Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2018; 20(129): 35-43

Original Article

Examining the Effect of Inhibition of Lysyl oxidase on Involved Genes in Hypertrophy Following One Period of Resistance Training in Wistar Rats

Moein Rahimi Sadegh[1], Amir Rashidlamir[2*], Ali Akbar Haddad Mashhad Rizeh[3], Mohammad Soukhtanloo[4]

1. MSc Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
4. Associate Professor, Department of Biochemistry and Nutrition, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received: 12 Sep 2017, Accepted: 14 Jan 2018

Abstract

Background: Recent Research has pointed to the involvement of lysyl oxidase (LOX) in the muscle development. Despite the fact, there is currently no direct evidence that lox is involved in the myogenic factors and exercise-induced hypertrophy. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of lysyl oxidase inhibition on exercise-induced hypertrophy, as well as the gene expression of MyoD1, myogenin, TGF-β and LOX in FHL muscle of wistar rats.

Materials and Methods: In this experimental research, 32 male Wister rats with an average weight of 220±15 were divided into four groups: resistance training, normal control, treated control and treated resistance training. Rats performed a resistance training for 8 weeks in which animals climbed a vertical ladder of 1m and inclined at 85° with weights attached to their tails. In order to inhibit lysyl oxidase, treatment group rats received daily injection of intraperitoneal β-aminopropionitrile (120 mg/kg/day). FHL muscle was extracted to measure relative muscle weight, as well as genes expression of MyoD1, myogenin, TGF-β and LOX by real time-PCR.

Results: Relative weight of FHL muscle was decreased significantly in the treated groups with BAPN, compared with normal groups ($p<0.05$). Lysyl oxidase showed a significant increase compared to the normal control group following a resistance training ($p<0.05$). LOX gene expression in treatment groups showed a significant increase compared to normal control group ($p<0.05$). TGF-β gene expression in BAPN-treated groups significantly was increased ($p<0.05$) and Myogenin in treatment groups showed a significant decrease compared to normal control groups ($p<0.05$). The expression of MyoD1 gene in treatment groups was only decreased significantly in the treated control groups compared to normal control groups ($p<0.05$).

Conclusion: Results showed that inhibiting the lysine oxidase enzyme could affect the genes involved in hypertrophy and reduce the hypertrophy induced by resistance training.

Keywords: Hypertrophy, Lysyl oxidase, Resistance exercise, Skeletal muscle, β-aminopropionitrile

*Corresponding Author:
Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Email: rashidlamir@um.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۱۱ (شماره پیاپی ۱۲۹)، اسفند ۱۳۹۶، ۴۳-۳۵

بررسی اثر مهار آنزیم لیزیل‌اکسیداز بر ژن‌های دخیل در هایپرتروفی متعاقب یک دوره تمرین مقاومتی در رت‌های نژاد ویستار

معین رحیمی صادق[۱]، امیر رشیدلمیر[۲*]، علی‌اکبر حداد مشهد ریزه[۳]، محمد سوختانلو[۴]

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲.دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳.استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۴.دانشیار، گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۲۶، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات اخیر به دخالت لیزیل‌اکسیداز در فرآیند توسعه عضلانی اشاره کرده‌اند. با وجود این، تاکنون ارتباط فعالیت این آنزیم با فاکتورهای درگیر در مایوژنز و هایپرتروفی وابسته به تمرین مقاوتی بررسی نشده است. بنابراین، هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر مهار لیزیل‌اکسیداز بر هایپرتروفی ناشی از تمرین و نیز بیان ژن‌های MyoD1، مایوژنین، TGF-β و LOX درعضله خم کننده شست (FHL) رت‌های ویستار بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۲ سررت نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۵ ± ۲۲۰ گرم به چهار گروه شامل گروه تمرین مقاومتی، گروه کنترل سالم، گروه کنترل تیمار و گروه تمرینی تیمار تقسیم شدند. تمرین مقاومتی به مدت ۸ هفته و به‌صورت بالا بردن وزنه آویخته شده به دم حیوان از یک نردبان یک متری با شیب ۸۵ درجه بود. هم‌چنین به منظور مهار لیزیل‌اکسیداز روزانه ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن محلول بتاآمینوپروپیونیتریل (BAPN) به صورت درون صفاقی ، به رت‌های گروه تیمار تزریق شد. پس از تشریح رت‌ها وزن نسبی عضله FHL و هم‌چنین بیان نسبی ژن‌ها با روش Real Time- PCR انجام شد.

