

Research Paper



Effect of Reduced Physical Activity on Murf-1 and Atrogin-1 Gene Expression in Soleus Muscle of Wistar Rats Following Endurance, Resistance and Combined Training

Mehdi Madahi¹ , *Reza Gharakhanlou² , Abdolreza Kazemi³ , Mohammad Ali Azarbayjani¹

1. Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Sports Physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3. Department of Sport Sciences, Faculty of the Literature and Humanities, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Kerman Province, Iran.



Citation Madahi M, Gharakhanlou R, Kazemi A, Azarbayjani M A. [Effect of Reduced Physical Activity on Murf-1 and Atrogin-1 Gene Expression in Soleus Muscle of Wistar Rats Following Endurance, Resistance and Combined Training (Persian)]. *Scientific Journal of Rehabilitation Medicine*. 2022; 11(2):250-263. <https://dx.doi.org/10.32598/SJRM.11.2.9>

<https://dx.doi.org/10.32598/SJRM.11.2.9>



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

ABSTRACT

Background and Aims Understanding the involved mechanisms in muscle atrophy can help develop new treatment methods for atrophic conditions. Skeletal muscle atrophy via biochemical and transcriptional pathways can increase the expression of some muscle atrophy related genes. The present study aims to assess the effect of reduced physical activity by the spinal nerve ligation (SNL) after a period of resistance, endurance and combined exercises on the expression of MuRF-1 and Atrogin-1 genes in male rats.

Methods In this experimental study, 30 male Wistar rats were randomly divided into four groups: Control+SNL, combined exercise+SNL, endurance exercise+SNL, and resistance training+SNL. The exercises were performed for six weeks. After this period, the protocol of reduced physical activity by the SNL was implemented for four weeks. At the end, soleus muscle was isolated and the expression levels of MuRF-1 and Atrogin-1 genes were measured by real-time polymerase chain reaction technique. To examine the gene expression differences between the groups, analysis of variance and Tukey's post hoc test were used. The significant level was set at 0.05.

Results The results showed that the expression of MuRF-1 gene in the combined exercise+SNL and resistance training+SNL groups was significantly lower than in the control group ($P<0.05$). The Atrogin-1 gene expression was significantly reduced only in the combined exercise+SNL group compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion It seems that the rats with resistance training are more resistant to SNL-induced atrophy than the group with endurance exercise.

Keywords Physical activity, Resistance training, Endurance exercise, MuRF-1, Atrogin-1

Received: 02 Oct 2020

Accepted: 30 Dec 2020

Available Online: 22 May 2022

*** Corresponding Author:**

Reza Gharakhanlou, PhD.

Address: Department of Sports Physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Tel: +98 (912) 3279536

E-Mail: ghara-re@modares.ac.ir

Extended Abstract

Introduction

Muscle atrophy can be due to the lack of physical activity for a long time. Some factors such as gravity-free environments, decreased blood flow in the tissues, poor nutrition, and denervation of a muscle attribute to muscle atrophy. Muscle atrophy occurs when protein degradation exceeds protein synthesis. Muscle atrophy can lead to poor quality of life, inability to perform daily tasks, and fatigue as well as some diseases such as osteoporosis and diabetes. Research evidence suggests that a number of events occur in skeletal muscles to maintain a pure protein balance. Skeletal muscles have a very high plasticity in response to mechanical loads. Mechanical unloading in rodents has been shown to reduce muscle mass, cross-sectional area of myofibrils, and force generation. Hence, understanding the involved mechanisms in muscle atrophy can help develop new treatment methods to deal with muscle atrophy.

Skeletal muscles atrophy via biochemical and transcriptional pathways increases to the expression of some genes called atrogene. These genes are for the ubiquitin-proteasome system that provide a mechanism for the selective degradation of regulatory and structural proteins. Although the major pathways of protein degradation are mediated by calpains, caspases, autophagy-lysosomal pathways, and the ubiquitin-proteasome pathway, the protein degradation by the ubiquitin-proteasome system plays an important role in muscle atrophy. In muscle atrophy, the MuRF1 and MAFbx (Atrogin-1) genes have been reported to be up-regulated in animal and human models. These genes encode ubiquitin E3 ligases. It seems that rats without MuRF-1 Atrogin-1 are phenotypically similar to their normal peers; however, after denervation, these animals show little self-protection to muscle atrophy. Transcription factor FOXO3a can bind to DNA sequences in the promoter region of Atrogin-1 and Bnip3. Activation of these genes by FOXO3a, along with other myogenic factors, causes the onset of muscle atrophy.

Studies have shown that eight weeks of resistance training with an intensity of 85-95% 1RM can increase the expression of MuRF-1 and Atrogin-1 in the hypertrophic phase, but reduces it in the atrophic phase. On the other hand, it has been shown that after 3 months of resistance training, the expression of MuRF-1 and Atrogin-1 decreased. Furthermore, one session of resistance training for 10 weeks compared to endurance training has been reported to increase MuRF-1 and Atrogin-1 expression.

Based on this, the regulation of MuRF-1 and Atrogin-1 genes seems to be dependent on the type and intensity of exercise. Overall, based on these findings, it can be said that the MuRF-1 and Atrogin-1 genes are valid markers for muscle atrophy. However, comprehensive information is not available about the effects of reduced physical activity after exercise on the muscle atrophy.

The method of reducing physical activity by the spinal nerve ligation (SNL) causes muscle atrophy, reduces muscle mass, and possibly affects the expression of genes involved in muscle atrophy. The present study aims to assess the effect of reduced physical activity by SNL after a period of resistance, endurance and combined exercises on the expression of MuRF-1 and Atrogin-1 genes in the soleus muscle of Wistar rats. The questions are whether the MuRF-1 and Atrogin-1 have a role in the inactivity period, and whether exercise-induced adaptation can be effective in preventing or reducing muscle atrophy caused by reduced physical activity.

Materials and Methods

In the current experimental study, 30 male Wistar rats were randomly divided into four groups: Control + SNL, combined exercise + SNL, endurance exercise + SNL, and resistance training + SNL. The exercises were performed for six weeks. The endurance exercise was performed at moderate intensity (60-70% of VO₂ max) on a treadmill for six weeks, four sessions per week. For resistance training, the animals climb a one-meter ladder with a slope of 85 degrees while the weights were attached to the animals' tail by a cylinder. This training was performed for six weeks. The resistance training sessions were held in the morning (9 o'clock) and in the evening (2 o'clock) once every three days. Rats performed three sets with five repetitions in each session. The rest interval was two minutes between sets and one minute between repetitions. If necessary, an electric shock (0.2-0.3 mA) was used to stimulate the rats to climb the ladder. In the first week, 50% of the animals' body weight was used with a gradual increase in the weights during the training program. The combined training program included three weeks of resistance training and three weeks of endurance exercise.

After the training period, the protocol of reduced physical activity by SNL was implemented for four weeks. The SNL is a method that is widely used to study the mechanisms of neuropathic pain and the effect of drugs and pain-related behaviors. To implement this model, the rats were first anesthetized with sodium pentobarbital. Then, their fifth lumbar spinal nerve was tightly ligated according to Kim and Chang's method. At the end of study,

soleus muscle was isolated and the expression levels of the MuRF-1 and Atrogin-1 were measured by real-time polymerase chain reaction technique. To determine the gene expression differences between the groups, analysis of variance and Tukey's post hoc test were used. The significant level was set at 0.05.

Results

The results showed that the expression of MuRF-1 gene in the combined exercise+SNL and resistance training + SNL groups was significantly lower than in control group ($P<0.05$). Moreover, the Atrogin-1 gene expression was significantly reduced only in the combined exercise + SNL group compared to the control group ($P<0.05$).

