

علوم زیستی ورزشی - تابستان ۱۳۹۸
دوره ۱۱، شماره ۲، ص: ۲۳۷ - ۲۲۵
تاریخ دریافت: ۲۲ / ۰۸ / ۹۷
تاریخ پذیرش: ۳۱ / ۰۳ / ۹۸

اثر تمرین اینتروال شدید بر بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 در عضله بازکننده طویل انگشتان پای موش‌های پیر

عبدالرضا کاظمی^۱ - سلمان بریط^۲

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

چکیده

یکی از سازوکارهای دخیل در آتروفی عضلانی مسیر TRAF6/MuRF1 است که ممکن است تجزیه عضلانی را افزایش دهد. از این رو هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین HIIT بر بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 عضله بازکننده طویل انگشتان پای (EDL) موش‌های پیر C57bl/6 بود. بدین منظور، ۲۸ سر موش C57bl/6 پیر (n=۱۴) و بالغ (n=۱۴) هر گروه در ۲ گروه تمرین (n=۷) و کنترل (n=۷) قرار گرفتند که گروه‌های تمرین بعد از یک هفته آشناسازی در برنامه ۴ هفته HIIT شرکت کردند و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی قربانی و عضله EDL استخراج و به وسیله روش Real-time Pcr بیان ژن‌ها اندازه‌گیری شد. در مقایسه گروه‌های پیر و بالغ، عامل پیری اثر معناداری بر بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 دارد (به ترتیب $P=0/005$ و $P=0/004$)، همچنین تمرین ورزشی به‌طور چشمگیری بیان این دو را تحت تأثیر قرار می‌دهد ($P=0/001$). همچنین یافته‌ها نشان می‌دهد که پیری اثر معناداری بر وزن نسبی عضله EDL داشته است، به‌طوری‌که اختلاف معناداری بین گروه‌های بالغ و پیر کنترل ($P=0/032$) مشاهده شد، ولی این مقدار به لحاظ آماری در هر دو گروه‌های بالغ ($P=0/117$) و پیر ($P=0/321$) معنادار نبود. بنابراین، بالا رفتن سن همراه با افزایش بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 است که احتمالاً در تغییرات توده عضلانی همراه با افزایش سن درگیرند و با توجه به اینکه تمرینات با شدت بالا بیان این ژن‌ها را کاهش می‌دهد، این تمرینات می‌توانند در دوران سالمندی به‌منظور حفظ توده عضلانی استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی

پیری، تمرین تناوبی شدید، توده عضلانی، TRAF6 و MuRF1.

مقدمه

کاهش توده عضلانی یا آتروفی زمانی اتفاق می‌افتد که تخریب پروتئین بیش از سنتز آن باشد (۱). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که عضلات اسکلتی به وضعیت‌های آتروفی گوناگون از طریق فعال شدن شبکه پیچیده از مسیرهای بیوشیمیایی و رونویسی، به بیان دسته‌ای از ژن‌ها به نام آتروژن‌ها، منجر می‌شود. بسیاری از آتروژن‌ها اجزای سیستم یوبی کوئیتین پروتئازوم هستند که سازوکاری را برای تجزیه انتخابی پروتئین‌های تنظیمی و ساختاری فراهم می‌آورند (۲). در هر دو مورد وضعیت‌های پاتولوژیکی و فیزیولوژیکی، ضعف و آتروفی عضلانی می‌تواند موجب کیفیت زندگی پایین، ناتوانی در انجام کارهای روزانه، خستگی و ایجاد بیماری‌های ثانویه مثل پوکی استخوان و دیابت شود. کاهش سطح مقطع تارهای عضلانی و متعاقب آن اختلال در قدرت، مشخصه اصلی آتروفی عضلانی است. همچنین آتروفی عضلانی از طریق تغییر در ترکیب تار عضلانی ویژگی می‌یابد (۱). در واقع، پیری به‌عنوان تئوری تغییرات تخریبی پیش‌رونده در سلول‌ها و بافت‌های گوناگون است که شانس از بین رفتن آنها را افزایش می‌دهد. برای مثال، در پژوهشی کاهش ۲۵ تا ۴۰ درصد در سطح مقطع عرضی (CSA) عضلات ران را در طول عمر گزارش کردند (۳). همچنین، در همین زمینه نشان داده است که افراد پیر در مقایسه با افراد جوان کاهش چشمگیری در اندازه تار عضلانی دارند (۴). به این کاهش توده و قدرت عضلانی همراه با پیری سارکوپنیا^۱ گفته می‌شود.