یافته‌ها: در گروه‌های تیمار شده با BAPN، وزن نسبی عضله FHL به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های سالم کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). بیان ژن LOX متعاقب یک دوره تمرین مقاومتی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل سالم نشان داد($p < ۰/۰۵$). هم‌چنین، مشاهده شد بیان ژن LOX در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). بیان ژن TGF-β در گروه‌های تیمار شده با BAPN افزایش معنی دار($p < ۰/۰۵$) و مایوژنین در گروه‌های تیمار،کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه‌های سالم نشان دادند ($p < ۰/۰۵$). بیان ژن MyoD1 در گروه‌های تیمار فقط در گروه کنترل تیمار نسبت به کنترل سالم کاهش معنی‌دار داشت ($p < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مهار آنزیم لیزیل‌اکسیداز توانست ژن‌های دخیل در هایپرتروفی را تحت تاثیر قرار داده و هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، لیزیل اکسیداز، عضله اسکلتی، بتاآمینوپروپیونیتریل، هایپرتروفی

***نویسنده مسئول:** ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش
Email: rashidamir@um.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

مقدمه

عضله اسکلتی یک بافت پیچیده و ناهمگون می‌باشد که ۴۰ تا ۶۰ درصد جرم بدن انسان را تشکیل می‌دهد و عملکردهای بی‌شماری را در یک ارگانیسم انجام می‌دهد(۱). یکی از ویژگی‌های برجسته عضله اسکلتی، توانایی مورفوژنیک قابل ملاحظه این بافت برای بازسازی وترمیم در پاسخ به محرک های محیطی مانند آسیب و تمرینات ورزشی می‌باشد(۲، ۳). در کنار عوامل متعددی مانند حمایت‌های تغذیه‌ای، هورمون‌ها و سایتوکین‌ها که می‌توانند سنتز پروتئین عضلانی را تحت تاثیر قرار دهند، تمرین مقاومتی نیز به عنوان یک محرک بسیار قوی برای توسعه بافت عضلانی در پستانداران به‌شمار می‌آید (۴). هنگامی که عضله اسکلتی در معرض اضافه بار قرار می‌گیرد، این تحریک موجب آشفتگی در میوفیبریل و ماتریکس خارج سلولی (ECM) می‌شود و این آشفتگی موجب راه‌اندازی فرآیندهای مایوژنیک و در نهایت افزایش مقدار پروتئین‌های انقباضی و توسعه عضلانی می‌شود(۵).

توسعه توده عضلانی و حفظ آن برای پیش‌گیری از بیماری‌ها (۶)، تحرک و افزایش کیفیت زندگی حیاتی است (۷). کاهش بافت عضلانی که با افزایش سن و بیماری‌های پیشرونده عضلانی رخ می‌دهد، می‌تواند منجر به تغییراتی در توانایی‌های فیزیکی و مشکلات متابولیکی ازقبیل مقاومت به انسولین یا استئوپروز شود (۴). از جهتی رشد و عملکرد مناسب یک بافت مرهون هماهنگی بین مسیرهای سیگنالینگ مختلف درون و برون سلولی و فاکتورهای متعددی از قبیل فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا (TGF-β) و فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-I) می‌باشد (۸).

کاتچاک و همکاران نشان دادند که خاموش کردن ژن کد کننده آنزیم لیزیل اکسیداز در نوزاد موش می‌تواند مایوژنز را تحت تأثیر قرار دهد و موجب تقویت سیگنال TGF-β و پیامدهایی هم‌چون کاهش طول و تعداد میوفیبریل‌ها، افزایش بیش از حد بافت پیوندی، فیبروز عضلانی و عدم تناسب بین مقدار بافت پیوندی و میوفیبریل شود (۹). هم‌چنین پیش از این نیز چندین تحیق به نقش حیاتی این آنزیم در تکامل ارگان‌ها در اواخر دوران جنینی اشاره کرده‌اند (۱۲-۱۰). لیزیل اکسیداز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های موثر بر ساختار بافت پیوندی است و دارای ۴ ایزوفرم شامل LOXL1، LOXL2، LOXL3 و LOXL4 می‌باشد (۱۳). این آنزیم یک آمین اکسیداز وابسته به مس است که آغاز ایجاد اتصالات عرضی کلاژن و الاستین را در فضای ماتریکس خارج سلولی با تثبیت و غیرمحلول‌سازی پلیمریک این دو پروتئین توسط اکسید باقی بانده لیزین بر عهده دارد. منع فعالیت این آنزیم توسط مهار کننده برگشت ناپذیر بتاآمینوپروپیونیتریل (BAPN) موجب کاهش‌اتصالات عرضی در بافت پیوندی و کاهش استحکام ماتریکس خارج سلولی می‌شود. بدین ترتیب، نقش اساسی در بیوژنز بافت پیوندی از طریق ایجاد اتصالات عرضی در پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی (کلاژن و الاستین) ایفا می‌کند (۱۴).

