

علوم زیستی ورزشی - زمستان ۱۳۹۳
دوره ۶، شماره ۴، ص: ۴۳۵ - ۴۴۹
تاریخ دریافت: ۹۲/۰۹/۱۹
تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۴/۰۵

تأثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن *myoD* در عضله کند و تند انقباض رت‌های نر نژاد ویستار

محمد فتحی^۱، رضا قراخانو*^۲، مسعود سلیمانی^۳، حمید رجبی^۴، راضیه رضایی^۵
۱. استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، ایران، ۲. دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، ۳. دانشیار گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، ۴. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران، ۵. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

چکیده

سلول‌های ماهواره‌ای، سلول‌های جوانه‌ای عضلات اسکلتی محسوب می‌شوند که بر اثر آسیب عضلانی فعال و وارد چرخه سلولی می‌شوند. از جمله نشانه‌های فعال‌سازی و تکثیر این سلول‌ها افزایش بیان ژن *myoD* است. تناقضاتی در پاسخ این ژن در تارهای کند و تند به تمرینات مقاومتی وجود دارد، بنابراین هدف این تحقیق ارزیابی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن *myoD* در عضله اسکلتی تند و کند انقباض رت‌های نر نژاد ویستار است. بدین منظور پانزده رت از انستیتو پاستور تهیه شد و در شرایط طبیعی (دما، چرخه تاریکی و روشنایی و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری و به صورت تصادفی به گروه مقاومتی (ده سر) و کنترل (پنج سر) تقسیم شدند. گروه مقاومتی یک جلسه تمرین مقاومتی را اجرا کردند، سپس ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین، بی‌هوش و تشریح شدند. پس از آن عضلات نعلی و عضله بازکننده دراز انگشتان (EDL) خارج و برای تعیین میزان بیان ژن *myoD* در آنها از روش Real time RT-PCR استفاده شد. با استفاده از آزمون آماری t اطلاعات به دست آمده ارزیابی شد. در پایان نتایج نشان داد تمرین مقاومتی بیان ژن *myoD* در عضله EDL را ۲/۳۶ برابر (غیرمعنادار) افزایش داد و بیان ژن *myoD* عضله نعلی تغییر معناداری نکرد. پس می‌توان گفت ژن *myoD* در عضله تند انقباض نسبت به عضله کند انقباض سریع‌تر و بیشتر تحت تأثیر تمرین مقاومتی قرار می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی

تمرین مقاومتی، عضله نعلی، عضله بازکننده دراز انگشتان، *myoD*.

مقدمه

سلول‌های ماهواره‌ای زیر غشای پایه^۱ عضلات اسکلتی، دقیقاً در مجاورت سارکولمای میوفیبریل‌ها قرار دارند و ۲ تا ۷ درصد هسته‌های یک تار ویژه را تشکیل می‌دهند (۱). تعداد سلول‌های ماهواره‌ای به نوع تار عضلانی، سن و گونه بستگی دارد. مقدار این سلول‌ها در سنین مختلف متفاوت است (۲)، به طوری که در موش‌های نوزاد، بالغ و کهنسال به ترتیب، ۳۰، ۴ و ۲ درصد از هسته‌های عضلانی را سلول‌های ماهواره‌ای تشکیل می‌دهند (۳). با افزایش سن، کاهش سلول‌های ماهواره‌ای موجب افزایش هسته‌های عضلانی (تارهای گلیکولیتیک و اکسیداتیو) و کاهش تعداد کلی سلول‌های ماهواره‌ای (تارهای گلیکولیتیک) می‌شود (۳). نزدیک بودن با مویرگ‌ها، هسته‌های عضلانی و پیوندگاه عصبی-عضلانی با افزایش تراکم سلول‌های ماهواره‌ای در ارتباط است (۳)، بنابراین میزان آنها در تارهای اکسیداتیو در مقایسه با تارهای گلیکولیتیک ۵ تا ۶ برابر بیشتر است (۳).

این سلول‌های جوانه‌ای ویژه عضله بالغ، در حالت عادی نهفته هستند (۴) و در پاسخ به استرس القاشده مانند القای بار یا آسیب عضلانی، فعال می‌شوند، یعنی وارد چرخه سلولی می‌شوند. نسل بعدی سلول‌های ماهواره‌ای فعال شده را سلول‌های آغازگر عضله^۲ (mpc) می‌نامند که بعد از چند دور تقسیم سلولی، قبل از ادغام با میوفیبریل‌های موجود یا شکل‌دهی میوفیبریل‌های جدید، به ترتیب موجب ترمیم یا هایپرتروفی فیبرهای عضلانی آسیب‌دیده می‌شوند (۵). سلول‌های ماهواره‌ای جمعیت ثابتی دارند که محققان اعتقاد دارند آنها خودتکثیر نیز هستند، یعنی بعد از فعال شدن بخشی از جمعیت آنها، مخازن خالی شده خود را ترمیم می‌کنند (۱).

