

پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش

دوره ۱۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸

ص ص: ۹۰ - ۸۱

بررسی اثر تمرین مقاومتی اندام فوقانی در پی یک دوره بی‌حرکی اندام تحتانی بر بیان ژن‌های MuRF1, FoxO3a و MAFbx عضله نعلی رت‌های تمرین‌کرده

صدیقه رضایی پور^۱ - محمدرضا کردی^{۲*} - عباسعلی گائینی^۳ - رضا قراخانو^۴

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی (گرایش عصب و عضله)، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، پردیس بین‌المللی دانشگاه تهران، کیش، ایران. ۲. دانشیار، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۳. استاد، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۴. استاد، گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی دانشکده تربیت مدرس، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۲۶ / ۰۶ / ۱۳۹۷، تاریخ تصویب: ۰۸ / ۱۱ / ۱۳۹۷)

چکیده

نداشتن فعالیت می‌تواند در نهایت به چاقی و فعال کردن مسیرهای پیام‌رسان پروتئولیزی و کاهش حجم و قدرت انقباضی عضله اسکلتی منجر شود. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین مقاومتی در دوره عدم استفاده عضلانی بر بیان ژن‌های تنظیم‌گر فرایندهای آتروفی عضله نعلی رت‌های تمرین‌کرده است. به همین منظور ۱۸ سر رت نر اسپراگ داوولی به دو گروه کنترل (n=۶) و تمرین استقامتی (n=۱۲) تقسیم شدند. رت‌های گروه تمرین استقامتی ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه بر روی تردمیل دویدند. سپس اندام تحتانی حیوانات به مدت ۷ روز با روش قالب‌گیری بی‌حرک شد و رت‌ها به دو گروه کنترل بی‌حرک (n=۶) و تمرین مقاومتی (n=۶) تقسیم شدند. رت‌های گروه تمرین مقاومتی همراه با بی‌حرکی ۳ جلسه تمرین مقاومتی را به صورت ۳ ست ۵ تکراری بالا رفتن از نردبان با دست‌ها انجام دادند. پس از اتمام ۷ روز بی‌حرکی، عضله نعلی استخراج و میزان سطوح بیان ژن‌های (MAFbx و MuRF1, FoxO3a) با تکنیک Real time-PCR سنجیده شد. برای تعیین تفاوت‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری بین گروه‌ها (P≤۰/۰۵) استفاده شد. نتایج نشان داد، اجرای تمرین مقاومتی نسبت به گروه بی‌حرکی استقامتی موجب کاهش معنادار FoxO3a (P=۰/۰۰۱)، MuRF1 (P=۰/۰۱۳)، MAFbx (P=۰/۰۰۸) شده است. به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی از طریق کاهش یا عدم افزایش بیان ژن‌های MAFbx و MuRF1, FOXO از آتروفی عضلانی در دوره بی‌حرکی جلوگیری کرده است و احتمالاً تمرین مقاومتی راه‌حل مناسبی برای کاهش آتروفی عضلانی ناشی از بی‌حرکی عضلانی است.

واژه‌های کلیدی

آتروفی، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی، FoxO3a, mRNA.

مقدمه

فسفات سه (PtdInsP3^۵) از طریق فعال‌سازی PI3K^۶ و به‌کارگیری و فعال‌سازی AKT در غشای پلاسمایی می‌شود. زمانی که مسیر AKT غیرفعال شود، به آتروفی عضلانی از طریق فعال شدن فاکتوری به نام FoxO^۷ منجر می‌شود (۳). غیرفعال شدن مسیر IGF1-PI3K-AKT با افزایش سطوح یوبی‌کوئتین پروتئوزوم لیگاز E₃^۸، MAFbx^۹ و MuRF1^۹ در ارتباط است (۴). به‌نظر می‌رسد که AKT مستقیماً بر FoxO عمل می‌کند. زمانی که محرک رشدی وجود دارد، AKT فاکتور آتروفی یعنی FoxO را فسفریله می‌کند، FoxO فسفریله‌شده در سیتوزول باقی می‌ماند، اما زمانی که محرک رشدی برداشته شود، AKT غیرفعال شده و به دفسفریله شدن FoxO منجر می‌شود و اجازه می‌دهد که FoxO از سیتوزول به هسته جابه‌جا شود و ژن‌های درگیر در مهار سیکل سلولی، متابولیسم و مرگ سلول را فعال کند. در مدل‌های حیوانی، بیش‌فعالی FoxO سبب کاهش حجم عضلانی شده است و به‌نظر می‌رسد با افزایش MAFbx و MuRF1 در ارتباط باشد (۵). در مطالعه‌ای اسلوپاک و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده کردند که بعد از یک جلسه تمرین تکراری سطوح FoxO_{3a} افزایش پیدا کرد، اما پس از ۱۰ و ۱۴ روز تمرین هوازی تغییری در سطوح آن ایجاد نشد.

