

Comparison of the efficacy of 12 Weeks of Resistance and Combined Training on Activation of AMPK Signaling and Gene Expression of Muscle Atrophy markers in Middle-Aged Women

Hiva Moradiani¹, Mohammadreza Zolfaghar Didani¹, Kazem Khodaei^{1*}

Receive 2023 February 24; Accepted 2023 April 30

Abstract

Aim: Activation of AMPK signaling following exercise is widely associated with the muscle atrophy pathway. The aim of this study was to investigate the comparison of the efficacy of 12 weeks resistance training and combined on the activation of AMPK signaling, muscle glycogen and ATP levels, and gene expression of muscle atrophy markers in middle-aged women. **Methods:** For this purpose, 30 untrained middle-aged women with 40-60 years were randomly divided into 3 groups of incremental resistance training, combined resistance and high intensity interval training, and control. Resistance training protocol included 6 exercises with 3 sets of 5-7 repetitions with 90 seconds rest, and the intensity was 50-80% 1RM. high intensity interval training protocol was performed in 5 one-minute interval with an intensity of 60-90% of the maximum heart rate with 2-3 minutes of active rest between each interval, and resistance training included 4 movements in 3 sets with a 90-second rest interval and the number was 5-7 repetitions and the intensity was 50-80% of 1RM. A tissue sample was taken from the vastus lateralis muscle. The difference between the pre-test and post-test data between the groups was evaluated using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test at a significance level of $P \leq 0.05$. **Results:** The results showed that muscle glycogen concentration and ATP levels had insignificant changes after 12 weeks of exercise training ($P=0.07$). Also, the results showed that muscle AMPK levels decreased significantly after 12 weeks of resistance and combined training ($P=0.005$). The gene expression of Atrogin-1/MAFbx, MuRF-1 and FOXO3a in muscle decreased significantly after 12 weeks of resistance training ($P=0.01$). **Conclusions:** Although there was no difference between the combined and resistance training groups in all variables. However, the effect of resistance training in reducing of AMPK and muscle atrophy genes expression was stronger.

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Department of sport physiology and corrective exercises, Sport sciences faculty, Urmia University, Iran.
*(corresponding author)
(k.khodaei@urmia.ac.ir)

Keywords: AMPK, ATP, Glycogen, muscle Atrophy markers, Resistance training, Combined training

Cite as: Moradiani, Hiva. Zolfaghar didani, Mohammadreza. Khodaei, Kazem. Comparison of the efficacy of 12 Weeks of Resistance and Combined Training on Activation of AMPK Signaling and Gene Expression of Muscle Atrophy markers in Middle-Aged Women. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. ????; ?(In press): ?-??.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28273.1543

DOR:



Extended abstract

Background

The activation of AMPK signaling following sports activities is related to the muscle atrophy pathway. Muscle atrophy occurs as a result of a change in the balance between anabolic and catabolic processes and a decrease in muscle mass due to an increase in the resulting changes. Specific adaptations are made through the AMPK pathway with exercise training, but results studies have seen mixed results. In the past decade, AMPK has been associated with E3 ubiquitin pathway ligases. In the skeletal system, MuRF-1 and Atrogin-1/MAFbx and FOXO3a are important AMPKs and are upregulated in the skeletal system. Sports training is one of the important methods recommended for the development or reduction of atrophy, which increases the synthesis of contractile and structural growth, improves the translation process, increases the proliferation markers of satellite cells and their number, the number of nuclei in each strand. Muscle increases the differentiation of myoblasts and their fusion. The aim of the study was to compare the effectiveness of 12 weeks of resistance and combined exercises on AMPK conduction activation, muscle glycogen and ATP levels, gene expression of muscle atrophy markers in middle-aged women.

Materials and Methods

30 untrained middle-aged women with an age range of 40-60 years were selected. The criteria for entering the research were being in perfect physical health, not taking any special medication, normal weight, not having regular exercise, not being menopausal, and following the diet plan prescribed by the researcher..

Experimental design

Subjects were randomly divided into three groups: increasing resistance training, intense resistance-intermittent combined training, and control

Training protocol

Resistance exercises in the combined training group include 4 exercises (barbell chest press, lat pulldown, machine leg press, machine knee flexion) in 3 sets with a rest interval of 90 seconds, the number of repetitions is 5-7, and the intensity of one repetition is 50-80%. Max was executed. The protocol of resistance training and combined training (intense resistance-interval) was implemented for 12 weeks, and the intensity of resistance and interval training was controlled and increased by 5% every four weeks. Resistance exercises in the resistance training group include 6 exercise (barbell chest press, lat pulldown, barbell forearm press, machine leg press, machine knee flexion and machine knee extension) in 3 sets with a 90-second rest interval and 5-7 repetitions and intensity of 50-80% of one repetition maximum was performed. The high-intensity interval training protocol was performed in 5 intervals include running in a 1-min with intensity of 60-90% of the maximum heart rate with 2-3 minutes of active rest with an intensity of 40% on the treadmill (model Wellness&Muscle Spirit KT8000) between each interval.

Molecular and biochemical analysis

150 mg of muscle samples were taken from the subjects in two stages (before the test and after the 12th week) from the middle part of the vastus lateralis muscle through local anesthesia when they were not in their menstrual period. In order for the subjects to have access to the same caloric intake, a standard dinner including pasta, tomato sauce and fruit juice containing (2.2 grams of carbohydrates, 0.2 grams of protein and 0.04 grams of fat per kilogram of body weight) the night before Prepared from sampling. Also, two hours before sampling, 100 ml ready-made soup imported from England with the formula (20 grams of carbohydrates, 6.3 grams of protein and 4.9 grams of fat per kilogram of body weight) was prepared for the subjects. Three hours' time interval was considered to accept changes in protein phosphorylation and gene expression. In addition, the muscle sample was taken 72 hours after the last training session. Muscle sampling was done from the needle based on the Bergström technique. ATP and glycogen levels were hydrolyzed as free glucose by fluorometer. In order to measure the mRNA expression levels of AMPK factors and atrophy variables (FOXO3a, MuRF-1, and Atrogin-1/MAFbx), quantitative Real Time PCR method was used using SYBR-Green according to the manufacturer's protocol.

Statistical analysis

In order to ensure the normal distribution of the data, the Shapiro-Wilk test was used. The difference of the pre-test data between the groups was evaluated using one-way analysis and Tukey's post hoc test at a significance level of $P \leq 0.05$.

Results

The results showed that the concentration of muscle glycogen and ATP levels after 12 weeks of sports training had no significant changes between the groups ($P=0.07$). Also, the results showed that muscle AMPK levels decreased significantly after 12 weeks of resistance and combined exercises compared to the control group ($P\leq 0.05$). There was no significant difference between the two training groups. The gene expression of Atrogin-1/MAFbx, MuRF-1 and FOXO3a in muscle after 12 weeks of resistance training had a significant decrease compared to the control group ($P\leq 0.01$). Also, the resistance training group had a significant decrease in muscle MuRF-1 and FOXO3a compared to the combined training group ($P\leq 0.05$).

