

علوم زیستی ورزشی - زمستان ۱۴۰۰
دوره ۱۳، شماره ۴، ص: ۳۲ - ۱۵
نوع مقاله: علمی - پژوهشی
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ / ۰۸ / ۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱ / ۰۲ / ۰۱

اثر دو مدل تمرین بر بیان ژن‌های MST1 و MAFbx عضله پلانتراریس و آزمون‌های رفتاری موش‌های صحرایی نر ویستار پیش از کاهش فعالیت بدنی به شکل لیگاسیون عصب نخاعی

عبدالرضا کاظمی*^۱ - اسما مقدم^۲

۱. دانشیار گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان،
ایران ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران، مرکز تحقیقات
فیزیولوژی، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

چکیده

اختلال در عملکرد عصبی-عضلانی به همراه کاهش فعالیت بدنی سبب بروز پیامدهای چشمگیری بر عملکرد عضلانی می‌شود. از این رو هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر یک دوره تمرین مقاومتی و ترکیبی بر بیان ژن‌های MST1 و MAFbx عضله پلانتراریس و آزمون‌های رفتاری موش‌های صحرایی نر ویستار پیش از کاهش فعالیت بدنی به شکل لیگاسیون عصب نخاعی بود. ۲۴ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای با وزن 25.0 ± 2.0 گرم به روش تصادفی ساده به ۳ گروه مساوی تقسیم شدند: ۱. گروه شم - لیگاسیون (Sham-SNL)، ۲. گروه تمرین مقاومتی - لیگاسیون (SNL-S) و ۳. گروه تمرین ترکیبی - لیگاسیون (SNL-CO). در هر سه گروه، پس از اتمام پروتکل تمرین، سه شاخه عصب سیاتیک به‌طور محکم گره زده شد. مدت پروتکل SNL، ۴ هفته بود. در پایان پروتکل، عضله پلانتراریس استخراج شد. به‌منظور اندازه‌گیری بیان ژن‌های موردنظر از روش Real-Time PCR استفاده شد. بیان ژن MST1 و MAFbx در گروه Sham-SNL نسبت به گروه‌های تمرین به‌طور غیرمعناداری بالاتر بود ($P > 0.05$). از طرف دیگر، نتایج آزمون آنوای یکطرفه و آزمون توکی نشان داد که اختلاف معناداری در هاپیرآلزیبای حرارتی و آلودایتیای مکانیکی بین گروه شم و گروه‌های تمرین وجود دارد ($P < 0.05$). با توجه به تغییر معنادار آزمون‌های رفتاری در گروه شم نسبت به گروه‌های تمرین می‌توان ادعا کرد که تمرینات مقاومتی و ترکیبی برای بهبود درد نوروپاتیک می‌تواند مفید باشد.

واژه‌های کلیدی

آزمون‌های رفتاری، تمرین ترکیبی و مقاومتی، لیگاسیون عصب نخاعی، MST1، MAFbx.

مقدمه

آتروفی در برخی شرایط مانند آسیب دیدگی ناشی از صدمات ورزشی و غیرورزشی، زندگی در فضا (۱) و همچنین در برخی موارد بیماری‌زا مانند کاهش خون‌رسانی به بافت عضلانی، سوءتغذیه و نیز اختلال در عصب‌دهی به یک عضله ایجاد می‌شود (۲). در شرایط آتروفی عضلانی، تخریب بخش‌های پروتئینی عضله بیش از تولید آنهاست (۳، ۴). در این حالت، کیفیت زندگی افراد کاهش می‌یابد، انجام کارهای روزمره با دشواری همراه است و همچنین احتمال ابتلا به برخی بیماری‌ها مانند پوکی استخوان افزایش می‌یابد. کاهش سطح مقطع تارهای عضلانی و متعاقب آن اختلال در قدرت و همچنین تغییر در ترکیب نوع تار عضلانی از ویژگی‌های بارز آتروفی عضلانی است (۴). تغییرپذیری و شکل‌پذیری در بافت عضله اسکلتی بسیار بالاست. بافت عضلانی با توجه به بود و نبود فشارهای مکانیکی از طریق تغییر در اندازه عضله، بیان پروتئین‌های انقباضی و غیرانقباضی و تغییرات سوخت‌وسازی، سازگار می‌شود. در زمان سازگاری‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک، فرایندهایی در عضله اسکلتی اتفاق می‌افتد تا بتواند تعادل بین سنتز و تجزیه پروتئین را حفظ کنند (۵، ۶). این فرایندها به وسیله آبخارهای سیگنالینگ درون سلولی تنظیم می‌شوند. برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که حذف بار مکانیکی (تعلیق اندام) در مدل‌های حیوانی سبب تحلیل توده عضلانی و همچنین کاهش تولید نیرو می‌شود (۷-۹). از سوی دیگر، اعمال بار مجدد، آبخاری از رویدادها شامل آسیب‌های خفیف عضلانی، التهاب، بازسازی و رشد را تحریک می‌کند که در نهایت موجب بازسازی توده عضلانی می‌شود (۸، ۹). در آتروفی عضلانی، سنتز پروتئین به‌طور چشمگیری به دلیل مهار مسیر IGF-1/PI3K/AKT سرکوب می‌شود (۱۰). تجزیه پروتئین به دلیل فعال شدن مسیرهای یوبیکوئیتین پروتازوم و اتوفاژی که به‌طور هماهنگ کار می‌کنند تا پروتئین‌های میوفیبریلی میوسیت‌ها را از بین ببرند، اتفاق می‌افتد (۱۱). در نتیجه فعال‌سازی این مسیرها، کاهش سریع توده عضلانی و عملکرد انقباضی رخ می‌دهد. MAFbx عضوی از مجموعه پروتئین‌های حاوی Skp1⁺ و Cullin1 و F-box است که به هم وصل می‌شوند تا فعالیت لیگاز E3 Ub-protein خود را، ایجاد کنند. MAFbx نشانگر معتبری برای آتروفی عضلانی است (۱۲). نشان داده شده است که بیان ژن‌های MAFbx، Murf-1⁺ و همچنین چند ژن اتوفاژی دیگر، در مراحل اولیه بسیاری از آتروفی‌های عضلانی تنظیم افزایشی می‌یابند (۱۳، ۱۴).

