرخ‌دوار، دویدن روی تردمیل (۱۳) و تمرین مقاومتی ایزومتریکی بعد از آتروفی ناشی از حذف بار اندام (۱۲) کاهش می‌یابد. با وجود این، برخی از پژوهش‌ها عدم تغییر و یا افزایش میوستاتین را گزارش کرده اند. برای مثال، پژوهش جنسکی و همکارانش (۲۰۱۰) نشان می‌دهد هفت جلسه تمرین مقاومتی برونگرای شدید با یک پا و درونگرا به صورت حرکات بازکننده ایزوکنیتیک زانو، تأثیری بر mRNA میوستاتین زنان جوان نداشته است (۹). در مقابل، ویلوگبی (۲۰۰۴) نشان می‌دهد که تمرین مقاومتی سنگین در افراد سالم به مدت دوازده هفته با افزایش بیان mRNA و پروتئین میوستاتین و در نتیجه افزایش میزان سرمی آن همراه بوده است (۱۱). درباره فولیستاتین، پژوهش‌های کمی تغییرات

ناشی از فعالیت ورزشی آن را بررسی کرده‌اند. با وجود این، هنسن و همکارانش (۲۰۱۱) گزارش کردند ترشح فولیستاتین پلاسما در فعالیت‌های ورزشی مثل دوچرخه سواری، خم کردن زانو و یک ساعت شنا افزایش می‌یابد (۱۰). در حالی که، جنسکی و همکارنش (۲۰۱۰) نشان دادند که تمرین‌های مقاومتی برونگرا و درونگرای شدید، تأثیری بر mRNA فولیستاتین زنان جوان نداشته است (۹). به نظر می‌رسد این یافته‌های ناهمسو ریشه در تفاوت نوع و شدت تمرین، زمان نمونه‌گیری و نحوه اندازه‌گیری پروتئین‌های مورد نظر داشته باشد. با وجود این، مطالعه در زمینه تأثیر روش‌های تمرینی مانند HIIT بر میوستاتین و فولیستاتین بسیار محدود است.

تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) یک مدل منحصر به فرد تمرینی است که شـامل تناوب‌های فعالیت ورزشی با شدت بالا و تناوب‌های استراحتی فعال با شدت کم می‌باشد. HIIT یک راهبرد توانمند در ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی در عضله اسکلتی است و تغییراتی مشابه با تمرینات استقامتی سنتی را به همراه دارد (۱۴). با وجود این، مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند HIIT برخلاف تمرین‌های استقامتی سنتی باعث هیپرتروفی عضله اسکلتی می‌شود (۱۵، ۱۶). نشان داده شده است اجرای طولانی مدت HIIT سنتز پروتئین‌های عضلانی را افزایش می‌دهد (۱۵، ۱۶). با وجود این، مکانیسمی که به موجب آن HIIT باعث هیپرتروفی عضلانی می‌شود، به طور کامل شناخته نشده است. به نظر می‌رسد تکرار دوره‌های کوتاه مدت و کار شدید HIIT می‌تواند با تحریک بیان عوامل رشد، رشد عضلات را تحت تأثیر قرار دهد. (۱۷، ۱۸). تا جایی که می‌دانیم تاکنون سازوکار سلولی موثر در هیپرتروفی ناشی از تمرینات HIIT بررسی نشده است. مفروض است که یکی از سازوکارهای هیپرتروفی به تنظیم بیان میوستاتین و فولستاتین بعد از HIIT اشاره دارد. برای تایید این فرضیه، در این مطالعه تأثیر هشت هفته HIIT بر بیان ژن میوستاتین و فولیستاتین در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر سالم را بررسی کردیم.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تحقیق بنیادی بود که به روش تجربی انجام شد. این پژوهش، همسو با خطوط راهنما و دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه تهران با کد IR.ut.Rec.1395012به تصویب رسید. در این مطالعه موش‌های نر سالم نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و سن ۱۰ هفته مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی و میانگین درجه حرارت ۲ ± ۲۲ درجه سلسیوس) با دسترسی آزادانه به آب و غذا در مرکز تحقیقات بیمارستان قلب و عروق شهید رجایی نگه‌داری شدند. در این مطالعه ۱۶ سر موش صحرایی نر تصادفی به دو گروه HIIT (n=۸) و کنترل (n=۸) تقسیم شدند.

تمرین ورزشی و آزمون ورزشی

ابتدا موش‌های صحرایی به مدت ۱ هفته با تردمیل توسط راه رفتن آرام با سرعت ۵ متر در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه در ۵ جلسه آشنا شدند (۱۹). سپس، آزمون ظرفیت ورزشی در موش‌های صحرایی، دو روز قبل از شروع برنامه تمرینی و دو روز بعد از انتهای آخرین جلسه تمرینی در پایان هفته هشتم تمرینی اجرا شد. بر اساس مطالعه هویدال و همکارانش، هر موش صحرایی، ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه مرحله گرم کردن را سپری کرد. سپس آزمون افزاینده ورزشی آغاز شد و هر دو دقیقه سرعت تریدمیل ۰/۰۳ متر در ثانیه به طور خودکار افزایش یافت تا زمانی که موش‌های صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نبودند. فاصله دویده شده توسط هر موش صحرایی به عنوان شاخص ظرفیت ورزشی در نظر گرفته شد. پس از برآورد ظرفیت ورزشی و با توجه به فرمول $y = 162 x - 1$ (y, represents VO2 (ml/kg 0.75 per min) and x, running speed (m/s)) مقادیر حداکثر اکسیژن مصرفی

(VO2max) محاسبه شد و شدت تمرینی بر این اساس تنظیم شد (۱۹، ۲۰).

پروتکل تمرینی شامل ۸ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بود. برنامه تمرینی روی تردمیل طراحی شده ویژه حیوانات (Danesh Salar Iranian, Tehran, Iran)، سه روز در هفته به مدت ۴۰ دقیقه بود که جزئیات آن در جدول ۱ ارائه شده است. شدت تمرین به مرور زمان طبق مطالعات گذشته و ارتباط بین سرعت دویدن و VO2max تنظیم شد. بنابراین شدت تمرین در هر هفته، ۰/۰۲ متر در ثانیه افزایش‌می‌یافت(۱۹،۲۱).

جدول ۱. طرح پروتکل تمرین تناوبی خیلی شدید

زمان تمرین(دقیقه)	۵ دقیقه	۴ دقیقه	۲ دقیقه	۵ دقیقه
شدت تمرین (درصدی از VO_2max)	۵۰ تا ۶۰ درصد	۸۵ تا ۹۰ درصد	۵۰ تا ۶۰درصد	۴۰ تا ۵۰ درصد

گروه کنترل

شرایط زیستی حیوانات در گروه کنترل به جز انجام تمرین‌های روزانه در سایر اوقات مثل گروه تمرین بود و حتی برای شبیه سازی بیشتر گروه کنترل در بازه زمانی تمرین، سه جلسه در هفته و هر جلسه به مدت ۱۵ دقیقه، روی دستگاه نوار گردان با سرعت دو متر در دقیقه قرار گرفتند (۲۲).

استخراج بافت

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش و عضله دوقلو سمت چپ آن‌ها استخراج شد. بعد از استخراج بافت با استفاده از محلول PBS شستشو داده شد و بلافاصله در ازت مایع منجمد و تا زمان سنجش‌های بعدی در دمای ۸۰- فریز شد. سپس بافت‌ها به منظور استخراج RNA به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

استخراج RNA

برای استخراج RNA از بافت هموژن شده، ۱ میلی لیتر ترایزول (Invitrogen, CN 15596018, USA) به ۱۰۰ میلی‌گرم بافت اضافه و پس از مخلوط کردن کامل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. ۴۰۰ میکرولیتر کلروفرم سرد (Merek, CAS 67-66-3 102445, Germany) به نمونه اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه مخلوط شدند. محلول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (Andreas Hettich GmbH & CO. EBA 208, Germany). مایع حاوی RNA به میکروتیوب دیگری انتقال داده شد، سپس ۵۰۰ میکرو لیتر اتانول (Merek, CAS 64-17-5 107017, Germany) به محلول RNA اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت این محلول نیز به مدت ۱۵ دقیقه (دمای ۴ درجه سانتی گراد، ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. مایع رویی با دقت خارج گردید و ۱ میلی لیتر اتانول خالص سرد به رسوب RNA اضافه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه (در دمای ۴ درجه با ۷۵۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد.

در ادامه مایع رویی به دقت خارج شد و رسوب RNA با ۱۰۰ میکرولیتر ایلوشن بافر (Sigma Aldrich, H5413, Germany) رقیق گردید. در پایان، غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Eppendorf، Germany) ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۶ تا ۱/۸ بود. نمونه ها در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای آزمایش‌های بعدی ذخیره شدند.

ساخت cDNA

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا، مراحل سنتز cDNA مطابق پروتکل شرکت سازنده

(Fermentas, K1622, USA) انجام شد. ابتدا RNA، پرایمر و آب با هم ترکیب شدند و محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس محلول به مدت ۲ دقیقه روی یخ قرار گرفت. پس از آن، enzyme mx و reaction mix به محلول اضافه شدند. محلول در ۳ مرحله متوالی انکوبه شد: مرحله اول، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد؛ مرحله دوم، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و مرحله سوم، به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد انجام گردید و در نهایت، cDNA سنتز شده در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره شد.

Real time – PCR

جهت اندازه گیری سطوح بیان mRNA از روش کمی Real time-PCR استفاده شد. هر واکنش PCR با استفاده از SYBER Green PCR master mix (Life technology, CN 4309155, USA) در دستگاه Real time-PCR (Applied Biosystems, USA)طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ۵۸ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش در جدول۲ ارائه شده است.

جدول ۲. توالی پرایمرهای ژن‌های میوستاتین و فولیستاتین

Gene	Host	NCBI (Reference Sequence)		Primer sequence
Myostatin	Rat	NM_019151.1	Forward	5′- CTACCACGGAAACAATCATTA-3′
			Reserve	5′- AGCAACATTTGGGCTTTCCAT-3′
follistatin	Rat	NM_012561.2	Forward	5′- GCTCTCTCCCAGGTCACATT-3′
			Reserve	5′- GACTCATCCAGTAGACCACA-3′

کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف

برای کمی سازی مقادیر بیان ژن موردنظر از فرمول $\Delta\Delta CT = \Delta CT(\text{a target sample}) - \Delta CT(\text{a reference sample})$ ۲) $2\text{-}\Delta\Delta ct = (CTD - CTB) - (CTC - CTA)$. بتوان منفی ΔΔct) استفاده شد (Excel, pfaffl formula.) .

تحلیل آماری

اطلاعات حاصل با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد تحلیل آماری قرار گرفت. از آزمون شاپیرو ویلک برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها و از آزمون تی مستقل برای مقایسه داده‌های بین گروهی پژوهش استفاده شد. سطح معنی‌داری برای همه آزمون‌های آماری ۰/۰۵ ≥α در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تغییرات وزن موش‌های صحرایی در جدول ۳ گزارش شده است. وزن موش‌های صحرایی در انتهای مطالعه در مقایسه با وزن آن‌ها در ابتدای مطالعه افزایش داشت. در حالی که بین گروه‌های تمرین و کنترل هیچ تغییر معناداری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

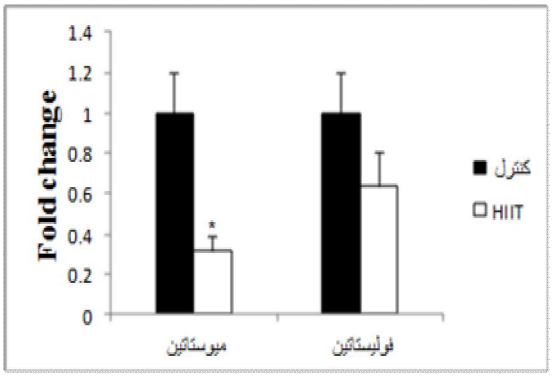
نتایج نشان می‌دهد که تمرین HIIT به افزایش معنادار وزن عضله دوقلو در گروه تمرینی منجر شده است (p<۰/۰۵). وزن عضله دوقلو گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل ۲۳ درصد بیشتر بود (جدول ۳).

جدول ۳. تأثیر هشت هفته HIIT بر وزن بدن و عضله دوقلو (میانگین ± انحراف معیار)

	کنترل (n = ۸)	HIIT (n = ۸)	p
وزن ابتدای بدن (گرم)	۲۲۹/۶±۳/۸	۲۲۸/۶±۲/۴	NS
وزن نهایی بدن (گرم)	۲۸۷/۶±۲/۴	۲۸۷/۰±۳/۴	NS
وزن عضلهٔ دوقلو (گرم)	۱.۴۸±۰/۰۵	۱/۸۳±۰/۰۹*	p<۰/۰۱

*نشانهٔ معناداری آماری ۰/۰۵≥p، NS عدم تغییر معنادار

بین مقادیر mRNA میوستاتین گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معناداری وجود دارد (p<۰/۰۵). بیان mRNA میوستاتین در گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل ۶۸ درصد کاهش داشت. با وجود این، هیچ تفاوت معناداری در بیان mRNA فولیستاتین گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل وجود نداشت (p>۰/۰۵) (نمودار ۱).



نمودار ۱: تأثیر هشت هفته HIIT بر بیان ژن میوستاتین و فولیستاتین
*** اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (۰/۰۵≥p)**

بحث

مطالعه حاضر نشان می‌دهد، ۸ هفته HIIT منجر به کاهش معنادار بیان mRNA میوستاتین شده است. با وجود این، تفاوت معناداری در بیان mRNA فولیستاتین دیده نشد. هم‌چنین، پس از تمرین ورزشی، وزن عضله دوقلو به صورت معناداری افزایش پیدا کرده بود. پژوهش حاضر نشان داد پس از هشت هفته HIIT، بیان ژن میوستاتین کاهش ۶۸ درصدی داشته است. الیوت و همکارانش (۲۰۱۷) نشان دادند ۶ هفته HIIT، تأثیری بر مقادیر سرم میوستاتین سالمندان نداشته است (۲۳). در حالی که پژوهش حاضر نشان می‌دهد HIIT باعث کاهش بیان mRNA میوستاتین عضلانی در موش‌های صحرایی جوان می‌شود. به نظر می‌رسد یکی از عوامل موثر در تاثیرپذیری ناشی از برنامه تمرینی سن آزمودنی‌ها باشد.

در مطالعه‌ای نشان داده شده است که میزان تأثیرپذیری سالمندان در مقایسه با جوان‌ها به HIIT بسیار کم‌تر بوده است (۲۴). بنابراین، این احتمال وجود دارد که کاهش بیان میوستاتین در مطالعه حاضر ریشه در جوان بودن آزمودنی ها دارد که نسبت به HIIT زودتر پاسخ می‌دهند. مشخص شده است که شدت تمرینی ازجمله عوامل مهم در افزایش سنتز پروتئین عضلانی به شمار می‌رود. به نظر می‌رسد، بیان میوستاتین آستانه دارد و تا زمانی که نیروی کششی مکانیکی در عضله اسکلتی به آستانه نرسد، تاثیرپذیری میوستاتین به ناشی از تمرین ورزشی ممکن نخواهد بود (۲۴). شدت تمرین در مطالعه حاضر در مقایسه با الیوت بیشتر بود. به احتمال زیاد می‌توان گفت شدت پایین HIIT تاثیر مناسبی ندارد (۲۵).

روستایی و همکارانش (۱۳۹۵) نشان دادند هشت هفته HIIT با حجم بالا باعث کاهش معنادار بیان ژن میوستاتین در عضله تند انقباض موش‌های صحرایی شد (۲۶). سازوکار میوستاتین در مهار رشد عضله اسکلتی در درجه اول از راه عوامل رونویسی Smad عمل می‌کند و باعث تنظیم کاهشی PKB/Akt می‌شود. فعال شدن Smad3 بر اثر میوستاتین، باعث مهار پیوند به PKB/Akt و مهار mTOR می‌شود (۲۷).

مطالعه حاضر نشان داد پس از هشت هفته HIIT، تغییر معناداری در بیان فولیستاتین مشاهده نشد. الیوت و همکاران(۲۰۱۷) گزارش کردند مقادیر سرمی فولیستاتین افراد سالمند غیر ورزشکار پس از شش هفته HIIT افزایش معناداری داشته است (۲۳). مطالعات نشان می‌دهند محل اصلی تولید فولیستاتین، کبد است (۱۰، ۲۸). در حالی که افزایش فولیستاتین عضله نیز در برخی مطالعات گزارش شده است (۲۹)، با این وجود، از آن‌جایی که فولیستاتین تقریباً از تمام بافت‌های بدن خصوصاً کبد ترشح می‌شود، به نظر می‌رسد بهتر است که در آینده برای بررسی تأثیر HIIT بر فولیستاتین، مقادیر سرمی آن سنجیده شود (۱۰، ۲۸).

در مطالعه حاضر فولیستاتین در عضله اسکلتی سنجیده شده است، در حالی که الیوت و همکاران سطوح سرمی را سنجیده اند. احتمالا یکی از دلایل متفاوت بودن نتایج، گوناگونی روش اندازه‌گیری است.

مطالعات اخیر نشان می‌دهند HIIT سطح مقطع تارهای عضلانی را افزایش می‌دهد (۱۵، ۱۶). در پژوهش حاضر نیز با توجه به کاهش معنادار میوستاتین انتظار می‌رود هیپرتروفی رخ داده باشد. در این پژوهش پس از تمرین ورزشی، وزن عضله دوقلو گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل ۲۳ درصد بیشتر بود، این در حالی است که بین وزن بدن نهایی دو گروه تفاوتی وجود نداشت.

به نظر می‌رسد این نتایج ریشه در تغییر ترکیب بدنی ـ افزایش عضله و کاهش چربی ـ موش‌های گروه تمرین داشته باشد (۳۰). در برخی از مقالات، HIIT را به عنوان یکی از مدل‌های تمرین هوازی مطرح کرده‌اند (۱۵).

تمرین هوازی باعث مهار میوستاتین درون‌سلولی شده است و درنتیجه، فعالیت مسیر AKT-mTOR را افزایش می‌دهد که نتیجه آن سنتز پروتئین انقباضی است. به علاوه، انقباض‌های عضلانی متوالی در تمرین هوازی بیان PGC-1a را افزایش می‌دهد که این به نوبه خود از طریق مهار FOXO3a باعث کاهش تجزیه پروتئین عضلانی می‌شود؛ بنابراین مهار میوستاتین و افزایش PGC-1a ناشی از تمرینات هوازی به تعادل مثبت پروتئین عضله منجر می‌شود (۱۵). با این حال، از آن‌جایی که در پژوهش حاضر ابعاد سلول‌های عضلانی به لحاظ مورفولوژی سنجیده نشده است، نمی‌توان با قاطعیت گفت هیپرتروفی اتفاق افتاده است.

مطالعه حاضر چندین محدودیت داشت که مهم‌ترین محدودیت آن عدم دسترسی به نمونه‌های انسانی بود.

از دیگر محدودیت‌های این پژوهش ـ به دلیل کمبود بودجه ـ می‌توان به عدم استفاده از روش وسترن بلات برای اطمینان از تبدیل mRNA متغیرهای موردنظر به پروتئین، عدم سنجش عوامل و فاکتورهای بیشتر در ارتباط با رشد عضله اسکلتی مانند IGF-I، MGF، FoxO، Smads و GASPs و عدم بررسی ترکیب بدنی و سطح مقطع عرضی (CSA) تار عضلانی ـ برای اطمینان از بروز هیپرتروفی ـ اشاره کرد. مجموع سنجش عوامل و فاکتورهای متعدد مرتبط با رشد عضله اسکلتی مانند IGF-I، MGF، FoxO، Smads، GASPs و بررسی ترکیب بدنی و سطح مقطع عرضی تار عضلانی (CSA) کمک بسیاری در زمینه تأثیر HIIT بر رشد عضله اسکلتی را فراهم می آورد.

برای اطمینان از تأثیر HIIT بر رشد عضله اسکلتی و شناخت بهتر مکانیسم آن پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی در درجه اول از نمونه‌های انسانی استفاده شود و ثانیاً از روش‌های اندازه گیری که در پژوهش حاضر به عنوان محدودیت نام برده شد به کار گرفته شود.

نتیجه‌گیری

تمرینات HIIT باعث کاهش معنادار بیان ژن میوستاتین و افزایش وزن عضله دوقلو موش‌های صحرایی نر منجر شد.

با این حال، تغییر معناداری در بیان ژن فولیستاتین مشاهده نشد. افزایش وزن عضله دوقلو پس از HIIT ممکن است ناشی از هیپرتروفی عضلانی باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه تهران است. بدین‌وسیله از سرکار خانم فرنوش مافی که در نوشتن مقاله ما را یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

1. Robergs RA, Roberts S. Fundamental principles of exercise physiology: for fitness, performance, and health: McGraw-Hill College; 2000.
2. Schiaffino S, Reggiani C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. Physiological reviews. 1996; 76(2):371-423.
3. Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, Blaauw B, Sandri M. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. The FEBS journal. 2013; 280(17):4294-314.
4. McPherron AC, Lawler AM, Lee S-J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. nature. 1997; 387(6628):83.
5. McCroskery S, Thomas M, Maxwell L, Sharma M, Kambadur R. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. The Journal of cell biology. 2003; 162(6):1135-47.
6. Lee S-J. Quadrupling muscle mass in mice by targeting TGF-ß signaling pathways. PloS one. 2007; 2(8):e789.
7. Hansen JS, Plomgaard P. Circulating follistatin in relation to energy metabolism. Molecular and cellular endocrinology. 2016; 433:87-93.
8. Matsakas A, Bozzo C, Cacciani N, Caliaro F, Reggiani C, Mascarello F, et al. Effect of swimming on myostatin expression in white and red gastrocnemius muscle and in cardiac muscle of rats. Experimental physiology. 2006; 91(6):983-94.
9. Jensky NE, Sims JK, Dieli-Conwright CM, Sattler FR, Rice JC, Schroeder ET. Exercise does not influence myostatin and follistatin mRNA expression in young women. Journal of strength and conditioning research/National Strength & Conditioning Association. 2010; 24(2):522.
10. Hansen J, Brandt C, Nielsen AR, Hojman P, Whitham M, Febbraio MA, et al. Exercise induces a marked increase in plasma follistatin: evidence that follistatin is a contraction-induced hepatokine. Endocrinology. 2011; 152(1):164-71.
11. Willoughby DS. Effects of heavy resistance training on myostatin mRNA and protein expression. Medicine and science in sports and exercise. 2004; 36(4):574-82.
12. Haddad F, Adams G, Bodell P, Baldwin K. Isometric resistance exercise fails to counteract skeletal muscle atrophy processes during the initial stages of unloading. Journal of Applied Physiology. 2006; 100(2):433-41.
13. Wehling M, Cai B, Tidball JG. Modulation of myostatin expression during modified muscle use. The FASEB Journal. 2000; 14(1):103-10.
14. Gibala MJ, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? Exercise and sport sciences reviews. 2008; 36(2):58-63.
15. ESTES RR, MALINOWSKI A, PIACENTINI M, THRUSH D, Salley E, Losey C, et al. The Effect of High Intensity Interval Run Training on Cross-sectional Area of the Vastus Lateralis in Untrained College Students. International Journal of Exercise Science. 2017;10(1):137.
16. Robinson MM, Dasari S, Konopka AR, Johnson ML, Manjunatha S, Esponda RR, et al. Enhanced protein translation underlies improved metabolic and physical adaptations to different exercise training modes in young and old humans. Cell Metabolism. 2017;25(3):581-92.
17. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. Sports medicine. 2007;37(9):737-63.
18. Baar K. Training for endurance and strength: lessons from cell signaling. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2006;38(11):1939-44.
19. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise

training. European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation. 2007;14(6):753-60.
20. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. Molecular medicine reports. 2015;12(2):2374-82.
21. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. Cardiovascular research. 2013:cvt080.
22. Wisløff U, Loennechen JP, Falck G, Beisvag V, Currie S, Smith G, et al. Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. Cardiovascular research. 2001;50(3):495-508.
23. Elliott BT, Herbert P, Sculthorpe N, Grace FM, Stratton D, Hayes LD. Lifelong exercise, but not short- term high- intensity interval training, increases GDF11, a marker of successful aging: a preliminary investigation. Physiological Reports. 2017;5(13):e13343.
24. Kumar V, Selby A, Rankin D, Patel R, Atherton P, Hildebrandt W, et al. Age- related differences in the dose–response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men. The Journal of physiology. 2009;587(1):211-7.
25. Hofmann M, Schober-Halper B, Oesen S, Franzke B, Tschan H, Bachl N, et al. Effects of elastic band resistance training and nutritional supplementation on muscle quality and circulating muscle growth and degradation factors of institutionalized elderly women: the Vienna Active Ageing Study (VAAS). European journal of applied physiology. 2016;116(5):885-97.
26. Roostaei M, gaeine A, Kordi MR. The difference of myostatin gene expression in fast and slow twitch healthy male rat after eight weeks of high intensity interval training. Physiology of Exercise and Physical Activity. 2016;9(1):10. [In persian].
27. Winbanks CE, Weeks KL, Thomson RE, Sepulveda PV, Beyer C, Qian H, et al. Follistatin-mediated skeletal muscle hypertrophy is regulated by Smad3 and mTOR independently of myostatin. J Cell Biol. 2012:jcb. 201109091.
28. 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. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2016;101(2):550-60.
29. Kawao N, Morita H, Obata K, Tatsumi K, Kaji H. Role of follistatin in muscle and bone alterations induced by gravity change in mice. Journal of Cellular Physiology. 2017.
30. Martins C, Kazakova I, Ludviksen M, Mehus I, Wisloff U, Kulseng B, et al. High-intensity interval training and isocaloric moderate-intensity continuous training result in similar improvements in body composition and fitness in obese individuals. International journal of sport nutrition and exercise metabolism. 2016; 26(3):197-204.