



## Effect of Combined Resistance-Aerobic Exercise Training on the Wnt/Beta-Catenin Signaling Pathway and Bone Remodeling in a Rat Model of Aging

Vajihe Varzandeh<sup>1</sup> , Yaser Kazemzadeh (Ph.D)<sup>\*2</sup>    
Sanaz Mirzayan Shanjani (Ph.D)<sup>2</sup>  , Hossein Shirvani (Ph.D)<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Ph.D Candidate in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran. <sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran. <sup>3</sup> Associate Professor, Sports Physiology Research Center, Lifestyle Research Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

### Research Article

#### Abstract

**Background and Objective:** The beta-catenin ( $\beta$ -catenin) and T-cell factor 1 (TCF1) genes play a crucial role in bone development and remodeling. This study was conducted to determine the effect of combined resistance-aerobic exercise training on the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and bone remodeling in a rat model of aging.

**Methods:** In this experimental study, 16 aged male Wistar rats (22 months old, weighing approximately 300–350 g) were randomly assigned to two groups: Control and training (n = 8 per group). Additionally, 8 young male rats (3 months old, weighing approximately 190–230 g) were included as a young control group. The training program consisted of eight weeks of combined resistance-aerobic exercise training program, with five sessions per week. Forty-eight hours after the final training session, the rats were anesthetized via intraperitoneal injection of ketamine and xylazine and subsequently sacrificed. Femoral bone tissue samples were isolated under sterile conditions. The expression levels of the target genes were evaluated using the real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) method.

**Results:** Following eight weeks of combined resistance-aerobic exercise training, a statistically significant increase was observed in the expression of  $\beta$ -catenin and TCF1 genes compared to the aged group ( $P < 0.05$ ). Specifically, the expression levels of  $\beta$ -catenin and TCF1 genes in the aged training group demonstrated a significant statistical increase compared to the aged control group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Performing combined resistance-aerobic exercise training for eight weeks resulted in a significant increase in the expression of  $\beta$ -catenin and TCF1 genes within the bone tissue of aged rats.

**Keywords:** Exercise; beta Catenin; T Cell Transcription Factor 1; Aging

\*Corresponding Author: Yaser Kazemzadeh (Ph.D), E-mail: yaser.kazemzadeh@yahoo.com



Received 2 Mar 2025 Received in revised form 12 Jul 2025 Accepted 22 Jul 2025 Available Online 31 Dec 2025

Cite this article as: Varzandeh V, Kazemzadeh Y, Mirzayan Shanjani S, Shirvani H. [Effect of Combined Resistance-Aerobic Exercise Training on the Wnt/Beta-Catenin Signaling Pathway and Bone Remodeling in a Rat Model of Aging]. J Gorgan Univ Med Sci. 2025; 27(4): 1-10. [Article in Persian]





### Introduction

Bone tissue quality is influenced by age-related alterations in bone minerals, collagen composition, cross-linking profiles, hydration levels, and even non-collagenous proteins. Musculoskeletal health represents a critical determinant of the aging process, with bones serving as a fundamental component of the musculoskeletal system. While age-associated structural changes in bone are inevitable, the impact is further exacerbated by diseases that directly or indirectly affect osseous tissue, as well as age-related lifestyle modifications. Compromised bone integrity and strength predispose the elderly population to functional impairment, disability, dependence, frequent falls, chronic pain, substantial healthcare expenditures, and elevated mortality rates.

Beta-catenin ( $\beta$ -catenin) is a multifunctional and evolutionarily conserved molecule that plays a pivotal role in numerous developmental and homeostatic processes within metazoans. Specifically,  $\beta$ -catenin serves as both an integral structural component of cadherin-based adherens junctions and the primary nuclear effector of the wingless-type mouse mammary tumor virus (MMTV) integration site family (Wnt) signaling pathway. Research indicates that  $\beta$ -catenin is indispensable for normal skeletal development. In the human embryo,  $\beta$ -catenin is critical for the early stages of osteoblast differentiation. Postnatally,  $\beta$ -catenin within mature osteoblasts and osteocytes indirectly suppresses osteoclast differentiation. Furthermore, it regulates bone homeostasis by enhancing osteoblast activity and inhibiting osteoblast turnover, while simultaneously impeding the formation of osteoclasts and bone marrow adiposity.

T-cell factor 1 (TCF1) serves as a primary target of the Wnt signaling pathway and functions as a classical transcription factor for  $\beta$ -catenin. Upon activation by various upstream signals, TCF activates the transcription of downstream target genes and regulates biological processes, such as the differentiation, proliferation, and apoptosis of osteoblasts, which play a pivotal role in bone development and remodeling. Animal models have demonstrated that mutations in TCF1 result in loss of function, which can consequently cause numerous pathologies, most notably skeletal abnormalities and bone mineral deficiencies.

Physical training represents a beneficial non-pharmacological intervention for enhancing muscle mass and strength, as well as stimulating increases in bone density. The osteogenic effects of exercise on bone tissues are directly correlated with the magnitude of the mechanical strain applied. Scientific evidence demonstrates that physical training is highly effective in preventing bone mass attrition, fractures, and osteoporosis. Furthermore, bone metabolism is significantly influenced by physical training. During physical activities, bone tissue undergoes deformation, triggering mechanosensors located within the cells, such as ion channels and integrins, to alter their conformational structure. This process activates multiple signaling pathways, most notably the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway, which subsequently induces the process of osteogenesis. The phenomenon of aging, in conjunction with intrinsic and extrinsic factors, including genetics, hormones, sedentary lifestyle, and poor nutrition, accelerates age-related bone mass attrition, which is of critical clinical significance. Consequently, the present study was conducted to investigate the effects of combined resistance-aerobic exercise training on the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and bone remodeling in a rat model of aging.

### Methods

This experimental study was conducted on 16 aged male Wistar rats (22 months old, weighing approximately 300–350 g)

and 8 young male rats (3 months old, weighing approximately 190–230 g) as a young control group.

Following a two-week period of animal acclimatization and habituation to the laboratory environment, the rats were randomly assigned to three groups as follows:

**Combined resistance-aerobic exercise training group:** This group consisted of 8 aged male rats that performed combined resistance-aerobic exercise training for eight weeks, with five sessions per week. These rats were dissected 48 hours after the final training session.

**Aged group:** This group involved 8 aged male rats that received no intervention. They were dissected concurrently with the experimental group.

**Young control group:** This group comprised 8 young male Wistar rats that had no physical training and were merely included in the study to facilitate a comparative analysis of the aging process against the aged groups. This group was also dissected concurrently with the other research cohorts.