1. Muscle atrophy F-box
2. S-phase kinase-associated protein 1
3. Muscle RING finger-1

خانواده کیناز شبه Ste20 پستانداران به‌طور گسترده‌ای در بافت‌های مختلفی بیان می‌شوند. کیناز MST1^۳ در شرایط استرسی مختلف شامل فشار اکسایشی و فعال شدن کاسپازها افزایش می‌یابد (۱۵). همچنین در شرایط قطع عصب، MST1 موجب آتروفی عصبی در عضلات تندانقباض می‌شود. این افزایش در MST1 با افزایش بیان MAFbx و LC3^۳ از طریق فعال کردن FOXO3a همراه است (۱۶). از سوی دیگر، کاهش بیان MAFbx در موش‌های فاقد ژن MST1 مشاهده شده است (۱۶). سازوکار احتمالی در فرایند آتروفی عضلانی به‌گونه‌ای است که فاکتور رونویسی FOXO3a می‌تواند به توالی DNA در ناحیه پروموتور برخی از این ژن‌ها متصل شود. فعال شدن این ژن‌ها به‌وسیله FOXO3a همراه با دیگر سازوکارهای تنظیم‌کننده رونویسی و فاکتورهای میوزنیک موجب شروع آتروفی عضلانی می‌شود (۱۷، ۱۸).

در شرایط لیگاسیون عصب نخاعی نورپاتی رخ می‌دهد که همراستا با آتروفی عضلانی پیش می‌رود. نورپاتی از بیماری‌های مخرب نورونی است که برخی اوقات با درد همراه است. درد نورپاتی، دردی است که از آسیب یا بیماری اعصاب حسی-پیکری حاصل شده و موجب اختلال در عملکرد سیستم عصبی-عضلانی می‌شود (۱۹). از سوی دیگر، افزون‌بر اختلال در سیستم عصبی مرکزی، درد نورپاتی موجب کاهش سطح فعالیت جسمانی و اجتماعی در افراد مبتلا می‌شود (۲۰). در مدل‌های آسیب اعصاب محیطی که موجب پردردی می‌شوند، کاهش فعالیت جسمانی از پیامدهای کلینیکی شایع آن است (۱۰). این کاهش فعالیت موجب عدم آمادگی جسمانی، افزایش فشار خون و کاهش عملکرد عضلانی-اسکلتی خواهد شد (۲۲، ۲۳). در این شرایط-فعالیت کاهش می‌یابد و آسیب اعصاب محیطی-ممکن است با اختلالات اعصاب حرکتی ناشی از اختلال پروتئین‌های مرتبط با انتقال آکسونی و پروتئین‌های آتروفیک همراه باشد (۲۴).

بی‌فعالیتی بدنی مانند بستری بودن افراد بیمار یا بی‌تحرك شدن ورزشکار در نتیجه آسیب‌دیدگی، از شرایطی است که کاهش توده عضلانی و افزایش بیان ژن‌های آتروفیک و همچنین کاهش آستانه درد در آن بارز است، تا به حال نقش MST1 و MAFbx در آتروفی ناشی از لیگاسیون عصب نخاعی و همچنین

1. Mammalian STE20-like
2. Macrophage-stimulating 1
3. Microtubule-Associated Protein 1A/1B-Light Chain 3
4. Forkhead box O3

تغییرات درد نوروپاتیک در اثر لیگاسیون پس از تمرین مقاومتی و ترکیبی بررسی نشده است. شناخت سازوکارهای درگیر در آتروفی و بازسازی عضله به توسعه روش‌های درمانی جدید برای مقابله با آتروفی ناشی از بی‌حرکی و بستری شدن ورزشکاران پس از آسیب‌دیدگی و جراحی‌ها که موجب طولانی‌تر شدن دوره بازتوانی و برگشت به میادین ورزشی در آنها می‌شود، کمک خواهد کرد. از این رو، پرداختن به وضعیت‌های بی‌حرکی به‌خصوص آتروفی‌هایی که می‌تواند در نتیجه بدون بار شدن مکانیکی در ورزشکاران اتفاق بیفتد، اهمیت بسزایی دارد تا با توسعه روش‌های غیردارویی، دوران بی‌حرکی ورزشکاران را کاهش دهیم و دوره بازتوانی و برگشت به میادین ورزشی را تسریع کنیم. بنابراین، این سؤال پیش می‌آید که آیا بیان mRNA ژن‌های MST1 و MAFbx به‌همراه آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک در شرایط تمرین پیش از لیگاسیون تغییر خواهد کرد؟ از این رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی تغییرات بیان mRNA ژن‌های MST1 و MAFbx در پلاتناریس موش‌های صحرائی نر ویستار و همچنین آزمون‌های رفتاری به‌دنبال ۶ هفته تمرین ورزشی در موش‌های صحرائی نر ویستار دچار لیگاسیون عصب نخاعی بود. با توجه به اینکه نشان داده شده است MST1 تأثیرات خود را از طریق لیگاز یوبی کوئیتینی MAFbx اعمال می‌کند (۲۵)، از این رو در پژوهش حاضر بیان mRNA این ژن به‌عنوان عامل پایین‌دست MST1 ارزیابی شد.

روش‌شناسی

نمونه آماری

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی است که ۲۴ سر موش صحرائی نر ۸ هفته‌ای با وزن 25 ± 20 گرم (در ابتدا) از مرکز فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شد. حیوانات موردنظر به روش تصادفی ساده به ۳ گروه تقسیم شدند: گروه اول، گروه کنترل - لیگاسیون عصبی (Sham-SNL). این گروه شامل ۸ سر موش صحرائی نر ۸ هفته‌ای بود که سه شاخه عصب سیاتیک آنها براساس روش کیم و چانگ محکم گره زده شد (۲۹). گروه دوم، گروه تمرین مقاومتی - لیگاسیون عصبی (SNL-S): این گروه شامل ۸ سر موش صحرائی نر ۸ هفته‌ای بود که پس از یک دوره تمرین مقاومتی، سه شاخه عصب سیاتیک آنها براساس روش کیم و چانگ محکم گره زده شد. گروه سوم، گروه تمرین ترکیبی - لیگاسیون عصبی (SNL-CO): این گروه شامل ۸ سر موش صحرائی نر ۸ هفته‌ای بود که پس از یک دوره تمرین

ترکیبی، سه شاخه عصب سیاتیک آنها براساس روش کیم و چانگ محکم گره زده شد (۲۹). موش‌های تمام گروه‌ها پس از ۴ هفته لیگاسیون عصب نخاعی قربانی شدند، عضله پلانناریس استخراج و به‌منظور بررسی بیان ژن‌ها به آزمایشگاه منتقل شد.

نگهداری و تغذیه موش‌ها

موش‌ها در آزمایشگاه در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۷ صبح و شروع خاموشی ۷ عصر) دما (22 ± 1 سانتی‌گراد) و رطوبت طبیعی نگهداری شدند. ۳ تا ۵ موش در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با در توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به‌گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. در پژوهش حاضر کار با حیوانات براساس تمامی اصول اخلاقی تأییدشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان (IR.KMU.REC.1399.190) و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی مطالعه درد (IASP) انجام پذیرفت.

