

# اثر فعالیت کاهش یافته بر بیان برخی ژن‌های مرتبط با آتروفی عضلانی در عضله پلانتریس موش‌های صحرائی پس از تمرینات مقاومتی، استقامتی و ترکیبی

مهدی مداحی<sup>۱\*</sup>، رضا قراخانو<sup>۲</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\* نشانی نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی.

Email: mehdiOfiran@yahoo.com

پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱۸

دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۶

## چکیده

**مقدمه و هدف:** کاهش فعالیت بدنی به روش لیگاسیون عصب نخاعی (SNL) سبب آتروفی عضلانی می‌شود. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر فعالیت کاهش یافته به شکل لیگاسیون عصبی بر بیان ژن‌های مرتبط با آتروفی عضلانی (TWEAK و Fn14) پس از تمرینات مقاومتی، استقامتی و ترکیبی بود.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۳۰ سر موش صحرائی به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل (۷ سر موش)، ۲. گروه تمرین ترکیبی (۷ سر موش)، ۳. گروه تمرین استقامتی (۸ سر موش) و ۴. گروه تمرین مقاومتی (۸ سر موش). مدت برنامه تمرینی گروه‌های ۲، ۳ و ۴، شش هفته و مدت فعالیت کاهش یافته، چهار هفته بود. تکنیک Real time-PCR برای سنجش بیان ژن استفاده شد. برای تعیین تفاوت میان متغیرهای پژوهش از آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

**یافته‌ها:** یافته‌ها نشان داد که بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 در اثر فعالیت کاهش یافته، افزایش می‌یابد. در گروه‌های تمرین مقاومتی و تمرین ترکیبی نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری در بیان ژن TWEAK ( $P=0/001$ ) مشاهده شد. در گروه تمرین ترکیبی نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری در بیان ژن Fn14 ( $P=0/003$ ) مشاهده شد. با این حال تغییری در بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها نشان می‌دهد که اجرای شش هفته تمرین مقاومتی یا ترکیبی نسبت به تمرین استقامتی پیش از فعالیت کاهش یافته (SNL)، از افزایش بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 پیشگیری می‌کند. بنابراین حیواناتی که در برنامه تمرینی آنها، تمرین مقاومتی وجود داشت نسبت به گروهی که تنها تمرین استقامتی انجام داده‌اند در برابر آتروفی عضلانی ناشی از کاهش فعالیت بدنی مقاوم‌ترند.

**واژه‌های کلیدی:** فعالیت کاهش یافته، آتروفی عضلانی، محرک ضعیف آپوپتوز شبه-فاکتور نکروز تومور، فاکتور رشد فیبروبلاست القایی-۱

## مقدمه

سازگار شوند. افزایش توده عضلانی به افزایش قدرت و نیروی عضلانی که از فاکتورهای بسیار مهم در آمادگی بدنی و سلامت افراد هستند منجر می‌شود. در مقابل، کاهش و یا قطع شدن فعالیت بدنی، منجر به تحلیل توده عضلانی می‌شود. این شرایط، کیفیت زندگی انسان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱).

عملکرد بهینه عضلات اسکلتی نقش بسیار مهمی در تناسب اندام، آمادگی بدنی و سلامت انسان دارد. تولید و تخریب بافت پروتئینی بخشی از هموستاز طبیعی بدن است که این ویژگی به عضلات اجازه می‌دهد با توجه به محرک‌های محیط

مسیرهای NF- $\kappa$ B<sup>4</sup> و MAPK<sup>5</sup> می‌شود (۱۰، ۱۱). فعال‌سازی مسیر NF- $\kappa$ B با افزایش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، کموکاین‌ها<sup>۶</sup> و اجزای سیستم یوبیکوئیتین پروتئازوم<sup>۷</sup> در آتروفی عضلانی نقش دارد (۱۲). همچنین نقش محوری TWEAK/Fn14 در آتروفی ناشی از قطع عصب و بی‌حرکی به‌خوبی نشان داده شده است (۱۳). علاوه بر این نقش کلیدی ژن‌های MAFbx<sup>۸</sup> و MuRF1<sup>۹</sup> در سیستم یوبیکوئیتین پروتئازوم در ایجاد آتروفی عضلانی به‌خوبی مشخص شده است. در همین راستا نشان داده شده است که MuRF1 منجر به تجزیه زنجیره سنگین میوزین در شرایط آتروفی عضله اسکلتی می‌شود (۱۴). بر این اساس می‌توان گفت که احتمالاً TWEAK به‌واسطه افزایش بیان MuRF1 باعث آتروفی عضلانی می‌شود.

یافته‌های پژوهشی نشان می‌دهد که فعالیت بدنی و ورزش، سازگاری‌های مفیدی در عضله اسکلتی ایجاد می‌کند. این سازگاری‌ها می‌تواند در ویژگی‌های انقباضی عضلات تغییرات مثبتی در جهت تقویت سیستم عضلانی ایجاد کند. افزایش تولید و ساخت پروتئین‌های عضلانی (۱۵)، کاهش در بیان ژن مایوستاتین، تعدیل مسیرهای وابسته به کلسیم (۱۶)، بهبود آتروفی عضلانی و تنظیم افزایشی بیان سلول‌های ماهواره‌ای (۱۷) پس از تمرینات ورزشی مشاهده شده است. سورین جانگ و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی نشان دادند که اجرای هشت هفته تمرین مقاومتی با شدت بالا به‌صورت بالارفتن از نردبان، تولید TNF- $\alpha$ <sup>۱۱</sup> که در آتروفی عضلانی نقش دارد را کاهش و تولید اینترلوکین-۱۱<sup>۱۱</sup> که در هایپرترروفی عضلانی نقش دارد را افزایش می‌دهد (۱۸). علاوه بر این، نشان داده شده است که دوره زمانی پیش از یک موقعیت آتروفیک، به ویژه ناشی از بی‌حرکی عضلانی، می‌تواند دوره مفیدی برای مداخلات ورزشی کوتاه‌مدت و پیشرونده برای جلوگیری از آتروفی عضله اسکلتی باشد که با بایورژن میتوکندریایی<sup>۱۲</sup>، عملکرد و تعادل ردوکس<sup>۱۳</sup> مرتبط است (۱۹). از سوی دیگر

به کم شدن توده عضلانی، آتروفی عضلانی گفته می‌شود که در اثر برخی شرایط (قطع عصب یک عضو، فقدان فعالیت بدنی، برخی سرطان‌ها، دیابت و سایر عوامل) ایجاد می‌شود (۲).