The combined resistance-aerobic exercise training protocol was adapted from the modified protocol developed by Dotzert et al. This protocol comprised a combination of resistance and aerobic training performed five days per week over an eight-week period. In each session, the resistance training was conducted first; following a one-hour rest period, the rats proceeded to the aerobic training. The resistance training involved climbing a one-meter ladder with weights attached to the tails. To prevent inflammation and muscle soreness, only concentric contractions were utilized. The rats were weighed weekly, and the resistance level (training intensity) was adjusted based on a specific percentage of their body weight.

To implement the aerobic training protocol, the maximum running speed of the rats was first determined using a specialized rodent treadmill. The training intensity was subsequently established based on a percentage of the maximum speed attained.

For bone tissue sampling, 48 hours after the final training session, the rats were anesthetized via intraperitoneal injection of ketamine (30–50 mg/kg/bw) and xylazine (3–5 mg/kg/bw) and then sacrificed. Femoral bone tissue samples were isolated under sterile conditions. After meticulously removing the surrounding soft tissues while ensuring the periosteum remained intact and undamaged, the bone tissues were transferred to ribonuclease (RNase)-free and deoxyribonuclease (DNase)-free microtubes. Finally, the samples were frozen by immersion in liquid nitrogen.

For ribonucleic acid (RNA) extraction, the femoral bone tissue was first homogenized using a homogenizer, followed by RNA isolation according to the manufacturer's instructions. The quality and quantity of the extracted RNA were assessed using a NanoDrop spectrophotometer. Subsequently, complementary deoxyribonucleic acid (cDNA) synthesis was performed following the manufacturer's protocol. The expression levels of the target genes were evaluated using real-time reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR).

### Results

Following eight weeks of combined resistance-aerobic exercise training, a significant increase was observed in the gene expression of  $\beta$ -catenin and TCF1 compared to the aged control group. Statistically significant differences in the expression levels of both  $\beta$ -catenin and TCF1 were identified among the study groups ( $P < 0.001$ ).

Regarding TCF1 gene expression, significant differences were found between the aged group and the training group ( $P < 0.028$ ),



as well as between the aged group and the young group ( $P < 0.001$ ). However, no significant difference was observed between the training group and the young group in the TCF1 expression. Similarly, for  $\beta$ -catenin gene expression, significant differences were observed between the aged group and the training group ( $P < 0.024$ ), and between the aged group and the young group ( $P < 0.001$ ). Moreover, a significant difference in  $\beta$ -catenin expression was also observed between the training group and the young group ( $P < 0.024$ ).

#### Conclusion

According to the findings of this study, a significant increase was observed in the expression of  $\beta$ -catenin and TCF1 genes following eight weeks of training compared to the aged group. Given the pivotal role of these genes in bone development, the results of the present research demonstrate the positive effects of combined resistance-aerobic exercise training on bone development in an aged animal model.

Bone aging is a progressive process typically characterized by an imbalance between osteoclast bone resorption and osteoblast bone formation. This process is influenced by genetic factors and lifestyle-induced epigenetic modifications. The loss of bone mass associated with skeletal aging is driven by oxidative stress, which negatively impacts signaling pathways involved in bone cell survival and the osteogenesis process. Moreover, the production of mitochondrial superoxide anions in aged osteocytes enhances bone resorption, while reactive oxygen species (ROS) suppress  $\beta$ -catenin signaling. Furthermore, the activation of Forkhead Box O (FOXO) transcription signaling, which plays a pivotal role in aging and longevity, induces apoptosis in osteoblasts and osteocytes. Conversely, physical training positively modulates bone metabolism through various mechanisms, such as the activation of inflammatory cascades involving immune cells and inflammatory mediators, the stimulation of metabolic responses due to skeletal muscle-derived interleukin-6 (IL-6) increase, and the induction of the Wnt signaling pathway. Moreover, mechanical loading induced by physical training suppresses the adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells by facilitating the  $\beta$ -catenin-mediated

release of FOXO transcription. Additionally, physical training has been shown to attenuate osteocyte apoptosis.

Physical training and physical activities serve as a non-pharmacological preventive strategy against osteoporosis in the elderly. The interplay among mechanical loading, hormones or cytokines, and physical training-induced signaling pathways enhances bone formation and attenuates bone resorption, thereby maintaining skeletal integrity. Furthermore, dysregulation of bone angiogenesis is associated with various bone pathologies, including osteoporosis; physical training facilitates the improvement of bone angiogenesis by modulating key angiogenic mediators.

#### Ethical Statement

This study was approved by the Research Ethics Committee at Islamic Azad University, Parand Branch (IR.IAU.PIAU.REC.1403.034).

#### Authors' Contributions

**Vajihe Varzandeh:** Project execution, Data collection, Data analysis, Interpretation of the results, Drafting of the initial manuscript, Approval of the final manuscript.

**Yaser Kazemzadeh (Ph.D):** Project administration and design, Interpretation of the results, Approval of the final manuscript.

**Sanaz Mirzayan Shanjani (Ph.D):** Data analysis, Approval of the final manuscript.

**Hossein Shirvani (Ph.D):** Project administration and design, Project execution, Data collection, Data analysis, Interpretation of the results, Approval of the final manuscript.

#### Conflicts of Interest

No conflicts of interest.

#### Acknowledgement

This study has been derived from the doctoral dissertation by Vajihe Varzandeh in Exercise Physiology at the Faculty of Physical Education at Islamic Azad University, Islamshahr Branch. The authors would like to thank everyone who contributed to the implementation of this study.

**Performing combined resistance-aerobic exercise training for eight weeks resulted in a significant increase in the expression of  $\beta$ -catenin and TCF1 genes within aged male Wistar rats. As a non-pharmacological, low-cost, and safe intervention, this protocol exerted positive effects on bone development in the aged animal model.**



### تحقیقی

## اثر تمرین ترکیبی مقاومتی-هوازی بر مسیر سیگنالینگ Wnt/ $\beta$ -Catenin و بازسازی استخوان در مدل پیری موش‌های صحرائی

وجیهه ورزنده<sup>۱</sup>، دکتر یاسر کاظمزاده<sup>۲\*</sup>، دکتر سانا میرزایان شانجانی<sup>۲</sup>، دکتر حسین شیروانی<sup>۳</sup>

۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران. ۲ استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران. ۳ دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

### چکیده

زمینه و هدف: ژن‌های بتا-کاتنین و TCF1 نقش مهمی در رشد و بازسازی استخوان دارند. این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرین ترکیبی مقاومتی-هوازی بر مسیر سیگنالینگ Wnt/ $\beta$ -Catenin و بازسازی استخوان در مدل پیری موش‌های صحرائی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۶ سر موش صحرائی نر سالخورده نژاد ویستار (۲۲ ماهه با وزن تقریبی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم) به طور تصادفی در دو گروه ۸ تایی کنترل و تمرین تقسیم شدند. همچنین ۸ سر موش صحرائی نر جوان (سه ماهه با وزن تقریبی ۱۹۰ تا ۲۳۰ گرم) به عنوان گروه کنترل جوان در نظر گرفته شد. برنامه تمرینی به مدت هشت هفته و هر هفته پنج جلسه تمرین مقاومتی-هوازی بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلمازین بیهوش و سپس قربانی شدند. نمونه‌های بافت استخوان ران در شرایط سترون جدا شد. بیان ژن‌های موردنظر توسط روش RT-PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: در اثر اجرای هشت هفته تمرین مقاومتی-هوازی در بیان ژن‌های بتا-کاتنین و TCF1 نسبت به گروه سالخورده افزایش آماری معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). میزان بیان ژن‌های بتا-کاتنین و TCF1 در گروه تمرین سالخورده در مقایسه با گروه کنترل سالخورده افزایش آماری معنی‌داری نشان داد ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: انجام تمرینات مقاومتی-هوازی به مدت هشت هفته منجر به افزایش معنی‌دار در بیان ژن‌های بتا-کاتنین و TCF1 در بافت استخوان موش‌های سالخورده گردید.