Discussion

The present study investigated the effect of AMPK activation caused by intense resistance and combined exercise on the expression of muscle atrophy genes in middle-aged women. Our findings showed that both combined and resistance training groups showed a decrease in AMPK gene expression, and although the decrease was greater in the resistance group, this difference was not significant. A decrease in muscle atrophy markers was observed only after resistance training, but combined training had no effect. It seems that resistance training alone is more effective in reducing AMPK signaling and muscle atrophy, and the combination of intense intermittent training with resistance has disrupted the hypertrophy process and reduced muscle atrophy markers in middle-aged women.

Article message

Both training groups had no effect on ATP and muscle glycogen content, but decreased AMPK gene expression. Only resistance training decreased the expression of muscle atrophy genes. It seems that the combination of intense interval training with resistance has disrupted the process of hypertrophy and reduced muscle atrophy in middle-aged women.

Impress

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال؟ شماره؟

؟ و ؟؟؟؟ صفحات؟-؟

Open Access

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر بخشی ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی و ترکیبی بر فعال سازی سیگنالینگ AMPK و بیان ژن نشانگرهای آتروفی عضلانی در زنان میانسال

هیوا مرادیانی^۱، محمدرضا ذوالفقار دیدنی^۱، کاظم خدائی^{*۱}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۰

چکیده

هدف: فعال سازی سیگنال دهی AMPK به دنبال فعالیت ورزشی ارتباط گسترده‌ای با مسیر آتروفی عضلانی دارد. هدف از پژوهش حاضر مقایسه اثربخشی ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی و ترکیبی بر فعال سازی سیگنال دهی AMPK، سطوح گلیکوژن و ATP عضلانی، بیان ژن نشانگرهای آتروفی عضلانی در زنان میانسال بود. **روش پژوهش:** ۳۰ زن میانسال تمرین نکرده با دامنه سنی ۶۰-۴۰ سال به طور تصادفی به سه گروه تمرین مقاومتی فزاینده، تمرین ترکیبی مقاومتی-تناوبی شدید و کنترل تقسیم شدند. تمرینات گروه مقاومتی شامل شش حرکت و هر حرکت با ۳ ست ۵-۷ تکراری و استراحت ۹۰ ثانیه و با شدت ۵۰-۸۰ درصد یک تکرار بیشینه اجرا شد. پروتکل تمرین ترکیبی شامل تمرینات تناوبی شدید در ۵ مرحله یک دقیقه‌ای با شدت ۶۰-۹۰ درصد ضربان قلب بیشینه با ۳-۲ دقیقه استراحت فعال بین هر مرحله اجرا شد و تمرینات مقاومتی شامل چهار حرکت در ۳ ست با استراحت ۹۰ ثانیه و تعداد تکرار ۵-۷ تکرار و شدت ۵۰-۸۰ درصد یک تکرار بیشینه اجرا شد. نمونه بافتی از عضله پهن جانبی گرفته شد. اختلاف داده‌های پیش‌آزمون بین گروه‌ها با استفاده از آزمون تحلیل یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $P \leq 0.05$ ارزیابی شد. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد غلظت گلیکوژن عضلانی و سطوح ATP بعد از ۱۲ هفته تمرینات ورزشی تغییرات غیرمعنی داری داشت ($P=0.07$). همچنین نتایج نشان داد که سطوح AMPK عضلانی بعد از ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی و ترکیبی کاهش معنی داری داشت ($P \leq 0.05$). بیان ژن Atrogin-1/MAFbx، MuRF-1 و FOXO3a عضلانی بعد از ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی کاهش معنی داری داشت ($P \leq 0.01$). **نتیجه گیری:** هر دو گروه تمرین تاثیر بر محتوای ATP و گلیکوژن عضلانی نداشتند ولی بیان ژن AMPK را کاهش دادند. تنها تمرین مقاومتی باعث کاهش بیان ژن‌های آتروفی عضلانی شده بود. بنظر می‌رسد ترکیب تمرین تناوبی شدید با مقاومتی باعث اختلال در روند هایپر تروفی و کاهش آتروفی عضلانی در زنان میانسال شده است.

واژه‌های کلیدی: AMPK، ATP، گلیکوژن، مارکرهای آتروفی عضلانی، تمرین مقاومتی، تمرین ترکیبی

نحوه ارجاع: مرادیانی، هیوا، ذوالفقار دیدنی، محمدرضا، خدائی، کاظم. "مقایسه اثر بخشی ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی و ترکیبی بر فعال سازی سیگنالینگ AMPK و بیان ژن نشانگرهای آتروفی عضلانی در زنان میانسال". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ؟؟؟؟؟؟ (؟،؟)-؟.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28273.1543

DOR: 20.1001.



می‌کند. فرایند پیوستگی یوبی کوئیتین با پروتئین سوبسترا توسط فعالیت سه آنزیم تنظیم می‌شود: ۱- آنزیم فعال کننده یوبی کوئیتین^۴ (E1)، ۲- آنزیم متصل کننده یوبی کوئیتین^۵ (E2) و ۳- آنزیم لیگاز یوبی کوئیتین^۶ (E3). محققان ژن‌های آنروفی وابسته به آنزیم یوبی کوئیتین-۳ را که شامل MuRF-1^۷، MAFbx/Atrogin-1^۸ و میوستاتین هستند معرفی کردند و بیان آنها در موقعیت‌هایی از جمله گرسنگی طولانی مدت، دیابت، سرطان، فلج، بی‌حرکی، بالا رفتن سطوح گلوکوکورتیکوئیدها و بالا رفتن سن افزایش می‌یابند و می‌توانند شاخص‌هایی دقیق برای بیماری‌های عضلانی و سارکوپنی باشند (۶، ۷).

سازگاری‌های ویژه‌ای از طریق مسیر AMPK با تمرینات ورزشی ایجاد می‌شود، ولی در مطالعات انسانی نتایج دوگانه‌ای دیده شده است. به عنوان مثال، هنگامی که ورزشکاران تمرین کرده استقامتی-قدرتی فعالیت‌های ورزشی روزانه را اجرا می‌کنند، مسیر سیگنال‌دهی عضلانی آنابولیکی قدرتمندی بعد از فعالیت ورزشی شدید به وجود می‌آید. همان‌طور که گزارش‌ها نشان می‌دهند AMPK در واکنش به فعالیت هوازی افزایش می‌یابد و mTOR^۹ توسط فعالیت مقاومتی فعال می‌شود (۸). به نظر می‌رسد هر نوع فعالیت ورزشی یک نوع سازگاری عضلات اسکلتی و مسیر سیگنال‌دهی را ایجاد می‌کند. محققان گزارش کرده‌اند که فعال‌سازی AMPK تحریک شده توسط فعالیت استقامتی مسیر سیگنال‌دهی mTOR را مهار می‌کند (۹) و این کار را با سرکوب سنتز پروتئین از طریق فعال‌سازی AMPK انجام می‌دهد (۱۰). در مجموع، این فرایند مسئول تقویت پروتئین میوفیبریلی است که آنروفی شده و بعد از تمرینات ترکیبی مقاومتی و هوازی ایجاد می‌شود (۱۱).