همچنین ۱۰ تا ۱۴ روز پس از تمرین افزایش در مقدار پروتئین FoxO_{3a} مشاهده شد (۶). به‌نظر می‌رسد تنظیم MuRF1 و MAFbx و FoxO به نوع و شدت تمرین، همچنین سابقه ورزشی بستگی دارد، با توجه به اینکه FoxO، MuRF-1 و atrogen-1 مولکول‌های کلیدی درگیر در آتروفی عضلات اسکلتی‌اند، نتایج متناقض و کمی در قسمت آتروفی ناشی از بی‌تمرینی وجود دارد (۷).

به‌طور کلی فعالیت بدنی با توجه به تأثیری که بر بدن دارد، به سه زیرگروه شامل استقامتی، مقاومتی و حرکات الگو تقسیم می‌شود. مجموعه‌ای از فعالیت‌ها که در بخش تمرین استقامتی قرار می‌گیرند عبارت‌اند از دویدن، دوچرخه‌سواری، شنا، پیاده‌روی، قایقرانی و دیگر فعالیت‌هایی از این دست. هدف از این نوع تمرین ارتقای استقامت عضلانی است و این شیوه تمرینی معمول‌ترین مدل در فعالیت‌های ورزشی و سلامتی است و می‌تواند اهداف متفاوتی مثلاً برای حفظ تناسب‌اندام، کاهش چربی بدن، بهبود عملکرد قلبی-عروقی و افزایش حجم و قدرت عضلانی داشته باشد (۱). اما متأسفانه ورزشکاران (استقامتی) و افراد تمرین‌کرده در شرایطی مثل آسیب‌دیدگی و مصدومیت قادر به تمرین نیستند. چنین گذری در فعالیت بدنی، اختلال قوی در تعادل متابولیک کل بدن است که اندام بی‌تحرك آتروفی عضلانی می‌شوند و ظرفیت اکسیداسیون چربی و کربوهیدرات در آنها کاهش می‌یابد (۲). از این‌رو لازم است پژوهشگران به‌دنبال نوع دیگری از فعالیت‌های بدنی (تمرینات مقاومتی) باشند و تأثیر این تمرینات را در دوره‌های بی‌حرکی ورزشکاران برای جلوگیری از آتروفی بیشتر عضلات آنها بررسی کنند. بی‌شک فاکتور شبه‌رشدی انسولین (IGF-1^۱) فاکتور رشدی بسیار مهمی در هایپرتروفی عضلات اسکلتی است. IGF-1 از طریق مسیر AKT-mTOR^۲ نقش مهمی در سنتز ژن‌ها و پروتئین‌های عضلات اسکلتی ایفا می‌کند (۳). از منظری دیگر اتصال انسولین به گیرنده سطح سلولی‌اش سبب افزایش به‌کارگیری سوبسترای گیرنده انسولین-۱ (IRS-1^۴)، تولید فسفاتیدیل اینوزیتول تری

6. Phosphoinositide 3-kinase
7. Forkhead box proteins
8. F-Box Only Protein 32
9. Muscle RING-finger protein-1

1. Insulin-like growth factor-1
2. Protein kinase B
3. mammalian target of rapamycin
4. Insulin receptor substrate-1
5. Phosphatidylinositol 3-phosphate

IGF-1 پلاسمایی موجب کاهش آتروفی در اندام تحتانی شود. با عنایت به جست‌وجوهای انجام‌گرفته در مطالعه حاضر، تاکنون هیچ‌گونه پژوهشی تأثیر اجرای تمرین مقاومتی اندام فوقانی را بر یک دوره بی‌حرکی اندام تحتانی بررسی نکرده است. از این‌رو این مطالعه با هدف شناسایی سازوکارهای بیان ژنی درگیر در اثرگذاری تمرین مقاومتی اندام فوقانی بر آتروفی عضلات اسکلتی اندام تحتانی همراه با بی‌حرکی انجام گرفته است.