واژه‌های کلیدی: تمرین، بتا کاتنین، فاکتور شماره ۱ سلول‌های T، سالمندی

\* نویسنده مسؤل: دکتر یاسر کاظمزاده، پست الکترونیکی: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

نشانی: اسلامشهر، میدان نماز، خیابان شهید صیاد شیرازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر، دانشکده تربیت بدنی، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن ۰۲۱-۵۶۳۵۸۱۰۵-۷

وصول ۱۴۰۳/۱۲/۱۲ اصلاح نهایی ۱۴۰۴/۴/۲۱ پذیرش ۱۴۰۴/۴/۳۰ انتشار ۱۴۰۴/۱۰/۱۰

### مقدمه

تحلیل توده استخوانی در مردان و زنان با فرایند پیری همراه است و احتمال شکستن استخوان‌ها در افراد مسن را افزایش می‌دهد. با این حال تغییراتی که در ویژگی‌های سلولی-مولکولی بافت استخوان رخ می‌دهد؛ کمتر شناخته شده است. تغییرات ایجادشده در بافت استخوانی، میزان شکنندگی اسکلتی مرتبط با کاهش توده استخوانی را تشدید می‌کند. کیفیت بافت استخوان تحت تأثیر تغییرات مربوط به سن در مواد معدنی استخوان، کلاژن و پروفایل‌های پیوند متقابل آن، میزان آب و حتی پروتئین‌های غیر کلاژنی قرار می‌گیرد. سلامت اسکلتی-عضلانی جزء مهمی از فرایند پیری است و استخوان‌ها جزء بسیار مهم سیستم اسکلتی-عضلانی هستند. اگرچه همواره تغییرات مرتبط با افزایش سن در ساختار استخوان رخ می‌دهد، بیماری‌هایی

که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم روی استخوان تأثیر می‌گذارند و تغییرات سبک زندگی مرتبط با سن، تأثیر بیشتری بر سلامت استخوان‌ها دارند. یکپارچگی و قدرت ضعیف استخوان‌ها، افراد مسن را مستعد اختلال در عملکرد، ناتوانی، وابستگی، افتادن‌های پی در پی، درد، هزینه‌های بالای مراقبت‌های پزشکی و افزایش میزان مرگ و میر می‌کند.<sup>۱</sup>

بتا-کاتنین ( $\beta$ -catenin) یک مولکول چند وظیفه‌ای و تکاملی است که در متازوئن‌ها (Metazoans) نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای رشدی و هموستاتیک دارد. به‌طور خاص، بتا-کاتنین یک جزء ساختاری جدایی‌ناپذیر از اتصالات چسبنده مبتنی بر کادهرین (Cadherin) و عامل اصلی هسته‌ای در سیگنال‌دهی Wnt (Wingless-type MMTV integration site family) است.<sup>۲</sup>

موش‌های صحرایی انجام شد.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۱۶ سر موش صحرایی نر سالخورده نژاد ویستار (۲۲ ماهه با وزن تقریبی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم) به طور تصادفی در دو گروه ۸ تایی کنترل و تمرین تقسیم شدند. همچنین ۸ سر موش صحرایی نر جوان (سه ماهه با وزن تقریبی ۱۹۰ تا ۲۳۰ گرم) به عنوان گروه کنترل جوان در نظر گرفته شد.

پروتکل کار بر روی حیوانات (تمرین، آشناسازی، بیپوشی و کشتن حیوان) براساس انجمن ارزیابی و اعتباربخشی بین‌المللی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی و با تأیید معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه بقیه الله در سال ۱۴۰۳ انجام شد. حیوانات از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی پاستور تهران تهیه و به مرکز آزمایشات حیوانات بقیه الله منتقل شدند. حیوانات تحت شرایط استاندارد نور، دما و رطوبت نگهداری شدند. همچنین میزان کافی آب و غذا به صورت آزادانه در دسترس حیوانات بود.

پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه، موش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه تمرین مقاومتی-هوازی: شامل ۸ سر موش صحرایی نر سالخورده بود که به مدت هشت هفته و هر هفته پنج جلسه تمرین ترکیبی انجام دادند. این موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تشریح شدند.

گروه سالخورده: این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی نر سالخورده بود که هیچگونه مداخله‌ای روی آنها انجام نشد و همزمان با گروه تجربی، تشریح شدند.

گروه جوان کنترل: این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی ویستار جوان بود که هیچگونه فعالیت ورزشی نداشتند و صرفاً برای مقایسه با گروه سالخورده برای بررسی روند سالخوردگی در تحقیق وارد شدند. این گروه نیز همزمان با دیگر گروه‌های پژوهش تشریح شدند.

پروتکل تمرین مقاومتی-هوازی شامل پروتکل تمرینی اصلاح شده Dotzert و همکاران<sup>۱۴</sup> بود. این پروتکل شامل ترکیبی از تمرینات مقاومتی و هوازی به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته بود. در هر جلسه ابتدا تمرین مقاومتی انجام شد. سپس موش‌ها به مدت یک ساعت استراحت کرده و پس از آن تمرین هوازی شروع شد. تمرین مقاومتی شامل بالارفتن از نردبان یک متری بود که با اضافه کردن وزنه به دم موش‌ها انجام شد. در این تمرین تنها از انقباض درونگرا استفاده شد تا التهاب و کوفتگی عضلانی به وجود نیاید. هر هفته موش‌ها وزن‌کشی شده و میزان مقاومت (شدت تمرین) بر اساس درصدی از وزن موش انتخاب شد (جدول یک).