Discussion

According to the results of the present study, it seems that rats with resistance training were more resistant to SNL-induced atrophy than the group that performed endurance exercise. These results indicate that the resistance training is an important factor in preventing the increased expression of atrophic genes such as MuRF-1 and Atrogin-1 involved in SNL-induced muscle atrophy. Therefore, it the resistance training should be included in the rehabilitation program of patients with reduced physical activity.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

In conducting the research, ethical considerations were considered according to the instructions of the ethics committee of [Kerman University of Medical Sciences](#) and the code of ethics was received under the number IR.KMU.REC.1399.190.

Funding

This article is taken from Mehdi Madaghi's doctoral thesis under the guidance of Reza Karakhanlou and the advice of Mohammad Ali Azarbaijani in the Department of Sports Physiology, [Central Tehran Branch, Islamic Azad University](#), Tehran, Iran.

Authors' contributions

All authors contributed equally in preparing all parts of the research.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors of this research sincerely thank the staff of the Physiology and Neuroscience Research Center of [Kerman University of Medical Sciences](#).

مقاله پژوهشی

تأثیر کاهش فعالیت بدنی بر بیان ژن های مورف-۱ و آتروژین-۱ متعاقب تمرینات ورزشی مختلف

مهدی مداحی^۱، رضا قراخانلو^۲، عبدالرضا کاظمی^۳، محمدعلی آذربایجانی^۱

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۳. گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر، رفسنجان، استان کرمان، ایران.

Use your device to scan
and read the article online

Citation Madahi M, Gharakhanlou R, Kazemi A, Azarbayjani M A. [Effect of Reduced Physical Activity on Murf-1 and Atrogin-1 Gene Expression in Soleus Muscle of Wistar Rats Following Endurance, Resistance and Combined Training (Persian)]. *Scientific Journal of Rehabilitation Medicine*. 2022; 11(2):250-263. <https://dx.doi.org/10.32598/SJRM.11.2.9>

<https://dx.doi.org/10.32598/SJRM.11.2.9>

چکیده



اهداف: امروزه شناخت سازوکارهای درگیر در آتروفی عضلاتی به توسعه روش های درمانی جدید در مورد آن کمک خواهد کرد. عضله اسکلتی در شرایط آتروفی به وسیله مسیرهای بیوشیمیایی و رونویسی به بیان دسته ای از ژن های مرتبط با آتروفی عضلاتی منجر می شود. در پژوهش حاضر، اثر کاهش فعالیت بدنی پس از ۶ هفته تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی بر بیان ژن های مورف-۱ و آتروژین-۱ بررسی شد.

مواد و روش ها: در این تحقیق، ۳۰ سر موش نر صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی (n=۷)، ۲. گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی (n=۷)، ۳. گروه تمرین استقامتی/کاهش فعالیت بدنی (n=۸) و ۴. گروه تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی (n=۸). گروه های تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی، تمرین استقامتی/کاهش فعالیت بدنی و تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی ۶ هفته در برنامه تمرینی مخصوص خود شرکت کردند. شدت تمرین استقامتی بین ۶۰ تا ۷۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود. تمرین مقاومتی به صورت صعود همراه با وزنه از نردبان ۱ متری انجام شد. تمرین ترکیبی نیز تلفیقی از تمرین مقاومتی و استقامتی بود. پس از این مدت، پروتکل کاهش فعالیت بدنی ۴ هفته اجرا شد. در پایان، عضله نعلی استخراج و میزان سطوح بیان ژن های مورد نظر با تکنیک ریل تایم-پی سی آر سنجیده شد.

یافته ها: یافته ها نشان داد میزان بیان ژن مورف-۱ در گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی و گروه تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی به طور معناداری کمتر است ($P < 0.05$). از سوی دیگر، در مورد ژن آتروژین-۱، تنها گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی کاهش معناداری دارد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: به نظر می رسد موش هایی که در برنامه تمرینی آن ها تمرین مقاومتی بود، نسبت به گروهی که تنها تمرین استقامتی انجام دادند در برابر آتروفی ناشی از کاهش فعالیت بدنی مقاومت تر هستند.

کلیدواژه ها: آتروفی عضلاتی، تمرین ورزشی، مورف-۱، آتروژین-۱

تاریخ دریافت: ۱۱ مهر ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۱۰ دی ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۰۱ خرداد ۱۴۰۱

* نویسنده مسئول:

دکتر رضا قراخانلو

نشانی: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم انسانی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: ۳۲۷۹۵۳۶ (۹۱۲) ۹۸+

رایانامه: ghara-re@modares.ac.ir

مقدمه

آتروفی عضلانی ناشی از استفاده نکردن طولانی مدت از عضله و به دلایل مختلفی رخ می دهد. برخی شرایط نظیر محیط های بدون جاذبه، کم شدن جریان خون در بافت ها، تغذیه ناکافی و قطع عصب یک عضله به عنوان دلایل آتروفی عضلانی نام برده شدند [۱]. آتروفی عضلانی زمانی اتفاق می افتد که تخریب پروتئین بیش از سنتز آن باشد. ضعف و آتروفی عضلانی می تواند به کیفیت پایین زندگی منجر شود. همچنین آتروفی عضلانی می تواند باعث ایجاد ناتوانی در انجام کارهای روزانه، خستگی و برخی از بیماری ها نظیر پوکی استخوان و دیابت شود [۲].

عضله اسکلتی با توجه به سطح فعالیت خود از طریق تغییر در توده عضله، بیان پروتئین های عضلانی و تغییر در نوع تار از نظر انقباضی و متابولیک سازگار می شود. شواهد پژوهشی نشان می دهد دسته های از رویدادها در عضله اسکلتی اتفاق می افتد تا بتوانند تعادل خالص پروتئینی را حفظ کنند [۳]. عضله اسکلتی شکل پذیری بسیار بالایی در پاسخ به بارهای مکانیکی دارد. مطالعات نشان داد بی بار کردن مکانیکی در جوندگان موجب کاهش توده عضلانی، سطح مقطع عرضی میوفیبریل ها و تولید نیرو می شود [۳، ۴]. بنابراین شناخت سازوکارهای درگیر در آتروفی عضله به توسعه روش های درمانی جدید برای مقابله با آتروفی عضلانی ناشی از بی تحرکی کمک خواهد کرد.

در آتروفی عضلانی بیان دسته های از ژن ها به نام آتروژن، افزایش می یابد. این ژن ها اجزای سیستم یوبیکوئیتین پروتئازوم هستند که برای تجزیه انتخابی پروتئین های تنظیمی و ساختاری سازوکار فراهم می آورند [۵]. اگرچه مسیرهای اصلی تجزیه پروتئین ها توسط کالپین ها^۱، کاسپیزها^۲، مسیر اتوفاژی لیزوزومی^۳ و مسیر یوبیکوئیتین پروتئازوم^۴ واسطه گری می شود، باین حال تجزیه پروتئین ها به واسطه سیستم یوبیکوئیتین پروتئازوم نقش بسیار مهمی در آتروفی عضلانی دارد [۶].

گزارش شده است که در شرایط مختلف آتروفی عضلانی، ژن های ژن های مورف-۱^۵ و ام ای اف-باکس^۶ (آتروژن-۱)^۷ در مدل های حیوانی و انسانی به صورت افزایشی تنظیم می شوند [۷]. این ژن ها، لیگازهای یوبیکوئیتین E3 را رمزگذاری می کنند، در حالی که در شرایط طبیعی به نظر می رسد موش های صحرایی بدون مورف-۱ و آتروژن-۱ از نظر فنوتیپ با انواع معمولی آن ها یکسان هستند، باین حال بعد از عصب برداری، این حیوانات در مقابل آتروفی عضلانی اندکی از خود محافظت نشان می دهند [۸].