عقاید بسیاری در خصوص علل سارکوپنیا مانند اختلال در محیط آنابولیکی/کاتابولیکی در گردش خون، افزایش بدعملکردی میتوکندریایی، آسیب اکسایشی و افزایش در غلظت سایتوکاین‌های التهابی به‌عنوان عوامل درگیر در کاهش توده عضلانی با افزایش سن در نظر گرفته شده‌اند (۵). اغلب تجزیه پروتئین‌های سلولی از طریق مسیرهای اصلی شامل پروتئازهای سیستئین وابسته به کلسیم (کالپین‌ها)، پروتئاز اسید آسپارتیک-سیستئین (کاسپیزها)، اتوفازی-لیزوزومی^۵ و مسیر یوبی کوئیتین پروتئازوم^۶ واسطه‌گری می‌شوند. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که تجزیه پروتئین به‌واسطه یوبی کوئیتین نقش چشمگیری در آتروفی عضلانی دارد (۶). دو لیگاز یوبی کوئیتین E3 شامل muRF1 و MAFbx (همچنین

1. Goss Sectional Area
2. Sarcopenia
3. Calpains
4. Caspase
5. Autophagy Lysosome
6. Ubiquitin Proteasome Pathway

آتروژین ۱ نامیده می‌شود) در مدل‌های مختلف آتروفی عضلات اسکلتی در هر دو جوندگان و انسان‌ها تنظیم افزایشی می‌یابند (۷).

عوامل مرتبط با گیرنده عامل نکروز تومور (TRAFs) شامل خانواده‌ای پروتئین‌های آداپتور حفاظت‌شده درگیر در فعال شدن آبشارهای پیام‌رسانی مختلفی‌اند (۲) که در دامنه وسیعی از فرایندهای فیزیولوژیکی شامل ایمنی ذاتی، ایمنی سازشی، متابولیسم استخوان و غیره نقش دارند (۸). در میان پروتئین‌های شناخته‌شده این خانواده، پروتئین آداپتور گیرنده TNF ۶ (TRAF6) چندین ویژگی مجزا دارد که با سایر اعضای خانواده TRAF به اشتراک گذاشته نشده‌اند. TRAF6 در مرکز فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی مختلف شامل NF- κ B، MAPK و فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز / AKT در پاسخ به سابتوکاین‌ها و محصولات میکروبی است (۲). مشخص شده است که TRAF6 تنظیم‌کننده اصلی در آتروفی عضله اسکلتی در هر دو تحریک‌های فیزیولوژیکی (بدون عصب شدن) و پاتولوژیکی (کچکسی سرطان) است. از این‌رو، نشان داده شده است که کاهش بیان TRAF6 در عضله متمایز شده سازوکاری برای جلوگیری از فعال شدن مسیرهای کاتابولیکی مختلف در وضعیت‌های طبیعی است (۷، ۲). آتروفی عضله اسکلتی، در وضعیت‌های کاتابولیکی مختلف، شامل فعال شدن سیستم پایین‌دستی یوبی کوئیتین پروتئازوم وابسته به ATP است (۲). نشان داده شده است یکی از سازوکارهایی که TRAF6 در عضلات که عصب قطع شده بود موجب تخریب پروتئین‌های عضله می‌شود، از طریق افزایش بیان هر دو MAFbx و MuRF1 است. در همین زمینه نشان داده شده است که تخریب MyHC به‌طور چشمگیری در عضلات بدون عصب‌شده موش‌های فاقد ژن TRAF6، متوقف می‌شود، و این با گزارش‌هایی که دریافتند MuRF1 پروتئین‌های فیلامان‌های ضخیم شامل MyHC را در عضلات اسکلتی هدف قرار می‌دهد، سازگار است (۲). علاوه بر این پائول و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند در شرایط آتروفی ناشی از گرسنگی هم TRAF6 هم با افزایش بیان لیگازهای یوبی کوئیتینی در کاهش توده عضلانی نقش دارد. به‌طوری‌که نشان داده شده است بیان هر دو MAFbx و MuRF1 به‌طور شایان توجهی در موش‌های فاقد ژن TRAF6 تنظیم کاهش می‌یابد (۷). همچنین نشان داده شده است که TRAF6 و مولکول‌های پیام‌رسانی پایین‌دست آن شامل MAFbx و MuRF1 در آتروفی عضلانی ناشی از دگزامتازون در هر دو محیط *in vivo* و *in vitro* تنظیم افزایشی می‌یابند و افزایش در این عوامل همراه با کاهش در سطح مقطع تارهای عضلانی (CSA) بود (۸). از سوی دیگر، نشان داده شده است که فعالیت ورزشی و تغذیه مناسب می‌تواند سرعت اختلالات عصبی عضلانی را کاهش دهند (۹). شواهد بسیاری نشان می‌دهند، سنتز پروتئین عضله در پاسخ به

