علوم زیستی ورزشی _ بهار ۱۳۹۰
شمارهٔ ۸- ص ص : ۸۷- ۷۱
تاریخ دریافت : ۰۵ / ۰۲ / ۸۹
تاریخ تصویب : ۲۴ / ۰۵ / ۸۹

بیان MSTN و MyoD در پاسخ به تمرین مقاومتی در عضلات تند و کند انقباض موش ورزیده و غیر ورزیده نر ویستار

عباس فلاح [۱] _ رضا قراخانلو _ مسعود سلیمانی
کارشناس ارشد دانشگاه تربیت مدرس، دانشیار دانشگاه تربیت مدرس، استادیار دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی تاثیر یک وهله تمرین مقاومتی وامانده ساز بر مایوستاتین و MyoD ، در عضلات اسکلتی موش‌های نر نـژاد ویستار بود. ۳۰ موش به سه گروه تقسیم شدند: کنترل (۶ سر) ، غیرورزیده (۱۲سر) و ورزیده (۱۲ سر). تمرین مقـاومتی شـامل بالابردن وزنه روی نردبان بود. ۴۸ ساعت پس از اخرین جلسه تمرینی هر دوگروه غیرورزیده و ورزیده یک جلسه تمرین مقـاومتی وامانده‌ساز را انجام دادند و ۳ و ۶ ساعت بعد قربانی شدند. بیان مایوستاتین وMyoD در نعلی و خم‌کنندهٔ دراز شست بـا تکنیـک Real time – PCR اندازه‌گیری و داده‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شدند .تفاوت‌ها با t-test زوجی و مستقل تعیـین شـدند. بیان myoD ،۳ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین در نعلی نسبت به گروه کنترل، در گروه ورزیـده بـه ترتیـب ۱/۵۴ برابـر کاهش و ۱/۰۷ برابر افزایش و در گروه غیرورزیده ۲/۸۶ و ۴ برابر کاهش یافت. بیان myoD ،۳ و۶ ساعت پـس از آخـرین جلسـهٔ تمرین در خم‌کنندهٔ دراز شست نسبت به گروه کنترل، درگروه ورزیده به ترتیب ۷۰ و ۳۳۹ برابـر و در گـروه غیرورزیـده ۱۹۳ و ۲۰۶ برابر افزایش یافت. در بررسی بیان مایوستاتین ۶ و ۳ ساعت پس از تمرین درنعلی ، در گروه ورزیده داده‌ای یافـت نشـد و در گروه غیرورزیده ۳ ساعت پس از یک جلسه تمرین نسبت به گروه کنترل ۸۵۴ برابرکاهش یافت و۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین داده ای یافت نشد. بیان مایوستاتین ۳ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین در خم کنندهٔ دراز شست نسـبت بـه گـروه کنتـرل، در گـروه ورزیـده بـه ترتیـب ۱۵/۸۷ و ۱/۳۹ برابـر کـاهش و در گـروه غیرورزیـده ۵۹ و ۱۵۱ برابـر افـزایش یافـت. یافتـه‌هـا، پاسـخ هـای متفاوت مایوستاتین وMyoD را به یک جلسه تمرین وامانده‌ساز مقاومتی در عضلات تند وکند مـوش‌هـای ورزیـده و غیرورزیـده آشکار می‌سازد.

واژه‌های کلیدی

تمرین مقاومتی،Real time – PCR، MyoD ، مایوستاتین، نعلی، خم‌کنندهٔ دراز شست.

۱- نویسندهٔ مسئول : تلفن :۰۹۱۲۳۲۷۹۵۳۶
Email : ghara_re@modares.ac.ir

مقدمه

خانوادهٔMRF شامل myoD ، Myf5 ،Myogenin وMRF4 می‌شود. myoD یکی از اولین مارکرهای الزامی در عضله‌زایی و یک پروتئین با نقش کلیـدی در تنظـیم تمـایز عضـله اسـت (۱،۳). myoD بـه خـانوادهٔ پروتئین‌هایی که به عنوان عوامل تنظیم‌کنندهٔ عضله‌زایی[1] شناخته می‌شوند، تعلق دارد. این فاکتورهای رونویسـی به‌صورت پی‌درپی در تمایز عضله‌زایی شرکت می‌کنند(۱،۲،۴). این فاکتور در سلول‌های ماهواره‌ای فعال بیان می شود ولی در سلول‌های ماهواره‌ای خاموش بیان نمی‌شود (۳،۱) . سطوح mRNA این پپتاید بین عضلات کند و تند متفاوت است که این نکته نشان می دهد که MyoD ممکن است جنبه هایی از نوع فیبر را تنظیم کند. نشان داده شده که پروتئین‌های MyoD طی تکوین به هستهٔ فیبرهای نوع تندتر در عضلات تند محدود می‌شود(۵).

مایواستاتین (MSTN) عضوی از زیرمجموعهٔ TGF β است که به‌خوبی بـین گونـه‌هـا حفـظ شـده و یـک تنظیم‌کنندهٔ منفی قوی برای تودهٔ عضلانی است (۶،۷). این ژن مورد توجه ویـژه‌ای اسـت، زیـرا دیـده شـده کـه MSTN تأثیراتی عمیق بر روی عضلانی شدن چهارپایان، موش، انسـان و دیگـر حیوانـات دارد. MSTN، بـه عنوان یک هدف درمانی بالقوه برای بهبود سلامتی عضلات معرفی شده است و در عضله‌زایی درگیر است (۶،۷) . در موش‌هایی که MSTN شان ناک اوت شد، ۲ تا ۳ برابر افـزایش در تـودهٔ عضـله نسـبت بـه گـروه کنتـرل مشاهده شد. به‌علاوه گزارش شده که بی‌وزنی، اضافه بار و تمرین، بیان MSTN را تغییر می‌دهند(۹،۸).