تمرین مقاومتی

برای آشناسازی حیوانات با نحوه اجرای تمرین مقاومتی، موش‌ها به مدت ۳ روز و هر روز ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با نحوه بالا رفتن از نردبان آشنا شدند. روش انجام تمرین مقاومتی به‌گونه‌ای بود که وزنه‌های موردنظر از طریق سیلندر به دم موش متصل می‌شد و موش در این حالت از نردبان بالا می‌رفت. مدت برنامه تمرین مقاومتی، ۶ هفته (ارتفاع نردبان یک متر و با شیب ۸۵ درجه) بود. طبق رفرنس استفاده‌شده، به‌منظور یکسان‌سازی مدت زمان کلی هر جلسه تمرین مقاومتی با تمرین استقامتی هر جلسه تمرین مقاومتی در دو نوبت صبح (ساعت ۹) و عصر (ساعت ۲) انجام گرفت (امکان اعمال بار مناسب در یک نوبت در روز وجود نداشت). هر جلسه تمرین در سه ست پنج تکراری انجام می‌گرفت. فاصله استراحتی بین ست‌ها، دو دقیقه و بین تکرارها یک دقیقه بود. در مواقع ضروری از شوک الکتریکی (۲-۰/۳ میلی‌آمپر) برای تحریک موش‌ها به بالا رفتن از نردبان در جلسات آشنایی و تمرینات اصلی استفاده شد (استفاده از شوک فقط ۳ بار متوالی مجاز بود). در هفته اول تمرین، ۵۰ درصد وزن بدن موش به‌عنوان مقاومت استفاده شد و افزایش تدریجی بار (دو هفته اول ۵۰ درصد، دو هفته دوم ۵۵ درصد و دو هفته آخر ۶۰ درصد وزن بدن موش) در طول برنامه تمرینی اعمال شد (۲۶).

گروه تمرین ترکیبی

موش‌هایی که در این گروه قرار داشتند، ۴ روز در هفته (هر هفته ۲ جلسه تمرین مقاومتی و ۲ جلسه تمرین استقامتی) به صورت یک جلسه در میان، تمرینات استقامتی و تمرینات مقاومتی را که در بالا ارائه شده است، انجام می‌دادند.

تمرین استقامتی

به منظور آشناسازی با تمرین استقامتی، موش‌ها به مدت ۵ روز در هفته و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه روی نوار گردان مخصوص جوندگان راه رفتند (سرعت نوار گردان برابر ۱۰ متر در دقیقه). شدت تمرین در تمرین استقامتی برابر ۶۰-۷۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود (۲ هفته اول ۶۰ درصد، دو هفته دوم ۶۴ درصد و ۲ هفته آخر ۷۰ درصد). مدت برنامه تمرین استقامتی، ۶ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. مدت زمان جلسه تمرین استقامتی در هفته‌های، دوم و سوم و سه هفته آخر به ترتیب ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه بود. برای رسیدن سازگاری‌های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شد (۲۷).

برای تبدیل سرعت نوار گردان به اکسیژن مصرفی بیشینه از روش مطالعه هویدال و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. بر این اساس هر موش صحرایی ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و شیب ۱۰ درجه مرحله گرم کردن را سپری کرد. سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز شد. در این مرحله شیب نوار گردان ثابت و ۲۵ درجه بود. هر دو دقیقه سرعت نوار گردان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (حدود ۱-۲/۸ متر بر دقیقه) به طور خودکار افزایش یافت تا زمانی که موش صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نباشد. ملاک ناتوانی در ادامه فعالیت، سه بار افتادن روی شوک یا خروج از نوار گردان بود. مدت زمان فعالیت، کل فاصله دویده شده، سرعت نهایی کسب شده و میزان کار انجام گرفته برای هر موش محاسبه شد. سپس مقدار VO_{2peak} طبق فرمول $Y=162x-1$ به دست آمد (Y = پاسخ VO_2 (ml/kg^{0.75} per min)؛ x = سرعت دویدن (m/s)) (۲۸).

القای لیگاسیون عصبی

مدل روشی SNL است که به طور گسترده برای مطالعه سازوکارهای درد نوروپاتی و تأثیر داروها و رفتارهای مرتبط با درد استفاده می‌شود. در این پژوهش به منظور ایجاد مدل SNL، ابتدا موش‌ها با سدیم پنتوباریتول (۶۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی) بی‌هوش شدند و سپس عصب

پنجم کمری نخاعی آنها براساس روش کیم و چانگ^۱ (۱۹۹۲) (۲۹) محکم گره زده شد. مدت پروتکل SNL، ۴ هفته بود. به‌طور خلاصه در این روش، پس از اطمینان از بی‌هوشی حیوان، عضلات بین‌مهره‌ای در سطح مهره چهارم کمری و دوم خاجی جدا و زائده عرضی مهره ششم کمری برداشته شد. سپس عصب پنجم کمری سمت چپ نخاع مشخص و با ظرافت خاصی از اعصاب مجاور جدا شد. عصب پنجم کمری محکم با استفاده از نخ مخصوص (ساخت ژاپن)، دقیقاً در انتهای دیستال به‌منظور اطمینان از ایجاد اختلال در تمام فیبرها گره زده شد. این روش برای جلوگیری از آسیب به عصب چهارم کمری، با دقت بسیار زیادی انجام گرفت.

نحوه اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی

به‌منظور اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی، حیوان روی یک شبکه سیمی و در داخل محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار گرفت. به‌منظور عادت کردن حیوانات به محیط جدید، ۳۰ دقیقه پیش از آزمایش، درون محفظه شفاف و روی صفحه مشبک قرار گرفت. برای سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف Von Fery در محدوده ۲ تا ۶۰ گرم (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶، ۶۰) ساخت شرکت Stoltting, USA به‌منظور سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به‌ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده شد. چنانچه ۲ بار متوالی، پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده شد، همان وزنه به‌عنوان آستانه پس کشیدن پنجه^۳ (PWT) محسوب شد و دیگر آزمایش ادامه پیدا نکرد. چنانچه حیوان به هیچ‌یک از تارها، از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به‌عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته شد. همچنین، هر آزمایش ۳ بار و به تناوب حداقل ۳ دقیقه تکرار شد و میانگین آنها به‌عنوان آستانه پس کشیدن پنجه منظور شد. به‌طور کلی، آلودینیای مکانیکی ۳ با در هفته اندازه‌گیری شد (۳۰).