روش‌شناسی

پژوهش حاضر از نوع بنیادی و به روش تجربی بود. تعداد ۱۸ موش نر نژاد اسپراگ داوولی در سن هشت‌هفتگی با میانگین وزنی 180 ± 20 گرم از مرکز آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و به آزمایشگاه حیوانات منتقل شدند و بدون هیچ‌گونه محدودیتی در غذا و آب، در قفس‌های پلی‌اتیلن قرار گرفتند و در شرایط دمایی 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد و درجه حرارت 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (مجوز کد اخلاقی به شماره IR.SUMS.REC.1396.S444). سپس حیوانات، تصادفی به دو گروه کنترل ($n=6$) و گروه تمرین استقامتی ($n=12$) تقسیم شدند. رت‌های گروه تمرین استقامتی به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته تمرین استقامتی انجام دادند. ابتدا، پیش از تمرینات اصلی حیوانات به‌منظور آشناسازی یک هفته و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه و از سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه دویدند. تمرین اصلی بعد از دو روز استراحت از سرعت ۱۵ متر بر دقیقه شروع شد و در نهایت سرعت دویدن رت‌ها به ۳۲ متر بر دقیقه رسید (۱۰). در این مدت

بنابراین می‌توان آنها را به شکل قوی در مطالعات آتروفی عضلانی بررسی کرد. در مطالعه‌ای آزمودنی‌های مسن ۱۲ هفته تمرین هوازی انجام دادند و نتایج آنها نشان داد که بعد از تمرین میزان سلولی FoxO3a تغییر کرد و میزان mRNA FoxO3a بعد از تمرین کاهش یافت (۸). از طرف دیگر، کاهش ۲۰ درصدی در سطوح بیان $PGC1\alpha^1$ بعد از تمرین در این آزمودنی‌های مسن مشاهده شد. همچنین در طی بی‌تمرینی بیان FoxO3a در افراد میانسال افزایش و توده عضلانی کاهش یافت. منگ و همکاران (۲۰۱۷) تمرین مقاومتی به مدت ۱۲ هفته را بر روی رت‌ها اجرا کردند. نتایج آنها نشان داد که تمرین مقاومتی سبب فعال شدن مسیر سیگنالینگ AKT شده است، بدون اینکه تغییری در میزان FoxO1 و FoxO3a ایجاد شود. با توجه به اینکه MuRF1، FoxO و MAFbx در عضلات اسکلتی هنگام آتروفی افزایش می‌یابند، بنابراین انتظار می‌رود تمرین مقاومتی که سنتز پروتئین را افزایش می‌دهد، بیان این ژن‌های درگیر در آتروفی را کاهش دهند (۹). اگرچه در گذشته تحقیقاتی در مورد تأثیر تمرین مقاومتی در دوره استراحت مطلق انجام گرفته، بیشتر آنها تأثیر تمرینات بالاتنه و پایین‌تنه را بررسی کرده‌اند که در این صورت عضلات بزرگ درگیر شده و فشار موضعی موجب کاهش آتروفی و محافظت از توده عضلانی می‌شود. به‌خوبی مشخص است زمانی که اندام به‌ویژه اندام تحتانی فیکس می‌شود، عضو فیکس شده را نمی‌توانیم درگیر کنیم. از آنجا که اگر سطوح IGF-1 پلاسمایی افزایش یابد، فسفوریلاسیون AKT در عضله بی‌حرک نیز افزایش می‌یابد و موجب کاهش بیان ژن‌های MuRF1، FoxO و MAFbx آتروفی می‌شود (۵،۸)، می‌توان انتظار داشت که تمرین مقاومتی در اندام فوقانی به دلیل افزایش سطوح

۸۰- فریز شد. استخراج RNA با استفاده از 50 mg از عضله نعلی به‌طور جداگانه انجام گرفت. بافت‌ها با استفاده از یک میلی‌مول محلول تریزول لیز شده و با دستگاه همگن‌کننده بافت کاملاً هموژن شد و در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک 0/25 ml کلروفرم انجام پذیرفت. RNA استخراج‌شده با 1 ml اتانول سرد ۷۰ درصد شست‌وشو و خشک شد و سپس به آن آب استریل (1/5 ul/mg tissue) اضافه شد. برای سنجش کمی RNA استخراج‌شده از دستگاه بایو فتومتر با طول موج 260 nm استفاده شد. برای هر نمونه سه مرحله ساخت cDNA انجام گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری سطح بیان ژن‌های مربوطه از روش Real Time-PCR (qRT-PCR) با کمک آنزیم RealQ Plus 2x Master Mix Green محصول شرکت (Ampliqon, Inc) و دستگاه applied Biosystems StepOne™ (USA) استفاده شد. مخلوط واکنش براساس پروتکل پیشنهادی بدین‌صورت آماده شد؛ ۲ میکرولیتر از cDNA الگو، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۶/۸ 10X PCR Buffer، ۱ میکرولیتر از هر دو پرایمر Forward و Reverse و ۰/۴ میکرولیتر از Tag DNA Polymerase و آب که حجم نهایی واکنش به ۲۵ میکرو لیتر رسید. برنامه زمانی - گرمایی دستگاه طبق مراحل زیر انجام گرفت؛ پروتکل دمایی به‌صورت دانتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، در پی آن ۴۰ چرخه متوالی به‌صورت دانتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در مرحله آخر ضمن بررسی نمودار ذوب، محصولات از طریق الکتروفورز در سطح ژل آگارز ارزیابی شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش نرم‌افزار آنلاین Primer-BLAST (NCBI) طراحی شدند که در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین از ژن Beta 2 Microglobulin (B2M)