مطالعات اخیر علاوه بر نقش‌های تعیین شده قبلی بر اهمیت لیزیل اکسیداز در مایوژنز و هم‌چنین اثر کاهنده این آنزیم بر مسیر سیگنالیگ TGF-β و تشابه الگوی بیان این آنزیم با مارکرهای مایوژنز از جمله مایوژنین و MyoD1 تاکید دارند (۹).

این احتمال وجود دارد که بخشی از هایپرتروفی ایجاد شده توسط تمرین مقاومتی به واسطه تغییرات مربوط به این فاکتور در عضله اسکلتی واسطه‌گری شود. با وجود اهمیت لیزیل‌اکسیداز در تنظیم مایوژنز عضله اسکلتی، تاکنون تحقیقی که بتواند دخالت این آنزیم در توسعه عضلانی وابسته به ورزش را آشکارکند، صورت نپذیرفته است. از این رو، هدف این تحقیق بررسی اثر منع این آنزیم توسط بتا آمینوپروپیونیتریل (BAPN) بر وزن نسبی عضله و تغییرات ژنی TGF-β، MyoD1، مایوژنین و LOX به‌عنوان فاکتورهای دخیل در هایپرتروفی می‌باشد.

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق تعداد ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۵±۲۲۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی مشهد خریداری و به‌طور تصادفی به ۴ گروه شامل گروه تمرین مقاومتی، گروه کنترل سالم، گروه کنترل تیمار شده با BAPN و گروه تمرین مقاومتی تیمار شده با BAPN تقسیم شدند. حیوانات در گروه‌های هشت‌تایی در قفس‌های مخصوص و شرایط آزمایشگاه، تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی- روشنایی و دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، در اتاق حیوانات دانشکده تربیت بدنی دانشگاه فردوسی نگهداری شدند. رت‌ها با غذای مخصوص و آب شهری تغذیه شدند.

به‌منظور مهار فعالیت آنزیم لیزیل اکسیداز از مهار کننده اختصاصی و برگشت‌ناپذیر بتا آمینوپروپیونیتریل (120 mg/kg-1/day-1) به صورت تزریق درون صفاقی استفاده شد. وزن بدن رت‌ها برای اطمینان از دریافت دوز مناسب دارو روزانه ثبت می‌شد(۱۵، ۱۶). تمرین مقاومتی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته برای دو گروه تجربی سالم و تحت تیمار با BAPN اعمال شد. آشناسازی رت‌ها با تمرین به مدت ۵ روز در جلسات ۱۵ دقیقه‌ای صورت گرفت. تمرین مقاومتی شامل صعود از نردبان یک متری با شیب ۸۵ درجه و حمل وزنه‌ای بود که به دم حیوان آویخته می‌شد. در هفته‌های اول میزان وزنه‌های بسته شده ۵۰ درصد وزن بدن حیوان بوده و به تدریج افزایش وزنه‌ها به حدود ۲۰۰ درصد وزن بدن آن‌ها در هفته-های پایانی رسید. یک جلسه تمرین شامل سه ست با پنج تکرار و دو دقیقه استراحت بین نوبت‌ها و ۱ دقیقه استراحت بین تکرارها در نظر گرفته شد. به مرور زمان، تعداد ست‌ها از سه تا پنج ست افزایش یافت (۱۷). رت‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی با ترکیبی از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. عضله FHL آن‌ها در شرایط استریل استخراج شده و بلافاصله در نیتروزن مایع منجمدو برای تجزیه وتحلیل بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج RNA