محققان، برخی سازوکارهای آتروفی عضلانی را پیشنهاد دادند. برای مثال، فاکتور رونویسی FOXO3a^۸ می تواند به توالی DNA^۹ در ناحیه پروموتور آتروژن-۱ و بنیپ^{۱۰} متصل شود [۹]. فعال شدن این ژن ها به وسیله FOXO3a، همراه با دیگر فاکتورهای مایوژنیک موجب شروع آتروفی عضلانی می شود [۱۰]. از سوی دیگر، فاکتور شبه رشدی انسولین^{۱۱} از طریق مسیر پروتئین کیناز B-هدف پستانداران راپامایسین^{۱۲} نقش مهمی در سنتز پروتئین های عضلات اسکلتی ایفا می کند [۱۱] و غیرفعال شدن این مسیر می تواند منجر به آتروفی عضلانی شود. همچنین غیرفعال شدن مسیر IGF1-PI3K-AKT با افزایش سطوح آتروژن-۱ و مورف-۱ در ارتباط است [۱۲].

در مورد تأثیر تمرینات مختلف ورزشی بر بیان ژن های آتروژن-۱ و مورف-۱ نتایج متناقضی وجود دارد. نشان داده شده است ۸ هفته تمرین مقاومتی با شدت ۸۵ تا ۹۵ درصد ۱ تکرار بیشینه، میزان مورف-۱ و آتروژن-۱ را در مرحله هایپرتروفی، افزایش، اما در مرحله آتروفی کاهش می دهد [۱۳]. از سوی دیگر، نلوایدی زانچی و همکاران نشان دادند به دنبال ۱ دوره ۳ ماهه تمرین مقاومتی، بیان ژن های مورف-۱ و آتروژن-۱ در گروه تمرین مقاومتی کاهش می یابد [۱۴]. هنریک ماسچر و همکاران در پژوهش خود پس از ۱ جلسه تمرین مقاومتی در بیان اسید ریبونوکلیک پیام رسان^{۱۳} مورف-۱ افزایش معناداری مشاهده کردند. باین حال در پژوهش آن ها در بیان اسید ریبونوکلیک پیام رسان آتروژن-۱ تغییر معناداری دیده نشد [۱۵].

از سوی دیگر، گزارش شده که ۱ جلسه فعالیت استقامتی نسبت به فعالیت مقاومتی، در افرادی که به مدت ۱۰ هفته تحت تمرین (استقامتی یا مقاومتی) بوده اند، بیان پروتئین های مورف-۱ و آتروژن-۱ را افزایش می دهد [۱۶]. براین اساس، به نظر می رسد که تنظیم مورف-۱ و آتروژن-۱ به نوع و شدت تمرین بستگی دارد. در مجموع و با توجه به این یافته ها می توان گفت ژن های مورف-۱ و آتروژن-۱ نشانگرهای معتبری برای آتروفی عضلانی هستند.

باین حال، در زمینه تأثیر کاهش فعالیت بدنی پس از تمرین ورزشی بر میزان آتروفی عضلانی، اطلاعات جامعی در دسترس نیست. روش کاهش فعالیت بدنی به وسیله بستن عصب نخاعی^{۱۴} سبب آتروفی عضلانی و کاهش توده عضلانی می شود [۱۷] و احتمالاً بیان ژن های مؤثر در آتروفی عضلانی را تحت تأثیر قرار می دهد.

8. Forkhead Box O3
9. Deoxyribonucleic acid
10. BCL2/Adenovirus E1B 19 kDa Protein-Interacting Protein 3
11. Insulin-Like Growth Factor- 1(IGF1)
12. Protein kinase B-Mammalian Target of Rapamycin-PKB/AKT-mTOR
13. Messenger ribonucleic acid (mRNA)
14. Spinal Nerve Ligation (SNL)

1. Calpains
2. Caspase
3. Autophagy Lysosome
4. Ubiquitin Proteasome Pathway
5. Muscle RING-finger protein-1
6. Muscle atrophy F-box
7. Atrogin-1

پروتکل تمرین استقامتی

در آغاز و پیش از برنامه تمرین اصلی، حیوانات گروه تمرین استقامتی/کاهش فعالیت بدنی به منظور آشناسازی، ۵ روز در هفته، ۱۰ تا ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه روی نوارگردان مخصوص جوندگان راه رفتند. برای تمرین استقامتی در پژوهش حاضر از شدت تمرینی متوسط (۶۰ تا ۷۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) استفاده شد. بدین صورت که گروه تمرین استقامتی/کاهش فعالیت بدنی روی نوارگردان ۶ هفته و هر هفته ۴ جلسه در معرض تمرین استقامتی قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین به تدریج افزایش می یافت (جدول شماره ۱).

برای رسیدن سازگاری های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمام متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شد [۱۸]. برای تبدیل سرعت نوارگردان به اکسیژن مصرفی بیشینه از روش مطالعه هویدال و همکاران استفاده شد. براین اساس، هر موش صحرایی ابتدا 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 نوارگردان ثابت و ۲۵ درجه بود. هر ۲ دقیقه سرعت نوارگردان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (حدود ۸-۱/۲ متر بر دقیقه) به طور خودکار افزایش یافت تا زمانی که موش صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نبود. ملاک توانایی نداشتن برای ادامه فعالیت، ۳ بار افتادن روی شوک یا خروج از نوارگردان بود. مدت زمان فعالیت، کل فاصله دویده شده، سرعت نهایی کسب شده، میزان کار انجام شده و لاکتات خون برای هر موش محاسبه شد. سپس میزان VO_{2peak} طبق فرمول $Y=162x-1$ به دست آمد ($Y=VO_2$ پاسخ ml/kg per min) [۱۹].

تمرین مقاومتی

در مرحله آشنایی با تمرین مقاومتی، موش های صحرایی گروه تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی ۳ روز و هر روز ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با روش چگونگی صعود از نردبان آشنا شدند. تمرین مقاومتی به این صورت بود که وزنه های موردنظر از طریق سیلندر به دم حیوان متصل شد و حیوان در این حالت از نردبان بالا می رفت. این تمرین ۶ هفته و به صورت صعود همراه با وزنه از نردبان ۱ متری و با شیب ۸۵ درجه انجام می شد. جلسات تمرینی در ۲ نوبت صبح (ساعت ۹) و عصر (ساعت ۲) و هر ۳ روز ۱ بار انجام می شد.

در نتیجه در پژوهش حاضر، اثر کاهش فعالیت بدنی پس از یک دوره تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی بر بیان ژن های مورف-۱ و آتروژین-۱ به عنوان عوامل محرک آتروفی عضلاتی بررسی شد و پژوهشگران به دنبال پاسخ به این سؤال بودند که آیا پروتئین های مورف-۱ و آتروژین-۱ در دوره بی تمرینی نقش خواهند داشت و آیا سازگاری احتمالی ایجاد شده در اثر تمرین ورزشی می تواند در پیشگیری یا کاهش آتروفی عضلاتی ناشی از کاهش فعالیت بدنی در عضله نعلی موش های صحرایی مؤثر باشد؟

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع بنیادی و به روش تجربی بر روی ۳۰ سر موش صحرایی ۸ هفته ای نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی 250 ± 20 گرم در دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد. برای آشنایی با محیط حیوان خانه، حیوانات پس از خریداری در شرایط دمایی 22 ± 4 درجه سانتی گراد و تحت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی در آزمایشگاه حیوانات نگهداری و با غذای ویژه و آب تغذیه می شدند. موش های صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شده و هر روز به وضعیت بهداشتی آن ها رسیدگی می شد. حیوانات در سراسر دوره پژوهش توسط ۲ نفر جابه جا و دستکاری شد و تمام فرایندهای پژوهش حاضر مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات که توسط کمیته اخلاق دانشگاه بررسی و تأیید شده بود، انجام شد.

