Sport and Biomotor Sciences
ورزش و علوم زیست حرکتی

تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان mRNA نوروتروفین-٥/٤ و گیرنده تیروزین کینازB در عضلات کند و تند انقباض موش‌های صحرایی

رسول اسلامی[1]، رضا قراخانلو[2]، سید جواد مولا[2]، حمید رجبی[3]، ریحانه محمدخانی[4]، ریحانه زرباف[4]

۱- استادیار دانشگاه علامه طباطبایی

۲- دانشیار دانشگاه تربیت مدرس

۳- دانشیار دانشگاه خوارزمی

٤- کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه تربیت مدرس

نشانی نویسنده مسئول: تهران- تقاطع جلال آل احمد و بزرگراه چمران- دانشگاه تربیت مدرس - گروه تربیت بدنی- دکتر رضا قراخانلو
Email: ghara_re@modares.ac.ir

وصول: ۹۱/۲/۱۵ اصلاح: ۹۱/۴/۳ پذیرش: ۹۱/۶/۱

چکیده

مقدمه و هدف: فرض شده است که نوروتروفین-٥/٤ و گیرنده تیروزین‌کینازB در سازگاری هماهنگ دستگاه عصبی عضلانی به افزایش فعالیت درگیر هستند. هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان mRNA نوروتروفین-٥/٤ و گیرنده تیروزین کینازB در عضلات کند و تند انقباض موش‌های صحرایی بود.

روش‌شناسی: در این تحقیق، تعداد ١٦ سر موش نر ویستار به طور تصادفی در دو گروه ٨ تایی [تمرین مقاومتی (T) و کنترل(C)] قرار گرفتند. تمرین مقاومتی شامل بالارفتن از یک نردبان یک متری بود، همراه با وزنه‌هایی که به دم حیوانات بسته شده بود. ٢٤ ساعت بعد از جلسه تمرینی اصلی حیوانات دو گروه T و C بیهوش شده و عضلات نعلی و خم‌کننده بلند انگشتان آنها جدا شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های نوروتروفین-٥/٤ و گیرنده تیروزین کینازB از Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS و روش آماری t-test استفاده شد. سطح معنی‌داری نیز $p \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که یک جلسه تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی‌دار بیان mRNA نوروتروفین-٥/٤ در عضله نعلی شد ($p\leq ۰/۰۵$)؛ در حالی که، هیچ تغییری در عضله خم‌کننده بلند انگشتان دیده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین، داده‌ها نشان داد که یک جلسه تمرین مقاومتی تاثیری بر بیان mRNA گیرنده تیروزین کینازB در هر دو عضله نعلی و خم‌کننده بلند انگشتان نداشت ($p>۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: کاهش بیان mRNA نوروتروفین-٥/٤ در عضله نعلی احتمالاً به خاطر ارتباط این نورورتروفین با بیان زنجیره سنگین مایوزین نوع کند می‌باشد. همچنین، عدم تغییر بیان mRNA گیرنده تیروزین کینازB در هر دو عضله به نقش احتمالی گیرنده دیگر نوروتروفین-٥/٤ یعنی گیرنده P٧٥ اشاره دارد.

واژه‌های کلیدی: *نوروتروفین-٤/٥، گیرنده تیروزین کینازB، تمرین مقاومتی، عضلات تند و کند.*

مقدمه

حفظ و رشد دستگاه عصبی- عضلانی مهره‌داران نیازمند فعالیت مجموعه‌ای از پلی پپتیدهایی است که تحت عنوان عوامل رشد عصبی شناخته شده‌اند. نوروتروفین‌ها گروه کوچکی از عوامل رشدی هستند که به لحاظ ساختاری و عملکردی به هم مرتبط هستند (۱،۲). خانواده نوروتروفین‌ها از شش پروتئین تشکیل شده است، شامل: عامل رشد عصبی ، عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز، نوروتروفین-۳ ، نوروتروفین-۵/٤ و نوروتروفین-٦ (۳). این نوروتروفین‌ها تاثیراتشان را از طریق دو دسته گیرنده اعمال می‌کنند؛ گیرنده نوروتروفین P۷۵ و خانواده گیرندهای تیروزین کیناز. اگرچه همه نوروتروفین‌ها می‌توانند به گیرنده P۷۵ متصل شده و آن را فعال کنند؛ اما، گیرندهای تیروزین کیناز دارای اولویت-هایی بوده و به صورت ویژه- لیگاند عمل می‌کنند، به این ترتیب که تیروزین کیناز A برای فاکتور رشد عصبی، تیروزین کینازB برای عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز و نوروتروفین-۵/٤ و تیروزین کیناز C برای نوروتروفین-۳ (٦-٤).

علاوه بر بیان نوروتروفین‌ها و گیرندهایشان در جمعیت‌های مختلف نورون حرکتی (۷،۸)، مشخص شده است که بعضی از نوروتروفین‌ها مانند عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز ، نوروتروفین-۳ و نوروتروفین-۵/٤ در عضله اسکلتی نیز بیان می‌شوند (۱۱-۹). برای مثال، در عضلات دوقلو و تعلی وجود پروتئین نوروتروفین-۵/٤ گزارش شده است (۷،۱۲). بعلاوه، مطالعات قبلی وجود تیروزین کینازB را در هردوی جایگاه پیش و پس-سیناپسی پیوندگاه عصبی عضلانی در هر دو نوع تار عضلانی تند و کند انقباض نشان داده‌اند (۱۳،۱٤).