برای استخراج RNA از کیت شرکت Roche (cat no:11667157001) و دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید. حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت عضله FHL پس از کوبیده شدن در نیتروژن مایع در ۱ میلی لیتر از محلول ترایزول هموژن و پس از ۵ دقیقه نگهداری در شرایط RT، ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن ها اضافه شد. سانتریفیوژ سوسپانسیون حاصل، پس از معلق سازی شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور rpm ۱۲۰۰۰ انجام گرفت و محلول شفاف رویی با حجم مساوی از ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در شرایط RT نگهداری شدند. در ادامه، فرآیند سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور rpm ۱۲۰۰۰ انجام و رسوب حاصل با اتانول ۷۵ درصد در ۲ مرحله متوالی شستشو و پس از معلق سازی رسوب، فرآیند سانتریفیوژ به مدت ۸ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور rpm ۷۵۰۰ تکرار شد. در نهایت رسوب‌های حاصل پس از خشک شدن در ۵۰ میکرولیتر از آب تیمار شده با DEPC حل و آلودگی‌زدایی ناشی از حضور احتمالی DNA ژنومی با تیمار آن‌ها توسط آنزیم DNase I انجام شد.

سنتز cDNA

سنتز cDNA با استفاده از ۱ ماکروگرم از هر یک از نمونه‌های RNA، با استفاده از دستور کیت سنتز cDNA شرکت Roche (cat no:04379012001) به شرح زیر انجام گردید. نمونه‌های RNA به همراه ۱ میکرولیتر از آغازگر Oligo-dT و ۱۳ میکرولیتر از آب تیمار شده با DEPC به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در مرحله دوم به هر یک از نمونه‌های فوق ۱ میکرولیتر مهارکننده آنزیم RNase، ۱ میکرولیتر آنزیم M-MuLV-RT، ۲ میکرولیتر مخلوط dNTPs و ۴ میکرولیتر

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

بافر آنزیم M-MuLV-RT افزوده و محلول‌های حاصل به ترتیب در تیمار دمایی ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه و ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. برای انجام واکنش Real-time PCR از SYBR green شرکت Roche (cat num:RR420A) استفاده شد. جهت بررسی بیان نسبی ژن‌های مورد نظر از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. هم‌چنین از ژن مرجع actin به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. مشخصات توالی پرایمرهای طراحی شده مطابق جدول ۱ می‌باشد. بعد از تایید نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیروویلک، جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت میانگین متغیرها بین گروه-های تحقیق از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده گردید. مقدار α در تمام مراحل برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول۱. مشخصات توالی پرایمرها

ژن	پرایمر پیشرو	پرایمر پسرو
LOX	5`-CAGGCACCGACCTGGATATGG-3`	5`-CGTACGTGGATGCCTGGATGTAGT-3`
TGF-β	5`-AGAAGTCACCCGCGTGCTAAT-3`	5`-CACTGCTTCCCGAATGTCTGA-3`
MyoD1	5`-GACGAAGTCTGGTTGTTGTTGC-3`	5`-GCTAGGGACTGTGAGGAAAGGA-3`
MyoG	5`-TGAATGCAACTCCCACAGC-3`	5`-CAGACATATCCTCCACCGTG-3`

یافته‌ها

وزن نسبی عضله FHL

مقادیر وزن نسبی عضله FHL گروه‌های تحقیق در جدول ۲ گزارش شده است. در تمام مقایسه‌های بین گروهی از مقادیر تعدیل شده وزن عضله استفاده شده است (وزن نسبی). وزن نسبی عضله FHL بعد از هشت هفته تمرین مقاومتی در گروه تمرینی سالم نسبت به گروه کنترل سالم به-طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). بین وزن نسبی عضله در دو گروه تمرین سالم و تمرین تیمار شده با BAPN تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌گونه‌ای که وزن عضله در گروه تمرینی سالم ۲۵ درصد بیشتر از گروه تمرینی تیمار شده بود($p < ۰/۰۵$). وزن نسبی عضله در گروه کنترل تیمار نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی داری کاهش یافته بود($p <۰/۰۵$).