گروه های پژوهش

نمونه های حیوانی به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. تقسیم بندی گروه ها به این صورت بود: ۱. گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی ($n=7$)، ۲. گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی ($n=7$)، ۳. گروه تمرین استقامتی/کاهش فعالیت بدنی ($n=8$) و ۴. گروه تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی ($n=8$). گروه های تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی، تمرین استقامتی/کاهش فعالیت بدنی و تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی ۶ هفته در برنامه تمرینی مخصوص خود (تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی) شرکت کردند. حیوانات گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی در این مدت هیچ گونه فعالیت ورزشی انجام ندادند. پس از این مدت، پروتکل کاهش فعالیت بدنی ۴ هفته بر روی گروه های پژوهش اجرا شد. در پایان، موش های صحرایی تشریح شدند و بافت برداری برای انجام آزمایشات سلولی و مولکولی به عمل آمد.

جدول ۱. نمایش عددی پروتکل تمرین استقامتی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
مدت تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰
سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸

جدول ۲. توالی پرایمرهای استفاده شده در پژوهش حاضر

r-Atrogin1-f	AGGGCAGGTGGATTGGAAGAAGA
r-Atrogin1-r	GTTGGGGTGAAAGTGAGACGGAG
r-Murf-f	GGTGTGACGAAGGTGGAAGAGA
r-Murf-r	CAAGGCAGATGGGGCAGATGAG

طبتوانبخش

پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شد و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک، پوست و عضله بدون دستکاری عصب با نخ بخیه ۰/۴ سیلک بخیه زده شد.

روش استخراج بافت

حیوانات پس از ۱۴ روز قرار گرفتن در شرایط تعلیق، با استفاده از کلروفورم بیهوش و بلافاصله وزن کشی شدند و سپس در شرایط کاملاً استریل و با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت خلفی ساق پای حیوانات، عضله نعلی با قطع تاندون پروگزیمال و دیستال استخراج شد و با ترازوی آزمایشگاهی (دقت ۰/۰۰۱؛ AND مدل GR ساخت کشور ژاپن) وزن شده و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و تا انجام آزمایشات سلولی و مولکولی در فریزر نگهداری شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

حدود ۵۰ میلی گرم بافت عضله نعلی برای استخراج توتال آر ان ای^{۱۷} به نسبت ۱ به ۱۰ در معرف کیزول لیزیز^{۱۸} هموزن شد. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول در دمای ۴°C، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۵/۰ با کلروفورم مخلوط و ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴°C، ۱۵ دقیقه، ۱۲۰۰ دور سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شد. سپس بخش محتوای RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۵/۰ با ایزوپروپانول مخلوط و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴°C، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰ دور سانتریفیوژ شد. در ادامه، پلت حاوی RNA در اتانول شست و شو و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-Free حل شد.

همچنین غلظت RNA (با استفاده از دستگاه اسپندورف آلمان^{۱۹}) سنجیده و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ با به عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA و با استفاده از کیت سنتز cDNA ساخت فرمنتاز و آنزیم MIMulv^{۲۰} انجام شد.

موش های صحرایی در هر جلسه، ۳ ست ۵ تکراری انجام می دادند. فاصله استراحتی بین ست ها، ۲ دقیقه و بین تکرارها ۱ دقیقه بود. در مواقع ضروری از شوک الکتریکی (۰/۳-۰/۲ میلی آمپر) برای تحریک موش های صحرایی به بالا رفتن از نردبان استفاده می شد. نحوه افزایش بار بدین صورت بود که در هفته اول ۵۰ درصد وزن بدن حیوان استفاده شد و افزایش تدریجی بار در طول برنامه تمرینی اعمال می شد [۲۰].

تمرین ترکیبی

برنامه تمرین ترکیبی بدین صورت بود که حیوانات گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی به صورت ترکیبی، ۳ هفته تمرین استقامتی و ۳ هفته تمرین مقاومتی را انجام می دادند. مرحله آشناسازی هم به صورتی که در برنامه تمرین استقامتی و مقاومتی توضیح داده شد، برای این گروه اعمال شد.

پروتکل کاهش فعالیت بدنی با استفاده از مدل لیگاسیون

عصب نخاعی

مدل لیگاسیون عصب نخاعی روشی است که به طور گسترده برای مطالعه سازوکارهای درد نوروپاتیک، تأثیر داروها و رفتارهای مرتبط با درد استفاده می شود. برای ایجاد این مدل، ابتدا موش های صحرایی با سدیم پنتوباریتول (۶۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی) بیهوش شدند و سپس عصب پنجم کمری نخاعی آن ها براساس روش کیم و چانگ^{۱۵} [۲۱] به طور محکم گره زده شد. مدت پروتکل کاهش فعالیت بدنی، ۴ هفته بود. به طور خلاصه در این روش، پس از اطمینان از بیهوشی حیوان، عضلات بین مهره ای 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 به طور محکم با استفاده از نخ مخصوص^{۱۶} (ساخت کشور ژاپن)، دقیقاً در انتهای دیستال جهت اطمینان از ایجاد اختلال در تمام فیبرها گره زده شد. این روش جهت جلوگیری از آسیب به عصب چهارم کمری، با دقت بسیار بالایی انجام شد. در گروه کنترل نیز

17. Total RNA

18. QIAzol Lysis Reagent

19. Eppendorf, Germany

20. Mouse Molony Leukemia Virus (MMLV)

15. KimandChung

16. Thread Silk

ریل تایم پی سی آر

یافته‌ها

نتایج تغییرات بیان ژن‌های مورف-۱ و آتروژین-۱ در گروه‌های پژوهشی در تصاویر شماره ۱ و ۲ نشان داده شده‌است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد میزان بیان ژن مورف-۱ در گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی و همچنین در گروه تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی به طور معناداری کمتر است ($P < 0.001$). بالین حال، سایر گروه‌های پژوهش با یکدیگر تفاوت معناداری نداشتند. از سوی دیگر، در مورد ژن آتروژین-۱، نتایج نشان داد تنها گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی کاهش معناداری دارد ($P < 0.001$) و تفاوت میان دیگر گروه‌های پژوهش معنادار نبود.

بحث

کاهش فعالیت بدنی و بی تحرکی از دلایل اصلی ایجاد آتروفی عضلانی است. پژوهش حاضر جزء معدود بررسی‌هایی است که نقش کاهش فعالیت بدنی به شیوه لیگاسیون عصب نخاعی را بر بیان ژن‌های مورف-۱ و آتروژین-۱ به عنوان مهم‌ترین شاخص‌های آتروفی عضلانی پس از یک دوره تمرین ورزشی ارزیابی کرد. در پژوهش پیش‌رو، ایجاد مدل کاهش فعالیت بدنی به افزایش پاتولوژیک در بیان ژن‌های مورف-۱ و آتروژین-۱ در گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی منجر شد.