شرایط درگیر در لاغری یا مرتبط با اختلال‌های ترکیب بدنی بسیار وسیع و شامل دیستروفی عضلات، پیری، آسیب‌های نخاعی ، آسیب های ورزشی، بیماری‌های انحطاط اعصاب ، آتروفی‌های ناشی از عدم تحرک، استراحت در رختخواب یا بی‌وزنی و دیابت میلیتوس است(۱۰،۱۱).

این شرایط، درکاهش تودهٔ عضلات و کاهش قدرت و عملکرد نقش دارند و همچنین می‌توانند به ناتوانی ودر موارد زیادی مرگ منجر شوند که اغلب به دلیل نتیجه مستقیم یا غیرمستقیم کاهش قدرت و تودهٔ عضلات اسکلتی است. علت این شرایط اغلب چندین عاملی است که می‌تواند درگیر در اختلال در بیان چندین ژن یا چندین مسیر سیگنالینگ باشد (۱۰،۱۱،۱۲،۱۳).

1 - MRFs

تمرین مقاومتی فزاینده، تودهٔ عضلانی و قدرت آن را افزایش می‌دهد. این تمرین به افزایش قدرت و افزایش مقطع عرضی فیبر عضلات به ویژه در پروتئین‌های میوفیبریل اکتین و میوزین منجر می‌شود و یکی از موثرترین راه‌های هایپرتروفی است (۱۳) .

جدا از اینکه تمرین مقاومتی بخشی اساسی را در برنامهٔ تمرینات ورزشکاران بسیاری از رشته‌ها در بر دارد، برای بهبود بسیاری از بیماری‌ها و تناسب اندام نیز بسیار مفید است، زیرا در تحقیقات جالبی مشاهده شده است که تمرین مقاومتی تاثیرات مفیدتری نسبت به تمرین هوازی در کاهش چربی دارد و این تحقیق نشان داد که تمرین مقاومتی ممکن است در بهبود ترکیب بدنی مشارکت داشته باشد (۱۲) .

از آنجا که دیده شده عوامل تمایزی ویژهٔ عضله‌زایی مانند MyoD و ژن مهارکنندهٔ عضله‌زاییMSTN از آتروفی و هایپرتروفی تاثیر گرفته‌اند، تمرین مقاومتی برای این تحقیق در نظر گرفته شد. عضلهٔ اسکلتی یک بافت با خصوصیت تغییرپذیری زیاد است که تحت تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی در پاسخ به تحریکاتی مانند تمرین و فعالیت بدنی قرار می‌گیرد .تمرین مقاومتی یک محرک بالقوه‌ای برای افزایش سنتز پروتئین عضله است که به هایپرتروفی عضلانی و افزایش قدرت می‌انجامد. بنا براین، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر سازگاری ناشی از تمرین مقاومتی بر پاسخ عضلات FHL (خم‌کنندهٔ دراز شست) و SOL (نعلی) به یک جلسه تمرین مقاومتی، از نظر بیانmyoD و MSTN است.

روش تحقیق

نگهداری از حیوانات، تمرین مقاومتی و تهیهٔ بافت‌ها

۳۰ سر موش صحرایی ۲ ماهه نر با وزن ۱۵ ±۲۷۰ از مرکز حیوانات رازی تهیه و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند:کنترل (۶ سر) ، تمرین یک جلسه‌ای (غیرورزیده، ۱۲ سر) و تمرین دوره‌ای (ورزیده، ۱۲ سر). پروتکل تمرینی برای گروه تمرین دوره‌ای شامل ۸ هفته تمرین مقاومتی بود. هر یک از گروه‌های تمرین یک جلسه‌ای و تمرین دوره‌ای به دو گروه شش تایی تقسیم شدند .۶ حیوان از گروه تمرین یک جلسه‌ای ۳ ساعت پس از تمرین و ۶ سر باقیمانده ۶ ساعت پس از تمرین قربانی شدند. به‌طور مشابه در گروه تمرین دوره‌ای نیز ۶

موش ۳ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی و ۶ سر باقیمانده ۶ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی قربانی شدند. انجام این تحقیق توسط کمیته اخلاق تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس تایید شد.

موش‌های صحرایی در سیکل استاندارد ۱۲ ساعت روز - ۱۲ ساعت شب نگهداری شدند . تمرین در بعد از ظهرها انجام شد، آب و غذای کافی در اختیار تمامی موش‌های صحرایی قرار گرفت و هر هفته وزن حیوانات اندازه‌گیری می‌شد . برای تمرین موش‌های صحرایی وزنه به دم آنها متصل شده بود که باید این وزنه را از نردبانی با ۲۶ پله بالا می‌بردند. در هر بار بالا رفتن، این حیوانات ۱۳ بار با دست و پای چپ و ۱۳ بار با دست و پای راست وزنهٔ الحاقی را لیفت می‌کردند(۱۴). گروه تمرین ۸ هفته‌ای (ورزیده) ۴ روز آشناسازی داشتند و پس از ۷۲ ساعت استراحت تمرین آنها شروع شد. وزنهٔ تمرینی این گروه با ۵۰ درصد وزن بدنشان شروع شد و به تدریج طی ۸ هفته به ۲۰۰ درصد وزن بدن افزایش یافت. افزایش این وزنه‌ها از هفتهٔ اول تا چهارم، هر هفته ۳۰ درصد وزن بدن و در چهار هفتهٔ پایانی تمرین هر هفته ۱۵ درصد وزن بدن افزایش داشتند .