ظرفیت مهاجرت و جابه‌جایی سلول‌های (شیمیوتاکسی) ماهواره‌ای به یکپارچگی و سالم بودن غشای پایه سلول بستگی دارد. بعد از قطع شدن و پارگی (تخریب شدید) غشای پایه در اثر آسیب عضلانی، سلول‌های ماهواره‌ای با استفاده از ارتباطات بافتی به میوفیبریل‌های آسیب‌دیده مجاور مهاجرت می‌کنند، اما اگر آسیب بافتی محدود باشد و پارگی در لامینای پایه رخ نداده باشد، سلول‌های ماهواره‌ای برای مشارکت در ترمیم بافت عضلانی از ابتدای بخش سالم میوفیبریل (در زیر غشا) به محل آسیب‌دیده حرکت می‌کنند (۳). با فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای (شش ساعت پس از آسیب عضلانی) بیان ژن *myoD* به سرعت افزایش می‌یابد (۳، ۱)، به همین دلیل این فاکتور رونویسی را در عضلات

-
1. Basal Lamina
 2. Myogenic Precursor Cells

اسکلتی بالغ، مارکر فعال‌سازی و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای به حساب می‌آوردند (۳). مقدار mRNA فاکتور رونویسی *myoD* در سنین مختلف، متفاوت (۶، ۷) و در عضلات تند انقباض بیشتر است (۸). در مدل‌های حیوانی مقدار پروتئین آن در عضلات تند و کند انقباض رت‌های مسن کمتر است و این مقدار در عضله نعلی در کمترین مقدار و همچنین پاسخ ژن *myoD* عضله نعلی نسبت به پلاتناریس کمتر است (۹). با آسیب (فارماکولوژی، پاتولوژی یا فعالیت‌های قدرتی) عضلانی، بیان ژن *myoD* افزایش می‌یابد که نشانه تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای برای ترمیم آسیب است (۱۰). تمرین مقاومتی از طریق فرایند فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای، تکثیر، شیمیوتاکسی و ادغام با میوفیبریل‌های موجود برای مشارکت در رشد عضلانی، موجب هایپرτροφی عضله می‌شود (۱۱)، نشانه این فعال‌سازی، افزایش بیان ژن *myoD* است. تمرینات ورزشی موجب آسیب‌های ریز عضلانی می‌شود که طبعاً با فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و به تبع آن افزایش بیان ژن *myoD* همراه است. اما پاسخ ژن *myoD* به فعالیت‌های بدنی متناقض است (۱۴-۱۲) و عمده تحقیقات انجام‌گرفته در مورد این ژن کمتر به نوع کند و تند عضله و مدل‌های آزمودنی (حیوانی و انسانی) توجه داشته‌اند، ضمن اینکه پروتکل‌های این تحقیقات یا استقامتی بوده یا زمان‌های اندازه‌گیری آن بعد از فعالیت بدنی، یک بار بوده است (۷، ۱۵). بنابراین هدف این تحقیق بررسی اثر یک جلسه تمرین قدرتی بر بیان ژن *myoD* در عضلات کند و تند انقباض رت‌های نر نژاد ویستار است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تحقیقات بنیادی است که به روش تجربی انجام گرفت. متغیر مستقل این تحقیق یک جلسه تمرین مقاومتی است و متغیرهای وابسته عبارت است از میزان بیان ژن *myoD* در عضله نعلی و EDL آزمودنی‌های این پژوهش. بدین منظور پانزده سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن (۱۰۵-۱۲۰ گرم) از انستیتو پاستور خریداری شد. برای همه آنها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص رت، چرخه تاریکی و روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد) به صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در پایان این دوره، سن رت‌ها به ۹ هفته رسید. در این مدت رت‌ها در سه قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، میانگین و انحراف استاندارد وزن رت‌ها عبارت بود از $224/6 \pm 23/6$ گرم. سپس دوره آشناسازی رت‌ها با تمرینات مقاومتی آغاز شد که این دوره، یک هفته