نحوه اندازه‌گیری پردردی حرارتی

از آزمون TF^۴ به‌منظور سنجش پردردی حرارتی حیوانات استفاده شد. پاسخ TF، رفلکس نخاعی قابل توجه در موش است که از طریق اعمال گرمای آسیبرسان به دم ایجاد می‌شود. تأخیر^۵ این پاسخ

1. Kim and Chung
2. Thread silk
3. Paw Withdrawal Threshold
4. Tail-flick
5. Latency

در آزمایش‌های الکتروفیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی به‌عنوان معیار پاسخ درد حیوان به‌کار می‌رود. در این روش اندازه‌گیری سنجش درد، ابتدا موش‌ها به مقیدکننده سازگاری داده شدند تا اثر استرس در نتایج کاهش یابد و حیوان کاملاً در شرایط راحت باشد. این کار باید حداقل ۲ روز پیش از آزمایش و به مدت ۲۰ دقیقه و ۳ بار در روز انجام گیرد. پس از عادت کردن حیوان به مقیدکننده و محیط آزمایشگاه، موش به‌راحتی وارد مقیدکننده شد و هیچ‌گونه مقاومت و عکس‌العملی نشان نداد. پس از ورود حیوان تطابق یافته به مقیدکننده، حدود ۵ سانتی‌متر از نوک دم روی چشم حساس الکترونیکی دستگاه TF قرار گرفت و دکمه شروع دستی یا پایی فشار داده شد که در این هنگام پرتو نوری حاصل از روشن شدن لامپ دستگاه به‌وسیله آینه مقعری که بالای آن تعبیه شده بود، روی دم حیوان متمرکز شد و حیوان پس از مدتی (احساس درد) به‌صورت غیرارادی دم خود را پس می‌کشید. پس از تکان دادن دم توسط حیوان بلافاصله لامپ خاموش و مدت زمان تأخیر پس کشیدن دم که به‌صورت عدد روی دستگاه مشخص است، یادداشت شد. در تمام آزمایش‌ها ارزیابی تأخیر پس کشیدن دم در زمان، دما و شرایط یکسان انجام گرفت. شدت جریان دستگاه ۳۴ صدم آمپر و فاصله لامپ از چشم حساس الکترونیکی ۲/۶ سانتی‌متر تنظیم شد. حداکثر زمان برای هر آزمون ۱۰ ثانیه لحاظ شد تا از آسیب به آزمودنی‌ها جلوگیری شود (۳۰).

استخراج نمونه

در پایان، موش‌ها با استفاده از گاز CO₂ بی‌هوش شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در ساق پای موش، عضله پلاتناریس استخراج و بلافاصله در نیتروژن مایع، منجمد و برای انجام آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت، به‌منظور استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent به روش دستی هموزن شد. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه با نیروی گرانش ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه با نیروی گرانش ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شده، بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها شد، سپس در ۰C، ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شست‌وشو شده و در ۲۰L آب RNAS-Free حل شد. غلظت RNA سنجیده شد (Eppendorff, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. سنتز cDNA با استفاده از ۱g RNA از ۱۱ و با استفاده از

Random hexamer primer و آنزیم transcriptase Mmulv Reverse انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری سطوح بیان ژن **MST1** و **MAFbx** از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix Syber GreenII (Applied Bio systems Step One, USA) استفاده شد. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های **MST1** و **MAFbx** در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc. Seoul, Korea) انجام گرفت (جدول ۱). ضمن اینکه از β -actin به عنوان ژن کنترل استفاده شد. میزان بیان ژن‌های موردنظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد (۳۱).

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

ژن‌ها	توالی پرایمر	بانک ژن
MST1	F= 5ATGGGTATAGCAGGCAAG-3 R='5 CGAGGACACATACAAGAGAG -3	NM_024352.1
MAFbx	F= '5AGGGCAGGTGGATTGGAAGAAGA -3 R='5 GTTGGGGTCAAAGTGAGACGGAG -3	NM_133521.1
β -actin	F= '5 AGCGTGGCTACAGCTTCACC -3' R='5 AAGTCTAGGGCAACATAGCACAGC -3'	NM_031144

روش آماری

در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار و در بخش آمار استنباطی برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها، آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. همچنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven سنجیده شد. برای تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری تحلیل واریانس یکراهه و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS-20 استفاده شد. سطح معناداری، برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

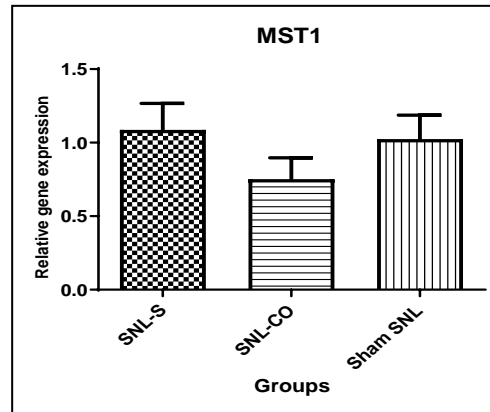
نتایج

در جدول ۲ توده بدنی موش‌ها پیش و پس از دوره پروتکل ارائه شده است. با استفاده از ترازوی مخصوص موش و با دقت ۰/۱ گرم وزن موش‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. برای تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس و آزمون توکی استفاده شد.

جدول ۲. میانگین توده بدنی در گروه‌های مختلف پژوهش

وزن به گرم	وزن به گرم	
پس از اتمام دوره لیگاسیون	پیش از دوره تمرین	
۲۵۸/۷۵ ± ۷/۳۶	۲۵۰/۶۲ ± ۸/۰۳	SNL -S
۲۶۰/۶۲ ± ۱۱/۴۶	۲۵۱/۷۵ ± ۹/۸۵	SNL-CO
۲۴۰/۲۵ ± ۱۰/۲۵	۲۵۰/۱۲ ± ۹/۸۲	Sham-SNL

با توجه به تجزیه و تحلیل‌های آماری آزمون آنوای یکطرفه (جدول ۵ و نمودار ۱) در بیان ژن MST1 در گروه SNL-Sham نسبت به گروه‌های تجربی تغییر معناداری مشاهده نشد ($P > 0.05$).