تحقیقات نشان می‌دهد که بتا-کاتنین برای رشد طبیعی استخوان‌ها ضروری است.<sup>۴</sup> در جنین انسان، بتا-کاتنین برای مراحل اولیه تمایز استئوبلاست‌ها حیاتی است. پس از تولد، بتا-کاتنین در استئوبلاست‌ها و استئوسیت‌های بالغ به‌طور غیرمستقیم تمایز استئوکلاست‌ها را سرکوب می‌کند. همچنین، هموستاز استخوان را با افزایش فعالیت استئوبلاست‌ها و سرکوب گردش (Turnover) استئوبلاست‌ها تنظیم می‌کند؛ در حالی که مانع تشکیل استئوکلاست‌ها و چربی مغز استخوان می‌شود.<sup>۵</sup>

TCF1 (T cell factor 1) هدف اصلی مسیر سیگنال‌دهی Wnt است. همچنین یک فاکتور رونویسی معمولی برای بتا-کاتنین است. TCF می‌تواند رونویسی ژن‌های هدف پایین‌دست را پس از فعال‌سازی با انواع سیگنال‌های بالادستی فعال کند و فعالیت‌های بیولوژیک مانند تمایز، تکثیر و آپوپتوز استئوبلاست‌ها را تنظیم کند که نقش بسیار مهمی در رشد و بازسازی استخوان دارند. در مدل حیوانی نشان داده شده که جهش در TCF1 منجر به از دست دادن عملکرد می‌شود که می‌تواند منجر به بسیاری از ناهنجاری‌ها شود. شایع‌ترین آنها ناهنجاری‌های اسکلتی یا کمبود عناصر معدنی در استخوان است.<sup>۶</sup>

تمرینات ورزشی یک مداخله غیردارویی و مفید برای افزایش توده و قدرت عضلانی<sup>۷</sup> و تحریک افزایش تراکم استخوانی<sup>۸</sup> است. اثرات سازنده ورزش بر روی بافت‌های استخوانی با میزان فشار مکانیکی اعمال شده مرتبط است.<sup>۹</sup> شواهد علمی نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی در جلوگیری از جلوگیری از تحلیل توده استخوان و شکستگی‌ها و همچنین پوکی استخوان، بسیار موثر است.<sup>۱۱</sup> سوخت و ساز استخوان به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر تمرینات ورزشی قرار گرفته و در نتیجه استخوان‌ها از نظر شکل، جرم و قدرت با بار مکانیکی ناشی از تمرینات ورزشی سازگار می‌شوند. در طول فعالیت‌های بدنی، بافت استخوان تغییر شکل داده و ساز و کار حسگرهای واقع در سلول‌ها، مانند کانال‌های یونی و اینتگرین‌ها (Integrins)، ساختار اصلی خود را تغییر داده و سیگنال‌های متعددی از جمله مسیر بتا-کاتنین Wnt را تحریک کرده و فرآیند استخوان‌سازی اتفاق می‌افتد.<sup>۱۲</sup> با این حال، ساز و کارهای تنظیمی اثرات مفید تمرینات ورزشی در سطح سلولی-مولکولی بر توده استخوان به‌ویژه در شرایط سالمندی هنوز به‌طور کامل درک نشده است. از سوی دیگر پدیده سالمندی، در ترکیب با عوامل درونی و بیرونی از جمله ژنتیک، هورمون‌ها، سبک زندگی کم‌تحریک و تغذیه نامناسب، باعث تسریع تحلیل توده استخوانی مرتبط با افزایش سن می‌شود<sup>۱۳</sup> که از جنبه سلامتی دارای اهمیت به‌سزایی است؛ لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرین ترکیبی مقاومتی-هوازی بر مسیر سیگنالینگ Wnt/β-Catenin و بازسازی استخوان در مدل پیری

هفته	تعداد دور	تعداد تکرار	شدت تمرین (درصدی از وزن موش)	پروتکل تمرین مقاومتی		پروتکل تمرین هوازی	
				فاصله استراحت بین تکرارها (دقیقه)	فاصله استراحت بین دورها (دقیقه)	شدت تمرین (حداکثر سرعت موش‌ها)	مدت تمرین (دقیقه)
۱	۳	۴	۵	۱	۳	۴۰-۵۰	۱۰
۲	۳	۴	۱۰	۱	۳	۴۰-۵۰	۱۰
۳	۳	۴	۱۵	۱	۳	۵۰	۱۵
۴	۳	۴	۲۰	۱	۳	۶۰	۲۰
۵	۳	۴	۳۰	۱	۳	۶۵-۷۰	۲۵
۶	۳	۴	۳۵	۱	۳	۶۵-۷۰	۲۵
۷	۳	۴	۴۰	۱	۳	۷۵-۸۰	۳۰
۸	۳	۴	۴۵	۱	۳	۷۵-۸۰	۳۰

Accession number	Product length	Primer sequences	Genes name
NM_001427430.1	182 nt	Forward: CATTTCAGCAGTCCACACCC Reverse: ACACCAGATCCCAGCATCAA	Rattus norvegicus transcription factor 7 (Tcf7) Tcf1
NM_053357.3	191 nt	Forward: CTTCAGACAGCCATCATG Reverse: CGACCAAGCATTTTCACCA	Rattus norvegicus catenin beta 1 (Ctnnb1)
NM_017008.4	102 nt	Forward: CAAGTTCACGGCACAGTCA Reverse: CCCCATTTGATGTTAGCGGG	Rattus norvegicus glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS-20 و آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. در سطح آمار توصیفی از شاخص‌هایی مانند میانگین، انحراف معیار، جداول توزیع فراوانی و در بخش آمار استنباطی از آزمون شاپیرو-ویلک برای نرمال بودن توزیع داده‌ها و از آزمون کروسکال والیس برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای مقایسه جفتی بین گروه‌های مطالعه از آزمون تعقیبی دان تست (Dunn Test) استفاده شد. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار بیان ژن‌های بتا-کاتنین و TCF1 پس از هشت هفته تمرین در جدول ۳ آمده است.

در اثر اجرای هشت هفته تمرین مقاومتی-هوازی در بیان ژن‌های بتا-کاتنین و TCF1 نسبت به گروه سالخورده کنترل افزایش معنی‌داری مشاهده شد. به طوری که بین گروه‌های مورد مطالعه در بیان ژن بتا-کاتنین و بیان ژن TCF1 تفاوت آماری معنی‌داری یافت شد ( $P < 0/01$ ) (جدول ۴).

متغیرها	گروه‌ها (n=8)	میانگین و انحراف معیار
بتا-کاتنین	سالخورده	۰/۲۶۵۴±۰/۰۳۱
	تمرین	۰/۳۳۹۹±۰/۰۲۴
TCF1	جوان	۱/۰۵۸۲±۰/۳۶۱
	سالخورده	۰/۱۳۶۷±۰/۲۶۱
TCF1	تمرین	۰/۵۹۵۸±۰/۱۹۲
	جوان	۱/۲۳۴۷±۰/۸۲۹

در بیان ژن TCF1 بین گروه سالخورده با گروه تمرین ( $P < 0/028$ ) و بین گروه سالخورده با گروه جوان ( $P < 0/01$ ) تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد. با این حال بین گروه تمرین با گروه جوان در بیان ژن TCF1 تفاوت آماری معنی‌داری یافت نشد. همچنین در بیان

برای اجرای تمرین هوازی، ابتدا حداکثر سرعت موش‌ها بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان محاسبه شد. مبنای شدت تمرین درصدی از حداکثر سرعت به دست آمده بود. مدت و شدت تمرین هوازی در جدول یک آمده است.

برای نمونه‌برداری بافت استخوان، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (سه تا پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش و سپس قربانی شدند. نمونه‌های بافت استخوان ران در شرایط سترون جدا شد. پس از جداسازی بافت‌های نرم اطراف استخوان با دقت و بدون آسیب دیدگی به ضریع استخوان، بافت استخوان به میکروتیوب‌های عاری از RNase و Nase منتقل شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از غوطه‌ورسازی در نیتروژن مایع منجمد شدند.

برای استخراج RNA، ابتدا بافت استخوان ران با استفاده از دستگاه هموژنایزر هموژن شد و سپس استخراج RNA مطابق دستورالعمل کیت مربوطه انجام شد. ۰/۲ گرم از بافت استخوان ران را برداشته و روی آن معرف ترايزول ریخته و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به کمک دستگاه هموژنایزر، هموژن شده و پس از آن RNA بر اساس روش ترايزول جدا شد. کیفیت و کمیت RNA با اسپکتروفوتومتری نانودراپ اندازه‌گیری شد. سنتز cDNA نیز بر اساس روش سازنده انجام شد. تغییرات بیان ژن‌های موردنظر توسط روش RT-PCR (Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR) ارزیابی شد. اختلاف CT به دست آمده از نمونه‌های مورد آزمایش و نمونه‌های مرجع محاسبه و با استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  نسبت ژن هدف به ژن مرجع اندازه‌گیری شد. مشخصات توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آمده است.

جدول ۴: نتایج آزمون کروسکال والیس برای ژن بتا-کانتین و ژن TCF1					
متغیرها	گروه‌ها (n=8)	میانگین رتبه	Kruskal-Wallis H	درجه آزادی	P-value
بتا-کانتین	سالخورده	۴/۵۰	۲۰/۴۸۹	۲	<۰/۰۰۱ *
	تمرین	۱۲/۵۰			
	کنترل جوان	۲۰/۵۰			
TCF1	سالخورده	۵/۵۰	۱۴/۱۸۰	۲	<۰/۰۰۱ *
	تمرین	۱۳/۲۵			
	کنترل جوان	۱۸/۷۵			

بار مکانیکی منشأ ساز و کارهایی است که توسط آن سلول‌های استخوانی، ساختار استخوان را برای حفظ استحکام استخوان تنظیم می‌کنند.<sup>۱۹</sup> برخی از مسیرهای سیگنال‌دهی و ژن‌ها در این پاسخ نقش دارند. در میان مسیرهای سیگنال‌دهی، مسیر Wnt/بتا-کانتین یک پاسخ فیزیولوژیک طبیعی استخوان به بار مکانیکی است.<sup>۲۰</sup> متابولیسم استخوان به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر ورزش قرار می‌گیرد و در نتیجه استخوان‌ها از نظر شکل، جرم و قدرت با بار مکانیکی ناشی از تمرینات ورزشی سازگار می‌شوند. در طول فعالیت بدنی، بافت استخوان تغییر شکل داده و مکانیسم حسگرهای واقع در سلول‌ها، مانند کانال‌های یونی و اینتگرین، ساختار اصلی خود را تغییر داده و سیگنال‌های متعددی از جمله کلسیم، پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (Mitogen-activated protein kinase) (MAPK)، مسیرهای Wnt و RhoA/ROCK (Rho-associated protein kinase) را تحریک می‌کنند.<sup>۲۱</sup> به‌طور خاص، بار مکانیکی ناشی از تمرینات ورزشی مسیر سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کانتین را فعال می‌کند، یا از طریق تحریک مستقیم RUNX2، یا تعامل متقابل با مسیرهای سیگنال‌دهی هورمون پاراتیروئید یا پروتئین‌های مورفوژنتیک، اثرات خود را اعمال می‌کند.<sup>۲۲</sup> با تنظیم بیان استئوپروترگین (Osteoprotegerin) و RANKL در استئوبلاست‌ها، سیگنال‌دهی Wnt منجر به کاهش فعالیت استئوکلاستوزن و استئوکلاست می‌شود.<sup>۲۳</sup> علاوه بر این، بارگذاری مکانیکی (فعالیت ورزشی) یک پاسخ مولکولی را فعال می‌کند که اسکلوستین را مهار می‌کند و امکان فعال‌سازی سیگنال‌دهی Wnt و در نتیجه استئوبلاستوزن و تشکیل استخوان را فراهم می‌کند. فعالیت‌های ورزشی در نهایت تعادل چربی به استخوان را به سمت تشکیل استئوبلاست تغییر می‌دهد.<sup>۲۴</sup> تمرینات ورزشی و فعالیت بدنی همچنین یک آبشار التهابی را فعال می‌کند که شامل سلول‌های ایمنی مانند سایتوکاین‌ها و واسطه‌های التهابی مانند مایوکاین‌ها و آدیپوکاین‌ها است. این واسطه‌ها محیطی را برای بازیابی، بازسازی و سازگاری استخوان ایجاد می‌کنند.<sup>۲۵</sup>

تمرینات ورزشی یک محرک قوی برای بیان PGC-1 $\alpha$  است که به نوبه خود بیان FNDC5 را در استئوبلاست‌ها تقویت می‌کند.<sup>۲۶</sup> و در ادامه، تکثیر و تمایز استئوبلاستیک را تنظیم می‌کند.<sup>۲۷</sup> برخی مطالعات نشان می‌دهد که در اثر تمرین ورزشی سطوح mRNA ژن FNDC5، Akt (Protein kinase B) بتا-کانتین در بافت استخوانی افزایش

ژن بتا-کانتین بین گروه سالخورده با گروه تمرین ( $P < 0/024$ ) و بین گروه سالخورده با گروه جوان ( $P < 0/001$ ) تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد. علاوه بر این بین گروه تمرین با گروه جوان در بیان ژن بتا-کانتین تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0/024$ ).

### بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های بتا-کانتین و TCF1 در اثر اجرای هشت هفته تمرین نسبت به گروه سالخورده مشاهده شد. با توجه به نقش این ژن‌ها در رشد استخوان، نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده اثرات مثبت تمرینات مقاومتی-هوازی بر رشد استخوان در مدل حیوانی سالمند است.

با توجه به دانش ما، پژوهش حاضر جزء نخستین پژوهش‌های انجام شده در زمینه تاثیر تمرینات مقاومتی-هوازی بر بیان ژن‌های بتا-کانتین و TCF1 در بافت استخوانی موش‌های صحرایی سالخورده است که این امر امکان مقایسه یافته‌های این مطالعه با سایر پژوهش‌ها را با دشواری مواجه می‌سازد. با این حال پژوهشگران در پژوهش‌های انجام‌شده در این زمینه نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی اثرات مثبتی بر جنبه‌های مختلف بافت استخوانی دارد. در مطالعه دهقان و همکاران دوازده هفته تمرین مقاومتی افزایش معنی‌داری در سطوح کلسی‌تونین و کلسیم در بافت استخوان مردان سالمند نسبت به گروه کنترل ایجاد نمود.<sup>۱۵</sup> علاوه بر این در مطالعه قاسمی و امینی که اثر چهار هفته تمرینات پلايومتریک و تناوبی شدید به‌همراه مکمل‌دهی روی بر عوامل رشد استخوانی در نوجوانان پسر والیبالیست انجام شد؛ نتایج بین گروهی افزایش معنی‌داری در مقادیر آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین سرم پس از چهار هفته در گروه‌های تحقیقی مشاهده شد. با توجه به افزایش میزان عوامل رشد توده استخوانی در ورزشکاران نوجوان والیبالیست هر دو شیوه تمرینات پلايومتریک و تناوبی شدید و همچنین مصرف مکمل روی در این ورزشکاران توصیه شد.<sup>۱۶</sup> در مطالعه شیری و همکاران تمرین مقاومتی-هوازی به مدت شش هفته سبب افزایش بیومارکرهای RUNX2، RANKL و آلکالین فسفاتاز موش‌های نر کودک، بالغ و سالمند شد.<sup>۱۷</sup>

هموستاز توده استخوانی توسط تعامل میان عوامل مختلفی از جمله فاکتورهای رشدی، هورمون‌های سیستمیک و بار مکانیکی ناشی از تمرینات ورزشی و فعالیت بدنی تنظیم می‌شود.<sup>۱۸</sup> در میان این عوامل،

بارمکانیکی ناشی از تمرینات ورزشی همچنین تمایز چربی‌زایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را با آزادسازی رونویسی با واسطه FOXO بتاکاتین کاهش می‌دهد.<sup>۳۹</sup> علاوه بر این، تمرینات ورزشی، آپوپتوز استئوسیتی را نیز کاهش می‌دهد.<sup>۴۰</sup>

تمرینات ورزشی و فعالیت بدنی می‌تواند از پوکی استخوان در سالمندان به‌عنوان یک استراتژی پیشگیرانه غیردارویی جلوگیری کند. برهم‌کنش بار مکانیکی، هورمون‌ها یا سایتوکاین‌ها و مسیرهای سیگنال‌دهی ناشی از تمرینات ورزشی باعث افزایش تشکیل استخوان و کاهش تحلیل استخوان می‌شود که منجر به حفظ اسکلت سالم می‌شود. اختلال در تنظیم رگ‌زایی استخوان با بسیاری از بیماری‌های استخوانی از جمله پوکی استخوان همراه است و تمرینات ورزشی از طریق تنظیم واسطه‌های کلیدی رگ‌زایی باعث بهبود رگ‌زایی در استخوان می‌شود.<sup>۴۱</sup>

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار در بیان ژن‌های بتا-کاتین و TCF1 در اثر اجرای هشت هفته تمرین است. تمرینات مقاومتی-هوازی به‌عنوان یک ابزار غیر دارویی، کم‌هزینه و ایمن بر رشد استخوان در مدل حیوانی سالمند اثرات مثبتی دارد.

### ملاحظات اخلاقی

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی- واحد پرند (IR.IAU.PIAU.REC.1403.034) قرار گرفت.

### مشارکت نویسندگان

**وجیهه ورزنده:** انجام پروژه، جمع‌آوری داده‌ها، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج، نوشتن نسخه اولیه مقاله و تایید نسخه نهایی مقاله.

**دکتر یاسر کاظم‌زاده:** مدیریت و طراحی پروژه، تفسیر نتایج و تایید نسخه نهایی مقاله.

**دکتر سانا میرزایان شانجانی:** آنالیز داده‌ها، تایید نسخه نهایی مقاله، دکتر حسین شیروانی، مدیریت و طراحی پروژه، انجام پروژه، جمع‌آوری داده‌ها، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج و تایید نسخه نهایی مقاله.

### تعارض منافع

بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم وجیهه ورزنده برای اخذ درجه دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی از دانشکده تربیت بدنی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر بود. بدین‌وسیله از تمام کسانی که ما را در اجرای این مطالعه یاری نمودند؛ تشکر می‌نمایم.

می‌یابد.<sup>۲۸</sup> مطالعات قبلی گزارش کردند آریزین در میان مایوکاین‌ها، هم در هموستاز گلوکز و هم در هموستاز استخوان نقش داشته و تمایز سلولی را از طریق تحریک مسیر Akt/بتا-کاتین تنظیم می‌کند.<sup>۲۹، ۳۰</sup> و پیشنهاد شده است که مسیرهای سیگنال‌دهی آریزین FNDC5/ بر فرآیند پاسخ اسکلتی به بارگذاری مکانیکی (مانند تمرین ورزشی) تا حدی از طریق تعامل آن با مسیر Akt/بتا-کاتین تأثیر می‌گذارد. مسیر سیگنال‌دهی Akt/بتا-کاتین به‌عنوان یک تعدیل‌کننده مهم در تنظیم اثرات فشار مکانیکی بر تمایز استئوبلاست شناخته شده است.<sup>۳۱</sup> تحریک مکانیکی ناشی از تمرینات ورزشی می‌تواند باعث تجمع سریع بتا-کاتین در سیتوپلاسمی شود که به سمت هسته حرکت نموده و بیان ژن هدف را همراه با TCF/LEF تنظیم می‌کند. نتایج تجربی نشان می‌دهد که بیان mRNA TCF1 و LEF1 در گروه تمرین به‌طور قابل‌توجهی نسبت به گروه کنترل بالاتر است. اعتقاد بر این است که ورزش احتمال تشکیل کمپلکس بین بتا-کاتین و TCF/LEF را افزایش داده و بیان ژن‌های هدف پایین دست را افزایش می‌دهد.<sup>۶</sup> مسیر سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کاتین می‌تواند بیان ژن Runx2 را از طریق TCF1 فعال کند.<sup>۳۲</sup> Runx2 می‌تواند بیان TCF1 را القا کند که بیان ژن‌های مرتبط با استئوبلاست مانند Col-1 (Type I collagen)، آلکالین فسفاتاز و OCN (Osteocalcin) را افزایش می‌دهد و در نتیجه تمایز استئوبلاست و رشد استخوان را کنترل می‌کند.<sup>۳۳</sup>