در دهه گذشته محققان پی برده‌اند که AMPK با لیگازهای مسیر یوبی کوئیتین E3 ارتباط متقابل دارد. در عضلات اسکلتی، MuRF-1 و Atrogin-1/MAFbx و FOXO3a اهداف مهم AMPK هستند و مقادیر آنها در سلول عضلات اسکلتی بیش تنظیم می‌شوند (۱۲). سایر مطالعات *in vivo* اخیر تشریح کرده‌اند که سرکوب فعالیت AMPK موجب کاهش فعالیت مسیر یوبی کوئیتین و بیان MuRF-1 mRNA می‌شود، بنابراین مانع از پیشرفت آنروفی عضلانی ناخواسته در عضلات دوقلوی موش شد (۱۲)، بنابراین ارتباطات مختلفی بین AMPK و سیستم پروتئوزوم-یوبی کوئیتین وجود دارد که در تنظیم توده عضلات اسکلتی اهمیت دارد. مطالعات متعددی در دهه گذشته نشان می‌دهد که AMPK نقش مهمی در تنظیم توده عضلات اسکلتی دارد. اگاوا و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند

مقدمه

بر اساس آمار منتشر شده از سازمان بهداشت جهانی و وزارت بهداشت ایران، میانگین سن امید به زندگی در ایران به حدود ۷۴ سال رسیده است و این آمار در زنان نسبت به مردان چند سال بالاتر است. طبق دسته بندی صورت گرفته دوره میانسالی به ربع سوم دوره زندگی افراد اطلاق می‌شود و دامنه آن در کشور تقریباً حدود ۶۰-۴۰ سالگی برآورد شده است (۱). با گذر از دوره جوانی و ورود به دوره میانسالی به مرور تغییراتی در دستگاه‌های فیزیولوژیکی بدن روی می‌دهد. یکی از تغییرات اصلی مرتبط با میانسالی آنروفی دستگاه عضلانی است. کاهش تدریجی توده عضلانی تقریباً از ۴۰ سالگی شروع می‌شود و در هر دهه زندگی حدود ۸ درصد کاهش می‌یابد. بنابراین در طول دوره ۲۰ سال میانسالی حدود ۱۵ درصد از توده بدنی کاهش می‌یابد (۲). کاهش تدریجی و اجتناب ناپذیر توده عضلانی و قدرت که همراه با گذر از دوره جوانی رخ می‌دهد، با رخدادهای متنوع عضلانی از جمله، کاهش در اندازه و تعداد تارهای عضلانی نوع دو (تند انقباضی)، واحدهای حرکتی نوع II و سلول‌های ماهواره‌ای تارهای عضلانی، کاهش در تعداد هسته‌های تارچه‌های عضلانی، کاهش در میزان سنتز پروتئین‌های انقباضی و افزایش در پروتئولیز درون عضلانی همراه است (۳، ۴).

آنروفی عضلانی در نتیجه تغییر در تعادل بین فرایندهای آنابولیکی و کاتابولیکی و کاهش در توده عضلانی به علت افزایش در تجزیه پروتئین اتفاق می‌افتد. مسئول اصلی افزایش مسیر پروتئولیز عضلانی تحت شرایط کاتابولیکی مسیر پروتئوزوم وابسته به ATP^۱ است. چیزی که هنوز به صورت واضح مشخص نشده است، میانجی‌های مولکولی تخریب پروتئین و فرایند آنروفی و مسیر سیگنال‌دهی آنروفی عضلانی ناشی از عوامل استرس‌زا وابسته به سن است (۵). تخریب پروتئین عضله اسکلتی توسط چهار مکانیسم پروتئولیتیکی صورت می‌گیرد: ۱. سیستم پروتئولیتیکی لیزوزومی تحت کنترل کاتپسین‌ها^۲ که پروتئازهای لیزوزومی اصلی هستند، ۲. کالپاین‌های وابسته به کلسیم که پروتئازهای غیرلیزوزومی داخل سلولی هستند، ۳- کاسپازها^۳ با برش زدن واحدهای دارای اسپاراتات ۴- سیستم پروتئاز یوبی کوئیتین (پلی پپتید ۷۶ آمینواسیدی) که مکانیسم تنظیمی اصلی آنروفی عضلات اسکلتی هستند. سیستم پروتئاز یوبی-کوئیتین، سیستم پروتئولیتیکی وابسته به ATP است که تخریب پروتئین-های هدف شناسایی شده توسط مولکول‌های یوبی کوئیتین را میانجی‌گری

۵. Ubiquitin Conjugating Enzymes

۶. Ubiquitin Ligase Enzymes

۷. Muscle Ring Finger-1

۸. Atrophy Gene-1/Muscle Atrophy F-box

۹. Mammalian Target of Rapamycin

۱. ATP-dependent Proteasome Pathway

۲. Cathepsin

۳. Caspase

۴. Ubiquitin Activating Enzymes



پس از ارزیابی‌های اولیه، ویژگی‌های آنروپومتریکی و بدست آوردن یک تکرار بیشینه و ضربان قلب بیشینه، آزمودنی‌ها در گروه‌های تحقیق قرار گرفته و برطبق جدول، پروتکل تمرین مقاومتی و ترکیبی را اجرا کردند. سپس آزمودنی‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه (الف) گروه تمرین مقاومتی فزاینده (۱۰ نفر)، (ب) گروه تمرین ترکیبی مقاومتی و تناوبی شدید (۱۰ نفر) و (ج) گروه کنترل (۱۰ نفر) تقسیم شدند. دوره آشناسازی آزمودنی‌ها با نحوه اجرای تمرینات و آشنایی با وسایل یک هفته قبل از آغاز پروتکل اصلی تمرین بود. برای ارزیابی درصد چربی بدن آزمودنی‌ها از طریق اندازه‌گیری ضخامت لایه چربی زیرپوستی ناحیه رانی، فوق خاصره و پشت بازو با استفاده از (کالیپر لافایت، ساخت انگلستان با دقت ۰/۵ میلی‌متر) اندازه‌گیری و با جایگزینی در معادلات مخصوص برآورد درصد چربی بدن، که توسط جکسون و پولاک ارائه شده، برآورد شد و چگالی به دست آمده (BD) در فرمول بروزک و همکاران به درصد چربی تبدیل شد.

