

The Interactive Effect of Purified Ginseng-derived Exosomes with Endurance Training on Motor Function, Muscle Expression of CDK1 and Pax7 Genes, and Pax7 Protein Concentration in Aged Rats

Alireza Jadid^{ID}, Alireza Rahimi^{ID}, Fariba Aghaei^{ID}, Amir Sarshin^{ID}

Department of Exercise Physiology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

Abstract

Background and Purpose: Given the decline in satellite cell activation during aging, understanding effective strategies for regulating muscle stem cell differentiation and proliferation is essential for developing treatment strategies for muscle disorders. Exercise has been identified as an effective intervention to reduce age-related muscle mass and function loss. In addition, ginseng supplementation may play a role in activating and restoring satellite cell pools, especially in conjunction with exercise. Therefore, the aim of this study was to investigate the interactive effect of ginseng-purified exosome with endurance exercise on motor performance, muscle expression of CDK1 and Pax7 genes, and Pax7 protein concentration in aged rats.

Materials and Methods: Twenty male Wistar rats aged 16-20 months were randomly divided into 4 equal groups including control, aged + solvent (distilled water), aged + ginseng, aged + exercise, and aged + ginseng + exercise. Endurance training consisted of 30 minutes of continuous running on a treadmill without incline at a speed of 5 to 20 meters per minute with overload for 6 weeks, 5 sessions per week. Supplementation with purified exosomes from ginseng extract, 10 ml/kg body weight, was performed by gavage one hour before activity. 72 hours before sacrificing the samples, the cylinder functional test was performed to evaluate sensory motor function and spontaneous physical activity. Finally, the expression of CDK1 and Pax7 genes was measured by Real-time PCR and the relative abundance of Pax7 protein was measured by Western blot in the soleus muscle. The obtained data were analyzed using two-way ANOVA test at the $P \leq 0.05$ level.

Results: Endurance training and supplementation with purified ginseng-derived exosomes, each independently, resulted in significant increases in CDK1 gene expression ($P = 0.001$ for training; $P = 0.007$ for supplementation), Pax7 gene expression ($P = 0.001$ for both interventions), Pax7 protein concentration ($P = 0.001$ for both interventions), and significantly improved motor function ($P = 0.001$ for both interventions). However, no significant interactive effects of endurance training combined with ginseng supplementation were observed on CDK1 expression ($P = 0.144$), Pax7 expression ($P = 0.188$), Pax7 protein concentration ($P = 0.861$), or motor function ($P = 0.592$).

Conclusion: It appears that endurance training and ginseng-derived exosomes, each independently, may serve as effective strategies for counteracting age-related muscle atrophy, likely through increasing the expression of Pax7 and CDK1 and enhancing motor function. However, given the non-significant interactive effects of the two interventions, adding ginseng supplementation to an already effective training program may not confer additional benefits in boosting satellite cell markers or muscle endurance. This lack of synergy may be attributed to shared cellular signaling pathways underlying both interventions.

Keywords: Aerobi Exercise, Ginsenoside, Aging, Satellite Cell, Pax7

How to cite this article: Jadid, A., Rahimi, A., Aghaei, F., Srashin, A. The Interactive Effect of Purified Ginseng-derived Exosomes with Endurance Training on Motor Function, Muscle Expression of CDK1 and Pax7 Genes, and Pax7 Protein Concentration in Aged Rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(3):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: arrahimi@kiaau.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2026.244061.1451>

Received: 00/00/2025

Revised: 00/00/2025

Accepted: 00/00/2025

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

نسخه پیش انتشار

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۳، صفحه‌های ۹-۹

مقاله پژوهشی

اثر تعاملی اگزوزوم تخلیص شده از جینسنگ با تمرین استقامتی بر عملکرد حرکتی، بیان عضلانی ژن‌های Pax7، CDK1 و غلظت پروتئین Pax7 در موش‌های مسن

علیرضا جدید^{id}، علیرضا رحیمی*^{id}، فریبا آقایی^{id}، امسر سرشین^{id}

گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به کاهش فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای طی فرایند پیری، شناخت راهکارهای موثر در تنظیم تمایز و تکثیر سلول‌های بنیادی عضله برای توسعه استراتژی‌های درمان اختلالات عضلانی ضروری است. فعالیت ورزشی به‌عنوان مداخله‌ای موثر برای کاهش از دست دادن توده و عملکرد عضلانی مرتبط با سن معرفی شده است. به علاوه، مکمل‌یاری با جینسنگ می‌تواند در فعال‌سازی و بازیابی حوضچه‌های سلول‌های ماهواره‌ای به‌ویژه در کنار فعالیت ورزشی نقش داشته باشد. لذا هدف این مطالعه بررسی اثر تعاملی اگزوزوم تخلیص شده از جینسنگ با تمرین استقامتی بر عملکرد حرکتی، بیان عضلانی ژن‌های Pax7، CDK1 و غلظت پروتئین Pax7 در موش‌های مسن می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۲۰ سر موش صحرایی نر ویستار با سن ۱۶-۲۰ ماهه به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی شامل کنترل مسن + حلال (آب مقطر)، مسن + جینسنگ، مسن + تمرین و مسن + جینسنگ + تمرین تقسیم شدند. تمرین استقامتی به مدت ۶ هفته، ۵ جلسه در هفته شامل ۳۰ دقیقه دویدن تداومی روی نوارگردان بدون شیب با سرعت ۵ تا ۲۰ متر در دقیقه همراه با اضافه بار بود. مکمل‌یاری با اگزوزوم تخلیص شده از عصاره جینسنگ، ۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم وزن بدن یک ساعت پیش از فعالیت به صورت گاوژ انجام شد. ۷۲ ساعت قبل از فدا نمودن نمونه‌ها، آزمون عملکردی استوانه (Cylinders) جهت ارزیابی عملکرد حسی حرکتی و فعالیت فیزیکی خودبه‌خودی اجرا شد. در نهایت، بیان ژن‌های Pax7 و CDK1 به روش Real-time PCR و همچنین غلظت نسبی پروتئین Pax7 به روش وسترن بلات در عضله نعلی اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده توسط آزمون آنوای دو عاملی در سطح $P \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: تمرین استقامتی و مکمل‌یاری با اگزوزوم تخلیص شده از عصاره جینسنگ هر کدام به طور جداگانه توانستند باعث افزایش معنادار بیان ژن‌های CDK1 ($P=0.001$ برای تمرین و $P=0.007$ برای مکمل)، Pax7 ($P=0.001$ برای هر دو مداخله) و افزایش غلظت پروتئین Pax7 ($P=0.001$ برای هر دو مداخله) و همچنین بهبود معنادار عملکرد حرکتی ($P=0.001$ برای هر دو مداخله) شوند. با این حال، اثر تعاملی معنادار تمرین استقامتی به همراه مکمل‌یاری با عصاره جینسنگ بر بیان ژن‌های CDK1 ($P=0.144$)، Pax7 ($P=0.188$)، غلظت پروتئین Pax7 ($P=0.861$) و عملکرد حرکتی ($P=0.592$) مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که تمرین استقامتی و آگروزوم عصاره جینسنگ هر کدام به تنهایی احتمالاً می‌توانند از طریق افزایش بیان Pax7 و CDK1 و بهبود عملکرد حرکتی، راهکارهای موثری برای مقابله با آتروفی عضلانی در سالمندی باشند. با این حال، با توجه به اثر تعاملی غیرمعنادار دو مداخله، افزودن مکمل جینسنگ به یک برنامه‌ی تمرینی از پیش اثربخش، شاید مزیت اضافه‌ای در تقویت نشانگرهای سلول‌های ماهواره‌ای یا استقامت عضلانی ایجاد نکند و احتمالاً مکانیسم‌های مشترک سیگنالینگ سلولی هر دو مداخله، پاسخ سینرژیستی را محدود می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: ورزش هوازی، جینسنوزید، سالمندی، سلول ماهواره‌ای، Pax7

نحوه استناد به این مقاله: جدید ع، رحیمی ع، آقایی ف، سرشین ا. اثر تعاملی آگروزوم تخلیص شده از جینسنگ با تمرین استقامتی بر عملکرد حرکتی، بیان عضلانی ژن‌های Pax7، CDK1 و غلظت پروتئین Pax7 در موش‌های مسن. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۳(۳): ۱-۹.

* رایانامه نویسنده مسئول: arashimi@kiauo.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰

مقدمه

با وقوع فرایند پیری، سرعت سنتز پروتئین عضلانی و هم‌چنین ظرفیت ترمیم عضلات کاهش می‌یابند. این رخدادها در نهایت می‌تواند منجر به ناتوانی، سستی، بیماری، وابستگی به دیگران، سقوط و شکستگی‌های استخوانی در افراد سالمند شود که از پیامدهای منفی این دوران محسوب می‌گردد (۱). افزایش سن تغییراتی را در خود عضلات اسکلتی ایجاد می‌کند؛ از جمله کاهش تعداد هسته‌های عضلانی همراه با کاهش فعال‌سازی و تکثیر در سلول‌های ماهواره‌ای که برای انجام فرآیندهای ترمیم ضروری برای حفظ یکپارچگی تار عضلانی در طول زمان حیاتی است (۲).