عضله اسکلتی تغییرپذیری بسیار بالایی در برابر فشارهای مکانیکی دارد. فعالیت عضلانی از طریق تغییر در توده عضله اسکلتی و نوع تار عضلانی و همچنین تنظیم بیان پروتئین‌های عضلانی، منجر به سازگاری‌های انقباضی و متابولیک می‌شود (۳، ۴). نشان داده شده است که سطح مقطع میوفیبریل‌ها در عضله اسکلتی در اثر حذف فشار مکانیکی کاهش می‌یابد (۵). ارتباط بین آتروفی عضلانی و ژن‌های مرتبط با این پدیده و نیز مسیرهایی که در این رابطه فعال می‌شوند، باعث شده است که پژوهشگران توجه بیشتری به بررسی مکانیسم‌های سلولی-مولکولی آتروفی عضلانی داشته باشند.

پیشرفت‌های چشم‌گیری در شناسایی مکانیسم‌های مرتبط با آتروفی عضلانی به‌دست آمده است با این حال این مکانیسم‌ها هنوز به‌طور کامل درک نشده‌اند. میزان توده عضلانی بوسیله تعادل بین تولید و تخریب پروتئین‌های عضلانی تعیین می‌شود (۶). محرک ضعیف آپوپتوز شبه-فاکتور نکروز تومور (TWEAK)<sup>۱</sup> عضوی از خانواده TNF<sup>۱</sup> است که با اتصال به تنها گیرنده خود به نام فاکتور رشد فیبروبلاست القایی-۱۴ (Fn14)<sup>۲</sup> بر روی سلول‌ها عمل می‌کند. اتصال TWEAK به گیرنده خود، برخی آبشارهای سیگنالینگ درون‌سلولی را فعال می‌کند و در نتیجه بسته به شرایط سلول منجر به مرگ، تکثیر، مهاجرت یا زنده ماندن سلول می‌شود. فعال‌سازی سیگنالینگ TWEAK/Fn14 منجر به افزایش تکثیر، هجوم و مهاجرت سلول‌های تومور می‌شود (۷). همچنین مسیر TWEAK/Fn14 به عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی توده عضلات اسکلتی شناخته شده است (۸). از سوی دیگر محققان در مطالعات خود دریافتند که بیان نامناسب TWEAK/Fn14، احتمالاً با عوارض ناشی از بیماری‌های کلیوی، قلبی، برخی سرطان‌ها و اختلالات عصبی ارتباط دارد (۹). در برخی پژوهش‌ها، کاهش در اندازه میوتیوب‌ها و فعال‌سازی مسیرهای کاتابولیک در اثر اضافه کردن TWEAK مشاهده شده است. برای مثال، اضافه نمودن TWEAK به میوتیوب‌ها منجر به کاهش در بیان زنجیره سنگین میوزین می‌شود (۱۰). در برخی تحقیقات گزارش شده است که TWEAK منجر به فعال‌سازی

4. Nuclear factor- $\kappa$ B  
5. Mitogen-activated protein kinase  
6. Chemokine  
7. Ubiquitin-proteasome pathway  
8. F-Box Only Protein 32  
9. Muscle RING-finger protein-1  
10. Tumor necrosis factor alpha  
11. Interleukin- 6  
12. Mitochondrial biogenesis  
13. Redox

1. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis  
2. Tumor necrosis factor  
3. Fibroblast growth factor-inducible 14

شش هفته در گروه‌های تمرینی اجرا شد. پس از شش هفته تمرین، SNL به عنوان فعالیت کاهش یافته به مدت چهار هفته بر روی گروه‌های پژوهش اجرا شد. حیوانات پس از اعمال چهار هفته لیگاتوربندی تشریح شده و عضله پلاتاریس جهت انجام آزمایشات سلولی و مولکولی برداشته شد (جدول ۱). پژوهش حاضر بر اساس کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات در دانشگاه علوم پزشکی کرمان با تأییدیه اخلاق به شماره IR.KMU.REC.1399.190 انجام شد.

به منظور آشناسازی با تمرین استقامتی، موش‌ها به مدت پنج روز در هفته و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان راه رفتند (سرعت نوارگردان برابر ۱۰ متر در دقیقه). شدت تمرین استقامتی برابر ۷۰-۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود. مدت برنامه تمرین استقامتی، شش هفته و هر هفته چهار جلسه بود (جدول ۲). جهت رسیدن سازگاری‌های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شد (۲۳). برای تبدیل سرعت نوارگردان به اکسیژن مصرفی بیشینه از روش مطالعه هویدال و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. بر این اساس هر موش صحرایی ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و شیب ۱۰ درجه مرحله گرم کردن را سپری کرد. سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز شد. در این مرحله شیب نوارگردان ثابت و ۲۵ درجه بود. هر دو دقیقه سرعت نوارگردان ۰/۳ متر بر ثانیه (حدود ۲-۱/۸ متر بر دقیقه) به طور خودکار افزایش یافت تا زمانی که موش صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نباشد. ملاک عدم توانایی در ادامه فعالیت، سه بار افتادن روی شوک یا خروج از نوارگردان بود. مدت زمان فعالیت، کل فاصله دویده شده، سرعت نهایی کسب شده، میزان کار انجام شده و لاکتات خون برای هر موش محاسبه شد. سپس میزان  $VO_{2peak}$  طبق فرمول  $Y=162x-1$  به دست آمد (۲۴).

