نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش مقاله پژوهشی
دوره ٦، شماره ۱۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۷ تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۰۱/۱٤

تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی برکیناز تنظیم شده توسط پیام خارج سلولی (ERK) تام و فسفریله در عضله تاکننده شست پای موش‌های صحرایی

جواد نعمتی[1*]، مهدی صمدی[2]، وحید حدیدی[2]، لیلا قدرت[2]

۱. استادیار بخش علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۲. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، بخش علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: تا به امروز بیش از ۱۰۰ نوع کیناز شناخته شده است، یکی از معروف‌ترین آن‌ها خانواده بزرگ کیناز فعال شده توسط میتوژن (MAPK) است که کیناز تنظیم شده توسط پیام خارج سلولی (ERK) یکی از زیر واحدهای این خانواده می‌باشد. ERK بسیاری از عملکردهای مهم سلولی را کنترل می‌کنند، اما تأثیر تمرین مقاومتی بر پروتئین ERK به روشنی آشکار نشده است. بنابراین هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر ERK تام و فسفریله درعضله تاکننده شست پا (FHL) موش‌صحرایی نر سالم بود. **روش تحقیق:** تعداد ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی به دو گروه مساوی تجربی و کنترل (n=۶) تقسیم شدند. گروه تمرین مقاومتی طی ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه در حالی‌که وزنه‌ای به دم آن‌ها آویزان بود، از نردبان یک متری بالا می‌رفتند. افزایش بار به صورت هفتگی بر اساس درصدی از وزن بدن به صورت فزآینده اعمال شد. افزایش در هفته اول از ۳۰ درصد شروع و به ۲۰۰ درصد در هفته هشتم رسید. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، عضله FHL استخراج شد و میزان پروتئین‌های مربوطه به روش الایزا اندازه‌گیری گردیدند. برای تحلیل آماری از روش تحلیل واریانس یک طرفه در سطح معنی داری p<۰/۰۵ استفاده شد. **یافته‌ها**: اجرای تمرین مقاومتی موجب افزایش معنی‌دار محتوی پروتئینی تام (p=۰/۰۱) شد؛ در حالی که تغییر معنی‌داری در شکل فسفریله آن ایجاد نگردید (p=۰/۰۸). **نتیجه‌گیری**: احتمالا تمرین مقاومتی طولانی مدت مداخله مناسبی جهت فعال‌سازی ERK نمی‌باشد. جهت بررسی تغییرات ایجاد شده ناشی از این تمرینات، شاید بهتر باشد مسیرهای پیام‌رسانی دیگر مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین کیناز تنظیم شده توسط پیام خارج سلولی (ERK)، تمرین مقاومتی، پیام‌رسانی سلولی.

*نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، بخش علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: nemati_phy@yahoo.com
DOI: 10.22077/ jpsbs.2017.318.1129

مقدمه

اضافه شدن یک یا چند گروه فسفات به مولکول پروتئین‌ها (فسفوریلاسیون)، تغییری ساده است که در متابولیسم موجودات زنده مانند مسیر گلیکولیز اهمیت زیادی دارد. معمولاً جایگاه این عمل روی اسید آمینه سرین یا ترئونین است، اما در موارد نادر روی اسید آمینه تیروزین و گاهی نیز بر روی لیزین صورت می‌گیرد. ورود فسفات به پروتئین در واقع وارد شدن بار منفی است که باعث تغییر در شکل (کانفورماسیون[1]) آن می‌شود. این اتصال به وسیله مجموعه‌ای از آنزیم‌ها به نام کینازها انجام می‌شود (نلسون[2] و دیگران، ۲۰۱۲). تا به امروز بیش از صد نوع پروتئین کیناز شناخته شده است، اما یکی از معروف‌ترین آن‌ها خانواده بزرگ پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن[3] (MAPK) است که عملکردهای بی‌شمار سلولی را کنترل می‌کند. میتوژن‌ها سیگنال‌هایی هستند که از قسمت خارجی سلول، پیام‌هایی را برای القای میتوز و تقسیم سلولی القا می‌کنند. یکی از زیر واحدهای MAPK، کیناز مرتبط با پیام‌رسانی خارج سلولی[4] (ERK) می‌باشد (اسادا[5] و دیگران، ۲۰۰۷). پروتئین کیناز ERK توسط باقیمانده‌های ترئونین و تیروزین فسفوریله شده و فعال می‌گردد (بالتون[6] و دیگران، ۱۹۹۱). این پروتئین، پروتئین‌ها و عامل‌های رونویسی زیادی را با اهداف متفاوت فعال می‌کند. فعال شدن ERK باعث بیان بیش از ۶۰۰ ژن می‌شود (استیلمن[7] و دیگران، ۲۰۱۱) و تاثیر آن بر بیان رونویسی ژن‌ها یا از طریق فعال کردن مسیرهای پیام رسانی در سیتوپلاسم یا از طریق دایمریزاسیون[8] و نقل مکان به هسته و فسفریله کردن عامل‌های رونویسی انجام می‌شود (کیسر[9] و دیگران، ۲۰۰۹). ERK در سیتوزول اثرات خود را به این صورت انجام می‌دهد، با فعال کردن پروتئین‌هایی مانند P90RSK[10] که به هسته می‌روند و عامل‌های رونویسی SRF[11] را فعال می‌کنند (سانگ[12] و دیگران، ۲۰۱۲). در هسته نیز می‌تواند عامل‌های مانند Elk1[13]، ATF2[14]، AP1[15]، CREB[16] و MEF2C[17] را فعال کند (اونس[18] و دیگران، ۲۰۰۲؛ کوگان و پیگینز[19]، ۲۰۰۳؛ ماو[20] و دیگران، ۲۰۰۷).