جدول۲. مقادیر وزن نسبی عضله FHL در گروه‌های تحقیق

گروه تحقیق	کنترل سالم	تمرین سالم	کنترل تیمار	تمرین تیمار
وزن نسبی عضله خم کننده بلند شصت (میلی‌گرم/گرم)	۱/۳۸ ± ۰/ ۴۱	۱/۸۰ ± ۰/۱۳ + #	۱/۱۸۰ ±۰/۸۱ + *	۱/۳۳ ± ۰/۱۲*

+ $p <۰/۰۵$ مقایسه گروه‌های تحقیق با گروه کنترل سالم؛ * $p <۰/۰۵$ مقایسه گروه‌های تحقیق با گروه تمرینی سالم؛ # $p <۰/۰۵$ مقایسه گروه‌های تحقیق با گروه کنترل تیمار

بیان ژن LOX و TGF-β

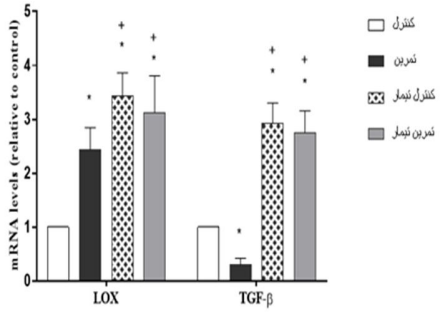
بیان mRNA LOX در گروه تمرینی سالم نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشت($p < ۰/۰۵$) . سطح mRNA LOX در گروه تمرینی تیمار نسبت به گروه تمرینی سالم افزایش معنی داری را نشان داد($p < ۰/۰۵$) . بیان ژن LOX در گروه کنترل تیمار نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری افزایش یافت($p < ۰/۰۵$).

سطح mRNA TGF-β در گروه تمرینی سالم کاهش ۷۱ درصدی ($p < ۰/۰۵$) و در گروه تمرینی تیمار افزایش ۱۷۵ درصدی را نسبت به گروه کنترل سالم نشان داد ($p < ۰/۰۵$). هم‌چنین بیان ژن TGF-β به‌طور معنی‌داری در

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

گروه کنترل تیمار بیشتر از گروه کنترل سالم بود ($p < ۰/۰۵$) (نمودار ۱).



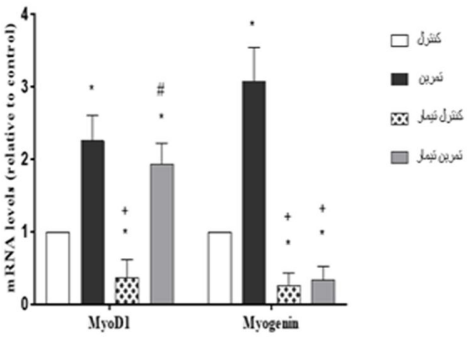
نمودار ۱. مقایسه بیان ژن LOX و TGF-β در عضله FHL گروه‌های مورد مطالعه
*** اختلاف معنی دار با گروه کنترل سالم ($p < ۰/۰۵$)**
+ اختلاف معنی دار با گروه تمرینی سالم ($p < ۰/۰۵$)

بیان ژن MyoD1 و مایوژنین

پس از هشت هفته تمرین مقاومتی سطح MyoD1 mRNA در گروه تمرینی سالم ۱۲۶ درصد در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$).

بیان ژن MyoD1 در گروه تمرینی تیمار نسبت به گروه تمرینی سالم مقداری کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود ($p = ۰/۰۷$). بیان ژن MyoD1 در گروه کنترل تیمار نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$). افزایش معنی‌داری در بیان ژن مایوژنین گروه تمرینی سالم در قیاس با گروه کنترل سالم مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$).