گروه کنترل پیاده‌روی در تردمیل را با سرعت پنج متر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه تجربه کردند (۱۱). برای بی‌تحرك‌سازی اندام تحتانی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها با ترکیبی از کتامین/زایلازین بی‌هوش شدند. سپس هر دو پا با استفاده از چسب ضدحساسیت و لوکوپلاست از مفاصل ران، زانو (در حالت اکستنشن) و مچ پا (در حالت پلانتر فلکشن) (۱۲) به مدت ۷ روز فیکس شدند. شایان ذکر است بی‌حرکت شدن اندام تحتانی و توانایی مصرف آزادانه آب و غذا با مشاهده تأیید شد. در این دوره بی‌حرکی رت‌ها تمرین‌کرده استقامتی به دو گروه کنترل (n=۶) و گروه تمرین مقاومتی (n=۶) تقسیم شدند. تمرین مقاومتی براساس مطالعه تانگ و همکاران (۲۰۰۹) طراحی شد (۱۳). تمرین مقاومتی ۳ روز (شدت تمرین با ۲۰ درصد از وزن بدن موش‌ها ۳ مرحله با ۵ تکرار) و در مجموع به مدت یک هفته شامل بالا رفتن از نردبان یک‌متری با وزنه‌ای آویزان به دم اجرا شد؛ بدین‌صورت که ابتدا موش‌ها وزن‌کشی شدند و درصدی از وزن بدن آنها با پایلوت مشخص شد و به‌عنوان بار تمرینی در نظر گرفته شد. میزان وزنه‌های بسته‌شده به دم رت‌ها حدود ۲۰ درصد وزن بدن آنها بود. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها پس از ناشتایی شبانه نمونه‌برداری شدند و برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا وزن حیوان اندازه‌گیری شد و سپس با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌صورت تزریق درون‌صفاقی بی‌هوش شدند. سپس، قفسه سینه حیوان شکافته شده و برای اطمینان از کمترین آزار حیوان معدوم کردن آن، نمونه‌های خون مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. سپس، عضله نعلی حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شده و در ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن‌کشی شد، سپس بلافاصله با استفاده از ازت مایع منجمد و برای سنجش‌های بعدی در دمای

جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار آماری SPSS-23 و کلیه نتایج به صورت (Mean±Sem) بیان شد و به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری ($P \leq 0/05$) استفاده شد.

به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس مقایسه چرخه آستانه (۱۴) انجام گرفت. منحنی تکثیر هر واکنش PCR با منحنی تکثیر ژن مرجع B2M مربوطه نرمالیزه شد. در این مطالعه، اختلاف CT به دست آمده از نمونه‌های مورد آزمایش و نمونه‌های کنترل محاسبه و با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ نسبت ژن هدف به ژن مرجع محاسبه شد. اطلاعات مورد نیاز پس از

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Target	Forward Primer	Reverse Primer
FOXO3a	5'- TTCGCAAGGACCCAATGA -3'	5'- TCCAAGCTCCCATTGAACAT -3'
MurF1	5'- TGTTCTGGTAGGTCGTTTCCG -3'	5'- ATGCCGGTCCATGATCACTT -3'
MAFbx	5'-CCATCAGGAGAAGTGGATCTATGTT-3'	5'- GCTTCCCCCAAAGTGCAGTA -3'

تفاوت معنادار در بین تمامی گروه‌هاست که اطلاعات آن در جدول ۲ ارائه شده است. اما وزن رت‌ها بین دو گروه کنترل بی‌حرک استقامتی با بی‌حرک تمرین مقاومتی تفاوت معناداری نداشت ($P=0/053$).