فعالیت بدنی در افراد جوان و مسن افزایش می‌یابد (۱۰). در همین زمینه، پژوهشی نشان می‌دهد که افراد مسن و جوان هر دو افزایش چشمگیری در MyoD و فاکتور تنظیمی عضله‌زایی ۴ و کاهش در بیان ژن مایواستاتین پس از فعالیت ورزشی نشان داده‌اند (۱۱). علاوه بر این، فعالیت ورزشی می‌تواند بیان ژن و پروتئین لیگازهای MuRF1 را کاهش دهد (۱۲).

همان‌طور که اشاره شد، پیری از شرایطی است که کاهش توده عضلانی در آن بارز است، اما تا به حال نقش TRAF6 در آتروفی ناشی از پیری و همچنین اثر فعالیت ورزشی بر بیان این لیگاز یوبی کوئیتین در عضلات پیر بررسی نشده است. شناخت سازوکارهای درگیر در آتروفی و بازسازی عضله به توسعه روش‌های درمانی جدید برای مقابله با وضعیت‌ها و بیماری‌های مانند دیستروفی عضلانی، آتروفی ناشی از بی‌حرکی و پیری کمک خواهد کرد. چندین مسیر سیگنالینگ کاتابولیکی و آنابولیکی مرتبط با تغییر اندازه عضله هستند (۱۳). شواهد بسیار قوی نشان می‌دهد که اندازه عضله از طریق تعادل بین سنتز و تخریب پروتئین مشخص می‌شود (۱۴). بنابراین، با توجه به اثر مثبت فعالیت ورزشی بر بهبود توده عضلانی و افزایش عملکرد عضلانی در افراد پیر، این سؤال پیش می‌آید که آیا فعالیت ورزشی می‌تواند بر بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 اثر بگذارد؟ از این‌رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر چهار هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 در عضله بازکننده طویل انگشتان موش‌های پیر بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی است. برای بررسی فرضیات پژوهش حاضر و رسیدن به اهداف، ۲۸ سر موش با ۴ تا ۶ ماه (n=۱۴) و ۲۴ تا ۲۶ ماه (n=۱۴) سن تهیه، در شرایط استاندارد (دمای اتاق ۲۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت چرخه نور/ تاریکی) و دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. در دو گروه پیر و بالغ با زیرگروه‌های تمرین (n=۷) و بدون تمرین (n=۷) به صورت تصادفی قرار گرفتند. پس از یک هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید موش‌ها به‌طور تصادفی در چهار گروه به شرح زیر قرار گرفتند: گروه بالغ تمرین (ADT)؛ این گروه شامل ۷ سر موش نژاد C57BL/6 ۴ تا ۶ ماهه بودند که به مدت ۴ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین تناوبی شدید انجام دادند و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی قربانی شدند. گروه بالغ بدون تمرین (ADC)؛ این گروه شامل ۷ سر موش نژاد

1. Adult Training
2. Adult Control

C57BL/6 ۴ تا ۶ ماهه بودند که هیچ‌گونه فعالیت ورزشی انجام نمی‌دادند. گروه پیر تمرین (AGT)^۱ این گروه شامل ۷ سر موش نژاد C57BL/6 ۲۴ تا ۲۶ ماهه بودند که به مدت ۴ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین تناوبی شدید انجام دادند. گروه پیر بدون تمرین (AGC)^۲ این گروه شامل ۷ سر موش نژاد C57BL/6 ۲۴ تا ۲۶ ماهه بودند که هیچ‌گونه فعالیت ورزشی انجام نمی‌دادند. تمامی گروه‌ها همزمان با گروه اول قربانی شدند و کلیه مراحل و آزمایش‌ها روی آنها انجام پذیرفت. کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی کرمان رعایت شد.