(سه جلسه) به طول انجامید. در جلسه اول رت‌ها با وزنه‌ای به مقدار ۱۰ درصد وزن خودشان که به دمشان وصل بود، از نردبانی به ارتفاع ۱ متر (۲۶ پله) و با شیب ۴۵ درجه، سه بار بالا می‌رفتند و سپس در جلسات دوم و سوم، همین بار و تکرار در نظر گرفته شد، اما زاویه نردبان به ۸۵ درجه افزایش یافت. در پایان این دوره، به صورت تصادفی رت‌ها به دو گروه (پنج سر به عنوان گروه کنترل و ده سر دیگر به عنوان گروه تمرینی) تقسیم شدند. رت‌های گروه تمرینی یک جلسه تمرین مقاومتی (صعود از نردبان یک متری با ۲۶ پله که با زاویه ۸۵ درجه در حالت قائم قرار داشت) با ۴ ست، ۵ تکرار، ۳۰ ثانیه استراحت بین تکرارها و ۲ دقیقه استراحت بین ست‌ها را اجرا کردند. برای تعیین بار اولیه، ابتدا وزن آنها اندازه‌گیری و بار اولیه، ۵۰ درصد وزن هر رت در نظر گرفته شد. در ادامه، در ابتدای اجرای هر ست ۱۰ درصد وزن رت به بار اولیه اضافه می‌شد، به طوری که هر رت در پایان ست چهارم ۸۰ درصد وزن خود را از نردبان بالا می‌برد (۱۶).

از آنجا که محققان، بیان ژن *myoD* را شش ساعت بعد از اعمال تمرین گزارش کرده‌اند (۳)، برای اطمینان بیشتر رت‌های گروه تمرینی به طور تصادفی به دو دسته تقسیم شدند که یک گروه سه ساعت و گروه دیگر شش ساعت پس از جلسه تمرین مقاومتی حاد به صورت زیر تشریح شدند. با رعایت مسائل اخلاقی ابتدا حیوانات با ترکیبی از کتامین (۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل (به طوری که رت به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، عضله نعلی و EDL در شرایط استریل خارج شد. بافت‌های مورد نظر بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب متناسب با بافت، رت و ساعت تشریح جاسازی و وارد تانک نیتروژن شدند. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموژن کردن بافت‌ها، همه آنها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع، بافت‌ها هموژن شدند و در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شدند.

مسائل اخلاقی

در زمان ارائه پروتکل تمرینی رت‌هایی که نمی‌توانستند پروتکل را ادامه دهند، کنار گذاشته شدند. هنگام کشتن رت‌ها، دوز مناسبی از کتامین و زایلازین تزریق شد [کتامین (۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)]، که رت‌ها کاملاً بی‌هوش و سپس تشریح شدند.

استخراج RNA از بافت

برای استخراج RNA از بافت‌های هموژن‌شده، به ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی‌لیتر تریزول (اینویترژن)^۱ اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل (پیپتاژ کردن) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری (انکوبه) شد. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه شد و پس از پیپتاژ (۱۵ ثانیه) حدود ۲ تا ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. در ادامه میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ (شرکت اپندورف)^۲ شدند. سپس مایع رویی به‌دقت برداشته شد و به میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد (از این مرحله به بعد با سرسمپلر فیلتردار کار شد). سپس ۰/۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد اضافه شد و بعد از هم زدن ملایم در دمای ۲۰- باقی ماندند (اورنایت)^۳. روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ بار دیگر سانتریفیوژ شدند که در این مرحله رسوب سفیدرنگی در ته اکثر میکروتیوب‌ها قابل مشاهده بود. با سمپلر شرکت اپندورف مایع رویی با دقت خارج شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۷۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. در ادامه مایع رویی به‌دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقی‌مانده اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود. بعد از این مرحله ۵۰ لاندآ آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چندبار به آرامی پیپتاژ صورت گرفت. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت اپندورف) ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۶ تا ۱/۸ بود. تمام مراحل کار زیر هودی که از قبل آماده شده بود (استریل‌شده با الکل ۷۵ درصد و نور UV) انجام گرفت، البته غیر از مرحله‌ای که نیاز بود میکروتیوب‌های حاوی مواد، سانتریفیوژ یا ورتکس شوند. طی تمامی مراحل از دستکش لاتکس بدون پودر استفاده می‌شد و به محض نیاز به تعویض دستکش‌ها تعویض می‌شدند. کیت‌ها دقیقاً قبل از استفاده از یخچال ۲۰- خارج شده و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می‌شدند. تمام سمپلرها طبق زمان‌بندی‌های گروه کالیبره شده بودند.

سنتز cDNA

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت ترموسایننتیفیک^۴ با Cat # K1621 استفاده شد. تمام

1. Invitrogen
2. Eppendorff
3. Overnight
4. Scientific Thermo

مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از Random Hexamer انجام گرفت. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت eppendorff بود.