بر این اساس، درک مکانیسم تنظیم تمایز و تکثیر سلول‌های بنیادی عضلانی برای توسعه استراتژی‌هایی برای درمان اختلالات عضلانی مانند آسیب عضلانی و آتروفی که در دوران سالمندی رخ می‌دهد، ضروری است. تکثیر سلولی توسط تنظیم کننده‌های چرخه سلولی، مانند سایکلین‌ها و کینازهای وابسته به سایکلین تنظیم می‌شود. به ویژه کیناز وابسته به سایکلین-۱^۱ (CDK1) که در مایوبلاست‌ها به شدت بیان می‌شود و با تمایز مایوبلاست‌ها کاهش می‌یابد. شواهد موجود بیانگر این موضوع هستند که مهار فعالیت CDK1 از تکثیر مایوبلاست جلوگیری می‌کند. حذف CDK1 در سلول‌های ماهواره‌ای، با کاهش تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای در داخل عضلات منجر به مهار بازیابی عضلانی پس از آسیب می‌شود. در نهایت، شواهد مستقیمی ارائه شده است که نشان می‌دهد که بیان CDK1 در سلول‌های ماهواره‌ای برای هایپرتروفی تار عضلانی ضروری است. در مجموع، این نتایج نشان دهنده اهمیت CDK1 برای تکثیر مایوبلاست، بازسازی عضلات و هایپرتروفی عضلانی می‌باشد و این یافته‌ها می‌تواند به توسعه درمان‌هایی برای آسیب‌های عضلانی و آتروفی کمک کند (۳). از طرفی تجزیه و تحلیل گسترده موش‌های مهارشده در عامل رونویسی جعبه جفت‌شده Pax7^۲ (Pax7)، از دست دادن پیش‌رونده سلسله سلول‌های ماهواره‌ای در عضله اسکلتی را تایید کرده است که منجر به آتروفی شدید عضلانی و مرگ سلولی می‌شود. در نتیجه Pax7 از

¹ Cyclin-dependent kinase 1

² Paired Box Protein 7

دیگر عواملی است که نقش مهمی در تمایز سلول‌های ماهواره‌ای و ترمیم بافت ایفا می‌کند. پروتئین Pax7 در هسته سلول‌های ماهواره‌ای غیرفعال و در تمام سلول‌های بنیادی عضلانی یافت می‌شود و وظیفه تنظیم تقسیم و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای را بر عهده دارد (۴). علاوه بر این، عدم وجود Pax7 می‌تواند منجر به تشکیل اتصال عصبی عضلانی غیرطبیعی شود که بر پتانسیل تمایز مایوبلاست‌های جنینی در طول مراحل پیشرفته مایوژنز تأثیر می‌گذارد. به‌طور کلی، Pax7 یک فاکتور رونویسی کلیدی است که عملکرد سلول‌های ماهواره‌ای، پیشرفت مایوژنیک و فرآیندهای ترمیم بافت را هماهنگ می‌کند (۵). در همین راستا، کاهش تعداد و توانایی بازسازی سلول‌های ماهواره‌ای عضلانی در مدل‌های موش پیر تایید شده است. در طول پیری، بیان و عملکرد Pax7 و CDK1 در سلول‌های ماهواره‌ای عضلانی به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۶). این کاهش منجر به اختلال در چرخه سلولی، نقص در فعال‌سازی و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای و در نتیجه، تضعیف ظرفیت بازسازی و ترمیم عضلات می‌شود که از عوامل اصلی بروز آتروفی عضلانی مرتبط با سالمندی است (۷).

در طول فعالیت‌های معمول عضلانی، آسیب ظریف تارچه‌های عضلانی به خصوص با افزایش سن معمولاً رخ می‌دهد. از این رو، ترمیم مداوم عضله برای نگهداری تار عضلانی مورد نیاز است و نیاز به عرضه مداوم و کاربردی سلول‌های ماهواره‌ای در طول زندگی دارد. تمرین ورزشی نشان‌دهنده یک استراتژی مداخله‌ای موثر برای کاهش و یا حتی معکوس کردن از دست دادن توده و عملکرد عضلانی مرتبط با سن است. رفتار سلول‌های ماهواره‌ای در پاسخ سازگارانۀ عضله اسکلتی به محرک‌های آنابولیک به خوبی توصیف شده است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که افزایش توده عضلانی و محتوای هسته‌های عضلانی در پاسخ به ورزش با افزایش تعداد سلول‌های ماهواره‌ای و فعال‌سازی آن‌ها همراه است (۸). در راستای نقش بالقوه فعالیت ورزشی در بازیابی و ترمیم عضلات به واسطه‌ی سلول‌های ماهواره‌ای، اسنایدرز^۱ و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین ورزشی شدید، ۲ بار در هفته در آزمودنی‌های مسن، منجر به افزایش معنادار محتوای سلول‌های ماهواره‌ای در هر دو نوع تار عضلانی نوع I و II گردید (۹). سیسترنای^۲ و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان دادند که تمرین استقامتی روی نوارگردان به مدت ۱ ماه، ۵ روز در هفته و هر جلسه ۴۵ دقیقه با شدت پایین، توانست تعداد سلول‌های ماهواره‌ای عضلانی و فعال‌سازی آن‌ها را در موش‌های پیر افزایش دهد (۱۰). در همین راستا، شفر^۳ و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که ۱۳ هفته تمرین استقامتی سبک در موش‌های مسن، از طریق افزایش معنادار Pax7، منجر به افزایش تعداد و حوضه سلول‌های ماهواره‌ای و همچنین افزایش توده عضلانی شد (۱۱).

شواهد جدیدی در دسترس است که نشان می‌دهد که مکمل‌یاری با برخی گیاهان با خواص دارویی از جمله جینسنگ آسیایی می‌تواند نقش موثری در فعال‌سازی، بازیابی حوضه‌ها و افزایش تعداد سلول‌های ماهواره‌ای به ویژه در کنار فعالیت ورزشی داشته باشد (۱۲). چندین ترکیب در جینسنگ برای تنظیم توده عضلانی اسکلتی مورد بررسی قرار گرفته‌اند؛ قسمت ریشه این گیاه حاوی ساپونین‌های استروئیدی به نام جینسنوزید است و ریشه‌ها پرمصرف‌ترین قسمت گیاهی در درمان‌های طبیعی هستند. در راستای فواید ضد پیری جینسنگ و اثرات آن بر توده عضلانی در دوران سالمندی، یافته‌های پژوهش کیم^۴ و همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که مصرف عصاره جینسنگ در موش‌های مدل آتروفی عضلانی، منجر به افزایش معنادار وزن توده عضلانی و بیان زیر واحدهای اکسیداتیو زنجیره سنگین میوزین، بهبود عملکرد استقامتی و تنظیم کاهشی بیان ژن‌های مرتبط با آتروفی عضلانی شد (۱۳). همچنین دونگ^۵ و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که ۴ هفته مکمل‌یاری با جینسنوزید Rb1 مشتق از جینسینگ در موش‌های پیر، بیان عضلانی پروتئین نشانگر سلول‌های ماهواره‌ای یعنی Pax7 را افزایش داده و

¹ Snijders

² Cisterna

³ Shefer

⁴ Kim

⁵ Dong

با کاهش معنادار گونه‌های واکنشگر اکسیژن^۱ (ROS)، از کاهش وابسته به سن در تعداد سلول‌های ماهواره‌ای عضلات جلوگیری کرد (۱۴). در یکی از جدیدترین پژوهش‌ها در همین راستا، در سال ۲۰۲۴، گزارش شد که مصرف ۱ ماهه عصاره جینسنگ در موش‌های پیر، نشانگرهای تکثیر و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای یعنی MyoD و میوژنین را در عضلات افزایش داد. به علاوه، تجویز جینسنگ قطر مایوتیوب را افزایش و بیان mRNA مولکول‌های القا کننده سارکوپینی را سرکوب کرد؛ همچنین تجویز خوراکی جینسنگ توده عضلانی و عملکرد جسمانی را در موش‌های پیر مدل سارکوپینی بهبود بخشید (۱۵). علاوه بر این، شواهد اخیر نشان داده‌اند که نانوذرات آگروزوم مشتق شده از عصاره جینسنگ در مقایسه با عصاره معمولی، به دلیل ساختار لیپیدی دولایه و اندازه نانومتری، زیست‌دسترسی و پایداری ترکیبات فعال (مانند جینسنوزیدها و miRNA های تنظیم کننده) را افزایش داده و انتقال هدفمندتری به سلول‌های ماهواره‌ای عضلانی دارند (۱۶). این آگروزوم‌ها با انتقال مستقیم miRNA های خاص به سلول‌های هدف، مسیرهای کلیدی سیگنالینگ مانند PI3K/Akt را به‌طور مؤثرتری فعال کرده و منجر به افزایش معنادار فاکتورهای کلیدی میوژنیک نظیر Pax7 و MyoD در مقایسه با عصاره خام می‌شوند (۱۷). علاوه بر این، دوز مؤثر مورد نیاز برای القای تکثیر سلولی در این روش کمتر است که خطر سمیت سلولی را کاهش می‌دهد (۱۸). بنابراین، این فرم از جینسنگ، به عنوان یک سیستم دارو رسانی هوشمند، احتمالاً گزینه امیدوارکننده‌ای برای بهبود بازسازی عضلانی در پیری محسوب می‌شود.