گروه تمرین یک جلسه‌ای (غیرورزیده) پس از چهار روز آشناسازی به مدت ۷۲ ساعت استراحت داشت و پس از آن یک جلسه تمرین کرد که در طی این جلسهٔ تمرین با وزنه‌ای به جرم ۵۰ درصد وزن بدن شروع و تا اواخر جلسه به ۱۰۰ درصد وزن بدن رسید .گروه کنترل نیز تمام مدت تمرین را در قفس بودند.

برای هر جلسه از تمرین هر دو گروه تمرینی، ۴ ست با ۵ تکرار در نظر گرفته شد که بین ست ها ۴ دقیقه استراحت و بین تکرارها ۳۰ تا ۴۵ ثانیه استراحت لحاظ شد. آخرین جلسهٔ تمرین هر دو گروه تا حد وامانده‌سازی پیش رفت. تمام گروه ها در ۳ روز پی‌درپی در بعدازظهر و با استفاده ازتزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (100 mg/kg body wt) و زایلازین (10 mg/kg) قربانی شدند. بعد از تشریح، بافت‌ها به سرعت در نیتروژن مایع منجمد و بعد از آن در دمای ۸۰- درجه برای مراحل بعدی تحقیق نگهداری شدند.

استخراج RNA

استخراج RNA با استفاده از ۵۰ mg از هر کدام از عضلات FHL و Sol به‌طور جداگانه انجام گرفت. برای استخراج mRNA از کیت شرکت BIONEER و دستورالعمل آن استفاده شد. سپس برای تعیین کیفیت

RNA استخراج شده۲ میکرو لیتر از محصول استخراج را به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شـده و جـذب آن در طول موج های ۲۶۰و ۲۸۰ nm اندازه‌گیری شد ، نسبت مقدار جذب ۲۶۰به ۲۸۰ بین ۱/۷ تا ۲/۳ بود .

مرحلهٔ RT (فرایند ساختن cDNA) Real time PCR برای mRNA

برای ساختن cDNA از آنزیم Mo-MLV (Fermentase) استفاده شد. به این منظـور ۵ میکروگـرم از محصول RNA ی مذکور براساس دستور شرکت سـازنده برداشـته شـده و طـی مراحـل زیـر از آنهـا cDNA ساخته شد : ۵ میکروگرم RNA با ۰/۲ میکروگرم راندوم هگزامر مخلوط و با آب DEPC خورده بـه حجـم ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. مخلوط مذکور در۷۰ درجه برای ۵ دقیقه انکوبه و سپس بلافاصله بر روی یخ منتقـل شـد تا ساختارهای ثانویهٔ RNA از هم باز شوند و فرصت کافی برای ساخته شدن مجدد نداشته باشـند .بـه مخلـوط بافر X ۵ به میزان ۶ میکرو لیتر، Mm ۱۰dNTP به میزان ۳ میکرولیتر و سپس به آن ۲۰۰ واحد آنـزیم RT اضافه شد. حجم کل به ۳۰ میکرولیتر رسانده شد. مخلوط ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵ درجه و ۱۵ دقیقـه ۳۷ درجه و سپس به مدت ۴۵ دقیقه در ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقـه در ۷۵ درجـه سـانتی‌گـراد انکوبـه شـد. محصول cDNA به دست آمده در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد (۱۲).

پرایمرها: در این تحقیق پرایمرها برای بررسی سطح بیان mRNA، myoD وMSTN به همراه RPL26 ژن House keeping با TM~60 و سایز بین ۱۰۰تا ۱۵۰ جفت باز طراحـی شـدند کـه مشخصـات آنهـا در جـدول ۱ آورده شـده اسـت. بـرای Real Time-PCR از SYBR Green شـرکت fermentase آلمـان استفاده شد.

جدول ۱ _ مشخصات پرایمرها

Gene	Accession Number	Forward primer (5´→3´)	Reverse primer (5´→3´)
Rat-myod1	NM_176079.1	TCTGATGGCATGATGGATTAC	TAGTAGGCGGCGTCGTAG
Rat-MSTN	NM_019151.1	CCAACTTAGGCATTGAAATC	ACTTCTAAAAAGGGATTCAGC
Rat-Rpl26	NM_001105788.1	GAAGTTCAGGTTGTTCGAGG	GGACAGTTGTGCCGTTAGC

روش‌های آماری

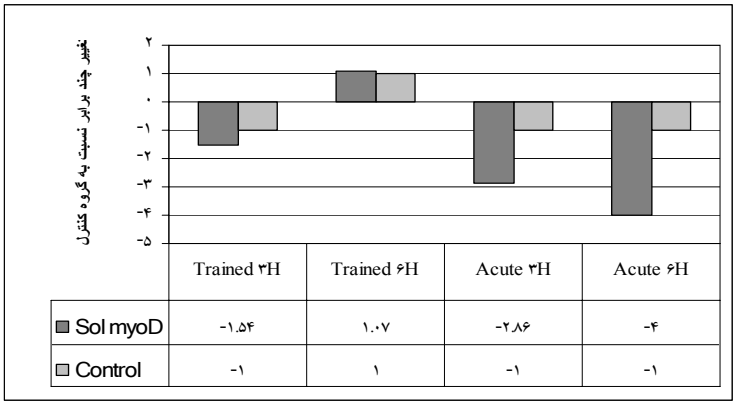
در این تحقیق C_tهای واکنشReal time به وسیلهٔ نرم افزار دستگاهReal-time PCR (Rotor-Gene 6) استخراج و ثبت شد. در نهایت اختلاف بیانMyoD وMSTN در گروه های تمرینی باگروه کنترل با فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$، به وسیلهٔ نرم‌افزار Microsoft Excel محاسبه شد.

برای بقیهٔ عملیات آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. به‌منظور بررسی نرمال بودن توزیع متغیرها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون‌های پارامتری استفاده شد. همچنین به وسیلهٔ t-Test زوجی و مستقل مقایسهٔ بیان هریک از فاکتورها بین عضلات کند و تند و همچنین بین ۳ و۶ ساعت در گروه‌های مختلف انجام گرفت و p value نیز ($p<۰/۰۵$) گزارش شد.

نتایج و یافته های تحقیق

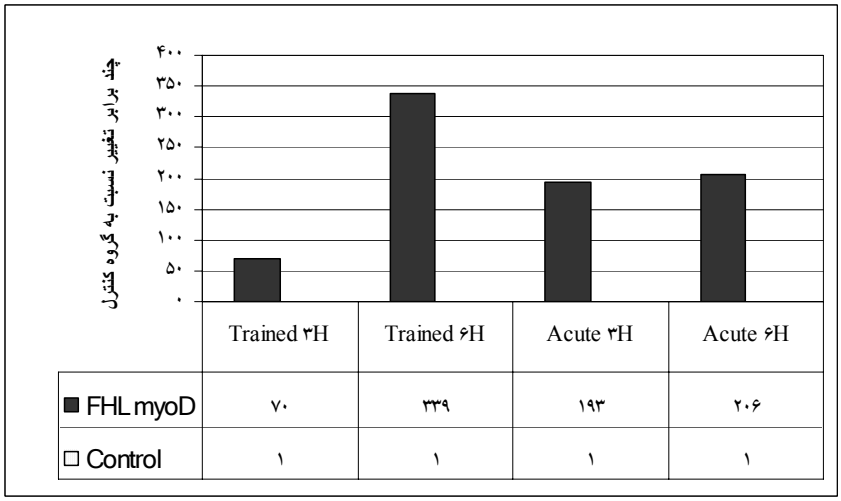
سطح بیانmyoD در عضلهٔ Sol وFHL

سطح بیان myoD، ۳ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین گروه ۸ هفته (گروه ورزیده) در عضلهٔ Sol نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۲/۸۶ برابر کاهش و ۱/۰۷ برابر افزایش یافت. سطح بیان myoD در گروه یک جلسه (گروه غیرورزیده) ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین در عضلهٔ Sol نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۱/۵۴ و ۴ برابر کاهش بیان یافت (جدول ۲ و شکل ۱).



شکل ۱ – تغییر چند برابری سطح بیان myoD در عضلهٔ Sol نسبت به گروه کنترل

سطح بیان myoD ،۳ و۶ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین گروه ۸ هفته در عضله یFHL نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۷۰ و ۳۳۹ برابر افزایش یافت . سطح بیان myoD در گروه یک جلسه ۳و۶ ساعت پس از تمرین در عضلهٔFHL نسبت به گروه کنترل به ترتیب۱۹۳ و ۲۰۶ برابر افزایش یافت (جدول۲ و شکل ۲) .

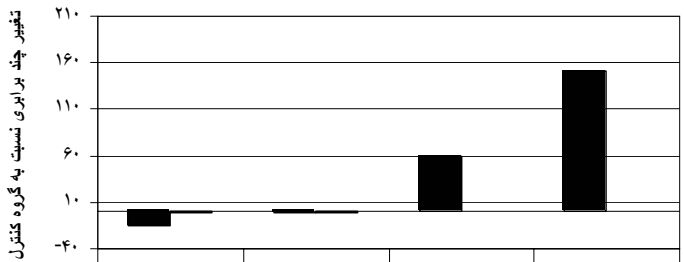


شکل ۲ – تغییر چند برابری سطح بیان myoD در عضلهٔ FHL نسبت به گروه کنترل

سطح بیان MSTN درعضلهٔ Sol وFHL

در بررسی سطح بیان MSTN در گروه ۸ هفته(گروه ورزیده) ۶ و ۳ ساعت پس از تمرین درعضلهٔ Sol داده‌ای یافت نشد(تا سیکل ۴۰). سطح بیانMSTN در گروه یک جلسه (گروه غیرورزیده) ۳ ساعت پس از یک جلسه تمرین درعضلهٔ Sol نسبت به گروه کنترل ۸۳۳ برابرکاهش یافت و۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین درعضلهٔ Sol داده‌ای یافت نشد (تا سیکل ۴۰).

سطح بیان MSTN،۳ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین گروه ۸ هفته درعضلهٔFHL نسبت به گروه کنترل به‌ترتیب ۱۵/۸۷ و ۱/۳۹ برابر کاهش و سطح بیان MSTN در گروه یک جلسه ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین در عضلهٔFHL نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۵۹ و151 برابر افزایش یافت (جدول۲و شکل ۳).