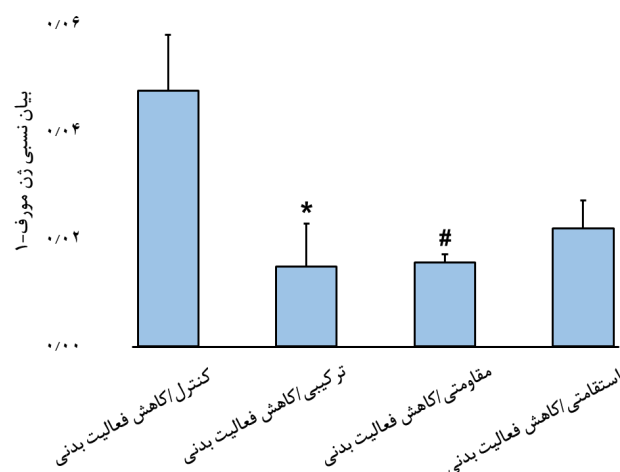
علاوه بر این، نتایج این پژوهش نشان‌دهنده کاهش بیان ژن مورف-۱ در گروه‌های تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی و تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی و همچنین کاهش بیان ژن آتروژین-۱ در گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به

اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های مرتبط به وسیله روش پی سی آر کمی^{۲۱} با استفاده از پریمیکس سایبر گرین-۲۲ انجام شد (بیوسیستم‌های کاربردی (USAA). مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت تکراری ۲۳ انجام شد. شرکت ماکروژن^{۲۴} طراحی پرایمرها را براساس اطلاعات ژن‌ها در بانک ژنی مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی^{۲۵} انجام داد. توالی پرایمرهای استفاده شده در پژوهش در جدول شماره ۲ گزارش شده‌است. در ضمن از بتا اکتین^{۲۶} به عنوان ژن کنترل استفاده شد. برنامه دمایی استفاده شده در ریل تایم پی سی آر شامل: 95°C ، ۱۰ دقیقه، 95°C ، ۱۵ ثانیه، 60°C ، ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ چرخه) است. میزان بیان ژن‌های موردنظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

روش آماری

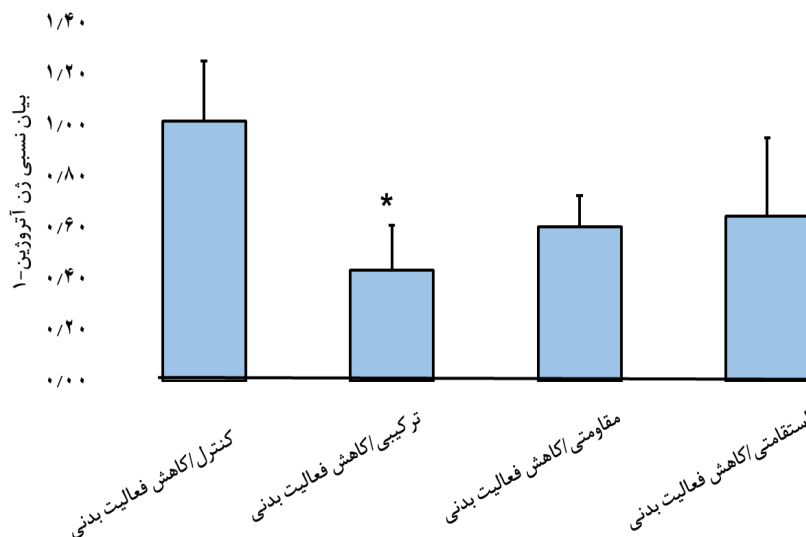
از آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها و از آمار استنباطی جهت آزمون فرضیه‌های پژوهش استفاده شد. در بخش آمار استنباطی برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها و نیز همگن بودن واریانسها به ترتیب آزمون‌های کولموگوروف-اسمیرنوف^{۲۷} و لون^{۲۸} استفاده شد. پس از احراز این مفروضه‌ها، جهت تعیین معناداری تفاوت در بیان ژن‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوره‌ای و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری ۰/۰۵ و با نرم افزار SPSS نسخه 20 استفاده شد.

21. Real time-PCR
22. Primix syber green II
23. Duplicate
24. Macrogen Inc. Seoul, Korea
25. National Center for Biotechnology Information (NCBI)
26. β -actin
27. Kolmogorov-Smirnov test
28. Levene's test



طب توانبخشی

تصویر ۱. تغییرات بیان ژن مورف-۱ در گروه‌های پژوهش * و # نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی و تمرین مقاومتی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی ($P < 0.05$)



طب توانبخش

تصویر ۲. تغییرات بیان ژن آتروژن-۱ در گروه‌های پژوهش
 * نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی ($P < 0.001$).

مدل‌های حیوانی نشان داده شد بیش‌فعالی FoxO سبب کاهش حجم عضلانی شده و به‌نظر می‌رسد با افزایش مورف-۱ و آتروژن-۱ در ارتباط است [۲۵].

ازسوی دیگر، گزارش شد چنانچه میزان بیان شبه انسولین-۱ افزایش یابد، فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B یا AKT در عضله بی‌تحرك افزایش یافته و این امر به پیشگیری از تحلیل توده عضلانی منجر می‌شود [۲۶]. همچنین نشان داد تمرین مقاومتی با کاهش بیان ژن مورف-۱ و آتروژن-۱ از آتروفی عضلانی جلوگیری می‌کند [۲۷]. از دیگر سازوکارهای پیشنهادی مرتبط با تمرین مقاومتی که به افزایش توده عضلانی منجر می‌شود، بیان گیرنده فعال‌شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوآکتیواتور گاما ۱-آلفا^{۳۰} است که فاکتورهای مربوط به هایپرتروفی عضله اسکلتی را تنظیم و هماهنگ می‌کند [۲۸].

بیان گیرنده فعال‌شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوآکتیواتور گاما ۱-آلفا تا حد زیادی از آتروفی عضلات در برابر شرایط گرسنگی، بی‌باری مکانیکی و قطع عصب جلوگیری می‌کند. این اثر محافظتی می‌تواند نشان دهد چگونه تمرینات مقاومتی با القای بیان گیرنده فعال‌شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوآکتیواتور گاما ۱-آلفا می‌تواند باعث حفظ توده عضلانی و به تأخیر افتادن آتروفی عضلانی شود [۲۹]. عملکرد مهم بیان گیرنده فعال‌شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوآکتیواتور گاما ۱-آلفا در تأثیرگذاری بر اندازه تارهای عضلانی و مهار آتروفی، نقش تثبیت‌شده آن را در تعیین نوع تار عضلانی [۳۰]، محتوای میتوکندریایی و ظرفیت اکسیداتیو [۳۱] و همچنین سایر سازگاری‌های ناشی از فعالیت-های ورزشی [۳۲] تکمیل می‌کند. هرچند در پژوهش حاضر به

گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی بود. ازسوی دیگر، کاهش بیان ژن‌های مورف-۱ و آتروژن-۱ در گروه تمرین استقامتی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی مشاهده شد، اما معنادار نبود.

این یافته‌ها نشان می‌دهد تمرین ترکیبی و مقاومتی نسبت به تمرین استقامتی به تعدیل بیان افزایش‌یافته ژن‌های مورف-۱ و آتروژن-۱ منجر می‌شود و عامل بسیار مهمی در پیشگیری از آتروفی عضلانی ناشی از کاهش فعالیت بدنی است. از سازوکارهای ناشی از تمرین مقاومتی که باعث رشد عضلانی و پیشگیری از آتروفی عضلانی می‌شود، می‌توان به فعال‌سازی مسیر هدف پستانداری راپامایسین-پروتئین کیناز B یا AKT و شبه انسولین-۱ اشاره کرد [۲۲]. همچنین در آتروفی عضلانی ناشی از عدم فعالیت، مسیر هدف پستانداری راپامایسین-پروتئین کیناز B یا AKT و شبه انسولین-۱ یکی از مسیرهای سیگنالینگ مهم است و نقش مهمی در سنتز پروتئین دارد. بیان شد مهار مسیر هدف پستانداری راپامایسین-پروتئین کیناز B یا AKT موجب بیان افزایشی FoxO^{۲۹} و تخریب پروتئین در بافت عضلانی می‌شود [۱۲].