در حال حاضر، بسیاری از آنچه که در مورد این پروتئین‌ها شناخته شده است حاصل از استفاده برونزاد از پروتئین‌های نوروتروفین است. اگرچه آنها تاثیرات بالقوه-ای بر ویژگی‌های نورون حرکتی (۸) و عضله (۱۰) دارند، اما اینکه آیا نوروتروفین‌هایی که به صورت برونزاد به کار رفته‌اند در محدوده فیزیولوژیکی مناسب بیان این پروتئین‌ها قرار می‌گیرند یا نه هنوز مشخص نیست. از طرفی، مدلی که تولید درونی نوروتروفین‌ها را بالا ببرد، ممکن است به لحاظ فیزیولوژیکی درک مناسبی را از عملکرد آنها در عضله اسکلتی فراهم کند، همچنانکه در این روش احتمال بیان نوروتروفین‌ها در جایگاه فیزیولوژیکی‌شان نسبت به اعمال برونزاد بیشتر است (۱۲).

پویایی‌شناسی بیان نوروتروفین‌ها به دنبال تمرین ورزشی به مقدار زیادی در سرتاسر دستگاه عصبی مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته است (۱،۲،۷،۱۵). اما، به‌رغم تداوم بیان نوروتروفین در عضله اسکلتی در دوران بزرگسالی (۹،۱٦)، به اهمیت عملکردی نوروتروفین‌های مشتق از عضله در دستگاه عصبی عضلانی بالغ توجه اندکی شده است (۱۷). فرض شده است که دوتا از پروتئین‌های نوروتروفین، عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز و نوروتروفین-۵/٤، در سازگاری هماهنگ دستگاه عصبی عضلانی به افزایش فعالیت درگیر هستند (۱۸). همچنین، چندین مطالعه رهایش، سنتز و ترجمه وابسته به فعالیت عامل رشد عصبی مشتق شده از مغز و نوروتروفین-۵/٤ در جمعیت‌های سلولی مختلف را گزارش کرده‌اند (۱٦،۱۹). برای مثال، عضله اسکلتی نوروتروفین-۵/٤ را در شیوه‌ای وابسته به فعالیت سنتز می‌کند (۱٦). تحریک الکتریکی عصب سیاتیک موش صحرایی برای یک ساعت میزان mRNA نوروتروفین-۵/٤ را در هردو عضله نعلی و دوقلو در مدت ۳ ساعت افزایش داد و در ۱۲ ساعت به بیشترین سطح رسید (۱٦). بعلاوه، گومز- پنیلا و همکاران یافتند که بیان تیروزین کینازB ۳ روز پس از دویدن دلخواه بر روی چرخ دوار در عضله نعلی موش صحرایی افزایش می‌یابد (۱۵). اگرچه این مطالعات به طور ویژه‌ای گزارش نکرده‌اند که آیا بیان نوروتروفین-۵/٤ و تیروزین کینازB در پاسخ به

شرایط فیزیولوژیک مختلف به نوع واحد حرکتی وابسته است یا نه، این احتمال وجود دارد که بیان آنها به‌طور متفاوتی در انواع تار عضلانی تنظیم می‌شود (۲۰). از این رو، ما از تمرین مقاومتی به عنوان مدلی از افزایش فعالیت بدنی برای مطالعه بیان درونی نوروتروفین‌ها در عضله اسکلتی استفاده کردیم تا از این طریق رفتار آنها را نسبت به این نوع از تحریک بررسی کنیم. از طرفی، مشخص شده است که بیان نوروتروفین‌ها در بعضی از بیماری‌ها دچار تغییر می‌شود؛ برای مثال، در نروپاتی دیابت کاهش حمایت تروفیکی مشاهده شده است (۲۱). همچنین، نقش حمایتی نوروتروفین‌ها در بیماری‌هایی مانند دیابت، مولتیپل اسکلروزیس، آمیوتروفیک لَترال اسکلروسیس و آلزایمر به خوبی ثابت شده است (۲۵-۲۲). از این‌رو، با توجه به رویکرد درمانی نوروتروفین‌ها، مطالعه آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

بنابراین، با توجه به نقش عملکردی که برای نوروتروفین۵/٤ و گیرنده تیروزین کینازB در سازگاری هماهنگ دستگاه عصبی-عضلانی به افزایش فعالیت در نظر گرفته شده است و عدم وجود مطالعه مستقیم در مورد تاثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات بیان نوروتروفین۵/٤ و گیرنده تیروزین کینازB در عضله اسکلتی، هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ و گیرنده تیروزین کینازB در عضلات کند و تند انقباض موش‌های صحرایی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در قالب یک تحقیق تجربی با دو گروه کنترل و تجربی روی ۱٦ سر موش صحرایی نر ویستار انجام گرفت که به طور تصادفی به ۲ گروه ۸ تایی کنترل و یک جلسه تمرین مقاومتی تقسیم شدند. حیوانات با ۱۰ هفته سن از انستیتو پاستور خریداری شده و تا ۳ ماهگی در دمای اتاق و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل شدند. در این زمان، بعد از یک هفته عادت دادن به برنامه تمرینی، جلسه تمرین اصلی انجام گرفت. برای به حداقل رساندن هرگونه استرس ناشی از دستکاری در گروه تمرین، حیوانات گروه کنترل نیز در هر جلسه آشنا سازی با تمرین و در زمانی مشابه با گروه تمرین مورد دستکاری قرار گرفتند. به این صورت که قفسه‌های گروه کنترل همانند گروه تمرین جابه جا شده و حیوانات آنها شرایط مشابه‌ای را نسبت به گروه تمرین احساس کردند.