در گروه تمرینی تیمار بیان ژن مایوژنین نسبت به گروه تمرینی سالم کاهش چشم‌گیری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$). هم‌چنین سطح مایوژنین mRNA گروه کنترل تیمار به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل سالم بود ($p < ۰/۰۱$) (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه بیان ژن MyoD1 و مایوژنین در عضله FHL گروه‌های مورد مطالعه
*** اختلاف معنی دار با گروه کنترل سالم ($p < ۰/۰۵$)**
+ اختلاف معنی دار با گروه تمرینی سالم ($p < ۰/۰۵$)
 # اختلاف معنی دار با گروه کنترل تیمارشده ($p < ۰/۰۵$)

بحث

نتایج تحقیق نشان داد که کاهش فعالیت لیزیل اکسیداز به طور چشم‌گیری وزن عضله FHL را کاهش داد و موجب تغییر در بیان ژن TGF-β، Myod1 و مایوژنین در عضله اسکلتی شد. یکی از یافته‌های مهم این تحقیق، کاهش بیان ژن TGF-β در گروه تمرینی سالم و افزایش معنی‌دار در گروه تمرینی تیمار شده با BAPN، نسبت به گروه کنترل سالم می‌باشد. همسو با تحقیق حاضر سارکوواسکا و همکاران گزارش کردند که بیان mRNA TGF-β پس از یک جلسه تمرین در رت‌های تمرین کرده (۶ هفته تمرین) به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به رت‌های بی‌تمرین کمتر است. آن‌ها این کاهش در بیان TGF-β را به افزایش ظرفیت آنتی-اکسیدانی و سازگاری تمرینی نسبت دادند (۱۸).

یک جلسه تمرین مقاومتی می‌تواند سطوح mRNA TGF-β را به میزان قابل توجهی افزایش دهد(۱۹). تحقیقات نشان داده‌اند که عامل اصلی تحریک کننده این افزایش می‌تواند استرس اکسیداتیوی باشد که به دنبال یک جلسه تمرینی ایجاد می‌شود(۲۰). زائو و همکاران با مطالعات حیوانی نشان دادند استرس اکسیداتیو با افزایش بیان NADPH اکسیداز و کاهش سوپراکسیددیسموتاز

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

موجب افزایش بیان ژن TGF-β در عضله قلب و کلیه می‌شود. در حالی‌که استفاده از مکمل‌های آنتی اکسیدانی موجب کاهش بیان این فاکتور می‌شود. در حقیقت، وقوع پاسخ سازشی به تمرین می‌تواند منجر به کاهش استرس اکسیداتیو و متعاقب آن کاهش در محتوی TGF-β mRNA و بیان پروتئین این سایتوکین شود(۲۱). TGF-β تمایز مایوژنیک را در سلول‌های عضلانی از طریق مهار فاکتورهای تنظیمی مایوژنیک (MRFs) سرکوب می‌کند (۲۲). علاوه بر این نشان داده شده که این سایتوکین موجب کاهش فعالیت رونویسی MyoD1 و مایوژنین بدون تاثیر بر خواص اتصالی آن‌ها به DNA شده و از این طریق بازسازی توده عضلانی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۳).

این تحقیق نشان داد که یک دوره تمرین مقاومتی، بیان ژن LOX را به طورمعنی دار نسبت به گروه کنترل سالم افزایش می‌دهد. نکته حائز اهمیت این است که در گروه‌های تیمار شده با BAPN، بیان ژن LOX به میزان قابل توجهی از گروه تمرینی سالم بیشتر بود. این افزایش در بیان LOX mRNA در تحقیق حاضر ممکن است با ساز و کارهای زیر در ارتباط باشد:۱- ممکن است این افزایش در سطح LOX mRNA در تحقیق حاضر به دنبال مهار آن، یک پاسخ جبرانی باشد برای سرکوب افزایش TGF-β ناشی از کاهش اتصالات عرضی بین رشته‌های کلاژن و یا ۲- پاسخی برای جبران سطوح کاهش یافته فعالیت این آنزیم توسط BAPN باشد(۹).

در سال ۲۰۰۸ اتساواسان و همکاران در پژوهشی در رابطه با مکانیسم تنظیم آبشار TGF-β توسطLOX نشان دادند که LOX به باقی مانده لیزین در بخش انتهایی این سایتوکین متصل و از طریق اکسیداسیون آن اثر بازدارندگی خود را اعمال می‌کند (۲۴). هم‌چنین در تحقیقی دیگر مشخص شد که در فیبروبلاست‌های جنینی موش (MEFs) در سلول‌های مایوژنیک و عضله، با کاهش فعالیت LOX سیگنال TGF-β افزایش می‌یابد و این نشان می‌دهد که LOX قادر است مسیر سیگنالینگ مربوط به این سایتوکین را تعدیل کرده و آن را بکاهد. بنابراین نشان دادند که یک حلقه بازخوردی بین این دو پروتئین مترشحه بر قرار می‌باشد (۲۵). هم‌چنین چندین تحقیق اشاره کرده‌اند افزایشTGF-β مستقیما موجب افزایش بیان LOX از طریق فعال‌سازی سیگنال PI3K/AKT/Smad3 و MAPKs می‌شود (۱۳). به‌عنوان مثال، جینگ‌شی و همکاران در یک تحقیق برون تنی بر روی فیبروبلاست‌های لیگامنت‌های MCL و ACL نشان دادند که حضور TGF-β به طور قابل توجهی بیان LOX را تنظیم و سطح بیان آن را افزایش می‌دهد (۲۶).