بنابراین، داده‌های در حال ظهور نشان می‌دهد که استفاده از عصاره جینسنگ ممکن است در تقویت توده عضلانی، فعال کردن سلول‌های ماهواره‌ای خاموش و تسهیل بازیابی عضلانی در سالمندان از طریق مسیرهای بیولوژیکی متنوع، نویدبخش باشد (۱۵-۱۲). با این وجود، علی‌رغم این یافته‌های امیدوارکننده، مکانیسم دقیق زیربنای اثربخشی درمانی آن تا حدی مبهم باقی مانده است (۱۷). علاوه بر این، تمرین استقامتی به عنوان یک استراتژی کارآمد برای معکوس کردن از دست دادن توده و عملکرد عضلانی مرتبط با سن مطرح شده است (۸، ۱۰). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که افزایش توده و محتوای هسته‌های عضلانی در پاسخ به ورزش استقامتی با افزایش تعداد سلول‌های ماهواره‌ای و وضعیت فعال‌سازی آن‌ها همراه است (۱۱، ۱۰). با این حال، پژوهش‌های اندکی به اثرات همزمان فعالیت ورزشی استقامتی و مکمل‌یاری با جینسنگ بر تغییرات توده عضلانی و وضعیت سلول‌های ماهواره‌ای ناشی از افزایش سن پرداخته‌اند؛ مهم‌تر این که بررسی عملکرد حسی حرکتی در موش‌های پیر ضروری به نظر می‌رسد زیرا شاخصی کاربردی برای انعکاس پیامدهای عملکردی تغییرات مولکولی به شمار می‌رود و می‌تواند ارتباط میان بهبود مسیرهای بازسازی عضله (مانند Pax7 و CDK1) و ارتقای توانایی حرکتی را روشن‌تر سازد. این رویکرد با پیوند شواهد زیستی و داده‌های عملکردی، دیدگاه عملی‌تری برای توسعه راهبردهای مقابله با تحلیل عضلانی وابسته به سن فراهم می‌کند.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این مطالعه تجربی و با هدف بنیادی از نرم‌افزار آماری G Power برای تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز استفاده گردید. با انتخاب آزمون F در این نرم افزار و سپس روش آماری تحلیل واریانس (اثرات اصلی و تعاملی)، اندازه اثر بزرگ یا قوی، میزان α معادل ۰/۰۵ و توان آماری ۰/۸۰ در نظر در نظر گرفته شد و در نهایت ۲۰ سر موش برای ۴ گروه تعیین شد. استفاده از اندازه اثر بزرگ، بر اساس اندازه اثر گزارش شده در نتایج حاصل از پژوهش‌های پیشین است. موش‌های صحرایی مسن (۱۶ تا ۲۰ ماهه) نر و از نژاد ویستار با میانگین وزن بدن 400 ± 50 گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. موش‌های مسن به مدت دو هفته با هدف سازگاری با محیط در قفس‌هایی استاندارد از جنس پلی کربنات شفاف، به

¹ Reactive Oxygen speices

صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند و به آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی که تولید شرکت خوراک دام به‌پرور است، به‌صورت آزادانه دسترسی داشتند. لازم به ذکر است که تمامی روش‌های آزمایشگاهی در این پژوهش مطابق با دستورالعمل مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی ARRIVE و همچنین مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی صورت گرفت. این تحقیق بر اساس طرح پژوهشی رساله دکتری با کد ۱۶۲۹۹۴۸۳۷ که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ثبت شده است، انجام شد.

روش اجرای پژوهش: نمونه‌های مسن پس از سازگاری با محیط جدید، به روش تصادفی ساده به چهار گروه شامل پنج سر موش در هر گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل مسن + حلال، شامل موش‌های مسن که به مدت ۶ هفته در زمان‌های مشابه به عنوان زمان تمرین، روی نوار گردان ساکن و قفل شده، قرار گرفتند و فقط حلال (آب مقطر) دریافت کردند. ۲- گروه مسن + جینسنگ، شامل موش‌های مسن که به مدت ۶ هفته مکمل آگروزوم تخلیص شده از عصاره جینسنگ دریافت کردند. ۳- گروه مسن + تمرین، شامل موش‌های مسن که به مدت ۶ هفته به تمرین استقامتی پرداختند. ۴- گروه مسن + جینسنگ + تمرین شامل موش‌های مسن که به مدت ۶ هفته هم مداخله مکمل و هم مداخله فعالیت بدنی را دریافت کردند. با توجه به محدودیت‌های جدید ارائه شده توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و جلوگیری از کشتار بی‌رویه حیوانات و به منظور اخذ کد اخلاق، پیشنهاد شد که حداقل تعداد حیوانات مد نظر قرار گیرد.

جهت به حداقل رساندن استرس‌های محیطی و حذف پاسخ‌های ناشی از شوک‌های روانی ناشی از نوارگردان، پروتکل آشناسازی قبل از شروع مداخله اصلی اجرا گردید. در این راستا، نمونه‌های گروه مسن + تمرین و گروه مسن + جینسنگ + تمرین، به مدت دو هفته و ۵ روز در هفته، تحت پروتکل سازگاری با دویدن روی نوارگردان قرار گرفتند. این جلسات شامل ۲۰ دقیقه فعالیت با سرعت ۵ الی ۱۰ متر بر دقیقه بود. این رویکرد به منظور تطبیق عصبی-عضلانی و اطمینان از توانایی آزمودنی‌های مسن در تکمیل پروتکل اصلی تمرین (۶ هفته) طراحی شد؛ روز قبل از اجرای پروتکل تمرین، پایلوت برنامه تمرینی بر روی پنج سر موش جهت برآورد حداکثر سرعت دویدن (سرعت رسیدن به واماندگی) مناسب پروتکل تمرین انجام شد؛ نمونه‌ها آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب صفر درجه اجرا کردند که با سرعت پنج متر بر دقیقه آغاز و سرعت تدریجی به ازای هر دو دقیقه، دو متر بر دقیقه افزوده می‌شد تا موش‌ها قادر به دویدن نباشند (واماندگی)؛ در این آزمون سرعت ۲۵ متر در دقیقه سرعت لازم جهت رسیدن به واماندگی حاصل گردید (۱۹). پروتکل تمرین استقامتی بر مبنای الگویی از دستورالعمل حاجی مقصودی و همکاران (۲۰۲۰)، ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته بود. این پروتکل شامل دویدن تداومی روی نوارگردان با گرم کردن به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۵ متر در دقیقه آغاز شد. تمرین اصلی دویدن به مدت ۳۰ دقیقه بدون شیب به صورت تداومی بود که با سرعت ۱۰ متر در دقیقه در هفته اول اجرا شده و هر هفته اضافه باری معادل ۲ متر در دقیقه اعمال شد؛ به طوری که سرعت دویدن در هفته آخر به ۲۰ متر در دقیقه رسید. در پایان بدنه اصلی تمرین، سرد کردن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه نیز انجام شد (۲۰).

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی

مجموع زمان گرم کردن و سرد کردن (دقیقه)	بدنه اصلی تمرین (دقیقه)	هفته‌های تمرینی	شدت (متر/دقیقه)	شدت (درصد حداکثر سرعت دویدن)	اضافه بار
		اول	۱۰	۴۰	۲ متر/دقیقه هر هفته
دویدن با سرعت ۵ متر/دقیقه مجموعاً به مدت ۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه - دویدن تداومی بدون شیب	دوم	۱۲	۴۸	
		سوم	۱۴	۵۶	
		چهارم	۱۶	۶۴	
		پنجم	۱۸	۷۲	
		ششم	۲۰	۸۰	

در این مطالعه، نانوذرات اگزوزوم مشتق از جینسینگ (GDE)، مطابق با دستور العمل کیونگ^۱ و همکاران (۲۰۲۳)، با استفاده از روش اولتراسانتریفیوژ بالشتکی ساکارز جداسازی شد. این روش، یکی از تکنیک‌های استاندارد، ملایم و دقیق برای جداسازی اگزوزوم‌ها و نانوذرات مشتق از گیاهان است. این روش به‌ویژه در استخراج GDE بسیار پرکاربرد است، زیرا مانع از له‌شدن، تغییر شکل و تخریب ساختار وزیکول‌ها می‌شود. بدین منظور، ریشه جینسینگ در بافر PBS هموژنیزه شده و سوسپانسیون حاصل به ترتیب تحت سانتریفیوژهای متوالی با سرعت‌های ۳۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، ۲۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه و ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد تا سلول‌ها، بقایا و وزیکول‌های درشت حذف شوند. سپس، مایع رویی به آرامی روی یک بالشتک ساکارز ۳۰٪ (w/v) در لوله اولتراسانتریفیوژ لایه‌گذاری شده و در ۱۰۰،۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۷۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ می‌شود. لایه حاوی GDE‌ها از مرز بالشتک ساکارز جمع‌آوری شده، با PBS رقیق و مجدداً در ۱۰۰،۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۷۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌گردد تا ساکارز حذف شود. پلت نهایی در حجم مناسبی از PBS سوسپانسیون شده و برای آنالیزهای بعدی نگهداری شد. مورفولوژی GDE‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری و تعداد ذرات و توزیع اندازه آن‌ها با آنالیز ردیابی نانوذرات ارزیابی شد (۲۱).

در نهایت، مکمل‌یاری با اگزوزوم تخلیص شده از عصاره ریشه گیاه جینسینگ کره‌ای (Panax Ginseng)، طبق پروتکل لین^۲ و همکاران (۲۰۲۱)، به مدت ۶ هفته و ۵ جلسه در هفته مطابق با روزهای تمرین، ۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم وزن بدن یک ساعت پیش از فعالیت به صورت گاواژ انجام شد (۲۲).