معکوس شدن مسیرهای آتروفیک در اثر تمرین مقاومتی به خوبی اثبات شده است. گزارش شده است ۱۲ هفته تمرین مقاومتی در موش صحرایی منجر به فعال‌سازی مسیر پروتئین کیناز B یا AKT می‌شود [۲۳]. ازسوی دیگر، مهار مسیر IGF-1/PI3K-AKT با افزایش بیان ژن‌های مورف-۱ و آتروژن-۱ در ارتباط است [۱۲، ۲۴]. در این مورد پیشنهاد شده است که در شرایط آنابولیک، پروتئین کیناز B یا AKT به سرکوب FoxO منجر می‌شود و در نتیجه آتروفی عضلانی نیز مهار می‌شود. در

30. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α)

29. Forkhead Box Proteins

بررسی تغییرات بیان گیرنده فعال شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوآکتیواتور گاما ۱-آلفا پرداخته نشد، باین حال بیان شد بیان گیرنده فعال شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوآکتیواتور گاما ۱-آلفا به عنوان یک حسگر اصلی فعالیت عضلانی عمل می کند و به نظر می رسد کاهش بیان آن، نقش مهمی در افزایش بیان ژن های مورف-۱ و آتروژین-۱ دارد [۳۳].

در پژوهش های انجام شده، سازوکارهای ناشی از تمرین استقامتی بر فاکتورهای مرتبط با آتروفی عضلانی به خوبی نشان داده شده است. مرادی و همکاران نشان دادند ۸ هفته تمرین استقامتی با افزایش بیان ژن های مورف-۱ و آتروژین-۱ می تواند منجر به آتروفی در عضلات شود [۲۷]. در این راستا، به نقش پروتئین های پروتئین جعبه سرچنگالی^{۳۱} در ایجاد آتروفی عضلانی اشاره شده است. مطالعات اخیر نشان داد پروتئین جعبه سرچنگالی ۱ و پروتئین جعبه سرچنگالی ۳ در سازگاری عضلات اسکلتی ناشی از تمرینات استقامتی نقش دارند. برای مثال، نشان داده شد بیان ژن پروتئین جعبه سرچنگالی ۳ پس از یک دوی ماراثن افزایش می یابد.

همچنین مطابق با این یافته، گزارش شد برخی از مارکرهای اتوفازیک، سطوح mRNA MuRF1 و فعالیت زیرواحد β2 پروتئازوم پس از تمرین استقامتی طولانی مدت افزایش می یابد. برخی از این سازگاری ها هنگام فعالیت استقامتی با شدت متوسط نیز رخ می دهد. براین اساس، افزایش مسیرهای کاتابولیک تنظیم شده توسط پروتئین جعبه سرچنگالی ۱ و پروتئین جعبه سرچنگالی ۳ می تواند اسیدهای آمینه را به عنوان یک بستر انرژی جایگزین در طول تمرین استقامتی فراهم کند و به کاهش میزان پروتئین های عضلانی منجر شود [۳۴].

علاوه بر این، نتایج سایر تحقیقات نیز نشان می دهد سطح مورف-۱ و آتروژین-۱ و همچنین فعالیت پروتئازومها (کالپین و کاتپسین) بلافاصله پس از تمرین استقامتی افزایش می یابد [۲۷]. باین حال، در برخی پژوهش ها عنوان شد تمرین استقامتی باعث تنظیم کاهشی بیان ژن مورف-۱ و آتروژین-۱ در شرایط دیابت می شود. در موش های صحرایی دیابتی نشان داده شد ۸ هفته تمرین استقامتی به کاهش بیان مورف-۱ و آتروژین-۱ منجر می شود و این کاهش ها مرتبط با کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین استقامتی است [۳۵].

این یافته ها در تضاد با یافته های پژوهش حاضر است. از دلایل این تناقض می توان به دیابتی بودن آزمودنی های پژوهش مذکور اشاره کرد، چراکه نشان داده شد دیابت به صورت پاتولوژیک، به افزایش بیان ژن مورف-۱ و فعالیت ورزشی استقامتی باعث کاهش آن منجر می شود [۳۶].

گزارش شد بیان آتروژین-۱ به طور مستقل از نوع تمرین (استقامتی یا مقاومتی) افزایش می یابد، اما بیان مورف-۱ تنها پس از تمرین استقامتی افزایش می یابد و نه تمرین مقاومتی. همچنین پیشنهاد شد سیگنال های داخل سلولی ناشی از تمرینات استقامتی و مقاومتی به تنظیم افزایشی نشانگرهای مولکولی مسیر یوبیکوئیتین پروتئازوم منجر می شود که این افزایش ها در تمرینات استقامتی بیشتر است. این نتایج نشان می دهد سازگاری های ناشی از تمرینات استقامتی نسبت به تمرینات مقاومتی، بیشتر به فرایندهای تخریب پروتئین در مسیر یوبیکوئیتین پروتئازوم متکی است. افزایش کلی ناشی از تمرین استقامتی و مقاومتی در میزان مورف-۱ و آتروژین-۱ نشان می دهد این سیستم ها منحصرأ به فرایندهای آتروفی محدود نمی شوند، اما ممکن است برای تغییر و تبدیل^{۳۲} پروتئین ها و سازگاری با تمرینات ورزشی مهم باشند [۱۶].

پاسخ های پروتئولیتیک عضله اسکلتی به تمرین مقاومتی معمولاً در افراد تمرین کرده نسبت به افراد غیرفعال کمتر دیده می شود [۳۷]. از سوی دیگر، تمرین استقامتی ممکن است به شدت کاتابولیک باشد، به ویژه پس از جذب مواد غذایی، چراکه احتمالاً پروتئولیزها هنگام انجام تمرین استقامتی افزایش می یابند تا از انرژی مورد نیاز عضلات اسکلتی فعال حمایت شود [۳۸]. برخی از پژوهشگران پاسخ اتوفازی لیزوزومال و واسطه های یوبیکوئیتین پروتئازوم به تمرین استقامتی را بررسی کردند. برای مثال، تنظیم افزایشی بیان ژن کاتپسین-۱۳ (آنزیم اتوفازی) پس از ۱ جلسه تمرین استقامتی سنگین (۲۰۰ کیلومتر) در مقایسه با حالت استراحتی مشاهده شده است.

این یافته ها با افزایش همزمان در بیان اجزای یوبیکوئیتین پروتئازوم، به ویژه مورف-۱ و آتروژین-۱ همراه بود [۳۹]. لوئیس و همکاران نشان دادند بیان مورف-۱ و آتروژین-۱ طی ۴ ساعت اول ریکاوری پس از تمرین استقامتی به صورت افزایشی تنظیم می شود. این پاسخ، یک پاسخ پروتئولیتیک قوی تر نسبت به پاسخ های مشاهده شده پس از تمرین مقاومتی بود [۴۰]. تناقض های موجود در یافته های پژوهشی می تواند با مدت زمان، نوع و شدت تمرین و همچنین روش های ارزیابی متغیرها مرتبط باشد.

