

The effect of eight weeks of moderate and high intensity resistance training on miR-23a, Atrogin-1 and MuRF gene expression in fast and slow twitch muscles in Wistar older rats

Zohreh Shanazari¹, Mohammad Faramarzi², Mohammad Reza Kordi^{3*}

1. PhD Student in Exercise Physiology, Sport Sciences Research Institute Research Opportunity Student, Tehran, Iran.
2. Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.
3. Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Aim: Muscle atrophy is an active process controlled by specific signaling pathways and transcriptional programs. Atrogin-1/MAFbx and MuRF1 are up-regulated in different models of muscle atrophy and is responsible for increased protein degradation through the ubiquitin proteasome pathway. The purpose of this study was to investigate the effect of moderate and high intensity resistance training on miR-23a, Atrogin-1 and MuRF gene expression in fast and slow twitch muscles in elderly rats. **Materials and Methods:** Thirty male Wistar rats (23 months old) were randomly divided into three groups (n=10) including moderate-intensity resistance training, high-intensity resistance training and the control groups. Resistance training were performed during eight weeks of climbing a ladder with high intensity (80% Maximum voluntary carrying capacity/MVCC) and moderate intensity (60% of MVCC) for 5 days a week. Isolation of Soleus muscle and Flexor hallucis longus (FHL) was performed immediately after blood sampling in sterile conditions. MiR-23a, Atrogin-1 and MuRF expression were measured by RT-PCR method in Soleus and FHL muscles. The statistical analysis was performed by One-way & Two-way ANOVA tests with significance level of $p < 0.05$. **Results:** The results showed that the expression of MuRF and Atrogin-1 genes in both resistance groups were significantly lower than those the control group and miR-23a expression expression in both high and moderate resistance groups was significantly higher than the control group ($p < 0.05$). But there was no significant difference between the effect of high and moderate intensity resistance training on miR-23a, MuRF, and Atrogin-1 expression in both muscles ($p > 0.05$). **Conclusion:** It seems that resistance training with moderate and high-intensity can decrease the resting levels and gene expression of factors associated with muscular atrophy (miR-23a) and its target genes (Atrogin-1, MuRF) in older rats, and these exercises could lead to the prevention of sarcopenia.

Keywords: Resistance training, miR-23a gene, Atrogin-1 gene, MuRF gene, Aging.

Cite this article:

Shanazari, Z., Faramarzi, M., & Kordi, M.R. (2022). The effect of eight weeks of moderate and high intensity resistance training on miR-23a, Atrogin-1 and MuRF gene expression in fast and slow twitch muscles in Wistar older rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 10(24), 42-52.

* Corresponding Author, Address: Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Amir Abad Shomali, Tehran, Iran;
E-mail: mrkordi@ut.ac.ir

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4339.1639>

اثر هشت هفته تمرین مقاومتی با شدت‌های بالا و متوسط بر بیان ژن‌های *MuRF*، *miRNA-23a* و *آتروژین-۱* در عضلات تند و کند انقباض رت‌های نر سالمند نژاد ویستار

زهرا شانظری^۱، محمد فرامرزی^۲، محمدرضا کردی^۳

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، فرصت مطالعاتی پژوهشگاه علوم ورزشی، تهران، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
۳. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آتروفی عضلانی یک فرآیند فعال کنترل شده بوسیله مسیره‌های پیام‌رسانی و برنامه‌های رونویسی ویژه است. آتروژین-۱/MAFbx و *MuRF1* در مدل‌های مختلف آتروفی عضلانی، به طور مثبت تنظیم می‌شوند و مسئول افزایش تجزیه پروتئین از طریق سیستم پروتئازوم یوبیکویتین هستند. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر یک دوره تمرین مقاومتی با شدت‌های بالا و متوسط بر بیان ژن‌های *MuRF*، *miRNA-23a* و آتروژین-۱ در عضلات تند و کند انقباض رت‌های نر سالمند نژاد ویستار بود. **روش تحقیق:** در این تحقیق ۳۰ سر موش صحرایی سالمند (۲۳ ماهه) نژاد ویستار به شکل تصادفی به سه گروه (n=۱۰) شامل تمرین مقاومتی با شدت متوسط (MIRT)، تمرین مقاومتی با شدت بالا (HIRT) و کنترل تقسیم شدند. برنامه تمرین مقاومتی شامل هشت هفته تمرین بالا رفتن از نردبان با شدت زیاد و متوسط (به ترتیب با ۸۰ و ۶۰ درصد حداکثر ظرفیت حمل ارادی) و با تکرار پنج روز در هفته بود. جداسازی عضله نعلی و عضله خم کننده دراز شست پا بلافاصله بعد از خونگیری در شرایط استریل انجام شد. بیان ژن *MuRF*، آتروژین-۱ و *miR-23a* با تکنیک RT-PCR اندازه‌گیری شد. تجزیه تحلیل آماری با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و دو طرفه در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ صورت گرفت. **یافته‌ها:** بیان ژن‌های *MuRF* و آتروژین-۱ پس از هشت هفته در دو گروه مقاومتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار و بیان *miR-23a* افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($p < 0.05$)؛ اما اختلاف تأثیر دو مداخله صورت گرفته بر *MuRF*، *miR-23a* و آتروژین-۱ در هر دو عضله معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی با شدت‌های متوسط و بالا، می‌تواند باعث کاهش سطوح استراحتی عوامل مرتبط با آتروفی عضلانی و ژن‌های هدف آن در رت‌های سالمند شود و پیشرفت سارکوپنیا در دوره سالمندی را مهار نماید.

واژه‌های کلیدی: تمرین مقاومتی، ژن *miR-23a*، ژن *MuRF*، ژن آتروژین-۱، سالمندی.

مقدمه

عضله اسکلتی بافتی کاملاً سازگار است که ۳۰ تا ۴۰ درصد از کل توده بدن را شامل می‌شود و به طور قابل ملاحظه‌ای با افزایش سن به خطر می‌افتد. کاهش توده عضلانی در هر دهه تقریباً ۱۰ درصد است و با افزایش سن، سرعت بیشتری پیدا می‌کند (لویس^۱ و دیگران، ۲۰۱۹). این کاهش پروتئین عضلانی مربوط به سن را باید به عدم تعادل بین سنتز پروتئین عضله و میزان تجزیه نسبت داد که منجر به تعادل منفی پروتئین عضله و با گذشت زمان، کاهش توده عضله اسکلتی می‌شود (برد^۲ و دیگران، ۲۰۱۳). انواع مختلفی از ژن‌ها که در مجموع آتروژن‌ها نامیده می‌شوند، در آتروفی عضلانی نقش دارند (بودین^۳ و دیگران، ۲۰۰۱). برجسته‌ترین این آتروژن‌های عضلانی، احتمالاً دو لیگاز یوبیکوئیتین E3^۴ و MuRF1^۵ و آتروژین-۱^۶ (که به عنوان MAFbx^۷ و FBXO32 نیز شناخته می‌شوند) می‌باشند (پری^۸ و دیگران، ۲۰۱۶؛ بودین و دیگران، ۲۰۰۱) که برای آتروفی عضلانی در طیف گسترده‌ای از شرایط استرس، از جمله عضله و سالمندی، ضروری هستند. در این شرایط استرسی، گیرنده گلوکوکورتیکوئید و عامل رونویسی FOXO، ژن MuRF-1 را فعال می‌کنند؛ در نتیجه بیان پروتئین‌های MAFbx و MuRF-1 را افزایش می‌دهند و آتروفی عضلانی را تقویت می‌کنند (ایبرت^۹ و دیگران، ۲۰۱۹).