	Trained ۳H	Trained ۶H	Acute ۳H	Acute ۶H
■ MSTN FHL	-۱۵.۸۷	-۱.۳۹	۵۹	۱۵۱
□ Control	-۱	-۱	۱	۱

شکل ۳ _ تغییر چندبرابری سطح بیان MSTN در عضلهٔ FHL نسبت به گروه کنترل

تغییرات بیان myoD

براساس t-test، ۶ ساعت پس از تمرین در گروه یک جلسه در عضلهٔ Sol کاهش بیان myoD و در گروه هشت هفته‌ای افزایش بیان چشمگیر myoD نسبت به گروه کنترل و در هر دو گروه در عضلهٔ FHL افـزایش بیان myoD نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

مقایسه بیان myoD در بین گروه ها

براساسt-test در عضلهٔ Sol بین گروه یک جلسه و ۸ هفته در ۳ ساعت بعد از تمرین سطح بیان myoD تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما این مقایسه در ۶ ساعت بعد از تمرین حاکی از تفـاوت معنـی‌دار (P<۰/۰۱) بود. سطح بیان myoD ۶ ساعت پس از تمرین در گروه ۸ هفته افزایش بیان بیشتری نسـبت بـه گـروه یـک جلسه تمرین مقاومتی داشت. روند بیان myoD در عضله Sol ، در گروه تمرین یک جلسه‌ای از لحظهٔ ۳ بـه ۶ رو به کاهش و در گروه ۸ هفته رو به افزایش بود که هیچ‌کدام معنی‌دار نبودند.

براسـاس t-test در عضـلهٔ FHL بـین گـروه یـک جلسـه و ۸ هفتـه در ۳ سـاعت بعـد از تمـرین سـطح بیانmyoD تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) وجود داشت و سطح بیان myoD در گروه یک جلسه‌ای نسـبت بـه گروه ۸ هفته افزایش بیان بیشتری داشت. در عضلهٔFHL بین گروه یک جلسه و ۸ هفتـه در۶ سـاعت بعـد از تمرین درسطح بیان myoD تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

مقایسهٔ بیان myoD در زمان های متفاوت

براساس t-test بیان myoD در عضلهٔ کند، از لحظهٔ ۳ ساعت به ۶ ساعت پس از تمرین یـک جلسـه‌ای رو به کاهش و پس از تمرین دوره‌ای رو به افزایش بود که هیچ‌کدام معنـی‌دار نبودنـد. همچنـین بیـان myoD در عضلهٔ FHL، درهر دو گروه تمرین یک جلسه‌ای و ۸ هفته از لحظهٔ ۳ ساعت به ۶ ساعت رو به افزایش بود، البته تنها در گروه ۸ هفته این افزایش معنی‌دار(P<۰/۰۵) بود.

مقایسهٔ بیان myoD در عضلات

۳ ساعت پس از تمرین مقاومتی یک جلسه‌ای براساس t-test بین سطح بیان myoD در عضلهٔ Sol و FHL اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) وجود داشت و درحالی‌که سطح بیان myoD پس از تمرین در عضله ی Sol کاهش بیان یافت، در عضلهٔ FHL افزایش بیان پیدا کرد. ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی یک جلسه‌ای براساس t-test بین سطح بیان myoD در عضلهٔ Sol و FHL اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) وجود داشت و درحالی که سطح بیان myoD پس از تمرین در عضلهٔ Sol کاهش بیان یافت، در عضلهٔ FHL افزایش یافت.

براساس t-test در مورد گروه ۸ هفته تنها در ۶ ساعت پس از تمرین بین عضلهٔ Sol و FHL در بیان myoD اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) وجود داشت به نحوی که سطح بیان myoD، ۶ ساعت پس از تمرین در عضلهٔ Sol کاهش بیان و در عضلهٔ FHL افزایش یافت.

تغییرات MSTN

در عضلهٔ Sol، ۶ ساعت پس از تمرین در هر دو گروه و همچنین ۳ ساعت پس از تمرین در گروه ۸ هفته‌ای داده‌ای یافت نشد، فقط در گروه یک جلسه‌ای۳ ساعت پس از تمرین در عضلهٔ Sol کاهش۸۵۴ برابری مشاهده شد. در عضلهٔ FHL در گروه یک جلسه افزایش بیان چشمگیر MSTN نسبت به گروه کنترل و در گروه تمرین ۸ هفته کاهش بیان جزئی مشاهده شد (جدول۲) .

جدول ۲ – تغییرات چند برابری سطح بیان MyoD و MSTN نسبت به گروه کنترل

گروه‌ها	ورزیده				غیرورزیده			
زمان	3 Hour		6 Hour		3 Hour		6 Hour	
عضلات / عوامل	FHL	Sol	FHL	Sol	FHL	Sol	FHL	Sol
myoD	۷۰± ۷۸	۰/۳۵± ۰/۳۶	۳۳۹± ۱۳۴	۱/۰۷± ۰/۴۸	۱۹۳± ۱۲۴	۰/۶۵± ۰/۳۴	۲۰۶± ۹۳	۰/۲۵± ۰/۴۳
MSTN	۰/۰۶۳± ۰/۱	No detected	۰/۷۲±۰/۴۹	No detected	۵۹± ۴۷	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۹	۱۵۱± ۵۸	No detected

بحث و نتیجه‌گیری

هدف اصلی پژوهش حاضر، بررسی تغییرات احتمالی بیان MyoD و MSTN در اثر یک جلسه تمرین مقاومتی در عضلات تند وکند گروه‌های تمرین‌کرده و تمرین‌نکرده و در دو زمان مختلف بود. برای ورود به بحث، یادآوری این نکته لازم است که تمرین مقاومتی با افزایش تدریجی تودهٔ عضلانی قدرت آن را افزایش می‌دهد و منجر به افزایش مقطع عرضی فیبر عضلات به ویژه در پروتئین‌های میوفیبریل اکتین و میوزین منجر می‌شود و یکی از مؤثرترین راه‌های هایپرتروفی و تغییر در ترکیب بدن می‌باشد (۱۳،۱۲، ۱۵).

مهم‌ترین یافتهٔ تحقیق حاضر این است که یک دوره تمرین مقاومتی می‌تواند پاسخ عضلات کند و به‌ویژه تندانقباض به یک جلسه از این نوع تمرین را از منظر اثرات دو عامل مهم درگیر در فرایند عضله‌زایی یعنی MSTN و به ویژه MyoD تعدیل کند.

MyoD، عامل رونویسی خاص عضله بوده که در عضله‌زایی درگیر است. سطحMyoD mRNA بین عضلات کند و تند متفاوت است که این مطلب نشان می‌دهد که MyoD جنبه‌هایی از نوع فیبر را تنظیم می‌کند (۵). در مطالعات سیمون[1] و همکاران نشان داد که در جوندگان myoD به طور عمده در فیبر عضلانی FHL بیان می‌شود و با توجه به هایپرتروفی که از طریق تمرین مقاومتی ایجاد می‌شود و افزایش بیان آن در عضلهٔFHL در تحقیق حاضر پیش‌بینی می‌شود که myoD نقش عمده‌ای در ایجاد سازگاری‌های ناشی از تمرین ایفا کند(۵). در تحقیق حاضر بیان myoD در عضلهٔ FHL به شکل بارز افزایش نشان داد که این یافته با یافته‌های پیشین همخوانی دارد و می‌تواند توجیه‌کنندهٔ سازگاری تمرینی در این عضله تندانقباض باشد(۱۶). ولی نکات مهم‌تری که از نتایج تحقیق حاضر استنباط می‌شود، این است که ظاهرا در پی ورزیدگی عضلات، نقش این عامل تعدیل می‌شود، چرا که در پی یک جلسه کار مقاومتی وامانده‌ساز، عضلهٔ تندانقباض افزایش کمتری از بیان MyoD mRNA را نشان می‌دهد، به‌نحوی‌که در شش ساعت پس از یک جلسه تمرین، گروه ورزیده و غیرورزیده تقریبا پاسخ مشابهی ارائه کرده‌اند. شاید بتوان فرض کرد که این عامل در مراحل ابتدایی از سازگاری عضلهٔ تند به تمرین مقاومتی سهم بیشتر و نقش مهم‌تری دارد.

1 - Simon

پسیلایدر و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که پس از تمرین مقاومتی با شدت زیاد سطح بیان mRNA فاکتورهایی چون MyoD در عضلهٔ پهن جانبی افزایش می‌یابد و این اشاره به این دارد که ممکن است این ژن‌ها در تنظیم هایپرتروفی درگیر باشند. بیانmyoD mRNA بلافاصله پس از تمرین مقاومتی تا حدود ۱۱۰ درصد افزایش یافت، ولی پس از یک ساعت به سطح اولیهٔ خود بازگشت (۲۰). این در حالی است که در پژوهش حاضر سطح بیانmyoD مخالف با نتایج پسیلایدر در۳ و ۶ساعت بعد از تمرین بالا بود.

در پژوهشی موافق با مطالعهٔ حاضر، درآموند و همکاران عوامل میوژنیک در پاسخ به شدت تمرین مقاومتی در عضلهٔ اسکلتی بررسی کردند. در این تحقیق موش‌های صحرایی نر یک جلسه تمرین با شدت کم و گروهی از این موش‌ها یک جلسه تمرین با شدت زیاد را انجام دادند. نمونه‌ها از ناحیهٔ تند عضلهٔ چهارسر ران۶ ، ۱۲ ، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تمرین از آنها گرفته شد. مشاهده شد که MyoD mRNA ۶ و ۱۲ ساعت پس از تمرین با شدت کم و ۱۲ ساعت پس از تمرین با شدت زیاد افزایش یافت، در ناحیهٔ کند عضلهٔ چهار سر ران تغییری مشاهده نشد. آنها نتیجه گرفتند که تمرین مقاومتی سبک می‌تواند سطح بیان MyoD را در عضلهٔ چهارسر ران ناحیهٔ تند فعال‌سازی کند، ولی زمانی که تمرین دوبرابر می‌شود، این پاسخ‌ها احتمالا تاخیری است و کم می شود که ممکن است به دلیل آسیب‌های شدید عضلانی باشد (۲۱).

در تقابل با تحقیق درآموند، در تحقیق حاضر مشاهده شد که در مقایسه بین گروه یک جلسه و ۸ هفته (غیر ورزیده در مقابل ورزیده) ۳ ساعت پس از تمرین با اینکه یک جلسه تمرین تجربه نشده با آسیب بیشتری همراه است، اما بیان myoD در گروه یک جلسه بیشتر از گروه ۸ هفته بود و همسو با تحقیق درآموند دیده شد که در ۶ ساعت بیان myoD در گروه ۸ هفته‌ای بیشتر بود، همچنین این افزایش بیان در عضله تند FHL بود. همان طور که ملاحظه می‌شود، زمانبندی تاثیر MyoD محل مناقشه و نیازمند بررسی بیشتر است.

پوله[1] و همکاران در مطالعه‌ای در توافق با پژوهش حاضر به بررسی بیان MyoD پس از چهار جلسه تمرین مقاومتی پرداختند. بایوپسی‌هایی در لحظهٔ زمانی پس از تمرین اول، ۴۸ ساعت پس از تمرین اول و دوم و ۲۴ ساعت پس از تمرین سوم از عضلهٔ پهن جانبی از مردان پیر و جوان گرفته شد. در نهایت مشاهده شد که تنها در

1- Poole

لحظهٔ زمانی بین پایان تمرین اول تا ۴۸ ساعت پس از تمرین دوم و در مردان جوان افزایش MyoD معنی‌دار است (۲۲).

اسکوریز و همکاران نیز تغییرات بیانMSTN mRNA و MyoD پس از تمرینات درونگرا و برونگرا بررسی کردند.۳ بایوپسی از عضلهٔ پهن جانبی از پای تمرین‌کرده در ابتدا، ۸ ساعت پس از اولین تمرین و آخرین بایوپسی نیز ۸ ساعت پس از هفتمین و آخرین جلسهٔ تمرینی (۲ هفته پس از اولین تمرین) گرفته شد.

داده‌های آنها (در تقابل با پژوهش حاضر) نشان داد که یک جلسه تمرین یا چند جلسه تمرین بیشینهٔ درونگرا و برونگرا به‌طور معنی‌داری بیان MSTN mRNA و MyoD را تغییر نداده است (۲۳). زمان گرفتن بایوپسی‌ها، عضله و گونهٔ نمونه‌های مورد بررسی در تحقیق اسکوریز با تحقیق حاضر متفاوت است که این خود می‌تواند عاملی برای این اختلاف باشد. البته تغییرات MyoD در عضلهٔ SOL در تحقیق حاضر معنی‌دار نبود که علت آن هم را می‌توان به درگیری کم این عضله در تمرین مقاومتی تحقیق حاضر یا عدم نیاز ماهوی آن به مایو ژنز نسبت و مقوم یافته‌های پیشین باشد(۱۵).

در پژوهش حاضر سطح MSTN در عضلهٔ Sol،۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین مقاومتی و همچنین پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی کاهش چشم گیری داشت در حالیکه در عضله ی FHL در گروه یک جلسه ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین افزایش بیان یافت.

در تحقیقی متفاوت الریکا[1] و همکاران به بررسی سطح MSTN mRNA در بین زنان پیر و جوان در حالت استراحت و پس از یک جلسه تمرین مقاومتی پرداختند. آنها دریافتند که در عضلهٔ پهن جانبی سطح MSTN mRNA در حالت استراحت در افراد جوان کمتر از افراد پیر است. در لحظهٔ زمانی ۴ ساعت پس از تمرین سطح MSTN mRNA در هر دو گروه کاهش بیان یافت و در افراد مسن کمتر از افراد جوان بود (۱۷).

استفان جیرجینراس[2] و همکاران نیز اثر MSTN را روی نوع فیبر عضلهٔ موش‌های بالغ بررسی و گزارش کردند که با ناک اوت کردن ژن MSTN در عضلهٔ Sol و EDL[3] موش فیبرهای نوع دو نسبت به گروه کنترل

1 - Ulrika Raue
2 - Stefan Girgenrath
3 - Extensor digitorum longus

افزایش و فیبرهای نوع کند نسبت به گروه کنترل کاهش یافتند. همچنین با ناک اوت کردنMSTN در عضلهٔ EDL فیبرهای گلیکولیتیک نسبت به گروه کنترل افزایش و فیبر های اکسیداتیو نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (۱۸).

درآموند و همکاران گزارش کردند که بیان MSTN با تمرین مقاومتی در عضلهٔ کند سرکوب می‌شود. تمرین مقاومتی طولانی‌مدت سطح MSTN را در جوندگان و انسان کاهش می‌دهد(۱۸).

با توجه به مطالعات ذکرشده و نتایج تحقیق حاضرکه کاهش چشمگیر سطح بیانMSTN در عضلهٔ Sol را نشان داد، این کاهش بیانMSTN به‌وسیلهٔ تمرین مقاومتی احتمالا حاکی از تمایل به تغییر عضلهٔSol و پیدایش تارهای تند یا بینابینی است که البته در تحقیق حاضر این مسئله بررسی نشد. همچنین سطح پایین و یافت نشدن MSTN در بعضی گروه‌ها ممکن است به‌دلیل سن کم نمونه‌ها و جلسهٔ سنگین تمرین (تا حد واماندگی) قبل از قربانی کردن باشد (۷، ۱۹،۱۷).اما نکتهٔ اساسی این است که تاثیر تمرین حاضر بر هر دو عضله از نظر تغییرات کاهشی MSTN منطقی به‌نظر می‌رسد الا در گروه یک جلسه‌ای و در عضلهٔ FHL که با افزایش MSTN مواجهیم. در این زمینه، هنریک مسچر[1] و همکاران عوامل کاتابولیک را پس از یک و چند جلسه تمرین مقاومتی در عضلات FHL بررسی کردند. آنها دریافتند که بیان فاکتورهای کاتابولیک مانند MAFbx وMuRF-1 پس از جلسهٔ دوم تمرین حدود ۳۰ درصد کمتر از زمان مشابه پس از جلسهٔ اول تمرین است. ازاین‌رو احتمال می‌رود که افزایش بیان MSTN در گروه یک جلسه در عضلهٔ FHL در پژوهش حاضر نیز متاثر از اثر کاتابولیکی یک جلسه تمرین باشد که البته در این تحقیق کنترل نشده است(۱۹). در همین زمینه به بعد دیگری نیز می‌توان پرداخت به این معنی که برنامهٔ تمرینی تحقیق حاضر توانسته سازگاری را در عضلهٔ تندانقباض ایجاد کند تا این عضله در مواجهه با بار سنگین یک جلسه تمرین مقاومتی مانع افزایش MSTN که خود مانع هایپر تروفی است، شود. یکی از مهم‌ترین سازوکارهای احتمالی این مسئله به نقش microRNAs در خاموشی ژن‌های مرتبط (مانند MSTN) باز می‌گردد که باید بیشتر بررسی شود.