$$Y = \text{پاسخ } VO_2 \text{ (ml/kg0.75 per min)}$$

$$x = \text{سرعت دویدن (m/s)}$$

برای آشناسازی حیوانات با نحوه اجرای تمرین مقاومتی، موش‌ها به مدت سه روز و هر روز ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با نحوه چگونگی بالارفتن از نردبان آشنا شدند. روش انجام تمرین مقاومتی به گونه‌ای بود که وزنه‌های مورد نظر از طریق سیلندر به دم موش متصل شده و موش در این حالت از نردبان بالا می‌رفت. مدت برنامه تمرین مقاومتی، شش هفته (ارتفاع نردبان

گزارش شده است که یک جلسه فعالیت استقامتی نسبت به فعالیت مقاومتی، در افرادی که به مدت ۱۰ هفته تحت تمرین (استقامتی یا مقاومتی) بوده‌اند، بیان پروتئین‌های مرتبط با آتروفی عضلانی مانند MuRF-1 و Atrogin-1 را افزایش می‌دهد (۲۰). همچنین فعالیت ورزشی منظم باعث بهبود اجرای ورزشکاران و افزایش قابلیت‌های بدنی از جمله قدرت و استقامت عضلانی، استقامت قلبی عروقی و توان عضلانی می‌شود (۲۱). از سوی دیگر، نشان داده شده است که کاهش فعالیت بدنی به روش لیگاسیون عصب نخاعی (SNL) سبب آتروفی عضلانی می‌شود (۲۲) و می‌تواند بیان ژن‌های مرتبط با آتروفی عضلانی را تحت تاثیر قرار دهد. با این حال در زمینه تاثیر SNL پس از تمرینات ورزشی مختلف بر بیان ژن‌های TWEAK و Fn14، اطلاعات زیادی در دست نیست؛ بنابراین و با توجه به پیچیدگی‌های موجود در آتروفی عضلانی، برای درک بهتر مکانیسم‌های درگیر در آتروفی عضلانی و کشف روش‌های موثر درمانی، بررسی تاثیر SNL پس از تمرینات ورزشی متفاوت بر آتروفی عضلانی از اهمیت بالایی برخوردار است. بر این اساس هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر فعالیت کاهش یافته به شیوه SNL بر بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 عضله پلاتاریس موش‌های صحرایی پس از یک دوره تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی بود.

## روش‌شناسی

تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (محدوده وزنی برابر با  $20 \pm 253$  گرم) به عنوان نمونه‌های پژوهش در نظر گرفته شد. جهت آشنایی با محیط حیوان‌خانه، حیوانات به مدت دو هفته در شرایط دمایی  $22 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی در آزمایشگاه حیوانات نگهداری و با غذای مخصوص و آب تغذیه می‌شدند. به طور کلی، موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شده و هر روز به وضعیت بهداشتی آن‌ها رسیدگی می‌شد. ۱- گروه کنترل (Sham+SNL) شامل هفت سر موش، ۲- گروه تمرین ترکیبی (Mix+SNL) شامل هفت سر موش، ۳- گروه تمرین استقامتی (TE+SNL) شامل هشت سر موش و ۴- گروه تمرین مقاومتی (LA+SNL) شامل هشت سر موش. برنامه تمرینی (تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی) به مدت

### 1. Sciatic nerve ligation

## روش استخراج بافت

حیوانات پس از ۲۸ روز قرار گرفتن در شرایط تعلیق، با استفاده از کلروفورم بیهوش و بلافاصله وزن‌کشی شدند. با استفاده از تیغ جراحی استریل‌شده برشی در قسمت پشت ساق پای موش‌ها ایجاد شد و عضله پلاتناریس با قطع تاندون پروگزیمال و دیستال جدا شد. بافت‌های موردنظر با ترازوی آزمایشگاهی (دقت ۰/۰۰۰۱؛ AND مدل GR ساخت کشور ژاپن) وزن‌کشی و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و تا انجام آزمایشات سلولی و مولکولی در فریزر نگهداری شد (۲۷).

## استخراج RNA و سنتز cDNA

حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت عضله پلاتناریس برای استخراج total RNA، به نسبت ۱ به ۱۰ در معرف کیزول<sup>۳</sup> هموزن گردید. جهت جداکردن اجزاء پروتئینی، محصول در دمای ۴°C، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شده و سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفورم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. سپس در ۴°C، ۱۵ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد تا بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. در ادامه، بخش حاوی 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 دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. در ادامه، پلت‌های حاوی RNA اتانول شستشو داده و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-Free حل شد. همچنین غلظت RNA با استفاده از دستگاه اسپندورف آلمانی<sup>۴</sup> مورد سنجش قرار گرفت و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA و به وسیله کیت سنتز cDNA ساخت فرمتاز و آنزیم مخصوص<sup>۵</sup> انجام گرفت (۲۸).

## Real time - PCR

اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 به وسیله روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix syber green II انجام شد<sup>۶</sup>. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت تکراری<sup>۷</sup> انجام گرفت. طراحی پرایمرها

یک متر و با شیب ۸۵ درجه) بود. تمرین در دو نوبت صبح (ساعت ۹) و عصر (ساعت ۲) و هر سه روز یک بار انجام می‌شد. هر جلسه تمرین در سه ست پنج تکراری انجام می‌شد. فاصله استراحتی بین ست‌ها، دو دقیقه و بین تکرارها یک دقیقه بود. در مواقع ضروری از شوک الکتریکی (۰/۲-۰/۳ میلی‌آمپر) برای تحریک موش‌ها به بالا رفتن از نردبان استفاده می‌شد. در هفته اول تمرین، ۵۰ درصد وزن بدن موش (۱۵۰ گرم) به عنوان مقاومت استفاده شد و افزایش تدریجی بار در طول برنامه تمرینی اعمال می‌شد. میانگین افزایش بار تمرین در هفته دوم ۲۰۰ گرم، هفته سوم ۳۸۰ گرم، هفته چهارم ۴۵۰ گرم، هفته پنجم ۵۵۰ گرم و هفته ششم ۶۵۰ گرم بود (۲۵).

حیوانات گروه Mix-SNL به صورت ترکیبی تمرین استقامتی (چهار جلسه) و مقاومتی (دو جلسه) را مشابه گروه‌های تمرین مقاومتی و استقامتی انجام دادند. همچنین در این گروه تمرینی، مرحله آشناسازی شبیه به سایر گروه‌های تمرینی اعمال شد.