تخریب پروتئین، ناشی از انواع حالت‌های پاتولوژیک مانند استفاده نکردن از اندام، کاهش بار روی اندام و سالمندی است (وانگ و پسین^{۱۰}، ۲۰۱۳). علت آتروفی عضلانی وابسته به سن، یک فرآیند تخریب چند وجهی است که شامل آتروفی میوفیبریل‌های سریع (IIX و IIA) و کاهش تعداد کل میوفیبریل‌ها است (لویس و دیگران، ۲۰۱۹). شواهد محکمی وجود دارد که نشان می‌دهد با افزایش سن، تارهای عضلانی نوع II نسبت به الیاف نوع I در برابر آتروفی، آسیب پذیرتر هستند (کرت^{۱۱} و دیگران، ۲۰۱۶، نارسیسی-مافولی^{۱۲}، ۲۰۱۰).

به دلیل ویژگی‌های فیزیولوژیکی مشخص و فعالیت متابولیکی، زیر گروه‌های تارهای عضلانی اسکلتی به سیگنال‌های ویژه آتروفی پاتوفیزیولوژیک، حساسیت متفاوت دارند (میلجکویک^{۱۳} و دیگران، ۲۰۱۵؛ وانگ و پسین، ۲۰۱۳). به عنوان مثال، تارهای قرمز اکسیداتیو نوع I، سرعت سنتز و تجزیه پروتئین بیشتری دارند و

نسبت به الیاف گلیکولیتیک نوع II، در برابر محرومیت از غذا بیشتر مقاومت می‌کنند. در مقابل، تارهای نوع I نسبت به عدم تحرک، حذف جاذبه و آتروفی ناشی از قطع عصب؛ حساسیت بیشتری دارند، در حالی که الیاف نوع II در برابر سالمندی آسیب‌پذیرتر هستند (میلجکویک و دیگران، ۲۰۱۵). گزارش شده که FOXO1 مرتبط با آتروفی عضلانی در درجه اول، تارهای تند انقباض را تحت تاثیر قرار می‌دهد (وانگ و پسین، ۲۰۱۳). اولویت FOXO1 نوع II ممکن است به MuRF-1 عضله ارتباط داشته باشد (رید^{۱۴} و دیگران، ۲۰۱۲)، و نشان داده شده که آتروفی عضلانی در MuRF-1 موش‌های حذف شده، کاهش می‌یابد (موریسکات^{۱۵} و دیگران، ۲۰۱۰). با این حال، نظرات متناقضی در مورد کنترل نوع تار خاص FOXO1 وجود دارد (وانگ و پسین، ۲۰۱۳).

به تازگی، مشخص شده است که miR-23a ترجمه MAFbx/atrogen-1 یا MuRF1 را به روش وابسته به ۳'-UTR، سرکوب می‌کند (وادا^{۱۶} و دیگران، ۲۰۱۱). در واقع، بیان بیش از حد miR-23a در عضله اسکلتی و تارچه‌ها، منجر به مقاومت در برابر آتروفی عضلانی ناشی از دگزامتازون^{۱۷} و گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود (وادا و دیگران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، گزارش شده است بیان خارج رحمی miR-23a برای محافظت از عضلات در برابر آتروفی در حالت in vivo و in vitro کافی است (وادا و دیگران، ۲۰۱۱). محققان با استفاده از رت‌های تراریخته miR-23a دریافته‌اند که miR-23a در برابر آتروفی عضله اسکلتی ناشی از گلوکوکورتیکوئید را مقاوم است (وادا و دیگران، ۲۰۱۱). افزون بر این، فعالیت ورزشی یا سایر مداخله‌های درمانی (مانند خاموش کردن ملکول میوستاتین^{۱۸})، می‌تواند از آتروفی عضله جلوگیری یا روند آن را معکوس نماید. هر گونه تاثیر miRNA بر این بیماری یا روش‌ها می‌تواند بر آتروفی عضلانی تاثیر بگذارد (وانگ و پسین، ۲۰۱۳). بنابراین، برای روشن شدن ویژگی تار ژن‌های مربوط به آتروفی ناشی از FOXO-1، به ویژه در افراد سالمند در نتیجه مداخله‌های ورزشی، مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

تمرینات ورزشی مقاومتی، پیشرونده پذیرفته‌شده‌ترین استراتژی برای رشد مجدد عضلات در افراد سالمند دچار آتروفی است و اثربخشی این مداخله‌های تمرینی نسبت به مداخله‌های جایگزین دارو درمانی یا تغذیه‌ای

1. Lavin
2. Burd
3. Bodine
4. E3 ubiquitin ligases
5. Muscle-specific ring finger-1
6. Atrogen-1

7. Muscle atrophy F-Box
8. Perry
9. Ebert
10. Wang & Pessin
11. Cartee
12. Narici-Maffulli

13. Miljkovic
14. Reed
15. Moriscot
16. Wada
17. Dexamethasone
18. Myostatin

مرتبط با آتروفی (آتروژین-۱ و MURF-1) و miR-23a عضلانی در افراد سالمند داشته باشند. از این رو، هدف اصلی مطالعه حاضر، بررسی تاثیر تمرین‌های مقاومتی با شدت بالا و متوسط بر بیان miR-23a، آتروژین-۱ و MURF-1 در عضلات تند و کند انقباض رت‌های سالمند نژاد ویستار است.

روش تحقیق

در پژوهش حاضر، تعداد ۳۰ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی $438/2 \pm 37/8$ گرم در سن ۲۳ ماهگی از موسسه پاستور ایران تهیه و در شرایط دمایی 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی و رطوبت نسبی ۳۰ تا ۵۰ درصد نگهداری گردیدند و با غذای مخصوص موش صحرایی و آب، تغذیه شدند. همچنین، همه آزمایش‌ها و مراحل بررسی، مطابق با موازین کمیته اخلاق برای حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهرکرد و مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. بعد از گذشت یک هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه، رت‌ها به صورت تصادفی بر اساس وزن اولیه، در دو گروه تمرینی (تمرین مقاومتی با شدت متوسط و تمرین مقاومتی با شدت بالا) و یک گروه کنترل قرار گرفتند (هر گروه ۱۰ سر موش). گروه کنترل تحت مداخله خاصی قرار نگرفت.