در ابتدای پژوهش موش‌ها به منظور کاهش استرس و همچنین آشنایی با دویدن روی تردمیل (Model T510E, Diagnostic and Research, Taoyuan, Taiwan) در یک برنامه تمرینی به مدت یک هفته با سرعت ۱۰ تا ۱۸ متر در دقیقه و مدت زمان ده دقیقه شرکت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه آشناسازی آزمون ورزشی فزاینده تا مرز خستگی انجام گرفت که با سرعت ده متر بر دقیقه شروع شد. به ازای هر دو دقیقه، دو متر بر سرعت آن افزوده شد. زمان رسیدن به خستگی با عدم توانایی موش‌ها در دویدن روی تردمیل با وجود ایجاد محرک‌های مختلف مانند شوک بادی و ایجاد صدا با زدن ضربه روی درپوش تردمیل مشخص شد (میانگین حداکثر سرعت برای گروه بالغ $2/33 \pm 33/66$ و گروه پیر $3/26 \pm 29/33$). تمرین تناوبی شدید بر اساس سرعت حداکثر به دست آمده طراحی و به مدت چهار هفته و پنج جلسه در هفته بر گروه‌های تمرینی اعمال شد. در ابتدا تمرین تناوبی با شدتی برابر با ۸۵ درصد حداکثر سرعت شروع و در ادامه، برنامه تناوبی به صورت هفتگی پنج درصد به سرعت افزوده شد و دو هفته آخر با ۹۵ درصد سرعت خاتمه یافت (جدول ۱). هر تناوب شامل دو دقیقه فعالیت با فواصل استراحتی غیرفعال یک دقیقه همراه بود. هفته اول شامل شش مرحله تمرینی بود که در هفته چهارم به ده مرحله رسید (۱۵).

جدول ۱. برنامه تمرینی چهار هفته‌ای اینتروال شدید

هفته تمرینی				
۴	۳	۲	۱	
۱۰	۱۰	۸	۶	جلسات تمرینی / وهله‌های تمرین
۹۵	۹۵	۹۰	۸۵	سرعت میانگین در هفته (درصد سرعت پیشینه)
۲۸	۲۸	۲۶/۴	۲۴/۹	پیر
۳۲	۳۲	۳۰/۳	۲۸/۶	میانگین سرعت در هفته تمرینی (متر بر دقیقه)
				بالغ

1. Agd Training
2. Agd control

استخراج RNA و سنتز Cdna و Real time- PCR

برای استخراج total RNA از عضله بازکننده طویل انگشتان، این عضله به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent هموزن شد. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول در ۴ C، ۱۰ min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ C، ۱۵ min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ C، ۱۰ min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شست و شو و در ۲۰ μL آب RNase-Free حل شد. غلظت RNA (با استفاده از دستگاه Eppendorf, Germany) سنجش شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. سنتز cDNA با استفاده از ۱ μg RNA و با استفاده از کیت سنتز cDNA ساخت فرمنتاز و آنزیم transcriptase Reverse Mulv انجام گرفت.

اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 با روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix syber green II انجام گرفت (Applied Biosystems, USA). مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ μL و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های TRAF6 و MuRF1 و در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc. Seoul, Korea) انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ گزارش شده است، ضمن اینکه از β-actin به عنوان ژن کنترل استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه - ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن‌ها	توالی پرایمر	بانک ژن
TRAF6	F=AACTGACAGGTGTTGGATGATCTC R=ACTCCAGGTAAAGCAGAAACAAGC	NM_007393.4
MuRF1	F=ATCCTGGACGAGAAGAAGAGCGAG R=TTGGAGGCTTCTACAATGCTCTTG	NM_007393.4
β-actin	F: GCCCTGAGGCTCTTTCCAG R: TGCCACAGGATCCATACCC	NM_007393.4

در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار و در بخش آمار استنباطی به منظور تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف (KS) استفاده شد. همچنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven سنجیده شد. برای تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری two way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey و به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS-22 استفاده شد.

یافته‌های تحقیق

در جدول ۳ تغییرات توده بدنی پیش و پس از دوره تمرینی در گروه‌های مختلف پژوهش و در جدول ۴ وزن عضله EDL در گروه‌های پژوهش ارائه شده است.

