

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

بیان MyoD و MSTN 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 نژاد ویستار بود. ۳۰ موش به سه گروه تقسیم شدند: کنترل (۶ سر)، غیرورزیده (۱۲ سر) و ورزیده (۱۲ سر). تمرین مقاومتی شامل بالابردن وزنه روی نردبان بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی هر دو گروه غیرورزیده و ورزیده یک جلسه تمرین مقاومتی وامانده‌ساز را انجام دادند و ۳ و ۶ ساعت بعد قربانی شدند. بیان مایوستاتین و MyoD در نعلی و خم‌کننده دراز شست با تکنیک Real time – PCR اندازه‌گیری و داده‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شدند. تفاوت‌ها با t-test زوجی و مستقل تعیین شدند. بیان myoD ۳، و ۶ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در نعلی نسبت به گروه کنترل، در گروه ورزیده به ترتیب ۱/۵۴ برابر کاهش و ۱/۰۷ برابر افزایش و در گروه غیرورزیده ۲/۸۶ و ۴ برابر کاهش یافت. بیان myoD ۳، و ۶ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در خم‌کننده دراز شست نسبت به گروه کنترل، در گروه ورزیده به ترتیب ۷۰ و ۳۳۹ برابر و در گروه غیرورزیده ۱۹۳ و ۲۰۶ برابر افزایش یافت. در بررسی بیان مایوستاتین ۶ و ۳ ساعت پس از تمرین در نعلی، در گروه ورزیده داده‌ای یافت نشد و در گروه غیرورزیده ۳ ساعت پس از یک جلسه تمرین نسبت به گروه کنترل ۸۵۴ برابر کاهش یافت و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین داده‌ای یافت نشد. بیان مایوستاتین ۳ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در خم‌کننده دراز شست نسبت به گروه کنترل، در گروه ورزیده به ترتیب ۱۵/۸۷ و ۱/۳۹ برابر کاهش و در گروه غیرورزیده ۵۹ و ۱۵۱ برابر افزایش یافت. یافته‌ها، پاسخ‌های متفاوت مایوستاتین و MyoD را به یک جلسه تمرین وامانده‌ساز مقاومتی در عضلات تند و کند موش‌های ورزیده و غیرورزیده آشکار می‌سازد.

واژه‌های کلیدی

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

مقدمه

خانواده MRF شامل myoD، Myogenin، Myf5 و MRF4 می‌شود. myoD یکی از اولین مارکرهای الزامی در عضله‌زایی و یک پروتئین با نقش کلیدی در تنظیم تمایز عضله است (۱،۳). myoD به خانواده پروتئین‌هایی که به عنوان عوامل تنظیم‌کننده عضله‌زایی^۱ شناخته می‌شوند، تعلق دارد. این فاکتورهای رونویسی به صورت پی‌درپی در تمایز عضله‌زایی شرکت می‌کنند (۱،۲،۴). این فاکتور در سلول‌های ماهواره‌ای فعال بیان می‌شود ولی در سلول‌های ماهواره‌ای خاموش بیان نمی‌شود (۳،۱). سطوح mRNA این پپتاید بین عضلات کند و تند متفاوت است که این نکته نشان می‌دهد که MyoD ممکن است جنبه‌هایی از نوع فیبر را تنظیم کند. نشان داده شده که پروتئین‌های MyoD طی تکوین به هسته فیبرهای نوع تندتر در عضلات تند محدود می‌شود (۵).

مایواستاتین (MSTN) عضوی از زیرمجموعه $TGF \beta$ است که به خوبی بین گونه‌ها حفظ شده و یک تنظیم‌کننده منفی قوی برای توده عضلانی است (۶،۷). این ژن مورد توجه ویژه‌ای است، زیرا دیده شده که MSTN تأثیراتی عمیق بر روی عضلانی شدن چهارپایان، موش، انسان و دیگر حیوانات دارد. MSTN، به 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 افزایش در توده عضله نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. به علاوه 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، آسیب‌های ورزشی، بیماری‌های انحطاط اعصاب، آتروفی‌های ناشی از عدم تحرک، استراحت در رختخواب یا بی‌وزنی و دیابت میلیتوس است (۱۰،۱۱).