پروتکل‌های تمرین مقاومتی: به منظور آشنا سازی با نحوه اجرای پروتکل‌های تمرینی، رت‌ها در هر دو گروه تمرین مقاومتی، پنج روز به صورت بدون وزنه تمرین بالا رفتن از نردبان را به اجرا درآوردند. تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از یک نردبان تمرینی مخصوص (به طول ۱۱۰ سانتی‌متر، شیب ۸۰ درجه، ۲۶ پله با فضای دو سانتی‌متری بین پله‌ها) به اجرا درآمد (سینگولانی^۳ دیگران، ۲۰۱۷). پس از آخرین جلسه سازگاری، آزمون حداکثر ظرفیت حمل ارادی^۴ (MVCC) اندازه‌گیری شد، بدین صورت که وزنه‌ای معادل ۷۵ درصد وزن بدن حیوان به دم آن‌ها متصل شد و حیوان شروع به بالا رفتن از نردبان کرد. سپس به ازای هر تکرار موفق، ۳۰ گرم به بار تمرینی تکرار شده قبلی اضافه شد. در بالای نردبان، دو دقیقه استراحت بین هر صعود وجود داشت. این روش تا زمانی که رت موفق به صعود کل طول نردبان طی سه تلاش متوالی نشود، تکرار گردید (دکاسیاه^۵ و دیگران، ۲۰۱۷؛ لکسل^۶ و دیگران، ۱۹۸۸). سپس گروه‌های تمرینی مقاومتی به مدت پنج جلسه در هفته به مدت هشت هفته، پروتکل تمرینی (با شدت متوسط یا شدید) را انجام دادند.

تایید شده است (کرت و دیگران، ۲۰۱۶). با این حال، مکانیزم‌های مسئول تغییر در توده عضلات ناشی از این نوع تمرینات، به طور کامل روشن نشده و تا آنجا که ما بررسی کردیم، تاثیر شدت‌های متفاوت تمرینات مقاومتی بر بیان پروتئین‌های MURF-1 و MAFbx در عضلات مختلف تند و کند انقباض در رت‌های سالمند بخوبی بررسی نشده است. برخی مطالعات، اثرات تمرین مقاومتی بر MURF-1 و آتروژین-۱ را در مدل‌های حیوانی نشان داده‌اند. به عنوان نمونه، نشان داده شده است که تمرینات مقاومتی با کاهش بیان ژن آتروژین-۱ و MURF1 در عضله پهن جانبی رت‌های نر سالمند، از آتروفی عضلانی جلوگیری می‌کند (مرادی و دیگران، ۲۰۲۰). علاوه بر این، مطالعه‌ای در رت‌های سالمند گزارش کرده که تمرین مقاومتی بیان ژن ملکول‌های مرتبط با اندازه تار رت‌های سالمند را تنظیم می‌کند (ریبیرو^۱ و دیگران، ۲۰۱۷). این محققین دریافتند که این پاسخ‌ها، با کاهش کاتابولیک (FOXO-1، آتروژین-۱ و MURF-1) درون سلولی در عضلات رت‌های سالمند تمرین کرده همراه است.

به طور کلی، اگر چه مطالعه‌های قبلی در مورد اثرات تمرین مقاومتی بر بیان ژن مربوط با آتروفی نشان دهنده کاهش مقادیر این ژن‌ها در عضلات آزمودنی‌های سالمند می‌باشد، با این حال، اطلاعات کمی در مورد مکانیسم‌هایی وجود دارد که به موجب آن تمرین مقاومتی باعث این تغییر می‌شود. از طرف دیگر، چندین مطالعات دیگری مبنی بر اثرات مختلف تمرین مقاومتی شدید بر پاسخ و سازگاری عضلات وجود دارد. به عنوان مثال، تاناکا و دیگران (تاناکا^۲ و دیگران، ۲۰۱۵) تاثیر شدت تمرین مقاومتی معادل ۵۰ و ۷۰ درصد از حداکثر وزنه بلند شده را بر عضله اسکلتی آتروفی شده در رت‌های صحرایی بررسی کرده و گزارش کرده‌اند که بیان mRNA مربوط به MURF-1 در عضلات پس از تمرین با شدت ۷۰ درصد نسبت به وضعیت بدون تمرین، به طور قابل توجهی پایین‌تر است. به نظر می‌رسد که شدت تمرین مقاومتی ممکن است در پاسخ به تمرین موثر باشد. از طرف دیگر، تاثیر این مداخله‌ها بر نوع تار عضلانی در رت‌های سالمند کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین، یکی از نکات مهم در انتخاب مداخله‌های تمرین مقاومتی موثر در افراد سالمند در معرض آتروفی عضلانی، انتخاب شدت تمرینی مناسب می‌باشد. بر اساس فرضیه ما در این مطالعه، به نظر می‌رسد شدت‌های متفاوت تمرین مقاومتی بتوانند تاثیر متفاوتی بر بیان ژن‌های

1. Ribeiro

3. Singulani

5. de Cássia

2. Tanaka

4. Maximum voluntary carrying capacity

6. Lexell

در پی شستشو و سانتریفیوژ، RNA ها به فیبرهای دو لایه موجود در تیوب‌ها متصل گردیدند. در نهایت بافر نمکی اسید نوکلئوتیدهای باقی مانده در فیبرها شستشو داده شد تا RNA سالم استخراج گردد.

رونویسی معکوس، سنتز cDNA و RT-PCR سنتز cDNA برای miRNA و SNORD47 به عنوان هاوس کپینگ^۶ آن به صورت اختصاصی و با استفاده از کیت اختصاصی شرکت زیست رویش به روش ساقه- حلقه^۷ انجام شد. cDNA های سنتز شده با استفاده از ترکیبات و طبق دستورالعمل کیت جهت واکنش RT-PCR آماده گردیدند. پس از اتمام تقسیم بندی هر نمونه به درون دستگاه RT-PCR، فرآیند سنجش آغاز شد. کلیه اندازه‌گیری‌ها دو بار بر روی هر نمونه انجام گرفت. فرآیند RT-PCR با استفاده از نرم افزار Rotor-gene Q Corbett انجام شد. پروتکل Real time PCR برای اندازه‌گیری عوامل بر مبنای روش سایبرگرین^۸ شامل ۱۵ دقیقه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ سیکل مشتمل بر ۱۵ ثانیه (۹۵ درجه سانتی‌گراد)، ۶۰ ثانیه (۵۷ درجه سانتی‌گراد)، ۳۰ ثانیه (۷۲ درجه سانتی‌گراد) و در نهایت، مرحله ذوب شدن^۹ در دمای ۹۵-۵۷ درجه سانتی‌گراد بود. برای تعیین سطح نسبی mRNA ژن MuRF و آترورژین-۱ به روش RT-PCR نیمه کمی و با استفاده از کیت NORGEN کانادا با شماره تولید ۲۸۳۲۳ و براساس دستورالعمل کارخانه مربوطه استفاده شد (جدول ۲). پس از اتمام فرآیند و به دست آمدن چرخه‌های آستانه (Ct)، سنجش بیان متغیرهای مورد نظر با استفاده از محاسبه ریاضیاتی $2^{-\Delta\Delta Ct}$ صورت گرفت.