یکی دیگر از یافته‌های مهم تحقیق حاضر این بود که کاهش فعالیت LOX موجب کاهش معنی دار عضله FHL گروه‌های تیمار شده با BAPN در مقایسه با گروه‌های سالم شد. این کاهش در توده عضلانی در گروه تمرینی تیمار نسبت به گروه تمرینی سالم، به این نکته اشاره می‌کند که تمرین مقاومتی قادر نیست بر تاثیر مهار LOX فائق آید و آن را جبران کند.

هم‌چنین در این تحقیق پاسخ MyoD1 و مایوژنین به عنوان دو فاکتور اساسی فرآیند رشد و ترمیم عضله اسکلتی (۲۷) مورد بررسی قرار گرفت. این دو پروتئین فاکتورهای رونویسی متعلق به خانواده MRF می باشند و دارای یک ناحیه اتصال به DNA هستند که به جزء واکنشی DNA -E) (box متصل شده و از این طریق رونویسی یک ژن خاص را تنظیم می‌کنند (۲۸).

مهار LOX سطح مایوژنین mRNA در گروه تمرینی تیمار را نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌دار کاهش داد. در حالی‌که در مورد MyoD1 این کاهش معنی دار فقط در گروه کنترل تیمار نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد. بنابراین به نظر می‌رسد تمرین اثر ناشی از کاهش فعالیت LOX بر روی MyoD1 را تا حدی جبران می‌کند. تشخیص این‌که LOX بر کدام مرحله از فرآیند بازسازی عضله اسکلتی و فاکتورهای رونویسی مربوطه دخالت بیشتری

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

دارد، در این تحقیق مقدور نبود. از این رو، حل این این مسئله در تحقیقات آتی به محققین پیشهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که احتمالا کاهش فعالیت آنزیم لیزیل‌اکسیداز هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی را مختل کرده و باعث افزایش سطح TGF-β mRNA در عضله اسکلتی می‌شود. به علاوه مشخص شد در شرایط مهار این آنزیم بیان ژن مایوژنین و MyoD1 نیز کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه در مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد. نویسندگان از کلیه کسانی که در انجام این پژوهش همکاری داشتند کمال تشکر را دارند.

منابع

1. Standring S, Ellis H, Healy J, Johnson D, Williams A, Collins P, et al. Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice. American Journal of Neuroradiology. 2005;26(10):2703-2704.
2. Kollias HD, McDermott JC. Transforming growth Factor-β and Myostatin Signaling in Skeletal Muscle. Journal of applied physiology. 2008;104(3):579-87.
3. Joe AW, Yi L, Natarajan A, Le Grand F, So L, Wang J, et al. Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. Nature Cell Biology. 2010;12(2):153-163.
4. Chesley A, MacDougall J, Tarnopolsky M, Atkinson S, Smith K. Changes in human muscle protein synthesis after resistance exercise. Journal of Applied Physiology. 1992;73(4):1383-8.
5. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. Sports Medicine. 2007;37(9):737-63.
6. Janssen I, Heymsfield SB, Ross R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. Journal of the American Geriatrics Society. 2002;50(5):889-96.
7. Gonzalez AM, Hoffman JR, Stout JR, Fukuda DH, Willoughby DS. Intramuscular Anabolic Signaling and Endocrine Response Following Resistance Exercise: Implications for Muscle Hypertrophy. Sports Medicine. 2016;46(5):671-85.
8. Sukho L. Insulin-like growth factor-1 induces skeletal muscle hypertrophy. J Exerc Sci Fit. 2003;1:47-53.
9. Kutchuk L, Laitala A, Soueid-Bomgarten S, Shentzer P, Rosendahl A-H, Eilot S, et al. Muscle composition is regulated by a Lox-TGFβ feedback loop .Development. 2015;142(5):983-93.
10. Mäki JM. Lysyl oxidases in mammalian development and certain pathological conditions. Histology and Histopathology. 2009;24(5):651-60.
11. Mäki JM, Räsänen J, Tikkanen H, Sormunen R, Mäkikallio K, Kivirikko KI, et al .Inactivation of the lysyl oxidase gene Lox leads to aortic aneurysms, cardiovascular dysfunction, and perinatal death in mice. Circulation. 2002;106(19):2503-9.
12. Mäki JM, Sormunen R, Lippo S, Kaarteenaho-Wiik R, Soininen R, Myllyharju J. Lysyl oxidase is essential for normal development and function of the respiratory system and for the integrity of elastic and collagen fibers in various tissues. The American journal of pathology. 2005;167(4):927-36.
13. Cai L, Xiong X, Kong X, Xie J. The Role of the Lysyl Oxidases in Tissue Repair and Remodeling: A Concise Review. Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 2017:1-16.
14. Smith-Mungo LI, Kagan HM. Lysyl oxidase: properties, regulation and multiple functions in biology. Matrix Biology. 1998;16(7):38.۹۸-۷
15. Hammond MA, Wallace JM. Exercise prevents [beta]-aminopropionitrile-induced morphological changes to type I collagen in murine bone. BoneKEy Reports. 2015;4.

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:19 +0430 on Sunday April 8th 2018

16. Herchenhan A, Uhlenbrock F, Eliasson P, Weis M, Eyre D, Kadler KE, et al. Lysyl oxidase activity is required for ordered collagen fibrillogenesis by tendon cells. Journal of Biological Chemistry. 2015;290(26):16440-50.
17. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. J Exercise Physiol Online. 2003;6(2):80-7.
18. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartlomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The effect of acute and prolonged endurance exercise on transforming growth factor-beta1 generation in rat skeletal and heart muscle. J Physiol Pharmacol. 2009;60(4):157-62.
19. Czarkowska-Paczek B, Bartlomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after strenuous physical exercise. J Physiol Pharmacol. 2006;57(2):189-97.
20. Zhao W, Zhao T, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y. Oxidative stress mediates cardiac fibrosis by enhancing transforming growth factor-beta1 in hypertensive rats. Molecular and Cellular Biochemistry. 2008;317(1-2):43-50.
21. Zhao W, Chen SS, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y .Kidney fibrosis in hypertensive rats: role of oxidative stress. American journal of Nephrology. 2008;28(4):548-54.
22. Martin JF, Li L, Olson EN. Repression of myogenin function by TGF-beta 1 is targeted at the basic helix-loop-helix motif and is independent of E2A products. Journal of Biological Chemistry. 1992;267(16):10956-60.
23. Vaidya TB, Rhodes SJ, Taparowsky EJ, Konieczny SF. Fibroblast growth factor and transforming growth factor beta repress transcription of the myogenic regulatory gene MyoD1 .Molecular and Cellular Biology. 1989;9(8):3576-9.
24. Atsawasuwan P, Mochida Y, Katafuchi M, Kaku M, Fong KS, Csiszar K, et al. Lysyl oxidase binds transforming growth factor-β and regulates its signaling via amine oxidase activity. Journal of Biological Chemistry. 2008;283(49):34229-40.
25. Liu D, Kang JS, Derynck R. TGF□β□ activated Smad3 represses MEF2□dependent transcription in myogenic differentiation. The EMBO journal. 2004;23(7):1557-66.
26. Xie J, Huang W, Jiang J, Zhang Y, Xu Y, Xu C, et al. Differential expressions of lysyl oxidase family in ACL and MCL fibroblasts after mechanical injury. Injury. 2013;44(7):893-900.
27. Rudnicki MA, Jaenisch R. The MyoD family of transcription factors and skeletal myogenesis. Bioessays. 1995;17(3):203-9.
28. Chaudhary J, Skinner MK. Basic helix-loop-helix proteins can act at the E-box within the serum response element of the c-fos promoter to influence hormone-induced promoter activation in Sertoli cells. Molecular Endocrinology. 1999;13(5):774-86.

Archive of SID

www.SID.ir