

## مقایسه اثر تمرینات هوازی و ترکیبی (هوازی و مقاومتی) بر برخی از شاخص‌های سلامت قلب (MMP-2 و TIMP-2) در موش‌های صحرایی نر بالغ

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۶

دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۶

رومینا همای رضوی<sup>۱</sup>، صادق چراغ بیرجندی<sup>۲\*</sup>، مصطفی تیموری خروی<sup>۲</sup>، وحید رضایی<sup>۲</sup>، نجمه رضائیان<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران ۲. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

### چکیده

**مقدمه و هدف:** ردیابی شاخص‌های وابسته به بیماری‌های قلبی عروقی مانند متالوپروتئینازها (MMPها) و مهارکننده‌های بافتی آنها (TIMPها) می‌تواند در پیش‌بینی ابتلا به این بیماری‌ها مؤثر باشد. هدف این مطالعه مقایسه تأثیر تمرینات هوازی و ترکیبی (هوازی و مقاومتی) بر برخی شاخص‌های سلامت قلب در موش‌های صحرایی نر بالغ بود.

**روش کار:** ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ (۱۸-۲۰ ماهه، ۳۰۰-۳۸۰ گرم، تهیه شده از انستیتو سرم سازی رازی مشهد) به صورت تصادفی در سه گروه تمرین ترکیبی، هوازی و کنترل (هر گروه ۸ موش) تقسیم شدند. گروه ترکیبی به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته، تمرینات هوازی (دویدن روی تردمیل با شدت ۴۰-۶۰٪ سرعت بیشینه، ۶۰ دقیقه) و مقاومتی (بالا رفتن از نردبان با شدت ۴۰-۶۰٪ بار بیشینه، ۴۵ دقیقه) را در روزهای متناوب انجام دادند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه، بافت قلب برداشته شد و بیان ژن‌های میوستاتین، MMP-2 و TIMP-2 با Real-Time-PCR سنجش شد. داده‌ها با استفاده از ANOVA و آزمون توکی در سطح معناداری ۰/۰۵ تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** کاهش معنادار بیان میوستاتین و MMP-2 در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ( $p < 0/01$ ). کاهش MMP-2 در گروه ترکیبی نسبت به گروه هوازی نیز معنادار بود ( $p < 0/01$ ). بیان TIMP-2 در هر دو گروه تمرینی نسبت به کنترل افزایش معنادار داشت ( $p < 0/01$ ) و این افزایش در گروه ترکیبی نسبت به گروه هوازی نیز معنادار بود ( $p < 0/01$ ).

**نتیجه‌گیری** یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین ترکیبی در مقایسه با تمرین هوازی، تأثیر بیشتری در بهبود شاخص‌های سلامت قلب دارد. با این حال، برای نتیجه‌گیری قطعی، مطالعات گسترده‌تری مورد نیاز است.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین ترکیبی، تمرین هوازی، میوستاتین، ماتریکس متالوپروتئیناز-۲، مهار کننده بافتی ماتریکس متالوپروتئیناز-۲

\* نویسنده مسئول: استادیار رشته فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

نمابر: ۰۵۸۳۲۲۶۹۷۷

تلفن: ۰۹۱۵۳۶۲۲۵۹۲

ایمیل: birjandi@bojnourdiau.ac.ir

## مقدمه

افزایش سن با تضعیف تدریجی عملکردهای فیزیولوژیک و کاهش توانایی‌های فیزیکی همراه است که در مجموع، زمینه‌ساز بروز اختلالات و بیماری‌های متعدد می‌شود. در نتیجه، سن به عنوان عامل خطر اصلی برای بیماری‌های قلبی عروقی<sup>۱</sup> (CVD) شناخته می‌شود. در مقایسه با سایر بیماری‌ها، بیماری‌های قلبی عروقی نه تنها برای سالمندان، بلکه برای خانواده‌ها و سیستم‌های بهداشتی نیز سنگین‌ترین بار اقتصادی و اجتماعی را ایجاد می‌کنند. روند پیری به افزایش شیوع بیماری‌های قلبی و عوامل خطر مستقیم مختلف برای CVD ها کمک می‌کند، از جمله فشار خون<sup>۲</sup>، چربی‌های خون<sup>۳</sup>، استرس اکسیداتیو<sup>۴</sup>، التهاب<sup>۵</sup>، تصلب شرایین<sup>۶</sup>، تغییرات متابولیک، پیری سلولی<sup>۷</sup> و اختلال عملکرد اندوتلیال. علاوه بر این، در افراد مسن، چندین عملکرد لیپوپروتئین با چگالی بالا<sup>۸</sup> (HDL) توسط بیماری‌هایی مانند دیابت، سندرم متابولیک، التهاب مزمن، بیماری مزمن کلیه و تصلب شرایین مختل می‌شود (۱). از شاخص‌های مهم درگیر در بیماری‌های قلبی عروقی، ماتریکس متالوپروتیناز<sup>۹</sup> (MMPs) و میوستاتین<sup>۱۰</sup> (MSTN) می‌باشد. میوستاتین، نوعی فاکتور ترشحی و عضو خانواده بزرگ فاکتور رشد تبدیل‌کننده  $\beta^1$  (TGF) است که نقش تنظیمی منفی و کلیدی در رشد و هموستاز عضله دارد و به طور قوی در عضله قلبی بیان و سپس به گردش خون ترشح می‌شود. میوستاتین، به عنوان یک هدف درمانی بالقوه برای بهبود سلامتی عضلات معرفی شده است و در عضله‌زایی درگیر است. از زمان شناسایی این عامل تاکنون تحقیقات مختلفی روی آن انجام گرفته است، به طوری که در حال حاضر به عنوان یکی از مسیرهای احتمالی افزایش قدرت و توده عضلانی بر اثر تمرینات ورزشی مطرح است (۲). MMPs گروهی متشکل از بیش از ۱۲ اندوپپتیداز با فعالیت‌های ساختاری و آنزیمی مشابه هستند. هدف آنها حفظ تعادل بافت در طول تخریب و سنتز اجزای ماتریکس خارج سلولی<sup>۱۱</sup> (ECM) است.

