

Original Article

Effect of 8 weeks HIIT exercise on myostatin, follistatin an follistatin gene expression ratios on myostatin in male rats with type 2 diabetes

Sepideh Azhir¹, Eidy Alijani^{2*}, Mahsa Mohsenzadeh²

¹Student of Physical Education, Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Karaj Islamic Azad University, Karaj, Iran

²Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Karaj Islamic Azad University, Karaj, Iran

*Corresponding author; E-mail: eidyaliyani@yahoo.com

Received: 17 June 2018 Accepted: 29 August 2018 First Published online: 19 May 2020

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 June- July; 42(2):117-125

Abstract

Background: Muscular atrophy is one of the indicators of diabetes. Regarding the role of HIIT in reducing hyperglycemia in diabetic patients, the aim of the present study was to investigate the effect of 8 weeks of HIIT training on the expression of myostatin, follistatin, as well as to examine follistatin-to-myostatin ratio in male rats with type 2 diabetes.

Methods: 60 male Wistar rats, with average weight of 250 ± 20 g, after induction of diabetes by injection of Nicotinic Amide- Streptozotocin, were randomly divided into 5 groups: Base-line control (n=12), HIIT Control (n=12), HIIT (n=12), Diabetic Control (n=12), HIIT Diabetic (n=12). The training groups performed the HIIT on a treadmill, which speeded from 16 meters per minute to the end of the eighth week to 38 meters per minute. 24 hours after the last training session, the rats were anesthetized. Then, soleus muscle tissue was immediately extracted, and the level of myostatin and follistatin gene expression was measured by Real Time-PCR and scale ($2^{-\Delta\Delta C_t} \times 10^3$).

Results: There was no significant difference in the expression of myostatin gene expression in the research groups ($P > 0.05$). However, the expression of the follistatin gene and the ratio of follistatin to myostatin were significant in research groups ($P < 0.05$).

Conclusion: Diabetic patients seem to have improved their health and muscle levels by employing HIIT training for at least 8 weeks in order to reduce myostatin levels, increase follistatin and also the ratio of follistatin to myostatin.

Keyword: HIIT, Gene expression, Myostatin, Follistatin, Type 2 Diabetes, Male rats

How to cite this article: Azhir S, Alijani E, Mohsenzadeh M. [Effect of 8 weeks HIIT Exercise on Myostatin, Follistatin an Follistatin gene expression ratios on myostatin in male rats with type 2 diabetes]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 June- July; 42(2):117-125. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر هشت هفته تمرینات HIIT بر بیان ژن مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین بر مایوستاتین در رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲

سپیده آذیر^۱، عیدی علیجانی^{۲*}، مهسا محسن زاده^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
* نویسنده مسوول: ایمیل: eidyaliyani@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۷ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۷ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۲/۳۰
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. خرداد و تیر ۱۳۹۹؛ ۴۲(۲): ۱۱۷-۱۲۵

چکیده

زمینه: آتروفی عضلانی یکی از شاخص‌های دیابت است، با توجه به نقش تمرینات HIIT در کاهش هایپرگلیسمی در بیماران دیابتی، هدف از پژوهش حاضر تأثیر ۸ هفته تمرینات HIIT بر بیان ژن مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین بر مایوستاتین در رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.

روش کار: مطالعه حاضر از نوع تجربی بود، که ۶۰ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین وزن 250 ± 20 گرم، پس از القا دیابت به وسیله تزریق نیکوتین آمید-استریتوزوسین، به شکل تصادفی به ۵ گروه: گروه‌های کنترل پایه (۱۲ سر)، کنترل HIIT (۱۲ سر)، HIIT (۱۲ سر)، کنترل دیابت (۱۲ سر) و دیابتی HIIT (۱۲ سر) تقسیم شدند. گروه‌های تمرین، HIIT را بر روی تردمیل اجرا می‌کردند، که سرعت از ۱۶ متر بر دقیقه در پایان هفته هشتم به ۳۸ متر بر دقیقه رسید. در زمان ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه آموزشی، موشها بیهوش گردیدند. سپس بافت عضله سولئوس بلافاصله استخراج گردید و میزان بروز ژن مایوستاتین و فولیستاتین از طریق Real Time-PCR و مقیاس $(2^{-\Delta\Delta Ct} \times 10^3)$ اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه عدم معنی‌داری بیان ژن مایوستاتین بین گروه‌های پژوهش را نشان داد ($P > 0.05$)، اما، بیان ژن فولیستاتین و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین بین گروه‌های پژوهش معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد، بیماران دیابتی با به کارگیری تمرین HIIT در مدت زمان حداقل ۸ هفته می‌توانند به موجب کاهش میزان مایوستاتین، افزایش فولیستاتین و همچنین نسبت فولیستاتین به مایوستاتین، سطح سلامتی و عضلانی خود را ارتقا دهند.

کلید واژه‌ها: HIIT، بیان ژن، مایوستاتین، فولیستاتین، دیابت نوع ۲، رت‌های نر

نحوه استناد به این مقاله: آذیر س، علیجانی ع، محسن زاده م. اثر هشت هفته تمرینات HIIT بر بیان ژن مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین بر مایوستاتین در رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۲): ۱۱۷-۱۲۵

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

باشد. یک مطالعه مروری نشان می‌دهد که HIIT اثرات سودمندی در ارتباط با سلامتی، از قبیل سلامت قلبی-عروقی، کاهش چربی و بهبود شاخص گلیسمی در بیماران دیابت نوع ۲ ایجاد می‌کند (۱۰). علاوه بر اثرات سودمند تمرینات HIIT، می‌توان به اثرات آن بر مایوستاتین نیز اشاره کرد؛ در همین راستا، Bradley و همکاران (۱۱)، پس از ۶ هفته تمرین HIIT در مردان و زنان، کاهش معنی‌داری در مایوستاتین افراد نشان دادند. از این رو، بررسی تمرینات تناوبی با شدت بالا در افراد دیابتی از اهمیت خاصی برخوردار است. از طرفی، بررسی دو عامل مایوستاتین، فولیستاتین (عوامل تنظیم منفی و مثبت رشد عضلانی، به ترتیب) و همچنین نسبت این دو که نشانه کارایی است، می‌تواند اهمیت پژوهش را پررنگ‌تر کند. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی یک دوره تمرینات HIIT بر بیان ژن مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین بر مایوستاتین در رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع پژوهش‌های توسعه‌ای می‌باشد که به صورت تجربی با طرح پیش‌آزمون-پس‌آزمون انجام شد. تعداد ۶۰ سر رت نر نژاد ویستار ۸ هفته با محدوده وزنی 250 ± 20 از انستیتو تحقیقاتی دانشگاه بقیه‌الله از میان تعداد زیادی از رت‌های نر به صورت تصادفی انتخاب و سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزش منتقل شدند. محیط آزمایشگاه با درجه حرارت $20-23$ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت تنظیم شده و در رطوبت نسبی ۵۰ درصد، هر سه سر رت در یک قفس پرورشی نگهداری شدند و همگی به شکل آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. الفای دیابت نوع ۲ توسط تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید-استریتوزوسین محلول در بافر سیترات با $PH=4/5$ انجام گرفت. به طوری که ابتدا نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن و پس از ۱۵ دقیقه استریتوزوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد. ۹۶ ساعت پس از تزریق، جهت اطمینان از ایجاد دیابت در رت‌ها، خونگیری انجام شد، به گونه‌ای که، پس از ۱۲ ساعت ناشتا به طوری که فقط آب در دسترس رت‌ها بود، قطره‌ای خون از ورید دم رت‌ها با ایجاد برشی کوچک اخذ و با قرار دادن قطره خون روی نوار گلوکومتر صفر-یک (ساخت تایوان)، میزان قند خون اندازه‌گیری شد و سطوح گلوکز خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۲). رت‌های دیابتی هیچ گونه درمان با انسولین در طول دوره پژوهش نداشتند. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه دو هفته زمان جهت آماده‌سازی و سازگاری آن‌ها به تمرین تنظیم شد. در طول این ۲

بیماری دیابت شایع‌ترین بیماری ناشی از اختلالات متابولیسمی و به تعبیری شایع‌ترین بیماری آندوکراین است (۱). دیابت نوع ۲ نیز، سندرم ناهمگونی است که با مقاومت انسولینی یا اختلال در ترشح انسولین مشخص می‌شود. معمولاً بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ چاق بوده و عضلات آتروفی شده دارند. آتروفی شدید عضلانی در این بیماران، منجر به افزایش پروتئولیز و کاهش توانایی ترمیم آسیب عضلانی به واسطه کاهش توانایی سنتز پروتئین و در نهایت باعث کاهش توده عضلانی می‌شود (۲). پژوهشگران یکی از عوامل افزایش یافته در بیماران دیابتی را، مایوستاتین گزارش کرده‌اند. مایوستاتین به عنوان یک فاکتور مهارکننده شناسایی شده، که عضوی از خانواده بزرگ فاکتور رشد تغییر شکل‌دهنده بتا ($TGF-\beta$) است، و بیان آن رشد عضله اسکلتی را تنظیم منفی می‌کند (۳). بیان مایوستاتین حین دوره‌های بی‌حرکی عضله اسکلتی افزایش می‌یابد و برعکس، مهار مایوستاتین باعث افزایش قدرت و توده عضلانی، کاهش بافت چربی و همچنین افزایش توده استخوانی می‌شود، که بیماران دیابتی با آنها دست و پنجه نرم می‌کنند (۴). اعمال مایوستاتین می‌تواند تحت تأثیر فاکتورهای تعاملی دیگری، نظیر فولیستاتین، عامل رشد شبه انسولینی-۱، پروتئین وابسته به فاکتور رشد و تمایز و گیرنده مایوستاتین (اکتیون IIIb) نیز قرار گیرد که در این بین فولیستاتین مهم‌ترین عامل مهارکننده است. فولیستاتین علاوه بر تأثیر بر مایوستاتین می‌تواند بر سایر اعضای خانواده $TGF-\beta$ اثرگذار باشد. فولیستاتین و مایوستاتین به شدت تحت تأثیر سبک زندگی و سطح فعالیت بدنی افراد قرار می‌گیرند (۵). امروزه یکی از مهم‌ترین روش‌های درمان و پیشگیری از بروز دیابت نوع ۲، ورزش است، به نوعی که انجمن دیابت آمریکا برای افراد مبتلا به دیابت نوع ۲، حداقل ۱۵۰ دقیقه تمرین هوازی با شدت پایین، یا حداقل ۹۰ دقیقه تمرین هوازی با شدت بالا به همراه دو جلسه تمرین مقاومتی در هفته را پیشنهاد کرده‌اند (۶). علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که ورزش و فعالیت بدنی موجب کاهش مایوستاتین و افزایش فولیستاتین می‌شود. در تأیید این موضوع، می‌توان به پژوهش Biglari و همکاران (۷)، اشاره کرد. آن‌ها پس از هشت هفته تمرین هوازی، کاهش ۶۸ درصدی مایوستاتین عضلانی در رت‌ها نر را مشاهده کردند. همچنین Hansen و همکاران (۸)، نشان دادند که میزان فولیستاتین پلازما پس از تمرین استقامتی حاد در انسان افزایش می‌یابد. البته کمبود زمان و کاهش قند خون که در تمرین‌های استقامتی تداومی دیده می‌شود، از موانع مهم شرکت افراد دیابتی در فعالیت ورزشی است (۹). لذا باید برای این مشکل، چاره‌ای اندیشید. در مقابل تمرین تداومی، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT, High-intensity interval training) قرار دارد، که می‌تواند جایگزین خوبی برای افراد دیابتی

بین ۱/۸ تا ۲ در نظر گرفته شد. در مرحله بعد از RNA استخراجی محصول cDNA ساخته شد (۱۵). ۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج شده با ۱ میکرولیتر رندوم هگزامر به هر نمونه اضافه و ۱ میکرولیتر dNTPs به هر میکروتیوپ اضافه شد. به هر میکروتیوپ به مقدار ۲ میکرولیتر آب Nuclease free اضافه تا حجم نهایی به ۱۴ میکرولیتر رسانده شد. میکروتیوپ حاوی محلول بالا به مدت ۵ دقیقه در دمای 65°C قرار داده شد تا ساختارهای ثانویه از بین برود. به ازای هر نمونه، ۲ میکرولیتر از بافر $10\times$ ، ۲ میکرولیتر از (MDTT⁺، ۱)، ۱ میکرولیتر آنزیم نسخه بردار معکوس و ۱ میکرولیتر از (RNase inhibitor)، اضافه و بلافاصله میکروتیوپها را به مدت ۱ دقیقه روی یخ قرار داده شد. به هر میکروتیوپ به میزان ۶ میکرولیتر از مخلوط تهیه شده اضافه و با انجام یک میکروسانترفیوژ کوتاه آنها با یکدیگر مخلوط شدند. نمونهها داخل دستگاه ترموسایکلر قرار داده و زمان بندی شامل: ۲۵ درجه سانتی گراد در ۵ دقیقه، ۵۵ درجه سانتی گراد ۶۰ دقیقه و ۸۵ درجه سانتی گراد در ۵ دقیقه اجرا شد. پس از اتمام کار نمونهها به دمای 20°C - منتقل شدند. پروتکل cDNA سازی مربوط به شرکت Gene All کره می باشد (۱۶). فرایند Real Time به صورت دو مرحله ای انجام شد. مرحله سنتز cDNA با استفاده از کیت HyperScript شرکت GeneAll کره بر طبق پروتکل ذکر شده انجام شد. مرحله تکثیر نیز با استفاده از مستر آماده سایبرگرین متعلق به شرکت AMPLIQON با نام تجاری RealQ Plus 2x Master Mix Green انجام شده است. این مستر به صورت Hot Start بوده و برای انجام مرحله تکثیر، تنها به مستر پرایمر، آب و DNA الگو (cDNA) اضافه شد. پروتکل دمایی نیز شامل یک چرخه ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد (فعال سازی آنزیم TEMPase hot start) و به دنبال آن ۲۵-۳۵ چرخه ۱۵-۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد (واسرشت اولیه) و ۶۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد (ثبت انعکاس نور فلوروسنت در طول مراحل اتصال پرایمر و گسترش) و انتخاب دمای مناسب بر اساس دمای اتصال پرایمرها انجام شد. برای کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف مورد نظر، از فرمول $2^{-\Delta\text{CT}}$ استفاده شد. برای تحلیل داده های بیان ژن مایوستاتین و فولیستاتین از پروتکل استاندارد (3) استفاده شد. داده های بیان ژن بر اساس ژن خانه دار (کنترل داخلی) نرمالایز داخلی شدند و سپس با استفاده از آزمون های پارامتریک داده های بیان ژن پرت (دور افتاده) تعدیل و نرمال سازی صورت گرفت شد (۱۷). جهت نشان دادن شاخص های گرایش مرکزی و شاخص های پراکندگی از آمار توصیفی استفاده شد. بررسی فرض نرمالیتی داده های بیان ژن ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک، انجام شد. همچنین به منظور بررسی میزان اثر تمرین HIIT بر بیان ژن مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین بر مایوستاتین از تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA)

هفته حیوانات ۲ روز در هفته با سرعت ۱۵ و ۲۵ متر بر دقیقه با دویدن روی تردمیل آشنا شدند. پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، روند دیابتی شدن صورت گرفت. ۹۶ ساعت پس از القاء دیابت رت ها به طور تصادفی به ۵ گروه و در هر گروه ۱۲ سر: گروه کنترل پایه، کنترل HIIT (سالم بدون تمرین)، HIIT (تمرین)، کنترل دیابت (دیابتی بدون تمرین) و دیابتی HIIT (دیابتی تمرین) تقسیم شدند. همچنین ۵ سر از رت ها به عنوان گروه آزمایشی برای اندازه گیری حداکثر سرعت دویدن روی نوارگردان (که معادل با حداکثر اکسیژن مصرفی $\text{VO}_{2\text{max}}$ حیوان در نظر گرفته شد)، انتخاب شدند. برای برآورد حداکثر سرعت دویدن آزمون عملکرد ورزشی مدرج با شیب صفر درجه اجرا شد، که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و به ازای هر ۱ دقیقه ۱ متر بر سرعت تردمیل افزوده می شد تا زمانی که رت ها دیگر قادر به دویدن نباشند (واماندگی) که این سرعت معادل با سرعت رسیدن به $\text{VO}_{2\text{max}}$ در نظر گرفته شده و شدت تمرین بر اساس آن کنترل می شد. پس از برآورد حداکثر سرعت، گروه HIIT و دیابتی HIIT ۵ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته به فعالیت بروی نوارگردان پرداختند. پروتکل HIIT شامل ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۸ متر بر دقیقه، سپس تمرین هفته اول با ۶ تناوب ۲ دقیقه ای با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و دوره های استراحتی فعال ۱ دقیقه ای ۱۰ متر بر دقیقه، که در هفته هشتم (آخر) به ۱۲ تناوب با سرعت ۳۸ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۱۴ متر بر دقیقه رسید (۱۳). ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی رت ها به وسیله ترکیبی از داروی کتامین (۹۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم)، به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، عضله نعلی از اندام تحتانی رت ها بلافاصله استخراج و در سرم فیزیولوژیایی شست و شو داده شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان آزمایش بافت استخراج شده در فریزر -80°C درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در مرحله آماده سازی نمونه های بافتی، ابتدا نمونه ها از حالت فریزر خارج شدند و مدتی در دمای اتاق قرار گرفتند، سپس نمونه ها وزن شده و مقدار ۵۰-۱۰۰ میلی گرم از هر نمونه در میکروتیوپ قرار داده شدند (۱۴). استخراج RNA با استفاده از ۵۰ میلی گرم عضله نعلی انجام گرفت. بافت مورد نظر با استفاده از یک میلی لیتر محلول تریزول لیز شده و با دستگاه همگن کننده بافت، هموژن شد. سپس جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲ میلی لیتر کلروفرم صورت گرفت. فرایند ترسیب RNA با استفاده از ۱ حجم ایزوپروپانول سرد انجام پذیرفت؛ به دنبال آن فرایند شستشو با افزودن ۱ میلی-لیتر اتانل ۷۵ درصد انجام گردید و در نهایت رسوب حاصل در دمای اتاق خشک شد و به آن ۵۰ میکرولیتر آب استریل عاری از Rnase اضافه گردید. برای سنجش کمی RNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ استفاده شد. بهترین میزان جذب در $\text{OD } 260/280$

بین فولیستاتین گروه‌ها پس از اجرای پروتکل تحقیق اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P=0/001$). آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد، اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل پایه و گروه‌های کنترل HIIT ($P=0/008$)، HIIT ($P=0/001$) و دیابتی HIIT ($P=0/002$)، وجود دارد، ولی اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل پایه و گروه کنترل دیابت ($P=0/195$) مشاهده نشد. در ادامه نتایج نیز، نسبت فولیستاتین به مایوستاتین پس از اجرای پروتکل پژوهش اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان داد ($P=0/001$). همچنین، آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل پایه و گروه HIIT ($P=0/003$)، وجود دارد، اما اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل پایه و گروه‌های کنترل HIIT ($P=1/000$)، کنترل دیابت ($P=1/000$) و دیابتی HIIT ($P=0/520$)، مشاهده نشد.

استفاده گردید و از آزمون تعقیبی بونفرونی برای مقایسه گروه کنترل پایه و دیگر گروه‌ها استفاده شد. همچنین، برای مقایسه بین گروه دیابتی HIIT با دیگر گروه‌ها به تفکیک از آزمون T مستقل در حالت پارامتریک و از آزمون من ویتنی در حالت ناپارامتریک استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ در سطح معنی‌داری آلفای ۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته‌ها

میانگین، درصد تغییرات نسبت به گروه کنترل پایه و همچنین مقدار معنی‌داری آزمون واریانس یک‌طرفه در جدول ۱ ارائه شده است. داده‌ها نشان داد که بین مایوستاتین گروه‌ها پس از اجرای پروتکل تحقیق اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P=0/056$). اما،

جدول ۱: آمار توصیفی، درصد تغییرات، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی گروه‌های پژوهش

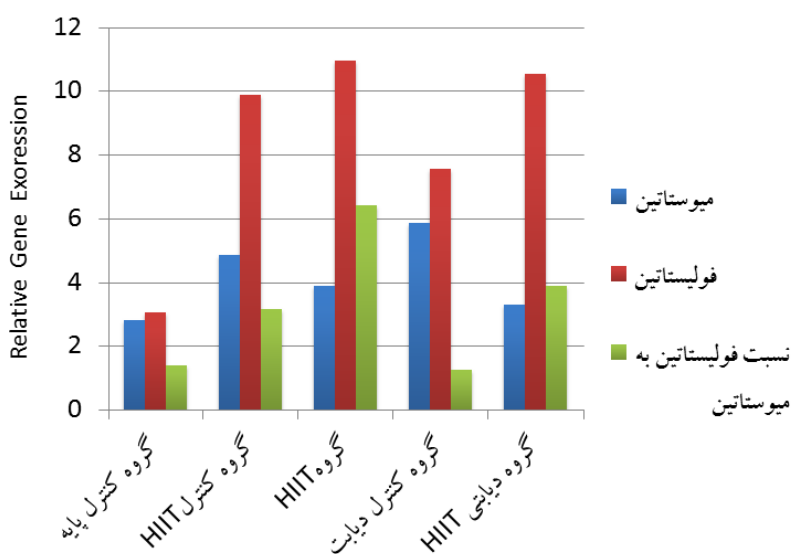
متغیر	گروه‌ها	میانگین و انحراف‌استاندارد	درصد تغییرات نسبت به گروه کنترل پایه	اختلاف بین گروهی آماره F معنی‌داری
مایوستاتین	کنترل پایه	۲/۸۲ ± ۲/۸۳	۰/۰ ± ۰/۰	۱/۵۳۳ ۰/۲۰۶
	کنترل HIIT	۴/۸۵ ± ۳/۵۴	۸۴/۳ ± ۱۰۳/۱	
	HIIT	۳/۸۷ ± ۳/۲۵	۲۶/۲ ± ۵۵/۳	
	کنترل دیابت	۵/۸۴ ± ۳/۱۸	۱۸۷/۰ ± ۱۲۶/۳	
فولیستاتین	دیابتی HIIT	۳/۳۱ ± ۲/۲۱	۳۱/۹ ± ۴۳/۵	۵/۸۶۷ * ۰/۰۰۱
	کنترل پایه	۳/۰۵ ± ۲/۵۲	۰/۰ ± ۰/۰	
	کنترل HIIT	۹/۸۷ ± ۵/۷۹	# ۲۸۲/۱ ± ۱۴۵/۵	
	HIIT	۱۰/۹۳ ± ۵/۸۰	# ۳۸۹/۴ ± ۲۱۴/۸	
نسبت فولیستاتین به مایوستاتین	کنترل دیابت	۷/۵۶ ± ۳/۵۳	۲۱۳/۶ ± ۱۵۴/۶	۵/۴۲۴ * ۰/۰۰۱
	دیابتی HIIT	۱۰/۵۲ ± ۳/۹۴	# ۴۲۵/۰ ± ۳۱۷/۲	
	کنترل پایه	۱/۳۹ ± ۱/۲۷	۰/۰ ± ۰/۰	
	کنترل HIIT	۳/۱۷ ± ۲/۴۷	۱۴۰/۶ ± ۵۳/۵	
کنترل HIIT	HIIT	۶/۴۰ ± ۵/۹۷	# ۳۲۷/۳ ± ۱۷۵/۷	۳۸۰/۰ ± ۳۴۶/۹
	کنترل دیابت	۱/۲۴ ± ۰/۴۰	-۳۴/۵ ± ۸۰/۸	
	کنترل HIIT	۳/۸۹ ± ۱/۵۱		
	دیابتی HIIT			

*اختلاف بین گروهی، # اختلاف با گروه کنترل پایه در آزمون تعقیبی بونفرونی

جدول ۲: آزمون تی مستقل گروه دیابتی HIIT با دیگر گروه‌ها

متغیر	دیابتی HIIT (میانگین و انحراف‌استاندارد)	کنترل HIIT (میانگین و انحراف‌استاندارد)	HIIT (میانگین و انحراف‌استاندارد)	کنترل دیابت (میانگین و انحراف‌استاندارد)	T مستقل مقدار T معنی‌داری
مایوستاتین	۳/۳۱ ± ۲/۲۱	۴/۸۵ ± ۳/۵۴			۱/۲۵۶ ۰/۲۲۳
	۳/۳۱ ± ۲/۲۱	۳/۸۷ ± ۳/۲۵			۰/۴۰۱ ۰/۶۹۳
فولیستاتین	۳/۳۱ ± ۲/۲۱	۹/۸۷ ± ۵/۷۹	۵/۸۴ ± ۳/۱۸		۲/۲۲۶ * ۰/۰۰۳۷
	۱۰/۵۲ ± ۳/۹۴	۱۰/۹۳ ± ۵/۸۰			-۰/۳۱۸ ۰/۷۵۴
نسبت فولیستاتین به مایوستاتین	۱۰/۵۲ ± ۳/۹۴	۳/۱۷ ± ۲/۴۷	۷/۵۶ ± ۳/۵۳		۰/۲۰۰ ۰/۸۴۴
	۳/۸۹ ± ۱/۵۱	۶/۴۰ ± ۵/۹۷			-۱/۹۳۷ ۰/۰۶۶
کنترل HIIT	۳/۸۹ ± ۱/۵۱				-۰/۸۴۷ ۰/۴۰۶
	۳/۸۹ ± ۱/۵۱				۱/۴۰۶ ۰/۱۷۴
	۳/۸۹ ± ۱/۵۱				-۵/۶۳۴ * ۰/۰۰۰

*اختلاف معنی‌دار آزمون T مستقل و من ویتنی



نمودار ۱. مقدار بیان ژن مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین در گروه‌های پژوهش

متغیرهای مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین و همچنین افزایش ۱۸۷٪، ۲۱۳٪ و ۳۴٪ گروه کنترل دیابت به ترتیب در متغیرهای مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین، گواه این موضوع است که اثر رشد در گروه کنترل HIIT موجب این تغییرات چند برابری شده است. البته این موضوع از آنجا که بیشترین تغییرات درونی و بیرونی در سنین اولیه رخ می‌دهد، معقول به نظر می‌رسد (۱۹). نتایج نشان می‌دهد که گروه‌های تمرین نسبت به گروه‌های بدون تمرین (کنترل)، کارایی بهتری داشتند به نوعی که گروه HIIT در متغیرهای مایوستاتین ۲۶٪، فولیستاتین ۳۸۹٪ و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین ۳۲۷٪ تغییرات داشتند. همچنین گروه دیابتی HIIT در متغیرهای مایوستاتین ۳۱٪، فولیستاتین ۴۲۵٪ و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین ۳۸۰٪ تغییرات داشتند. نتایج حاکی از این است که تمرینات HIIT موجب کاهش بیان ژن مایوستاتین، افزایش بیان ژن فولیستاتین و به دنبال آن افزایش چشمگیر نسبت فولیستاتین به مایوستاتین شده است. البته، اثرات تمرینات HIIT در ادبیات پیشینه گزارش شده است (۲۰) و هدف از پژوهش حاضر اثر این تمرینات در بیماران دیابتی بر عوامل رشدی (فولیستاتین)، ضد رشدی (مایوستاتین) و نسبت بین این دو است. لذا اضافه شدن، دو گروه HIIT و کنترل HIIT برای افزایش ضریب پایایی پژوهش بوده است (۲۱) و گروه دیابتی HIIT مهم‌ترین گروه پژوهش بوده و تغییرات آن نسبت به دیگر گروه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است (جدول ۲). گروه دیابتی HIIT، پس از گروه HIIT کمترین افزایش (۳۱٪)، را در بیان ژن مایوستاتین نشان داد. این نتیجه، ادعان می‌دارد، علاوه بر افزایش سن و عوامل رشدی و ضد رشدی، تمرین تناوبی خیلی شدید، موجب کاهش بیشتر عوامل ضد رشدی (مایوستاتین)، حتی در افراد دیابتی در حال ورزش

جدول ۲، گروه دیابتی HIIT را با دیگر گروه‌ها (کنترل HIIT، HIIT و کنترل دیابت) مقایسه می‌کند. همانطور که نشان داده شده است، در متغیر مایوستاتین فقط بین دو گروه دیابتی HIIT و کنترل دیابت اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P=0/037$)، اما، بین گروه دیابتی HIIT و گروه‌های کنترل HIIT و HIIT به ترتیب ($P=0/223$) و $P=0/693$ و $P=0/754$ ، HIIT، HIIT و کنترل HIIT، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. متغیر فولیستاتین نیز، اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی HIIT و دیگر گروه‌ها (کنترل HIIT، $P=0/754$ ، HIIT، $P=0/844$ و کنترل دیابت $P=0/066$)، را نشان نداد. در نهایت، نسبت فولیستاتین به مایوستاتین نشان داد، اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی HIIT و گروه‌های کنترل HIIT و HIIT (به ترتیب $P=0/223$ و $P=0/693$)، وجود ندارد. اما، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه دیابتی HIIT و کنترل دیابت مشاهده شد ($P=0/000$).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد، هشت هفته تمرینات HIIT بر بیان ژن مایوستاتین، فولیستاتین و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین در رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲ تأثیر معنی‌داری دارد. البته، نمی‌توان به‌طور دقیق نتایج حاضر را به انسان تعمیم داد. با این حال، در ادامه به برخی نتایج همسو و ناهمسو در هر دو آزمودنی انسان و حیوان اشاره می‌گردد. قبل از بحث در مورد نتایج، ممکن است برای خوانندگان مقاله سؤال پیش آید که چرا، درصد تغییرات در گروه‌های پژوهش نسبت به گروه کنترل پایه اینقدر زیاد است؟ در پاسخ به این سؤال می‌توان گفت که با افزایش سن، عوامل رشدی و ضد رشدی نیز با توجه به شرایط بدنی فرد افزایش می‌یابد، اگرچه، این افزایش یکسان نیست (۱۸)، افزایش ۸۴٪، ۲۸۲٪ و ۱۴۰٪ گروه کنترل HIIT به ترتیب در

تنظیم‌گر کلسیم و رشد عضلانی) مشاهده نکردند (۲۷). دلیل این ناهمبوسی می‌تواند مربوط به مدت زمان کم تمرین (۴ هفته) باشد. اکثر مطالعات پیشین یکی از عوامل رشدی و یا ضد رشدی را به عنوان متغیر وابسته پژوهش در نظر گرفته‌اند. باین‌حال، آنچه که، نشان‌دهنده سلامتی افراد و کارایی است، نسبت عوامل تنظیم‌گر مثبت بر منفی است (۲۸). در پژوهش حاضر نیز، نسبت بیان ژن فولیستاتین به مایوستاتین اندازه‌گیری شد. بررسی این دو عامل از اهمیت فراوانی دارد زیرا مایوستاتین درون سلولی عضلات، عملکردی دوگانه دارد. از طرفی، موجب افزایش میزان Fox1 به عنوان یکی از مسیرهای مهم سلولی، مسئول افزایش پروتئولیز و درنهایت، آپوپتوز شده و از سوی دیگر، موجب کاهش میزان mTOR به عنوان مهم‌ترین تنظیم‌کننده ی درون‌سلولی سنتز پروتئین می‌باشد. علاوه بر این، فولیستاتین به عنوان یکی از بازدارنده‌های مهم بیان مایوستاتین، تحت تأثیر مکانیسم مولکولی و سلولی بسیار پیچیده، از بیان مایوستاتین جلوگیری می‌کند و به عنوان یک مهارکننده رقابتی مایوستاتین شناخته می‌شود (۲۹). گروه دیابتی HIIT بیشترین درصد تغییرات نسبت فولیستاتین به مایوستاتین را درمقابل دیگر گروه‌ها نشان داد (۳۸۰٪). این در حالی است، که گروه‌های HIIT، کنترل HIIT و کنترل دیابت به ترتیب درصد تغییرات ۳۲۷٪، ۱۴۰٪ و ۳۴٪- را داشتند. البته این نتایج با نتایج پژوهش Bagheri و همکاران، همسو نبود. آن‌ها اثرات ۸ هفته تمرین ترکیبی (استقامتی-مقاومتی)، را در زنان سالمند بررسی کردند، که در پایان پژوهش، کاهش مایوستاتین، عدم تغییر معنی‌دار فولیستاتین و نسبت فولیستاتین به مایوستاتین را گزارش کردند (۳۰). آن‌ها عدم معنی‌داری نسبت فولیستاتین به مایوستاتین را شدت تمرین کم و اندازه‌گیری عوامل مذکور در سرم دانستند. مباحث فوق به تصریح عنوان کرد، گروه دیابتی HIIT علاوه بر افزایش فولیستاتین، کاهش مایوستاتین و افزایش نسبت ای دو، در برخی متغیرها از گروه HIIT هم درصد تغییرات بیشتری داشت. اما، تفاوت آشکار و مورد بحث بین گروه دیابتی و دیابتی HIIT است، که در جدول ۲ نمایش داده شده است. مقایسه مایوستاتین بین دو گروه کنترل دیابت و دیابتی HIIT نشان از اختلاف معنی‌دار (P=۰/۰۳۷) بین این دو گروه به ترتیب ۵/۸۴ در مقابل ۳/۳۱ نشان داد. اما، فولیستاتین علاوه بر افزایش بیشتر در گروه دیابتی HIIT (۱۰/۵۲) در مقابل گروه کنترل دیابت (۷/۵۶)، عدم معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۶۶). از دلایل، عدم معنی‌داری می‌توان به مدت زمان کم تمرین (۸ هفته) و پروتکل تمرین اشاره کرد. البته مقایسه متغیر کارایی بین دو گروه مذکور (نسبت فولیستاتین به مایوستاتین)، در این پژوهش نشان از معنی‌داری (P=۰/۰۰۰) داشت (گروه کنترل دیابت ۱/۲۴ در مقابل دیابتی HIIT ۳/۸۹).

نسبت به افراد سالم بدون تمرین (۳۱٪ در مقابل ۸۴٪) می‌شود. در همین راستا، Biglari و همکاران، در پروتکل تمرینی مشابه (۸ هفته تمرین HIIT)، پروتکل تمرینی پژوهش حاضر، نشان دادند؛ مایوستاتین کاهش ۶۸٪ در رت‌های نر سالم داشت (۷). البته، نتیجه پژوهش Bighari و همکاران بر رت‌های سالم انجام شده بود، اما هدف پژوهش حاضر بررسی این تمرینات در افراد دیابتی است. از آنجایی که در ادبیات پیشینه، پژوهشی در ارتباط با تمرینات HIIT، دیابت و بیان ژن مایوستاتین و فولیستاتین پیدا نشد، لذا از پژوهش‌های مرتبط با HIIT، دیابت و عوامل رشدی و ضد رشدی در ادامه بحث استفاده می‌شود. همانطور که Izadi و همکاران، نشان دادند؛ ۱۰ هفته تمرین HIIT، موجب کاهش معنی‌دار سطوح اپلین پلازما (هورمون مترشح از بافت چربی است که ارتباط مستقیمی با مقاومت به انسولین دارد)، در مردان و زنان مبتلا به دیابت نوع ۲ شد (۲۲). البته، در اکثر مطالعات انجام شده، mRNA مایوستاتین در پاسخ به تمرین ورزشی در عضله ی اسکلتی اندازه‌گیری شده است. با توجه به این که پروتئین مایوستاتین پس از سنتز، تعدیلات پس‌ترجمه‌ای را طی می‌کند، mRNA مایوستاتین به‌طور دقیق نمی‌تواند نمایانگر سطوح گردش خونی و شکل فعال مایوستاتین باشد (۲۳). اگرچه، در این رابطه پژوهش‌های ناهمسو هم انجام شده، Rahimi و همکاران، در پاسخ به یک دوره مسابقات کاراته، افزایش معنی‌دار مایوستاتین سطح سرم در کاراته‌بازان نشان دادند (۲۴). اگرچه، دلیل اختلاف بین مطالعات مشخص نیست، اما ممکن است، نوع پروتکل، شدت و مدت تمرین، جنس، ویژگی آزمودنی‌ها (جوان، مسن، غیرفعال، دارای اضافه وزن و غیره) و روش اندازه‌گیری از دلایل اختلاف بین مطالعات باشد. در متغیر بیان ژن فولیستاتین، گروه دیابتی HIIT، نسبت به دیگر گروه‌ها افزایش چند برابری را نشان داد (۴۲۵٪). این افزایش حتی نسبت به گروه‌های HIIT (۳۸۹٪) و کنترل HIIT (۲۸۲٪) نیز بیشتر بود. این نتیجه حاکی از این است، عوامل رشدی به دنبال تمرین در دیابتی‌ها افزایش بیشتری نسبت به افراد سالم دارد. در همین راستا، Motevalli و همکاران، در بررسی تغییرات مقادیر سرمی پس از کاهش وزن حاد کشتی‌گیران، افزایش معنی‌دار فولیستاتین را نشان دادند (۲۵). در ارتباط با افراد دیابتی نیز، Jonathan و همکاران، پس از شش جلسه تمرین HIIT در ۲ هفته، افزایش معنی‌دار ظرفیت میتوکندری عضلانی را در بیماران دیابتی گزارش کردند (۲۶). علاوه بر این، برخی پژوهش‌ها نتایج متضادی با نتایج پژوهش حاضر داشتند. Biglari و همکاران، در پژوهش مذکور، تغییرات معنی‌داری در بیان ژن فولیستاتین مشاهده نکردند، که دلیل عدم معنی‌داری آن را ترشح فولیستاتین از تمام بافت‌های بدن بیان کرده‌اند (۷). همچنین، Delfan و همکاران، به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT در رت‌های نر دیابتی، تغییرات معنی‌داری در بیان ژن SERCA2a و فسفولامبان (پروتئین‌های

نتیجه گیری

بنابراین، به نظر می‌رسد بیماران دیابتی با به کارگیری تمرین HIIT در مدت زمان حداقل ۸ هفته می‌توانند به موجب کاهش میزان مایوستاتین، افزایش فولیستاتین و همچنین نسبت فولیستاتین به مایوستاتین، سطح سلامتی و عضلانی خود را ارتقا دهند.

قدردانی

بدینوسیله از تلاش و عنایت و راهنمایی‌های اساتید ارجمند جناب آقای دکتر عیدی علیجانی و سرکار خانم دکتر مهسا محسن زاده کمال تشکر را دارم. این مقاله از پایان نامه استخراج شده است.

منابع مالی

طرح تحقیقاتی نبوده است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارد.

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی شامل نمی‌شود.

مشارکت مؤلفان

س آ، ع ع، و همکاران. طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. س آ، همچنین مقاله را تألیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده است.

References

- Jannasch F, Kroger J, Schulze M. Dietary Patterns and Type 2 Diabetes: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *J Nutr* 2017; **147**(6): 1174-1182. doi: 10.3945/jn.116.242552
- Aune D, Norat T, Leitzmann M, Tonstad S, Vatten L J. Physical activity and the risk of type 2 diabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Eur J Epidemiol* 2015; **30**: 529-542. doi: 10.1007/s106540150056-z
- Cohen S, Nathan J A, Goldberg A L. Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies. *Nat Rev Drug Discov* 2014; **14**(1): 58-74. doi: 10.1038/nrd4467
- Peiris H N, Lappas M, Georgiou H M. Myostatin in the placenta of pregnancies complicated with gestational diabetes mellitus. *Placenta* 2015; **36**(1): 1-6. doi: 10.1016/j.placenta.2014.11.006
- Chen P R, Lee K. Invited review: Inhibitors of myostatin as methods of enhancing muscle growth and development. *J Anim Sci* 2016; **94**(8): 3125-3134. doi: 10.2527/jas.2016-0532
- Stanton R, Reaburn P. Exercise and the treatment of depression: A review of the exercise program variables. *J Sci Med Sport* 2014; **17**(2): 177-182. doi: 10.1016/j.jsams.2013.03.010
- Biglari S, Gaeni A A, Kordi M R, Afousi A G. The Effect of 8 Weeks High-intensity Interval Training on Myostatin and Follistatin Gene Expression in Gastrocnemius Muscle of the Rats. *AMUJ* 2018; **21**(130): 1-10. doi: 10.1113/AMUJ.2018.033571
- Hansen J, Brandt C, Nielsen A R. Exercise induces a marked increase in plasma follistatin: Evidence that follistatin is a contraction-induced hepatokine. *Endocrinology* 2011; **152**(1): 164-171. doi: 10.1210/en.20100868
- Liubaoerjijin Y, Terada T, Fletcher K, Boulé N G. Effect of aerobic exercise intensity on glycemic control in type 2 diabetes: a meta-analysis of head-to-head randomized trials. *Acta Diabetol* 2016; **53**(5): 769-781. doi: 10.1007/s00592016-0870-0
- Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell M I. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia* 2017; **60**(1): 7-23. doi: 10.1007/s00125-016-4106-1
- Elliott B T, Herbert P, Sculthorpe N, Grace F M, Stratton D, Hayes L D. Lifelong exercise, but not short-term high-intensity interval training, increases GDF11, a marker of successful aging: a preliminary investigation. *Physiol Rep* 2017; **5**(13): e133-143. doi: 10.14814/phy2.13343
- Srinivasan S, Florez J C. Therapeutic challenges in diabetes prevention: We have not found the "Exercise Pill." *Clin Pharmacol Ther* 2015; **98**(2): 162-169. doi: 10.1002/cpt.146
- Francois M E, Little J P. Effectiveness and Safety of High-Intensity Interval Training in Patients with Type 2 Diabetes. *From Res To Pract / Diabetes Exerc* 2015; **28**(1): 39-44. doi: 10.2337/diaspect.28.1.39
- Rezai M, Mahmoodi M, Kaeidi A, Karimabad M, Khoshdel A, Hajizadeh M. Effect of crocin carotenoid on BDNF and CREB gene expression in brain ventral tegmental area of morphine treated rats. *Asian Pac J Trop Biomed* 2018; **8**(8): 387. doi: 10.4103/22211691.239426
- Hadrup N, Hass U, Letting H, Vinggaard A M, Svingen T. Selection of reference genes for quantitative RT-PCR (RT-qPCR) analysis of rat tissues under physiological and toxicological conditions. *Peer J* 2015; **3**: e855. doi: 10.7717/peerj.855.

16. Wallace J L, Wang R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: Exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. *Nat Rev Drug Discov* 2015; **14**(5): 329-345. doi: 10.1038/nrd4433
17. Wu Y, Wu M, Zhang Y. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *J Neurosci Methods* 2017; **293**(3): 103-107. doi: 10.1007/s00726-011-1212-8
18. Pountos I, Georgouli T, Henshaw K, Bird H, Giannoudis P V. Release of growth factors and the effect of age, sex, and severity of injury after long bone fracture. *Acta Orthop* 2013; **84**(1): 6570. doi: 10.3109/17453674.2013.765624
19. Chen Y, Yang Y, Man Y. Age and Site Should Be Considered When Investigating the Effect of Growth Factors on Human Bone-Derived Cells. *Journals Gerontol Ser A* 2014; **69**(9): 1094-1095. doi: 10.1093/gerona/glu107
20. Batacan R B, Duncan M J, Dalbo V J, Tucker P S, Fenning A S. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Br J Sports Med* 2017; **51**(6): 494-503. doi: 10.1136/bjsports2015095841
21. Vannest K J, Ninci J. Evaluating Intervention Effects in Single-Case Research Designs. *J Couns Dev* 2015; **93**(4): 403-411. doi: 10.1002/jcad.12038
22. Izadi M R, Bagheri H G, Mohammadyari S. Investigating the role of intensity of exercise training on plasma apelin concentrations and insulin resistance in elderly patients with type 2 diabetes. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2018; **26**(3). doi: 10.4093/ISSUMS.2018.33.6.547
23. Catoire M, Kersten S. The search for exercise factors in humans. *FASEB J* 2015; **29**(5): 1615-1628. doi: 10.1096/fj.14-263699
24. Rahimi E, Mirdar S H. The effect of ginseng supplementation on the levels of IGF-1 and myostatin in the Karate girls after a simulated match. *Metab Exercice* 2015; **3**(2): 167-179. doi: 10.14232/me.2015.2587
25. Motevalli M S, Dalbo V J, Attarzadeh R S, Rashidlamir A, Tucker P S, Scanlan A T. The Effect of Rate of Weight Reduction on Serum Myostatin and Follistatin Concentrations in Competitive Wrestlers. *Int J Sports Physiol Perform* 2015; **10**(2): 139-146. doi: 10.1123/ijspp.2013-0475
26. Little J P, Gillen J B, Percival M E. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *J Appl Physiol* 2011; **111**(6): 1554-1560. doi: 10.1152/jappphysiol.00921.2011
27. Delfan M R. Effect of 4 weeks high intensity interval training (HIIT) on cardiorespiratory fitness and mitochondrial protein synthetic rate, in an older population with co-morbidities. *J Fac Phys Educ Sport Sci Univ Tehran* 2018; **10**(1). doi: 10.22059/jsb.2018.122543.915
28. Johnson J, Wood A M. Integrating Positive and Clinical Psychology: Viewing Human Functioning as Continua from Positive to Negative Can Benefit Clinical Assessment, Interventions and Understandings of Resilience. *Cognit Ther Res* 2017; **41**(3): 335-349. doi: 10.1007/s10608-015-9728-y
29. Singh R, Braga M, Pervin S. Regulation of brown adipocyte metabolism by myostatin/follistatin signaling. *Front Cell Dev Biol* 2014; **2**: 247-259. doi: 10.3389/fcell.2014.00060
30. Bagheri L, Faramarzi M, Banitalebi M. The effect of sequence order of combined training (strength and endurance) on Myostatin, Follistatin and Follistatin/Myostatin ratio in older women. *J Physiol Sport* 2014; **26**: 14-26. doi: 10.1016/j.ps.2014.01.046