با توجه به سازگاری حیوانات با تمرین در انتهای هر چهار هفته، آزمون MVCC گرفته شد و شدت تمرین حیوانات بر اساس داده‌های جدید، تعیین گردید (ماکدو^۱ و دیگران، ۲۰۱۴؛ کروگ^۲ و دیگران، ۲۰۱۶). تمرین مقاومتی با شدت متوسط (MIRT) با ۶۰ درصد و تمرین مقاومتی با شدت بالا (HIRT) با ۸۰ درصد MVCC به اجرا در آمدند؛ بدین صورت که رت‌ها ۱۴ تا ۲۰ (تمرین مقاومتی متوسط) و ۹ تا ۱۰ (تمرین مقاومتی شدید) بار از نردبان صعود کردند و بین هر صعود، یک دقیقه استراحت داشتند (ماکدو و دیگران، ۲۰۱۴؛ کروگ و دیگران، ۲۰۱۶).

نحوه استخراج بافت: با رعایت مسائل اخلاقی، ۷۲ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین، بعد از بی‌هوشی کامل، عضله خم کننده دراز شست^۳ (تند انقباض) و نعلی^۴ (کند انقباض) رت‌ها در شرایط استریل خارج شد و با نیتروژن مایع فریز گردید و تا شروع هموژن کردن بافت‌ها، همه آن‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

نحوه استخراج RNA: استخراج RNA به وسیله دو کیت ۵۰ ری اکشن^۵ استخراج RNA ساخت شرکت Roche آلمان با شماره کاتالوگ Cat. No:CK-12033674001 و طبق دستورالعمل کیت؛ صورت گرفت. نحوه عملکرد کیت بدین صورت بود که ابتدا نمونه‌های بافت توسط یک بافر دناتور کننده حاوی جوهر نمکی گواندین، شکسته و یکنواخت شد، تا به طور آنی RNase غیرفعال شود و اطمینان حاصل شد که RNA سالم جدا می‌شود. بعد از اضافه کردن اتانول، RNA به لیاف قرار گرفته در میکروتیوب‌ها متصل شد و DNA های موجود به وسیله DNase از بین رفت. طی دوره‌های پی

جدول ۱. پرایمرهای استفاده شده RT-PCR

اسامی پرایمرها	توالی
miR-23a	CCGCTCGAGTTGATCAAAGGAAGCATCTGG
MuRF	Forward: 5'-AGCGACCTCAGCAGTTACTG-3' Reverse: 5'-ATCCATGGCGCTCCTTAGTAC-3'
Atrogin-1	Forward: 5'-GAACACATAGCAGAGGCCTTG-3' Reverse: 5'-GTTCTTCATTGGTGCCCTCTG-3'
β -Actin	Forward: 5'-CTATGAGGGTTACGCGCTCC-3' Reverse: 5'-ATGTCACGCACGATTTCCCT-3'

منظور بررسی تغییرات بیان ژن درون عضله در هر گروه، از آزمون ANOVA یک راهه و برای بررسی تغییرات بیان ژن درون عضله در گروه‌های مختلف، از آزمون ANOVA دو راهه (شدت تمرین * نوع عضله) بهره برداری گردید. در صورت معنی دار شدن تفاوت بین گروه‌ها، آزمون تعقیبی

روش‌های آماری: جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگوروف - اسمیرنوف^{۱۰} و جهت بررسی همگنی واریانس‌ها، از آزمون لون^{۱۱} استفاده شد. برای مقایسه وزن و MVCC از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) دو راهه (طرح زمان در گروه) استفاده شد. از طرف دیگر، به

- Macedo
- Krug
- Flexor hallucis longus muscle
- Soleus

- Reaction
- House keeping
- Stem-loop
- SYBR green

- Melting
- Kolmogorov- Smirnov
- Levene

بونفرونی^۱ برای مقایسه‌های زوجی بکار گرفته شد. تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS 25 صورت گرفت و سطح معنی‌داری در کلیه موارد $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

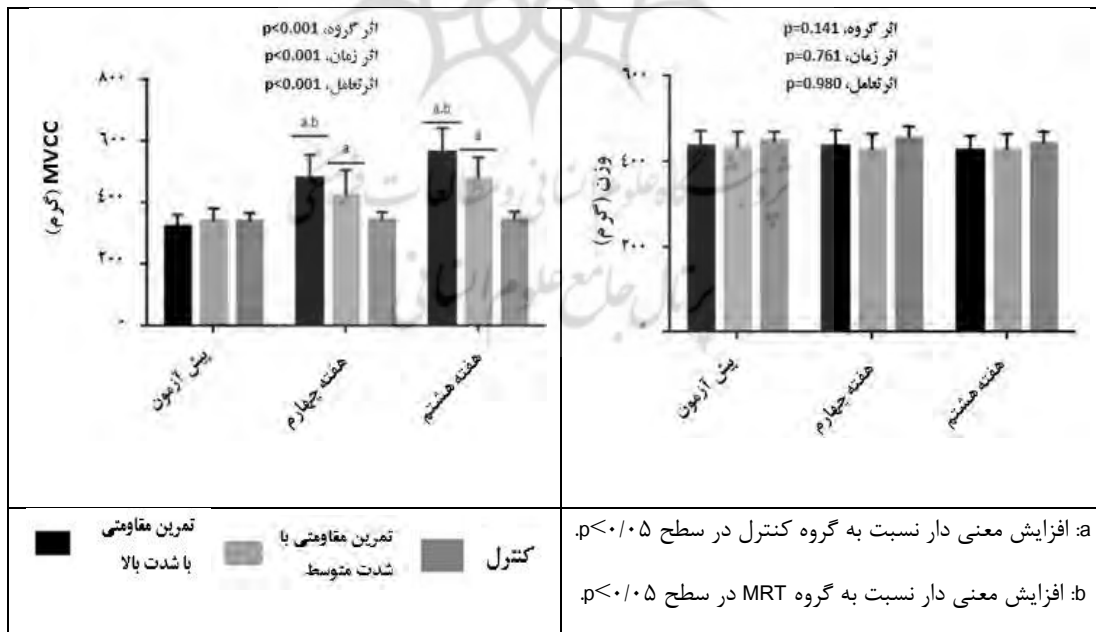
میانگین و انحراف استاندارد وزن و MVCC در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که اثر گروه ($\eta^2 = 0.06$ ، $p = 0.14$ و $F = 2.01$)، اثر زمان ($\eta^2 = 0.11$ ، $p = 0.001$ و $F = 3.01$)، و اثر تعاملی گروه * زمان ($\eta^2 = 0.35$ ، $p = 0.001$ و $F = 24.09$)، اثر زمان ($\eta^2 = 0.48$ ، $p = 0.001$ و $F = 24.09$)، اثر تعاملی گروه * زمان ($\eta^2 = 0.35$ ، $p = 0.001$ و $F = 3.01$)، و اثر تعاملی گروه * زمان ($\eta^2 = 0.35$ ، $p = 0.001$ و $F = 3.01$) در مورد MVCC معنی‌دار بود. پس از آن آزمون تعقیبی نشان داد که MVCC در HIRT و MIRT در مقایسه با گروه کنترل (هر دو با $p = 0.001$)، و در گروه HIRT در مقایسه با گروه MIRT افزایش معنی‌داری ($p = 0.02$) در هفته هشتم پیدا کرده است (شکل ۱).