جدول ۳. میانگین توده بدنی پیش و پس از تمرین در گروه‌های پژوهش

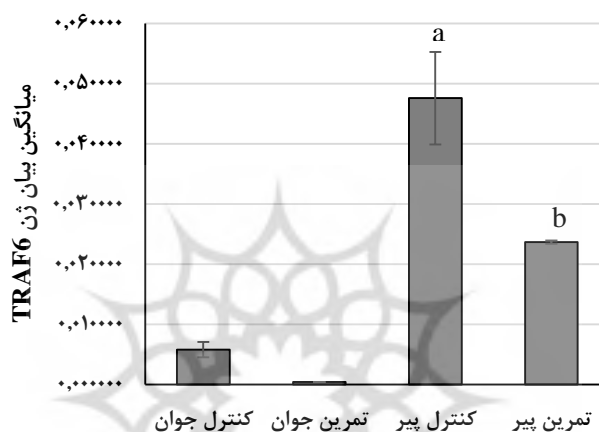
گروه‌ها	توده بدنی (گرم)	
	پیش از تمرین	پس از تمرین
بالغ کنترل	۲۴±۰/۷۰۷	۲۵/۷۳۰±۱/۳۰۳
بالغ تمرین	۲۳/۸۰۰±۱/۳۰۳	۲۵/۶۰۰±۲/۴۰۸
پیر کنترل	۳۲/۸۰۰±۱/۶۴	۳۰/۶۷۰±۰/۴۴۷
پیر تمرین	۳۰/۷۰۰±۳/۹۶۲	۳۰/۲۰۰±۳/۳۶۳

جدول ۴. میانگین تغییرات وزن عضله EDL

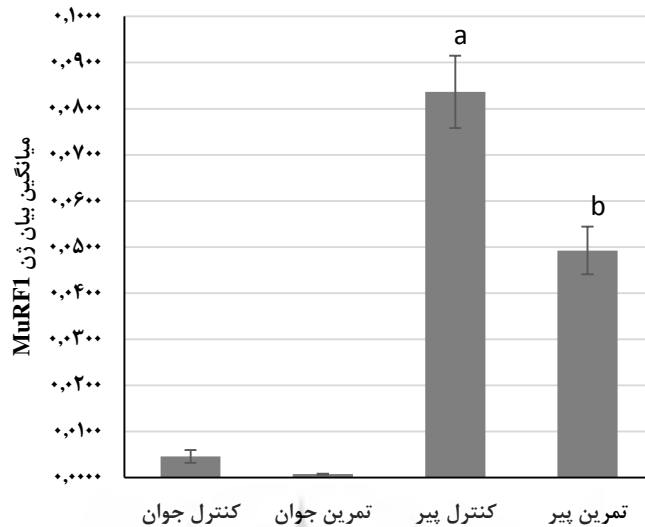
گروه‌ها	بالغ کنترل	بالغ تمرین	پیر کنترل	پیر تمرین
وزن EDL (میلی گرم)	۱۳/۵۶۷±۰/۵۱۷	۱۴/۴۷۲±۰/۳۴۹	۱۴/۳۴۳±۰/۵۳۹	۱۴/۷۶۸±۱/۱۳۶

پیش از انجام آزمون‌های آماری به منظور بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و تجانس واریانس از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و Levens استفاده شد و نتایج این آزمون برای متغیرهای توده بدنی، میزان بیان ژن‌های TRAF6، MuRF1 و وزن عضله EDL $P \geq 0/05$ بود، بنابراین تمامی متغیرها از توزیع نرمال و تجانس واریانس برخوردارند. همان‌طور که در شکل ملاحظه می‌شود، نتایج آنالیز واریانس دوطرفه افزایش معناداری را در عامل پیری بر سطوح بیان ژن TRAF6 در عضله EDL گروه‌های پیر کنترل و تمرین با

گروه‌های بالغ کنترل و تمرین پس از چهار هفته تمرین تناوبی شدید نشان می‌دهد ($P=0/0001$). بنابراین، پیری بر بیان ژن TRAF6 در عضله بازکننده طویل انگشتان موش‌های C57BL/6 اثر دارد. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود، نتایج آنالیز واریانس دوطرفه افزایش معناداری را در عامل پیری بر سطوح بیان ژن آتروژین در عضله EDL گروه‌های پیر کنترل و تمرین با گروه‌های بالغ کنترل و تمرین پس از چهار هفته تمرین تناوبی شدید نشان می‌دهد ($P=0/0001$). بنابراین، پیری بر بیان ژن MuRF1 در عضله بازکننده طویل انگشتان موش‌های C57BL/6 اثر دارد.