ناهنجاری‌های موجود در ساختار ECM، بستری برای بیماری‌های قلبی پیشرونده و همچنین نتیجه بازسازی ناکافی آن، به عنوان مثال در نارسایی قلبی، انفارکتوس میوکارد و ایسکمی، هستند (۳). هموستاز در یک قلب سالم و طبیعی به تعادل بین فعال شدن پیش‌سازهای MMP و فعال شدن MMP های تخریب‌کننده وابسته است، فرآیندی که توسط تشکیل کمپلکس با مهارکننده‌های درون‌زا آنها کنترل می‌شود: مهارکننده‌های بافتی MMP ها<sup>۴</sup> (TIMP ها). نشان داده شده است که بیان و فعالیت MMP ها در بیماری‌های قلبی عروقی مختلف و در قلب‌های نارسا با علل مختلف مانند انفارکتوس حاد میوکارد، کاردیومیوپاتی متسع شده<sup>۵</sup> و نارسایی قلبی، دچار اختلال می‌شود. دو عضو مهم MMP ها، MMP-2 و MMP-9، از گروه ژلاتینازها هستند و به عنوان آنزیم‌های کلیدی مسئول بازسازی عمیق قلبی شناخته شده‌اند. درست پس از یک آسیب حاد، مانند انفارکتوس میوکارد، پیش‌سازهای MMP-2 و ۹ موجود در میوکارد فعال می‌شوند و شبکه کلاژن فیبریلی را مختل می‌کنند تا به سلول‌های التهابی اجازه دهند به ناحیه انفارکتوس نفوذ کنند و سلول‌های نکروتیک را از بین ببرند (۴). MMP-2 یک پیش‌بینی‌کننده مستقل از پیش‌آگهی و مرگ و میر قلبی عروقی است. افزایش بیان MMP-9 نیز با وقوع بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است. مهارکننده‌های اختصاصی فعالیت MMP-2 و MMP-9 به ترتیب TIMP-2 و TIMP-1 هستند. تحت تأثیر عوامل آسیب‌زا مانند هیپوکسی، افزایش استرس اکسیداتیو، التهاب و اثرات سمی داروها، تعادل بین این دو گروه از پروتئین‌ها می‌تواند مختل شود که منجر به از دست رفتن یکپارچگی بافت، تغییرات مورفولوژیکی و مورفومتريک و نئوواسکولاریزاسیون<sup>۱۵</sup> پاتولوژیک می‌شود. از دست دادن کنترل و عدم تعادل بین MMP ها و TIMP ها ممکن است در عوارضی مانند انفارکتوس میوکارد<sup>۱۶</sup> (MI)، فیبریلاسیون دهلیزی<sup>۱۷</sup>، اندوکاردیت<sup>۱۸</sup> و میوکاردیت<sup>۱۹</sup> کاردیومیوپاتی و نارسایی قلبی نقش داشته باشد

<sup>1</sup> Transforming growth factor- $\beta$

<sup>2</sup> Extracellular matrix

<sup>3</sup> Tissue inhibitors of MMPs

<sup>4</sup> Dilated Cardiomyopathy

<sup>5</sup> Neovascularization

<sup>6</sup> Myocardial infarction

<sup>7</sup> Atrial fibrillation

<sup>8</sup> Endocarditis

<sup>9</sup> Myocarditis

<sup>1</sup> Cardiovascular disease

<sup>2</sup> Blood pressure

<sup>3</sup> Blood lipids

<sup>4</sup> Oxidative stress

<sup>5</sup> Inflammation

<sup>6</sup> Atherosclerosis

<sup>7</sup> Cellular senescence

<sup>8</sup> High-density lipoprotein

<sup>9</sup> Matrix metalloproteinases

<sup>10</sup> Myostatin

(۳)

در موش‌های صحرایی نر بالغ می‌پردازد.

### روش کار

این مطالعه از نوع تجربی و استفاده از مدل حیوانی بود. تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ با میانگین سنی ۱۸ تا ۲۰ ماه و میانگین وزن ۳۰۰ تا ۳۸۰ گرم از انستیتو سرم‌سازی رازی مشهد تهیه شدند. حیوانات در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی تاریکی و درجه حرارت  $22 \pm 2$ ) نگهداری شدند. در کلیه مراحل آزمایش کلیه ملاحظات اخلاقی در رابطه با کار با حیوانات آزمایشگاهی در نظر گرفته شد. در این مراحل ضمن رعایت مسائل اخلاقی سعی شد از هر گونه آزار جسمی و روش غیر ضروری اجتناب گردد. حیوانات با رژیم غذایی استاندارد آزمایشگاهی جوندگان (پروتئین خام ۱۹/۵ تا ۲۰/۵٪، چربی ۴/۵ تا ۵/۳٪، فیبر ۴ تا ۴/۵٪، کلسیم ۰/۹۵ تا ۱٪، فسفر ۰/۶۵ تا ۰/۷٪، نمک ۰/۵ تا ۰/۵۵٪، لیزین ۱/۱۵٪، متیونین ۰/۳۳٪، تریئونین ۰/۷۲٪، تریپتوفان ۰/۲۵٪ و کالری ۱۶/۶ تا ۱۷ mg/kg) آب لوله‌کشی به صورت دسترسی نامحدود تغذیه شدند (۱۱). پس از طی یک دوره یک هفته‌ای سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌های صحرایی به طور تصادفی به سه گروه کنترل، تمرین ترکیبی و تمرین هوازی (هر گروه ۸ سر) تقسیم شدند.

تمرینات پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام شد. برای تجویز تمرین و تعیین ظرفیت جسمانی و شدت فعالیت ورزشی، ظرفیت هوازی و یک قدرت بیشینه، پنج روز بعد از آشناسازی با تجهیزات، تعیین شد.

### پروتکل تمرین هوازی

با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی، از روش غیرمستقیم جهت تعیین میانگین سرعت بیشینه موش‌ها استفاده شد. بدین ترتیب که پس از ۵ دقیقه گرم کردن در شدت کم (که تقریباً معادل با هشت متر در دقیقه بر روی تردمیل مخصوص جوندگان بود)، آزمون ورزشی فزاینده تا مرز خستگی انجام شد. این آزمون با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع شد و به ازای هر سه دقیقه، سه متر بر سرعت آن افزوده گردید تا جایی که حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. سپس میانگین سرعت بیشینه موش‌ها در گروه تمرینات هوازی برای طراحی برنامه تمرین محاسبه شد. برنامه

در میان بسیاری از عوامل خطر که مستعد ایجاد و پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی هستند، سبک زندگی بی‌تحرك که با سطوح پایین فعالیت بدنی مشخص می‌شود، اکنون به عنوان عامل اصلی در سلامت ضعیف قلبی عروقی شناخته شده است. برعکس، ورزش منظم و فعالیت بدنی با فواید قابل توجه سلامتی گسترده و خطر بیماری‌های قلبی عروقی به میزان قابل توجهی مرتبط است. چندین مطالعه طولانی مدت نشان داده‌اند که افزایش فعالیت بدنی با کاهش مرگ و میر ناشی از همه علل مرتبط است و ممکن است امید به زندگی را به طور متوسط افزایش دهد، اثری که به شدت با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و تنفسی مرتبط است (۵). دستورالعمل انجمن قلب آمریکا (AHA) تمرینات هوازی<sup>۱</sup> (AT) و تمرینات مقاومتی<sup>۲</sup> (RT) را به عنوان عناصر اصلی توانبخشی قلبی مبتنی بر ورزش توصیه می‌کند. یک متآنالیز کارکین نشان داد که ترکیب AT و RT با کاهش ۲۸٪ مرگ و میر و کاهش ۳۱٪ در بستری مجدد در بیمارستان برای بیماران قلبی عروقی همراه است (۶).