پس از پایان مداخلات فعالیت بدنی و مکمل‌یاری، ۷۲ ساعت قبل از کشتار نمونه‌ها، به منظور ارزیابی عملکرد حسی حرکتی و فعالیت فیزیکی خودبه‌خودی در موش‌های مسن، از تست استوانه (Cylinders) استفاده شد. در این آزمون، موش در یک استوانه شفاف قرار می‌گیرد و کاوش پنجه جلویی با تعداد مواردی که حیوان از هر پنجه برای لمس استوانه استفاده می‌کند، ثبت و ارزیابی می‌شود. از یک باتری مخصوص (باتری SHIRPA) که از محیط‌های تعریف‌شده برای مشاهده و ثبت رفتارها

¹ Kyong

² Lin

استفاده می‌کند، در این آزمون استفاده شد. موش‌ها در یک استوانه شفاف قرار می‌گیرند و با تجهیزات ویدئویی از پایین و از کنار فیلم‌برداری می‌شوند. استفاده از پنجه را می‌توان با اندازه‌گیری تعداد تماس‌های دیواری اندام جلویی (حمل بار) که با پنجه حیوان انجام می‌شود و یا مدت زمانی که پنجه‌ها در تماس با دیواره‌ها هستند، تعیین کرد. انجام این تست آسان است، برای ارزیابی دقیق بیش از ۵ دقیقه مشاهده طول نمی‌کشد و نیازی به آموزش ندارد (۲۳). ممکن است که تغییرات مثبت در این آزمون بتواند تا حدی منعکس‌کننده وضعیت عملکرد حرکتی و احتمالاً کاهش محدودیت‌های عضلانی مرتبط با سن باشد (۲۴). مشاهده بهبود در عملکرد حرکتی و رفتار اکتشافی موش‌های مسن ممکن است در بخشی ناشی از بهبود وضعیت عضلات و در بخشی دیگر ناشی از بهبود وضعیت عصبی باشد. از آنجا که موش‌های مسن به کاهش عملکرد حرکتی و عضلانی دچار هستند و رفتار حرکتی خودبه‌خودی در آزمون استوانه تا حدی به توان تحمل وزن و استفاده از اندام‌ها وابسته است (۲۵)، بنابراین بهبود در امتیاز این آزمون عملکردی می‌تواند انعکاسی از بهبود ظرفیت حرکتی مرتبط با عضله نیز باشد (۲۴).

به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، ۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و گاواژ مکمل، بافت‌برداری عضله نعلی در هر گروه انجام شد. حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی گرم کتامین به زایلازین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و برداشت بافت عضله نعلی به میزان ۵۰ تا ۶۰ میلی گرم بلافاصله انجام شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله در میکروتیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز گردید.

روش‌های آزمایشگاهی: بیان ژن‌های CDK1 و Pax7 با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی (Real-Time PCR) (سیستم‌های زیستی کاربردی، دستگاه‌های تشخیص توالی پرایمرها) در آزمایشگاه هیستونوتک بافت و ژن پاسارگاد تهران مورد بررسی قرار گرفت. استخراج ریبونوکلیک اسید^۳ (RNA) به صورت RNX-Pluse (یک معرف تجاری برای استخراج RNA) و به منظور بررسی کیفیت و کمیت آن از روش اسپکتروفوتومتری^۴ و الکتروفورز بروی ژل آگارز استفاده شد. ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن‌های Pax7 و CDK1 با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. آغازگرها^۵ پرایمرها توسط نرم‌افزار کامپیوتری AllelID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST (ابزار پایه‌ی تطابق محلی توالی‌ها) جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از استخراج RNA، محصول دئوکسی نوکلئیک اسید مکمل^۶ (cdNA) ساخته شد؛ به این منظور، ۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج‌شده با یک میکرولیتر رندوم هگزامر به هر نمونه اضافه و یک میکرولیتر دئوکسی نوکلئوتید تری‌فسفات‌ها^۷ (dNTPs) به هر میکروتیوب اضافه شد. میکروتیوب حاوی محلول بالا به مدت پنج دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده شد تا ساختارهای ثانویه از بین برود. به ازای هر نمونه، دو میکرولیتر از بافر x10، یک میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس و یک میکرولیتر از مهارکننده آنزیم تجزیه‌گر RNA^۸، اضافه و بلافاصله میکروتیوب‌ها به مدت یک دقیقه روی یخ قرار داده شد. نمونه‌ها داخل دستگاه ترموسایکلر^۹ قرار داده شده و زمان‌بندی شامل ۲۵ درجه سلسیوس در پنج دقیقه، ۵۵ درجه سلسیوس برای ۶۰ دقیقه و ۸۵ درجه سلسیوس در پنج دقیقه اجرا شد. پس از پایان کار، نمونه‌ها به دمای ۲۰- درجه سلسیوس منتقل شدند. روش cdNA سازی مربوط به شرکت Gene All کره است. فرایند Real Time به صورت دو مرحله‌ای انجام شد. مرحله سنتز cdNA با استفاده از کیت هایپراسکرپت^{۱۰}

¹ Real-time polymerase chain reaction

² Applied Biosystems, Sequence Detection Systems

³ Ribonucleic acid

⁴ Spectrophotometry

⁵ Primers

⁶ Complementary deoxynucleic acid

⁷ Deoxynucleotide triphosphate

⁸ RNase inhibitor

⁹ Thermocycler

¹⁰ HyperScript

شرکت GeneAll کره جنوبی طبق روش ذکر شده انجام گرفت. مرحله تکثیر نیز با استفاده از مستر آماده سایبرگرین^۱ متعلق به شرکت AMPLIQON با نام تجاری RealQ Plus 2x Master Mix Green صورت گرفت. این مستر به صورت شروع سریع در دمای بالا^۲ است و برای انجام مرحله تکثیر، تنها به مستر پرایمر، آب و cDNA اضافه شد. روش دمایی نیز شامل یک چرخه ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، فعال سازی آنزیم شروع سریع DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت^۳ (TEMPase) و در پی آن ۲۵-۳۵ چرخه ۱۵-۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس (واسرشت اولیه) و ۶۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس (ثبت انعکاس نور فلوروسنت در طول مراحل اتصال پرایمر و گسترش) و انتخاب دمای مناسب بر پایه دمای اتصال آغازگرها انجام شد. برای کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف مورد نظر، از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. در این تحقیق از ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز^۴ (GAPDH) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

جدول ۲. توالی آغازگرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Genes	Primer Sequence
r-CDK1-F	TCAAGTGGTAGCCATGAAAAAAA
r-CDK1-R	ATAACCTGGAATCCTGCATAAGC
r-Pax7-F	GGCACAGAGGACCAAGCTC
r-Pax7-R	CCGACGCCGGTTACTGAAC
r-GAPDH-R	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
r-GAPDH-R	TGTAGACCATGTAGTTGAGGC

جهت اندازه گیری غلظت نسبی پروتئین Pax7 در عضله نعلی از روش وسترن بلات استفاده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از بافر لیز سرد به ۵ میلی گرم از بافت سریعاً اضافه و با هموژنایزر الکتریکی هموژنیزه گردید؛ سپس دو بار دیگر با ۲۰۰ میکرومول بافر لیز شسته شد و پس از آن به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. محلول به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یک میکرو سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت جدا شده و در یک لوله جدید در یخ قرار داده شد. بعد از تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از آزمون پروتئین BCA (بیسین چونینیک) (سیگما، آلمان)، مقدار مساوی از نمونه‌های پروتئین Pax7 توسط ژل سدیم دودسیل سولفات (SDS) - پلی اکریلامید جداسازی شد. پروتئین‌های جدا شده به غشاء نیتروسلولزی یا PVDF شرکت GE انگلستان منتقل شد. بعد از بلاکینگ در محلول TTBS غشاء PVDF به مدت یک شب در آنتی بادی اولیه آنتی Pax7 (شماره کاتالوگ orb1240435) و آنتی GAPDH (شماره کاتالوگ GTX100118) با نسبت ۱:۱۰۰۰ (Abcam انگلستان) در ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد. متعاقباً غشاء PVDF با استفاده از TTBS سه بار شستشو داده شد و سپس به مدت دو ساعت در معرض آنتی بادی ثانویه متصل به HRP

¹ Cybergreen master

² Hot Start

³ Thermostable DNA polymerase hot start

⁴ Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

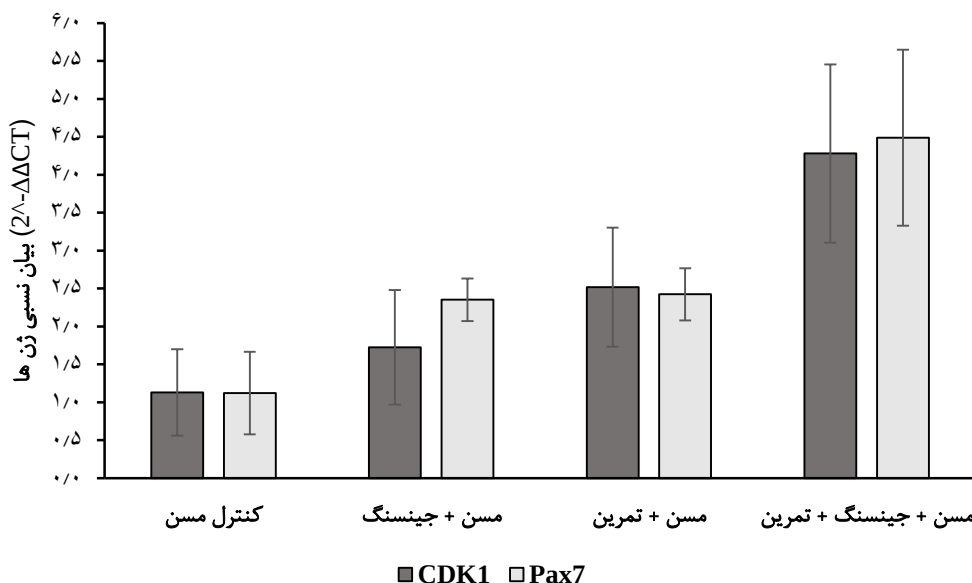
اثر تعاملی تمرین و اگزوزوم جینسنگ بر عملکرد حرکتی، CDK1 و Pax7 در عضله موش‌های مسن

(Abcam انگلستان) قرار گرفت. سپس غشا شستشو داده شد و نوارهای پروتئینی با استفاده از کیت شناسایی chemilumescence (شرکت GE انگلستان) و فیلم‌های اتورادیوگرافی (شرکت GE انگلستان) ظاهر شدند و نسبت به کنترل داخلی GAPDH نرمالیزه شد (۲۶).