شکل ۱. بیان ژن TRAF6 در گروه‌های مختلف پژوهش. a: $P<0/05$ در مقایسه با گروه کنترل جوان. b: $P<0/05$ در مقایسه با گروه کنترل پیر



شکل ۲. بیان ژن MuRF1 در گروه‌های مختلف پژوهش. a: $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل جوان. b: $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل پیر

بحث

کاهش توده عضلانی از برجسته‌ترین مشخصه‌های پیری و با کاهش قدرت و عملکرد عضله و در نتیجه ناتوانی در اجرای کارهای روزمره همراه است. هرچند گزارش‌هایی مبنی بر آتروفی مشابه در بین تارهای مختلف وجود دارد، بیشتر مطالعات نشان داده‌اند تارهای نوع دو بیشتر از تارهای نوع یک تحت تأثیر آتروفی ناشی از پیری قرار می‌گیرند (۱۶، ۹). آتروفی عضلانی نتیجه تسریع در فرایندهای تخریب نسبت به سنتز پروتئین است. عوامل مختلفی مانند از بین رفتن عصب تارهای عضلانی (۱۷، ۵)، التهاب، بدعملکردی میتوکندریایی و فشار اکسایشی (۱۷)، کاهش تعداد سلول‌های ماهواره‌ای (۴) و کاهش بیان فاکتورهای رشدی (۱۹، ۱۸) به‌عنوان سازوکارهای درگیر در آتروفی عضلانی ناشی از پیری شناخته شده‌اند.

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که پیری به‌طور معناداری وزن عضله EDL را تحت تأثیر قرار داده است و همان‌طور که آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد، اختلاف معناداری بین گروه بالغ و پیر کنترل وجود دارد و همسو با نتایج تحقیقات پیشین توده عضلانی در موش‌های پیر کاهش یافته است (۲۰).

ادبیات موجود نشان می‌دهد که افزایش سن همراه با تخریب نورون‌های حرکتی در تارهای عضلانی نوع دو است. از بین رفتن عصب تارهای عضلانی بیان پروتئولیزهای MuRF1 (۲۱)، تولید ROS

میتوکندریایی (۱۷) را در عضله افزایش می‌دهد. از سوی دیگر پائول و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که بیان TRAF6 در شرایط بدون عصب شدن افزایش می‌یابد و موش‌های فاقد TRAF6 در شرایط قطع عصب آتروفی کمتری را در تارهای عضلانی نسبت به موش‌های کنترل بدون عصب‌شده نشان دادند (۲). می‌توان گفت که احتمالاً تمرین ورزشی استفاده‌شده در پژوهش حاضر از طریق بهبود وضعیت عصب‌رسانی، بیان TRAF6 و MuRF1 را کاهش داده است. در همین زمینه قدیری و همکاران نشان دادند که در پی تمرینات تناوبی با شدت بالا در دوران پیری بیان Sema3a که عامل هدایت عصبی درگیر در فرایند تخریب عصب است، کاهش یافته است (۲۲).

علاوه بر این، نشان داده شده که التهاب از سازوکارهای درگیر در آتروفی عضلانی ناشی از پیری است (۲۳). گزارش شده است که تأثیرات حذف TRAF6 روی مهار آتروفی عضلانی و فعال شدن مسیرهای کاتابولیکی در شرایط کاجکسی سرطان، بیشتر از بدون عصب شدن است (۲) و این اثر احتمالاً به دلیل افزایش سطح سایتوکاین‌های کاتابولیکی و فیبروزی در آزمودنی‌های حامل تومور است که در نتیجه افزایش التهاب سیستمیک افزایش می‌یابند (۲۴). مرور ادبیات نشان می‌دهد که سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مختلف و عوامل مشتق از تومور برای فعال کردن مسیرهای پایین‌دستی p38 MAPK و NFκB که آتروفی عضلانی را واسطه‌گری می‌کنند، نیازمند TRAF6 هستند (۲۵). بنابراین افزایش TRAF6 در گروه کنترل پیر می‌تواند به دلیل بالا بودن سطوح التهاب سیستمیک در آنها و در نتیجه فعال شدن مسیرهای التهابی درگیر در آتروفی عضلانی و در پی آن افزایش نیاز به TRAF6 باشد.