بونفرونی^۱ برای مقایسه‌های زوجی بکار گرفته شد. تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS 25 صورت گرفت و سطح معنی‌داری در کلیه موارد $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

میانگین و انحراف استاندارد وزن و MVCC در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که اثر گروه ($\eta^2 = 0.06$ ، $p = 0.14$ و $F = 2.01$)، اثر زمان ($\eta^2 = 0.11$ ، $p = 0.001$ و $F = 3.01$)، و اثر تعاملی گروه * زمان ($\eta^2 = 0.35$ ، $p = 0.001$ و $F = 3.01$) در مورد MVCC معنی‌دار بود. پس از آن آزمون تعقیبی نشان داد که MVCC در HIRT و MIRT در مقایسه با گروه کنترل (هر دو با $p = 0.001$)، و در گروه HIRT در مقایسه با گروه MIRT افزایش معنی‌داری ($p = 0.02$) در هفته هشتم پیدا کرده است (شکل ۱).

جدول ۲. توصیف (میانگین \pm انحراف استاندارد) وزن و شاخص MVCC گروه‌های شرکت کننده

شاخص‌ها	گروه‌ها	پیش آزمون	هفته چهارم	هفته هشتم
وزن (گرم)	HIRT	۴۳۴/۱۲ \pm ۳۷/۸۰	۴۳۴/۳۷ \pm ۳۹/۲۸	۴۲۴/۶۲ \pm ۳۵/۰۶
	MIRT	۴۳۲/۰۰ \pm ۳۷/۹۳	۴۲۵/۲۲ \pm ۳۸/۹۳	۴۲۶/۰۰ \pm ۳۸/۷۵
	کنترل	۴۴۵/۵۰ \pm ۲۴/۰۷	۴۵۲/۰۰ \pm ۳۰/۹۳	۴۴۱/۸۷ \pm ۲۷/۹۵
MVCC (گرم)	HIRT	۳۲۵/۰۰ \pm ۳۵/۴۵	۴۸۱/۵۰ \pm ۷۵/۰۳	۵۶۳/۵۰ \pm ۷۹/۶۹
	MIRT	۴۳۰/۸۹ \pm ۴۱/۶۴	۴۲۵/۲۲ \pm ۸۱/۹۹	۴۷۴/۷۷ \pm ۷۳/۶۶
	کنترل	۳۴۰/۷۵ \pm ۲۶/۱۹	۳۴۳/۰۰ \pm ۲۷/۶۴	۳۴۳/۲۵ \pm ۲۸/۴۷

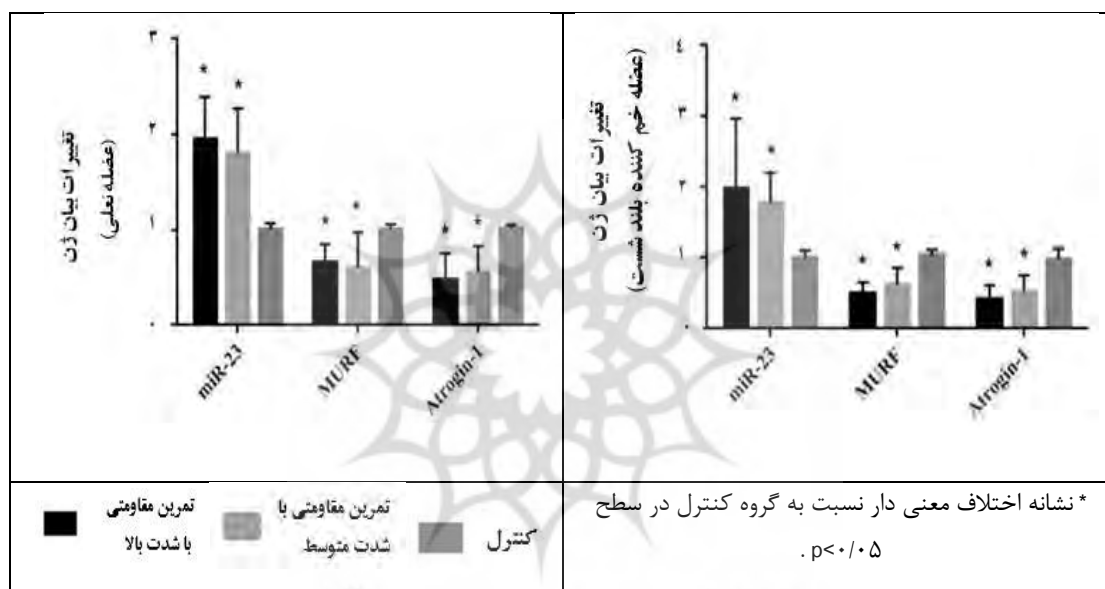


شکل ۱. مقایسه وزن و MVCC گروه‌های مختلف پس از مداخله

(شکل ۲).

یافته‌ها در مورد عضله FHL نشان داد که بیان ژن miR-23 ($p=0/001$, $\eta p^2=0/44$) MuRF، ($F=5/88$ و $p=0/009$, $\eta p^2=0/28$) و آتروژین-۱ ($F=20/45$ و $p=0/001$, $\eta p^2=0/43$) پس از انجام آزمون بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دارد. پس از انجام آزمون تعقیبی مشخص گردید که بیان ژن miR-23 به طور معنی‌داری در گروه‌های HIRT ($p=0/001$) و MIRT ($p=0/004$) در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است. بیان ژن MuRF (هر دو با $p=0/001$) و بیان ژن آتروژین-۱ (هر دو با $p=0/001$) نیز به طور معنی‌داری در گروه‌های HIRT و MIRT نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (شکل ۲).