فعالیت این عامل رونویسی، با بیان ژن‌های درگیر در فرآیندهای متعدد همچون بیوژنز میتوکندریایی[21] (ژو[22] و دیگران، ۲۰۱۲)، رگ‌زایی[23] (میاک[24] و دیگران، ۲۰۱۵) و یا انواع تکثیر سلولی میتوز[25] (وارتزل[26] و دیگران، ۲۰۱۵)، میوز[27] و عملکرد پس میتوزی[28] مانند تمایز[29] (چینگ[30] و دیگران، ۲۰۱۳)، آپوپتوز[31] (ملولیما[32] و دیگران، ۲۰۱۵) و بیان سیکلین D[33]؛ به باززایی سلول عضلانی[34] و ترمیم آسیب‌های عضلانی کمک می‌کند (ورتمان[35] و دیگران، ۲۰۰۱). مسیر MAPK و به خصوص ERK تحت تاثیر عوامل زیادی می‌توانند فعال شود فعالیت بدنی از طریق مکانیسم‌های متفاوت مانند ترشح فاکتورهای رشدی و کشش عضلانی، اکسیدان‌ها و کاهش PH نیز می‌تواند این فعال‌سازی را انجام دهد (ورتمان و دیگران، ۲۰۰۱).

مطالعات نشان داده اند که فعالیت بدنی، بیان ژن و پروتئین ERK را افزایش می‌دهد (کیم[36] و دیگران، ۱۹۹۵). در بیشتر این مطالعات، پاسخ ERK به یک جلسه و یا چند جلسه فعالیت ارزیابی شده است و بلافاصله بعد از فعالیت، سطح فعالیت و میزان فسفریله ERK مورد بررسی قرار گرفته است. برای مثال، مطالعات in situ (شروود[37] و دیگران، ۱۹۹۹؛ مارتینو و گاردینر[38]، ۲۰۰۱؛ نادر و ایزر[39]، ۲۰۰۱)، پروتکل‌های دوچرخه سواری در افراد تمرین کرده و بی تمرین (وایدگرینو[40] دیگران، ۱۹۹۸؛ وایدگرین و دیگران، ۲۰۰۰؛ یو[41] و دیگران، ۲۰۰۳)، تمرینات مقاومتی و

1. Conformation
2. Nelson
3. Mitogen- activated protein kinases
4. Extracellular signal–regulated kinases
5. Asada
6. Boulton
7. Steelman
8. dimerization
9. Casar
10. p90 ribosomal S6 kinase
11. Serum response factor
12. Sung
13. ETS domain-containing protein
14. Activating Transcription Factor 2
15. Activating Protein-1
16. cAMP Responsive Element Binding
17. Myocyte-specific enhancer factor 2C
18. Ouwens
19. Coogan & Piggins
20. Ma
21. Mitochondrial biogenesis
22. Zhu
23. Angiogenesis
24. Miyake
25. Mitosis
26. Wortzel
27. Meiosis
28. Post Mitosis
29. Differentiation
30. Cheung
31. Apoptosis
32. Melolima
33. cyclin D
34. Muscle cell regeneration
35. Wretman
36. Kim
37. Sherwood
38. Martineau & Gardiner
39. Nader & Esser
40. Widegren
41. Yu