تمرین مقاومتی: بالارفتن از نردبانی به ارتفاع یک متر که دارای ۲٦ پله و زاویه ۸۵ درجه نسبت به زمین بود به عنوان تمرین مقاومتی در نظر گرفته شد (۲٦،۲۷). برای اعمال اضافه بار از وزنه‌هایی استفاده شد که به دُم حیوانات بسته می‌شدند. در هفته آشنایی با تمرین حیوانات ۳ روز اول هفته را تمرین کرده و ٤ روز بعدی را استراحت کردند. تمرین به این صورت اجراء شد که حیوانات در پایین نردبان قرار داده می‌شدند و با تیمار دُم به بالای نردبان هدایت می‌شدند. در جلسه اصلی تمرین، حیوانات ۳ دور و در هر دور ۵ بار از نردبان بالا رفتند. بین تکرارها یک دقیقه و بین هر دور ۲ دقیقه استراحت بود (۲۷). با توجه به تحقیقات قبلی وزنه‌ای که حیوانات حمل کردند ۳۰٪ وزن هر حیوان بود (۲٦،۲۷). برای اطمینان از صحت انجام تمرین زمان استراحت و شروع تمرین حیوانات از قبل ثبت شده و طبق آن حیوانات فرآیند تمرین را اجراء کردند.

آماده‌سازی بافت: با توجه به اینکه اوج بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ به دنبال تحریک الکتریکی ۲٤-۱۲ ساعت بعد از تحریک گزارش شده است (۱٦)، ۲٤ ساعت بعد از جلسه تمرینی حیوانات با ترکیبی از کتامین (30-50 mg/kg w) و زایلازین(3-5mg/kg w) بیهوش شده (۲۸) و عضلات نعلی (عضله کند) و خم‌کننده بلند انگشتان (عضله تند) آن‌ها تحت شرایط استریل از طریق شکاف بر روی ناحیه پشتی جانبی اندام تحتانی جدا شد. بافت مورد نظر پس از وزن شدن بلافاصله در نیتروژن

مایع منجمد شد و ضمن انتقال به آزمایشگاه تا زمان اجرای اندازه گیری‌های بعدی در دمای ۸۰- نگهداری شد. بافت‌های مورد نظر با استفاده از هاون و دسته هاون هموژن شدند و بافت هموژن شده در ویال‌های مربوطه و در دمای ۸۰- نگهداری شدند.

اندازه‌گیری بیان ژن: به منظور بررسی بیان ژن‌ها از روش Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. جهت استخراج RNA مقدار ۱۰۰ میلی گرم از بافت عضلانی به وسیله هاون هموژن شد. سپس مقدار ml ۱ از واکنشگر ترایزول به بافت هموژن شده اضافه شد و طبق دستور العمل مورد نظر مراحل استخراج RNA انجام گرفت (۱۲). در نهایت RNA به دست آمده با ۳۰µl از DEPC water رقیق شد. برای اطمینان از درست بودن استخراج مقدار ۲µl از RNA استخراج شده روی ژل آگاروز الکتروفورز ران شد و باندهای ۱۸Sو ۲۸S به طور منفک دیده شد. همچنین، میزان کمی RNA استخراج شده از طریق قرائت جذب نوری (OD) در طول موج ۲٦۰nm و ۲۸۰مشخص شد و نسبت آن به دست آورده شد، به طوری که عدد ۲-۱/۸ برای این نسبت به عنوان غلظت قابل قبول در نظر گرفته شد.

به منظور ساخت cDNA ابتدا عمل DNase Treatment انجام گرفت. بدین منظور از کیت خریداری شده از شرکت تاکارا استفاده شد. برای ساخت cDNA طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت (PrimeScript RT Reagent Kit, Takara) ابتدا ۵µl از RNA در تیوب ریخته شد و به ترتیب ٤µl از First Strand Buffer، ۱µl از Random 6 mers, RT Enzyme Mix, oligo dT به آن اضافه شد. سپس برای ۲۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه و ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه انکوبه شد. در این زمان ساخت cDNA اتمام گرفت و cDNA ساخته شده در دمای۲۰- درجه نگهداری شد.

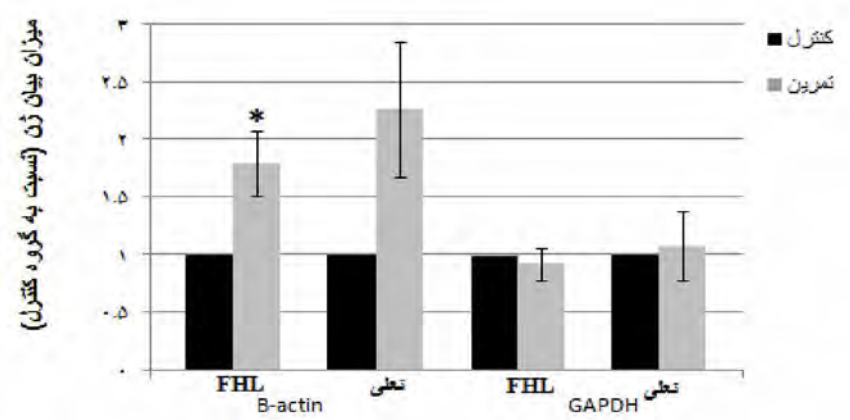
با استفاده از cDNA ساخته شده و پرایمرهایی که برای نوروتروفین-۵/٤، تیـروزین کینازB، GPDH و -βActin طراحی شده بود، با رنگ SYBR Green Master Mix کار بیان ژن با دستگاه Real-Time RT-PCR مدل ABI 7500 انجام گرفت. در این واکنش حجم نهایی واکنش ۲۰µl بود که ۲µl آن را cDNA و ۱۸µl دیگر را مسترمیکس تشکیل می‌داد. همچنین، روش محاسباتی نیز با به دست آوردن $2^{-\Delta\Delta ct}$ صورت گرفت (۲۹).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آماری Independent t-test و نرم افزار SPSS نسخه ۱٦ استفاده شد. همچنین، سطح معنی‌داری در این تحقیق P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

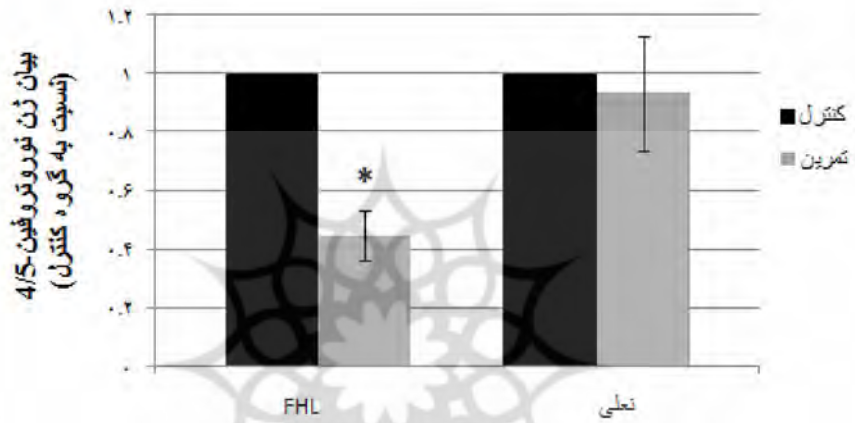
یافته‌های پژوهش

در پژوهش حاضر از دو ژن GPDH و β-Actin به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. با استفاده از فرمول $^{-\Delta ct}$۲ میزان تاثیرپذیری ژن کنترل از تمرین مقاومتی بررسی شد (۲۹). یافته‌ها نشان داد که ژن β-Actin به تمرین مقاومتی واکنش نشان می‌دهد. ژن β-Actin در هر دو عضله تنظیم مثبت شد که در عضله بازکننده بلند انگشتان این اختلاف معنی‌دار بود (p=۰/۰۳۸) اما در عضله نعلی معنی‌دار نبود (p=۰/۰۹۹) (شکل ۱). با این حال، ژن GPDH از ثبات نسبتاً خوبی برخوردار بود و نسبت به تمرین تغییری نکرد (عضله بازکننده بلند انگشتان ، p=۰/۵۷٦؛ عضله نعلی، p=۰/۸۱۱) (شکل ۱).

همچنین، داده‌ها نشان داد که بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ در عضله نعلی در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل کمتر بود (p=۰/۰۰۳) (شکل ۲). با این حال، در عضله خم‌کننده بلند انگشتان ، هیچ اختلاف معنی‌داری برای mRNA نوروتروفین-۵/٤ بین دو گروه کنترل و تمرین مقاومتی وجود نداشت (p=۰/۷٤۳) (شکل ۲). بعلاوه، به‌رغم افزایش ۲ برابری بیان mRNA تیروزین کینازB در هر دو عضله نعلی و خم‌کننده بلند انگشتان، این افزایش‌ها به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (به ترتیب، p=۰/۳۹۲ و p=۰/۳۰۹) (شکل ۳).



شکل ۱: میزان تاثیر پذیری ژن‌های GPDH و β-Actin از تمرین مقاومتی (بازکننده بلند انگشتان :FHL)
* بین گروه کنترل و تمرین مقاومتی برای ژن β-Actin در عضله بازکننده بلند انگشتان اختلاف معنی‌دار وجود داشت (p<۰/۰۵).