تغییرات بیان ژن (مقایسه تفکیکی عضلات): نتایج مربوط به عضله نعلی نشان داد که بیان ژن miR-23 ($\eta p^2=0/42$)، MuRF ($F=14/11$ و $p=0/001$, $\eta p^2=0/27$) و آتروژین-۱ ($F=13/28$ و $p=0/001$, $\eta p^2=0/40$) بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دارد. آزمون تعقیبی بونفرونی مشخص کرد که بیان ژن miR-23 به طور معنی‌داری در گروه‌های HIRT ($p=0/001$) و MIRT ($p=0/001$) نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. به علاوه، بیان ژن MuRF به طور معنی‌داری در گروه‌های HIRT ($p=0/003$) و MIRT ($p=0/009$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. بیان ژن آتروژین-۱ نیز به طور معنی‌داری در گروه‌های HIRT ($p=0/001$) و MIRT ($p=0/001$) نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرد

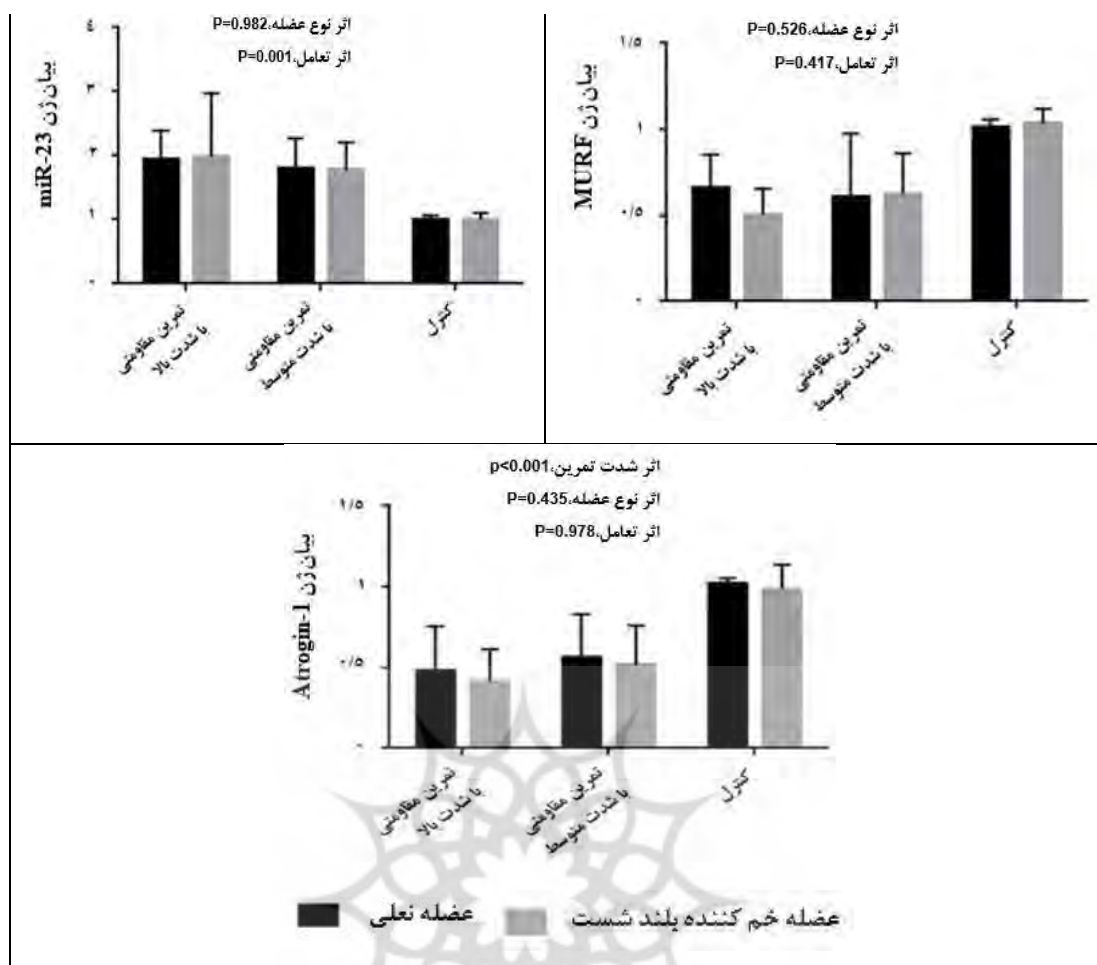


شکل ۲. مقایسه بیان ژن miR-23، MuRF و آتروژین-۱ به تفکیک عضلات نعلی و خم کننده بلند شست در گروه‌های مختلف پس از مداخله

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان miR-23 پس از هشت هفته تمرین مقاومتی با دو شدت بالا و متوسط در هر دو عضلات اسکلتی کند و تند انقباض (مستقل از نوع تند یا کند بودن عضله) افزایش می‌یابد. همچنین بیان ژن‌های MuRF و آتروژین-۱ پس از این تمرینات کاهش یافت و این تغییر در دو عضله نعلی و FHL تفاوت معنی‌داری نداشت. طبق نتایج تحقیقات، یکی از تغییرات عمده در سارکوپنیا آسیب پذیری بیشتر تارهای FT نسبت به ST و کاهش در اندازه هر دو نوع تار می باشد؛ با این حال کاهش تارهای نوع FT در مقایسه با تارهای نوع ST همراه با افزایش سن و سارکوپنیا، شدیدتر است (قدیمی ایلخانلار و دیگران، ۲۰۱۵). این پدیده احتمالاً مربوط به عصب کشی تدریجی الیاف نوع II است که در طی سالمندی

تغییرات بیان ژن (مقایسه بین عضلات): بعد از مقایسه‌های بین عضلانی و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو راهه (شدت تمرین*نوع عضله) برای miR-23، اثر شدت ورزش معنی‌دار ($F=16/35$ و $p=0/001$, $\eta p^2=0/43$) بود؛ اما تاثیر نوع عضله ($F=0/001$ و $p=0/98$, $\eta p^2=0/0001$) و اثر متقابل ($F=0/02$ و $p=0/98$, $\eta p^2=0/0001$) آن‌ها معنی‌دار نبود. همچنین برای MuRF اثر شدت تمرین ($p=0/001$, $\eta p^2=0/49$) و $F=21/03$) معنی‌دار بود، اما اثر نوع عضله ($F=0/41$ و $p=0/52$, $\eta p^2=0/04$) و اثر متقابل آن‌ها ($F=0/89$ و $p=0/89$) معنی‌دار نبود. برای شاخص آتروژین-۱ اثر شدت تمرین ($F=30/77$ و $p=0/001$, $\eta p^2=0/58$) معنی‌دار بود، اما اثر نوع عضله ($F=0/06$ و $p=0/43$, $\eta p^2=0/01$) و اثر متقابل ($F=0/02$ و $p=0/97$, $\eta p^2=0/0001$) آن‌ها معنی‌دار نبود (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه تاثیر متقابل شدت تمرین و نوع عضله بر بیان ژن miR-23 و MURF و آتروژین-۱ بین دو عضله نعلی و خم کننده بلند شست در گروه‌های مختلف پس از مداخله

دیگران (۲۰۱۷) تاثیر پنج هفته HIIT بر بیان ژن‌های miR-23a و آتروژین-۱ عضله دو قلوبی رت‌های صحرائی را بررسی کرده و همسو با یافته‌های مطالعه حاضر افزایش معنی دار miR-23a و کاهش معنی دار آتروژین-۱ را گزارش نموده‌اند. وادا و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند miR-23 ترجمه MAFbx / آتروژین-۱ و یا MuRF را سرکوب می‌کند (وادا^۲ و دیگران، ۲۰۱۱).