نمودار ۱. تغییرات بیان ژن MST1 در گروه‌های پژوهش

جدول ۳. نتایج تحلیل واریانس یکطرفه، اثر ورزش بر بیان ژن MST1 در عضله پلاتاریس در

گروه‌های مختلف

اثرات	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	P
SNL	۰/۱۲۸	۲	۱/۲۶	۱۰/۱۲	۰/۰۸
خطا	۱/۲۳۱	۷	۰/۰۲۸۷		
کل	۱/۳۵۹	۹			

با توجه به تجزیه و تحلیل‌های آماری آنوای یکطرفه (جدول ۶ و نمودار ۲) در بیان ژن MAFbx در گروه SNL+Sham نسبت به گروه‌های تجربی تغییر معناداری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

جدول ۴. نتایج تحلیل واریانس یکطرفه، اثر ورزش بر بیان ژن MAFbx در عضله پلاتاریس در

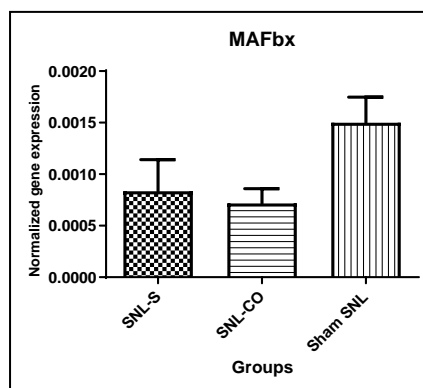
گروه‌های مختلف

اثرات	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	P
SNL	۰/۰۸۵	۲	۰/۲۶	۱/۸۹	۰/۱۲
خطا	۱/۵۲	۷	۰/۰۲۸۷		
کل	۱/۵۷۵	۹			

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد تمرینات ورزشی بر آلوداینیای مکانیکی اثر داشته و تفاوت معناداری بین سه گروه پژوهش حاضر وجود دارد ($P < 0.05$) (جدول ۵).

جدول ۵. نتایج تحلیل واریانس یکطرفه، اثر ورزش بر آلوداینیای مکانیکی در گروه‌های مختلف

اثرات	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	P
SNL	۲/۱۸	۲	۱/۹۸	۳/۸۹	۰/۰۴
خطا	۰/۸۹	۷	۰/۰۵۸		
کل	۲/۰۷	۹			



نمودار ۲. تغییرات بیان ژن MAFbx در گروه‌های پژوهش

آزمون تعقیبی توکی نشان داد تفاوت معناداری بین گروه sham و گروه تمرین ترکیبی و استقامتی در آلوداینیای مکانیکی وجود دارد ($P < 0.05$). از طرف دیگر، نتایج آزمون توکی نشان داد که اختلاف معنادار بین دو گروه تمرین با یکدیگر وجود ندارد ($P > 0.05$).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد تمرینات ورزشی بر هایپرآلژیای حرارتی اثر داشته و تفاوت معناداری بین ۳ گروه پژوهش حاضر وجود دارد ($P < 0.05$) (جدول ۶).

جدول ۶. نتایج تحلیل واریانس یکطرفه، اثر ورزش بر هایپرآلژیای حرارتی در گروه‌های مختلف

اثرات	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	P
SNL	۲/۱۱	۲	۲/۵۸	۴/۰۵	۰/۰۳
خطا	۰/۶۸	۷	۰/۰۳۲۵		
کل	۲/۷۹	۹			

آزمون تعقیبی توکی نشان داد تفاوت معناداری بین گروه sham و گروه تمرین ترکیبی و استقامتی در بیان ژن هایپرآلزیای حرارتی وجود دارد ($P < 0/05$). از طرف دیگر، نتایج آزمون توکی نشان داد که اختلاف معنادار بین دو گروه تمرین با یکدیگر وجود ندارد ($P > 0/05$).

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش اثر لیگاسیون عصب نخاعی پس از یک دوره تمرین مقاومتی و ترکیبی بر بیان ژن های MST1 و MAFbx عضله پلاتناریس موش های صحرایی نر ویستار بررسی شد. یافته های پژوهش نشان داد که لیگاسیون عصب نخاعی پس از تمرین مقاومتی و ترکیبی بر بیان ژن MST1 در عضله پلاتناریس تأثیر معناداری ندارد. همچنین، نتایج نشان داد که لیگاسیون عصب نخاعی پس از تمرین مقاومتی و ترکیبی به کاهش غیرمعنادار در بیان ژن MAFbx نسبت به گروهی که تنها در معرض لیگاسیون عصب نخاعی قرار گرفتند، منجر می شود. همچنین یافته های این پژوهش نشان داد که لیگاسیون عصبی پس از تمرین مقاومتی و ترکیبی به کاهش کمتر در میزان وزن عضله پلاتناریس نسبت به گروه لیگاسیون عصبی منجر شد. عدم معناداری تغییرات بیان ژن های MST1 و MAFbx در پژوهش حاضر با یافته های پژوهش کاظمی و دهش (۱۳۹۸) همخوانی ندارد (۳۲).

در پی یک دوره فعالیت کاهش یافته با استفاده از مدل SNL، افزایش پاتولوژیک بیان ژن های CDK5¹ و SYD² به ایجاد تأثیرات مخرب بر سیستم عصبی عضلانی و ظهور نشانه های پاتولوژیک مانند آتروفی عضلانی، عصبی و تسریع در روند آپوپتوز منجر می شود (۳۳، ۳۴). این یافته ها با یافته های پژوهش حاضر همراستا نیست، چراکه در پژوهش حاضر، لیگاسیون عصبی پس از تمرینات ورزشی بر بیان ژن MAFbx و MST1 به عنوان شاخص های آتروفی عضلانی، تأثیر معنادار نداشت. کاظمی (۱۳۹۷) در پژوهش خود به بررسی اثر بدون بار کردن مکانیکی اندام تحتانی بر بیان ژن های MST1 و MAFbx در عضلات نعلی (کندانقباض) و کف پای (تندانقباض) موش های صحرایی ویستار پرداخت. نتایج پژوهش وی نشان داد که پس از ۱۴ روز تعلیق اندام تحتانی، بیان ژن MST1 افزایش معنادار یافت؛ بنابراین MST1 می تواند از اهداف اصلی کنترل آتروفی در شرایط بدون بار شدن مکانیکی در نظر گرفته شود (۳۵). با این حال این یافته ها با نتایج پژوهش پیش رو مغایرت دارد. از دلایل این تفاوت می توان به روش پژوهش موردنظر اشاره

-
1. Cyclin Dependent Kinase 5
 2. Sunday Driver

کرد که در آن تنها اثر کاهش فعالیت بدنی بر بیان ژن‌های MST1 و MAFbx بررسی شد. درحالی‌که در پژوهش حاضر، تأثیر لیگاسیون عصبی به‌عنوان مدلی از کاهش فعالیت بدنی پس از تمرین مقاومتی و ترکیبی بر بیان ژن‌های MST1 و MAFbx بررسی شد.