تحلیل آماری: داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ تحلیل شدند. قبل از تجزیه و تحلیل آماری، همه متغیرها از نظر توزیع طبیعی با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ و از نظر همگنی واریانس‌ها با آزمون لون آبرسی شدند. جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوعاملی ۲*۲ در سطح معنی داری $P \leq 0.05$ استفاده شد.

نتایج

یافته‌های توصیفی بیان ژن‌های Pax7 و CDK1 در پس‌آزمون در نمودار ۱ و هم‌چنین غلظت نسبی پروتئین Pax7 و امتیازات آزمون عملکرد حرکتی استوانه در جدول ۲ و شکل ۱ ارائه شده است:



شکل ۱. میانگین و انحراف استاندارد بیان نسبی ژن‌های Pax7 و CDK1 در مقیاس $2^{-\Delta\Delta CT}$ در گروه‌های تحقیق

جدول ۲. میانگین (M) و انحراف استاندارد (SD) غلظت نسبی پروتئین Pax7 و امتیازات حاصل از آزمون عملکرد حرکتی در پس‌آزمون

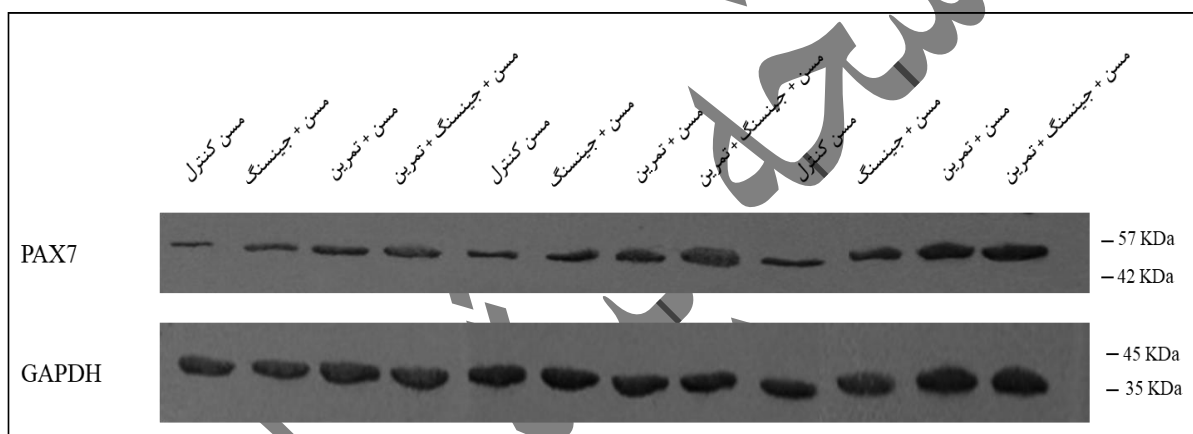
گروه‌ها	Pax7 (غلظت پروتئین/GAPDH)	امتیاز عملکرد حرکتی (ثانیه)
---------	---------------------------	-----------------------------

¹ Shapiro-wilk

² Levene

اثر تعاملی تمرین و اگزوزوم جینسنگ بر عملکرد حرکتی، CDK1 و Pax7 در عضله موش‌های مسن

M	SD	M	SD	
۳۳/۶۰	۶/۵۸	۰/۳۴۷	۰/۰۱۹	کنترل مسن
۶۵/۰۰	۸/۹۴	۰/۵۳۸	۰/۰۴۹	مسن + جینسنگ
۶۷/۲۰	۹/۰۳	۰/۶۵۸	۰/۰۲۵	مسن + تمرین
۹۴/۸۰	۶/۰۱	۰/۸۴۳	۰/۰۱۲	مسن + جینسنگ + تمرین



شکل ۲. غلظت نسبی پروتئین Pax7 نسبت به کنترل داخلی GAPDH در گروه‌های مختلف تحقیق

نتایج روش آماری تحلیل واریانس دو عاملی در بررسی اثرسنجی تمرین استقامتی، مکمل اگزوزوم تخلیص شده از عصاره جینسنگ و هم‌چنین بررسی اثر تعاملی تمرین و مکمل بر متغیرهای مورد مطالعه در جدول ۳ قابل مشاهده است:

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی

متغیرها	منبع	SS	df	MS	F	Sig.	η^2
CDK1 (mRNA)	تمرین	۱۹/۴۲	۱	۱۹/۴۲	۲۶/۸۷	* ۰/۰۰۱	۰/۶۳
	مکمل	۶/۹۴	۱	۶/۹۴	۹/۶۰	*** ۰/۰۰۷	۰/۳۷
	تمرین×مکمل	۱/۷۰	۱	۱/۷۰	۲/۳۶	۰/۱۴۴	۰/۱۳
	خطا	۱۱/۵۶	۱۶	۰/۷۲			
Pax7 (mRNA)	تمرین	۱۴/۷۷	۱	۱۴/۷۷	۳۲/۱۲	* ۰/۰۰۱	۰/۶۷

۰/۶۵	۰/۰۰۱***	۲۹/۵۲	۱۳/۵۷	۱	۱۳/۵۷	مکمل
۰/۱۱	۰/۱۸۸	۱/۸۸	۰/۸۶	۱	۰/۸۶	تمرین×مکمل
			۰/۴۶	۱۶	۷/۳۵	خطا
۰/۹۷	۰/۰۰۱*	۵۲۰/۵۰	۰/۴۷	۱	۰/۴۷	تمرین
۰/۹۲	۰/۰۰۱***	۱۹۳/۹۲	۰/۱۷	۱	۰/۱۷	مکمل
۰/۰۰۲	۰/۸۶۱	۰/۰۳	۰/۰۰۰۲	۱	۰/۰۰۰۲	تمرین×مکمل
			۰/۰۰۱	۱۶	۰/۰۱۵	خطا
۰/۸۴	۰/۰۰۱*	۸۳/۳۲	۵۰۲۴/۴۵	۱	۵۰۲۴/۴۵	تمرین
۰/۸۲	۰/۰۰۱***	۷۲/۱۶	۴۳۵۱/۲۵	۱	۴۳۵۱/۲۵	مکمل
۰/۰۲	۰/۵۹۲	۰/۳۰	۱۸/۰۵	۱	۱۸/۰۵	تمرین×مکمل
			۶۰/۳۰	۱۶	۹۶۴/۸۰	خطا

Pax7
(Protein/GAPDH)

عملکرد حرکتی

* نشان دهنده اثر معنادار تمرین استقامتی بر تغییرات متغیرهای تحقیق ($P \leq 0.05$)

** نشان دهنده اثر معنادار مکمل اگزوزوم تخلیص‌شده از عصاره جینسنگ بر تغییرات متغیرهای تحقیق ($P \leq 0.05$)

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، نتایج حاصل از آزمون آماری تحلیل واریانس دو عاملی در تعیین اثر مستقل و جداگانه تمرین استقامتی بر متغیرهای تحقیق نشان داد که ۶ هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنادار بیان ژن‌های CDK1 ($P=0.001$)، Pax7 ($P=0.001$)، غلظت نسبی پروتئین Pax7 ($P=0.001$) و بهبود عملکرد حرکتی ($P=0.001$) در موش‌های مسن شد.

هم‌چنین، یافته‌های آماری نشان داد که ۶ هفته دریافت مکمل اگزوزوم تخلیص‌شده از عصاره جینسنگ به‌طور مستقل باعث افزایش معنادار بیان ژن‌های CDK1 ($P=0.007$)، Pax7 ($P=0.001$)، غلظت نسبی پروتئین Pax7 ($P=0.001$) و بهبود عملکرد حرکتی ($P=0.001$) در موش‌های مسن شد.

نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی هم‌چنین نشان داد که ۶ هفته تمرین استقامتی همراه با دریافت مکمل اگزوزوم تخلیص‌شده از عصاره جینسنگ اثر تعاملی معنادار آماری بر بیان ژن‌های CDK1 ($P=0.144$)، Pax7 ($P=0.188$)، غلظت نسبی پروتئین Pax7 ($P=0.861$) و عملکرد حرکتی ($P=0.592$) در موش‌های مسن نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین استقامتی به‌تنهایی در موش‌های مسن موجب افزایش معنادار بیان ژن‌های CDK1 و Pax7، افزایش غلظت پروتئین Pax7 در عضله نعلی و بهبود عملکرد حرکتی شد. این الگو حاکی از آن است که شدت نسبتاً متوسط تا فزاینده تمرین تداومی در دوره‌ای ۶ هفته‌ای، احتمالاً می‌تواند در عضله اسکلتی مسن به احیای نسبی حوضچه سلول‌های ماهواره‌ای و ارتقای ظرفیت بازسازی عضله تا حدی کمک کند. هم‌زمانی این تغییرات با بهبود عملکرد حرکتی، نشان می‌دهد که سازوکارهای مولکولی مرتبط با سلول‌های ماهواره‌ای می‌توانند به سطح عملکردی و رفتاری نیز تعمیم یابند.