علاوه بر این، همسو با نتایج پائول و همکاران (۲۰۱۰) که گزارش کردند حذف TRAF6 با کاهش بیان MuRF1 و MAFbx همراه است، نتایج این پژوهش هم نشان داد که بیان MuRF1 پس از تمرینات تناوبی شدید کاهش یافته است و این همراستا با کاهش در TRAF6 بود. این تنظیم کاهشی MuRF1 از سوی TRAF6 می‌تواند نتیجه مهار مسیرهای کاتابولیکی و رونویسی باشد، زیرا نشان داده شده است که حذف TRAF6 ویژه عضله موجب مهار فعال شدن مسیرهای NFκB، AMPK، MAPK و JNK می‌شود (۲). همچنین در تأیید این موضوع که مسیرهای ذکر شده می‌توانند در تنظیم لیگازهای یوبی کوئیتین درگیر باشند، می‌توان به پژوهش‌هایی اشاره کرد که نشان داده‌اند TNF-α از طریق مسیرهای p38 MAPK و NFκB بیان لیگازهای آتروژین ۱ / MAFbx و MuRF1 را در عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد (۲۶).

از سوی دیگر احتمالاً تمرین ورزشی علاوه بر تنظیم کاهشی TRAF6 توانسته است از طریق سایر مسیرها بیان MuRF1 را کاهش دهد. به‌طور مثال همان‌طور که اشاره شد، نشان داده شده است که TNF-

α از طریق مسیرهای p38 MAPK و NF κ B بیان لیگازهای آتروفژین ۱ / MAFbx و MuRF1 را در عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد (۲۷). التهاب از سازوکارهای درگیر در آتروفی عضلانی ناشی از پیری است و یکی از دلایل افزایش MuRF1 در گروه پیر کنترل می‌تواند همین بالا بودن التهاب باشد و احتمالاً تمرین ورزشی با تأثیرات ضدالتهابی خود این مسیر را تحت تأثیر قرار داده است (۲۳). همچنین فعالیت ورزشی با تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۲۸) می‌تواند از افزایش بیان پروتئازوم‌های عضلانی ناشی از افزایش ROS جلوگیری کند (۲۷).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن‌های TRAF6 و MuRF1 در عضله EDL موش‌های پیر افزایش یافته است و این همراه با کاهش در توده عضله EDL بود. از سوی دیگر، هرچند در پژوهش حاضر فراخوانی تارهای نوع تند با این نوع تمرینات ورزشی مشخص نشد، با توجه به ادبیات موجود و با احتیاط می‌توان گفت که احتمالاً تمرین اینتروال شدید می‌تواند با افزایش فراخوانی تارهای نوع تند بیان این ژن‌ها را تعدیل کرده و به‌علاوه با آتروفی عضلانی ناشی از پیری مقابله کند. بنابراین، در شرایط سالمندی می‌توانند اجرای تمرینات با شدت بالا از آثار مخرب کاهش توده عضلانی بر انجام کارهای زندگی روزمره و ابتلا به بیماری‌های متابولیکی جلوگیری کنند.

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.

منابع و مأخذ

1. 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.
2. Paul PK, Gupta SK, Bhatnagar S, Panguluri SK, Darnay BG, Choi Y, et al. Targeted ablation of TRAF6 inhibits skeletal muscle wasting in mice. *The Journal of cell biology*. 2010;191(7):1395-411.
3. Lexell J, Taylor CC, Sjöström M. What is the cause of the ageing atrophy?: Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15-to 83-year-old men. *Journal of the neurological sciences*. 1988;84(2-3):275-94.