قدرتی (ویلیامسون[1] و دیگران، ۲۰۰۳؛ کارلسون[2] و دیگران، ۲۰۰۴؛ کریر[3] و دیگران، ۲۰۰۵) نشان داده اند که بلافاصله بعد از فعالیت، ERK فعال می‌شود. با این حال، مطالعات اندکی سازگاری این پروتئین در طولانی مدت را بررسی کرده‌اند و به نتایج متفاوتی نیز دست یافته‌اند. برای نمونه، نتایج مطالعه تامسون[4] و دیگران (۲۰۰۳) نشان داده است که انقباض اکسنتریک[5] عضله دوسر بازویی، باعث افزایش ERK تام و فسفریله بعد از ۴۸ ساعت می شود؛ اما در همین مطالعه، دویدن در سراشیبی بعد از ۴۸ ساعت، افزایش ERK تام و فسفریله را به همراه نداشت. بر طبق جستجویی که انجام شد، مطالعاتی با هدف بررسی سازگاری ERK تام و فسفریله به تمرینات قدرتی مشاهده نگردید در کل، مشخص نیست که آیا ERK در انطباق پذیری بدن با فعالیت ورزشی نیز نقش دارد، یا فقط در جلسات ابتدایی و پاسخ‌های التهابی نقش برجسته ای ایفا می‌کند؟ پس این سوال مطرح می‌باشد که آیا هشت هفته تمرین مقاومتی بر روی ERK تام و فسفریله به عنوان تنظیم‌گر پیام رسانی سلولی درعضله تا کننده شست پای[6] (FHL) موش صحرایی نر سالم تأثیر دارد؟

روش تحقیق

با توجه به اهداف مطالعه، ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی[7] با وزن ۲۰۲±۱۸۰ گرموسن ۸ هفته تهیه شد. ابتدا رت‌ها به طور تصادفی به دو گروه مساوی تمرین مقاومتی و کنترل (n=۶) تقسیم شدند. نگهداری از رت‌ها تحت شرایط استاندارد و کاملا یکسان برای دو گروه (به جز برنامه تمرینی) انجام گردید. پروتکل تجربی توسط سازمان مراقبت از حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه تصویب و تمام مراحل بر اساس دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی موسسه ملی بهداشت[8] (NIH) کانادا به اجرا درآمد (مکینتاش[9] و دیگران، ۲۰۱۱). تمرین مقاومتی بر اساس مطالعه نعمتی و دیگران (۲۰۱۲) طراحی گردید. ابتدا به مدت یک هفته با پروتکل تمرین مقاومتی و صعود از نردبان عمودی آشناسازی شدند. سپس در هفته اول، میزان وزنه‌های بسته شده به موش‌ها ۳۰ درصد وزن بدن آن‌ها بود، اما به تدریج افزایش یافت و به حدود ۲۰۰ درصد وزن بدن موش ها در هفته پایانی رسید. این تمرینات برای ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه به شکل صعود از نردبان یک متری با ۲۶ پله، اجرا شد. جهت اعمال اضافه‌بار در تمرین، ابتدای هر هفته رت‌ها وزن کشی می‌شدند و درصدی از وزن بدن آن‌ها به عنوان بار تمرینی هفته در نظر گرفته می‌شد (جدول ۱).

جدول ۱. برنامه هفتگی تمرینات مقاومتی اجرا شده در تحقیق

هفته‌ها	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
بر حسب درصد وزن بدن	۳۰	۷۰-۸۰	۱۰۰	۱۲۰-۱۳۰	۱۴۰-۱۵۰	۱۷۰-۱۷۵	۱۸۰-۱۹۰	۲۰۰

صعود از نردبان در سه نوبت چهار تکراری انجام شد و ۳ دقیقه بین نوبت‌ها و ۱۰ ثانیه بین تکرارها، زمان استراحت در نظر گرفته شد (چن و لیو، ۲۰۱۵). گروه کنترل در همان شرایط گروه تجربی نگهداری شدند، اما برنامه تمرینی نداشتند.

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با ترکیبی از کتامین و زایلازین (۵۰-۳۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. عضله FHL آن‌ها تحت شرایط استریل از اندام تحتانی جدا و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد، سپس در

1. Williamson
2. Karlsson
3. Creer
4. Thompson
5. Eccentric
6. Flexor hallucis longus
7. Sprague Dawley
8. National institutes of health
9. MacIntosh

دمای ۸۰- درجه برای اجرای سنجش آزمایشگاهی مورد نظر نگهداری گردید.

بیان پروتئین‌هایERK تام و ERK فسفریله با روش الایزا ساندویچی[1] و با استفاده از کیت‌های ERK تام با حساسیت بین ۰/۰۱ تا ۲ میلی گرم در میلی لیتر و ERK فسفریله با حساسیت بین۰/۰۱ تا ۱/۲۵ میلی گرم در میلی لیترمخصوص موش صحرایی محصول شرکت Cell signaling کشور آمریکا اندازه‌گیری شد. بعد از اینکه بافت‌ها با استفاده از بافر PBS با ترکیب آپروتینین[2] به عنوان آنتی پروتئاز (۱ میلی لیتر) هموژن شدند، بافت هموژن شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، بخش محلول فوقانی جدا و با استفاده از دستورالعمل کیت‌ها محتوی پروتئین‌ها بدست آمد. با نظر متخصص بیوشیمی آزمایشگاه، برای هر نمونه دو بار اندازه گیری انجام شد و میانگین دو مرحله اندازه گیری محاسبه گردید. سپس برای نرمال سازی داده‌ها بر اساس وزن عضله، یک دهم وزن عضله هر رت محاسبه گردید و میانگین بر یک دهم وزن عضله تقسیم شد.

در نهایت، برای مقایسه میانگین سطوح ERK تام و فسفریله شده از آزمون تحلیل واریانس یک سویه (ANOVA) استفاده شد. پیش از اجرای محاسبات آماری، مفروضه‌های پراکندگی طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیرو- ویلک[3] و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون[4] ارزیابی شدند.کلیه عملیات آماری توسط نرم افزار PASW نسخه ۲۱ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اطلاعات توصیفی وزن موش‌های صحرایی در پیش و پس آزمون در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌کنید، نتایج آمار استنباطی نشان داد یک دوره تمرینات مقاومتی باعث افزایش معنی دار میزان ERK تام در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل شد ($F_{۱،۱۵}=۹/۳۸$؛ $p=۰/۰۱$؛ ۰/۵۳= مجذور اتای جزئی)؛ در حالی که تأثیر معنی‌داری بر میزان ERK فسفریله شده نسبت به گروه کنترل نداشت ($F_{۱،۱۵}=۰/۰۵$؛ $p=۰/۰۸$) (شکل ۱).

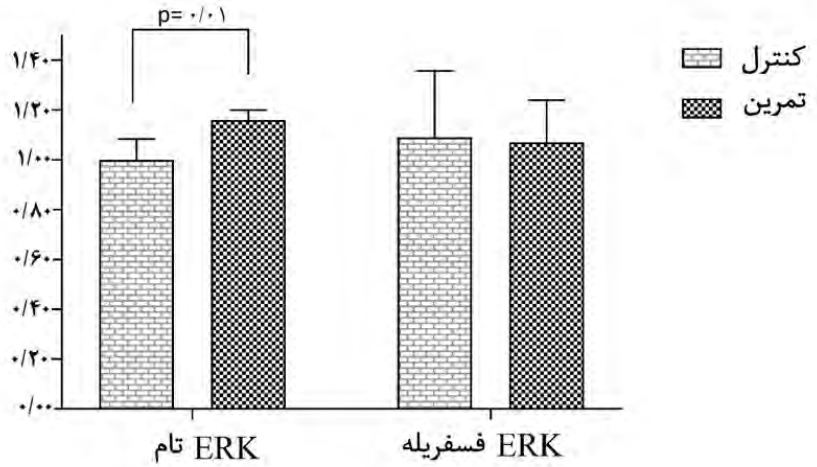
جدول ۲. وزن حیوانات گروه‌های کنترل و تمرین پیش و پس از مداخله (بر حسب گرم)

	گروه کنترل		گروه تمرین	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
پیش از مداخله	۱۹۳/۱۳	۶/۲۱	۱۸۷/۵۰	۷/۴۱
پس از مداخله	۳۱۱/۰۰	۳۲/۵۱	۲۷۸/۶۱	۱۵/۱۶

جدول ۳. اطلاعات توصیفی و استنباطی شاخص های ERK تام و فسفریله در گروه تمرین و کنترل

متغییرها	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	F	p	مجذور اتای جزئی
ERK تام (نسبت تغییرات)	تمرین	۱/۱	۰/۰۸	۹/۳۸	۰/۰۱	۰/۵۳
	کنترل	۱	۰/۰۹			
ERK فسفریله (نسبت تغییرات)	تمرین	۱/۰۷	۰/۲۰	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۲۳
	کنترل	۱	۰/۳۰			

1. Sandwich ELISA protocol
2. Aprotinin
3. Shapiro–Wilk
4. Levene



شکل ۱. مقایسه سطوح پروتئین ERK تام و فسفریله بین گروه کنترل و تمرین مقاومتی بر اساس توسط آزمون ANOVA. تفاوت دو گروه در سطح p<۰/۰۱ معنی دار است.

بحث

نتایج نشان داد که یک دوره تمرین مقاومتی ۸ هفته ای، در ERK فسفریله شده تغییر معنی داری ایجاد نمی کند، اما میزان تام این شاخص را به میزان ۱۵ درصد افزایش می دهد. در چرایی این افزایش شاید بتوان گفت ناشی از افزایش بیان mRNA مربوط به ERK می‌باشد که می‌تواند در پی تمرینات مقاومتی رخ داده باشد. کیم و دیگران (۱۹۹۵) افزایش بیان mRNA مربوط به ERK را در موش‌های صحرایی در پی ۵ هفته تمرین استقامتی مشاهده کرده‌اند اما جالب این است که آن‌ها افزایش بیان mRNA مربوط به ERK را بدست نیاوردند (کیم و دیگران، ۱۹۹۵). افزایش ERK تام در مطالعه حاضر همسو با نتیجه مطالعه موریگا[1] و دیگران (۲۰۰۰) است؛ از آن جهت که این محققین نشان دادند که تحریک الکتریکی عضله، باعث افزایش ۶ برابری ERK تام می‌شود. در توجیه این میزان افزایش در مقابل تغییر ۱۵ درصدی این متغیر در مطالعه حاضر، می‌توان به ماهیت انقباض متفاوت تمرینات مقاومتی و تحریک الکتریکی اشاره کرد. در تحریک الکتریکی میزان تحریکات در اختیار محقق است و شاید تا حدی مکانیسم‌های خستگی سیستمی مانع از انقباض نشود، اما در تمرینات مقاومتی بسیاری از عوامل خستگی که شاید موضعی هم نباشند، مانع ادامه فعالیت می‌شوند. در مطالعه تامسون و دیگران (۲۰۰۳) انقباض اکسنتریک عضله دوسر بازویی نیز باعث افزایش ERK تام شد، اما در همین مطالعه و ناهمسو با یافته‌های مطالعه حاضر، دویدن در سراشیبی باعث ERK تام نگردید. از دلایل توجیه این گزارش ها، می‌توان به شدت تمرینات اشاره کرد، زیرا وایدگرین و دیگران (۲۰۰۰) بیان کرده اند که هرچه شدت تمرین بیشتر باشد، میزان MAPKs بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در مطالعه تامسون و دیگران (۲۰۰۳) انقباض اکسنتریک عضله دوسر بازویی با شدت حداکثر انقباض بیشینه اجرا شده؛ در حالی که در مطالعه حاضر، بار تمرینی در هفته‌های آخر دو برابر وزن موش‌های صحرایی بوده است. اما در مطالعه تامسون و دیگران (۲۰۰۳) دویدن در سراشیبی با ۷۷ درصد حداکثر ضربان قلب بیشینه بوده است. واحدهای شدت بکار رفته در این فعالیت‌های ورزشی با توجه به ماهیت متفاوت نوع تمرین‌ها، متفاوت است و این امر مقایسه آن‌ها را مشکل می‌کند، اما به طور نسبی

1. Murgia

فعالیت‌های که تقریبا با حداکثر توان بوده است، باعث افزایش ERK تام شده است اما فعالیت ورزشی دویدن در سراشیبی که با حداکثر توان نبوده است، نتوانسته ERK تام را افزایش دهد.

همان گونه که عنوان شد، چندین عامل از جمله هورمون‌ها، عوامل رشدی، گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن[1] (ROS)، کاهش PH عضله و کشش؛ به عنوان فعال کننده ERK ناشی از ورزش معرفی شده اند. در مطالعات همین مطالعه و به منظور بررسی اثرات ROS، قبل از انقباض عضلانی به موش‌های صحرایی مواد آنتی اکسیدانی داده شد و کاهش ۳ برابری در میزان فعال‌سازی ERK بدست آمد (ورتمان و دیگران، ۲۰۰۱). در عین حال، در بیان شده است که اگرچه با کاهش PH، فعال‌سازی ERK افزایش می‌یابد؛ اما این تغییر معنی‌دار نیست (ورتمان و دیگران، ۲۰۰۱). همچنین به منظور بررسی اثر کشش، عضله در برابر یک کشش متوسط قرار داده شده و مشخص گردیده که فعال‌سازی ERK به میزان ۱/۸ برابر افزایش می یابد (ورتمان و دیگران، ۲۰۰۱). در مطالعه حاضر و با توجه به برنامه تمرینی اجراشده، نمی‌توان به طور روشن افزایش معنی دار میزان ERK تام را به عوامل خاصی نسبت داد یا در خصوص میزان تاثیر آن اظهار نظر دقیقی داشت.

یکی دیگر از یافته‌های مطالعه حاضر، معنی‌دار نبودن تغییرات ERK فسفریله می‌باشد که بیانگر میزان فعالیت و عملکرد این پروتئین می‌باشد. در مطالعه حاضر و ناهمسو با بیشتر مطالعاتی که بلافاصله بعد از تحریک، میزان ERK فسفریله را ارزیابی کرده‌اند (شرووود و دیگران، ۱۹۹۹؛ مارتینو و گاردینر، ۲۰۰۱؛ نادر و ایزر، ۲۰۰۱) تغییر معنی دار مشاهده نشد. احتمالاً چرایی این موضوع، مرتبط با فاصله زمانی ارزیابی می‌باشد؛ چرا که در مطالعه وایدگرین و دیگران (۱۹۹۸) نشان داده شده که فعالیت ۶۰ دقیقه دوچرخه‌سواری با یک پا و با شدت ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، باعث افزایش ERK فسفریله طی فعالیت می‌شود، بعد از ۴۰ دقیقه فعالیت به نقطه اوج می‌رسد، ۱۵ دقیقه بعد از اتمام فعالیت کاهش می‌یابد، و نهایتا پس از ۶۰ دقیقه ریکاوری، به میزان قبل از فعالیت می رسد. با این حال، نتایج مطالعه تامسون و دیگران (۲۰۰۳) نشان داد که بعد از ۴۸ ساعت فعالیت اکسنتریک عضله دوسربازویی، محتوای ERK فسفریله افزایش معنی‌دار خود را حفظ می‌کند. همان طور که بیان شد، در مطالعه حاضر بعد از ۴۸ ساعت تغییرات معنی‌داری حاصل نشد. در بیان توجیه این موضوع شاید بتوان به تفاوت در نوع فعالیت‌ها اشاره کرد. انقباض اکسنتریک نسبت به انقباض‌های دیگر، آسیب عضلانی بیشتری تولید می‌کند (دین[2] و دیگران، ۲۰۱۵) و در مطالعات نشان داده شده است که آسیب عضلانی و تخریب سلول عضلانی آسیب دیده، موجب افزایش رادیکال‌های آزاد رهایی عوامل التهابی می‌شود؛ عواملی که ۴۸ ساعت بعد از اولین جلسه فعالیت نیز افزایش خود را حفظ می‌کنند (تیدبال[3]، ۲۰۰۵). جیانگ[4] و دیگران (۲۰۱۵) نشان داده اند که آسیب عضلانی، پروتئین لپین-۱[5] یکی از عوامل بالا دستی مسیر پیام دهی ERK را فعال می‌کند. فعالیت لپین-۱ باعث فسفریله شدن ERK می‌شود و با یکدیگر کمپلکسی را تشکیل می دهند که وارد هسته سلول شده و پروتئین سیکلین D را بیان می‌کنند. در نهایت، سیکلین D باعث نوسازی سلول عضلانی آسیب دیده می‌شود (جیانگ و دیگران، ۲۰۱۵). این در حالی است که در مطالعه حاضر از تمرینات مقاومتی بر روی نردبان استفاده شد که معمولاً تمرینی با انقباض کانستریک می‌باشند و طول دوره تمرین هم ۸ هفته بوده است. مطالعات نشان از آن دارند که تمرینات کانسنتریک آسیب کمتری به عضله می‌رسانند و طی تمرین طولانی مدت عوامل آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی نیز افزایش می یابند؛ بدین ترتیب آسیب اولیه ناشی از شروع فعالیت بسیار کمتر می‌شود (چونگ و دیگران، ۲۰۰۳). بر این اساس می‌توان گفت احتمالاً این عوامل، باعث عدم فسفریله ماندن ERK بعد از ۴۸ در مطالعه حاضر شده است.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه بیشتر مقالات، فعالیت ERK را بلافاصله بعد از فعالیت گزارش کرده اند و مطالعه حاضر همسو با مطالعه وایدگرین و دیگران (۱۹۹۸)، نشان داد که ERK میزان زیادی به حالت فسفریله باقی نمی‌ماند، مگر در جلسات اولیه تمرین که همراه با آسیب عضلانی است؛ می‌توان اظهار داشت که با وجود این که ERK در تنظیمات سلولی حین فعالیت (مانند ورود گلوکز به سلول، تعیین نوع سوخت و سنتز پروتئین سلول) اهمیت دارد؛ احتمالا در تغییرات فیزیولوژیک بعد از تمرینات ورزشی تاثیرگذار نمی‌باشد.

1. Reactive oxygen species
2. Deane
3. Tidball
4. Jiang
5. LPIN-1

قدردانی و تشکر

از آنجا که این تحقیق در آزمایشگاه HPL دانشگاه کلگری[1] کانادا انجام شده است، نویسندگان مقاله وظیفه خود می‌دانند که مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از حمایت‌های مالی و علمی پروفسور برایان مکین تاش[2]، استاد دانشگاه کلگری ابراز نمایند.

منابع

Asada, S., Daitoku, H., Matsuzaki, H., Saito, T., Sudo, T., Mukai, H., … & Fukamizu, A. (2007). Mitogen-activated protein kinases, Erk and p38, phosphorylate and regulate Foxo1. *Cellular Signalling*, *19***(3), 519-527.**

Boulton, T. G., Nye, S. H., Robbins, D. J., Ip, N. Y., Radzlejewska, E., Morgenbesser, S. D., … & Yancopoulos, G. D. (1991). ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. *Cell*, *65***(4), 663-675.**

Casar, B., Pinto, A., & Crespo, P. (2009). ERK dimers and scaffold proteins: unexpected partners for a forgotten (cytoplasmic) task. *Cell Cycle*, *8***(7), 1007-1013.**

Cheng, P., Alberts, I., & Li, X. (2013). The role of ERK1 /2 in the regulation of proliferation and differentiation of astrocytes in developing brain. *International Journal of Developmental Neuroscience, 31***(8), 783-789.**

Cheung, K., Hume, P. A., & Maxwell, L. (2003). Delayed onset muscle soreness. *Sports Medicine*, *33***(2), 145-164.**

Coogan, A. N., & Piggins, H. D. (2003). Circadian and photic regulation of phosphorylation of ERK1/2 and Elk-1 in the suprachiasmatic nuclei of the Syrian hamster. *Journal of Neuroscience*, *23***(7), 3085-3093.**

Creer, A., Gallagher, P., Slivka, D., Jemiolo, B., Fink, W., & Trappe, S. (2005). Influence of muscle glycogen availability on ERK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, *99***(3), 950-956.**

Deane, C. S., Atherton, P. J., Szewczyk, N. J., Etheridge, T. E., & Phillips, B. E. (2015). The impact of eccentric and concentric exercise on muscle function in young and older men. *In Proceeding of the Physiological Society 34, PC210.* **UK, Cardiff, May 20-23, 2015.**

Jiang, W., Zhu, J., Zhuang, X., Zhang, X., Luo, T., Esser, K. A., & Ren, H. (2015). Lipin1 regulates skeletal muscle differentiation through extracellular signal-regulated kinase (ERK) ativation and cyclin D complex-regulated cell cycle withdrawal. *Journal of Biological Chemistry*, *290***(39), 23646-23655.**

Karlsson, H. K., Nilsson, P. A., Nilsson, J., Chibalin, A. V., Zierath, J. R., & Blomstrand, E. (2004). Branched-chain amino acids increase p70S6k phosphorylation in human skeletal muscle after resistance exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *287***(1), 1-7.**

Kim, Y. B., Inoue, T., Nakajima, R., Nakae, K., Tamura, T., Tokuyama, K., & Suzuki, M. (1995). Effects of endurance

1. University of Calgary
2. Brian MacIntosh

training of gene expression on insulin signal transduction pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *210***(3), 766-773.**

Ma, Q. L., Harris-White, M. E., Ubeda, O. J., Simmons, M., Beech, W., Lim, G. P., … & Cole, G. M. (2007). Evidence of Aβ and transgene-dependent defects in ERK-CREB signaling in Alzheimer's models. *Journal of Neurochemistry*, *103***(4), 1594-1607.**

MacIntosh, B. R., Esau, S. P., Holash, R. J., & Fletcher, J. R. (2011). Procedures for rat in situ skeletal muscle contractile properties. *Journal of Visualized Experiments: JoVE,* **(56), 3167.**

Martineau, L. C., & Gardiner, P. F. (2001). Insight into skeletal muscle mechanotransduction: MAPK activation is quantitatively related to tension. *Journal of Applied Physiology*, *91***(2), 693-702.**

Melo-Lima, S., Lopes, M. C., & Mollinedo, F. (2015). ERK1/2 acts as a switch between necrotic and apoptotic cell death in ether phospholipid edelfosine-treated glioblastoma cells. *Pharmacological Research*, *95***, 2-11.**

Miyake, M., Goodison, S., Lawton, A., Gomes-Giacoia, E., & Rosser, C. J. (2015). Angiogenin promotes tumoral growth and angiogenesis by regulating matrix metallopeptidase-2 expression via the ERK1/2 pathway. *Oncogene*, *34***(7), 890-901.**

Murgia, M., Serrano, A. L., Calabria, E., Pallafacchina, G., Lømo, T., & Schiaffino, S. (2000). Ras is involved in nerve-activity-dependent regulation of muscle genes. *Nature Cell Biology*, *2***(3), 142-147.**

Nader, G. A., & Esser, K. A. (2001). Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise. *Journal of Applied Physiology*, *90***(5), 1936-1942.**

Nelson, D. L., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2012). *Lehninger Principles of Biochemistry***. 2th Edition. Macmillan Learning.**

Nemati, J., Norshahi, M., Rajabi, H., & Ghrakhanlo, R. (2010). The effects of eight weeks of resistance training on fast and slow twitch muscle protein content integrin in Wistar rat. Olympics, *1***(61), 35–45. [Persian]**

Ouwens, D. M., de Ruiter, N. D., van der Zon, G. C., Carter, A. P., Schouten, J., van der Burgt, C., … & van Dam, H. (2002). Growth factors can activate ATF2 via a two-step mechanism: phosphorylation of Thr71 through the Ras–MEK–ERK pathway and of Thr69 through RalGDS–Src–p38. *The EMBO Journal*, *21***(14), 3782-3793.**

Sherwood, D. J., Dufresne, S. D., Markuns, J. F., Cheatham, B., Moller, D. E., Aronson, D., & Goodyear, L. J. (1999). Differential regulation of MAP kinase, p70S6K, and Akt by contraction and insulin in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *276***(5), E870-E878.**

Steelman, L. S., Chappell, W. H., Abrams, S. L., Kempf, C. R., Long, J., Laidler, P., … & Donia, M. (2011). Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR path ways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging (Albany NY)*, *3***(3), 192.**

Sung, J. H., Kim, M. O., & Koh, P. O. (2012). Nicotinamide prevents the down-regulation of MEK/ERK/p90RSK signaling cascade in brain ischemic injury. *Journal of Veterinary Medical Science*, *74***(1), 35-41.**

Thompson, H. S., Maynard, E. B., Morales, E. R., & Scordilis, S. P. (2003). Exercise-induced HSP27, HSP70 and MAPK responses in human skeletal muscle. *Acta physiologica Scandinavica*, *178***(1), 61-72.**

Tidball, J. G. (2005). Inflammatory processes in muscle injury and repair. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *288***(2), R345-R353.**

Widegren, U., Jiang, X. J., Krook, A., Chibalin, A. V., Björnholm, M., Tally, M., … & Zierath, J. R. (1998). Divergent effects of exercise on metabolic and mitogenic signaling pathways in human skeletal muscle. *The FASEB Journal*, *12***(13), 1379-1389.**

Widegren, U., Wretman, C., Lionikas, A., Hedin, G., & Henriksson, J. (2000). Influence of exercise intensity on ERK/MAP kinase signalling in human skeletal muscle. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, *441***(2-3), 317-322.**

Williamson, D., Gallagher, P., Harber, M., Hollon, C., & Trappe, S. (2003). Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway activation: effects of age and acute exercise on human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, *547* **(3), 977-987.**

Wortzel, I., Hanoch, T., Porat, Z., Hausser, A., & Seger, R. (2015). Mitotic Golgi translocation of ERK1c is mediated by a PI4KIIIβ–14-3-3γ shuttling complex. *Journal Cell Science*, *128***(22), 4083-4095.**

Wretman, C., Lionikas, A., Widegren, U., Lännergren, J., Westerblad, H., & Henriksson, J. (2001). Effects of concentric and eccentric contractions on phosphorylation of MAPKerk1 /2 and MAPKp38 in isolated rat skeletal muscle. *The Journal of physiology*, *535***(1), 155-164.**

Yu, M., Stepto, N. K., Chibalin, A. V., Fryer, L. G., Carling, D., Krook, A., … & Zierath, J. R. (2003). Metabolic and mitogenic signal transduction in human skeletal muscle after intense cycling exercise. *The Journal of Physiology*, *546***(2), 327-335.**

Zhu, J. H., Gusdon, A. M., Cimen, H., Van Houten, B., Koc, E., & Chu, C. T. (2012). Impaired mitochondrial biogenesis contributes to depletion of functional mitochondria in chronic MPP+ toxicity: dual roles for ERK1/2. *Cell Death & Disease*, *3***(5), e312.**

پرتال جامع علوم انسانی

Abstract

The effect of 8 weeks of resistance training on total and phosphorylated extracellular signal regulated kinases (ERK) in flexor hallucis longusmuscle of rats

Javad Nemati[1]*, Mahdi Samadi[2], Vahid Hadidi[2], Leila Ghodrat[2]

1. Assistant Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2. Ph.D Student of Biochemistry for Sport and Exercise Metabolism, Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Background and Aim: To date, more than 100 types of kinases have been known that one of the most famous of them is the large family of mitochondria -cased kinases (MAPK), which regulated by the out-cell message (ERK). The ERK controls many important cellular functions, but the effect of resistance training on ERK protein has not been clearly revealed. The aim of this study was to investigate the effect of resistance training on the expression of total and phosphorylated ERK proteins in the flexor hallucis longus muscle (FHL) in healthy male rats. **Materials and Methods:** For this purpose, 12 male Sprague Dawley rats were randomly divided into groups as experimental (n=6) and control (n=6). The experimental groups exerted resistance training including climbing on a ladder during the 8 weeks, 5 sessions per week with a weight hanging on to the tail carried out increased load has been done weekly based on body weight of mice so that the first week was from 30% to 200% in 8 weeks. Fourty eight hours after the last training session, FHL muscle was extracted and the expression of the relevant protein was measured by ELISA. For statistical analysis, one-way ANOVA method was used with a significance level of 0.05. **Results:** The results showed that resistance exercise significantly increased the total protein content (p=0.01) but had no significantly increased its phosphorylated form (p=0.08). **Conclusion:** Probably, long-term resistance training is not an appropriate intervention to ERK activation. In order to investigate this exercise induced changes, perhaps it is better to examine other signalling pathways.

Keywords: Extracellular signal-regulated kinase protein, Resistance training, Cell signaling.

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, vol. 6, no. 12, Fall & Winter 2018/2019
Received: Oct 23, 2016 ***Accepted: Apr 3, 2017***

*Corresponding Author, Address: Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran;
Email: Nemati_phy@yahoo.com DOI: 10.22077/ jpsbs.2017.318.1129