در پژوهش حاضر بیان ژن های مورف-۱ و آتروژین-۱ در گروه تمرین ترکیبی/کاهش فعالیت بدنی نسبت به گروه کنترل/کاهش فعالیت بدنی، کاهش معناداری داشت که نشان دهنده تأثیر این شیوه تمرینی در پیشگیری از شرایط آتروفیک ناشی از کاهش فعالیت بدنی است. از سازوکارهای احتمالی ناشی از تمرین ترکیبی بر رشد عضلاتی و همچنین پیشگیری از آتروفی، می توان به اثرات ضد التهابی و افزایش سنتز پروتئین عضلانی در اثر این گونه تمرینات اشاره کرد [۴۱].

32. Turnover
33. Cathepsin-L

31. Forkhead box protein (FoxO)

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری مهدی مداحی با راهنمایی رضا قراخلو و مشاوره محمدعلی آذربایجانی در گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران است.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده سازی این مقاله مشارکت یکسان داشته اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این پژوهش از کارکنان مرکز تحقیقات فیزیولوژی و علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان صمیمانه سپاس گذاری می کنند.

در پژوهش بالدوسی و همکاران نشان داده شد مشارکت منظم در تمرینات ترکیبی با کاهش سایتوکین های التهابی سیستمیک، از جمله IL-6 و TNF- α در مقایسه با تمرین استقامتی، بیشترین اثرات ضدالتهابی را دارد [۴۲]. همچنین سازوکارهای سلولی و مولکولی وجود دارد که زمینه ساز تأثیر تمرینات ورزشی بر متابولیسم پروتئین هستند. تمرین ترکیبی می تواند سنتز پروتئین عضلاتی را مستقیماً از طریق مسیر وابسته به فسفاتیدیلینوزیتول-۳-کیناز، پروتئین کیناز B و هدف پستانداران راپامایسین^{۳۴} تسریع کند. فعال سازی پروتئین کیناز B، بیان پروتئین جعبه سرچنگالی آبشار سیگنالینگ پایین دست آن را مهار می کند. از طرف دیگر، ممکن است کاهش سایتوکین های التهابی در اثر تمرین ترکیبی، تخریب پروتئین عضلاتی را کاهش دهد و به مهار آبشارهای سیگنالینگ وابسته به پروتئین جعبه سرچنگالی FOXO از جمله رونویسی آتروژن و فعال سازی سیستم یوبیکوتین پروتئازوم منجر شود. در نتیجه، تعادل پروتئین در عضله اسکلتی مثبت خواهد بود و آتروفی عضلاتی کاهش می یابد [۴۱].

نتیجه گیری

با توجه به یافته های پژوهش حاضر به نظر می رسد موش های صحرایی که در برنامه تمرینی آن ها، تمرین مقاومتی (گروه تمرین مقاومتی و گروه تمرین ترکیبی) وجود داشت نسبت به گروهی که تنها تمرین استقامتی انجام دادند در برابر آتروفی ناشی از کاهش فعالیت بدنی مقاوم تر هستند. این نتایج نشان می دهد تمرین مقاومتی، عامل مهمی در پیشگیری از افزایش بیان ژن-های درگیر در آتروفی عضلاتی ناشی از کاهش فعالیت بدنی است.

براین اساس پیشنهاد می شود این نوع تمرینات در برنامه های توان بخشی بیماران و نیز افرادی که به هر دلیلی دچار کاهش فعالیت بدنی شدند، گنجانده شود. تعیین سازوکارهای دقیق در این زمینه، نیازمند بررسی های بیشتری است.

از محدودیت های این پژوهش می توان به اندازه گیری نشدن فاکتورهایی مانند رشد پروتئین کیناز B، شبه انسولین-۱، گیرنده فعال شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوکتیواتور گاما ۱-آلفا و که نقش مهمی در آتروفی عضلاتی دارند، اشاره کرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در اجرای پژوهش، ملاحظات اخلاقی مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان در نظر گرفته شده و کد اخلاق به شماره IR.KMU.REC.1399.190 دریافت شده است.

34. Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/Akt and the mammalian target of rapamycin (mTOR)(PI3K/AKT/mTOR)

References

- [1] Sun D, Liu P, Cheng J, Ma Z, Liu J, Qin T. Correlation between intervertebral disc degeneration, paraspinal muscle atrophy, and lumbar facet joints degeneration in patients with lumbar disc herniation. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2017; 18(1):167. [DOI:10.1186/s12891-017-1522-4] [PMID] [PMCID]
- [2] Fanzani A, Conraads VM, Penna F, Martinet W. Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: An update. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2012; 3(3):163-79. [DOI:10.1007/s13539-012-0074-6] [PMID] [PMCID]
- [3] Gao Y, Arfat Y, Wang H, Goswami N. Muscle atrophy induced by mechanical unloading: Mechanisms and potential countermeasures. *Frontiers in Physiology*. 2018; 9:235. [DOI:10.3389/fphys.2018.00235] [PMID] [PMCID]
- [4] Zhang Z-K, Jie L, Jin L, Baosheng G, Leung A, Zhang G, et al. Icaritin requires phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/Akt signaling to counteract skeletal muscle atrophy following mechanical unloading. *Scientific Reports*. 2016; 6:20300. [DOI:10.1038/srep20300] [PMID] [PMCID]
- [5] Kitajima Y, Yoshioka K, Suzuki N. The ubiquitin-proteasome system in regulation of the skeletal muscle homeostasis and atrophy: From basic science to disorders. *The Journal of Physiological Sciences*. 2020; 70(1):1-12. [DOI:10.1186/s12576-020-00768-9] [PMID]
- [6] Bialek P, Morris C, Parkington J, St. Andre M, Owens J, Yaworsky P, et al. Distinct protein degradation profiles are induced by different disuse models of skeletal muscle atrophy. *Physiological Genomics*. 2011; 43(19):1075-86. [DOI:10.1152/physiolgenomics.00247.2010] [PMID] [PMCID]
- [7] Kang S-H, Lee H-A, Kim M, Lee E, Sohn UD, Kim I. Forkhead box O3 plays a role in skeletal muscle atrophy through expression of E3 ubiquitin ligases MuRF-1 and atrogin-1 in Cushing's syndrome. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2017; 312(6):E495-507. [DOI:10.1152/ajpendo.00389.2016] [PMID]
- [8] Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK-M, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*. 2001; 294(5547):1704-8. [DOI:10.1126/science.1065874] [PMID]
- [9] Mammucari C, Milan G, Romanello V, Masiero E, Rudolf R, Del Piccolo P, et al. Foxo3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metabolism*. 2007; 6(6):458-71. [DOI:10.1016/j.cmet.2007.11.001] [PMID]
- [10] Mañas-García L, Bargalló N, Gea J, Barreiro E. Muscle phenotype, proteolysis, and atrophy signaling during reloading in mice: Effects of curcumin on the gastrocnemius. *Nutrients*. 2020; 12(2):388. [DOI:10.3390/nu12020388] [PMID] [PMCID]
- [11] Bentzinger CF, Lin S, Romanino K, Castets P, Guridi M, Summhammer S, et al. Differential response of skeletal muscles to mTORC1 signaling during atrophy and hypertrophy. *Skeletal Muscle*. 2013; 3(1):6. [DOI:10.1186/2044-5040-3-6] [PMID] [PMCID]
- [12] Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogin-1. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2014; 307(6):E469-84. [DOI:10.1152/ajpendo.00204.2014] [PMID] [PMCID]
- [13] Léger B, Cartoni R, Praz M, Lamon S, Dériaz O, Crettenand A, et al. Akt signalling through GSK-3 β , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Journal of Physiology*. 2006; 576(3):923-33. [DOI:10.1113/jphysiol.2006.116715] [PMID] [PMCID]
- [14] Zanchi NE, de Siqueira Filho MA, Lira FS, Rosa JC, Yamashita AS, de Oliveira Carvalho CR, et al. Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3 β and p70S6K levels in rats. *European Journal of Applied Physiology*. 2009; 106(3):415-23. [DOI:10.1007/s00421-009-1033-6] [PMID]
- [15] Mascher H, Tannerstedt J, Brink-Elfegoun T, Ekblom B, Gustafsson T, Blomstrand E. Repeated resistance exercise training induces different changes in mRNA expression of MAFbx and MuRF-1 in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2008; 294(1):E43-51. [DOI:10.1152/ajpendo.00504.2007] [PMID]
- [16] Stefanetti RJ, Lamon S, Wallace M, Vendelbo MH, Russell AP, Vissing K. 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):1523-37. [DOI:10.1007/s00424-014-1587-y] [PMID]
- [17] Rahmati M, Taherabadi SJ, Mehrabi M. Decreased activity in neuropathic pain form and gene expression of cyclin-dependent kinase5 and glycogen synthase kinase-3 beta in soleus muscle of Wistar male rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2015; 17(6):e23324. [DOI:10.5812/ircmj.23324] [PMID] [PMCID]
- [18] Chae C-H, Kim H-T. 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):208-13. [DOI:10.1016/j.neuint.2009.02.024] [PMID]
- [19] 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. [DOI:10.1097/HJR.0b013e3281eacef1] [PMID]
- [20] Duncan N, Williams D, Lynch G. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 1998; 77:372-38. [DOI:10.1007/s004210050347] [PMID]
- [21] Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*. 1992; 50(3):355-63. [DOI:10.1016/0304-3959(92)90041-9]
- [22] Fioletta VC, White LJ, Larsen AE, Léger B, Russell AP. The role and regulation of MAFbx/atrogin-1 and MuRF1 in skeletal muscle atrophy. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. 2011; 461(3):325-35. [DOI:10.1007/s00424-010-0919-9] [PMID]
- [23] Xu M, Chen X, Chen D, Yu B, Huang Z. FoxO1: A novel insight into its molecular mechanisms in the regulation of skeletal muscle differentiation and fiber type specification. *Oncotarget*. 2017; 8(6):10662-74. [DOI:10.18632/oncotarget.12891] [PMID] [PMCID]