این یافته‌ها با بخش قابل‌توجهی از تحقیقات موجود هم‌راستا است. شچفینو^۱ و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تمرین هوازی مزمن در موش‌ها، تعداد سلول‌های Pax7 فعال را در عضلات اکسیداتیو افزایش داده و ظرفیت بازسازی عضله را بهبود می‌دهد (۲۷). در مطالعه‌ای دیگری گزارش شد که تمرین استقامتی در موش‌های مسن، تراکم سلول‌های ماهواره‌ای و بیان ژن‌های مرتبط با میوژنز را افزایش داده و بخشی از آتروفی مرتبط با سن را معکوس می‌کند (۲۸). نتایج تحقیق روبینسون^۲ و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که برنامه تمرین استقامتی ۱۲ هفته‌ای در سالمندان، بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای میتوکندریایی و نیز برخی تنظیم‌کننده‌های چرخه سلولی و بازسازی عضله را افزایش می‌دهد و با بهبود عملکرد فیزیکی همراه است (۲۹). علاوه بر این، مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۲ بر روی موش‌های دیابتی نشان داد که تمرین استقامتی با شدت متوسط، بیان نشانگرهای میوژنیک مانند MyoD، مایوژنین و عوامل تنظیم‌کننده چرخه سلولی را ارتقا می‌دهد که این تغییرات هم‌سو با بهبود عملکرد عضلانی است (۳۰). شفر^۳ و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که ۱۳ هفته تمرین استقامتی سبک در موش‌های مسن، از طریق افزایش معنادار Pax7، منجر به افزایش تعداد و حوضچه سلول‌های ماهواره‌ای و هم‌چنین افزایش توده عضلانی شد (۱۱).

افزایش بیان Pax7 و CDK1 در پاسخ به تمرین استقامتی در موش‌های مسن در مطالعه حاضر را می‌توان به‌عنوان نشانه‌ای از برنامه‌ریزی سلول‌های ماهواره‌ای خفته برای خروج نسبی این سلول‌ها از وضعیت خاموشی تلقی کرد. این افزایش هم‌زمان نشان می‌دهد که احتمالاً تمرین استقامتی، نه تنها حوضچه سلول‌های ماهواره‌ای را حفظ می‌کند، بلکه شاید تکثیر این سلول‌ها یا سلول‌های پیش‌ساز میوژنیک را نیز تقویت کند. این امر در زمینه سالمندی که معمولاً با کاهش تعداد و عملکرد سلول‌های ماهواره‌ای، کاهش هسته‌های میوفیبریلی و محدود شدن ظرفیت بازسازی همراه است (۲)، اهمیت ویژه‌ای دارد و می‌تواند یکی از استراتژی‌های کلیدی مقابله با آتروفی وابسته به سن باشد. از منظر مکانیزم‌های سلولی مولکولی، افزایش تقاضای متابولیک و استرس مکانیکی ناشی از انقباض‌های تکراری عضله در حین تمرین استقامتی، موجب افزایش تولید عوامل رشدی مانند فاکتور رشد مکانیکی^۴ (MGF)، کاهش نسبی میوستاتین و فعال‌سازی مسیرهای فسفوانوزیتید-۳ کیناز^۵ (Akt/PI3K)/هدف راپامایسین پستانداران^۶ (mTOR) می‌شود که همگی در تحریک رشد و بازسازی عضله مؤثرند و می‌توانند بیان فاکتورهای چرخه سلولی مانند CDK1 و همچنین فاکتورهای میوژنیک را افزایش دهد (۳۰، ۳۱). وقتی تغییرات مولکولی حاصل از پژوهش حاضر را در کنار بهبود عملکرد حرکتی مشاهده‌شده در آزمون استوانه قرار دهیم، می‌توان نتیجه گرفت که تمرین استقامتی در مدل حیوانی سالمندی، نه تنها سازوکارهای ساختاری سلولی را تقویت کرده، بلکه این تغییرات تا سطح سیستمیک - عملکردی پیش رفته‌اند. افزایش تعداد سلول‌های ماهواره‌ای و هسته‌های تارچه‌ای، می‌تواند سبب افزایش یا

¹ Schiaffino

² Robinson

³ Shefer

⁴ Mechano Growth Factor

⁵ Phosphoinositide 3-Kinase

⁶ Mammalian Target of Rapamycin

حفظ سطح مقطع عرضی فیبرهای عضلانی و نیز حفظ یا ارتقای تراکم میتوکندریایی شود؛ این عوامل در مجموع به بهبود تولید نیرو، تحمل خستگی و هماهنگی حرکتی کمک می‌کنند (۳۲). همچنین، تمرین استقامتی با بهبود عملکرد عصبی - عضلانی، هماهنگی حرکتی و سازگاری‌های نورونی همراه است (۳۳).

با وجود هم‌راستایی نتایج مطالعه حاضر با بخش قابل توجهی از پیشینه‌های موجود، برخی گزارش‌ها اثر تمرین استقامتی بر شاخص‌های مرتبط با سلول‌های ماهواره‌ای در سالمندی را غیر معنادار مطرح کرده‌اند. برای مثال، در مطالعه‌ای بر روی موش‌های بسیار مسن، محققان گزارش کردند که تمرین هوازی با شدت کم طی ۸ هفته، تغییری معنادار در تعداد سلول‌های Pax7+ در برخی عضلات اسکلتی ایجاد نکرد (۳۴). بررسی مطالعات ناهمسو نشان می‌دهد که در آن‌ها از حیوانات بسیار مسن‌تر (مثلاً بیش از ۲۴ ماه) استفاده شده که در این سنین نیچ سلول‌های ماهواره‌ای دچار آسیب ساختاری و تغییرات اپیژنتیک غیرقابل برگشت می‌شود؛ در چنین شرایطی، حتی تحریکات تمرینی ممکن است قادر به فعال‌سازی کامل مسیرهای Pax7 و CDK1 نباشد (۳۶، ۳۴). در مطالعه حاضر، موش‌های ۱۶-۲۰ ماهه مورد استفاده قرار گرفتند که هنوز در محدوده‌ای هستند که بسیاری از سازوکارهای ترمیمی قابل تحریک‌اند و احتمالاً پاسخ بهتری به تمرین می‌دهند.

دیگر نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مکمل‌یاری با آگروزوم تخلیص شده از عصاره جینسنگ به صورت مستقل، منجر به افزایش معنادار بیان ژن‌های Pax7 و CDK1، افزایش غلظت پروتئین Pax7 در عضله نعلی و بهبود عملکرد حرکتی در موش‌های مسن شد. به عبارت دیگر، حتی در غیاب محرک مکانیکی ناشی از تمرین، آگروزوم‌های مشتق از جینسنگ توانستند محیط مولکولی عضله‌ی پیر را به گونه‌ای تعدیل کنند که شاخص‌های مرتبط با سلول‌های ماهواره‌ای (Pax7) و ظرفیت تکثیر سلول‌ها (CDK1) بهبود یافته و این تغییرات به سطح عملکردی (افزایش استفاده از اندام‌ها و بهبود عملکرد حسی حرکتی در آزمون استوانه) تعمیم یابد. همسو با این نتایج، لی^۱ و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تجویز جینسینوزید Rg1 در موش‌های دچار آتروفی ناشی از بی‌حرکتی، منجر به افزایش بیان ژن‌های مایوژنیک مانند MyoD و مایوژنین، کاهش بیان مولکول‌های کاتابولیک نظیر آتروژن-۱ و بهبود قدرت عضلانی شد (۳۷). در یک مدل دیگر، لیو^۲ و همکاران نشان دادند که جینسینوزید Rb1 از طریق فعال‌سازی مسیر PI3K/Akt و افزایش بیان IGF-1، موجب بهبود هایپرتروفی فیزیولوژیک عضله و افزایش تحمل تمرین شد (۳۸). در پژوهش دیگری، ژانگ^۳ و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که جینسینوزید Rg1 در یک مدل آسیب حاد عضله، موجب افزایش بیان Pax7 و MyoD، تسریع بازسازی فیبرهای عضلانی و کاهش بافت فیبروتیک شد (۳۹). وانگ^۴ و همکاران (۲۰۲۱) نیز نشان دادند که پاناکس جینسنگ از طریق تعدیل فاکتورهای رشد و مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با سلول‌های بنیادی، به بهبود بازسازی عضله در مدل‌های پیر و دیابتی کمک می‌کند (۴۰). در سال‌های اخیر، مفهوم آگروزوم‌های گیاهی و نقش آن‌ها در انتقال ریبونوکلیئیک اسیدهای کوچک (miRNA) و مولکول‌های زیست‌فعال به سلول‌های پستانداران نیز مطرح شده است؛ برخی مطالعات نشان داده‌اند که آگروزوم‌های مشتق از گیاهان دارویی می‌توانند بیان ژن و بقای سلول‌های عضلانی را تعدیل کنند (۴۱). یافته‌های حاضر که نشان‌دهنده افزایش Pax7 و CDK1 در پاسخ به آگروزوم جینسنگ در عضله‌ی نعلی موش‌های مسن است، با این شواهد هم‌خوانی داشته و این رویکرد را تقویت می‌کند که فرم آگروزومی جینسنگ ممکن است نسبت به عصاره‌های خشک، اثر هدفمندتر و کارآمدتری بر حوضچه سلول‌های ماهواره‌ای و چرخه‌ی سلولی در عضله‌ی پیر داشته باشد.