آتروژین-۱ و MuRF به عنوان دو عامل شناخته شده واقع در پایین دست بسیاری از مسیرهای سیگنالینگ آتروفی عضلانی معرفی شده‌اند. مطالعات بسیاری در مورد نقش آتروژین-۱ و MuRF در فرآیند آتروفی عضلانی به دلیل ناهنجاری‌های مختلف پاتولوژیک و فیزیولوژیک انجام شده و اثربخشی این دو ژن در مسیرهای مختلف سیگنالینگ که در نهایت منجر به آتروفی عضلات اسکلتی می‌شود، تایید گردیده است. با توجه به پیشینه مطالعات انجام شده، بیان

مشاهده می‌شوند (مورو^۱ و دیگران، ۲۰۲۰). با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بیان ژن های MuRF و آتروژین-۱ و miR-23a در هر دو عضله کند و تند انقباض تغییری نداشت. مورو و دیگران (۲۰۲۰) نشان داده‌اند که پس از ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، نسبت تارهای نوع II افزایش می‌یابد. عدم تفاوت در بیان ژن ها در تارهای نوع کند و تند احتمالاً به دلیل آن است که تارهای تند انقباض در اثر تمرینات مقاومتی، افزایش یافته‌اند. در مطالعه‌ای لین و دیگران (۲۰۰۹) نشان داده‌اند که بیان بیش از حد miR-23a از آتروفی عضلات جلوگیری می‌کند (لین^۲ و دیگران، ۲۰۰۹). در پژوهشی طبیعی و دیگران (۲۰۱۹) اثر شش هفته تمرین HIIT را بر بیان miR-23 و عوامل درگیر در آتروفی عضلانی در رت‌های سالمند بررسی کرده و به ترتیب افزایش و کاهش معنی دار miR-23 و آتروژین-۱ را گزارش کرده‌اند. همچنین خرم شاهی و

تأثیر ورزش قرار می‌گیرند (طیبی و دیگران، ۲۰۱۹). در کل نوع و شدت تمرین، می‌تواند تغییرات ایجاد کند که به دخالت سایر مسیرهای سیگنالینگ نسبت داده می‌شود، و احتمالاً این تغییرات، نقش موثری در پیری دارد. برای حمایت از این نظریه می‌توان به مطالعات دیگر مراجعه کرد (طیبی و دیگران، ۲۰۱۹).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر، بیان ژن miR-23 به عنوان عامل بالادستی سیگنالینگ آتروفی عضلات در دو عضله FHL پا و نعلی رت‌های سالمند افزایش یافت و بر عکس، بیان آتروژین-1 و MuRF کاهش پیدا کرد. با توجه به این که، کاهش miR-23 و افزایش آتروژین-1 و MuRF، هر دو منجر به از بین رفتن بیشتر عضلات اسکلتی به دلیل پیری می‌شوند تمرین مقاومتی می‌تواند انتخاب مناسبی جهت معکوس کردن این روندها باشد. بر این اساس، افراد سالمند می‌توانند برای کنترل و تعدیل آتروفی، از تمرینات مقاومتی با دو شدت بالا و متوسط استفاده نمایند.

تعارض منافع

تضاد منافی بین نویسندگان گزارش نشده است.

قدردانی و تشکر

بدین وسیله از پژوهشگاه علوم ورزشی و تربیت بدنی که در اجرای این پژوهش همکاری و مساعدت داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

بیش از حد MuRF باعث انحطاط فیبرهای عضلانی شده و تولید ذرات اکسیژن واکنشی (ROS) میتوکندری را افزایش می‌دهد (گومز^۱ و دیگران، ۲۰۱۲). علاوه بر این، کمبود کلسیم با فعال کردن مسیرهای آپوپتوزیس و اختلال در عملکرد میتوکندری، عملکرد عصب را مختل می‌کند، روندی که منجر به کاهش توده عضلانی اسکلتی می‌شود (تیوز^۲، ۲۰۰۲). از طرف دیگر، تمرین ورزشی به طور مستقیم بر عوامل آتروفیک ناشی از پیری تأثیر می‌گذارد، به گونه‌ای که باعث کاهش اثربخشی آن‌ها می‌شود. به عنوان مثال، عامل تومور نکروزی آلفا (TNF- α) بیان آتروژین-1 و MAFbx / MuRF را در عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد و ورزش می‌تواند آن را از طریق مسیرهای پروتئین کیناز فعال

با میتوژن P38³ (MAPK) و عامل هسته ای کاپا بی^۴ (NFkB) تعدیل کند (لی^۵ و دیگران، ۲۰۰۲). التهاب یکی از مکانیسم‌های دخیل در آتروفی عضلات در دوران پیری است که ناشی از آتروژین-1 و MuRF می‌باشد. فرض بر این است که تمرینات ورزشی با اثرات ضد التهابی از جمله تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند بر آبشار آتروفی (TNF- α) تأثیر بگذارد. همچنین می‌تواند از افزایش بیان پروتئازوم‌های عضلانی ناشی از ROS جلوگیری کند (لی و دیگران، ۲۰۰۲). بنابراین، می‌توان ادعا کرد که آتروژین-1 و MuRF عوامل پایین دستی بسیاری از مسیرهای آتروفیک مانند Foxo-1، Akt/mTOR، TNF- α ، IGF-1/Akt که تحت

منابع

- Bodine, S.C., Latres, E., Baumhueter, S., Lai, VK-M., Nunez, L., Clarke, B.A., ... & Pan, Z.Q. (2001). Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*, 294(5547), 1704-8.
- Burd, N.A., Gorissen, S.H., & van Loon, L.J. (2013). Anabolic resistance of muscle protein synthesis with aging. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 41(3), 169-73.
- Cartee, G.D., Hepple, R.T., Bamman, M.M., & Zierath, J.R. (2016). Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. *Cell Metabolism*, 23(6), 1034-47.
- de Cássia Marqueti, R., Almeida, J.A., Nakagaki, W.R., Guzzoni, V., Boghi, F., Renner, A., ... & Selistre-de-Araújo, H.S. (2017). Resistance training minimizes the biomechanical effects of aging in three different rat tendons. *Journal of Biomechanics*, 53, 29-35.
- Ebert, S.M., Al-Zougbi, A., Bodine, S.C., & Adams, C.M. (2019). Skeletal muscle atrophy: discovery of mechanisms and potential therapies. *Physiology*, 34(4), 232-9.
- Furlanetto, J.R.R., de Paula Souza, A., de Oliveira, A.A., Nunes, P.R.P., Michelin, M.A., Chica, J.E.L., ... & Orsatti, F.L. (2016). Acute resistance exercise reduces increased gene expression in muscle atrophy of ovariectomised arthritic rats. *Przegląd Menopauzalny Menopause Review*, 15(4), 193-201.