## فعالیت کاهش یافته با استفاده از SNL

مدل SNL روشی است که به طور گسترده برای مطالعه ساز و کارهای درد نوروپاتی و تأثیر داروها و رفتارهای مرتبط با درد مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای ایجاد مدل SNL، ابتدا موش‌ها با سدیم پنتوباریتول (۶۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی) بیهوش شده و سپس عصب پنجم کمری نخاعی آن‌ها بر اساس روش کیم و چانگ<sup>۱</sup> (۲۶) به طور محکم گره زده شد. پس از اطمینان از بیهوشی حیوان، عضلات بین مهره‌ای در سطح مهره چهارم کمری و دوم خاجی جدا و زائده عرضی مهره ششم کمری برداشته شد. سپس عصب پنجم کمری سمت چپ نخاع مشخص و با ظرافت خاصی از اعصاب مجاور جدا گردید. با استفاده از نخ مخصوص<sup>۲</sup> (ساخت کشور ژاپن)، عصب موردنظر دقیقاً در قسمت دیستال جهت اطمینان از ایجاد اختلال در تمام فیبرها به طور محکم گره زده شد. در گروه کنترل نیز پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شده و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک، پوست و عضله بدون دستکاری عصب با نخ بخیه ۰/۴ سیلک بخیه زده شد (۲۶). طول مدت پروتکل SNL به مدت چهار هفته بود. پس از این مدت، حیوانات تشریح شده و بافت‌برداری انجام شد.

3. QIAzol Lysis Reagent  
4. Eppendorf Germany  
5. MuLV Reverse Transcriptase  
6. Applied Biosystems, USA  
7. Duplicate

1- Kim and Chung  
2. Thread silk

## یافته‌ها

در این بررسی، تغییرات بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 در عضله پلاتاریس موش‌های صحرایی پس از شش هفته تمرین (استقامتی، مقاومتی و ترکیبی) و اعمال چهار هفته مدل SNL مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌های به دست آمده از آزمون‌های آماری تحلیل واریانس و توکی نشان داد که بیان هر دو ژن TWEAK و Fn14 در اثر افزایش می‌یابد. علاوه بر این در گروه‌های Mix+SNL و LA+SNL نسبت به گروه Sham+SNL کاهش معنی‌داری در بیان ژن TWEAK ( $P=0/001$ ) مشاهده شد. از سوی دیگر در گروه Mix+SNL نسبت به گروه Sham+SNL نیز کاهش معنی‌داری در بیان ژن Fn14 ( $P=0/003$ ) مشاهده شد. با این حال تغییری در بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 در گروه SNL+TE نسبت به گروه Sham+SNL مشاهده نشد. این یافته‌ها در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بر اساس اطلاعات ژن‌ها در بانک ژنی NCBI<sup>۱</sup> و توسط شرکت ماکروژن<sup>۲</sup> انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش در جدول شماره ۳ گزارش شده است. همچنین ژن  $\beta$ -actin به عنوان ژن کنترل در نظر گرفته شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل:  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه،  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ ثانیه،  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ چرخه) است. میزان بیان ژن‌های با روش  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  اندازه‌گیری شد.

## روش‌های آماری

از آمار توصیفی و استنباطی به ترتیب برای توصیف داده‌ها و آزمون فرضیه‌های پژوهش استفاده شد. در بخش آمار استنباطی برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها و نیز همگن بودن واریانس‌ها به ترتیب آزمون‌های کولموگوروف اسمیرنوف<sup>۳</sup> و لون<sup>۴</sup> مورد استفاده قرار گرفت. از نرم افزار SPSS20 برای تعیین تفاوت میان متغیرهای پژوهش و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی توکی<sup>۵</sup> در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

### جدول ۱. برنامه کلی پژوهش

مرحله اول	مرحله دوم	مرحله سوم	مرحله چهارم	مرحله آخر
گروه‌بندی حیوانات	اجرای ۶ هفته برنامه تمرین	القای فعالیت کاهش یافته (SNL) به مدت ۴ هفته	تشریح حیوانات و بافت‌برداری	اندازه‌گیری و بیان ژن‌های موردنظر

### جدول ۲. برنامه تمرین استقامتی

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

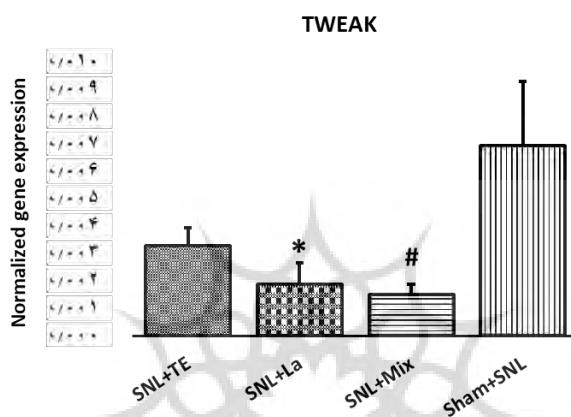
### جدول ۳. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن‌ها	توالی پرایمر	NCBI	Amplicon Size, bp	دمای ذوب
Fn14-F	GGAGTGGGTTAGATTGAGGGA	NM_181086.3	۹۷	۵۲/۳۸
Fn14-R	TTGGGGGATGGGTTGTGTTTG	NM_181086.3	۹۷	۵۲/۳۸
TWEAK-F	GTGCACTTTGATGAGGGGAAG	XM_006246745.3	۲۳۷	۵۲/۳۸
TWEAK-R	GAGTCCAAAGTAGGTAAGGAAGG	XM_006246745.3	۲۳۷	۴۷/۸۳
$\beta$ -actin-F	AAGTTCAACGGCAGTCAAGG	XM_017593963.1	۱۲۱	۶۱/۵۸
$\beta$ -actin-R	CATACTCAGCACCAGCATCACC	XM_017593963.1	۱۲۱	۶۱/۵۸

1. National Center for Biotechnology Information
2. Macrogen Inc. Seoul, Korea
3. Kolmogorov-Smirnov
4. Levene's test
5. Tukey Test