¹ Li

² Liu

³ Zhang

⁴ Wang

⁵ Micro Ribonucleic acid

از دیدگاه سلولی، اگزوزوم‌های جینسنگ حاوی مجموعه‌ای از پروتئین‌ها، لیپیدها و به‌ویژه miRNA ها و سایر RNA های کوچک هستند که می‌توانند به‌طور هدفمند به سلول‌های عضلانی و سلول‌های ماهواره‌ای منتقل شده و الگوی بیان ژن در آن‌ها را تحت تاثیر قرار دهند (۴۱). بخش عمده‌ای از اثرات فعال جینسنگ، به تحریک و فعال‌سازی مسیرهای IGF-1/Akt, PI3K/Akt/mTOR، و همچنین تعدیل مسیرهای مرتبط با پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوز (MAPK) نسبت داده شده است (۳۷،۳۸،۴۰). محور پیام‌رسانی IGF-1/Akt به‌طور مستقیم با فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با چرخه‌ی سلولی از جمله CDK1 در ارتباط است (۳۱). علاوه بر این، جینسنگ با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی، شرایط را برای بقای بهتر سلول‌های ماهواره‌ای، کاهش ورود به چرخه پیری سلولی و افزایش پاسخ آن‌ها به پیام‌های رشدی از جمله IGF-1 فراهم می‌کند (۴۲). در چنین محیطی، افزایش Pax7 و CDK1 مشاهده شده در مطالعه‌ی ما احتمالاً می‌تواند پیامد مستقیم این تعدیل‌های محیطی و سیگنالینگ باشد. نکته‌ی مهم دیگر، تعمیم این تغییرات مولکولی به بهبود عملکرد حرکتی است که در آزمون استوانه در تحقیق حاضر مشاهده شد. برخی داده‌ها نشان می‌دهد که تجویز جینسنگ، علاوه بر اثرات مستقیم عضلانی، می‌تواند اثرات سودمند بر سیستم عصبی مرکزی و محیطی شامل بهبود عملکرد نورون‌های حرکتی، تعدیل انتقال‌دهنده‌های عصبی و کاهش التهاب عصبی داشته باشد (۴۳).

یافته‌های نوین مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که اگرچه تمرین استقامتی و مکمل‌یاری با اگزوزوم جینسنگ هر دو به‌تنهایی قادر به بهبود بیان ژن‌های CDK1 و Pax7، غلظت پروتئین Pax7 و عملکرد حرکتی در موش‌های مسن هستند، اما تجویز همزمان این دو مداخله، اثر تعاملی (سینرژیستیک) معناداری فراتر از اثرات منفرد آن‌ها ایجاد نمی‌کند. از منظر کاربردی، این نتیجه اهمیت ویژه‌ای برای طراحی مداخلات در سالمندی دارد. در عمل، بسیاری از سالمندان و حتی تیم‌های درمانی، ترکیب چندین مداخله را با این انتظار به‌کار می‌گیرند که حتماً اثرات هم‌افزایی قدرتمندی حاصل شود. یافته‌های ما نشان می‌دهد که چنین انتظاری همیشه واقع‌بینانه نیست و در برخی شرایط، تمرکز بر اجرای بهینه‌ی یک مداخله مثلاً تمرین استقامتی منظم و با شدت مناسب ممکن است همان اندازه کارآمد و از نظر هزینه - فایده منطقی‌تر باشد. این امر به‌ویژه در سالمندان با منابع محدود، یا در محیط‌های بالینی با محدودیت زمانی و اقتصادی، می‌تواند حائز اهمیت باشد. در عین حال، باید تأکید کرد که عدم مشاهده‌ی اثر تعاملی در این مطالعه به معنای بی‌اثر بودن جینسنگ یا اگزوزوم‌های مشتق از آن در کنار تمرین استقامتی نیست، بلکه نشان می‌دهد که در بستر این پروتکل و شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده، اثر افزوده‌ی قابل کشف مشاهده نشده است؛ در واقع، بخشی از یافته‌های توصیفی ما نشان می‌دهد که ترکیب دو مداخله‌ی تمرین استقامتی و مکمل‌یاری با اگزوزوم جینسنگ، اثر تجمعی مثبت یا جمع جبری در افزایش تمامی متغیرهای مورد مطالعه ما داشته است اما اثر تعاملی یا سینرژیستیک که به معنای فراتر رفتن از اثر تجمعی دو مداخله است، از لحاظ آماری معنادار نبوده است.

این تغییرات، به احتمال زیاد ناشی از هم‌پوشانی مسیرهای سیگنالینگ، اشباع پاسخ سلول‌های ماهواره‌ای و محدودیت‌های ذاتی عضله‌ی پیر در گسترش بیشتر پاسخ آنابولیک است (۴۴)؛ در همین راستا، سازوکارهای تنظیمی و فیدبک‌های هموستاتیک در عضله پیر می‌توانند در محدود شدن اثر تعاملی نقش بسزایی داشته باشند. فعال‌سازی بیش از حد مسیرهای آنابولیک مانند Akt/mTOR معمولاً با فعال شدن فیدبک‌های منفی تنظیم‌کننده از جمله توپروز اسکروز ۲/۱ (TSC1/2) و برخی مهارکننده‌های چرخه سلولی مانند p21 و p27 همراه است که برای حفظ تعادل بین تکثیر، تمایز و خودنوزایی سلول‌های ماهواره‌ای عمل می‌کنند (۴۵). علاوه بر این، عضله اسکلتی در سالمندی با پدیده مقاومت آنابولیک و کاهش ظرفیت تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای مواجه است که می‌تواند دامنه پاسخ به محرک‌های آنابولیک را محدود کند (۴۴). در چنین شرایطی، حتی اگر تمرین استقامتی و اگزوزوم جینسنگ هر دو سیگنال‌های محرک مشابهی را تقویت کنند، ظرفیت ذاتی سلول‌های

¹ Mitogen-activated protein kinase

² Tuberous Sclerosis

ماهورهای و محدودیت‌های ساختاری عضله پیر ممکن است مانع از بروز اثر افزایشی یا سینرژیک در بیان شاخص‌هایی مانند Pax7 و CDK1 شود.

این پژوهش علی‌رغم طراحی کنترل‌شده و استفاده از شاخص‌های مولکولی معتبر، با چندین محدودیت همراه بوده است. با توجه به دستورالعمل‌های اخلاقی و جلوگیری از کشتار بی‌رویه حیوانات آزمایشگاهی، حجم نمونه نسبتاً کوچک انتخاب شد و انجام مطالعه بر روی یک مدل حیوانی (موش‌های مسن) توان تعمیم نتایج را به جمعیت‌های بزرگ‌تر، به‌ویژه سارکوپنی بالینی، محدود می‌سازد. همچنین، پیامدهای عملکردی عمدتاً بر اساس یک آزمون حرکتی و شاخص‌های مولکولی استنباط شدند و اندازه‌گیری مستقیم توده، سطح مقطع عرضی تارها یا نیروی عضلانی میسر نشد؛ از این رو، ارتباط دقیق بین تغییرات مولکولی و بهبود واقعی عملکرد عضلانی را به‌طور کامل و قطعی نمی‌توان تبیین نمود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که تمرین استقامتی و اگزوزوم عصاره جینسنگ هر کدام به‌تنهایی احتمالاً می‌توانند از طریق افزایش بیان Pax7 و CDK1 و بهبود عملکرد حرکتی، راهکارهای موثری برای مقابله با آتروفی عضلانی در سالمندی باشند. از طرفی اگزوزوم جینسنگ به‌عنوان یک رویکرد مکملی نوین، می‌تواند به‌طور مستقل اثرات مفیدی بر شاخص‌های مولکولی و عملکردی مرتبط با سلول‌های بنیادی عضله در سالمندی داشته باشد. با این حال، با توجه به اثر تعاملی غیرمعنادار دو مداخله، افزودن مکمل جینسنگ به یک برنامه‌ی تمرینی از پیش اثربخش، شاید مزیت اضافه‌ای در تقویت نشانگرهای سلول‌های ماهواره‌ای یا عملکرد حرکتی ایجاد نکند و احتمالاً مکانیسم‌های مشترک سیگنالینگ سلولی هر دو مداخله، پاسخ سینرژیک را محدود می‌سازد. بنابراین، تمرکز بر بهینه‌سازی دوز یا زمان‌بندی هر یک از این مداخلات به‌صورت مجزا، ممکن است رویکرد مؤثرتری نسبت به ترکیب آن‌ها باشد.

در پرتو یافته‌های این مطالعه، توصیه می‌شود که اثر تعاملی اگزوزوم جینسنگ و تمرین مقاومتی، یا تمرین ترکیبی بر شاخص‌های ساختاری، مولکولی و عملکردی عضله در مدل‌های مختلف سالمندی بررسی شود. همچنین شاخص‌های التهابی، استرس اکسیداتیو و سلامت استخوان نیز به‌عنوان پیامدهای ثانویه وارد طرح‌های آینده شود تا تصویر کامل‌تری از مزایای بالقوه‌ی ترکیب تمرین استقامتی و اگزوزوم جینسنگ در سالمندی به‌دست آید.

تشکر و قدردانی

از همه‌ی افرادی که در طراحی و انجام این پژوهش ما را یاری کردند، تشکر می‌شود.

حمایت مالی

هزینه‌های مطالعه بر عهده محقق بوده و پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی از سازمان خاصی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان به‌طور یکسان در این پژوهش مشارکت داشتند.

تعارض منافع

نویسندگان پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافع ندارند.

منابع

1. Thompson LV. Age-related decline in actomyosin structure and function. In: Sarcopenia: Age-Related Muscle Wasting and Weakness – Mechanisms and Treatments. London: Springer; 2011. p. 75–111. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9713-2>
2. Rodrigues F, Domingos C, Monteiro D, Morouço P. A review on aging, sarcopenia, falls, and resistance training in community-dwelling older adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(2):874. <https://doi.org/10.3390/ijerph19020874>
3. Kobayashi Y, Tanaka T, Mulati M, Ochi H, Sato S, Kaldis P, et al. Cyclin-dependent kinase 1 is essential for muscle regeneration and overload muscle fiber hypertrophy. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:564581. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.564581>
4. Ralli re C, Jagot S, Sabin N, Gabillard JC. Dynamics of pax7 expression during development, muscle regeneration, and in vitro differentiation of satellite cells in the trout. *bioRxiv*. 2023. <https://doi.org/10.1101/2023.07.19.549701>
5. Florkowska A, Meszka I, Zawada M, Legutko D, Proszynski TJ, Janczyk-Ilach K, et al. Pax7 as molecular switch regulating early and advanced stages of myogenic mouse ESC differentiation in teratomas. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):385. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01742-3>
6. Sousa-Victor P, Gutiérrez-Pérez I, García-Prat L, Rodríguez-Ubrea J, Serra E, Perdiguero E, et al. Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence. *Nature*. 2014;506(7488):316–321. <https://doi.org/10.1038/nature13013>
7. Brack AS, Rando TA. Tissue-specific stem cells: lessons from the skeletal muscle satellite cell. *Cell Stem Cell*. 2012;10(5):504–514. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.04.001> Ahn N, Koh J, Kim K. Endoplasmic reticulum stress of skeletal muscle and exercise training effects in aging and obesity. *Asian J Kinesiol*. 2018;20(3):1–10. <https://doi.org/10.15758/ajk.2018.20.3.1>
8. Snijders T, Verdijk LB, van Loon LJ. The impact of sarcopenia and exercise training on skeletal muscle satellite cells. *Ageing Res Rev*. 2009;8(4):328–338. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.05.003>
9. Snijders T, Nederveen JP, Bell KE, Lau SW, Mazara N, Kumbhare DA, et al. Prolonged exercise training improves the acute type II muscle fibre satellite cell response in healthy older men. *J Physiol*. 2019;597(1):105–119. <https://doi.org/10.1113/JP276260>
10. Verney J, Kadi F, Charifi N, F asson L, Costes F, Geyssant A, et al. Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle Nerve*. 2008;38(3):1147–1154. <https://doi.org/10.1002/mus.21054>
11. Verdijk LB, Koopman R, Schaart G, Meijer K, Savelberg HHCM, van Loon LJC. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;292(1):E151–E157. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00278.2006>
12. Wu J, Saovieng S, Cheng IS, Jensen J, Jean WH, Alkhatib A, et al. Satellite cells depletion in exercising human skeletal muscle is restored by ginseng component Rg1 supplementation. *J Funct Foods*. 2019;58:27–33. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.032>
13. Kim JS, Yoon YE, Shin J, Lee SJ, Lee SJ. Ginseng berry extract and ginsenoside Re enhance exercise performance through mitochondrial biogenesis in high-fat induced skeletal muscle atrophy. *J Funct Foods*. 2024;116:106174. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106174>

14. Dong W, Chen W, Zou H, Shen Z, Yu D, Chen W, et al. Ginsenoside Rb1 prevents oxidative stress-induced apoptosis and mitochondrial dysfunction in muscle stem cells via NF- κ B pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:9159101. <https://doi.org/10.1155/2022/9159101>
15. Kim J, Choi HJ, Seo D, Lee SA, Heo JB, Baek DH, et al. Steamed ginseng berry powder ameliorates skeletal muscle atrophy via myogenic effects. *J Microbiol Biotechnol*. 2024;34(1):157–166. <https://doi.org/10.4014/jmb.2309.09017>
16. Zhang Y, Liu D, Chen X, Li J, Li L, Bian Z, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration. *Mol Cell*. 2010;39(1):133–144. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.06.010>
17. Mu J, Zhuang X, Wang Q, Jiang H, Deng ZB, Wang B, et al. Interspecies communication between plant and mouse gut host cells through edible exosome-like nanoparticles. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58(7):1561–1573. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300729>
18. Teng Y, Ren Y, Sayed M, Hu X, Lei C, Kumar A, et al. Plant-derived exosomal microRNAs shape the gut microbiota. *Cell Host Microbe*. 2018;24(5):637–652. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.10.001>
19. Koltai E, Hart N, Taylor AW, Goto S, Ngo JK, Davies KJA, et al. Age-associated declines in mitochondrial biogenesis and protein quality control factors are minimized by exercise training. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012;303(2):R127–R134. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00337.2011>
20. Haji Maghsoudi O, Spence A. Treadmill training effect on kinematics: an aging study in rats. *J Med Biol Eng*. 2020;40(1):11–23. <https://doi.org/10.1007/s40846-019-00490-x>
21. Kim J, Lee YH, Wang J, Kim YK. Isolation and characterization of ginseng-derived exosome-like nanoparticles with sucrose cushioning followed by ultracentrifugation. *SN Appl Sci*. 2022;4:63. <https://doi.org/10.1007/s42452-022-04943-y>
22. Lin H, Zhao J, Liu Z, Liu Z, Lin Z. Efficacy of Panax ginseng supplementation on androgen deficiency rats via metabolomics and gut microbiota. *J Funct Foods*. 2021;87:104810. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104810>
23. Brooks SP, Dunnett SB. Tests to assess motor phenotype in mice: a user's guide. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(7):519–529. <https://doi.org/10.1038/nrn2652>
24. Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, Salem GJ, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(7):1510–1530. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181a0c95c>
25. Cartee GD, Hepple RT, Bamman MM, Zierath JR. Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. *Cell Metab*. 2016;23(6):1034–1047. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.007>
26. Guo D, Sun J, Feng S. Comparative analysis of the effects of high-intensity interval training and traditional aerobic training on improving physical fitness and biochemical indicators in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Sports Med Phys Fitness*. 2025;65(1):132–139. PMID: 39287582.
27. Schiaffino S, Rossi AC, Smerdu V, Leinwand LA, Reggiani C. Developmental myosins: expression patterns and functional significance. *Skelet Muscle*. 2015;5:22. <https://doi.org/10.1186/s13395-015-0046-6>

28. Shefer G, Rauner G, Yablonka-Reuveni Z, Benayahu D. Reduced satellite cell numbers and myogenic capacity in aging can be alleviated by endurance exercise. *PLoS One*. 2010;5(10):e13307. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013307>
29. Robinson MM, Dasari S, Konopka AR, Johnson ML, Manjunatha S, Esponda RR, et al. Enhanced protein translation underlies improved metabolic and physical adaptations to different exercise training modes in young and old humans. *Cell Metab*. 2017;25(3):581–592. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.02.009>
30. Arabzadeh E, Shirvani H, Ebadi Zahmatkesh M, Riyahi Malayeri S, Meftahi GH, Rostamkhani F. Irisin/FNDC5 influences myogenic markers on skeletal muscle following high and moderate-intensity exercise training in STZ-diabetic rats. *3 Biotech*. 2022;12(9):193. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03253-9>
31. Glass DJ. Signaling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Nat Cell Biol*. 2003;5(2):87–90. <https://doi.org/10.1038/ncb0203-87>
32. Trappe S, Gallagher P, Harber M, Carrithers J, Colloton P, Trappe T. Single muscle fibre contractile properties in young and old men and women. *J Physiol*. 2003;552(Pt 1):47–58. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.044966>
33. Aagaard P, Suetta C, Caserotti P, Magnusson SP, Kjaer M. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. *Scand J Med Sci Sports*. 2010;20(1):49–64. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2009.01084.x>
34. Fry CS, Lee JD, Mula J, Kirby TJ, Jackson JR, Liu F, et al. Inducible depletion of satellite cells in adult, sedentary mice impairs muscle regenerative capacity but not muscle mass. *Nat Med*. 2015;21(1):76–80. <https://doi.org/10.1038/nm.3710>
35. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW, Dempsey PC, et al. Physical activity/exercise and diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2016;39(11):2065–2079. <https://doi.org/10.2337/dc16-1728>
36. Chakkalakal JV, Jones KM, Basson MA, Brack AS. The aged niche disrupts muscle stem cell quiescence. *Nature*. 2012;490(7420):355–360. <https://doi.org/10.1038/nature11438>
37. Go GY, Jo A, Seo DW, Kim WY, Kim YK, So EY, et al. Ginsenoside Rg1 from *Panax ginseng* enhances myoblast differentiation and myotube growth. *J Ginseng Res*. 2017;41(4):608–614. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.05.006>
38. Go GY, Jo A, Seo DW, Kim WY, Kim YK, So EY, et al. Ginsenoside Rb1 and Rb2 upregulate Akt/mTOR signaling-mediated muscular hypertrophy and myoblast differentiation. *J Ginseng Res*. 2020;44(3):435–441. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2019.01.007>
39. Jeong HJ, So HK, Jo A, Kim HB, Lee SJ, Bae GU, et al. Ginsenoside Rg1 augments oxidative metabolism and anabolic response of skeletal muscle in mice. *J Ginseng Res*. 2019;43(3):475–481. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.04.005>
40. Cho DE, Choi GM, Lee YS, Hong JP, Yeom M, Lee B, et al. Long-term administration of red ginseng non-saponin fraction rescues the loss of skeletal muscle mass and strength associated with aging in mice. *J Ginseng Res*. 2022;46(5):657–665. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2021.12.001>

41. Sha A, Luo Y, Xiao W, He J, Chen X, Xiong Z, et al. Plant-derived exosome-like nanoparticles: a comprehensive overview of their composition, biogenesis, isolation, and biological applications. *Int J Mol Sci*. 2024;25(22):12092. <https://doi.org/10.3390/ijms252212092>
42. Lee SJ, Bae JH, Lee H, Lee H, Park J, Kang JS, et al. Ginsenoside Rg3 upregulates myotube formation and mitochondrial function, thereby protecting myotube atrophy induced by tumor necrosis factor- α . *J Ethnopharmacol*. 2019;242:112054. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112054>
43. Zhang YL, Liu Y, Kang XP, Dou CY, Zhuo RG, Huang SQ, et al. Ginsenoside Rb1 confers neuroprotection via promotion of glutamate transporters in a mouse model of Parkinson's disease. *Neuropharmacology*. 2018;131:223–237. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.12.012>
44. Sousa-Victor P, García-Prat L, Serrano AL, Perdiguero E, Muñoz-Cánoves P. Muscle stem cell aging: regulation and rejuvenation. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26(6):287–296. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.03.006>
45. Breen L, Phillips SM. Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: interventions to counteract the anabolic resistance of ageing. *Nutr Metab (Lond)*. 2011;8:68. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-68>