ارزیابی بیان ژن

قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن براساس دستورالعمل تکنیک Real Time PCR نیاز بود که میزان کارایی^۱ ژن رفرنس^۲ (*gapdh*) و ژن هدف (*myoD*) بررسی شود، که این کار صورت گرفت. میزان کارایی برای این دو ژن در بیشترین مقدار خود یعنی ۱ بود. در ادامه برای ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت آپلاید بایوسیستم^۳ استفاده شد. سایبرگرین مسترمیکس^۴ استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا با Cat # RR820L بود. براساس دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه^۵ ۱۰ لاندایی ترکیبی از master mix (۵ لاند) پرایمر (۱ لاند)، cDNA (۱ لاند) و آب مقطر (۳ لاند) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run (۴۰ سیکلی) یک نمونه به عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی master mix (طبق دستورالعمل شرکت آپلاید بایوسیستم نباید CT آن کمتر از ۳۵ باشد) در نظر گرفته شد. کنترل داخلی (*gapdh*)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و *myoD* همزمان (در یک Run) ارزیابی شد. نمونه‌ها به صورت دوتایی^۵ ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه میانگین آنها محاسبه شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم افزار Excel طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ مقدار بیان ژن *myoD* محاسبه شد (۱۷). مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آمده است. ژن رفرنس در این تحقیق ژن *gapdh*^۶ است (۱۸). مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آمده است. ژن رفرنس (Housekeeping) در این تحقیق ژن *gapdh*^۷ است.

-
1. Efficiency
 2. Housekeeping
 3. Applied Biosystem
 4. SYBR green master mix
 5. Duplicate
 6. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase
 7. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

name	Sequence 5-3	NCBI Reference Sequence	Product size
<i>gapdh</i>	F AACCCATCACCATCTTCCAG	NM_017008/4	۷۴
	R CACGACATACTCAGCACCAG		
<i>myoD</i>	F TCTGATGGCATGATGGATTAC	NM_176079/1	۷۴
	R TAGTAGGCGGCGTCGTAG		

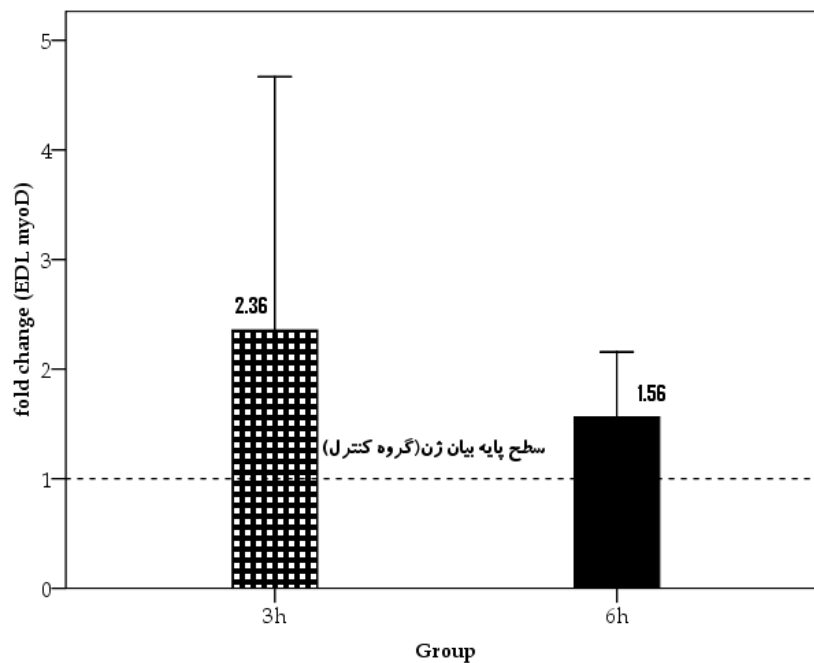
تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به دست آمده از دستگاه Real Time PCR که به صورت CT^1 (میانگین CT برای هر نمونه) بودند، با استفاده از نرم افزار Excel به $\Delta\Delta Ct$ تبدیل شدند، سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ اعداد نهایی به دست آمد. با انتقال این اعداد به نرم افزار SPSS، ابتدا پرت^۲ بودن داده‌ها بررسی شد که مشخص شد داده پرتی وجود ندارد. سپس نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی و مشخص شد که داده‌ها توزیع طبیعی دارند. سپس با استفاده از آزمون Levene مساوی بودن واریانس‌ها ارزیابی شد. نتایج این آزمون نشان داد که واریانس‌ها در عضلات نعلی و EDL همگن هستند. در ادامه از آزمون‌های آماری t یک نمونه^۳ برای تعیین اختلاف بین گروه کنترل (شاخص عدد ۱ است) و گروه‌های تجربی و برای تعیین اختلاف میانگین در هر عضله (در ساعات ۳ و ۶ پس از تمرین مقاومتی) از آزمون t مستقل^۴ استفاده شد.

نتایج

در عضله EDL مقدار بیان ژن *myoD* ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی به ترتیب ۲/۳۶ و ۱/۵۶ برابر افزایش یافت (شکل ۱)، اما نتایج آزمون t یک نمونه‌ای نشان داد که تغییر بیان ژن *myoD* عضله EDL نسبت به گروه کنترل در ۳ ($P = /۲۷۹$) و ۶ ($P = /۱۱۱$) ساعت پس از تمرین مقاومتی معنادار نیست. همچنین مقدار t مستقل ($/۷۱۱$) نشان داد که بین ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی تفاوت معناداری ($P = /۵۱۳$) در بیان ژن *myoD* وجود ندارد.

1. Cycle threshold
2. Outliers
3. One sample test
4. Independent Samples Test

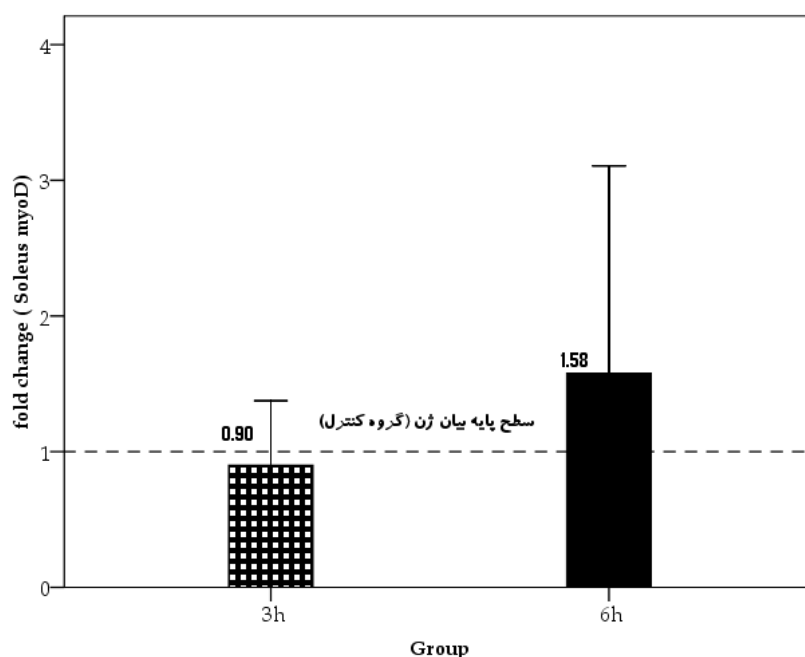


شکل ۱. تأثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان *myoD* عضله EDL در ۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین مقاومتی نسبت به سطح پایه [خط منقطع (گروه کنترل)]



شکل ۲. نمایش محصول PCR ژن *myoD* عضله EDL، از چپ گروه کنترل، گروه ۳ ساعت، گروه ۶ ساعت و *gapdh*

در عضله نعلی مقدار بیان ژن *myoD* ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی به ترتیب ۰/۹ و ۱/۵۸ برابر افزایش یافت (شکل ۳)، اما نتایج آزمون *t* یک‌نمونه‌ای نشان داد که تغییر بیان ژن *myoD* عضله نعلی نسبت به گروه کنترل در ۳ ($P = ۱/۵۹$) و ۶ ($P = ۱/۳۵۲$) ساعت پس از تمرین مقاومتی معنادار نیست. همچنین مقدار *t* مستقل ($-۱/۷۹$) نشان داد بین ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی تفاوت معناداری ($P = ۱/۲۹۴$) در بیان ژن *myoD* وجود ندارد.



شکل ۳. تأثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان *myoD* عضله نعلی در ۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین مقاومتی نسبت به سطح پایه [خط منقطع (گروه کنترل)]



شکل ۴. نمایش محصول PCR ژن *myoD* عضله نعلی، از چپ گروه کنترل، گروه ۳ ساعت، گروه ۶ ساعت و *gapdh*

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق نشان داد که بیان ژن *myoD* در پاسخ به یک جلسه تمرین مقاومتی در عضله تندانقباض، متفاوت از عضله کندانقباض است، درحالی که بیان آن در عضله EDL بیشتر از دو برابر افزایش نشان داد، هرچند معنادار نبود، اما بیان آن در عضله نعلی تنها به ۱/۵۸ برابر در شش ساعت پس از تمرین رسید. تحقیقات نشان داده اند که مقدار *myoD* در عضله نعلی تحت تأثیر تمرینات استقامتی حاد (با پروتکل متفاوت) قرار نمی گیرد (۱۲) که با یافته های این تحقیق همخوانی دارد. اما پاسخ عضله پهن جانبی اندکی متفاوت است. برای مثال پژوهش Vissing (۲۰۰۸) نشان داد که یک جلسه فعالیت

استقامتی (۹۰ دقیقه تمرین دوچرخه‌سواری در ۶۰ درصد VO_2^{peak} در افراد سالم) موجب افزایش بیان mRNA فاکتورهای *MyoD* در عضله پهن جانبی می‌شود (۱۳). یک جلسه تمرین قدرتی نیز موجب افزایش بیان ژن *myoD* در عضله پهن جانبی افراد جوان و پیر، چهار ساعت پس از تمرین می‌شود (۷). شایان یادآوری است که عضله پهن جانبی در نمونه‌های انسانی یک عضله بینابینی محسوب می‌شود، اما عضله نعلی در رت‌ها یک عضله کاملاً کند به حساب می‌آید (۱۹). به نظر می‌رسد ترکیب نوع تار بر پاسخ این ژن به تمرین تأثیر می‌گذارد. در تأیید این ادعا در تحقیقی گزارش شد که یک جلسه تمرین مقاومتی در عضله پهن جانبی آزمودنی‌های انسانی موجب افزایش بیان ژن *myoD* بلافاصله و شش ساعت پس از جلسه تمرینی می‌شود که این همزمان بود با افزایش mRNA ایزوفرم MHC IIa، بلافاصله بعد از تمرین و همچنین افزایش mRNA ایزوفرم‌های MHC I، MHC IIa و MHC IIx، شش ساعت پس از تمرین. در تحقیق ذکر شده مقدار بیان پروتئین‌ها نیز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که مقدار پروتئین *myoD* شش ساعت پس از تمرین افزایش معناداری می‌یابد (۲۰). ژن *myoD* تحت تأثیر تمرینات بلندمدت نیز قرار می‌گیرد. برای مثال Liu و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که تمرینات قدرتی (شش هفته) در نمونه‌های انسانی به‌طور معناداری سبب افزایش بیان ژن *myoD* در عضله سه‌سر بازو (عضله تندانقباض) می‌شود (۱۵).

برخی تحقیقات بیان ژن *myoD* را شش ساعت پس از تمرین دانسته‌اند (۳)، اما برخی نتایج نیز خلاف این ادعا را نشان می‌دهد، برای مثال دیده شد که یک جلسه تمرین مقاومتی شدید در عضله پهن جانبی (نمونه انسانی) بلافاصله پس از تمرین، مقدار بیان ژن *myoD* را ۱۰۰ تا ۴۰۰ درصد افزایش داد، این در حالی بود که تا ۴۸ ساعت پس از تمرین، تغییری مشاهده نشد (۲۱). در تحقیقی دیگر، یک جلسه تمرین قدرتی در عضله بازکننده پا در نمونه‌های انسانی موجب افزایش بیان ژن *myoD* تا ۸ ساعت پس از تمرین شد که این افزایش پس از ۲۰ ساعت ناپدید شد (۲۲). به نظر می‌رسد نوع عضله، نوع تمرین و مدل آزمودنی بر بیان این ژن تأثیرگذار است، به همین دلیل تناقضاتی در نتایج وجود دارد. البته باید گفت برخی نتایج نیز افزایش بیان ژن *myoD* در اثر تمرینات (چه پاسخ، چه سازگاری) ورزشی را تأیید نکرده‌اند. برای نمونه دیده شد که یک جلسه تمرین قدرتی در نمونه‌های انسانی بر بیان *myoD* عضله پهن جانبی اثر معناداری ندارد (۶). همچنین تمرین قدرتی به مدت هشت هفته بر بیان *myoD* mRNA پهن جانبی در نمونه‌های انسانی (با سطح تستوسترون طبیعی یا کاهش‌یافته) تأثیر معناداری ندارد (۲۳). در تحقیقی، Drummond (۲۰۰۸) نشان داد که *myoD* در عضله پهن جانبی،