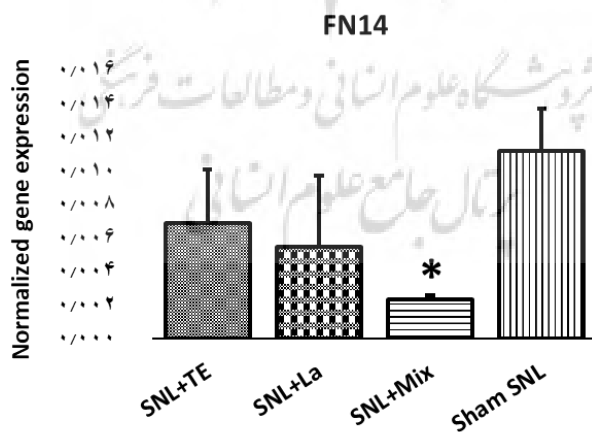
جدول ۴. میانگین و انحراف معیار توده بدنی پیش از برنامه تمرینی و پس از ایجاد SNL

توده بدنی (گرم)		گروه‌ها
پس از ایجاد SNL	پیش از تمرین	
۲۵۰/۷. ۴/۵	۲۵۵±۸/۵	کنترل (Sham+SNL)
۲۵۶-۸/۷	۲۵۲±۶/۳	تمرین استقامتی (TE+SNL)
۲۶۵±۸/۵	۲۵۵/۲±۹/۵	تمرین مقاومتی (LA+SNL)
۲۶۰/۹±۳/۵	۲۵۲/۵±۶/۵	تمرین ترکیبی (Mix+SNL)



نمودار ۱. تغییرات بیان ژن TWEAK

# و \* نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه‌های SNL+La و SNL+Mix با گروه Sham+SNL ( $P < 0.05$ ).



نمودار ۲. تغییرات بیان ژن Fn14

\* نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه‌های SNL+Mix و Sham+SNL ( $P < 0.05$ ).

## بحث

آتروفی عضلانی در شرایط عدم استفاده طولانی مدت از اندام‌ها ایجاد می‌شود. برخی شرایط نظیر زندگی در فضا، اختلال در خون‌رسانی به بافت‌ها و بدون بار کردن مکانیکی اندام‌ها منجر به آتروفی عضلانی می‌شود (۲۹، ۳۰). در هر دو مورد، آتروفی‌های ناشی از وضعیت‌های پاتولوژیک و فیزیولوژیک، کاهش تولید نیرو و آتروفی ایجاد شده می‌تواند کیفیت زندگی افراد را تحت تاثیر قرار دهد (۳۱)؛ بنابراین کشف ساز و کارهای درگیر در زمینه آتروفی عضلانی از اهمیت بالایی برخوردار است. سایتوکاین‌های التهابی با فعال‌سازی مسیرهای تخریب پروتئین، سرکوب فعالیت عوامل رشدی و کاهش ظرفیت بازسازی توده عضلانی منجر به آتروفی عضلانی می‌شوند (۳۲، ۳۳). TWEAK یکی از سایتوکاین‌های خانواده TNF- $\alpha$  است که به واسطه گیرنده Fn14 باعث ایجاد آتروفی عضلانی می‌شود (۹، ۳۴). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که SNL به عنوان مدلی از فعالیت کاهش یافته، منجر به افزایش در بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی توده عضلات اسکلتی می‌شود. از طرف دیگر نتایج این پژوهش نشان داد که القاء SNL پس از یک دوره تمرین ورزشی مقاومتی و یا ترکیبی منجر به کاهش در میزان بیان این ژن‌ها می‌شود. با این حال در گروهی که در معرض تمرین استقامتی قرار گرفتند این یافته‌ها مشاهده نشد. با توجه به این یافته‌ها به نظر می‌رسد که تمرین مقاومتی جزء بسیار مهمی در پیشگیری از آتروفی عضلانی ناشی از فعالیت کاهش یافته به شیوه SNL است ولی تمرین استقامتی این ویژگی را ندارد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین استقامتی نسبت به تمرین مقاومتی یا ترکیبی، زمینه ایجاد آتروفی عضلانی را بیشتر فراهم می‌کند. هم‌راستا با پژوهش حاضر، کاظمی و جهان‌شاهی (۱۳۹۸) در پژوهشی نشان دادند که فعالیت کاهش یافته به شکل SNL منجر به افزایش بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 می‌شود و تمرین تناوبی شدید (HIIT)<sup>۱</sup> در کاهش بیان این ژن‌ها موثر بوده است (۳۵).

در مورد سازوکارهای پیشنهادی ناشی از تاثیر تمرینات ورزشی بر آتروفی عضلانی گزارش شده است که سرکوب ژن Fn14 به طور قابل توجهی آتروفی عضلانی را مهار می‌کند (۳۶).

## 1. High-intensity interval training

همچنین پیشنهاد شده است که مسیر TWEAK/Fn14 به‌گونه‌ای عملی کند که منجر به فعال‌سازی TRAF-6<sup>۲</sup> و به دنبال آن، NF- $\kappa$ B می‌شود. این رویدادها در نهایت منجر به بیان افزایش یافته MuRF1 و ایجاد آتروفی عضلانی می‌شود. در این راستا گزارش شده است که سرکوب ژن TWEAK منجر به افزایش سطح مقطع عرضی تارهای عضلانی می‌شود (۳۴). از سوی دیگر در بررسی تاثیر تمرینات مقاومتی نشان داده شده است که این شیوه تمرینی منجر به افزایش توده و سطح مقطع تارهای عضلانی می‌شود (۳۷). همچنین در پژوهش حاضر نشان داده شد که تمرینات مقاومتی و ترکیبی از افزایش بیان ژن‌های TWEAK و Fn14 ناشی از SNL پیشگیری می‌کند و با این ساز و کار می‌تواند آتروفی عضلانی را مهار کند. مانوئل بنیشیو و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تجمع چربی‌های درون سلولی توسط تمرین مقاومتی، هم‌زمان با افزایش اجزای تنظیم‌کننده هموستاز گلوکز، کمتر می‌شود. این پاسخ‌ها همچنین با کاهش مسیرهای داخل سلولی کاتابولیک (FoxO-1، TWEAK/Fn14، TNF- $\alpha$ )، Atrogin-1، MuRF1 و Myostatin) و افزایش مسیرهای آنابولیک (IGF-1، mTOR-p70S6k-1 و MyoD)<sup>۳</sup> در عضلات موش‌های پیر تمرین کرده مرتبط است. این یافته‌ها به اهمیت تمرین مقاومتی در تعدیل بیان ژن‌های تنظیم‌کننده داخل سلولی مربوط به سازگاری‌های مورفولوژیک و متابولیک در عضله اسکلتی اشاره دارد (۳۸).

فعال‌سازی مسیر PI3K-AKT-mTOR و IGF-1 از دیگر ساز و کارهای سلولی و مولکولی مرتبط با تمرین مقاومتی است که باعث رشد توده عضلات شده و از آتروفی عضلانی جلوگیری می‌کند (۳۹). در آتروفی عضلانی ناشی از فقدان حرکت و فعالیت، مسیر AKT-mTOR و IGF-1 یکی از مسیرهای سیگنالینگ بسیار مهم است. سرکوب مسیر AKT-mTOR موجب افزایش فاکتور FoxO و تخریب پروتئین در بافت عضلانی می‌شود (۴۰). بیش‌فعالی FoxO منجر به آتروفی عضلانی شده و به نظر می‌رسد با افزایش MuRF-1 و Atrogin-1 در ارتباط باشد

2 Tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factor 6

3. Forkhead box proteins

4. Mammalian target of rapamycin

5. Insulin Like Growth Factor 1

6. Myoblast determination protein 1

7. Phosphatidylinositol-3-kinase

و CD163<sup>+</sup> می‌شود. همچنین بیان این فاکتورها در بیماران مبتلا به بیماری‌های مزمن التهابی مانند بیماری عروق کرونر، نارسایی قلبی، فشارخون شریان ریوی، بیماری مزمن کلیه و دیابت شیرین کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که مقدار TWEAK و CD163 برای ایجاد تعادل و تعدیل بین فرآیندهای پیش‌التهابی و ضد التهابی ضروری است و تمرین استقامتی منظم می‌تواند از طریق سیگنالینگ CD163-TWEAK اثرات مفیدی بر بیماری‌های التهابی داشته باشد (۴۸). یادآور می‌شود که افزایش بیان TWEAK و Fn14 در پژوهش حاضر یک پاسخ جبرانی به کاهش فعالیت عصبی-عضلانی ناشی از SNL بود و می‌تواند شرایط آتروفی عضلانی را فراهم کند.

در مورد تمرینات ترکیبی، پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تمرین ترکیبی در مقابله با آتروفی عضلانی طولانی مدت مزایای ویژه‌ای دارد. در این شیوه تمرینی، تمرین استقامتی باعث افزایش ظرفیت تنفسی عضلانی می‌شود که عمدتاً از طریق باپوژنز میتوکندریایی به دست می‌آید. این سازگاری‌ها شامل افزایش چگالی میتوکندری و فعالیت آنزیمی است و همراه با تغییرات هماهنگ در ویژگی‌های انقباضی تارچه‌های عضلانی ایجاد می‌شوند (۴۹). علاوه بر نقش محافظت از دستگاه قلبی عروقی و ساختار استخوانی، اخیراً ثابت شده است که تمرینات ترکیبی نتایج بهینه‌ای را به همراه دارد. نشان داده شده است که تمرین ترکیبی، در طول استراحت طولانی مدت، تقریباً به‌طور کامل با کاهش اندازه عضلات ران و ساق پا مقابله می‌کند (۵۰). همچنین نشان داده شده است که تمرین ترکیبی، تغییرات مشاهده شده در زیرخوشه‌های ژنی به دنبال استراحت طولانی مدت، به ویژه تغییرات مربوط به سنتز و تخریب پروتئین و همچنین تغییراتی که در گلیکولیز و فسفوریلاسیون اکسیداتیو دخیل هستند را مهار می‌کند (۵۱).

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی یافته‌های این پژوهش نشان داد که حیوانات گروه تمرین مقاومتی و تمرین ترکیبی نسبت به گروهی که تنها تمرین استقامتی انجام داده‌اند، پاسخ آتروفیک کمتری در برابر SNL نشان دادند. براین اساس احتمالاً تمرین مقاومتی، عامل بسیار مهمی در مهار مسیرهای مرتبط با آتروفی عضلانی ناشی از

(۴۱). همچنین مهار مسیر IGF1-PI3K-AKT با افزایش بیان ژن‌های MuRF-1 و Atrogin-1 در ارتباط است (۴۰، ۴۲). گزارش شده است که در شرایط آنابولیک، فعال شدن مسیر AKT منجر به سرکوب FoxO می‌شود و در نتیجه آتروفی عضلانی نیز مهار می‌شود (۴۱). از سوی دیگر گزارش شده است که با افزایش بیان IGF-1، فسفوریلاسیون AKT در عضله بی‌تحرك افزایش یافته و این امر منجر به پیشگیری از آتروفی عضلانی می‌شود (۴۳). علاوه بر این نشان داده شده است که تمرینات مقاومتی با افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  می‌تواند باعث حفظ توده عضلانی و به تاخیر انداختن آتروفی عضلانی شود. PGC-1 $\alpha$  یکی از عوامل بسیار مهمی است که فاکتورهای مربوط به هایپرتروفی عضله اسکلتی را تنظیم و هماهنگ می‌کند (۴۴). این فاکتور تا حد زیادی از آتروفی عضلات در برابر شرایطی مانند بی‌باری مکانیکی و قطع عصب جلوگیری می‌کند (۴۵).