$$100 = (4.57/BD - 4.142) \times 100 = \text{چربی بدن}$$

برای اندازه‌گیری ضربان قلب بیشینه از فرمول مارتاگلاتی و همکاران (۲۰۱۰) استفاده شد:

$$\text{HRmax} = 206 - (0.88 \times \text{سن})$$

برای ارزیابی یک تکرار بیشینه از فرمول برزینسکی بهره گرفته شد.

$$1RM = \frac{\text{اروزنه جلیجاستد (کیلوگرم)}}{1.0278 - (0.0278 \times \text{سرحدختی})}$$

به منظور دسترسی آزمودنی‌ها به کالری دریافتی یکسان شام استاندارد شامل ماکارونی، سس گوجه فرنگی و آب میوه حاوی (۲/۲ گرم کربوهیدرات، ۰/۲ گرم پروتئین و ۰/۴ گرم چربی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) در شب قبل از نمونه‌گیری تهیه گردید. همچنین دو ساعت قبل از نمونه‌گیری، سوپ آماده وارداتی از کشور انگلستان ۱۰۰ میلی‌لیتری با فرمول (۲۰ گرم کربوهیدرات، ۶/۳ گرم پروتئین و ۴/۹ گرم چربی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) برای آزمودنی‌ها آماده شد (Ensure Plus, Abbott Laboratories, Maidenhead, UK).

پروتکل تمرینی مقاومتی و تمرین ترکیبی (مقاومتی-تناوبی شدید) به مدت ۱۲ هفته اجرا شد و شدت تمرینات مقاومتی و تناوبی هر چهار هفته یکبار کنترل و ۵ درصد شدت افزایش پیدا کرد. تمرینات مقاومتی در گروه تمرین مقاومتی شامل ۶ حرکت (پرس سینه هالتر، کشش میله لت دستگاه، جلو بازو هالتر، پرس پا دستگاه، فلکشن زانو دستگاه و اکستنشن زانو دستگاه) در ۳ ست با تناوب استراحتی ۹۰ ثانیه و تعداد تکرار ۵-۷

که افزایش فعالیت AMPK با کاهش ظرفیت هایپرتروفی عضلات اسکلتی تند انقباض در موش‌های مسن همراه بود (۱۲). لاندبرگ و همکاران (۲۰۱۴) اثر تمرینات ترکیبی مقاومتی و هوازی را بر تحریک AMPK و ارتباط آن با شاخص‌های آتروفی عضلانی در مردان جوان بررسی کردند. نتایج نشان داد که تمرینات هوازی موجب کاهش ذخایر گلیکوژن عضلانی و عدم تغییر فسفوریلاسیون AMPK، فسفوریلاسیون p70S6K و 4E-BP1 کاهش بیان ژن میوستاتین ۳ ساعت بعد از تمرینات ترکیبی و حجم عضلانی بیشتری در تمرینات ترکیبی نسبت به تمرین مقاومتی شده بود، ولی سطوح MuRF-1 و Atrogin-1 کاهش نشان داد (۱۳).

تمرینات ورزشی یکی از شیوه‌های مؤثر توصیه شده برای پیشگیری یا به تاخیر انداختن آتروفی عضلانی است که موجب افزایش سنتز پروتئین انقباضی و ساختاری، بهبود روند ترجمه، افزایش در نشانگرهای تکثیر سلول ماهواره‌ای و تعداد آنها، تعداد هسته‌های هر تار عضله، افزایش تمایز میوبلاست‌ها و همجوشی آنها می‌شود (۱۴، ۱۵). ولی فرض محقق بر این است که ۱- تمرین تناوبی شدید می‌تواند ذخایر گلیکوژن عضلانی را کاهش داده و اثر آن در فعال‌سازی مسیر سیگنال‌دهی AMPK را فعال می‌کند و بیان ژن متغیرهای آتروفی از جمله MuRF-1 و Atrogin-1 و FOXO3 افزایش دهد. ۲- تمرینات ترکیبی مقاومتی و تناوبی شدید عملکرد انقباضی درونی را مختل کرده و هایپرتروفی عضلانی در مقایسه با فعالیت مقاومتی به تنهایی کاهش پیدا کند. لذا با توجه به کمبود مطالعات در این زمینه روی زنان میانسال و اثر تمرینات ترکیبی مقاومتی و تناوبی شدید روی شاخص‌های آتروفی، هدف از پژوهش حاضر مقایسه ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی به تنهایی و تمرینات ترکیبی (مقاومتی و تناوبی شدید) بر AMPK و شاخص‌های آتروفی عضلانی زنان میانسال بود.

روش پژوهش

جامعه آماری پژوهش بانوان میانسال تمرین نکرده شهرستان سنج بود که پس از فراخوانی ۳۰ نفر زن میانسال، با دامنه سنی ۶۰-۴۰ سال به سالن ورزشی بدنسازی آرین واقع در شهرستان سنج مراجعه کردند. در هنگام اجرای مراحل آزمون، یک خانم مربی کارشناسی ارشد تربیت بدنی گرایش فیزیولوژی ورزش و دارای مربیگری بدنسازی درجه ۲ به عنوان دستیار که با چگونگی انجام مراحل پروتکل از قبل آشنا شده بود، به محقق در اجرای آزمون کمک کرد. ملاک اصلی محقق برای شرکت آزمودنی‌ها در پژوهش برخورداری از سلامت کامل بدنی، عدم مصرف داروی خاص، وزن طبیعی، نبود تمرینات ورزشی منظم، یائسه نبودن و رعایت برنامه غذایی تجویزی از طرف محقق بود.

از دستگاه اسپکتروفتومتر ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۶/۱ تا ۸/۱ بود. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا، مراحل سنتز cDNA مطابق پروتکل شرکت سازنده (Thermo scientific, USA) انجام شد. نمودار melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی آلودگی واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت اندازه گیری سطوح بیان mRNA فاکتورهای AMPK و متغیرهای آنروفی (FOXO3a, MuRF-) Real Time PCR (1, Atrogin-1/MAFbx) از روش کمی (Qiagen, Hilden, Germany) با استفاده از SYBR-Green طبق پروتکل شرکت سازنده (TaKaRaBio, Otsu, Japan) بررسی شد. لازم به یادآوری است تمام جنبه‌های اخلاقی و حقوقی این پژوهش مطابق با پروتکل هلسینکی بررسی شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده در پژوهش

نام پرایمر	توالی پرایمر
MuRF-1	F: 5- TGGTCTGGTACGTCGTTTCCT-3 R: 5- ATCACGGTCGATGATCACTC-3
Atrogin-1/MAFbx	F: 5- TGGTCTGGTACGTCGTTTCCT-3 R: 5- ATCACGGTCGATGATCACTC-3
FOXO3a	F: 5- TGGTCTGGTACGTCGTTTCCT-3 R: 5- ATCACGGTCGATGATCACTC-3

به منظور اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای تحلیل داده‌های آماری با رعایت پیش فرض استفاده

و از آزمون پارامتریک، برای مقایسه معناداری اختلاف داده‌های پیش آزمون و پس آزمون (دلتا) از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و مقایسه جفت گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی با سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ استفاده شد. کلیه محاسبات آماری مربوط به هر یک از فرضیه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ صورت گرفت.

یافته‌ها

ویژگی‌های توصیفی و آنتروپومتریک آزمودنی‌ها در پیش آزمون در جدول ۲ آورده شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان داد که

تکرار و شدت ۸۰-۵۰ درصد یک تکرار بیشینه اجرا شد. پروتکل تمرین تناوبی شدید در ۵ مرحله یک دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۶۰ درصد ضربان قلب بیشینه با ۳-۲ دقیقه استراحت فعال با شدت ۴۰ درصد روی نوار گردان مدل Wellness&Muscle Spirit KT8000 بین هر مرحله اجرا شد. ولی تمرینات مقاومتی در گروه تمرین ترکیبی شامل ۴ حرکت (پرس سینه هالتر، کشش میله لت دستگاه، پرس پا دستگاه، فلکشن زانو دستگاه) در ۳ ست با تناوب استراحتی ۹۰ ثانیه و تعداد تکرار ۷-۵ تکرار و شدت ۸۰-۵۰ درصد یک تکرار بیشینه اجرا شد (۱۶، ۱۷). جزئیات پروتکل‌های تمرینی در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

۱۵۰ میلی‌گرم نمونه عضلانی از آزمودنی‌ها در دو مرحله (پیش آزمون و پس از هفته دوازدهم) از بخش میانی عضله پهن جانبی از طریق بی‌حسی موضعی در شرایطی که در دوره ماهیانه نبودند گرفته شد. ۳ ساعت فاصله زمانی برای پذیرش تغییرات در فسفوریلاسیون پروتئین و بیان ژن در نظر گرفته شد. به علاوه نمونه عضلانی ۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی گرفته شد. از سوزن نمونه‌برداری عضلانی (BERGSTRÖM diam 5mm ساخت سوئد) براساس تکنیک برگستروم انجام شد. نمونه بافتی بدست آمده از بافت همبند، چربی و خون اضافی پاکسازی شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد در نیتروژن مایع منجمد شد. برای تحلیل متغیرها، ابتدا نمونه عضلانی با استفاده از مایع نیتروژن پودر و در محلول بافر هموزبیزه و به مدت ۱۵ دقیقه و سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. حدود ۵ گرم از عضله پودر شده در ۰/۵ مول محلول الکلی پیتاسیم هیدروکسید و ۵ میلی مول سیستئین در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد حل شد و با هیدروکلریک اسید خنثی شد. سطوح ATP و گلیکوژن به صورت گلوکزهای آزاد توسط دستگاه فلورومترومتر هیدرولیز شد (QFX Fluorometer, DeNovix, USA). برای استخراج RNA از بافت هموزن شده، یک میلی‌لیتر تریازول به ۱۰۰ میلی‌گرم بافت عضله اضافه و پس از مخلوط کردن کامل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. ۴۰۰ میکرولیتر کلروفرم سرد 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. مایع حاوی RNA به میکروتیوب دیگری منتقل و سپس ۵۰۰ میکرولیتر اتانول به محلول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت در دمای محلول به مدت ۱۵ دقیقه (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. مایع رویی با دقت خارج گردید و یک میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به رسوب RNA اضافه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۷۵۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد.

در ادامه مایع رویی به دقت خارج شد و رسوب RNA با ۱۰۰ میکرولیتر ایلوشن بافر رقیق شد. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده



نتایج نمودار ۴ نشان داد که بیان ژن Atrogin-1/MAFbx عضلانی بعد از ۱۲ هفته بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ($P=0/01$). آزمون تعقیبی توکی کاهش در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل ($P=0/001$) و در گروه تمرین ترکیبی نسبت به گروه کنترل ($P=0/025$) نشان داد. نتایج نمودار ۵ نشان داد که بیان ژن MuRF-1 عضلانی بعد از ۱۲ هفته بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ($P=0/022$). آزمون تعقیبی توکی کاهش معنی‌دار گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه‌های تمرین ترکیبی ($P=0/005$) و کنترل را ($P=0/001$) نشان داد. نتایج نمودار ۶ نشان داد که بیان ژن FOXO3a عضلانی بعد از ۱۲ هفته بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P=0/03$). آزمون تعقیبی توکی کاهش معنی‌دار در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه تمرین ترکیبی ($P=0/01$) و کنترل ($P=0/001$) را نشان داد.

بین سه گروه در متغیرهای توصیفی و آنتروپومتریکی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و گروه‌ها با هم همسان بودند. نتایج نمودار ۱ نشان داد که غلظت گلیکوژن عضلانی تحت تأثیر تمرینات مقاومتی و ترکیبی قرار نگرفته است و بعد از ۱۲ هفته تمرینات ورزشی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد ($P>0/05$). نتایج نمودار ۲ نتایج نشان داد که سطوح ATP تحت تأثیر تمرینات مقاومتی و ترکیبی قرار نگرفته است و بعد از ۱۲ هفته تمرینات ورزشی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد ($P>0/05$). نتایج نمودار ۳ نشان داد که سطوح AMPK عضلانی بعد از ۱۲ هفته کاهش معنی‌داری داشت ($P\leq 0/005$). آزمون تعقیبی توکی کاهش معنی‌دار بین گروه تمرین مقاومتی با گروه کنترل ($P=0/001$) و بین گروه تمرین ترکیبی و گروه کنترل ($P=0/02$) را نشان داد.