این شرایط، در کاهش توده عضلات و کاهش قدرت و عملکرد نقش دارند و همچنین می‌توانند به ناتوانی و در موارد زیادی مرگ منجر شوند که اغلب به دلیل نتیجه مستقیم یا غیرمستقیم کاهش قدرت و توده 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).

تمرین مقاومتی فزاینده، توده 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 برنامه 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 تأثیرات 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 ویژه عضله‌زایی مانند MyoD و ژن مهارکننده عضله‌زایی MSTN از آتروفی و هایپرتروفی تأثیر گرفته‌اند، تمرین مقاومتی برای این تحقیق در نظر گرفته شد. عضله 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 (خم‌کننده دراز شست) و SOL (نعلی) به یک جلسه تمرین مقاومتی، از نظر بیان myoD و MSTN است.

روش تحقیق

نگهداری از حیوانات، تمرین مقاومتی و تهیه بافت‌ها

۳۰ سر موش صحرایی ۲ ماهه نر با وزن 15 ± 27.0 از مرکز حیوانات رازی تهیه و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: کنترل (۶ سر)، تمرین یک جلسه‌ای (غیرورزشیده، ۱۲ سر) و تمرین دوره‌ای (ورزشیده، 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 جلسه تمرینی و ۶ سر باقیمانده ۶ ساعت پس از آخرین جلسه 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 وزنه الحاقی را لیفت می‌کردند (۱۴). گروه تمرین ۸ هفته‌ای (ورزیده) ۴ روز آشناسازی داشتند و پس از ۷۲ ساعت استراحت تمرین آنها شروع شد. وزنه 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 هفته اول تا چهارم، هر هفته ۳۰ درصد وزن بدن و در چهار هفته 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 جلسه 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 ست‌ها ۴ دقیقه استراحت و بین تکرارها ۳۰ تا ۴۵ ثانیه استراحت لحاظ شد. آخرین جلسه تمرین هر دو گروه تا حد وامانده‌سازی پیش رفت. تمام گروه‌ها در ۳ روز پی‌درپی در بعدازظهر و با استفاده از تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین ($100 \text{ mg/kg body wt}$) و زایلازین (10 mg/kg) قربانی شدند. بعد از تشریح، بافت‌ها به سرعت در نیتروژن مایع منجمد و بعد از آن در دمای -80 درجه برای مراحل بعدی تحقیق نگهداری شدند.

استخراج RNA

استخراج RNA با استفاده از 50 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 شده ۲ میکرو لیتر از محصول استخراج را به حجم ۱۰۰ میکرو لیتر رسانده شده و جذب آن در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ nm اندازه گیری شد ، نسبت مقدار جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۷ تا ۲/۳ بود .

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

برای ساختن cDNA از آنزیم (Fermentase) Mo-MLV استفاده شد. به این منظور ۵ میکروگرم از محصول RNA ی مذکور براساس دستور شرکت سازنده برداشته شده و طی مراحل زیر از آنها cDNA ساخته شد : ۵ میکروگرم RNA با ۰/۲ میکروگرم راندوم هگزامر مخلوط و با آب DEPC خورده به حجم ۲۰ میکرو لیتر رسانده شد. مخلوط مذکور در ۷۰ درجه برای ۵ دقیقه انکوبه و سپس بلافاصله بر روی یخ منتقل شد تا ساختارهای ثانویه RNA از هم باز شوند و فرصت کافی برای ساخته شدن مجدد نداشته باشند .به مخلوط بافر X ۵ به میزان ۶ میکرو لیتر، ۱۰dNTP Mm به میزان ۳ میکرو لیتر و سپس به آن ۲۰۰ واحد آنزیم RT اضافه شد. حجم کل به ۳۰ میکرو لیتر رسانده شد. مخلوط ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵ درجه و ۱۵ دقیقه ۳۷ درجه و سپس به مدت ۴۵ دقیقه در ۴۲ درجه سانتی گراد و ۱۰ دقیقه در ۷۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. محصول cDNA به دست آمده در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد (۱۲).