4. Verdijk LB, Koopman R, Schaart G, Meijer K, Savelberg HH, van Loon LJ. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2007;292(1):E151-E7.
5. Rowan SL, Rygiel K, Purves-Smith FM, Solbak NM, Turnbull DM, Hepple RT. Denervation causes fiber atrophy and myosin heavy chain co-expression in senescent skeletal muscle. *PloS one*. 2012;7(1):e29082.
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.
7. Paul PK, Bhatnagar S, Mishra V, Srivastava S, Darnay BG, Choi Y, et al. The E3 ubiquitin ligase TRAF6 intercedes in starvation-induced skeletal muscle atrophy through multiple mechanisms. *Molecular and cellular biology*. 2012;32(7):1248-59.
8. Sun H, Gong Y, Qiu J, Chen Y, Ding F, Zhao Q. TRAF6 inhibition rescues dexamethasone-induced muscle atrophy. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(6):11126-41.
9. Aagaard P, Suetta C, Caserotti P, Magnusson SP, Kjær M. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2010;20(1):49-64.
10. Sheffield-Moore M, Yeckel C, Volpi E, Wolf S, Morio B, Chinkes D, et al. Postexercise protein metabolism in older and younger men following moderate-intensity aerobic exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2004;287(3):E513-E22.
11. Raue U, Slivka D, Jemiolo B, Hollon C, Trappe S. 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*. 2006;101(1):53-9.
12. Gielen S, Sandri M, Kozarez I, Kratzsch J, Teupser D, Thiery J, et al. Exercise training attenuates MuRF-1 expression in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure independent of age: the randomized Leipzig Exercise Intervention in Chronic Heart Failure and Aging catabolism study. *Circulation*. 2012;125(22):2716-27.
13. Drey M, Krieger B, Sieber CC, Bauer JM, Hettwer S, Bertsch T, et al. Motoneuron loss is associated with sarcopenia. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2014;15(6):435-9.
14. Glass DJ. Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Nature cell biology*. 2003;5(2):87.
15. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2007;293(4):E916-E22.
16. Nilwik R, Snijders T, Leenders M, Groen BB, van Kranenburg J, Verdijk LB, et al. The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size. *Experimental gerontology*. 2013;48(5):492-8.

17. Muller FL, Song W, Jang YC, Liu Y, Sabia M, Richardson A, et al. Denervation-induced skeletal muscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production. *American journal of physiology-Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2007;293(3):R1159-R68.
18. Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease models & mechanisms*. 2013;6(1):25-39.
19. Sandri M, Barberi L, Bijlsma A, Blaauw B, Dyar K, Milan G, et al. Signalling pathways regulating muscle mass in ageing skeletal muscle. The role of the IGF1-Akt-mTOR-FoxO pathway. *Biogerontology*. 2013;14(3):303-23.
20. Morissette MR, Stricker JC, Rosenberg MA, Buranasombati C, Levitan EB, Mittleman MA, et al. Effects of myostatin deletion in aging mice. *Aging cell*. 2009;8(5):573-83.
21. Gomes AV, Waddell DS, Siu R, Stein M, Dewey S, Furlow JD, et al. Upregulation of proteasome activity in muscle RING finger 1-null mice following denervation. *The FASEB Journal*. 2012;26(7):2986-99.
22. GhadiriHormati L, Aminaei M, Dakhili AB. The Effect of High-Intensity Exercise Training on Gene Expression of Semaphorin 3A in Extensor Digitorum Longus Muscles of Aged C57bl/6 Mice. *scientific journal of ilam university of medical sciences*. 2017;25(1):92-102.
23. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature reviews immunology*. 2011;11(9):607.
24. Argilés JM, Busquets S, Toledo M, López-Soriano FJ. The role of cytokines in cancer cachexia. *Current opinion in supportive and palliative care*. 2009;3(4):263-8.
25. Zapata JM, Lefebvre S, Reed JC. Targeting TRAFs for therapeutic intervention. *TNF Receptor Associated Factors (TRAFs)*: Springer; 2007. p. 188-201.
26. Adams V, Mangner N, Gasch A, Krohne C, Gielen S, Hirner S, et al. Induction of MuRF1 is essential for TNF- α -induced loss of muscle function in mice. *Journal of molecular biology*. 2008;384(1):48-59.
27. Li Y-P, Chen Y, John J, Moylan J, Jin B, Mann DL, et al. TNF- α acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogin1/MAFbx in skeletal muscle. *The FASEB Journal*. 2005;19(3):362-70.
28. Cunha TF, Bacurau AV, Moreira JB, Paixão NA, Campos JC, Ferreira JC, et al. Exercise training prevents oxidative stress and ubiquitin-proteasome system overactivity and reverse skeletal muscle atrophy in heart failure. *PloS one*. 2012;7(8):e41701.