پیری استخوان فرآیندی است که معمولاً در طول زمان اتفاق می‌افتد و منجر به عدم تعادل بین تحلیل استئوکلاست و تشکیل استخوان استئوبلاست می‌شود. عوامل ژنتیکی و تغییرات اپی‌ژنتیکی ناشی از سبک زندگی بر این فرآیند تأثیر می‌گذارد.<sup>۳۴</sup> از دست دادن توده استخوانی مرتبط با پیری استخوان توسط استرس اکسیداتیو تعیین می‌شود که بر مسیرهای سیگنال‌دهی دخیل در بقای سلول‌های استخوان و فرایند استخوان‌سازی تأثیر منفی می‌گذارد.<sup>۳۵</sup> تولید آنیون‌های سوپراکساید میتوکندری در استئوسیت‌های مسن، جذب استخوان را افزایش می‌دهد؛<sup>۳۶</sup> در حالی که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) سیگنال‌دهی بتا-کاتین را کاهش می‌دهد.<sup>۳۷</sup> علاوه بر این، فعال شدن سیگنال‌دهی رونویسی FOXO (Forkhead Box O) که در پیری و طول عمر نقش دارد؛ باعث آپوپتوز استئوبلاست‌ها و استئوسیت‌ها می‌شود.<sup>۳۸</sup> از سوی دیگر، ورزش و فعالیت بدنی از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند فعال‌شدن آبخارهای التهابی شامل سلول‌های ایمنی و واسطه‌های التهابی، تحریک پاسخ متابولیک به دلیل افزایش IL-6 توسط عضلات اسکلتی و تحریک مسیر سیگنال‌دهی Wnt، بر متابولیسم استخوان تأثیر مثبت می‌گذارد.<sup>۱۲</sup>

## References

- Burr DB. Changes in bone matrix properties with aging. Bone. 2019 Mar;120:85-93.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.10.010>

- Coll PP, Phu S, Hajjar SH, Kirk B, Duque G, Tixel P. The

- prevention of osteoporosis and sarcopenia in older adults. *J Am Geriatr Soc.* 2021 May;69(5):1388-98. <https://doi.org/10.1111/jgs.17043>.
3. Liu DX, Hao SL, Yang WX. Crosstalk Between  $\beta$ -CATENIN-Mediated Cell Adhesion and the WNT Signaling Pathway. *DNA Cell Biol.* 2023 Jan;42(1):1-13. <https://doi.org/10.1089/dna.2022.0424>.
  4. Tahoori M, Tafreshi AP, Naghshnejad F, Zeynali B. Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling Inhibits the Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells via Activation of Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway. *J Bone Metab.* 2025 Feb;32(1):11-20. <https://doi.org/10.11005/jbm.24.761>.
  5. Chen J, Long F.  $\beta$ -catenin promotes bone formation and suppresses bone resorption in postnatal growing mice. *J Bone Miner Res.* 2013 May;28(5):1160-69. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1834>.
  6. Li Z, Xu Z, Duan C, Liu W, Sun J, Han B. Role of TCF/LEF Transcription Factors in Bone Development and Osteogenesis. *Int J Med Sci.* 2018 Sep 7;15(12):1415-1422. <https://doi.org/10.7150/ijms.26741>.
  7. González-Rocha A, Mendez-Sanchez L, Ortíz-Rodríguez MA, Denova-Gutiérrez E. Effect Of Exercise on Muscle Mass, Fat Mass, Bone Mass, Muscular Strength and Physical Performance in Community Dwelling Older Adults: Systematic Review and Meta-Analysis. *Aging Dis.* 2022 Oct;13(5):1421-35. <https://doi.org/10.14336/ad.2022.0215>.
  8. Zhang S, Huang X, Zhao X, Li B, Cai Y, Liang X, Wan Q. Effect of exercise on bone mineral density among patients with osteoporosis and osteopenia: A systematic review and network meta-analysis. *J Clin Nurs.* 2022 Aug;31(15-16):2100-111. <https://doi.org/10.1111/jocn.16101>.
  9. Smith C, Tacey A, Mesinovic J, Scott D, Lin X, Brennan-Speranza TC, et al. The effects of acute exercise on bone turnover markers in middle-aged and older adults: A systematic review. *Bone.* 2021 Feb;143:115766. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115766>.
  10. Zhao R, Feng F, Wang X. Exercise interventions and prevention of fall-related fractures in older people: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Epidemiol.* 2017 Feb;46(1):149-61. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw142>.
  11. Sherrington C, Fairhall N, Wallbank G, Tiedemann A, Michaleff ZA, Howard K, et al. Exercise for preventing falls in older people living in the community: an abridged Cochrane systematic review. *Br J Sports Med.* 2020 Aug;54(15):885-91. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2019-101512>.
  12. Faienza MF, Lassandro G, Chiarito M, Valente F, Ciaccia L, Giordano P. How Physical Activity across the Lifespan Can Reduce the Impact of Bone Ageing: A Literature Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Mar;17(6):1862. <https://doi.org/10.3390/ijerph17061862>.
  13. Park H, Narayanan SA, Caldwell JT, Behnke BJ, Muller-Delp JM, Delp MD. Effects of aging and exercise training on bone and marrow blood flow and vascular function. *Bone.* 2025 Mar;192:117335. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2024.117335>.
  14. Dotzert MS, McDonald MW, Murray MR, Nickels JZ, Noble EG, Melling CWJ. Effect of Combined Exercise Versus Aerobic-Only Training on Skeletal Muscle Lipid Metabolism in a Rodent Model of Type 1 Diabetes. *Can J Diabetes.* 2018 Aug;42(4):404-11. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.09.013>.
  15. Dehghan K, Jalali Dehkodi K, Taghian F, Kargarfard M, Abedi B. The Effect of 12 Weeks of Resistance Training, Total Body Vibration and Combination on Serum Vitamin D Concentration, Bone Mineral Density and Functional Indices in Elderly Men with Osteoporosis: A Randomized Controlled Trial. *RSMT.* 2023;21(25):147-67. <http://dx.doi.org/10.61186/jsmt.21.25.147>. [Article in Persian]
  16. Ghasemi A, Amini H. The Effect of Four Weeks of Intense Plyometric and Intermittent Exercises with Zinc Supplementation on the Serum Levels of Growth Hormone and Like Growth Factor in Male Volleyball Players. *Journal of Sport Biosciences.* 2023;15(2):71-85. <https://doi.org/10.22059/jsb.2023.358234.1585>.
  17. Shiri M, Fadai Chafi M R, Gholamrezaei S. [Investigating the Effect of Resistance-Aerobic Training on the Absorption and Resorption Biomarkers of Bone Tissue in Young, Adult and Elderly Male Rats]. *JSSU.* 2024;32(2):7505-15. <http://dx.doi.org/10.18502/ssu.v32i2.15383>. [Article in Persian]
  18. Chang X, Xu S, Zhang H. Regulation of bone health through physical exercise: Mechanisms and types. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Dec;13:1029475. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1029475>.
  19. Wang L, You X, Zhang L, Zhang C, Zou W. Mechanical regulation of bone remodeling. *Bone Res.* 2022 Feb;10(1):16. <https://doi.org/10.1038/s41413-022-00190-4>.
  20. Choi RB, Robling AG. The Wnt pathway: An important control mechanism in bone's response to mechanical loading. *Bone.* 2021 Dec;153:116087. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116087>.
  21. Lombardi G, Ziemann E, Banfi G. Physical Activity and Bone Health: What Is the Role of Immune System? A Narrative Review of the Third Way. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019 Feb;10:60. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00060>.
  22. Gardinier JD, Al-Omaishi S, Morris MD, Kohn DH. PTH signaling mediates periacicular remodeling during exercise. *Matrix Biol.* 2016 May-Jul;52-54:162-75. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.02.010>.
  23. Bao K, Jiao Y, Xing L, Zhang F, Tian F. The role of wnt signaling in diabetes-induced osteoporosis. *Diabetol Metab Syndr.* 2023 Apr;15(1):84. <https://doi.org/10.1186/s13098-023-01067-0>.
  24. David V, Martin A, Lafage-Proust MH, Malaval L, Peyroche S, Jones DB, et al. Mechanical loading down-regulates peroxisome proliferator-activated receptor gamma in bone marrow stromal cells and favors osteoblastogenesis at the expense of adipogenesis. *Endocrinology.* 2007 May;148(5):2553-62. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1704>.
  25. Ren Y, Zhao H, Yin C, Lan X, Wu L, Du X, et al. Adipokines, Hepatokines and Myokines: Focus on Their Role and Molecular Mechanisms in Adipose Tissue Inflammation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Jul;13:873699. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.873699>.
  26. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 pathway. *Cell Metab.* 2013 Nov;18(5):649-59. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.09.008>.
  27. Kim H, Wrann CD, Jedrychowski M, Vidoni S, Kitase Y, Nagano K, et al. Irisin Mediates Effects on Bone and Fat via  $\alpha$ V Integrin Receptors. *Cell.* 2018 Dec;175(7):1756-1768.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.025>.
  28. Zhao R, Zhou Y, Li J, Lin J, Cui W, Peng Y, et al. Irisin Regulating Skeletal Response to Endurance Exercise in Ovariectomized Mice by Promoting Akt/ $\beta$ -Catenin Pathway. *Front Physiol.* 2021 Mar;12:639066. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.639066>.
  29. Liu TY, Shi CX, Gao R, Sun HJ, Xiong XQ, Ding L, et al. Irisin inhibits hepatic gluconeogenesis and increases glycogen synthesis via the PI3K/Akt pathway in type 2 diabetic mice and hepatocytes. *Clin Sci (Lond).* 2015 Nov;129(10):839-50.