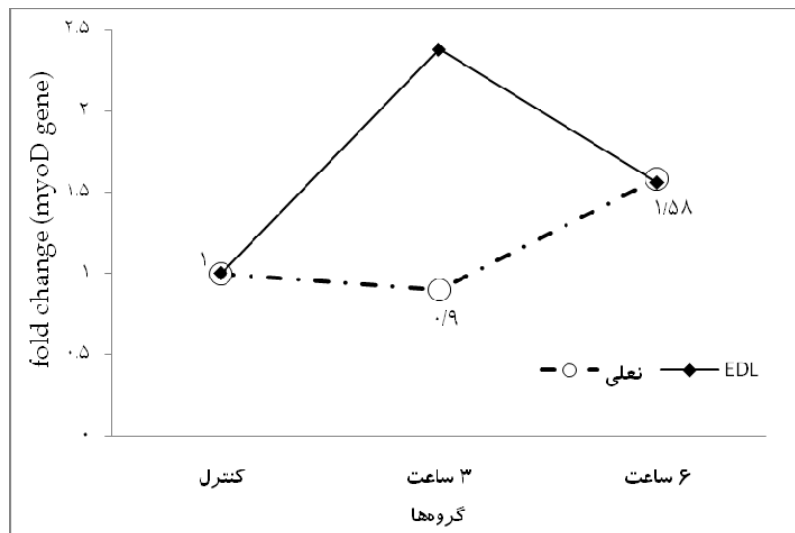
تحت تأثیر یک جلسه تمرین (مقاومتی در نمونه‌های انسانی) و مصرف محرک آنابولیکی (در آن ساعات اندازه‌گیری) قرار نمی‌گیرد (۲۴)، که این یافته‌ها با یافته‌ی تحقیق حاضر همخوانی دارد، هرچند تفاوت‌هایی در مدل آزمودنی (انسانی و حیوانی) و نوع پروتکل وجود دارد. علاوه‌بر تمرینات بدنی، القاکننده‌ی فعالیت‌های بدنی (تحریک الکتریکی مزمن) یا کشش به‌تنهایی نیز بر بیان *myoD* اثر دارند. برای مثال Vissing (۲۰۰۵) گزارش کرد که تحریک الکتریکی با فرکانس ۱۰ هرتز و ۵ ثانیه استراحت (القاکننده‌ی تمرینات استقامتی) موجب افزایش بیان تارهای کند در پایان هفته‌ی چهارم در عضله‌ی درشتنی قدیمی (تار تندانقباض) می‌شود که این موضوع با افزایش بیان *MyoD mRNA* در همان زمان همراه بود (۲۵)، یا ۲۴ ساعت پس از کشش عضله‌ی نعلی رت (۲۶) مقدار *MyoD* افزایش یافت. از طرف دیگر تمریناتی که موجب آسیب عضلانی شدند، بیان *myoD* را زیاد تحت تأثیر قرار ندادند. برای مثال در مدل‌های حیوانی (رت) مشاهده شد که یک جلسه تمرین تردمیل فزاینده با شیب منفی (القاکننده‌ی آسیب عضلانی) بر بیان *MyoD mRNA* عضلات نعلی و بازکننده‌ها اثر معناداری ندارد (۲۷). هرچند گزارش شده که بازسازی عضلات آسیب‌دیده‌ی نعلی رت با فعالیت‌های ورزشی (فعالیت‌های شدید و اختیاری) تشدید می‌شود که این موضوع با افزایش مقدار پروتئین *myoD* همراه بود (۲۸). افزایش بیان ژن *myoD* نشانه‌ی تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای است و تکثیر این سلول‌ها زمانی بیشتر می‌شود که آسیب (فارماکولوژی، پاتولوژی یا فعالیت‌های قدرتی) عضلانی رخ دهد (۱۰). با وجود معنادار نبودن، اما ۲/۳۶ برابر افزایش در بیان ژن *myoD* احتمالاً ناشی از این موضوع است که تمرین قدرتی (پروتکل این تحقیق) توانسته موجب آسیب تمرینی در عضله‌ی EDL و فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای، به تبع آن افزایش مارکر این سلول‌ها یعنی ژن *myoD* شود.

در تعمیم یافته‌ها و اعلام نتایج پایانی این موضوع که آیا تمرین بر بیان ژن *myoD* عضله تأثیر دارد، باید به مدل آزمودنی، نوع پروتکل، نوع عضله، سن آزمودنی‌ها، روش‌های اندازه‌گیری بیان ژن دقت کرد، همچنین باید پروسه‌ی پاسخ و سازگاری را از هم جدا کرد.

نتیجه‌گیری کلی

ژن *myoD* در عضله‌ی تندانقباض نسبت به عضله‌ی کندانقباض سریع‌تر و بیشتر تحت تأثیر تمرین مقاومتی قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که یک جلسه تمرین مقاومتی در ساعات اولیه‌ی پس از تمرین موجب

افزایش بیان ۲/۳۶ برابری اما غیرمعنادار ژن *myoD* در عضلات EDL می‌شود. در همان زمان مقدار آن در عضله نعلی کاهش می‌یابد. سپس در شش ساعت پس از تمرین مقدار بیان این ژن در هر دو عضله یکسان می‌شود. این موضوع در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵. روند تغییرات بیان ژن *myoD* در گروه کنترل ۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین مقاومتی در عضله EDL و نعلی

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل رساله دکتری گرایش فیزیولوژی ورزش گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی دانشگاه تربیت مدرس است. از تمام دوستانی که در انجام این پژوهش با اینجانب همکاری کردند، صمیمانه سپاسگزارم. همچنین از حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس به دلیل تأمین اعتبارات این پژوهش سپاسگزار می‌شود.