پرایمرها: در این تحقیق پرایمرها برای بررسی سطح بیان *myoD*، *mRNA* و *MSTN* به همراه *RPL26* ژن *House keeping* با $TM \sim 60$ و سایز بین ۱۰۰ تا ۱۵۰ جفت باز طراحی شدند که مشخصات آنها در جدول ۱ آورده شده است. برای Real Time-PCR از SYBR Green شرکت fermentase آلمان 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	ACTTCTAAAAAAGGGATTACAGC
Rat-Rpl26	NM_001105788.1	GAAGTTCAGGTTGTTTCGAGG	GGACAGTTGTGCCGTTAGC

روش‌های آماری

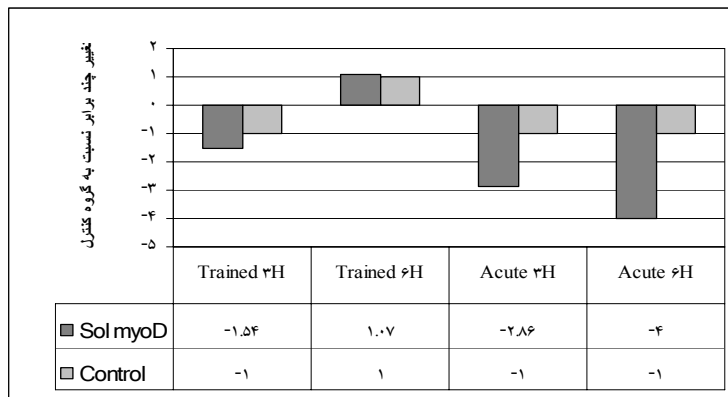
در این تحقیق C_t های واکنش Real time به وسیله نرم افزار دستگاه (Rotor-Gene 6) Real-time PCR استخراج و ثبت شد. در نهایت اختلاف بیان MyoD و MSTN در گروه های تمرینی با گروه کنترل با فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ، به وسیله نرم افزار Microsoft Excel محاسبه شد.

برای بقیه عملیات آماری از نرم افزار SPSS استفاده شد. به منظور بررسی نرمال بودن توزیع متغیرها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون‌های پارامتری استفاده شد. همچنین به وسیله t-Test زوجی و مستقل مقایسه بیان هر یک از فاکتورها بین عضلات کند و تند و همچنین بین ۳ و ۶ ساعت در گروه‌های مختلف انجام گرفت و p value نیز ($p < 0.05$) گزارش شد.

نتایج و یافته های تحقیق

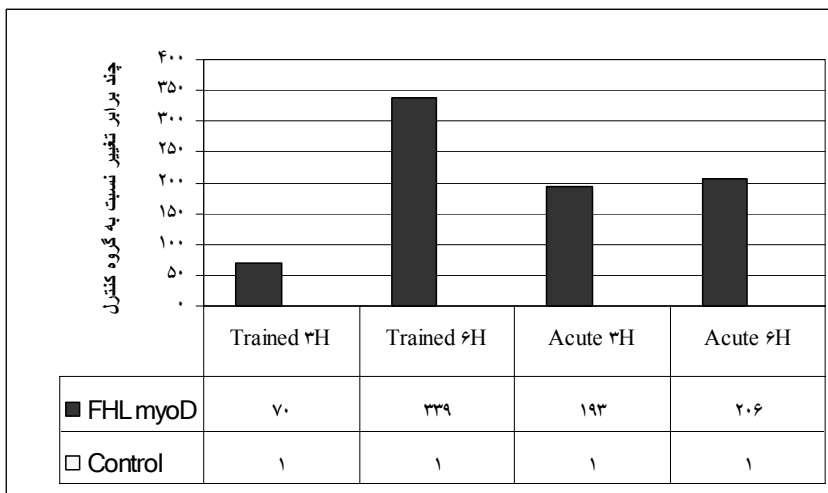
سطح بیان myoD در عضله Sol و FHL

سطح بیان myoD ۳۰ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه ۸ هفته (گروه ورزشیده) در عضله 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 غیرورزشیده) ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین در عضله 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 عضله Sol نسبت به گروه کنترل

سطح بیان myoD، ۳ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه ۸ هفته در عضله FHL نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۷۰ و ۳۳۹ برابر افزایش یافت. سطح بیان myoD در گروه یک جلسه ۶۳ ساعت پس از تمرین در عضله FHL نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۱۹۳ و ۲۰۶ برابر افزایش یافت (جدول ۲ و شکل ۲).