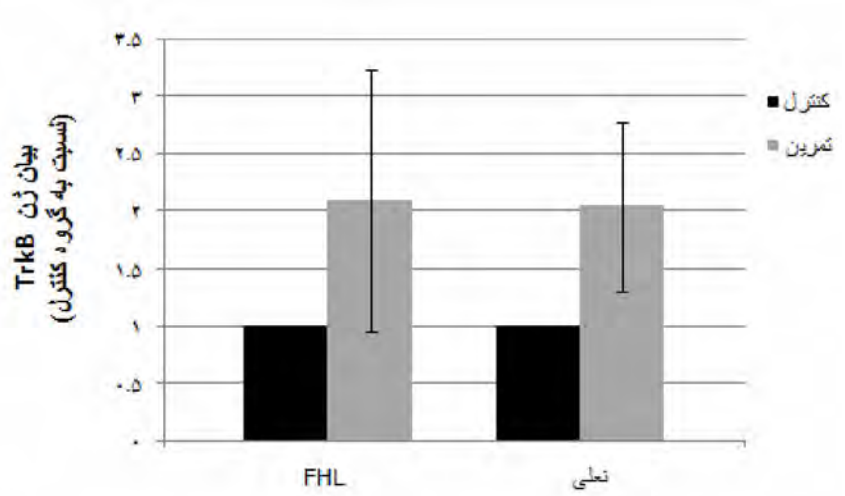


شکل ۲: میزان تاثیر پذیری بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ از تمرین مقاومتی در عضلات نعلی و خم‌کننده بلند انگشتان (FHL)
* بین گروه کنترل و تمرین مقاومتی برای mRNAنوروتروفین-۵/٤ در عضله نعلی اختلاف معنی‌دار وجود داشت (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر تاثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ و گیرنده تیروزین کیناز B را در عضلات کند و تند انقباض موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار داد. در این پژوهش نتایج نشان داد که ژن β-Actin از تمرین مقاومتی تاثیر می‌پذیرد. تغییر در بیان ژن کنترل می‌تواند تفاوت‌های مصنوعی را در برآورد بیان ژن هدف ایجاد کرده و نهایتاً باعث نتیجه‌گیری غلط شود، از این‌رو، بیان ثابت ژن کنترل معیار حیاتی در موفقیت آزمایشات RT-PCR است (۳۰). نتایج ما همچنین نشان داد که ژن GPDH از تمرین مقاومتی تاثیری نپذیرفت و ثبات خود را حفظ کرد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج جمیولو و تراپ (۲۰۰٤) و لاندبی (۲۰۰۵) هم‌خوانی دارد. آنها همگی در مورد استفاده از GPDH به عنوان ژن کنترل توافق نظر دارند (۳۱،۳۲). بنابراین، در تحقیقاتی که مداخلات تجربی از نوع فعالیت‌های ورزشی هستند استفاده از ژن β-actin به عنوان ژن کنترل داخلی باید با احتیاط کامل انجام شود. با این وجود، ما نیز استفاده از ژن GPDH را به عنوان ژن کنترل توصیه می‌کنیم زیرا ثبات بیان آن در اکثر تحقیقات از جمله تحقیق حاضر نشان داده شده است.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که یک جلسه تمرین مقاومتی باعث کاهش بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ در عضله نعلی شد. با این حال، در عضله خم‌کننده بلند انگشتان، تفاوتی بین گروه کنترل و تمرین مقاومتی برای بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ پیدا



شکل ۳: میزان تاثیر پذیری mRNA تیروزین کیناز B از تمرین مقاومتی در عضلات نعلی و خم‌کننده بلند انگشتان (FHL)

نشد. در حالی که بعضی از محققین نوروتروفین-۵/٤ را به عنوان نوروتروفین اصلی در سیستم عصبی عضلانی بالغ معرفی کرده‌اند (۹)، تا کنون بیان وابسته به فعالیت نوروتروفین-۵/٤ به دنبال فعالیت ورزشی مورد تحقیق قرار نگرفته است. تنها فاناکوشی و همکاران (۱۹۹۵) نشان داده‌اند که عضله اسکلتی در زمان تحریک الکتریکی نوروتروفین-۵/٤ را در شیوه‌ای وابسته به فعالیت سنتز می‌کند (١٦). بنابراین، آنها نتیجه گرفتند که نوروتروفین-۵/٤ مشتق از عضله به عنوان یک سیگنال تروفیکی وابسته به فعالیت برای رشد و تغیرشکل عصب حرکتی بالغ عمل کرده و ممکن است تا اندازه‌ای مسئول تاثیرات ورزش و تحریک الکتریکی بر اجراء عصبی عضلانی باشد (١٦). با این حال، ارتباط وابسته به فعالیت بیان این پروتئین توسط دشن و همکاران (۲۰۰۳) رد شده است. آنها هیچ تغییر معنی‌داری را در مقادیر نوروتروفین-۵/٤ به دنبال یک دوره بی‌باری اندام پشتی مشاهده نکرده‌اند، درحالی که کاهش در نوروتروفین-۵/٤ مورد انتظار بود (۳۳). تاثیرات ورزش بر بیان نوروتروفین-۵/٤ تا اندازه زیادی نا مشخص است. والکر و شون (۱۹۹۸) یافتند که هیچ تفاوتی در بیان نوروتروفین-۵/٤ بین مردان ساکن و دوچرخه سواران تمرین کرده هوازی وجود ندارد (۱۱). نتایج تحقیق اُگ‌بُرن (۲۰۱۰) با این یافته موافقت دارد و دلالت می‌کند که تمرینی که از شدت کافی برای افزایش بیان mRNA عامل رشد عصبی مشتق از مغز در عضله نعلی برخوردار است هیچ تأثیری بر بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ در عضلات نعلی و دوقلوی میانی ندارد (۱۲).

داده‌های اخیر بیان می‌کنند که احتمالاً ارتباط جالب توجه‌ای بین بیان نوروتروفین و بیان ایزوفورم‌های MHC کند وجود دارد. در طول رشد پس از جنینی عضله سولئوس متحمل تغییری در بیان MHC تند به سمت MHC کند می‌شود که این اتفاق در غیاب نوروتروفین-۵/٤ رخ نخواهد داد (۳٤). همچنین، سیمون و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که در قطع عصب وجود نوروتروفین-۵/٤ از کاهش تارهای نوع یک در عضله نعلی جلوگیری می‌کند. بعلاوه، وقتی که نوروتروفین-۵/٤ به عصب سیاتیک قطع شده تزریق شد، عضله تند انقباض بازکننده طویل انگشتان افزایشی را در تولید تارهای نوع یک نمایش داد (۳۵). بنابراین، از آنجایی که تمرین استقامتی بیان MHC کند را بالا می‌برد، این احتمال وجود دارد که افزایش بیان وابسته به فعالیت نوروتروفین-۵/٤ مشاهده شده توسط فاناکوشی و همکاران (۱۹۹۵) به دنبال تحریکی الکتریکی می‌تواند با افزاش در بیان MHC کند مرتبط باشد. در مقابل، حجم بالایی از تحقیقات نشان

داده‌اند که تمرین مقاومتی باعث افزایش بیان MHC تند در عضله اسکلتی می‌شود (۳۶،۳۷). از این‌رو، این احتمال وجود دارد که کاهش بیان نوروتروفین-۵/٤ در عضله سولئوس به خاطر سیگنال‌های تمرین مقاومتی باشد که درپی این تمرین به عضله اسکلتی وارد شده است. در حمایت از این یافته ساکوما و همکاران (۲۰۰۱) کاهش معنی‌داری را در نوروتروفین-۵/٤ عضله پلانتاریس بعد از اعمال اضافه بار جبرانی گزارش کرده‌اند (۷).

با این حال، محمدخانی و همکاران (۱۳۹۰)، نشان دادند که یک جلسه تمرین مقاومتی باعث افزایش مقدار پروتئین نوروتروفین-۵/٤ در عضله سولئوس شد (۳۸). از آنجایی که شرایط آزمایشی تحقیق محمدخانی با مطالعه حاضر کاملاً مشابه است و از بافت‌های یکسانی استفاده شده است، این موضوع کاهش بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ در عضله نعلی به دنبال فعالیت مقاومتی را با چالش روبه رو می‌کند. به هرحال، افزایش سنتز پروتئین ممکن است از طریق افزایش متقارن در mRNA و یا به وسیله افزایش کارآیی نسخه برداری تحریک شود. به طور کلی تعدیل پروتئین‌های عضله اسکلتی در اثر فعالیت موخر بر تغییرات خاص در mRNAهای مربوطه است (۳۹،٤۰). بنابراین، از این طریق یک سازوکار احتمالی برای سنتز پروتئین فراهم می‌شود. از طرفی، نیمه عمر یک پروتئین خاص نوعاً طولانی‌تر از نیمه عمر mRNA منطبق با آن است. از این رو، تغییرات و بالا و پایین رفتن‌های روزانه در mRNA ممکن است باعث افزایش آشکار در میزان ثبات سنتز پروتئین شود(۳۹،٤۰). روی هم رفته، این احتمال وجود دارد که افزایش سنتز پروتئین در زمان کاهش بیان mRNA مربوط به آن اتفاق بیفتد، برای مثال، زمانی که نیمه عمر پروتئین افزایش پیدا کند. افزایش نیمه عمر پروتئین زمانی رخ می‌دهد که اجزاء درگیر در تجزیه نرمال پروتئین دچار اختلال شوند یا اینکه ثبات پروتئین از طریق تاثیر متقابل پروتئین-پروتئین اتفاق بیفتد. در این راستا، گاردینر (۲۰۰۱) در کتاب جنبه‌های عصبی عضلانی فعالیت بدنی به افزایش ظرفیت پس‌ترجمه‌ای به عنوان یکی از آثار کلاسیک تمرین مقاومتی اشاره کرده است (٤۱).

عدم تغییر معنی‌دار mRNA نوروتروفین-۵/٤ در عضله خم‌کننده بلند انگشتان شاید به این دلیل باشد که مقادیر پایه پروتئین نوروتروفین-۵/٤ در این عضله نسبت به عضله نعلی بیشتر است (۳۸). از طرفی، با توجه به اینکه طبق گزارشات قبلی تمرین مقاومتی استفاده شده در پژوهش حاضر طی ۸ هفته باعث هایپرتروفی ۱۷٪ در عضله خم‌کننده بلند انگشتان شده است (۲۷)، نمی‌توان از نقش احتمالی نوروتروفین-۵/٤ در هایپرتروفی عضلانی چشم‌پوشی کرد. اضافه بار مکانیکی (از جمله تمرین مقاومتی) به طور قابل توجه‌ای فعالیت و یا حجم تار عضلانی را تغییر می‌دهد (۷). پروتئین‌های ساختاری و انقباضی مورد نیاز در عضله هایپرتروفی شده تنظیم مثبت می‌شوند که ممکن است در نتیجه نیرومندسازی پس-سیناپسی وابسته به فعالیت نوروتروفین-۵/٤ باشد (۷). این احتمال وجود دارد که پروتئین نوروتروفین-۵/٤، که از دسته‌بندی ناشی از آگرین گیرنده استیل‌کولین ممانعت می‌کند، در مرحله اولیه احیاء ناشی از بازسازی پیوندگاه عصبی عضلانی بعد از آسیب کاهش یابد. در این راستا، ساکوما و همکاران (۲۰۰۱)، نشان دادند که بازسازی ناشی از آگرین پیوندگاه‌های عصبی عضلانی آسیب دیده بر اثر اضافه بار مکانیکی نیازمند کاهش سریع و قابل توجه پروتئین نوروتروفین-۵/٤ است (۷). بنابراین، احتمالاً تعامل بین وظایف متفاوت نوروتروفین-۵/٤ در عضله خم‌کننده بلند انگشتان، افزایش نوروتروفین-۵/٤ برای بهبود انتقال عصبی عضلانی از یک سو و کاهش نوروتروفین-۵/٤ در اثر سیگنال هایپرتروفی از سوی دیگر، دلیلی بر عدم تغییر سطح mRNA نوروتروفین-۵/٤ در این عضله باشد.

همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که یک جلسه تمرین مقاومتی باعث افزایش ۲ برابری بیان

mRNA تیروزین کیناز B در هر دو عضله نعلی و خم-کننده بلند انگشتان شد اما این افزایش‌ها به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در مطالعه اخیر اُگ بُرن و همکاران (۲۰۱۰) مشخص شد که ۵ و ۱۰ روز تمرین تردمیل هیچ تغییر محسوسی در بیان mRNA تیروزین کیناز B در عضله نعلی و دوقلوی میانی ایجاد نمی‌کند (۱۲). اگرچه بیان وابسته به فعالیت mRNA تیروزین کیناز B معمولاً در سرتاسر دستگاه عصبی نشان داده شده است (۱۵)، اما هم اکنون اطلاعات کمی در مورد بیان آن در عضله اسکلتی وجود دارد. گومز- پنیلا و همکاران یافتند که بیان mRNA تیروزین کیناز B در عضله نعلی ۳ روز پس از دویدن دلخواه بر روی چرخ دوار افزایش می‌یابد؛ با این حال، ۷ روز تمرین تغییری را ایجاد نکرد (۱۵)، البته تمرین استفاده شده توسط آنها مدل تمرین اختیاری بوده است. همان طور که قبلاً گفته شد نوروتروفین‌ها تاثیرات خود را از طریق دو دسته گیرنده اعمال می‌کنند (٦-٤). با توجه به داده‌های اخیر (۱۷)، به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر مقدار پایه گیرنده تیروزین کیناز B در حد کافی بوده است و در پی تمرین مقاومتی نیازی به افزایش آن وجود نداشته است. از طرف دیگر، عدم تغییر معنی‌دار mRNA تیروزین کیناز B در این مطالعه احتمالاً به این موضوع اشاره دارد که گیرنده دیگر نوروتروفین، p۷۵، ممکن است با نقش عملکردی نوروتروفین-۵/٤ در عضله ارتباط بیشتری داشته باشد. بنابراین، مطالعات بیشتری لازم است تا مشخص شود کدامیک از گیرنده‌های نوروتروفین از اهمیت عملکردی بیشتری برخوردارند.

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که یک جلسه فعالیت مقاومتی باعث کاهش بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ در عضله سولئوس شد که احتمالاً به دلیل ارتباط نوروتروفین-۵/٤ و ایزوفرم MHC کند باشد. با این حال، یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان mRNA نوروتروفین-۵/٤ در عضله خم‌کننده بلند انگشتان تاثیر معنی‌داری نداشت که احتمالاً نشان دهنده نقش‌های متفاوت این نوروتروفین در عضله تند انقباض است. همچنین، نتایج حاصل از تفسیر داده‌ها نشان داد که یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان mRNA تیروزین کیناز B در عضله سولئوس و خم‌کننده بلند انگشتان تاثیر معنی-داری نداشت. به نظر می‌رسد که این موضوع نقش احتمالی دیگر گیرنده نوروتروفین-۵/٤ یعنی p۷۵ را برجسته‌تر می‌سازد.

References

1. Barde YA. Trophic factors and neuronal survival. Neuron 1989; 2: 1525–1534.
2. Thoenen H. The changing scene of neurotrophic factors. Trends Neurosci 1991; 14: 165–170.
3. Ibanez CF, Ebental T, Persson H. Chimeric molecules with multiple neurotrophic activities reveal structural elements determining the specificities of NGF and BDNF. EMBO J 1991; 10: 2105–2110.
4. Klein R, Lamballe F, Bryant S, Barbacid M. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for neurotrophin-4. Neuron 1992; 8: 947–956.
5. Barbacid M. The Trk family of neurotrophin receptors. J Neurobio 1994; 25: 1386-1403.
6. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: role in neuronal development and function. Annu Rev Neurosci 2001; 24: 677-736.
7. Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I, Nakano H, Li YJ, et al. A possible role for BDNF, NT-4 and TrkB in the spinal cord and muscle of rat subjected to mechanical overload, bupivacaine injection and axotomy. Brain Research 2001; 907: 1–19.
8. Gonzalez M, Collins WF. Modulation of motoneuron excitability by brain-derived neurotrophic factor. J Neurophysiol 1997; 77: 502–506.
9. Griesbeck O, Parsadanian AS, Sendtner M, Thoenen H. Expression of neurotrophins in skeletal muscle: quantitative comparison and significance for motoneuron survival and maintenance of function. J Neurosci Res 1995; 42: 21–33.

10. Carrasco DI, English AW. Neurotrophin 4/5 is required for the normal development of the slow muscle fiber phenotype in the rat soleus. J Exp Biol 2003; 206: 2191–2200.
11. Walker UA, Schon EA. Neurotrophin-4 is up-regulated in ragged-red fibers associated with pathogenic mitochondrial DNA mutations. Ann Neurol 1998; 43: 536–540.
12. Ogborn DI, Gardiner PF. Effects of Exercise and Muscle Type on BDNF, NT-4/5, and TrkB Expression in Skeletal Muscle. Muscle Nerve 2010; 41: 385–391.
13. Escandon E, Soppet D, Rosenthal A, Mendoza-Ramirez JL, Szonyi E, Burton LE, et al. Regulation of neurotrophin receptor expression during embryonic and postnatal development. J Neurosci 1994; 14: 2054–2068.
14. Gonzalez M, Ruggiero FP, Chang Q, Shi YJ, Rich MM, Kraner S, et al. Disruption of Trkb-mediated signalling induces disassembly of postsynaptic receptor clusters at neuromuscular junctions. Neuron 1999; 24: 567–583.
15. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. J Neurophysiol 2002; 88: 2187–2195.
16. Funakoshi H, Belluardo N, Arenas E, Yamamoto Y, Casabona A, Persson H, et al. Muscle derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. Science 1995; 268: 1495–1499.
17. Mousavi K, Jasmin BJ. BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. J Neurosci 2006; 26: 5739-5749.
18. Klein R, Nanduri V, Jing SA, Lamballe F, Tapley P, Bryant S, et al. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. Cell 1991; 66: 395–403.
19. Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. Nat Rev Neurosci 2001; 2: 24–32.
20. Zhan WZ, Mantilla CB, Sieck GC. Regulation of neuromuscular transmission by neurotrophins. Acta Physiologica Sinica 2003; 55: 617-624.
21. Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity. Nat Rev Neurosci 2008; 9: 36–45.
22. Thoenen H. The changing scene of neurotrophic factor. Trends Neurosci 1991; 14: 165–170.
23. Fernyhough P, Diemel LT, Brewster WJ, Tomlinson DR. Altered neurotrophin mRNA levels in peripheral nerve and skeletal muscle of experimentally diabetic rats. J Neurochem 1995; 64: 1231–1237.
24. Schulte-Herbrüggen O, Jockers-Scherübl MC, Hellweg R. Neurotrophins from pathophysiology to treatment in alzheimer's disease. Current Alzheimer Research, 2008; 5: 38-44.
25. Chevrel G, Hohlfeld R, Sendtner M. The role of neurotrophins in muscle under physiological and pathological conditions. Muscle & Nerve, 2006; 33: 462–476.
26. Godfrey JK, Kayser BD, Gomez GV, Bennett J, Jaque SV, Sumida KD. Interrupted resistance training and BMD in growing rats. International Journal of Sports Medicine 2009; 30: 579 – 584.
27. Lee S, Farrar RP. Resistance Training Induces Muscle-Specific Changes in Muscle Mass and Function in Rat. JEP online 2003; 6: 80-87.
28. Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossaini-Kakhak SA, Rahbarizadeh F, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver. Biochem Biophys Res Commun 2007; 361: 841–846.
29. Livak KJ, Schmittgen. Analysis of relative gene expression data using real- Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods 2001; 25: 402–408.
30. Huggett J, Dheda K, Bustin S, and Zumla A. Real-time RT-PCR normalization; strategies and considerations. Genes Immun 2005; 6: 279-284.
31. Lundby C, Nordsborg N, Kusuhara K, Kristensen KM, Neufer PD, and Pilegaard H. Gene expression in human skeletal muscle: alternative normalization method and effect of repeated biopsies. Eur J Appl Physiol 2005; 95: 351-360.
32. Jemiolo B, and Trappe S. Single muscle fiber gene expression in human akeletal muscle: validation of internal control with exercise. Biochem Biophys Res Commun 2004; 320: 1043-1050.
33. Deschenes MR, Wilson MN. Age-related differences in synaptic plasticity following muscle unloading. J Neurobiol 2003; 57: 246-256.
34. Carrasco DI, and English AW. Neurotrophin 4/5 is required for the normal development of the slow muscle fiber phenotype in the rat soleus. J Exp Biol 2003; 206: 2191-200.

35. Simon M, Poter R, Brown R, Coulton GR, and Terenghi G. Effect of NT-4 and BDNF delivery to damaged sciatic nerves on phenotypic recovery of fast and slow muscles fibers. Eur J Neurosci 2003; 18: 2460-2466.
36. Andersen JL, Aagaard P. Myosin heavy chain IIX overshooting in human skeletal muscle. Muscle and Nerve 2000; 23: 1095–1104.
37. Fry AC. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. Sports Med 2004; 34: 663–679.
38. Mohammadkhani R. Effect of one session exercise training on NT-4/5 protein in slow and fast Muscles of wistar rats [MS thesis]. Supervisor: Reza Gharakhanlou: Tarbiat Modarres University 2011.
39. Garcia MDC, Gonzalez-Seffatis H, Morgan JP, Perreault CL, Rozycka M. Differential activation of myofibrils during fatigue in phasic skeletal muscle cells. J Muscle Rev and Cell Motil 1991; 12: 412-424.
40. Godt RE, Maughan DW. Influence of osmotic compression on calcium activation and tension in skinned muscle fibers of the rabbit. European Journal of Physiology 1981; 391: 334-337.
41. Gardiner P F. Neuromuscular Aspects of Physical Activity. Human Kinetics. 2001;238-257.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

Effect of one session of resistance exercise on mRNA expression of NT4/5 and TrkB proteins in slow and fast muscles of Wistar rats

Eslami R[1], Gharakhanlou R[1], Mowla SJ[1], Rajabi H[2], Mohammadkhani R[1], Zarbaf R[1]

1. Tarbiat Modares University
2. Khawrazmi University

Received: 04/05/2012 **Revised:** 23/6/2012 **Accepted:** 22/8/2012

Correspondence:
Reza Gharakhanlou, Faculty of Humanities, Department of Physical Education and Sport Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: ghara_re@modares.ac.ir

Abstract

Introduction and purpose: NT-4/5 and TrkB have been proposed to be involved in the coordinated adaptations of the neuromuscular system to elevated level of activity. The purpose of this research was to study the effect of one session of resistance exercise on mRNA expression of NT4/5 and TrkB Proteins in Slow and fast muscles of Wistar Rats.

Materials and Methods: A number of sixteen maleWistar rats randomly were divided to two groups (Resistance exercise(T) and control (C); n=8 for each group). The resistance training protocol consisted of climbing a 1-meter–long ladder, with a weight attached toa tail sleeve. Twenty-four hours following the main training session, rats of T and C groups were anaesthetized and the right Soleus and Flexor HallucisLongus (FHL) muscles were removed. For NT-4/5 and TrkB expression, Quantitative Real time RT-PCR was used. SPSS software and Independent-samples t-test were used for data analysis. The level of significance was set at $P<0.05$.

Results: data indicate that one session of resistance exercise significantly ($P<0.05$) decreased mRNA expression of NT4/5 in soleus muscle. However, no significant alteration was detected in FHL muscle ($P>0.05$). Our results also indicate that one session of resistance exercisehas no significant effects on TrkB mRNA expression in soleus and FHL muscles ($P>0.05$).

Discussion and Conclusion: decrease in mRNA expression of NT4/5 in soleus muscle may be as result of NT-4/5 and slow MHC interactions. Also, non alteration in TrkB mRNA expression indicated in probable role of P75 receptor.

Key words: *Neurotrophin-4/5 (NT-4/5), TrkB Receptor, Resistance Training, Slow and Fast Muscles.*