- <https://doi.org/10.1042/cs20150009>.
30. Shi G, Tang N, Qiu J, Zhang D, Huang F, Cheng Y, et al. Irisin stimulates cell proliferation and invasion by targeting the PI3K/AKT pathway in human hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Nov;493(1):585-91. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.08.148>.
  31. Sunter A, Armstrong VJ, Zaman G, Kypta RM, Kawano Y, Lanyon LE, et al. Mechano-transduction in osteoblastic cells involves strain-regulated estrogen receptor  $\alpha$ -mediated control of insulin-like growth factor (IGF) I receptor sensitivity to Ambient IGF, leading to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-dependent Wnt/LRP5 receptor-independent activation of beta-catenin signaling. *J Biol Chem*. 2010 Mar;285(12):8743-58. <https://doi.org/10.1074/jbc.m109.027086>.
  32. Yang L, Li Q, Zhang J, Li P, An P, Wang C, et al. Wnt7a promotes the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Int J Mol Med*. 2021 Jun;47(6):94. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4927>.
  33. Zhang M, Yan Y, Lim YB, Tang D, Xie R, Chen A, et al. BMP-2 modulates beta-catenin signaling through stimulation of Lrp5 expression and inhibition of beta-TrCP expression in osteoblasts. *J Cell Biochem*. 2009 Nov;108(4):896-905. <https://doi.org/10.1002/jcb.22319>.
  34. Govindaraju D, Atzmon G, Barzilai N. Genetics, lifestyle and longevity: Lessons from centenarians. *Appl Transl Genom*. 2015 Feb;4:23-32. <https://doi.org/10.1016/j.atg.2015.01.001>.
  35. Santos L, Elliott-Sale KJ, Sale C. Exercise and bone health across the lifespan. *Biogerontology*. 2017 Dec;18(6):931-46. <https://doi.org/10.1007/s10522-017-9732-6>.
  36. Kobayashi K, Nojiri H, Saita Y, Morikawa D, Ozawa Y, Watanabe K, et al. Mitochondrial superoxide in osteocytes perturbs canalicular networks in the setting of age-related osteoporosis. *Sci Rep*. 2015 Mar;5:9148. <https://doi.org/10.1038/srep09148>.
  37. Wang J, Jia J, He Q, Xu Y, Liao H, Xiong X, et al. A novel multifunctional mitochondrion-targeting NIR fluorophore probe inhibits tumour proliferation and metastasis through the PPAR $\gamma$ /ROS/ $\beta$ -catenin pathway. *Eur J Med Chem*. 2023 Oct;258:115435. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115435>.
  38. Ambrogini E, Almeida M, Martin-Millan M, Paik JH, Depinho RA, Han L, et al. FoxO-mediated defense against oxidative stress in osteoblasts is indispensable for skeletal homeostasis in mice. *Cell Metab*. 2010 Feb;11(2):136-46. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.12.009>.
  39. Case N, Thomas J, Xie Z, Sen B, Styner M, Rowe D, Rubin J. Mechanical input restrains PPAR $\gamma$ 2 expression and action to preserve mesenchymal stem cell multipotentiality. *Bone*. 2013 Jan;52(1):454-64. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.08.122>.
  40. Zhang L, Zheng YL, Wang R, Wang XQ, Zhang H. Exercise for osteoporosis: A literature review of pathology and mechanism. *Front Immunol*. 2022 Sep;13:1005665. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1005665>.
  41. Tong X, Chen X, Zhang S, Huang M, Shen X, Xu J, Zou J. The Effect of Exercise on the Prevention of Osteoporosis and Bone Angiogenesis. *Biomed Res Int*. 2019 Apr;2019:8171897. <https://doi.org/10.1155/2019/8171897>.