1 - Henrik Mascher

به طور خلاصه می‌توان گفت که این تحقیق پاسخ‌های متفاوت بیان دو تعدیل‌گر مثبت و منفی عضله‌زایی یعنی MSTN و MyoD را به یک جلسه تمرین وامانده‌ساز مقاومتی در عضلات اسکلتی تند وکندانقباض موش‌های ورزیده و غیرورزیده آشکار می‌سازد.

منابع و مآخذ

1.Alison D. Egan, Jason B. Winchester, Carl Foster and Michael R. McGuigan. (2006) . "Using session rpe to monitor different methods of resistance exercise". Sports Science and Medicine.

2.Christian J. Carlson, Frank W. Booth, and Scott e. Gordon. (1999). "Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading". the American Physiological Society.

3.Entrez Gene: MYOD1 myogenic differentiation.

4. G. Diane Shelton a, Eva Engvall. (2007)."Gross muscle hypertrophy in whippet dogs is caused by a mutation in the myostatin gene". Neuromuscular Disorders.

5. Helen D. Kollias,and John C. McDermott(2008). "Transforming growth factor and myostatin signaling in skeletal muscle". J Appl Physiol .

6.Henrik Mascher, Jo¨rgen Tannerstedt, Thibault Brink-Elfegoun, Bjo¨rn Ekblom, (2008)."Thomas Gustafsson, and Eva Blomstrand Repeated resistance exercise training induces different changes in mRNA expression of MAFbx and MuRF-1 in human skeletal muscle". Physiol Endocrinol Metab.

7. J. K. Godfrey , B. D. Kayser , G. V. Gomez , J. Bennett , S. V. Jaque, K. D. Sumida(2009). "Interrupted Resistance Training and BMD in Growing Rats". Int J Sports Med.

8.Jensky-Squires, Nicole E. Sims, Jennifer K. Dieli-Conwright, Christina, Sattler, Fred R. Rice, Judd C. Schroeder, E. Todd. (2010). "The Influence of

Eccentric and Concentric Exercise on Skeletal Muscle Regulators in Young Women". Journal of Applied Physiology.

9.Marina Marini , Arsenio Veicsteinas.(2010)."The exercised skeletal muscle". European Journal Translational Myology - Myology Reviews .

10.Micah J. Drummond, Robert K. Conlee, Gary W. Mack, Sterling Sudweeks and G. Bruce.

11. Michael J. Ormsbee,1 John P. Thyfault,3 Emily A. Johnson, Raymond M. Kraus,1 Myung Dong Choi,1 and Robert C. Hickner.(2007). "Fat metabolism and acute resistance exercise in trained men". J Appl Physiol .

12.Niklas Psilander, Rasmus Damsgaard and Henriette Pilegaard. (2003)."Resistance exercise alters MRF and IGF-I mRNA content in human skeletal muscle". Journal of Applied Physiology.

13.Ophe´ lie Philipot, Ve´ronique Joliot, Ouardia Ait-Mohamed, Ce´ line Pellentz, Philippe Robin. (2010)."The Core Binding Factor CBF Negatively Regulates Skeletal Muscle Terminal Differentiation". PLoS ONE.

14. Pascal stuelsaz ,Frcderic pauzoulet , Yann lamarre. (2010). "Down-regulation of MyoD by Calpain 3 Promotes Generation of Reserve Cells in C2C12 Myoblasts Biochemistry and Molecular Biology".

15. Poole, Chris N.; Roberts, Michael D.; Dalbo, Vincent J.; Sunderland, Kyle L. Hassell, Scott E.; Kerksick, Chad M. (2010). "Effects Of Human Aging On CDK4, P21Cip1, P27Kip1, And MyoD Expression After Three Resistance Exercise Bouts". Medicine & Science.

16.Randy W. Braith, PhD; Kerry J. Stewart, EdD.(2006). "Resistance Exercise Training Its Role in the Prevention of Cardiovascular Disease". American Heart Association.

17.Schaalje, et al (2010). "Myogenic regulatory factor response to resistance exercise volume in skeletal Muscle". European Journal of Applied Physiology.

18.Simon M. Hughes, Kyoko Koishib, Michael Rudnickic, Alison M. Maggsa. (1997) . "MyoD protein is differentially accumulated in fast and slow skeletal muscle fibres and required for normal fibre type balance in rodents". Mechanisms of Development..

19. Stefan Girgenrath , Kening Song , Lisa-Anne Whittemore . (2004)."Loss of myostatin expression alters fiber-type distribution and expression of myosin heavy chain isoforms in slow- and fast-type skeletal muscle". Muscle & Nerve .

20. Sukho lee and roger p. Farrar. (2003)."Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat". An International Electronic Journal.

21. Ulrika Raue, Dustin Slivka, Bozena Jemiolo, Chris Hollon, and Scott Trappe. (2006). "Myogenic gene expression at rest and after a bout of resistance exercise in young (18–30 yr) and old (80–89 yr) women". Journal of Applied Physiology.

22.Willoughby, Darryn S.(2004). "Effects of Heavy Resistance Training on Myostatin mRNA and Protein Expression". Med. Sci. Sports Exerc.

23. Yifan Yang, Andrew Creer, Bozena Jemiolo, and Scott Trappe.(2005)."Time course of myogenic and metabolic gene expression in response to acute exercise in human skeletal muscle". J Appl Physiol.

24. Zhihong Yang, Kyle L. MacQuarrie, Erwin Analau. (2009). "MyoD and E-protein heterodimers switch rhabdomyosarcoma cells from an arrested myoblast phase to a differentiated state". Genes Development. 2009 23: PP:694-707.