در پژوهش دیگری کاظمی و دهش (۱۳۹۸) به بررسی تأثیر ۴ هفته HIIT بر بیان ژن MST1 و MAFbx عضله EDL موش‌های پیر پرداختند. یافته‌های آنها نشان داد که پیری به‌طور معناداری بیان ژن MST1 و MAFbx را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر، ۴ هفته HIIT سبب کاهش معنادار بیان ژن MST1 و کاهش غیرمعنادار بیان ژن MAFbx شد (۳۲). این تفاوت‌ها می‌تواند مربوط به نوع، شدت تمرین و نوع آزمودنی‌های مورد استفاده و شیوه اجرا در پژوهش‌های موردنظر باشد. همچنین در پژوهش حاضر از ترکیب لیگاسیون عصب نخاعی و تمرین مقاومتی و ترکیبی با شدت و بار متوسط استفاده شده است که این شیوه تمرینی ممکن است نتواند مسیرهای آتروژنیک سلولی مانند کاهش بیان ژن‌های Murf-1 و MAFbx را مهار کند (۳۶)؛ از طرف دیگر گزارش شده است که تمرین می‌تواند شاخص‌های اتوفازیک را در عضلات اسکلتی افزایش دهد (۳۷). تحقیقات دیگر نیز تأیید می‌کنند که دویدن با شدت ۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه سبب افزایش بیان ژن MAFbx در موش‌های تمرین‌کرده می‌شود (۳۸) و دلیل افزایش این لیگاز ممکن است پاسخ سازگاری به تمرین استقامتی باشد. همچنین عنوان شده است که سیگنال‌های داخل سلولی ناشی از تمرین به تنظیم مجدد نشانگرهای مولکولی مسیر یوبیکوئیتین پروتئازوم منجر می‌شود که با افزایش بیشتر در پی تمرین استقامتی همراه است (۳۹).

نشان داده شده است که تمرین مقاومتی از طریق کاهش یا عدم افزایش بیان ژن‌های MuRF1، FOXO و MAFbx، از آتروفی عضلانی در دوره بی‌حرکی جلوگیری می‌کند (۴۰). همچنین بیان شده است که با اجرای تمرینات کوتاه‌مدت مقاومتی می‌توان به مقابله با آتروفی ناشی از دیابت در موش‌های دیابتی پرداخت (۴۱). از سوی دیگر، نشان داده شده است که HIIT نمی‌تواند مانع از ایجاد آتروفی در دوره بی‌تمرینی شود (۴۲). در بررسی تأثیر تمرینات مقاومتی و استقامتی بر شاخص‌های آتروفیک عضلانی، عنوان شده است که تمرینات مقاومتی با کاهش بیان ژن‌های MAFbx و MuRF1 از آتروفی عضلانی جلوگیری می‌کند. از سوی دیگر، تمرینات استقامتی سبب افزایش بیان این ژن‌ها شده و در نتیجه به آتروفی در عضلات منجر می‌شود (۴۳). از سازوکارهای مربوط به تمرین مقاومتی که به پیشگیری از آتروفی عضلانی منجر می‌شود، می‌توان به فعال شدن مسیر سیگنالینگ AKT اشاره کرد. همچنین تمرینات مقاومتی تغییری در میزان FoxO1 و FoxO3a ایجاد نمی‌کنند (۴۴). از دیگر مسیرهای رشدی

مرتبط با تمرین مقاومتی می‌توان به IGF-1 اشاره کرد که با استفاده از مسیر سیگنالینگ PI3K-Akt موجب سرکوب و مهار لیگازهای مرتبط با آتروفی عضلانی و به تحریک رشد عضلانی منجر می‌شود (۴۵). اما در پژوهش حاضر ضمن اینکه از تمرینات مقاومتی نیز استفاده شده بود مسیر آتروفیک را احتمالاً به دلیل ناکافی بودن شدت تمرین نتوانسته مهار کند. از طرف دیگر، شدت یا مدت تمرین استقامتی برای القای مسیرهای آتروفیک احتمالاً ناکافی بوده است.

همچنین نشان داده شده است که بیان Murf-1 / MAFbx پس از القای نارسایی قلبی در میوکارد تنظیم افزایشی می‌شود و تمرین استقامتی منظم احتمالاً از طریق عمل ضدالتهابی آن، بیان ژن‌های مرتبط با آتروفی را کاهش می‌دهد (۴۶). افزون‌بر این در بررسی تأثیر تمرینات استقامتی طولانی مدت بر آتروفی عضلانی نشان داده شده است که این شیوه تمرینی می‌تواند از بیان بیش از حد TNF- α و MAFbx در عضلات آتروفی شده جلوگیری کند (۴۷). همچنین نشان داده شده است که تمرینات ورزشی مزمن، اختلالات عملکرد قلب را در موش‌های مبتلا به دیابت نوع یک، حداقل تا حدی از طریق سرکوب فعال‌سازی MST1 کاهش می‌دهد (۴۸). علاوه بر این بیان شده است که مصرف اسید آمینه شاخه‌دار، بیان mRNA MAFbx را کاهش می‌دهد. همچنین این نوع مکمل‌های پروتئینی از افزایش پروتئین تام MuRF-1 در اثر تمرین مقاومتی در هر دو حالت استراحت و ورزش جلوگیری می‌کند (۴۹). با توجه به مواردی که اشاره شد، در مورد تأثیر تمرینات مختلف ورزشی بر بیان شاخص‌های آتروفی عضلانی تفاوت‌هایی وجود دارد. این تفاوت‌ها به نوع، شدت و مدت برنامه تمرینی و همچنین نوع آزمودنی‌های مورد استفاده در پژوهش‌ها بستگی دارد.

در مطالعات رفتاری نشان داده شده است که عوامل تغذیه‌ی عصبی تغییری در آستانه‌ی حرارتی (۵۰) یا در آلوداینیای مکانیکی (۵۰) ایجاد نمی‌کند. با این حال این رویکرد، رهایش ماده P را کاهش می‌دهد و تزریق یک واحد دوز بالای سیستمیک آن موجب ایجاد پردردی مکانیکی، ۲۴ ساعت پس از تزریق می‌شود (۵۱). افزایش عوامل تغذیه‌ی عصبی نیز تأثیری بر افزایش حساسیت گرمایی و لامسه‌ای در موش‌های صحرایی دچار SNL نداشته است (۵۲). در موش‌های صحرایی دچار قطع عصب نخاعی L5، تزریق سیستمیک عوامل تغذیه‌ی عصبی (۵۳) و آنتی‌بادی ضد NT-3 (۵۴) در DRG (Dorsal Root Ganglion) تأثیر کمی بر آلوداینیای داشته است. همچنین گزارش شده است که مهار عوامل تغذیه‌ی عصبی به‌طور اساسی موجب کاهش مدت زمان مربوط به آلوداینیای مکانیکی ناشی از SNL می‌شود (۵۵). تغییرات آزمون‌های رفتاری در تحقیق حاضر در گروه‌هایی که تمرین ورزشی انجام دادند، در مقایسه با گروه شم نشان‌دهنده

افزایش آستانه درد در نتیجه تمرینات ورزشی است. بنابراین، انجام تمرینات ورزشی سبب بهبود درد نروپاتی می‌شود.