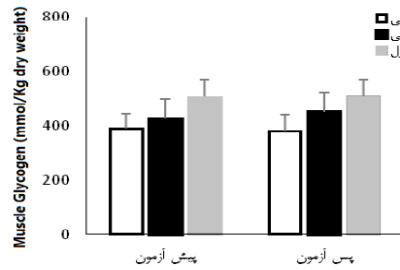
جدول ۲. ویژگی‌های توصیفی و آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها

مقادیر P بین گروهی	گروه کنترل	گروه تمرین مقاومتی	گروه تمرین مقاومتی + تمرین تناوبی	متغیر
0/08	48/8 ± 6/33	46/2 ± 5/94	47/6 ± 6/09	سن (سال)
0/12	163/4 ± 4/4	160/5 ± 4/95	161/8 ± 6/31	قد (سانتی متر)
0/15	69/56 ± 5/15	71/89 ± 6/92	72/95 ± 7/06	وزن (کیلوگرم)
0/23	26/96 ± 1/84	26/92 ± 2/43	27/84 ± 2/22	شاخص توده بدنی (Kg/m^2)
0/32	27/7 ± 1/64	28/08 ± 2/31	28/56 ± 1/78	چربی بدن (%)
0/09	63/5 ± 5/46	66/22 ± 6/13	65/33 ± 5/12	سطح مقطع ران (cm^2)

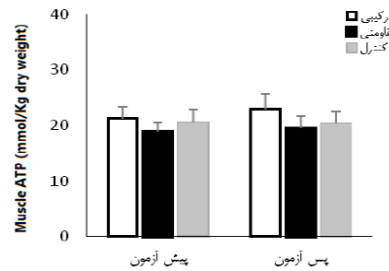
جدول ۳. پروتکل تمرین ترکیبی و تمرین مقاومتی به تنهایی

پروتکل تمرینات ترکیبی									پیشرفت تمرین
تمرین تناوبی شدید				تمرین مقاومتی					
تناوب استراحت (ثانیه)	مدت فعالیت (ثانیه)	شدت فعالیت (%HRmax)	تعداد اینتروال	مدت استراحت (ثانیه)	تعداد تکرار	تعداد ست	شدت (%1RM)	تعداد حرکت	

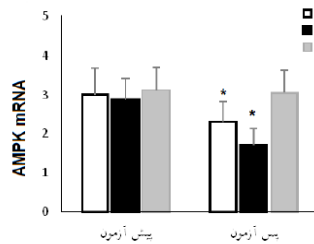
۱۲۰	۶۰	-۶۰-۷۰-۸۰-۹۰ ۵۰	۵	۹۰	۷-۶-۵	۳	۵۰-۶۵-۸۰	۴	۴ هفته اول
۱۲۰	۶۰	-۶۵-۷۵-۸۵-۹۵ ۵۵	۵	۹۰	۷-۶-۵	۳	۵۵-۷۰-۸۵	۴	۴ هفته دوم
۱۲۰	۶۰	-۷۰-۸۰-۹۰-۱۰۰ ۶۰	۵	۹۰	۷-۶-۵	۳	۶۰-۷۵-۹۰	۴	۴ هفته سوم
پروتکل تمرینات مقاومتی به تنهایی									
				۹۰	۷-۶-۵	۳	۵۰-۶۵-۸۰	۶	۴ هفته اول
				۹۰	۷-۶-۵	۳	۵۵-۷۰-۸۵	۶	۴ هفته دوم
				۹۰	۷-۶-۵	۲	۶۰-۷۵-۹۰	۶	۴ هفته سوم



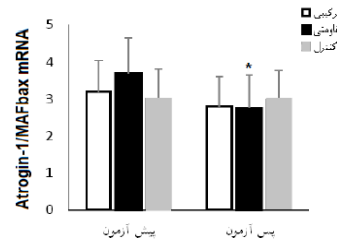
نمودار ۱. مقایسه غلظت گلیکوژن عضلانی در گروه‌های تمرینات ترکیبی، مقاومتی و کنترل.



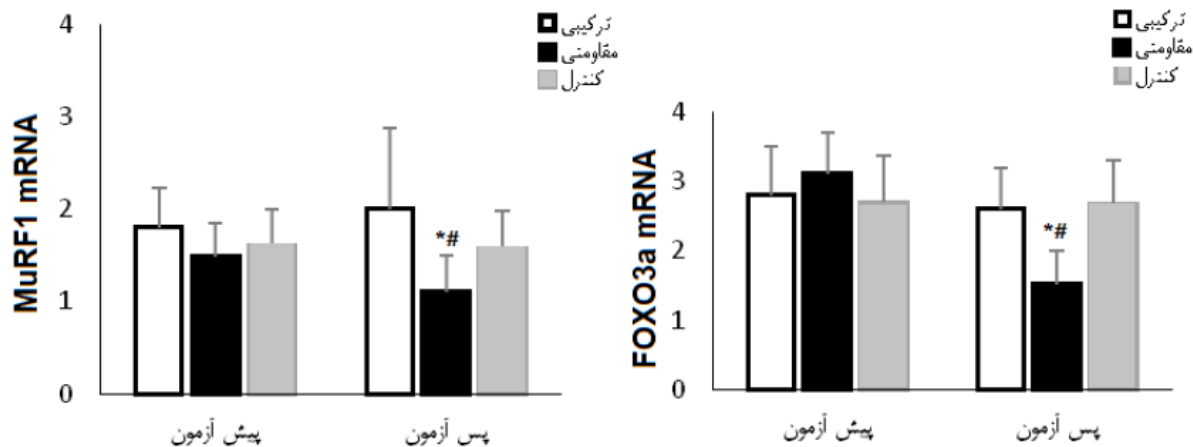
نمودار ۲. مقایسه سطوح ATP عضلانی در گروه‌های تمرینات ترکیبی، مقاومتی و کنترل.



نمودار ۳. مقایسه سطوح AMPK عضلانی. * نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۴. مقایسه بیان ژن Atrogin-1/MAFbx عضلانی. * نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۵. مقایسه بیان ژن MuRF-1 عضلانی * نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل. # نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین ترکیبی.

نمودار ۶. مقایسه بیان ژن FOXO3a عضلانی. * نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل. # نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین ترکیبی.

در پژوهش حاضر سطوح AMPK پس از ۱۲ هفته تمرینات ترکیبی و مقاومتی کاهش نشان داد. سنتز پروتئین ممکن است ۴۸-۷۲ ساعت بعد از فعالیت ورزشی شدید افزایش پیدا کند و این بر فعال سازی کوتاه مدت AMPK که بر تبادل سنتز و تخریب پروتئین عضلانی تأثیر گذار است. در حالی که عدم افزایش مسیر سیگنال دهی mTOR بعد از تمرینات ورزشی شدید غیرمنتظره است ولی مقداری افزایش در فسفوریلاسیون بیان ژن-های آتروفی اتفاق می افتد که این موجب تعادل در فسفوریلاسیون AMPK می شود و افزایش در سنتز پروتئین عضلانی در غیاب یا بلوکه شدن مسیر سیگنال دهی AMPK و فعال سازی مسیر mTOR اتفاق می افتد (۱۹). البته مطالعاتی وجود دارند که نشان می دهند تمرینات تناوبی شدید طولانی مدت را محرک قوی مهار آتروفی با کاهش MAFbx و MuRF-1 هستند که موافق با نتایج پژوهش حاضر است (۲۰).

در پژوهش حاضر سطوح شاخص های آتروفی عضلانی پس از ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی کاهش نشان داد ولی در گروه تمرینات ترکیبی کاهش تغییری مشاهده نشد. به طور خاص، در حالی که تمرینات مقاومتی به تنهایی موجب کاهش بیان ژن MuRF-1 شد ولی به دنبال تمرینات ترکیبی افزایش دیده شد که بیش تنظیمی بیان ژن MuRF-1 در مدلینگ عضلانی نقش مهمی بازی می کند و موجب آتروفی عضلانی می شود (۱۳). در مطالعه حاضر، فعال سازی سیستم یوئیکوئیتین پروتازوم در سرکوب AMPK نقش دارد. بنابراین پیشنهاد می شود که

بحث

پژوهش حاضر با افزایش حجم و هایپرتروفی قدرتمندی بعد از تمرینات ورزشی مقاومتی و به نسبت کمتری تمرینات ترکیبی گزارش شد که در مجموع این یافته ها را به چالش کشانده که شدت تمرینات مقاومتی و ترکیبی و همچنین ریکاوری بعد از فعالیت ورزشی پژوهش حاضر برای بهینه سازی سازگاری سلولی و عملکردی بیان ژن های آتروفی به ۱۲ هفته تمرینات ورزشی مفید واقع شده است. افزایش دور ران آزمودنی ها در هر دو گروه تمرینی مشاهده شد ولی این افزایش معنی دار نبود. پیش فرض ممکن است به دلیل کاهش وزن، درصد چربی بدن و سرکوب سنتز پروتئین توسط فعال سازی مسیر سیگنال دهی AMPK و بیان ژن های آتروفی باشد که در حین فعالیت ورزشی شدید اتفاق می افتد. اولاً، افزایش فعالیت AMPK به طور معمول پس از فعالیت ورزشی مشهود است و کمی بعد از آن به سطوح پایه برمی گردد ولی در طول دوره تمرینی ممکن است به دلیل پاسخ فعال سازی AMPK کمتر شود. دوماً، حتی ترتیب اجرای تمرینات ترکیبی مهم است. در پژوهش حاضر تمرینات مقاومتی و بعد از آن تمرینات تناوبی اجرا شد و در این صورت طبق اطلاعات قبلی اثرات بازدارندگی روی سطوح IGF-1 روی نمی دهد و سیگنال دهی mTOR تحت تأثیر قرار نمی گیرد (۱۸).

نکرده باشد. همچنین ممکن است که AMPK نقش بزرگی در جذب گلوکز عضله اسکلتی در طی تمرینات ورزشی با شدت بالا داشته باشد (۲۶، ۲۷). در پژوهش حاضر کاهش ۴۰ و ۲۵ درصدی فعالیت AMPK در طی ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی و ترکیبی (مقاومتی-تناوبی) به ترتیب گزارش کردیم. برخی مطالعات تأکید دارند که محتوای گلیکوژن عضلانی بر میزان فعال‌سازی AMPK در طی فرایند انقباض عضلانی تأثیرگذار است و هر چه میزان سطوح گلیکوژن عضلانی بالاتر باشد میزان فعال‌سازی AMPK کاهش پیدا می‌کند (۱۹).

از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم همسان‌سازی حجم تمرین بین دو گروه تمرینی بود. توصیه می‌شود در مطالعات آتی، دو نوع تمرین از لحاظ بار حجمی همسان شده و مورد مقایسه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر اثر فعال‌سازی AMPK ناشی از تمرینات ورزشی شدید مقاومتی و ترکیبی را بر بیان ژن‌های آتروفی عضلانی زنان میانسال بررسی کرد. یافته‌های ما نشان داد هر دو گروه تمرین ترکیبی و مقاومتی کاهش در بیان ژن AMPK را نشان دادند و با اینکه مقدار کاهش در گروه مقاومتی بیشتر بود ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. کاهش در نشانگرهای آتروفی عضلانی تنها بعد از تمرینات مقاومتی مشاهده شده است اما تمرینات ترکیبی تأثیری نداشته است. بنظر می‌رسد که تمرینات مقاومتی به تنهایی کارایی بهتری در کاهش سیگنال دهی AMPK و آتروفی عضلانی دارد و ترکیب تمرین تناوبی شدید با مقاومتی باعث اختلال در روند هایپرتروفی و کاهش نشانگرهای آتروفی عضلانی در زنان میانسال شده است.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری مصوب در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه ارومیه استخراج شده است. از تمامی آزمون‌های شرکت کننده و کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ‌گونه نفع متقابل از انتشار مقاله ندارند.

2. Hawley JA. Molecular responses to strength and endurance training: are they incompatible? *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34(3):355-61.

تخریب پروتئین با واسطه سیستم یوبیکوتین-پروتازوم را بر بیان ژن MuRF-1 و Atrogin-1/MAFbx عضلات اسکلتی و تعدیل پروتئین در پاسخ به تمرینات ورزشی تنظیم می‌کند. همچنین AMPK بواسطه فعال‌سازی FOXO و تلفیق با انتقال هسته‌ای به فعال شدن یوبیکوتین-پروتازوم و اتوفاژی کمک می‌کند. این نتایج تا حدودی با تغییر در بیان سایر ژن‌های آتروفی (FOXO, Atrogin-1/MAFbx) همراه است و پاسخ mRNA آن‌ها در عضله پهن جانبی آزمودنی‌ها بعد از ۱۲ هفته تمرین ورزشی شدید کاهش یافته است (۲۲-۲۴).

آبشار سیگنال دهی AMPK بر متابولیسم سوبسترای عضلات اسکلتی در طی فعالیت ورزشی بویژه سازگاری به تمرینات ورزشی بلندمدت اثرگذار است. مطالعات مقطعی نشان داده‌اند که فعال‌سازی AMPK و سایر میانجی‌های سیگنال دهی در پاسخ به تمرینات ورزشی با شدت مشابه در افراد تمرین نکرده نسبت به افراد تمرین کرده کاهش بیشتری دارد و نشان دهنده این است که افراد تمرین کرده برای فعال‌سازی انتقال سیگنال دهی در مسیر AMPK به محرک با شدت بالاتری نیاز دارند (۲۵). در واقع به خوبی پذیرفته شده که سازگاری سلولی ناشی از تمرینات ورزشی (از جمله افزایش سطح GLUT-4) به افزایش تدریجی در حجم و شدت تمرین وابسته هستند. در این پژوهش سازگاری فعال‌سازی بیان ژن‌های آتروفی به تمرینات ورزشی مقاومتی و ترکیبی (مقاومتی-تناوبی) در زنان میانسال تمرین نکرده گزارش کردیم (۱۸).