یافته‌ها

تغییرات وزن موش‌ها در طی دوره تمرین و بی‌حرکی با میانگین \pm انحراف استاندارد در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج آزمون آماری تی وابسته و مستقل نشان‌دهنده

جدول ۲. میانگین \pm انحراف استاندارد وزن رت‌ها و نتایج آزمون تی وابسته و مستقل

متغیر	گروه	زمان	میانگین \pm انحراف معیار	تی-تست وابسته	تی-تست مستقل	
وزن بدن	کنترل	هفته اول	۸±۱۸۵/۲۶	T=-۱۲/۳۴۵	T=۶/۰۰۵ P=۰/۰۰۱€	
		هفته آخر	۸±۳۲۵/۵۹	P=۰/۰۰۰¥		
	استقامتی	هفته اول	۸±۱۸۵/۲۶	T=-۱۶/۰۲۹	P=۰/۰۰۰ ¥	
		هفته آخر	۴±۲۹۷/۳۲	P=۰/۰۰۰ ¥		
	عضو پایین‌تنه	کنترل، استقامتی، بی‌حرکی	هفته اول	۹±۲۹۷/۳۲	T=-۶۳/۸۰۴	T=-۲/۱۹۶ P=۰/۰۵۳
			هفته آخر	۸±۲۶۷/۰۲	P=۰/۰۰۰ ¥	
		مقاومتی	هفته اول	۹±۲۹۷/۳۲	T=-۷۲/۰۷۶	P=۰/۰۰۰ ¥
			هفته آخر	۶±۲۸۳/۱۱	P=۰/۰۰۰ ¥	

نشانه ¥ تفاوت معنادار آزمون تی وابسته- نشانه € تفاوت معنادار آزمون تی مستقل

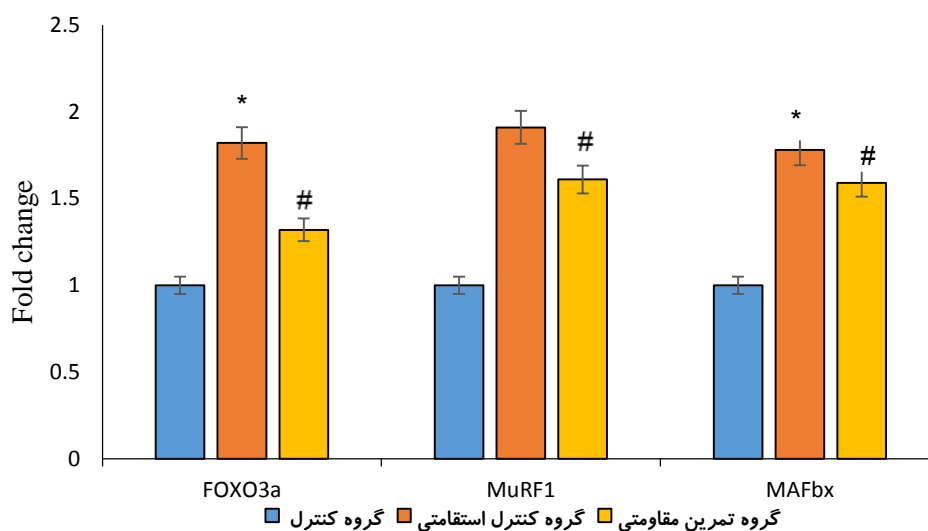
اختلافات از لحاظ آماری معنادار بودند، اما بیان ژن MuRF1 تغییر معناداری نداشت ($P=0/069$). همچنین بررسی‌ها مشخص کرد گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه بی‌حرکی استقامتی موجب کاهش بیان ژن‌های FOXO3a ($P=0/000$), MuRF1 ($P=0/013$),

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه بی‌حرکی استقامتی نسبت به گروه کنترل به کاهش بیان ژن‌های FOXO3a ($P=0/006$), MAFbx ($P=0/000$) منجر شد که این

MAFbx ($P=0/008$) شد که این تغییرات از لحاظ آماری معناداری بود. بیان نسبی ژن‌ها و نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه در جدول ۳ و نمودار ۱ ارائه شده است.

جدول ۳. میانگین \pm انحراف استاندارد سطح بیان ژن گروه‌ها و نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه

متغیر	گروه	میانگین \pm انحراف معیار	آنوا-یکطرفه
FOXO3a	مقاومتی	$0/34 \pm 0/026$	$F=366/313$ $P=0/006$
	استقامتی	$0/83 \pm 0/07$	
	کنترل	$1 \pm 0/01$	
MuRF1	مقاومتی	$0/61 \pm 0/082$	$F=76/864$ $P=0/007$
	استقامتی	$0/91 \pm 0/06$	
	کنترل	$1 \pm 0/01$	
MAFbx	مقاومتی	$0/59 \pm 0/05$	$F=142/788$ $P=0/000$
	استقامتی	$0/78 \pm 0/043$	
	کنترل	$1 \pm 0/01$	



شکل ۱. تغییرات بیان ژن‌های مورد مطالعه در پژوهش

علامت * نشان دهنده تغییرات معنی دار گروه بی تحرکی استقامتی نسبت به گروه کنترل است. علامت # نشان دهنده تغییرات معنی دار گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه بی تحرکی استقامتی است.