با توجه به نقش ژن‌های MST1 و MAFbx در ایجاد آتروفی عضلانی تأثیر لیگاسیون عصب نخاعی پس از یک دوره تمرین مقاومتی و ترکیبی بر بیان این ژن‌ها در عضله پلانتراریس موش‌های صحرایی نر ویستار بررسی شد. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که لیگاسیون عصب نخاعی پس از تمرین مقاومتی و ترکیبی بر بیان ژن MST1 و MAFbx در عضله پلانتراریس تأثیر معناداری ندارد. از طرف دیگر، تغییرات آزمون‌های رفتاری معنادار بود. از این رو پیشنهاد می‌شود از تمرینات ترکیبی و مقاومتی به‌عنوان یک روش غیردارویی در بهبود درد نروپاتی استفاده شود.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی است، بدین‌وسیله از تمامی کسانی که ما را در این پژوهش یاری کردند، تقدیر و تشکر می‌شود. پژوهش حاضر دارای کد اخلاق IR.KMU.REC.1399.190 از دانشگاه علوم پزشکی کرمان است.

منابع و مآخذ

- Hodges, P., et al., Rapid atrophy of the lumbar multifidus follows experimental disc or nerve root injury. *Spine*, 2006. 31(25): p. 2926-2933.
- Burnett, M.G. and E.L. Zager, Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurgical focus*, 2004. 16(5): p. 1-7
- Verhees, K.J., et al., Glycogen synthase kinase-3 β is required for the induction of skeletal muscle atrophy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2011. 301(5): p. C995-C1007.
- Fanzani, A., et al., Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: an update. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 2012. 3(3): p. 163-179.
- Giger, J.M., et al., Rapid muscle atrophy response to unloading: pretranslational processes involving MHC and actin. *Journal of Applied Physiology*, 2009. 107(4): p. 1204-1212.
- Rodriguez, J., et al., Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2014. 71(22): p. 4361-4371.
- Radak, Z., et al., Single bout of exercise eliminates the immobilization-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochemistry international*, 2001. 39(1): p. 33-38.
- Adams, G.R., V.J. Caiozzo, and K.M. Baldwin, Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models. *Journal of applied physiology*, 2003. 95(6): p. 2185-2201.
- Fitts, R.H., D.R. Riley, and J.J. Widrick, Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. *Journal of applied physiology*, 2000. 89(2): p. 823-839.
- Bodine, S.C., et al., Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nature cell biology*, 2001.

- 3(11): p. 1014-1019.
11. Cohen, S., et al., During muscle atrophy, thick, but not thin, filament components are degraded by MuRF1-dependent ubiquitylation. *Journal of Cell Biology*, 2009. 185(6): p. 1083-1095.
 12. Clavel, S., et al., Atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1 are up-regulated in aged rat Tibialis Anterior muscle. *Mechanisms of ageing and development*, 2006. 127(10): p. 794-801.
 13. Gomes, M.D., et al., Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001. 98(25): p. 14440-14445.
 14. Bodine, S.C., et al., Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*, 2001. 294(5547): p. 1704-1708.
 15. Graves, J.D., et al., Both phosphorylation and caspase-mediated cleavage contribute to regulation of the Ste20-like protein kinase Mst1 during CD95/Fas-induced apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 2001. 276(18): p. 14909-14915.
 16. Wei, B., et al., MST1, a key player, in enhancing fast skeletal muscle atrophy. *BMC biology*, 2013. 11(1): p. 1-13.
 17. Sandri, M., et al., Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell*, 2004. 117(3): p. 399-412
 18. Reed, S., et al., Inhibition of IkappaB kinase alpha (IKK α) or IKKbeta (IKK β) plus forkhead box O (Foxo) abolishes skeletal muscle atrophy. *Biochemical and biophysical research communications*, 2011. 405(3): p. 491-496
 19. Treede R-D, Jensen TS, Campbell J, Cruccu G, Dostrovsky J, Griffin J, et al. Neuropathic pain redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*. 2008;70(18):1630-5.
 20. Zaza C, Baine N. Cancer pain and psychosocial factors: a critical review of the literature. *Journal of pain and symptom management*. 2002;24(5):526-42.
 21. Gong W, Johaneck LM, Sluka KA. Spinal Cord Stimulation Reduces Mechanical Hyperalgesia and Restores Physical Activity Levels in Animals with Noninflammatory Muscle Pain in a Frequency-Dependent Manner. *Anesthesia and analgesia*. 2014.
 22. Evans WJ. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. *The American journal of clinical nutrition*. 2010;91(4):1123S-7S.
 23. Daemen M, Kurvers H, Bullens P, Slaaf D, Freling G, Kitslaar P, et al. Motor denervation induces altered muscle fibre type densities and atrophy in a rat model of neuropathic pain. *Neuroscience letters*. 1998;247(2):204-8.
 24. Jakobsen J, Brimijoin S, Sidenius P. Axonal transport in neuropathy. *Muscle & nerve*. 1983;6(2):164-6.
 25. Wei B, Dui W, Liu D, Xing Y, Yuan Z, Ji G. MST1, a key player, in enhancing fast skeletal muscle atrophy. *BMC Biol* 2013;11:12. doi:10.1186/1741-7007-11-12
 26. Lee, S. and R.P. Farrar, Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. *Journal of Exercise physiology online*, 2003. 6(2).
 27. Chae, C.-H. and H.-T. Kim, Forced, moderate-intensity treadmill exercise suppresses apoptosis by increasing the level of NGF and stimulating phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. *Neurochemistry international*, 2009. 55(4): p. 208-213.
 28. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*. 2007;14(6):753-60
 29. Kim, S.H. and J.M. Chung, An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 1992. 50(3): p. 355-363
 30. Hole, K. and A. Tjølsen, Tail Flick Test, in *Encyclopedia of Pain*. 2007, Springer. p. 2392-2395
 31. Pfaffl MW. *JNar*. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. 2001;29(9):e45-e
 32. Kazemi, A. and T. Dahesh, The Effect of 4 Weeks of High Intensity Training on Gene