بر اساس مطالعه رشیدلمیر و همکاران، هشت هفته تمرین مقاومتی یا هوازی تأثیر معنی‌داری بر سطح بیان ژن میوستاتین در عضله قلب موش‌های نر ندارد (۷). در مقابل مطالعه حسن نتاج و همکاران نشان داد که بیان ژن میوستاتین در موش‌های نر دیابتی تحت تمرین مقاومتی، بدون در نظر گرفتن حجم تمرین (کم یا زیاد)، در مقایسه با گروه کنترل دیابت به طور معنی‌داری کاهش یافته است (۸). در ادامه مطالعه تیموری خروی و همکاران نشان داد که بیان ژن MMP-2 در موش‌های صحرایی نر بالغ و بیستار که تحت برنامه‌های تمرینی شنا و دویدن روی تردمیل قرار گرفتند، در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (۹). اما مطالعه اکبری و همکاران نشان داد که هشت هفته تمرین تناوبی شدید با کاهش بیان ژن MMP-2 و افزایش بیان ژن TIMP-2 در بافت قلب موش‌های دیابتی، به تنظیم مجدد این ژن‌ها کمک کرده و ممکن است در بهبود کاردیومیوپاتی دیابتی نقش داشته باشد (۱۰). با وجود پیشرفت‌ها، مکانیسم‌های دقیق تأثیر ورزش بر فاکتورهای سلولی مانند MMPها، TIMPها و میوستاتین در قلب نیاز به پژوهش بیشتری دارد. برای پرکردن این شکاف دانش، تحقیق حاضر به مقایسه اثرات تمرینات هوازی و ترکیبی بر شاخص‌های سلامت قلب (MMP-2، TIMP-2 و MSTN)

<sup>2</sup> Resistance exercises

<sup>1</sup> Aerobic exercises

تمرین اصلی تمرینات هوازی شامل دویدن روی تردمیل در شدت کم تا متوسط (۶۰-۴۰٪ سرعت بیشینه به دست آمده در آزمون دویدن بیشینه)، ۶۰ دقیقه در هر جلسه و بدون شیب تردمیل بود (۱۲).

### پروتکل تمرین ترکیبی

تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی در روزهای متناوب و در ساعت معینی از روز، پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام شد (۱۲). موش‌های گروه تمرین ترکیبی، در نیمه ابتدای هر جلسه، تمرین مقاومتی و در نیمه دوم آن، تمرین هوازی را اجرا می‌کردند. تمرین مقاومتی همواره پیش از تمرین هوازی اجرا شد تا از خستگی زودرس ناشی از تمرین هوازی جلوگیری شود (۱۳). تمرین هوازی در گروه ترکیبی به همان صورت تمرینات گروه هوازی فقط با نصف زمان (به دلیل رعایت همسان‌سازی حجم دو نوع تمرین) انجام گرفت. گروه کنترل هیچ فعالیتی در طول دوره تحقیق نداشتند و غیرفعال بودند (۱۴).

### پروتکل تمرین مقاومتی

جهت برآورد یک قدرت بیشینه در موش‌ها از آزمون حمل بار بیشینه<sup>۱</sup> استفاده شد. بدین ترتیب که در جلسه اول، موش‌ها از نردبان بالا می‌رفتند در حالی که وزنه‌ای معادل با ۷۵٪ وزنشان به دم آنها متصل شده بود. پس از اینکه موش‌ها توانستند یک بار از نردبان بالا بروند، وزنه‌ای ۳۰ گرمی به وزنه اولیه اضافه شد و مجدداً موش‌ها از نردبان بالا می‌رفتند. فرآیند اضافه کردن مرحله‌ای وزنه‌های ۳۰ گرمی تا جایی ادامه پیدا می‌کند که موش‌ها تنها قادر باشند سه مرتبه متوالی از نردبان بالا بروند و در اصطلاح به نقطه "شکست" رسیده باشند. وزنه‌ای که در این مرحله موش حمل می‌کند به عنوان بار بیشینه رت در نظر گرفته می‌شود. تمرینات مقاومتی به صورت بالا رفتن از نردبان ویژه جوندگان بود در حالی که یک وزنه به دم موش متصل شد؛ به طوری که وزنه شدتی معادل ۶۰-۴۰٪ از نیروی به دست آمده در آزمون بار بیشینه را اعمال کند (شدت کم تا متوسط). مدت زمان هر جلسه حدود ۴۵ دقیقه شامل ۱۵ بار بالا رفتن از نردبان با فواصل استراحت یک دقیقه‌ای بین هر بار بالا رفتن بود. جهت تحریک موش‌ها به دویدن روی تردمیل و یا بالا رفتن از نردبان از شوک الکتریکی و یا محرومیت غذایی استفاده

نشد و تنها در صورت لزوم انتهای دم موش‌ها لمس شد (۱۲). بررسی سطح سرمی پروتئین واکنشی C (CRP) با استفاده از کیت ساخت شرکت پارس آزمون ایران و به روش ایمونوتوربیدیمتری انجام شد. حساسیت کیت مورد استفاده ۲ میلی‌گرم در لیتر بود. در این روش، CRP موجود در نمونه بیمار با آنتی‌بادی ضد CRP انسانی کمپلکس تشکیل می‌دهد. شایان ذکر است که میزان کدورت حاصل از تشکیل این کمپلکس با غلظت CRP در نمونه رابطه مستقیم دارد. سنجش سطوح سوپراکسید دیسموتاز<sup>۴</sup> (SOD)، مالون‌دی‌آلدئید<sup>۵</sup> (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل<sup>۶</sup> (TAC) نیز مطابق با دستورالعمل کیت‌های شرکت نوند سلامت ایران و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری انجام پذیرفت (۱۵).

پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی (به منظور حذف اثرات تمرین)، تمام نمونه‌ها تحت شرایط کاملاً یکسان و پایه، با تزریق داخل صفاقی ترکیب کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بیهوش شدند. بلافاصله پس از جداسازی، بافت موردنظر توزین و با سالیین شستشو داده شد، سپس به سرعت در نیتروژن مایع منتقل و در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام اندازه‌گیری‌ها نگهداری شد. الگوی پرایمر مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. پاسخ بافت‌ها و سیستم‌های مختلف بدن به تمرین پیچیده و متغیر است. در نتیجه ممکن است در یک بازه زمانی مشخص، یک بافت بهینه‌بارگیری شود، در حالی که بافت دیگر تحت فشار نامناسبی قرار گیرد. مدت زمان لازم برای بازیابی و تکرار تمرین نیز به‌طور مستقیم به شدت آن بستگی دارد؛ به طوری که تمرینات کم‌فشار و عمدتاً هوازی پس از یک دوره استراحت کوتاه (حداکثر ۲۴ ساعت) قابل تکرار هستند، در حالی که تمرینات پرفشار و بی‌هوازی به دوره ریکاوری بسیار طولانی‌تری (حداقل ۷۲ ساعت) نیاز دارند. این تفاوت چشمگیر در بازه‌های زمانی بازیابی، نشان‌دهنده پیچیدگی واکنش‌های بدن و تفاوت در سازوکار پاسخ بافت‌ها و سیستم‌های مختلف به بار تمرینی است (۱۶).

۲۰ میلی‌گرم از بافت قلب با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوپ شده، سپس با استفاده از محلول تیزول، RNA کل سلول‌ها استخراج و خالص‌سازی شد. به cDNA سنتز شده و

<sup>۵</sup> Malondialdehyde

<sup>۶</sup> Total antioxidant capacity

<sup>۱</sup> Maximum Carrying Load Test

<sup>۲</sup> Failure

<sup>۳</sup> C-reactive protein

<sup>۴</sup> Superoxide dismutase

نمونه‌ها، این عدد در فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد (۱۷).

در این روش، فرض بر این است که بازده نمونه و گروه کنترل برابر یک و ۱۰۰٪ است و میزان تغییرات بیان هر ژن در گروه تمرین نسبت به تغییرات همان ژن در گروه کنترل سنجیده می‌شود. روش محاسبه و استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  در ادامه بیان شده است (۱۸).