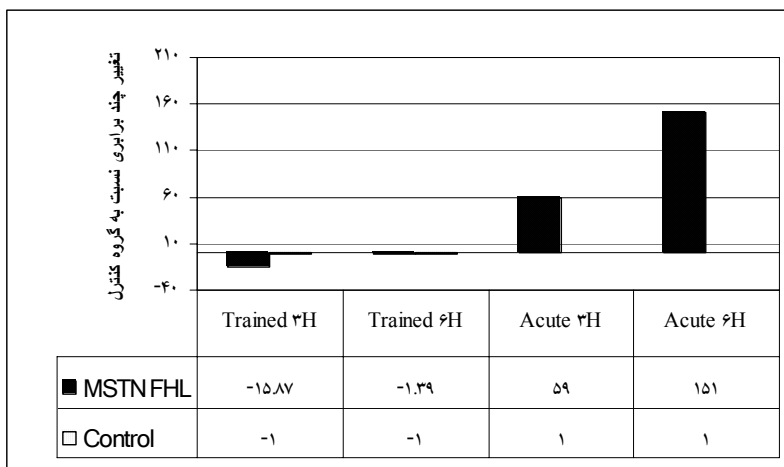


شکل ۲- تغییر چند برابری سطح بیان myoD در عضله FHL نسبت به گروه کنترل

سطح بیان MSTN در عضله Sol و FHL

در بررسی سطح بیان MSTN در گروه ۸ هفته (گروه ورزشیده) ۶ و ۳ ساعت پس از تمرین در عضله Sol داده‌ای یافت نشد (تا سیکل ۴۰). سطح بیان MSTN در گروه یک جلسه (گروه غیرورزشیده) ۳ ساعت پس از یک جلسه تمرین در عضله Sol نسبت به گروه کنترل ۸۳۳ برابر کاهش یافت و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین در عضله Sol داده‌ای یافت نشد (تا سیکل ۴۰).

سطح بیان MSTN، ۳ و ۶ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه ۸ هفته در عضله FHL نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۱۵/۸۷ و ۱/۳۹ برابر کاهش و سطح بیان MSTN در گروه یک جلسه ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین در عضله FHL نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۵۹ و ۱۵۱ برابر افزایش یافت (جدول ۲ و شکل ۳).



شکل ۳ - تغییر چندبرابری سطح بیان MSTN در عضله FHL نسبت به گروه کنترل

تغییرات بیان myoD

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

مقایسه بیان myoD در بین گروه‌ها

براساس t-test در عضله 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 تفاوت معنی‌دار ($P < 0.01$) بود. سطح بیان myoD ۶ ساعت پس از تمرین در گروه ۸ هفته افزایش بیان بیشتری نسبت به گروه یک جلسه تمرین مقاومتی داشت. روند بیان myoD در عضله Sol، در گروه تمرین یک جلسه‌ای از لحظه ۳ به ۶ رو به کاهش و در گروه ۸ هفته رو به افزایش بود که هیچ‌کدام معنی‌دار نبودند.

براساس t-test در عضله FHL بین گروه یک جلسه و ۸ هفته در ۳ ساعت بعد از تمرین سطح بیان myoD تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) وجود داشت و سطح بیان myoD در گروه یک جلسه‌ای نسبت به گروه ۸ هفته افزایش بیان بیشتری داشت. در عضله FHL بین گروه یک جلسه و ۸ هفته در ۶ ساعت بعد از تمرین در سطح بیان myoD تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

مقایسه بیان myoD در زمان‌های متفاوت

براساس t-test بیان myoD در عضله کند، از لحظه ۳ ساعت به ۶ ساعت پس از تمرین یک جلسه‌ای رو به کاهش و پس از تمرین دورهای رو به افزایش بود که هیچ‌کدام معنی‌دار نبودند. همچنین بیان myoD در عضله FHL، در هر دو گروه تمرین یک جلسه‌ای و ۸ هفته از لحظه ۳ ساعت به ۶ ساعت رو به افزایش بود، البته تنها در گروه ۸ هفته این افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) بود.

مقایسه بیان myoD در عضلات

۳ ساعت پس از تمرین مقاومتی یک جلسه‌ای براساس t-test بین سطح بیان myoD در عضله Sol و FHL اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) وجود داشت و درحالی‌که سطح بیان myoD پس از تمرین در عضله ی Sol کاهش بیان یافت، در عضله FHL افزایش بیان پیدا کرد. ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی یک جلسه‌ای براساس t-test بین سطح بیان myoD در عضله Sol و FHL اختلاف معنی‌داری ($P < 0/01$) وجود داشت و درحالی‌که سطح بیان myoD پس از تمرین در عضله Sol کاهش بیان یافت، در عضله FHL افزایش یافت.

براساس t-test در مورد گروه ۸ هفته تنها در ۶ ساعت پس از تمرین بین عضله Sol و FHL در بیان myoD اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) وجود داشت به نحوی که سطح بیان myoD، ۶ ساعت پس از تمرین در عضله Sol کاهش بیان و در عضله FHL افزایش یافت.

تغییرات MSTN

در عضله 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 جلسه‌ای ۳ ساعت پس از تمرین در عضله Sol کاهش ۸۵۴ برابری مشاهده شد. در عضله FHL در گروه یک جلسه افزایش بیان چشمگیر MSTN نسبت به گروه کنترل و در گروه تمرین ۸ هفته کاهش بیان جزئی مشاهده شد (جدول ۲).

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

گروه‌ها	ورزیده				غیرورزیده			
	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±۰/۴۲
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 و کند گروه‌های تمرین کرده و تمرین نکرده و در دو زمان مختلف بود. برای ورود به بحث، یادآوری این نکته لازم است که تمرین مقاومتی با افزایش تدریجی توده عضلانی قدرت آن را افزایش می‌دهد و منجر به افزایش مقطع عرضی فیبر عضلات به ویژه در پروتئین‌های میو فیبریل اکتین و میوزین منجر می‌شود و یکی از مؤثرترین راه‌های هایپر تروفی و تغییر در ترکیب بدن می‌باشد (۱۲، ۱۳، ۱۵).

مهم‌ترین یافته 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. سطح MyoD 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^۱ و همکاران نشان داد که در جوندگان myoD به طور عمده در فیبر عضلانی FHL بیان می‌شود و با توجه به هایپر تروفی که از طریق تمرین مقاومتی ایجاد می‌شود و افزایش بیان آن در عضله FHL در تحقیق حاضر پیش‌بینی می‌شود که myoD نقش عمده‌ای در ایجاد سازگاری‌های ناشی از تمرین ایفا کند (۵). در تحقیق حاضر بیان myoD در عضله FHL به شکل بارز افزایش نشان داد که این یافته با یافته‌های پیشین همخوانی دارد و می‌تواند توجیه‌کننده سازگاری تمرینی در این عضله تندانقباض باشد (۱۶). ولی نکات مهم تری که از نتایج تحقیق حاضر استنباط می‌شود، این است که ظاهراً در پی ورزشی عضلات، نقش این عامل تعدیل می‌شود، چرا که در پی یک جلسه کار مقاومتی و امانده ساز، عضله تندانقباض افزایش کمتری از بیان MyoD mRNA را نشان می‌دهد، به نحوی که در شش ساعت پس از یک جلسه تمرین، گروه ورزشیده و غیرورزشیده تقریباً پاسخ مشابهی ارائه کرده‌اند. شاید بتوان فرض کرد که این عامل در مراحل ابتدایی از سازگاری عضله تند به تمرین مقاومتی سهم بیشتر و نقش مهم‌تری دارد.

پسیلایدر و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که پس از تمرین مقاومتی با شدت زیاد سطح بیان mRNA فاکتورهایی چون MyoD در عضله پهن جانبی افزایش می‌یابد و این اشاره به این دارد که ممکن است این ژن‌ها در تنظیم هایپرتروفی درگیر باشند. بیان myoD mRNA بلافاصله پس از تمرین مقاومتی تا حدود ۱۱۰ درصد افزایش یافت، ولی پس از یک ساعت به سطح اولیه خود بازگشت (۲۰). این در حالی است که در پژوهش حاضر سطح بیان myoD مخالف با نتایج پسیلایدر در ۳ و ۶ ساعت بعد از تمرین بالا بود.

در پژوهشی موافق با مطالعه حاضر، درآموند و همکاران عوامل میوزینیک در پاسخ به شدت تمرین مقاومتی در عضله 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 ناحیه تند عضله چهارسر ران ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تمرین از آنها گرفته شد. مشاهده شد که MyoD mRNA در ۶ و ۱۲ ساعت پس از تمرین با شدت کم و ۱۲ ساعت پس از تمرین با شدت زیاد افزایش یافت، در ناحیه کند عضله چهارسر ران تغییری مشاهده نشد. آنها نتیجه گرفتند که تمرین مقاومتی سبک می‌تواند سطح بیان MyoD را در عضله چهارسر ران ناحیه تند فعال‌سازی کند، ولی زمانی که تمرین دوبرابر می‌شود، این پاسخ‌ها احتمالاً تاخیری است و کم می‌شود 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. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، زمانبندی تاثیر MyoD محل مناقشه و نیازمند بررسی بیشتر است.