1. Gomes

2. Tews

3. Mitogen-activated protein kinases

4. Nuclear factor kappa B

5. Li

- Ghadimi Ilkhanlar, H., Noorshahi, M., Gharakhanlou, R., & Khodaghali, F. (2015). The effect of 8 weeks of resistance training on the amount of neuroterpsin in fast-twitch muscles and slow contraction of elderly wistar rats. *Journal of Applied Exercise Physiology (JAEP)*, 20(10), 129-138. [In Persion]
- Gomes, A.V., Waddell, D.S., Siu, R., Stein, M., Dewey, S., Furlow, J.D., & Bodine, S.C. (2012). Upregulation of proteasome activity in muscle RING finger 1-null mice following denervation. *The FASEB Journal*, 26(7), 2986-2999.
- Khoramshahi, S.H., Kordi, M.R., Delfan, M., Gaeini, A.A., & Safa, M. (2017). Effect of five weeks of high-Intensity Interval training on the expression of miR-23a and Atrogin-1 in Gastrocnemius muscles of diabetic male rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 18(5), 361-367. [In Persion]
- Krug, A.L., Macedo, A.G., Zago, A.S., Rush, J.W., Santos, C.F., & Amaral, S.L. (2016). High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. *Muscle & Nerve*, 53(5), 779-788.
- Lavin, K.M., Roberts, B.M., Fry, C.S., Moro, T., Rasmussen, B.B., & Bamman, M.M. (2019). The importance of resistance exercise training to combat neuromuscular aging. *Physiology*, 4(2), 112-22.
- Lexell, J., Taylor, C.C., & Sjöström, M. (1988). 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*, 84(2-3), 275-294.
- Li, Y.P., Chen, Y., John, J., Moylan, J., Jin, B., Mann, D.L., & Reid, M.B. (2005). TNF- α acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogin1/MAFbx in skeletal muscle. *The FASEB Journal*, 19(3), 362-370.
- Lin, Z., Murtaza, I., Wang, K., Jiao, J., Gao, J., & Li, P.F. (2009). miR-23a functions downstream of NFATc3 to regulate cardiac hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(29), 12103-12108.
- Macedo, A.G., Krug, A.L., Herrera, N.A., Zago, A.S., Rush, J.W., & Amaral, S.L. (2014). Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 143, 357-364.
- Miljkovic, N., Lim, J-Y., Miljkovic, I., & Frontera, W.R. (2015). Aging of skeletal muscle fibers. *Annals of Rehabilitation Medicine*, 39(2), 155-162.
- Moradi, Y., Zehsaz, F., & Nourazar, M.A. (2020). Concurrent exercise training and MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression in the vastus lateralis muscle of male Wistar rats. *Apunts Sports Medicine*, 55(205), 21-7.
- Moriscot, A.S., Baptista, I.L., Bogomolovas, J., Witt, C., Hirner, S., Granzier, H., & Labeit, S. (2010). MuRF1 is a muscle fiber-type II associated factor and together with MuRF2 regulates type-II fiber trophicity and maintenance. *Journal of Structural Biology*, 170(2), 344-53.
- Moro, T., Brightwell, C.R., Volpi, E., Rasmussen, B.B., & Fry, C.S. (2020). Resistance exercise training promotes fiber type-specific myonuclear adaptations in older adults. *Journal of Applied Physiology*, 128(4), 795-804.
- Narici, M.V., & Maffulli, N. (2010). Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. *British Medical Bulletin*, 95(1), 139-59.
- Perry, B.D., Caldwell, M.K., Brennan-Speranza, T.C., Sbaraglia, M., Jerums, G., Garnham, A., ... & Price, S.R. (2016). Muscle atrophy in patients with Type 2 Diabetes Mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. *Exercise Immunology Review*, 22, 94.
- Reed, S.A., Sandesara, P.B., Senf, S.M., & Judge, A.R. (2012). Inhibition of Foxo transcriptional activity prevents muscle fiber atrophy during cachexia and induces hypertrophy. *The FASEB Journal*, 26(3), 987-1000.

- Ribeiro, M.B.T., Guzzoni, V., Hord, J.M., Lopes, G.N., de Cássia Marqueti, R., de Andrade, R.V., ... & Durigan, J.L. (2017). Resistance training regulates gene expression of molecules associated with intramyocellular lipids, glucose signaling and fiber size in old rats. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13.
- Singulani, M.P., Stringhetta-Garcia, C.T., Santos, L.F., Morais, S.R.L., Louzada, M.J.Q., Oliveira, S.H.P., ... & Dornelles, R.C. (2017). Effects of strength training on osteogenic differentiation and bone strength in aging female Wistar rats. *Scientific Reports*, 7, 42878.
- Tanaka, S., Obatake, T., Hoshino, K., & Nakagawa, T. (2015) Influence of exercise intensity on atrophied quadriceps muscle in the rat. *Journal of Physical Therapy Science*, 27(11), 3445-50.
- Tayebi, S.M., Siahkoughian, M., Keshavarz, M., Mahdian, R., Shamsi, M.M., & Shahbazi, S. (2019). The effects of high intensity interval training on Mir-23a expression and related factors involved in muscular atrophy of aged rats. *International Journal of Applied Exercise Physiology*, 8(1), 170-176.
- Tews, D.S. (2002). Apoptosis and muscle fibre loss in neuromuscular disorders. *Neuromuscular Disorders*, 12(7-8), 613-622.
- Wang, Y., & Pessin, J.E. (2013). Mechanisms for fiber-type specificity of skeletal muscle atrophy. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 16(3), 243.
- Wang, X.H. (2013). MicroRNA in myogenesis and muscle atrophy. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 16(3), 258.
- Wada, S., Kato, Y., Okutsu, M., Miyaki, S., Suzuki, K., Yan, Z., Schiaffino, S., Asahara, H., Ushida, T., & Akimoto, T. (2011). Translational suppression of atrophic regulators by microRNA-23a integrates resistance to skeletal muscle atrophy. *Journal of Biological Chemistry*, 286(44), 38456-65.