میزان تغییرات ژن هدف در گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل  $\Delta\Delta Ct = 2$

گروه کنترل  $\Delta Ct$  - گروه تمرین ورزشی  $\Delta Ct = \Delta\Delta Ct$

(مرجع  $Ct$  - ژن هدف  $Ct$ ) = گروه تمرین ورزشی  $\Delta Ct$

(مرجع  $Ct$  - ژن هدف  $Ct$ ) = گروه کنترل  $\Delta Ct$

جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. cDNA سنتز شده با استفاده از SYBR Green master mix (Thermo Scientific, USA) و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۱ تکثیر شد. واکنش Real-time PCR با استفاده از دستگاه SYBR Green qPCR Master Mix انجام شد. پروتکل چرخه‌ی حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل:  $95^{\circ}$  به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل  $20^{\circ}$  ثانیه‌ای در حرارت  $95^{\circ}$ ،  $30^{\circ}$  ثانیه در  $60^{\circ}$  و  $50^{\circ}$  ثانیه در دمای  $72^{\circ}$  بود. از ژن مرجع GAPDH استفاده شد.

نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه‌ی آستانه (Threshold cycle) CT مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای نرمال‌سازی بیان ژن از فرمول (کنترل)  $ct - \Delta ct$  (هدف) استفاده گردید. پس از محاسبه‌ی تغییرات بیان ژن‌ها با  $\Delta ct$ ، برای کمی کردن نتیجه حاصل از تغییرات  $ct$

#### جدول ۱. مشخصات پرایمرهای ژن

| نام ژن | پرایمر پیش‌رو             | پرایمر معکوس              |
|--------|---------------------------|---------------------------|
| GAPDH  | TGCACCACCAACTGCTTAGC      | GGATGCAGGGATGATGTTCT      |
| MSTN   | GACCATTGGCTGCGCTAACCC     | GGGAAGGGTAGTCATGCTAAGTGCC |
| MMP-2  | AGTCAGCTTGCAGAGGCAGATCCCG | GTGACCAGCACAGCCCAGAAGAGG  |
| TIMP-2 | CGCGAGTACAACCTTCTTGC      | ATACCCACCATCACACCCTG      |

#### نتایج

شاخص‌های مورد بررسی به تفکیک گروه‌های تحقیق در جدول ۲ توصیف شده‌اند.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین گروه‌های پژوهش حاضر در مورد بیان ژن MSTN پس از هشت هفته تمرینات ترکیبی و هوازی، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.01$ ). در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن MSTN در گروه تمرین ترکیبی و هوازی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود ( $p < 0.01$ ). بین گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

پس از جمع‌آوری داده‌ها و ورود اطلاعات به نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۷، داده‌های خام مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، پس از تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک، بررسی همگن بودن داده‌ها توسط آزمون لون انجام شد. در آمار استنباطی نیز برای بررسی و تجزیه تحلیل فرضیه‌های تحقیق، از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه<sup>۳</sup> و آزمون تعقیبی توکی<sup>۴</sup> استفاده شد. آزمون فرضیه‌ها با سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  انجام گرفت.

<sup>3</sup> ANOVA

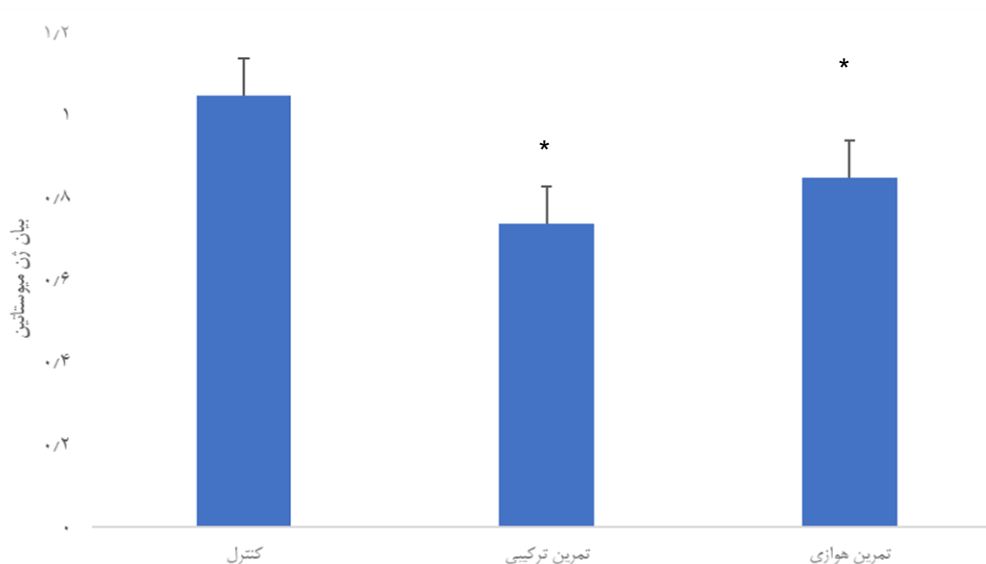
<sup>4</sup> Tukey's Test

<sup>1</sup> Shapiro-Wilk test

<sup>2</sup> Levene's test

جدول ۲. میانگین  $\pm$  انحراف معیار شاخص‌های مورد بررسی در گروه‌های پژوهش

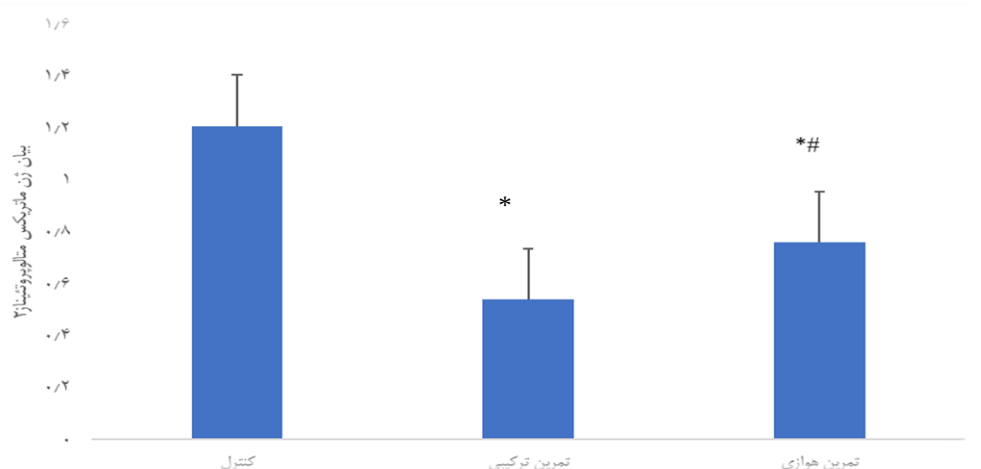
| تمرین هوازی       | تمرین ترکیبی       | کنترل              |                           |
|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| $0.185 \pm 0.059$ | $0.174 \pm 0.117$  | $1.05 \pm 0.23$    | MSTN                      |
| $0.176 \pm 0.170$ | $0.154 \pm 0.114$  | $1.21 \pm 0.13$    | MMP-2                     |
| $1.30 \pm 0.57$   | $1.69 \pm 0.66$    | $1.06 \pm 0.45$    | TIMP-2                    |
| $150.3 \pm 17.28$ | $149.5 \pm 16.57$  | $171.75 \pm 29.23$ | (ng/ml) CRP               |
| $50.32 \pm 73.23$ | $50.74 \pm 124.47$ | $38.03 \pm 60.25$  | (U/ml) SOD                |
| $0.35 \pm 0.12$   | $0.36 \pm 0.10$    | $0.34 \pm 0.10$    | ( $\mu\text{mol/L}$ ) TAC |
| $19.33 \pm 5.12$  | $17.54 \pm 6.01$   | $26.97 \pm 4.27$   | ( $\mu\text{mol/L}$ ) MDA |
| $342.29 \pm 4.61$ | $350.27 \pm 5.68$  | $320.31 \pm 4.57$  | وزن پیش آزمون (گرم)       |
| $272.00 \pm 4.41$ | $277.00 \pm 4.32$  | $345.57 \pm 4.64$  | وزن پس آزمون (گرم)        |



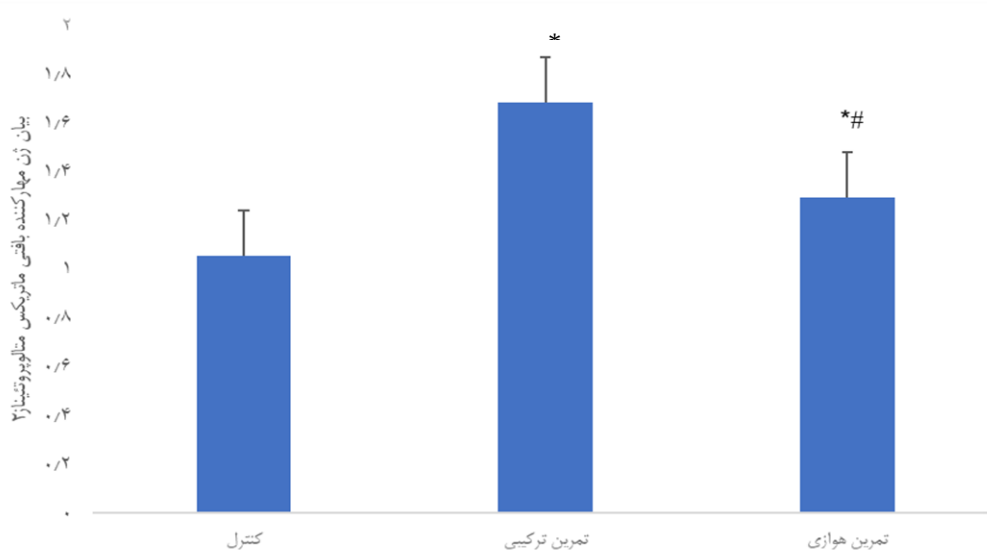
نمودار ۱. بیان وزن میوستاتین در گروه‌های مورد مطالعه؛ \* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل؛ سطح معنی‌داری  $p < 0.05$ .

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین گروه‌های پژوهش حاضر در مورد بیان ژن TIMP-2 پس از هشت هفته تمرینات ترکیبی و هوازی، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.01$ ). در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن TIMP-2 در گروه تمرین ترکیبی و هوازی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بالاتر بود ( $p < 0.01$ ). همچنین بین گروه تمرین ترکیبی با گروه تمرین هوازی نیز تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.01$ ).

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین گروه‌های پژوهش حاضر در مورد بیان ژن MMP-2 پس از هشت هفته تمرینات ترکیبی و هوازی، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.01$ ). در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن MMP-2 در گروه تمرین ترکیبی و هوازی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود ( $p < 0.01$ ). همچنین بین گروه تمرین ترکیبی با گروه تمرین هوازی نیز تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.01$ ).



**نمودار ۲.** بیان ژن ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ در گروه‌های مورد مطالعه؛ \* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل؛ # تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین ترکیبی؛ سطح معنی‌داری  $p < 0.05$ .



**نمودار ۳.** بیان ژن مهارکننده بافتی ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ در گروه‌های مورد مطالعه؛ \* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل؛ # تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین ترکیبی؛ سطح معنی‌داری  $p < 0.05$ .

بررسی‌ها نشان می‌دهد که سطح بیان این ژن در گروه تمرین ترکیبی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه تمرین هوازی بوده است. بیماری عروق کرونر قلب (CAD) همچنان علت اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است. شایع‌ترین تظاهر CAD، انفارکتوس میوکارد (MI) است که در نتیجه آسیب ایسکمی و/یا پرفیوژن مجدد (IR) میوکارد ایجاد می‌شود. به خوبی ثابت شده است که تمرین ورزشی تحمل میوکارد را به IR بهبود می‌بخشد، پدیده‌ای که به عنوان محافظت قلبی ناشی از ورزش شناخته دسترس‌آزاد

## بحث

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های MSTN و MMP-2 در گروه‌های تمرین ترکیبی و هوازی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. همچنین در گروه تمرین ترکیبی کاهش معنی‌دار بیان ژن MMP-2 نسبت به گروه تمرین هوازی دیده شد. افزایش معنی‌دار بیان ژن TIMP-2 در گروه تمرین ترکیبی و هوازی نسبت به گروه کنترل نیز مشاهده گردید.

کاهش ۶۸٪ در بیان ژن میوستاتین در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی شد (۲۵).

ناهمسو با پژوهش حاضر، رشیدامیر و همکاران نشان دادند که هشت هفته تمرین مقاومتی در بیان ژن میوستاتین عضله قلبی موش‌های نر ویستار سالم، تغییر معنی‌داری ایجاد نمی‌کند (۲۶). در واقع دلایل احتمالی این نتایج متناقض، ممکن است در شدت و مدت تمرین، نوع شیوه نامیه تمرینی، سن آزمودنی‌ها، روش اندازه‌گیری و یا تفاوت در زمان نمونه‌گیری باشد. از طرفی، در بیشتر مطالعات انجام شده، mRNA میوستاتین در پاسخ به تمرینات ورزشی اندازه‌گیری و گزارش شده است. از آن جایی که پروتئین میوستاتین بعد از ساخت، تعدیلات پس ترجمه‌ای را سپری می‌کند، mRNA میوستاتین به طور دقیق نمی‌تواند بیان کننده‌ی سطوح پلاسمایی و فعالیت میوستاتین باشد. از طرف دیگر، محققان در تحقیقات مختلف، یکی دیگر از دلایل گزارش‌های متناقض میوستاتین را روش و مقادیر اندازه‌گیری و همچنین، واکنش‌پذیری متقابل آنتی‌بادی ضد میوستاتین با ایمونوگلوبولین می‌دانند (۲۳).

خورد و همکاران به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی مقاومتی و استقامتی بر بیان ژن MMP-2 موش‌های مبتلا به انسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) پرداختند. نتایج نشان داد که تمرینات ورزشی به ویژه تمرینات استقامتی می‌تواند در کاهش نشانگرهای مرتبط با EAE همچون MMP-2 نقش موثری داشته باشد که همسو با نتایج مطالعه حاضر است (۲۷). نتایج مطالعه Kadoglou و همکاران نشان داد یک دوره شش هفته‌ای تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط بر موش‌های مبتلا به دیابت با تغذیه پرچرب MMP-2 را کاهش داد در حالی که TIMP-2 افزایش معنی‌داری داشت (۲۸). نتایج مطالعه Bordbarazari و همکاران نیز حاکی از کاهش معنی‌دار MMP-2 و فشار خون سیستمیک در زنان یائسه با فشار خون بالا پس از مصرف همزمان مکمل آل آرژنین و تمرین استقامتی بود (۲۹). حقیقی ناغانی و فتحی نیز دریافتند که شش هفته تمرین هوازی فزاینده منجر به کاهش معنی‌داری در بیان پروتئین MMP-2 در بافت عضله قلبی موش‌های دیابتی می‌شود (۳۰). حکیمی و همکاران نشان دادند که تمرین تناوبی با شدت بالا به همراه رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه رژیم غذایی پرچرب موجب کاهش معنی‌دار میزان MMP-2 در بافت چربی زیرپوستی موش‌های نر می‌شود (۳۱). ناهمسو با پژوهش حاضر، Leite و همکاران دریافتند که مقدار MMP-2 در موش‌هایی که تحت رژیم غذایی پرچرب و

می‌شود، اما سازگاری‌های سلولی که منجر به محافظت قلبی در برابر آسیب IR می‌شوند، به خوبی درک نشده‌اند. تحقیقات اخیر، آسیب IR را به فعال شدن ماتریکس متالوپروتئیناز ۲- (MMP-2) مرتبط دانسته است MMPها در تخریب ماتریکس خارج سلولی نقش دارند و نقش کلیدی در تشکیل اسکار پس از MI ایفا می‌کنند. در حالی که این نقش خارج سلولی MMP-2 در MI به خوبی ثابت شده است، مطالعات اخیر نقش اضافی و درون سلولی فعال شدن MMP در آسیب IR را نشان می‌دهند. نشان داده شده است که MMP-2 اهداف پروتئولیتیک درون سلولی در کاردیومیوسیت‌ها دارد که می‌تواند در مرگ سلولی مشاهده شده پس از IR نقش داشته باشد. مهارکننده‌های بافتی متالوپروتئینازها (TIMPs) مهارکننده‌های MMPها هستند و TIMPها در کاردیومیوسیت‌ها یافت شده‌اند. بنابراین، ممکن است ورزش از طریق (۱) کاهش سطح پروتئین MMP-2 یا (۲) مهار فعال‌سازی MMP با افزایش سطح پروتئین TIMPها، محافظت قلبی در برابر آسیب IR ایجاد کند (۱۹).

همسو با پژوهش حاضر، جوکار و همکاران نشان دادند که تمرین استقامتی با کاهش محتوای پروتئین میوستاتین در بطن چپ قلبی به احتمال زیاد توانسته است از آتروزی قلبی در موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک جلوگیری کند. این کاهش می‌تواند منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلبی شود (۲۰). Roth و همکاران در مطالعه‌ای تأثیر ۹ هفته تمرین سنگین اکستنشن زانو (۳ جلسه در هفته، هر جلسه شامل ۵۰ تکرار با حداکثر شدت) را بر سطوح mRNA میوستاتین در عضله پهن جانبی پای برتر مورد بررسی قرار دادند. براساس یافته‌های این پژوهش که از طریق نمونه‌برداری بافتی به دست آمد، سطوح mRNA میوستاتین در پایان دوره تمرینی، ۳۷٪ کاهش یافته بود (۲۱). بررسی‌های Yang و همکاران نیز نشان داد که تمرین استقامتی موجب کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین میوستاتین در عضله موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک در مقایسه با گروه کنترل دیابتی می‌شود (۲۲). بر اساس پژوهش بیگی و همکاران، هشت هفته تمرین تناوبی شدید موجب کاهش معنی‌دار سطح میوستاتین در موش‌های صحرایی نر شده است (۲۳). Santos و همکاران در پژوهشی به بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های مرتبط با مسیر پیام‌رسانی میوستاتین پرداختند. یافته‌های آنان نشان داد که پس از دوره تمرینی، سطح mRNA میوستاتین تا ۲۵٪ کاهش یافته است (۲۴). بر اساس مطالعه بیگلری و همکاران، هشت هفته تمرین تناوبی شدید منجر به

تفاوتی مشاهده نشد (۴۰). از نتایج متناقض با پژوهش حاضر، همچنین می‌توان به مطالعه زمان زاده و همکاران اشاره کرد. آنان نشان دادند که تمرینات هوازی، ترکیبی و مصرف استراگل بر ضخامت دیواره بین بطنی و ضربان قلب متعاقب انفارکتوس قلبی در موش‌های ویستار نر اثرگذار نیست و در این راستا پیشنهاد می‌گردد تحقیقات بیشتری صورت گیرد و یا تحقیقات بعدی با دوز متفاوت و تمرینات مختلف دیگری صورت گیرد (۴۱).

### نتیجه‌گیری

به طورکل نتایج به دست آمده حاکی از آن است که تمرین ترکیبی (هوازی و مقاومتی) تأثیر بیشتری نسبت به تمرین هوازی در بهبود شاخص‌های سلامت قلب دارد. با این حال جهت ارائه نتایج قطعی‌تر در این زمینه نیازمند مطالعات گسترده‌تری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات اساتید دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد که در انجام این مطالعه کمال همکاری را داشته‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

### تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

### حمایت مالی

این پژوهش حامی مالی ندارد.

### ملاحظات اخلاقی

تمام مراحل مربوط به کار با حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاداسلامی واحد بجنورد، با کد اخلاق IR.IAU.BOJNOURD.REC.1404.010 انجام شد.

### مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشته‌اند.

۱۲ هفته تمرین مقاومتی قرارداداشتند، افزایش یافت (۳۲). نتایج مطالعه کرمی و همکاران نیز نشان داد که میزان MMP-2 پلاسما بیماران مبتلا به بیماری شریان‌های کرونر (CAD) پس از دوره تمرینی در گروه تمرین هوازی همراه با مکمل‌سازی ویتامین‌های E و C نسبت به گروه تمرین هوازی به طور معنی‌داری بالاتر بود (۳۳). همچنین Nogueira و همکاران در بررسی اثرات رژیم غذایی پر پروتئین و تمرین مقاومتی بر بیومارکرهای قلبی نشان دادند که ترکیب رژیم غذایی پر پروتئین و تمرین مقاومتی باعث افزایش میزان فعالی MMP-2 می‌گردد (۳۴). قاسمی و عابدی نیز دریافتند که تمرین هوازی همراه با مصرف مکمل آل آرژنین سبب افزایش معنی‌دار MMP-9 و کاهش معنی‌دار TIMP-2 زنان دارای اضافه وزن می‌گردد (۳۵). از علل این تناقضات می‌تواند به تفاوت در شیوه‌های مختلف تمرین (شدت و مدت)، نوع بافت مورد نظر و سایر عوامل چون سلامت آزمودنی‌ها، مقدار عضلات درگیر در فعالیت و مصرف تغذیه اشاره کرد (۳۰، ۳۶).

Pincu و همکاران نیز نشان دادند که رژیم غذایی پرچرب سبب تجمع کلاژن شده و بیان ژن بیشتر پروتئین‌های ECM از جمله MMPs در بافت چربی اپیدیدیم می‌شود. با این حال، تمرین ورزشی سطوح این mRNA این فاکتور را تغییر نداد. البته باید به این نکته اشاره کرد که در این پژوهش محققین از نمونه کوچکی در گروه تمرینی (۳ موش) استفاده کرده بودند که تفسیر یافته‌ها را محدود می‌کند (۳۷).

در ارتباط با تفاوت بین تمرینات مختلف، اصغری و همکاران نشان دادند که تمرینات استقامتی، مقاومتی و تناوبی هوازی در افزایش لیپولیز در موش‌های نر نژاد ویستار تأثیر دارند و در جهت کاهش وزن استفاده می‌شوند ولی تفاوتی بین گروه‌های تجربی دیده نشد (۳۸). در مقابل نتایج پژوهشی دیگر از همین نویسندگان نشان داد که تمرینات تناوبی شدید نسبت به تمرینات مقاومتی و استقامتی از مزیت بیشتری برخوردار است (۳۹). چراغ بیرجندی و همکاران نیز بیان کردند که تمرینات تناوبی شدید، استقامتی و مقاومتی سبب کاهش عوامل پیش‌التهابی و افزایش عوامل ضدالتهابی در بافت چربی می‌شوند ولی بین گروه‌های تمرینی

## References

1. Morvaridzadeh M, Zoubdane N, Heshmati J, Alami M, Berrougui H, Khalil A. High-density lipoprotein metabolism and function in cardiovascular diseases: what about aging and diet effects? *Nutrients*. 2024;16(5):653.
2. Shanazari Z, Faramarzi M, Banitalebi E, Hemmati R. Effect of moderate and high-intensity endurance and resistance training on serum concentrations of MSTN and IGF-1 in old male Wistar rats. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. 2019;38(2):20180066.
3. Surówka A, Żołnierczuk M, Prowans P, Grabowska M, Kupnicka P, Markowska M, et al. The effects of chronic immunosuppressive treatment on morphological changes in cardiac tissue and the balance between matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and their inhibitors in the rat heart. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(8):4468.
4. Baron MA, Ferreira LRP, Teixeira PC, Moretti AIS, Santos RHB, Frade AF, et al. Matrix metalloproteinase 2 and 9 enzymatic activities are selectively increased in the myocardium of chronic chagas disease cardiomyopathy patients: Role of TIMPs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;12:836242.
5. Nystoriak MA, Bhatnagar A. Cardiovascular Effects and Benefits of Exercise: Matthew A. Nystoriak, Aruni Bhatnagar:[Ressource électronique]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2018;5(135):11.
6. Yamamoto S, Hotta K, Ota E, Mori R, Matsunaga A. Effects of resistance training on muscle strength, exercise capacity, and mobility in middle-aged and elderly patients with coronary artery disease: A meta-analysis. *Journal of Cardiology*. 2016;68(2):125-34.
7. Rashidlamir A, Hosseini SRA, Hejazi K, Anberani SMM. The effect of eight weeks resistance and aerobic training on myostatin and follistatin expression in cardiac muscle of rats. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*. 2016;8(4):164.
8. Hassannattaj R, Safarzadeh A, Nasiri K. The effect of resistance training with two different volumes on the expression of myokine genes involved in the regulation of muscle growth in diabetic rats induced by high-fat diet and streptozotocin. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2024;16(1):129-41.
9. Teymuri Kheravi M, Nayeibifar S, Aletaha SM, Sarhadi S. The effect of two types of exercise preconditioning on the expression of TrkB, TNF- $\alpha$ ,

- and MMP2 genes in rats with stroke. *BioMed Research International*. 2021(1):5595368.
10. Akbari N, Peeri M, Azarbayjani M, Delfan M. Comparison of the effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval training on the gene expression of TIMP-2 and MMP-2 in male diabetic rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2020;26(10):107-16.
11. Ramezani S, Skishahr FS. The effect of 8 weeks of moderate intensity continuous training on the expression of apoptotic genes in heart tissue of aged rats. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*. 2024;16(2):45-53. (in Persian)
12. Sanches IC, Buzin M, Conti FF, Dias DdS, Santos CPd, Sirvente R, et al. Combined aerobic and resistance exercise training attenuates cardiac dysfunctions in a model of diabetes and menopause. *PLoS One*. 2018;13(9):e0202731.
13. Nazem F, Salehikia A. The effect of interference of endurance and concurrent (endurance-resistance) training programs on femoral bone mineral density and mechanical strength of osteoporotic male rats. *Armaghane Danesh*. 2016;20(10):873-87. (in Persian)
14. Delshad A, Dashti MS, Talashan F, Mahramifar M. Comparison of aerobic and combined (resistance-aerobic) training on changes in angiogenesis, alkanin phosphatase and CRP as risk factors for cardiovascular disease in elderly men. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2022;26(3):311-9. (in Persian)
15. Ghasemian SO, Seyyed A, Bazdar Teshnizi M, Mostajir M, Karimi-Dehkordi M. Effect of high-intensity interval training on cardiac oxidative stress parameters and blood serum biochemical profile in ovariectomized aged rats. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*. 2023;36(3):226-39. (in Persian)
16. Gabbett TJ, Oetter E. From tissue to system: what constitutes an appropriate response to loading? *Sports Medicine*. 2025;55(1):17-35.
17. Torabi Palat Kaleh G, Abdi A, Abbasi-Daloi A. The effect of aerobic exercise and omega-3 on inflammatory and oxidative stress in the heart tissue of elderly HFD Rats. *Journal of Isfahan Medical School*. 2023;41(716):277-86.
18. Khalesi M. Effect of a period of swimming exercise on Sirt1 and FoxO3a genes expression in lung tissue of wistar rats. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2018;25(2):251-8. (in Persian)
19. Sepe JJ, McKay LE, Hacker TA, Diffie GM. Exercise increases myocardial TIMP-2 protein levels and is associated with cardioprotection

- against myocardial ischemia-reperfusion injury. The FASEB Journal. 2019;33(S1):833.17-17.
20. Jokar M, Amirahmadi M, Sherafati Moghadam M. The effect of endurance training on the content myostatin and Smad2/3 proteins in the left ventricular tissue of the heart muscle of type 1 diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders. 2021;20(3):191-9.
21. Roth SM, Martel GF, Ferrell RE, Metter EJ, Hurley BF, Rogers MA. Myostatin gene expression is reduced in humans with heavy-resistance strength training: a brief communication. Experimental Biology and Medicine. 2003;228(6):706-9.
22. Yang J, Sun L, Fan X, Yin B, Kang Y, Tang L, et al. Effect of exercise on bone in poorly controlled type 1 diabetes mediated by the ActRIIB/Smad signaling pathway. Experimental and Therapeutic Medicine. 2018;16(4):3686-93.
23. Beigi M, Keshavarz S, Banaei J, Zahedi H. The Effect of Eight Weeks of High-Interval Training on Activin Receptor Type II in Heart and Plasma Levels of Myostatin in Male Rats. Journal of Isfahan Medical School. 2020;38(561):8-13. (in Persian)
24. Santos A, Neves Jr M, Gualano B, Laurentino G, Lancha Jr A, Ugrinowitsch C, et al. Blood flow restricted resistance training attenuates myostatin gene expression in a patient with inclusion body myositis. Biology of Sport. 2014;31(2):121-4.
25. Biglari S, Gaeini AA, Kordi MR, Ghardashi Afousi A. The effect of 8 weeks high-intensity interval training on myostatin and follistatin gene expression in gastrocnemius muscle of the rats. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2018;21(1):1-10. (in Persian)
26. Rashidlamir A, Basami MR, Attarzadeh Hosseini SR, Motevalli Anberani SM. 8 weeks of resistance training effect on myostatin gene expression of myocardium in healthy male wistar rats. Internal Medicine Today. 2016;22(2):111-6.
27. Khorand N, Kordi M, Shabkhiz F. The effect of the type of Exercise training on the expression of MMP-2, MMP-9 and Timp-1 genes in female C57BL6 mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. Sport Physiology & Management Investigations. 2025;16(4):27-41. (in Persian)
28. Kadoglou N, Vrabas I, Sailer N, Kapelouzou A, Fotiadis G, Noussios G, et al. Exercise ameliorates serum MMP-9 and TIMP-2 levels in patients with type 2 diabetes. Diabetes & metabolism. 2010;36(2):144-51.
29. Bordbarazari B, Gholami M, Ebrahim K, Abed Natanzi H, Ghazalian F. The effect of endurance training along with L-arginine supplementation on the levels of MMP-2 and MMP-9 in postmenopausal hypertensive women. Journal of Basic Research in Medical Sciences. 2019;6(4):20-8.
30. Haghighi Naghani N, Fathi M. The Effect of an incremental exercise training period on the protein expression of MMP-2 and MEF2C in cardiac muscle tissue of diabetic wistar rats. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2023;26(2):45-62. (in Persian)
31. Hakimi V, Mohebbi H, Mirzaei B. The effect of simultaneous high intensity interval training (HIIT) and high-fat diet on TGF-B1, MMP-9 and MMP-2 in the subcutaneous adipose tissue of male rats. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders. 2024;24(4):245-56.
32. Leite RD, Durigan RdCM, de Souza Lino AD, de Souza Campos MV, das Graças Souza M, Selistre-de-Araújo HS, et al. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. Metabolism. 2013;62(10):1477-84.
33. Karmi E, Shabani R, Rahmaniya F, Elmiye A, Rezagholizadeh M. The effects of 8 weeks aerobic training and vitamins E & C supplementation on the plasma levels of MMP-2 and MMP-9 in patients with coronary heart disease. 2025. 30(1), 1-17. (in Persian)
34. Nogueira ME, Sousa Neto IV, Motta-Santos D, Cantuaria APdC, Lima SMdF, Rezende TMB, et al. High-protein diet associated with resistance training reduces cardiac TNF- $\alpha$  levels and up-regulates MMP-2 activity in rats. Archives of Physiology and Biochemistry. 2022;128(6):1630-6.
35. Ghasemi F, Abedi B. The effect of eight weeks of aerobic exercise with L-Arginine supplementation on MMP-9, TIMP-2 overweight women. Journal of Sports Science. 2023;15(49):91-114.
36. Akbari N, Azarbayjani MA, Delfan M. Effect of high intensity interval training (HIIT) on the gene expression of MMP-2, COL-III and myocardial function in type 2 diabetic rats. Research in Medicine: Journal of Research in Medical Sciences. 2020;44(2).
37. Pincu Y, Huntsman HD, Zou K, De Lisio M, Mahmassani ZS, Munroe MR, et al. Diet-induced obesity regulates adipose-resident stromal cell quantity and extracellular matrix gene expression. Stem Cell Research. 2016;17(1):181-90.
38. Asghari S, Cheragh-Birjandi S, Rezaeian N, Rezaei V. The effect of high-fat diet and different training programs on the expression of Meteorin-Like hormone and Angiopoietin-like protein 4 genes in adipose tissue of male Wistar rats. Journal of Sport and Exercise Physiology. 2024;17(4):56-70.

39. Asghari S, Cheragh Birjandi S, Rezaeian N, Rezaei V. Investigating the effect of obesity and different trainings on the expression of Irisin, uncoupled protein type 1 (UCP-1) and Beta-Aminoisobutyric Acid (BAIBA) genes in adipose tissue of male wistar rats. Journal of Jiroft University of Medical Sciences. 2024;11(2):1532-43. (in Persian)
40. Cheragh Birjandi S, Sangbari toroghi E, Yaghoubi A, Teymuri Kheravi M. Evaluation of the effect of exercise on the expression of IL-1 $\beta$  and SFRP5 genes in the adipose tissue of obese male Wistar rats. Feyz Medical Sciences Journal. 2024;28(6):587-94. (in Persian)
41. Zamanzadeh MH, Keshavarz S, Banaii Broojeni J, Zahedi H. The effect of aerobic exercises and stragolTM consumption on heart rate and left ventricular wall thickness following a myocardial infarction in male Wistar Rats. Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences. 2022;65(5):- (in Persian)

## A Comparative Study of the Effects of Aerobic and Combined (Aerobic and Resistance) Training on some Heart Health Indicators (MMP-2, TIMP-2, and MSTN) in Adult Male Rats

Received: 27 May 2025

Accepted: 7 Aug 2025

Romina Homaye Razavi<sup>1</sup>, Sadegh Cheragh-Birjandi<sup>2\*</sup>, Mostafa Teymuri-Kheravi<sup>2</sup>, Vahid Rezaei<sup>2</sup>, Najmeh Rezaeian<sup>2</sup>,

1. Ph.D Candidate, Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran 2. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

### Abstract

**Introduction:** Assessment of cardiovascular disease-related biomarkers such as matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) may help predict the onset of these diseases. The present study aimed to evaluate and compare the effects of aerobic and combined (aerobic and resistance) training on specific cardiac health indicators in adult male Wistar rats.

**Materials and Methods:** A total of 24 adult male Wistar rats (18-20 months old, 300-380 g, obtained from Razi Serum Institute, Mashhad) were randomly divided into three groups: combined training, aerobic training, and control (n=8 each). The combined training group performed aerobic exercise (treadmill running at 40-60% of maximum speed, 60 minutes) and resistance exercise (climbing a rodent-specific ladder at 40-60% of one-repetition maximum, 45 minutes) on alternate days, five days a week for eight weeks. At 48 hours following the final training session, cardiac tissue samples were obtained, and the gene expression of myostatin, MMP-2, and TIMP-2 was measured using Real-Time PCR. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post hoc test at a significance level of  $p < 0.05$ .

**Results:** A significant decrease in myostatin and MMP-2 expression was observed in both exercise groups compared to the control group ( $p < 0.01$ ). MMP-2 reduction was also significantly greater in the combined group than in the aerobic group ( $p < 0.01$ ). TIMP-2 expression increased significantly in both exercise groups compared to the control ( $p < 0.01$ ), with a more pronounced increase in the combined group relative to the aerobic group ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** The findings indicate that combined training has a greater impact than aerobic training in improving cardiac health markers. However, more extensive studies are needed for definitive conclusions.

**Keywords:** Combined training; Aerobic exercises; MMP-2; TIMP-2; MSTN

**\*Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

**Email:** birjandi@bojnourdiau.ac.ir

**Tel:** +989153622592

**Fax:** +985832296977