منابع و مأخذ

1. Megeney, L.A., et al., MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. *Genes & Development*, 1996. 10(10): p. 1173-1183.

2. Biressi, S. and T.A. Rando, Heterogeneity in the muscle satellite cell population. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2010. 21(8): p. 845-854.
3. Hawke, T.J. and D.J. Garry, Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol*, 2001. 91(2): p. 534-51.
4. Holterman, C.E. and M.A. Rudnicki, Molecular regulation of satellite cell function. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2005. 16(4-5): p. 575-584.
5. Zammit, P.S., All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others? *Journal of Cell Science*, 2008. 121(18): p. 2975-2982.
6. Hameed, M., et al., Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. *The Journal of Physiology*, 2002. 547(1): p. 247-254.
7. Raue, U., et al., Myogenic gene expression at rest and after a bout of resistance exercise in young (18-30 yr) and old (80-89 yr) women. *J Appl Physiol*, 2006. 101(1): p. 53-9.
8. Hughes, S.M., et al., MyoD protein is differentially accumulated in fast and slow skeletal muscle fibres and required for normal fibre type balance in rodents. *Mech Dev*, 1997. 61(1-2): p. 151-63.
9. Tamaki, T., et al., Limited myogenic response to a single bout of weight-lifting exercise in old rats. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000. 278(6): p. C1143-52.
10. Snijders, T., L.B. Verdijk, and L.J.C. van Loon, The impact of sarcopenia and exercise training on skeletal muscle satellite cells. *Ageing Research Reviews*, 2009. 8(4): p. 328-338.
11. Schultz, E. and K.M. McCormick, Skeletal muscle satellite cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 1994. 123: p. 213-257.
12. Smith, H.K., et al., Exercise-enhanced satellite cell proliferation and new myonuclear accretion in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 2001. 90(4): p. 1407-14.
13. Vissing, K., et al., Effect of sex differences on human MEF2 regulation during endurance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008. 294(2): p. E408-15.

14. Favier, F.B., H. Benoit, and D. Freyssenet, Cellular and molecular events controlling skeletal muscle mass in response to altered use. *Pflugers Arch*, 2008. 456(3): p. 587-600.
15. Liu, Y., et al., Response of growth and myogenic factors in human skeletal muscle to strength training. *British Journal of Sports Medicine*, 2007. 42(12): p. 989-993.
16. Godfrey, J., et al., Interrupted Resistance Training and BMD in Growing Rats. *International Journal of Sports Medicine*, 2009. 30(08): p. 579-584.
17. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 2001. 25(4): p. 402-8.
18. Silver, N., et al., Selection of housekeeping genes for gene expression studies in the adult rat submandibular gland under normal, inflamed, atrophic and regenerative states. *BMC Mol Biol*, 2008. 9: p. 64.
19. Talmadge, R.J., Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms. *Muscle Nerve*, 2000. 23(5): p. 661-79.
20. Willoughby, D.S. and M.J. Nelson, Myosin heavy-chain mRNA expression after a single session of heavy-resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 2002. 34(8): p. 1262-9.
21. Psilander, N., R. Damsgaard, and H. Pilegaard, Resistance exercise alters MRF and IGF-I mRNA content in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 2003. 95(3): p. 1038-44.
22. Vissing, K., J.L. Andersen, and P. Schjerling, Are exercise-induced genes induced by exercise? *FASEB J*, 2005. 19(1): p. 94-6.
23. Kvorning, T., et al., Suppression of testosterone does not blunt mRNA expression of myoD, myogenin, IGF, myostatin or androgen receptor post strength training in humans. *The Journal of Physiology*, 2006. 578(2): p. 579-593.
24. Drummond, M.J., et al., Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008. 295(6): p. E1333-40.

-
25. Vissing, K., et al., Gene expression of myogenic factors and phenotype-specific markers in electrically stimulated muscle of paraplegics. *J Appl Physiol*, 2005. 99(1): p. 164-72.
 26. Peviani, S.M., et al., Short bouts of stretching increase myo-D, myostatin and atrogen-1 in rat soleus muscle. *Muscle & Nerve*, 2007. 35(3): p. 363-370.
 27. Miyata, T., S. Tanaka, and K. Tachino, MyoD and myogenin mRNA levels after single session of treadmill exercise in rat skeletal muscle. *Journal of physical therapy science*, 2009. 21(1): p. 81-84.
 28. Richard-Bulteau, H., et al., Recovery of skeletal muscle mass after extensive injury: positive effects of increased contractile activity. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008. 294(2): p. C467-76.