پوله^۱ و همکاران در مطالعه‌ای در توفیق با پژوهش حاضر به بررسی بیان MyoD پس از چهار جلسه تمرین مقاومتی پرداختند. بایوپسی‌هایی در لحظه زمانی پس از تمرین اول، ۴۸ ساعت پس از تمرین اول و دوم و ۲۴ ساعت پس از تمرین سوم از عضله پهن جانبی از مردان پیر و جوان گرفته شد. در نهایت مشاهده شد که تنها در

لحظه 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 بیان MyoD و MSTN mRNA پس از تمرینات درونگرا و برونگرا بررسی کردند. ۳ بایوپسی از عضله پهن جانبی از پای تمرین کرده در ابتدا، ۸ ساعت پس از اولین تمرین و آخرین بایوپسی نیز ۸ ساعت پس از هفتمین و آخرین جلسه 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 بیشینه درونگرا و برونگرا به‌طور معنی‌داری بیان MyoD و MSTN mRNA را تغییر نداده است (۲۳). زمان گرفتن بایوپسی‌ها، عضله و گونه نمونه‌های مورد بررسی در تحقیق اسکوریز با تحقیق حاضر متفاوت است که این خود می‌تواند عاملی برای این اختلاف باشد. البته تغییرات MyoD در عضله 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 عضله Sol، ۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین مقاومتی و همچنین پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی کاهش چشم‌گیری داشت در حالیکه در عضله FHL در گروه یک جلسه ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین افزایش بیان یافت.

در تحقیقی متفاوت الریکا^۱ 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 عضله پهن جانبی سطح MSTN mRNA در حالت استراحت در افراد جوان کمتر از افراد پیر است. در لحظه 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^۲ و همکاران نیز اثر MSTN را روی نوع فیبر عضله موش‌های بالغ بررسی و گزارش کردند که با ناک اوت کردن ژن MSTN در عضله Sol و EDL^۳ 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 کردن MSTN در عضله EDL فیبرهای گلیکولیتیک نسبت به گروه کنترل افزایش و فیبرهای اکسیداتیو نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (۱۸).

درآمووند و همکاران گزارش کردند که بیان MSTN با تمرین مقاومتی در عضله کند سرکوب می‌شود. تمرین مقاومتی طولانی مدت سطح MSTN را در جوندگان و انسان کاهش می‌دهد (۱۸).

با توجه به مطالعات ذکرشده و نتایج تحقیق حاضر که کاهش چشمگیر سطح بیان MSTN در عضله Sol را نشان داد، این کاهش بیان MSTN به وسیله تمرین مقاومتی احتمالاً حاکی از تمایل به تغییر عضله Sol 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 به دلیل سن کم نمونه‌ها و جلسه سنگین تمرین (تا حد واماندگی) قبل از قربانی کردن باشد (۷، ۱۷، ۱۹). اما نکته اساسی این است که تاثیر تمرین حاضر بر هر دو عضله از نظر تغییرات کاهشی MSTN منطقی به نظر می‌رسد الا در گروه یک جلسه‌ای و در عضله FHL که با افزایش MSTN مواجهیم، در این زمینه، هنریک مسچر^۱ 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 و MuRF-1 پس از جلسه دوم تمرین حدود ۳۰ درصد کمتر از زمان مشابه پس از جلسه اول تمرین است. از این رو احتمال می‌رود که افزایش بیان MSTN در گروه یک جلسه در عضله 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 برنامه تمرینی تحقیق حاضر توانسته سازگاری را در عضله تند انقباض 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.

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

منابع و مأخذ

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. Ophélie Philipot, Véronique Joliot, Ouardia Ait-Mohamed, Céline Pellentz, Philippe Robin. (2010). "The Core Binding Factor CBF Negatively Regulates Skeletal Muscle Terminal Differentiation". *PLoS ONE.*

14. Pascal stuelsaz ,Frédéric paizoulet , 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 Whitemore . (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.