موجب افزایش ۸۲ درصدی بیان FOXO3a، ۷۸ درصدی بیان MAFbx و ۹۱ درصدی بیان MuRF1 شد. این یافته‌ها همسو با یافته‌های کانگ و لی لی جی (۲۰۱۳) (۱۱) و سایر تحقیقات در زمینه تأثیر بی تحرکی بر توده عضلانی بود (۱۷). باپتیستا و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند بعد از عصب‌برداری در تارهای عضلانی سطوح بیان

بحث و نتیجه‌گیری

به‌خوبی روشن شده است که بی‌تحرکی موجب کاهش نیتروژن بدن و از دست رفتن توده عضلانی می‌شود. در این مطالعه بیان ژن‌های FOXO3a، MAFbx، MuRF1 به‌عنوان اصلی‌ترین شاخص‌های آتروفی و تجزیه پروتئینی بررسی شد (۱۵،۶،۴) که نتایج نشان داد ۷ روز بی‌تحرکی

به‌تنهایی موجب افزایش سطح IGF-1 پلاسما و تأثیرات سیستمی می‌شود (۲۱).

با توجه یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر پایین‌تر بودن ۵۰ درصدی بیان FoxO3a، ۳۰ درصدی MuRF1 و ۱۹ درصدی MAFbx در گروه بی‌حرک همراه با تمرین مقاومتی نسبت به گروه بی‌حرک فرضیه ما مبنی بر تأثیر تمرین مقاومتی بالاتنه بر محافظت از توده عضلانی اندام تحتانی تأیید شد. اگرچه در این پژوهش میزان IGF-1 و AKT اندازه‌گیری نشد، منگ و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند تمرین مقاومتی به مدت ۱۲ هفته بر روی رت‌ها سبب فعال شدن مسیر سیگنالینگ AKT شده است (۹). به‌نظر می‌رسد که AKT مستقیماً بر FoxO عمل می‌کند. زمانی که محرک رشدی وجود دارد، AKT فاکتور آتروفی یعنی FoxO را فسفریله می‌کند، FoxO فسفریله‌شده در سیتوزول باقی می‌ماند، اما زمانی که محرک رشدی برداشته شود، AKT غیرفعال شده و به دفسفریله شدن FoxO منجر می‌شود و اجازه می‌دهد که FoxO از سیتوزول به هسته جابه‌جا شود و ژن‌های درگیر در مهار سیکل سلولی، متابولیسم و مرگ سلول را فعال کند (۲۲). همچنین تحقیقات نشان داده‌اند فعالیت ورزشی مقاومتی در انسان، p70S6K را از طریق یک مسیر مستقل از AKT فعال می‌کند. علاوه بر این، mTOR از طریق انواع مختلف پیام‌های درون سلولی غیر از PI3K/AKT نیز فعال می‌شود که نشان می‌دهد مسیرهای تأثیرگذار بر رشد پیچیده و متنوع‌اند (۲۳).

دلیل اینکه در شرایط گج‌گیری اندام تحتانی امکان فعالیت استقامتی پایین‌تنه وجود ندارد و متأسفانه براساس جست‌وجوهای انجام‌گرفته تاکنون اثر تمرین استقامتی بالاتنه نیز مشاهده نشده است، امکان مقایسه دقیق وجود ندارد و پیشنهاد می‌شود محققان به بررسی آن بپردازند.