- [24] Vechetti-Junior IJ, Bertaglia RS, Fernandez GJ, de Paula TG, de Souza RW, Moraes LN, et al. Aerobic exercise recovers disuse-induced atrophy through the stimulus of the LRP130/PGC-1 α complex in aged rats. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2016;71(5):601-9. [DOI:10.1093/gerona/glv064] [PMID]
- [25] Pomiès P, Blaquière M, Maury J, Mercier J, Gouzi F, Hayot M. Involvement of the FoxO1/MuRF1/Atrogin-1 signaling pathway in the oxidative stress-induced atrophy of cultured chronic obstructive pulmonary disease myotubes. *Plos One*. 2016; 11(8):e0160092. [DOI:10.1371/journal.pone.0160092] [PMID] [PMCID]
- [26] Mukai R, Matsui N, Fujikura Y, Matsumoto N, Hou D-X, Kan-zaki N, et al. Preventive effect of dietary quercetin on disuse muscle atrophy by targeting mitochondria in denervated mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2016; 31:67-76. [DOI:10.1016/j.jnutbio.2016.02.001] [PMID]
- [27] Moradi Y, Zehsaz F, Nourazar MA. 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):21-7. [DOI:10.1016/j.apunsm.2020.02.001]
- [28] Ruas JL, White JP, Rao RR, Kleiner S, Brannan KT, Harrison BC, et al. A PGC-1 α isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell*. 2012; 151(6):1319-31. [DOI:10.1016/j.cell.2012.10.050] [PMID] [PMCID]
- [29] Zhang Z, Wang B, Fei A. BDNF contributes to the skeletal muscle anti-atrophic effect of exercise training through AMPK-PGC1 α signaling in heart failure mice. *Archives of Medical Science: AMS*. 2019; 15(1):214-22. [DOI:10.5114/aoms.2018.81037] [PMID] [PMCID]
- [30] Lin J, Wu H, Tarr PT, Zhang C-Y, Wu Z, Boss O, et al. Transcriptional co-activator PGC-1 α drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*. 2002; 418(6899):797-801. [DOI:10.1038/nature00904] [PMID]
- [31] Wang X, Huang N, Yang M, Wei D, Tai H, Han X, et al. FTO is required for myogenesis by positively regulating mTOR-PGC-1 α pathway-mediated mitochondria biogenesis. *Cell Death & Disease*. 2017; 8(3):e2702. [DOI:10.1038/cddis.2017.122] [PMID] [PMCID]
- [32] Taylor EB, Lamb JD, Hurst RW, Chesser DG, Ellingson WJ, Greenwood LJ, et al. Endurance training increases skeletal muscle LKB1 and PGC-1 α protein abundance: Effects of time and intensity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2005; 289(6):E960-8. [DOI:10.1152/ajpendo.00237.2005] [PMID]
- [33] Attaix D, Mosoni L, Dardevet D, Combaret L, Mirand PP, Grizard J. Altered responses in skeletal muscle protein turnover during aging in anabolic and catabolic periods. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2005; 37(10):1962-73. [DOI:10.1016/j.biocel.2005.04.009] [PMID]
- [34] Sanchez AM, Candau RB, Bernardi H. FoxO transcription factors: Their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2014; 71(9):1657-71. [DOI:10.1007/s00018-013-1513-z] [PMID]
- [35] Ostler JE, Maurya SK, Dials J, Roof SR, Devor ST, Ziolo MT, et al. Effects of insulin resistance on skeletal muscle growth and exercise capacity in type 2 diabetic mouse models. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2014; 306(6):E592-605. [DOI:10.1152/ajpendo.00277.2013] [PMID] [PMCID]
- [36] Chen G-Q, Mou C-Y, Yang Y-Q, Wang S, Zhao Z-W. Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes. *Life Sciences*. 2011; 89(1-2):44-9. [DOI:10.1016/j.lfs.2011.04.018] [PMID]
- [37] Yang Y, Jemiolo B, Trappe S. Proteolytic mRNA expression in response to acute resistance exercise in human single skeletal muscle fibers. *Journal of Applied Physiology*. 2006; 101(5):1442-50. [DOI:10.1152/japplphysiol.00438.2006] [PMID]
- [38] Norton LE, Layman DK. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. *The Journal of Nutrition*. 2006; 136(2):533S-7S. [DOI:10.1093/jn/136.2.533S] [PMID]
- [39] Kim HJ, Jamart C, Deldicque L, Lee YH, Kim CK, Raymakers J-M, et al. Endoplasmic reticulum stress markers and ubiquitin-proteasome pathway activity in response to a 200-km run. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2011; 43(1):18-25. [DOI:10.1249/MSS.0b013e3181e4c5d1] [PMID]
- [40] Louis E, Raue U, Yang Y, Jemiolo B, Trappe S. Time course of proteolytic, cytokine, and myostatin gene expression after acute exercise in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2007; 103(5):1744-51. [DOI:10.1152/japplphysiol.00679.2007] [PMID]
- [41] Xia Z, Cholewa J, Zhao Y, Shang H-Y, Yang Y-Q, Araújo Pessôa K, et al. Targeting inflammation and downstream protein metabolism in sarcopenia: A brief up-dated description of concurrent exercise and leucine-based multimodal intervention. *Frontiers in Physiology*. 2017; 8:434. [DOI:10.3389/fphys.2017.00434] [PMID] [PMCID]
- [42] Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2010; 20(8):608-17. [DOI:10.1016/j.numecd.2009.04.015] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank