

اثر ۶ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن های TGF- β 1، میوستاتین و ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ در تاندون عضلات تند و کند انقباض موش های نر ویستار

قاسم محمدنژاد^۱، حسن متین همائی^۱، فرشاد غزالیان^۲

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: تاندون، همانند عضله اسکلتی، سازگاری های مکانیکی و مورفولوژیکی ناشی از تمرینات ورزشی را نمایان می کند؛ با این حال، درباره سازوکارهای اساسی سلولی و مولکولی ای که این پاسخها را تنظیم می کنند، اطلاعات زیادی در دسترس نیست. از این رو، هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی بر بیان mRNA ژن های TGF- β 1، میوستاتین و MMP9 در تاندون عضلات تند و کند انقباض بود.

مواد و روش ها: بدین منظور، دوازده سر رت نر بالغ نژاد ویستار هشت هفته ای به روش تصادفی ساده به دو گروه ورزش (تعداد = شش) و کنترل (تعداد = شش) تقسیم شدند. گروه ورزش به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته تمرین هوازی را اجرا کردند. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، تمامی رت ها کشته شدند و تاندون عضلات نعلی و بازکننده بلند انگشتان (EDL) استخراج شدند. بیان mRNA ژن های TGF- β 1، میوستاتین و MMP9 با استفاده از روش RealTime-PCR مورد سنجش قرار گرفت. همچنین، برای تجزیه و تحلیل آماری، از آزمون تی مستقل استفاده شد.

ملاحظات اخلاقی: کلیه مراحل مطالعه با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی با شماره IR.IAU.PS.REC.1398.296 انجام شد.

یافته ها: نتایج نشان داد بیان mRNA ژن TGF- β 1 در تاندون عضلات EDL و نعلی به طور معنی داری افزایش یافت ($P \leq 0/001$)، در حالی که بیان mRNA ژن میوستاتین در تاندون عضله EDL به طور معنی داری کاهش نشان داد ($P \leq 0/001$). افزایش بیان mRNA ژن MMP9 در عضلات EDL و نعلی از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$).

نتیجه گیری: به نظر می رسد تمرین هوازی می تواند بیان ژن های درگیر در تنظیم کلاژن بافت تاندون را در یک روش وابسته به نوع عضله تعدیل کند.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۲۵ اسفند ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۲۸ اردیبهشت ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ مرداد ۱۳۹۹

کلیدواژه ها:

تمرین هوازی، تاندون، TGF- β 1، MMP9، میوستاتین

مقدمه

عضله اسکلتی نقش مهمی در حفظ وضعیت بدن، حرکت، صحبت کردن، تنفس، تأمین حرکت و نیازهای سوخت و سازی دارد. از منظر فیزیولوژیکی، عضله اسکلتی بافتی پویاست که قادر به سازگاری با تحریکات فیزیولوژیکی گوناگون از جمله تمرینات ورزشی است [۱]. بافت تاندون امتداد ماتریکس خارج سلولی^۱ عضلانی است که به صورت مکانیکی و ساختاری به صورت هماهنگ با عضله با بار مکانیکی سازگاری می یابد [۲]. قبلاً تصور می شد تاندون یک بافت غیرفعال از نظر متابولیک است، اما

مطالعات اخیر نشان داده اند تاندون نیز مانند عضله اسکلتی، یک بافت پویاست و فعالیت سوخت و سازی آن با بار مکانیکی افزایش می یابد. به دنبال یک ورزش منفرد، تاندون، جذب گلوکز و سنتز کلاژن خود را افزایش می دهد و این حالت دو تا سه روز پس از آن همچنان ادامه می یابد [۳].

در حالی که تغییرات مکانیکی و مورفولوژیکی که در پاسخ به تمرینات ورزشی در تاندون ها رخ می دهد به خوبی مستند شده است، درباره سازوکارهای اساسی سلولی و مولکولی که این پاسخها را تنظیم می کنند، اطلاعات زیادی در دسترس نیست. به نظر می رسد که مسیر پیام رسانی خانواده عامل رشدی تغییر

1. Extracellular Matrix (ECM)

* نویسنده مسئول:

حسن متین همائی

نشانی: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: ۰۲۱-۳۶۸۰۸۱۰ (۹۱۲) ۹۸+

پست الکترونیکی: hasanmatinhomaei@gmail.com



درجه سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۴۵ درصد و چرخه روشنایی / تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند؛ به طوری که در دسترسی به آب و غذای استاندارد، محدودیتی نداشته باشند. بعد از یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری، رت‌ها به روش تصادفی ساده به دو گروه تقسیم شدند: گروه ورزش (تعداد = شش) و گروه کنترل (تعداد = شش)؛ گروه ورزش به مدت شش هفته تمرین هوازی را اجرا کردند.

قبل از اجرای پروتکل تمرینی، تمامی حیوانات به مدت یک هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه آشنایی شامل پنج جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه و شیب صفر درصد به مدت ۱۰ دقیقه بود. برنامه فعالیت بدنی هوازی با افزایش تدریجی سرعت و زمان آغاز شد؛ به طوری که در هفته اول با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه، در هفته دوم با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه، در هفته سوم با سرعت ۱۴-۱۵ متر در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه، در هفته چهارم با سرعت ۱۴-۱۵ متر در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه، در هفته پنجم با سرعت ۱۷-۱۸ متر در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه و در هفته ششم با سرعت ۱۷-۱۸ متر در دقیقه و به مدت ۴۰ دقیقه بود.

در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرینی ۳ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۴-۵ متر در دقیقه انجام پذیرفت. به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد؛ بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم و همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی کردن حیوانات به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد [۱۳].

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، تمامی رت‌ها از طریق تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (۹۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس، برش در ناحیه شکم و قفسه سینه ایجاد شد و با کشیدن خون به وسیله سرنگ مستقیماً از قلب، حیوانات کشته شدند. سپس، تاندون عضلات نعلی^۴ و بازکننده بلند انگشتان^۵ پای راست آن‌ها بلافاصله با دقت استخراج و در نیتروژن مایع قرار داده شد و به منظور تجزیه و تحلیل بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

به منظور استخراج RNA تام از بافت تاندون هموزن شده، ۱ میلی‌لیتر تریزول (Invitrogen, CN 15596018, USA) به ۱۰۰ میلی‌گرم بافت اضافه و پس از مخلوط کردن کامل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر

شکل دهنده بتا ۱ (TGF-β^۱) نقش اصلی را در سازگاری تاندون با ورزش ایفا می‌کند. میوستاتین عضو خانواده بزرگ TGF-β است که بیان آن به طور منفی رشد عضله اسکلتی را تنظیم می‌کند [۴]. هم TGF-β^۱ و هم میوستاتین تکثیر فیبروبلاست تاندون و سنتز کلاژن نوع ۱ را تحریک می‌کنند [۶، ۵]. در حالی که به نظر می‌رسد پیامرسانی TGF-β^۱ و میوستاتین برای فراخوانی و حفظ فیبروبلاست‌های تاندونی در طول تکامل از اهمیت زیادی برخوردار است [۷، ۵] و مطالعات متعددی وجود دارند که توانایی این سایتوکاین‌ها در القای تکثیر فیبروبلاست و سنتز کلاژن نوع ۱ را در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهند [۲]، با این حال، هنوز نقش این مسیرهای پیامرسانی در رشد و ترمیم تاندون آزمودنی بالغ، با تردیدهایی روبه‌روست. در بیشتر مطالعات صورت گرفته در زمینه سازگاری‌های ناشی از تمرینات ورزشی، بیشتر خود عضلات اسکلتی مد نظر بوده [۱۰-۸] و سازگاری‌های تاندونی چندان مورد توجه قرار نگرفته است. بر اساس پیشینه تحقیقاتی موجود، در مطالعات آزمایشگاهی روی فیبروبلاست‌های تاندون بالغ و در مطالعات سنتز کلاژن در آزمودنی‌های بالغ در پاسخ به تمرین ورزشی، تصور بر این است که TGF-β^۱ و میوستاتین نقش مهمی در رشد و سازگاری تاندون‌های بالغ با تمرین ورزشی ایفا می‌کنند [۱۱].

ماتریکس متالوپروتئینازها^۲ آندوپیتیدازهای وابسته به روی هستند که کلاژن و سایر مولکول‌های ساختاری را می‌شکنند. MMPها برای هموستاز پایه ECM ضروری هستند. MMPها پروتئینازهای اصلی تجزیه‌کننده کلاژن در ECM به شمار می‌روند [۲]. تاندون یکی از مهم‌ترین اجزایی است که بیان MMP9 در آن رخ می‌دهد و نشان داده شده است که تمرین ورزشی موجب تحریک سلول‌های تاندون برای بیان MMP9 می‌شود [۱۲]. بیان ژن MMPها توسط سایتوکاین‌ها و مولکول‌های پیام‌رسان مختلف تنظیم می‌شود که از آن جمله می‌توان به IL-1، TGF-β^۱، TNF-α، و Wnt اشاره کرد، اما اجزای دقیق مسیرهای انتقال سیگنال که بیان MMP به دنبال تمرینات ورزشی را تنظیم می‌کنند، هنوز به طور کامل آشکار نشده است [۲]؛ بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های TGF-β^۱، میوستاتین و MMP9 در تاندون عضلات تند و کندانقباض موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. آزمودنی‌های تحقیق حاضر دوازده سر رت نر بالغ نژاد ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۹۵±۲۰ گرم بودند که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. رت‌ها در دمای محیطی ۲۲±۳

4. Soleus

5. Extensor digitorum longus (EDL)

2. Transforming growth factor-β1

3. Matrix metalloproteinases (MMPs)

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد مطالعه در تحقیق حاضر

Accession Number	Product Length	Tm	Primer (5' 3')	Forward/Reverse	Gene
NM_021578-2	۲۰۰	۵۵/۱۷	CAACAACGCAATCTATGACAA	F	TGF-β1
		۵۴/۵۷	CAAGGTAACGCCAGGAAT	R	
NM_019151.1	۷۸	۵۳/۶۵	CTACCACGGAAACAATCATT	F	Myostatin
		۵۹/۰۲	AGCAACATTTGGGCTTTCCAT	R	
NM_031055.1	۱۵۹	۵۸/۹۶	CCACCGAGCTATCCACTCAT	F	MMP-9
		۵۷/۲۱	GTCCGGTTTCAGCATGTTTT	R	
XM_017593963.1	۱۲۱	۶۱/۵۸	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	F	GAPDH
		۶۱/۳۲	CATACTCAGCACCAGCATCACC	R	



مرحله سوم، به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸ درجه سانتی گراد انجام شد و در نهایت cDNA سنتز شد و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد ذخیره شد. تمام مراحل انجام کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase free انجام شد.

برای اندازه گیری سطوح بیان mRNA از روش کمی Real time-PCR استفاده شد. در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هر کدام به طور جداگانه مشخص شد؛ به طوری که کمترین میزان دایمر و بهترین Ct مشاهده شود. Real time-PCR با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green شرکت AMPLIQON و با استفاده از غلظت ۲۵۰ نانوگرم از cDNA انجام گرفت.

توالی پرایمرهای مربوط به متغیرهای مورد مطالعه بر اساس اطلاعات این ژن ها در بانک ژنی NCBI توسط شرکت پیشگام (ایران) طراحی شد (جدول شماره ۱). برنامه Real time-PCR شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۱۰ دقیقه، واسرشت در هر سیکل PCR در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و با توجه به دمای اتصال پرایمرها هر سیکل به مدت ۳۰ ثانیه (چهل سیکل) در نظر گرفته شد. نمودار دمای ذوب جهت بررسی صحت واکنش های انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. از ژن گلیسرآلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز^{۱۴} به عنوان ژن کنترل استفاده شد و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد [۱۴].

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف

کلورفرم سرد (Merek, CAS 67-66-3 102445, Germany) به نمونه اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه مخلوط شدند. محلول در دمای ۴ درجه سانتی گراد و با سرعت دوازده هزار دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع حاوی RNA به میکروتیوب دیگری انتقال داده شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به محلول RNA اضافه شد و ۲۴ ساعت در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت، این محلول نیز به مدت ۱۵ دقیقه (دمای ۴ درجه سانتی گراد، دوازده هزار دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. مایع رویی با دقت خارج شد و ۱ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد خالص سرد به رسوب RNA اضافه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه (در دمای ۴ درجه با ۷۵۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد.

در ادامه مایع رویی به دقت خارج شد و رسوب RNA با ۱۰۰ میکرولیتر ایلوشن بافر (Sigma Aldrich, H5413, Germany) رقیق شد. تمام مراحل استخراج، زیر هود و با مواد و وسایل کاملاً استریل انجام گرفت. در پایان، غلظت و نسبت جذبی نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Eppendorf, Germany) ارزیابی شد و نسبت جذبی ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۶-۱/۸ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد.

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا، مراحل سنتز cDNA مطابق پروتکل شرکت سازنده (high-capacity cDNA reverse transcription kit) انجام شد. ابتدا RNA، پرایمر و آب با هم ترکیب شدند و محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس محلول به مدت ۲ دقیقه روی یخ قرار گرفت. پس از آن enzyme mix و reaction buffer به محلول اضافه شدند. محلول در سه مرحله متوالی انکوبه شد: مرحله اول، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد؛ مرحله دوم، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و

6. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)

حاضر نشان داد به دنبال شش هفته برنامه تمرین هوازی دویدن روی تردمیل، میزان بیان mRNA ژن TGF-β1 در هر دو عضله EDL و نعلی به شکل معنی داری افزایش می یابد. همچنین، شش هفته برنامه تمرین هوازی موجب کاهش معنی دار میزان بیان mRNA ژن میوستاتین در عضله EDL شد. میزان بیان ژن میوستاتین در عضله نعلی نیز کاهش یافت، ولی از لحاظ آماری معنی دار نبود. به علاوه، بیان mRNA ژن MMP9 در عضلات EDL و نعلی افزایش غیرمعنی دار نشان داد.

مرور متون پژوهشی حاکی از آن است که بیشتر مطالعات صورت گرفته در این حوزه به پاسخ و سازگاری های عضلات اسکلتی با تمرین ورزشی پرداخته اند و بافت تاندون چندان مورد توجه قرار نگرفته است. این امر مقایسه یافته های مطالعه حاضر با پژوهش های پیشین را دشوار می کند. یکی از یافته های مطالعه حاضر، افزایش معنی دار بیان mRNA ژن TGF-β1 در هر دو عضله EDL و نعلی است. هنیمیر و همکاران افزایش سطوح mRNA ژن های TGF-β1 و کلاژن های نوع I و III در عضله دوقلوی میانی و تاندون آشیل به دنبال انجام انقباضات ایزومتریک، کانسنتریک و اکسنتریک از طریق تحریک عصب سیاتیک به مدت چهار روز را گزارش کرده اند [۱۵]. همچنین، در تحقیق دیگری نشان داده شد که انجام تمرین استقامتی طولانی مدت باعث افزایش قابل توجهی در mRNA ژن TGF-β1 در عضله نعلی شده است [۸].

سازوکارهایی که در طول تمرینات ورزشی بار مکانیکی را به افزایش سطوح کلاژن در واحد عضله تاندون مرتبط می کنند، هنوز به طور کامل شناخته نشده اند. نشان داده شده است که وضعیت آنتی اکسیدانی عضله بر بیان TGF-β1 اثرگذار است. سزارکوسکا پاک و همکاران گزارش کردند که افزایش استرس اکسیداتیو از طریق افزایش بیان NADPH اکسیداز و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، بیان TGF-β1 را افزایش می دهد [۱۶]. درحقیقت، TGF-β1 سایتوکاینی است که خاصیت

اسمیرنف استفاده شد. به منظور تحلیل داده ها از آزمون تی مستقل استفاده شد و معنی داری بین متغیرها در سطح $P \leq 0.05$ مورد توجه قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده ها، از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel ۲۰۱۶ استفاده شد.

یافته ها

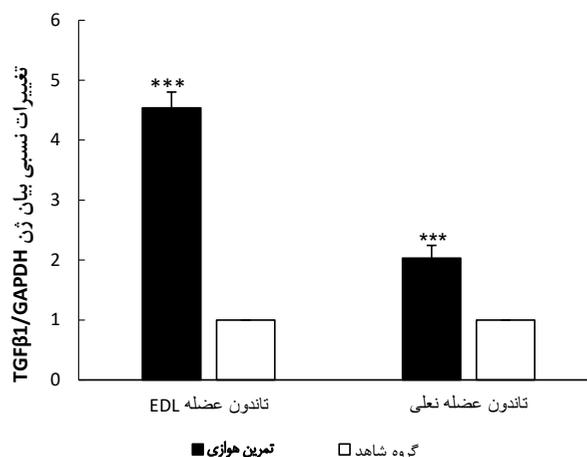
نتایج نشان داد بین مقادیر ژن TGF-β1 عضلات EDL و نعلی گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد. بیان ژن TGF-β1 عضلات EDL و نعلی در گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت (عضله EDL: 0.09 ± 0.06 در مقایسه با 0.04 ± 0.01 ، $P \leq 0.001$ و عضله سولئوس: 0.08 ± 0.03 در مقایسه با 0.04 ± 0.01 ، $P \leq 0.001$) (تصویر شماره ۱).

نتایج آزمون تی مستقل نشان داد بیان ژن میوستاتین تنها در عضله EDL گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است (عضله EDL: 0.1 ± 0.03 در مقایسه با 0.07 ± 0.05 ، $P \leq 0.001$ و عضله سولئوس: 0.09 ± 0.02 در مقایسه با 0.05 ± 0.02 ، $P \leq 0.001$) (تصویر شماره ۲).

نتایج آزمون تی مستقل نشان داد تفاوت معنی داری بین بیان ژن MMP9 در عضلات EDL و نعلی بین دو گروه تمرین هوازی و گروه کنترل وجود ندارد (عضله EDL: 0.08 ± 0.02 در مقایسه با 0.02 ± 0.01 ، $P > 0.05$ و عضله سولئوس: 0.07 ± 0.02 در مقایسه با 0.01 ± 0.01 ، $P > 0.05$) (تصویر شماره ۳).

بحث

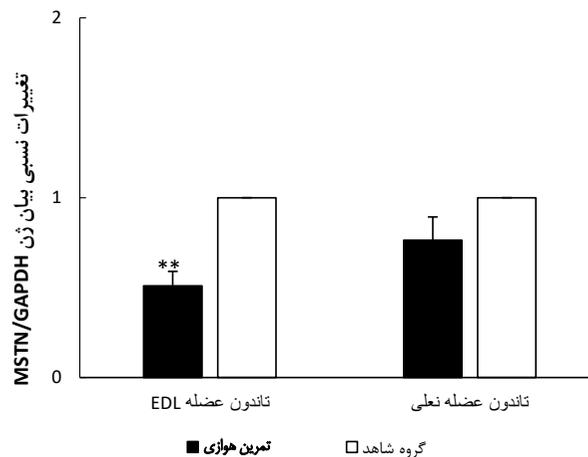
مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی بر بیان ژن های TGF-β1، میوستاتین و MMP9 در تاندون عضلات تند و کندانقباض موش های نر و بیستار انجام شد. نتایج مطالعه



تصویر ۱. میزان بیان mRNA ژن TGF-β1 در عضلات EDL و نعلی.

$P \leq 0.001$ ***





تصویر ۲. میزان بیان mRNA ژن میوستاتین در عضلات EDL و نعلی

*** $P \leq 0.001$

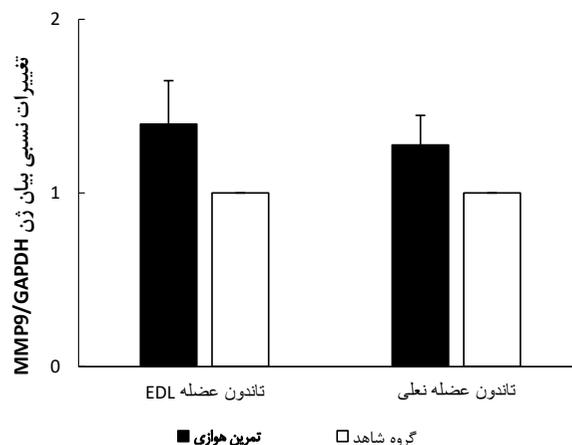


غیرفعال سازی ژنتیکی میوستاتین در رت‌ها ضمن افزایش حجم عضلانی، تأثیر منفی بر ویژگی‌های مکانیکی تاندون ندارد [۱۸]. در مطالعه حاضر، تمرینات هوازی باعث کاهش سطوح پایه بیان mRNA ژن میوستاتین در تاندون عضله EDL به شکل معنی‌دار و تاندون عضله نعلی به شکل غیرمعنی‌دار شد. کاهش سطوح سرمی و عضلانی میوستاتین به دنبال تمرینات ورزشی در بیشتر مطالعات گزارش شده است [۱۹، ۱۰، ۹]. با این حال، بر اساس جست‌وجوهای ما، تنها مطالعه‌ای که تغییرات میوستاتین در اثر سازگاری ورزشی در تاندون را اندازه‌گیری کرده است، عدم تغییر سطوح بیان mRNA ژن میوستاتین در تاندون آشیل و کاهش آن در عضله دوقلوی میانی به دنبال انجام تمرینات مقاومتی کوتاه‌مدت را نشان داده است [۱۵]. از دلایل تفاوت در یافته‌ها می‌توان به مدت و نوع پروتکل تمرین ورزشی اشاره کرد. در مطالعه مذکور از تحریک عصب سیاتیک به منظور اعمال برنامه تمرین مقاومتی در رت‌ها استفاده شده بود که تنها چهار روز ادامه داشت، در حالی که برنامه تمرین هوازی استفاده‌شده در مطالعه

آنتی‌اکسیدانی دارد و در پاسخ به التهاب عضله افزایش می‌یابد.

انجام تمرینات ورزشی در درازمدت قدرت آنتی‌اکسیدانی عضله را افزایش می‌دهد [۸]. شواهد موجود نشان‌دهنده آن است که $TGF-\beta 1$ واسطه اصلی القای سنتز کلاژن در فیبروبلاست‌ها از طریق بار مکانیکی بوده [۱۵] و چنین نقشی برای $TGF-\beta 1$ در تاندون‌ها نیز پیشنهاد شده است [۱۷]. افزایش بالای ۴۵۳ درصدی میزان بیان mRNA $TGF-\beta 1$ در تاندون عضله EDL در برابر افزایش ۲۰۳ درصدی آن در تاندون عضله نعلی به دنبال تمرینات هوازی که در مطالعه حاضر مشاهده شد، به احتمال زیاد حاکی از درگیر شدن عضلات تندانقباض در تمرینات هوازی است که در اعمال معمول روزانه کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.

میوستاتین علاوه بر اینکه اندازه، نوع و انقباض‌پذیری عضله را کنترل می‌کند، ترکیب ECM عضله و تاندون را احتمالاً از طریق القای بیان کلاژن نوع I تنظیم می‌کند (مندپاس و همکاران ۲۰۰۸). با این حال، مندپاس و همکاران نشان دادند که



تصویر ۳. میزان بیان mRNA ژن MMP9 در عضلات EDL و نعلی





حاضر دويدن روی تردمیل به مدت شش هفته بود.

کاهش سطوح میوستاتین به دنبال تمرین هوازی که در مطالعه حاضر مشاهده شد، می‌تواند به عنوان سازوکاری برای افزایش نسبی بیان mRNA ژن MMP9 در بافت تاندون در نظر گرفته شود. مندیا و همکاران افزایش ۱۴۱ درصدی بیان ژن MMP9 را در بافت تاندون رت‌های فاقد میوستاتین (رت‌هایی که میوستاتین آن‌ها از طریق ژنتیکی غیرفعال شده بود) گزارش کردند [۱۸]. به علاوه، نشان داده شده است که فعال‌سازی آپشار پیامرسانی ERK1/2 و JNK-NF-κB از طریق ROS برای تنظیم مثبت / فعال‌سازی MMP9 و مهاجرت سلولی ایجاد شده توسط TGF-β1 ضروری است [۲۷]. بر اساس این گزارش، افزایش سطوح TGF-β1 می‌تواند سازوکار دیگری برای توجیه افزایش نسبی بیان mRNA ژن MMP9 در بافت تاندون در این مطالعه باشد.

نتیجه‌گیری

تمرین هوازی باعث تنظیم مثبت سطوح پایه ژن TGF-β1 و تنظیم منفی سطوح پایه ژن میوستاتین در تاندون عضلات تند و کند انقباض می‌شود؛ و این اثرات در تاندون عضله تند انقباض به طور قابل توجهی بیشتر است. به نظر می‌رسد که تمرین هوازی می‌تواند بیان ژن‌های درگیر در تنظیم کلاژن بافت تاندون را در یک روش وابسته به نوع عضله تعدیل کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

همه مراحل مربوط به کار با حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی با شماره IR.IAU.PS.REC.1398.296 انجام شده است.

حامی مالی

این مقاله از رساله دکتری نویسنده دوم، در گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی استخراج شده است.

مشارکت نویسندگان

تعریف موضوع و بیان مسئله، نگارش متن و بازبینی: تمام نویسندگان؛ روش پژوهش و تحلیل داده‌ها: قاسم محمدنژاد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

به طور جالب، گزارش شده است که نوع ورزش عامل اصلی تعیین‌کننده برای فراوانی رونویسی RNA میوستاتین به شمار نمی‌رود [۲۰]. عطارزاده حسینی و همکاران کاهش سطوح میوستاتین سرمی در زنان را به دنبال هشت هفته تمرینات مقاومتی با شدت بالا گزارش کردند [۱۹]. هیتل و همکاران تأثیر شش ماه تمرین هوازی متوسط را بر مقادیر میوستاتین عضلانی و پلاسمایی مردان میانسال مورد بررسی قرار داده و کاهش متوسط ۳۷ درصدی میوستاتین عضلانی و پلاسمایی را بعد از تمرین گزارش کردند [۹].

در تحقیقی دیگر، ماتساکاس و همکاران نتایج متفاوتی را در بیان ژن میوستاتین در پاسخ به تمرین استقامتی در بافت‌های مختلف گزارش کردند. در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی تمرین کرده در بیان ژن میوستاتین کاهش ۶۵ درصدی گزارش شد، در حالی که در عضله پهن خارجی این کاهش متوسط و به مقدار ۴۹ درصد بود و در عضله نعلی بین موش‌های تمرین کرده و بی‌تمرین تغییری مشاهده نشد [۱۰]. درحقیقت، شواهد زیادی از این ایده حمایت می‌کنند که تنظیم میوستاتین با توجه به نوع تارهای عضلانی‌ای که وابستگی دارد، به شدت با ایزوفرم IIb زنجیره سنگین میوزین عضله ارتباط دارد [۲۱] و غلظت بالای پروتئین میوستاتین در عضله تند انقباض در مقایسه با تارهای کند انقباض مشاهده شده است [۲۲]. این گزارشات می‌تواند نتایج حاصل از مطالعه حاضر مبنی بر کاهش بالای ۴۹ درصدی بیان mRNA ژن میوستاتین در عضله EDL در مقایسه با کاهش اندک ۲۴ درصدی بیان آن در عضله نعلی به دنبال تمرینات هوازی را توجیه کنند.

MMP9 همراه با دیگر عضو زیرگروه MMP ژلاتیناز^۷، یعنی MMP2، کلاژن‌های آسیب‌دیده و تغییر ماهیت‌داده نوع IV، VII و X را تجزیه می‌کند [۲۳، ۲۴]. بنابراین، به نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی باعث آسیب به بافت کلاژنی عضلات اسکلتی و تاندون‌ها شده و افزایش سطوح MMP9 در جهت حذف این عناصر آسیب‌دیده از بافت رخ می‌دهد. علاوه بر این، گزارش شده است که وجود MMPها برای القای آنژیوژنز ناشی از تمرینات ورزشی در عضلات اسکلتی ضروری است [۲۵]. در مطالعه حاضر، تمرین ورزشی باعث افزایش بیان MMP9 در عضلات EDL (۴۰ درصد افزایش) و نعلی (۲۸ درصد افزایش) شد، اما این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، رولمن و همکاران افزایش غیرمعنی‌دار میزان بیان MMP9 در عضله پهن خارجی^۸ انسان را به دنبال تمرین هوازی گزارش کرده‌اند [۲۶].

7. MMP gelatinases

8. Vastus lateralis muscle

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از جناب دکتر رضا قراخانلو، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و دانشگاه تربیت مدرس به خاطر همفکری در طراحی موضوع و بیان مسئله تقدیر و تشکر می‌کنند.

- [1] Schiaffino S, Reggiani C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. *Physiol Rev.* 1996; 76(2):371-423. [DOI:10.1152/physrev.1996.76.2.371] [PMID]
- [2] Davis ME, Gumucio JP, Sugg KB, Bedi A, Mendias CL. MMP inhibition as a potential method to augment the healing of skeletal muscle and tendon extracellular matrix. *J Appl Physiol.* 2013; 115(6):884-91. [DOI:10.1152/jappphysiol.00137.2013] [PMID] [PMCID]
- [3] Kjær M, Langberg H, Heinemeier K, Bayer M, Hansen M, Holm L, et al. From mechanical loading to collagen synthesis, structural changes and function in human tendon. *Scand J Med Sci sports.* 2009;19(4):500-10. [DOI:10.1111/j.1600-0838.2009.00986.x] [PMID]
- [4] McPherron AC, Lawler AM, Lee S-J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *Nature.* 1997; 387(6628):83-90. [DOI:10.1038/387083a0] [PMID]
- [5] Mendias CL, Bakhurin KI, Faulkner JA. Tendons of myostatin-deficient mice are small, brittle, and hypocellular. *Proc Natl Acad Sci.* 2008; 105(1):388-93. [DOI:10.1073/pnas.0707069105] [PMID] [PMCID]
- [6] Mendias CL, Gumucio JP, Bakhurin KI, Lynch EB, Brooks SV. Physiological loading of tendons induces scleraxis expression in epitenon fibroblasts. *J Orthop Res.* 2012; 30(4):606-12. [DOI:10.1002/jor.21550] [PMID] [PMCID]
- [7] Pryce BA, Watson SS, Murchison ND, Staverosky JA, Dünker N, Schweitzer R. Recruitment and maintenance of tendon progenitors by TGF β signaling are essential for tendon formation. *Dev.* 2009; 136(8):1351-61. [DOI:10.1242/dev.027342] [PMID] [PMCID]
- [8] Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartłomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The effect of acute and prolonged endurance exercise on transforming growth factor- β 1 generation in rat skeletal and heart muscle. *J physiol pharmacol.* 2009; 60(4):157-62. [PMID]
- [9] Hittel DS, Axelson M, Sarna N, Shearer J, Huffman KM, Kraus WE. Myostatin decreases with aerobic exercise and associates with insulin resistance. *Med Sci Sports Exerc.* 2010; 42(11):2023. [DOI:10.1249/MSS.0b013e3181e0b9a8] [PMID] [PMCID]
- [10] Matsakas A, Friedel A, Hertrampf T, Diel P. Short-term endurance training results in a muscle-specific decrease of myostatin mRNA content in the rat. *Acta Physiol Scand.* 2005; 183(3):299-307. [DOI:10.1111/j.1365-201X.2005.01406.x] [PMID]
- [11] Gumucio JP, Sugg KB, Mendias CL. TGF- β superfamily signaling in muscle and tendon adaptation to resistance exercise. *Exerc sport Sci Rev.* 2015; 43(2):93. [DOI:10.1249/JES.000000000000041] [PMID] [PMCID]
- [12] Koskinen SO, Heinemeier KM, Olesen JL, Langberg H, Kjær M. Physical exercise can influence local levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in tendon-related connective tissue. *J Appl Physiol.* 2004; 96(3):861-4. [DOI:10.1152/jappphysiol.00489.2003] [PMID]
- [13] Sadighi A AA, Azarbayjani MA, Barari AR. [Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats (Persian)]. *Feyz.* 2019; 23(5):495-502. <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3792-fa.html>
- [14] Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 2001; 29(9):e45-e. [DOI:10.1093/nar/29.9.e45] [PMID] [PMCID]
- [15] Heinemeier K, Olesen J, Haddad F, Langberg H, Kjær M, Baldwin K, et al. Expression of collagen and related growth factors in rat tendon and skeletal muscle in response to specific contraction types. *J Physiol.* 2007; 582(3):1303-16. [DOI:10.1113/jphysiol.2007.127639] [PMID] [PMCID]
- [16] Czarkowska-Paczek B, Bartłomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF- β and VEGF are increased after strenuous physical exercise. *J Physiol Pharmacol.* 2006; 57:189-97. [PMID]
- [17] Yang G, Crawford RC, Wang JH. Proliferation and collagen production of human patellar tendon fibroblasts in response to cyclic uniaxial stretching in serum-free conditions. *J Biomech.* 2004; 37(10):1543-50. [DOI:10.1016/j.jbiomech.2004.01.005] [PMID]
- [18] Mendias CL, Lynch EB, Gumucio JP, Flood MD, Rittman DS, Van Pelt DW, et al. Changes in skeletal muscle and tendon structure and function following genetic inactivation of myostatin in rats. *J Physiol.* 2015; 593(8):2037-52. [DOI:10.1113/jphysiol.2014.287144] [PMID] [PMCID]
- [19] Attarzadeh Hosseini SR, Moeinnia N, Motahari Rad M. The effect of two intensities resistance training on muscle growth regulatory myokines in sedentary young women. *Obes Med.* 2017; 5:25-8. [DOI:10.1016/j.obmed.2017.01.004]
- [20] Matsakas A, Bozzo C, Cacciani N, Caliaro F, Reggiani C, Mascarello F, et al. Effect of swimming on myostatin expression in white and red gastrocnemius muscle and in cardiac muscle of rats. *Exp Physiol.* 2006; 91(6):983-94. [DOI:10.1113/expphysiol.2006.033571] [PMID]
- [21] Carlson CJ, Booth FW, Gordon SE. Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 1999; 277(2):R601-R6. [DOI:10.1152/ajpregu.1999.277.2.R601] [PMID]
- [22] Wehling M, Cai B, Tidball JG. Modulation of myostatin expression during modified muscle use. *FASEB J.* 2000; 14(1):103-10. [DOI:10.1096/fasebj.14.1.103] [PMID]
- [23] Kim J, Lee J. Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase responses to muscle damage after eccentric exercise. *J Exerc Rehabil.* 2016; 12(4):260-5. [DOI:10.12965/jer.1632640.320] [PMID] [PMCID]
- [24] Monaco S, Sparano V, Gioia M, Sbardella D, Di Pierro D, Marini S, et al. Enzymatic processing of collagen IV by MMP-2 (gelatinase A) affects neutrophil migration and it is modulated by extracatalytic domains. *Protein Sci.* 2006; 15(12):2805-15. [DOI:10.1110/ps.062430706] [PMID] [PMCID]
- [25] Haas T, Milkiewicz M, Davis S, Zhou A, Egginton S, Brown M, et al. Matrix metalloproteinase activity is required for activity-induced angiogenesis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 2000; 279(4):H1540-H7. [DOI:10.1152/ajpheart.2000.279.4.H1540] [PMID]
- [26] Rullman E, Norrbom J, Strömberg A, Wågsäter D, Rundqvist H, Haas T, et al. Endurance exercise activates matrix metalloproteinases in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2009; 106(3):804-12. [DOI:10.1152/jappphysiol.90872.2008] [PMID]
- [27] Hsieh HL, Wang HH, Wu WB, Chu PJ, Yang CM. Transforming growth factor- β 1 induces matrix metalloproteinase-9 and cell migration in astrocytes: roles of ROS-dependent ERK and JNK-NF- κ B pathways. *J neuroinflammation.* 2010; 7(1):88. [DOI:10.1186/1742-2094-7-88] [PMID] [PMCID]

This Page Intentionally Left Blank