ژن‌های FoxO و MuRF-1 افزایش می‌یابد که با آتروفی تار همراه است (۱۸). در مدل‌های حیوانی، بیش‌فعالی FoxO با افزایش MAFbx و MuRF1 سبب کاهش حجم عضلانی شد و به‌نظر می‌رسد در اینجا نیز بیان این ژن‌ها شاخص قابل‌کفایتی از کاهش توده عضلانی باشد (۱۵). مکانیسم‌های متعددی درگیر آتروفی عضلانی در شرایط عدم استفاده عضلانی‌اند، اما از آنجا که IGF-1 از طریق مسیر AKT-mTOR نقش مهمی در سنتز پروتئین‌های عضلات اسکلتی ایفا می‌کند، می‌توان کاهش آن را یکی از دلایل اصلی کاهش سنتز پروتئین و در ادامه از دست دادن توده عضلانی شمرد، زیرا غیرفعال شدن مسیر AKT، موجب فعال شدن FoxO می‌شود (۴). در جوندگان با افزایش FoxO، میزان سوبسترای انسولین کاهش می‌یابد. غیرفعال شدن مسیر IGF1-PI3K-AKT با افزایش سطوح یوبی‌کوئتین پروتئوزوم لیگاز E3، MAFbx و MuRF1 در ارتباط است (۴،۸). اما مهم‌ترین یافته پژوهش حاضر تأثیر تمرین مقاومتی به‌ویژه در بالاتنه بر روی بیان ژن‌های مربوطه و وزن عضله بی‌حرک بود. اگرچه در گذشته تحقیقاتی در مورد تأثیر تمرین مقاومتی در دوره استراحت مطلق انجام گرفته، بیشتر آنها تأثیر تمرینات بالاتنه و پایین‌تنه را بررسی کرده بودند که در این صورت عضلات بزرگ درگیر شده و فشار موضعی موجب کاهش آتروفی و محافظت از توده عضلانی می‌شود (۱۹). به‌خوبی مشخص است زمانی که اندامی به‌ویژه اندام تحتانی فیکس می‌شود، عضو فیکس‌شده را نمی‌توانیم درگیر کنیم. ری مویکا و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند اگر سطوح IGF-1 پلاسمایی افزایش یابد، فسفوریلاسیون AKT در عضله بی‌حرک نیز افزایش می‌یابد و موجب کاهش آتروفی می‌شود (۲۰). از آنجا که تحقیقات متعددی نشان داده‌اند تمرین مقاومتی حتی در بالاتنه یا پایین‌تنه یا یک عضو

نبودن مکانیسم تأثیر آن، به تحقیقات بیشتری در این زمینه نیاز است.

تقدیر و تشکر

از تمامی کسانی که ما را در اجرای تحقیق حاضر همراهی کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

براساس نتایج مطالعه حاضر و با توجه به اثبات اثر مخرب بی‌حرکی بر ساختار عضله اسکلتی افراد ورزشیده انجام فعالیت مقاومتی بالاتنه احتمالاً می‌تواند موجب کاهش بیان ژن‌های MuRF1، MAFbx و FoxO و در پی آن کاهش تجزیه پروتئین و حفظ توده عضلانی اندام تحتانی شود، اما به دلیل محدود بودن تحقیقات و مشخص

منابع و مآخذ

1. Kenney WL, Wilmore J, Costill D. Physiology of sport and exercise 6th edition: Human kinetics; 2015.
2. Björntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. Diabetes care. 1991;14(12):1132-43.
3. Glass DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. The international journal of biochemistry & cell biology. 2005;37(10):1974-84.
4. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogin-1. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2014;307(6):E469-E84.
5. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006;103(44):16260-5.
6. Konopka AR, Harber MP. Skeletal muscle hypertrophy after aerobic exercise training. Exercise and sport sciences reviews. 2014;42(2):53.
7. Léger B, Cartoni R, Praz M, Lamon S, Dériaz O, Crettenand A, et al. Akt signalling through GSK-3 β , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. The Journal of physiology. 2006;576(3):923-33.
8. Vechetti-Junior IJ, Bertaglia RS, Fernandez GJ, de Paula TG, de Souza RW, Moraes LN, et al. Aerobic exercise recovers disuse-induced atrophy through the stimulus of the LRP130/PGC-1 α complex in aged rats. Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences. 2015;71(5):601-9.
9. Xu M, Chen X, Chen D, Yu B, Huang Z. FoxO1: a novel insight into its molecular mechanisms in the regulation of skeletal muscle differentiation and fiber type specification. Oncotarget. 2017;8(6):10662.
10. NEKOU EI A, KORDI M, CHOUBINEH S, SOLEIMANI M, SHAFIEE A, HADIDI V. THE EFFECT OF EIGHT WEEK CONTINUOUS TRAINING ON EXPRESSION OF MICRORNAS29 MRNA, IN HEALTHY MALE RAT'S CARDIAC MUSCLE. 2016.
11. Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 α . Experimental gerontology. ۲۰۱۳; ۴۸(۱۱):۱۳۴۳-۵۰.