همچنین در پژوهش حاضر پس از ۱۲ هفته تمرینات ترکیبی و مقاومتی تغییر معنی‌داری در سطوح ATP و گلیکوژن عضلانی دیده نشد. نتایج مطالعه حاضر بحث روشنی بین فعالیت AMPK عضلات اسکلتی و سطوح گلیکوژن و ATP عضلانی در طی تمرینات ورزشی شدید در زنان میانسال مطرح می‌کند. سطوح گلیکوژن عضلانی و ATP در طی ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی و تناوبی افزایش داشت در حالی که سطوح AMPK عضلانی در این مدت کاهش داشت. مطالعات نشان داده‌اند که اجزای متعدد مسیر AMPK به مصرف گلوکز تحریک شده با انقباض عضلانی ارتباط دارند. ممکن است نوع تار عضلانی، AMPK عضلانی و پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین (CaMK) در تنظیم گلوکز مصرفی به تمرینات شدید به میزان یکسانی درگیر باشند اما در تمرینات با شدت پایین AMPK عضلانی درگیر نیست (۱۰، ۱۹). ممکن است AMPK نقش جزئی در تنظیم جذب گلوکز به دنبال فعالیت ورزشی داشته باشد و کاهش در سطوح گلوکز در طی تمرینات ورزشی با عدم فعال‌سازی AMPK می‌تواند نشان دهنده نقش AMPK در جذب گلوکز ناشی از انقباض در عضلات تمرین

Reference

1. Rom O, Reznick AZ. The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass. *Free Radic Biol Med*. 2016;98:218-30.

11. Konopka AR, Harber MP. Skeletal muscle hypertrophy after aerobic exercise training. *Exerc Sport Sci Rev.* 2014;42(2):53-61.
12. Egawa T, Ohno Y, Goto A, Ikuta A, Suzuki M, Ohira T, et al. AICAR-induced activation of AMPK negatively regulates myotube hypertrophy through the HSP72-mediated pathway in C2C12 skeletal muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;306(3):E344-54.
13. Lundberg TR, Fernandez-Gonzalo R, Tesch PA. Exercise-induced AMPK activation does not interfere with muscle hypertrophy in response to resistance training in men. *J Appl Physiol (1985).* 2014;116(6):611-20.
14. Rohling M, Herder C, Stemper T, Mussig K. Influence of Acute and Chronic Exercise on Glucose Uptake. *J Diabetes Res.* 2016;2016:2868652.
15. Thomson DM, Fick CA, Gordon SE. AMPK activation attenuates S6K1, 4E-BP1, and eEF2 signaling responses to high-frequency electrically stimulated skeletal muscle contractions. *J Appl Physiol (1985).* 2008;104(3):625-32.
16. Chrysohoou C, Angelis A, Tsitsinakis G, Spetsioti S, Nasis I, Tsiachris D, et al. Cardiovascular effects of high-intensity interval aerobic training combined with strength exercise in patients with chronic heart failure. A randomized phase III clinical trial. *Int J Cardiol.* 2015;179:269-74.
17. Ozcatal Y, Akat F, Tatar Y, Ficicilar H, Serdaroglu B, Topal Celikkan F, et al. Effects of high-intensity interval training (HIIT) on skeletal muscle atrophy, function, and myokine profile in diabetic myopathy. *Cytokine.* 2023;169:156279.
18. Egawa T, Goto A, Ohno Y, Yokoyama S, Ikuta A, Suzuki M, et al. Involvement of AMPK in regulating slow-twitch muscle atrophy during hindlimb unloading in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015;309(7):E651-62.
3. Negaresh R RR, Habibi A, Gharibvand MM. Effects of eight weeks resistance training on muscle hypertrophy and physiological parameters among elderly men. *Journal of Geriatric Nursing.* 2016;3(1):62-75. [in Persian]
4. Verdijk LB, Gleeson BG, Jonkers RA, Meijer K, Savelberg HH, Dendale P, et al. Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2009;64(3):332-9.
5. Gomes MJ, Martinez PF, Pagan LU, Damatto RL, Cezar MDM, Lima ARR, et al. Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise. *Oncotarget.* 2017;8(12):20428-40.
6. Brozek J, Grande F, Anderson JT, Keys Aa. Densitometric Analysis of Body Composition: Revision of Some Quantitative Assumptions. *Ann N Y Acad Sci.* 1963;110:113-40.
7. Petrella JK, Kim JS, Mayhew DL, Cross JM, Bamman MM. Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. *J Appl Physiol (1985).* 2008;104(6):1736-42.
8. Mohammadi HR, Khoshnam MS, Khoshnam E. Effects of Different Modes of Exercise Training on Body Composition and Risk Factors for Cardiovascular Disease in Middle-aged Men. *Int J Prev Med.* 2018;9:9.
9. Trappe T, Williams R, Carrithers J, Raue U, Esmarck B, Kjaer M, et al. Influence of age and resistance exercise on human skeletal muscle proteolysis: a microdialysis approach. *J Physiol.* 2004;554(Pt 3):803-13.
10. Mascher H, Andersson H, Nilsson PA, Ekblom B, Blomstrand E. Changes in signalling pathways regulating protein synthesis in human muscle in the recovery period after endurance exercise. *Acta Physiol (Oxf).* 2007;191(1):67-75.

19. Panahi S A-AH, Gharakhanloo R, Fayazmilani R, Hedayati M, Safarzadeh A, et al. The Effect of 4 Weeks Resistance Training on Murf1 Gene Expression and Muscle Atrophy in Diabetic Wistar Rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*. 2016;38(2):6-13. [in Persian]

20. Seidi AN, Aghaei, N. Asgharpour, H Ahmadi, M. The Effect of Long-Term High-Intensity Interval Training on the Intracellular Content of MAFbx and Murf1 Proteins in the Left Ventricular of the Heart of Rats with Type 2 Diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2022; 22(3): 176-184.

21. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;307(6):E469-84.

22. Foletta VC, White LJ, Larsen AE, Leger B, Russell AP. The role and regulation of MAFbx/atrogen-1 and MuRF1 in skeletal muscle atrophy. *Pflugers Arch*. 2011;461(3):325-35.

23. Sheibani Sh DF, Tanideh N, Rahimi M JI, Refahiat M.A. Effect of high intensity interval training and detraining on gene expression of AKT/FoxO3a in cardiac and soleus muscle of male rats Ebnesina - IRIAF Health Administration. 2020;22(2):15-24.[in Persian]

24. Sheibani Sh DF, Salesi M, Koushkie Jahromi M, Tanideh N. The effect of high-intensity training and detraining on FOXO3a/MuRF1 and MAFbx levels in soleus muscle of male rats. *Ebnesina - IRIAF Health Administration*. 2018;20(1):31-40. [in Persian]

25. Lundberg TR, Fernandez-Gonzalo R, Gustafsson T, Tesch PA. Aerobic exercise does not compromise muscle hypertrophy response to short-term resistance training. *J Appl Physiol* (1985). 2013;114(1):81-9.

26. Egawa T. Participation of AMPK in the Control of Skeletal Muscle Mass. 2017:251-75.

27. Glass DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(10):1974-84.