- Expression of MST1 and MAFbx in EDL Muscle of Aged Mice. 2019
33. KAZEMI, A., M. RAHMATI, and S. MONTAZER, THE EFFECT OF DECREASED ACTIVITY IN THE FORM OF SPINAL CORD LIGATION ON CDK5 EXPRESSION IN SCIATIC NERVE AND BEHAVIORAL TEST OF WISTAR MALE RATS WITH NEUROPATHIC PAIN. 2016.
 34. KAZEMI, A., M. RAHMATI, and A. ZIASISTANI, EFFECTS OF 6 WEEKS DECREASED ACTIVITY IN THE FORM OF NEUROPATHIC PAIN ON SUNDAY DRIVER GENE EXPRESSION IN THE RAT SCIATIC NERVE FIBERS. 2016.
 35. Kazemi, A., The effect of the mechanical unloading of lower limb on MST1 and Atrogin1 gene expression in Plantaris and soleus muscles of Wistar rats. *Journal of Knowledge & Health*, 2018. 13(3): p. 34-4136-
 36. Moradi, Y., F. Zehsaz, and M.A. Nourazar, Concurrent exercise training and Murf-1 and Atrogin-1 gene expression in the vastus lateralis muscle of male Wistar rats. *Apunts Sports Medicine*, 2020. 55(205): p. 21-27
 37. Tam, B., et al., Autophagic adaptation is associated with exercise-induced fibre-type shifting in skeletal muscle. *Acta physiologica*, 2015. 214(2): p. 221-236.
 38. Gonçalves, N.G., et al., Fructose ingestion impairs expression of genes involved in skeletal muscle's adaptive response to aerobic exercise. *Genes & nutrition*, 2017. 12(1): p. 1-12.
 39. Stefanetti, R.J., et al., Regulation of ubiquitin proteasome pathway molecular markers in response to endurance and resistance exercise and training. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2015. 467(7): p. 1523-1537.
 40. Rezaeipour, S., et al., An Investigation of the Effect of Upper Limb Resistance Training after Lower Limb Immobilization on FoxO3a, MuRF1 and MAFbx Gene Expressions of Soleus Muscle in Trained Rats. 2020.
 41. Panahi, S., et al., The effect of 4 weeks resistance training on murf1 gene expression and muscle atrophy in diabetic wistar rats. *Medical J Tabriz Uni Med Sci Health Serv*, 2016. 38(2): p. 6-13.
 42. sheibani, s., et al., The effect of high-intensity training and detraining on FOXO3a/MuRF1 and MAFbx levels in soleus muscle of male rats. *EBNESINA*, 2018. 20(1): p. 31-39.
 43. Moradi, Y., F. Zehsaz, and M.A. Nourazar, Concurrent exercise training and Murf-1 and Atrogin-1 gene expression in the vastus lateralis muscle of male Wistar rats. *Apunts Sports Medicine*, 2020. 55(205): p. 21-27.
 44. Satchek, J.M., et al., IGF-I stimulates muscle growth by suppressing protein breakdown and expression of atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2004. 287(4): p. E591-E601
 45. Xu, M., et al., FoxO1: a novel insight into its molecular mechanisms in the regulation of skeletal muscle differentiation and fiber type specification. *Oncotarget*, 2017. 8(6): p. 10662.
 46. Adams, V., et al., Modulation of Murf-1 and MAFbx expression in the myocardium by physical exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*, 2008. 15(3): p. 293-299.
 47. Al-Nassan, S., et al., Chronic exercise training down-regulates TNF- α and atrogin-1/MAFbx in mouse gastrocnemius muscle atrophy induced by hindlimb unloading. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 2012. 45(6): p. 343-349.
 48. Zhao, H.-X., et al., Exercise training suppresses Mst1 activation and attenuates myocardial dysfunction in mice with type 1 diabetes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2020(ja)
 49. Borgenvik, M., W. Apró, and E. Blomstrand, Intake of branched-chain amino acids influences the levels of MAFbx mRNA and MuRF-1 total protein in resting and exercising human muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2012. 302(5): p. E510-E521.
 50. Malcangio M, Ramer MS, Boucher TJ, McMahon SB. Intrathecally injected

-
- neurotrophins and the release of substance P from the rat isolated spinal cord. *Eur J Neurosci* 2000; 12(1): 139-44.
51. Malcangio M, Garrett NE, Cruwys S, Tomlinson DR. Nerve growth factor-and neurotrophin-3-induced changes in nociceptive threshold and the release of substance P from the rat isolated spinal cord. *J Neurosci* 1997; 17(21): 8459-67.
 52. Boucher TJ, Okuse K, Bennett DL, Munson JB, Wood JN, McMahon SB. Potent analgesic effects of GDNF in neuropathic pain states. *Science* 2000; 290(5489): 124-7.
 53. Deng Y-S, Zhong J-H, Zhou X-F. Effects of endogenous neurotrophins on sympathetic sprouting in the dorsal root ganglia and allodynia following spinal nerve injury. *Exp Neurol* 2000; 164(2): 344-50.
 54. Zhou XF, Deng YS, Xian C, Zhong JH. Neurotrophins from dorsal root ganglia trigger allodynia after spinal nerve injury in rats. *Eur J Neurosci* 2000; 12(1): 100-5.
 55. White DM. Neurotrophin-3 antisense oligonucleotide attenuates nerve injury-induced A β -fibre sprouting. *Brain Res* 2000; 885(1): 79-86.

The effect of two training model on the MST1 and MAFbx genes expression in Plantaris muscle and behavioral tests in male Wistar rats before decreased activity by SNL

Abdolreza Kazemi *¹ - Asma Moghadam ²

1. Associate Prof, Department of Physical Education, Faculty of Letters and Humanities, Vali E Asr University, Rafsanjan, Iran 2. MSc, Department of Exercise Physiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran, Physiology Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

(Received: ; Accepted:)

Abstract

Neuromuscular dysfunction with reduced physical activity has significant consequences for muscle function. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effect of resistance and combined training on the MST1 and MAFbx genes expression in Plantaris muscle and behavioral tests in male Wistar rats before decreased physical activity by SNL. 24 8-week-old male rats with the mean weight of 250 ± 20 g were randomly assigned into 3 groups: 1) Sham-Spinal Nerve Ligation (Sham-SNL), 2) Resistance Training-Spinal Nerve Ligation (SNL-S), 3) Combined training-Spinal Nerve Ligation (SNL-CO). In 3 groups, three branches of the sciatic nerve of rats were tightly tied after of the end of training protocol. The duration of the SNL protocol was 4 weeks. At the end of the protocol, Plantaris muscle was extracted. Real-Time PCR was used to measure the mRNA expression of the genes. MST1 and MAFbx gene expression in the Sham-SNL group was non-significantly higher than the training groups ($P < 0.05$). On the other hand, the results of one-way ANOVA test and Tukey test showed that there is a significant difference in hyperalgesia and mechanical allodynia test between Sham-SNL group and training groups ($P < 0.05$). Based on the significant changes in behavioral tests in the training groups group compared to the Sham-SNL, it can be claimed that resistance and combination training can be useful for improving neuropathic pain.

Key words

Behavioral tests, Combined and resistance training, SNL, MST1, MAFbx.

* Corresponding Author : Email :a.Kazemi@vru.ac.ir; Tel: 03431312335