12. Frimel TN, Kapadia F, Gaidosh GS, Li Y, Walter GA, Vandeborne K. A model of muscle atrophy using cast immobilization in mice. *Muscle & nerve*. 2005;32(5):672-4.
13. Tang JE, Moore DR, Kujbida GW, Tarnopolsky MA, Phillips SM. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *Journal of applied physiology*. 2009;107(3):987-92.
14. Marwick TH, Hordern MD, Miller T, Chyun DA, Bertoni AG, Blumenthal RS, et al. Exercise training for type 2 diabetes mellitus: impact on cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2009;119(25):3244-62.
15. Wong S, Bhasin S, Serra C, Yu Y, Deng L, Guo W. Lopinavir/Ritonavir impairs physical strength in association with reduced Igf1 expression in skeletal muscle of older mice. *Journal of AIDS & clinical research*. 2013;4:216.
16. Mukai R, Matsui N, Fujikura Y, Matsumoto N, Hou D. X., Kanzaki N, ... & Nikawa T. (2016). Preventive effect of dietary quercetin on disuse muscle atrophy by targeting mitochondria in denervated mice. *The Journal of nutritional biochemistry*, 31, 67-76.
17. Sandri M, editor Protein breakdown in cancer cachexia. *Seminars in cell & developmental biology*; 2016: Elsevier.
18. Baptista IL, Leal ML, Artioli GG, Aoki MS, Fiamoncini J, Turri AO, et al. Leucine attenuates skeletal muscle wasting via inhibition of ubiquitin ligases. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*. 2010;41(6):800-8.
19. Brooks N, Cloutier GJ, Cadena SM, Layne JE, Nelsen CA, Freed AM, Roubenoff R, Castaneda-Sceppa C. Resistance training and timed essential amino acids protect against the loss of muscle mass and strength during 28 days of bed rest and energy deficit. *Journal of Applied Physiology*. 2008 Jul;105(1):241-8.
20. Mukai R, Matsui N, Fujikura Y, Matsumoto N, Hou DX, Kanzaki N, Shibata H, Horikawa M, Iwasa K, Hirasaka K, Nikawa T. Preventive effect of dietary quercetin on disuse muscle atrophy by targeting mitochondria in denervated mice. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2016 May 1;31:67-76.
21. Verney J, Kadi F, Charifi N, Féasson L, Saafi MA, Castells J, Piehl- Aulin K, Denis C. Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*. 2008 Sep;38(3):1147-54.
22. Baptista IL, Leal ML, Artioli GG, Aoki MS, Fiamoncini J, Turri AO, et al. Leucine attenuates skeletal muscle wasting via inhibition of ubiquitin ligases. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*. 2010;41(6):800-8.
23. Perrini S, Laviola L, Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related

skeletal muscle wasting and osteoporosis. Journal of Endocrinology. 2010 Jun 1;205(3):201-10.

An Investigation of the Effect of Upper Limb Resistance Training after Lower Limb Immobilization on FoxO3a, MuRF1 and MAFbx Gene Expressions of Soleus Muscle in Trained Rats

Sedigheh Rezaeipour¹ - Mohammad Reza Kordi^{*2} - Abbas Ali Gaeini³ - Reza Gharakhanloo⁴

1.Ph.D. Student in Exercise Physiology (neuromuscular), Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kish International Campus, University of Tehran, Kish, Iran

2.Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 3.Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 4.Professor, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 2018/09/17; Accepted: 2019/01/28)

Abstract

Inactivity can ultimately lead to obesity and activation of the proteolysis messenger pathways, which decreases muscle mass and skeletal muscle contractile power. The aim of this study was to investigate the effect of resistance training during the period of muscular inactivity on the expressions of atrophy processes regulatory genes of soleus muscle in the trained rats. 18 male Sprague Dawley rats were divided into two groups: control (n = 6) and endurance training (n = 12). Endurance training rats ran on a treadmill for 6 weeks and 5 sessions per week. Then, their lower limbs were immobilized for 7 days by plaster cast method and they were divided into two groups: immobilization (n = 6) and resistance training (n = 6). Resistance training and immobilization groups performed 3 sessions of resistance training of ladder climbing with hands in 3 sets, 5 repetitions each set. At the end of 7 days of immobilization, soleus muscle was excised and gene expressions (FoxO3a, MuRF1 and MAFbx) were measured by Real Time-PCR. One-way ANOVA test was used to determine the differences and Tukey post hoc test was used to determine the significance level among the groups ($P \leq 0.05$). The results showed that resistance training significantly reduced FoxO3a ($P=0.001$), MuRF1 ($P=0.013$), MAFbx ($P=0.008$) compared with endurance immobilization group. Resistance training seems to prevent muscle atrophy in the immobilization period through reducing or not increasing gene expressions of FOXO, MuRF1, and MAFbx. Resistance training is likely to be a suitable solution to reduce muscle atrophy caused by muscle immobility.

Keywords

Atrophy, endurance training, FoxO3a, mRNA, resistance training.

* Corresponding Author: Email: mrkordi@ut.ac.ir ; Tel: 02161118870