همراستا با پژوهش حاضر، رضایی‌پور و همکاران (۱۳۹۸) در بررسی اثر تمرین مقاومتی اندام فوقانی در پی یک دوره بی‌حرکی اندام تحتانی بر بیان ژن‌های تنظیم‌گر فرایندهای آتروفی عضله نعلی موش‌های تمرین کرده نشان دادند که اجرای تمرین مقاومتی موجب کاهش معنادار بیان ژن‌های FoxO3a، MuRF1 و MAFbx شده است. به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی از طریق کاهش یا عدم افزایش بیان این ژن‌ها از آتروفی عضلانی در دوره بی‌حرکی جلوگیری کرده است و احتمالاً تمرین مقاومتی راه حل مناسبی برای کاهش آتروفی عضلانی ناشی از بی‌حرکی عضلانی است (۴۶). علاوه بر این، پناهی و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهشی به بررسی تاثیر چهار هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن MuRF1 و آتروفی عضلانی در موش‌های دیابتی پرداختند. یافته‌های آنها نشان داد که دیابت سبب ایجاد آتروفی و افزایش بیان ژن MuRF1 می‌شود و تمرین مقاومتی میزان آتروفی را از طریق مهار بیان MuRF1 کاهش می‌دهد (۴۷).

همراستا با یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر افزایش بیان TWEAK در اثر SNL و نیز SNL پس از تمرین استقامتی، گزارش شده است که فعالیت بدنی منظم به شکل تمرین استقامتی منجر به افزایش قابل‌توجهی در سطوح TWEAK

1. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- $\alpha$
2. Forkhead box O3



استفاده شود. هرچند که برای شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک دقیق‌تر، به بررسی و آزمایش‌های بیشتری نیاز است.

فعالیت کاهش یافته است. باتوجه به این یافته‌ها پیشنهاد می‌شود که از این شیوه تمرینی در جهت پیشگیری از آتروفی عضلانی

## منابع

- Lynch RL, Konicek BW, McNulty AM, Hanna KR, Lewis JE, Neubauer BL, et al. The progression of LNCaP human prostate cancer cells to androgen independence involves decreased foxo3a expression and reduced p27kip1 promoter transactivation. *Mol. Cancer Res.* 2005;3(3):163-9.
- Tidball JG. Mechanical signal transduction in skeletal muscle growth and adaptation. *J. Appl. Physiol.* 2005;98(5):1900-8.
- Giger JM, Bodell PW, Zeng M, Baldwin KM, Haddad F. Rapid muscle atrophy response to unloading: pretranslational processes involving mhc and actin. *J. Appl. Physiol.* 2009;107(4):1204-12.
- Rodriguez J, Vernus B, Chelh I, Cassar-Malek I, Gabillard J-C, Sassi AH, et al. Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cell. Mol. Life Sci.* 2014;71(22):4361-71.
- Radak Z, Sasvari M, Nyakas C, Kaneko T, Tahara S, Ohno H, et al. Single bout of exercise eliminates the immobilization-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem. Int.* 2001;39(1):33-8.
- Glass DJ. Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Nat. Cell Biol.* 2003;5(2):87-90.
- Hu G, Zeng W, Xia Y. Tweak/fn14 signaling in tumors. *Tumor Biol.* 2017;39(6):1010428317714624.
- Tajrishi MM, Zheng TS, Burkly LC, Kumar A. The Tweak-fn14 pathway: a potent regulator of skeletal muscle biology in health and disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014;25(2):215-25.
- Kumar A, Bhatnagar S, Paul PK. Tweak and traf6 regulate skeletal muscle atrophy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2012;15(3):233.
- Dogra C, Hall SL, Wedhas N, Linkhart TA, Kumar A. Fibroblast growth factor inducible 14 (fn14) is required for the expression of myogenic regulatory factors and differentiation of myoblasts into myotubes. evidence for tweak-independent functions of fn14 during myogenesis. *J. Biol. Chem.* 2007;282(20):15000-10.
- Dogra C, Changotra H, Mohan S, Kumar A. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis inhibits skeletal myogenesis through sustained activation of nuclear factor-kb and degradation of myod protein. *J. Biol. Chem.* 2006;281(15):10327-36.
- Peterson JM, Bakkar N, Guttridge DC. Nf-kb signaling in skeletal muscle health and disease. *Curr. Top. Dev. Biol.* 96: Elsevier; 2011. p. 85-119.
- Kumar A, Bhatnagar S, Mittal A, Glass DJ. Tweak/fn14 system is a critical regulator of denervation-induced skeletal muscle atrophy. *FASEB J*; 2010.
- Clarke BA, Drujan D, Willis MS, Murphy LO, Corpina RA, Burova E, et al. The e3 ligase murf1 degrades myosin heavy chain protein in dexamethasone-treated skeletal muscle. *Cell Metab.* 2007;6(5):376-85.
- 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. *Am. J. Physiol. Endocrinol.* 2004;287(3):E513-E22.
- Cunha TF, Bacurau AV, Moreira JB, 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): 41701.
- Shefer G, Rauner G, Yablonka-Reuveni Z, Benayahu D. Reduced satellite cell numbers and myogenic capacity in aging can be alleviated by endurance exercise. *PLoS one.* 2010;5(10):e13307.
- Jung S, Ahn N, Kim S, Byun J, Joo Y, Kim S, et al. The effect of ladder-climbing exercise on atrophy/hypertrophy-related myokine expression in middle-aged male wistar rats. *J. Physiol. Sci.* 2015;65(6):515-21.
- Theilen NT, Jeremic N, Weber GJ, Tyagi SC. Exercise preconditioning diminishes skeletal muscle atrophy after hindlimb suspension in mice. *J. Appl. Physiol.* 2018;125(4):999-1010.
- Stefanetti RJ, Lamon S, Wallace M, Vendelbo MH, Russell AP, Vissing K. Regulation of ubiquitin proteasome pathway molecular markers in response to endurance and resistance exercise and training. *Pflugers Arch.* 2015;467(7):1523-37.
- Gibala MJ, Little JP, Van Essen M, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, et al. Short- term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J. Physiol.* 2006;575(3):901-11.
- Malmberg AB, Basbaum AI. Partial sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates. *Pain.* 1998;76(1-2):215-22.
- Chae C-H, Kim H-T. Forced, moderate-intensity treadmill exercise suppresses apoptosis by increasing the level of ngf and stimulating phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. *Neurochem. Int.* 2009;55(4):208-13.
- Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007;14(6):753-60.

25. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. *J. Exerc. Physiol. Online*. 2003;6(2).
26. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*. 1992;50(3):355-63.
27. Tal M, Bennett GJ. Extra-territorial pain in rats with a peripheral mononeuropathy: mechano-hyperalgesia and mechano-allodynia in the territory of an uninjured nerve. *Pain*. 1994;57(3):375-82.
28. Rahmati M, Ghanbarzadeh M, Aghaei MH. The effect of decreased activity in the form of neuropathic pain on gsk-3b gene expression in sciatic nerve fiber of male wistar rats. *Qom Univ. Med. Sci. J*. 2018;12(2):11-8.
29. Hodges P, Holm AK, Hansson T, Holm S. Rapid atrophy of the lumbar multifidus follows experimental disc or nerve root injury. *Spine*. 2006;31(25):2926-33.
30. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg. Focus*. 2004;16(5):1-7.
31. Fanzani A, Conraads VM, Penna F, Martinet W. Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 2012;3(3):163-79.
32. Vinciguerra M, Musaro A, Rosenthal N. Regulation of muscle atrophy in aging and disease. Protein metabolism and homeostasis in aging: *Springer*; 2010. p. 211-33.
33. Li H, Malhotra S, Kumar A. Nuclear factor-kappa b signaling in skeletal muscle atrophy. *J. Mol. Med*. 2008;86(10):1113-26.
34. Mittal A, Bhatnagar S, Kumar A, Lach-Trifilieff E, Wauters S, Li H, et al. The tweak-fn14 system is a critical regulator of denervation-induced skeletal muscle atrophy in mice. *J. Cell Biol*. 2010;188(6):833-49.
35. Kazemi A, Jahanshahi E. effect of spinal nerve ligation on the expression of tweak and fn14 genes in edl muscle of wistar rats after hit training. *J. Appl. Physiol*. 2019;15(30):161-74.
36. Tajrishi MM, Sato S, Shin J, Zheng TS, Burkly LC, Kumar A. The tweak-fn14 dyad is involved in age-associated pathological changes in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;446(4):1219-24.
37. Welle S, Totterman S, Thornton C. Effect of age on muscle hypertrophy induced by resistance training. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*. 1996;51(6):M270-M5.
38. Ribeiro MBT, Guzzoni V, Hord JM, Lopes GN, de Andrade RV, et al. Resistance training regulates gene expression of molecules associated with intramyocellular lipids, glucose signaling and fiber size in old rats. *Sci. Rep*. 2017;7(1):1-13.
39. Foletta VC, White LJ, Larsen AE, Léger B, Russell AP. The role and regulation of mafbx/atrogen-1 and murf1 in skeletal muscle atrophy. *Pflug Arch Eur J. Physiol*. 2011;461(3):325-35.
40. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the e3 ubiquitin ligases murf1 and mafbx/atrogen-1. *Am. J. Physiol. Endocrinol*. 2014;307(6):E469-E84.
41. Pomiès P, Blaquièrre M, Maury J, Mercier J, Gouzi F, Hayot M. Involvement of the foxo1/murf1/atrogen-1 signaling pathway in the oxidative stress-induced atrophy of cultured chronic obstructive pulmonary disease myotubes. *PLoS One*. 2016;11(8):e0160092.
42. Vechetti-Junior IJ, Bertaglia RS, Fernandez GJ, de Paula TG, de Souza RW, Moraes LN, et al. Aerobic exercise recovers disuse-induced atrophy through the stimulus of the lrp130/pgc-1 $\alpha$  complex in aged rats. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci*. 2016;71(5):601-9.
43. Mukai R, Matsui N, Fujikura Y, Matsumoto N, Hou D-X, Kanzaki N, et al. Preventive effect of dietary quercetin on disuse muscle atrophy by targeting mitochondria in denervated mice. *J. Nutr. Biochem*. 2016;31:67-76.
44. Ruas JL, White JP, Rao RR, Kleiner S, Brannan KT, Harrison BC, et al. A pgc-1 $\alpha$  isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell*. 2012;151(6):1319-31.
45. Zhang Z, Wang B, Fei A. Bdnf contributes to the skeletal muscle anti-atrophic effect of exercise training through ampk-pgc1 $\alpha$  signaling in heart failure mice. *Arch Med Sci*. 2019;15(1):214.
46. Rezaei-pour S, Kordi M, Gaeini A, Gharakhanloo R. An investigation of the effect of upper limb resistance training after lower limb immobilization on foxo3a, murf1 and mafbx gene expressions of soleus muscle in trained rats. *SPMI*. 2019;11(4):81-90.
47. Panahi S, Agha-Alinejad H, Gharakhanloo R, Fayazmilani R, Hedayati M, Safarzadeh A, et al. The effect of 4 weeks resistance training on murf1 gene expression and muscle atrophy in diabetic wistar rats. *Med. J. Tabriz Univ. Med. Sci. Health Serv*. 2016;38(2):6-13.
48. Schönbauer R, Lichtenauer M, Paar V, Emich M, Fritzer-Szekeres M, Schukro C, et al. Regular training increases stweak and its decoy receptor scd163—does training trigger the stweak/scd163-axis to induce an anti-inflammatory effect? *J. Clin. Med*. 2020;9(6):1899.
49. Koulmann N, Bigard A-X. Interaction between signalling pathways involved in skeletal muscle responses to endurance exercise. *Pflugers Arch - Eur J Physiol*. 2006;452(2):125-39.
50. Trappe T, Burd N, Louis E, Lee G, Trappe S. Influence of concurrent exercise or nutrition countermeasures on thigh and calf muscle size and function during 60 days of bed rest in women. *Acta Physiol*. 2007;191(2):147-59.
51. Chopard A, Lecunff M, Danger R, Lamirault G, Bihoue A, Teusan R, et al. Large-scale mrna analysis of female skeletal muscles during 60 days of bed rest with and without exercise or dietary protein supplementation as countermeasures. *Physiol. Genomics*. 2009;38(3):291-302.

# The effect of decreased physical activity on the expression of muscle atrophy-related genes after resistance, endurance and combined exercise training

Mehdi Madahi<sup>1\*</sup>, Reza Gharakhanlou<sup>2</sup>, Mohammad Ali Azarbayjani<sup>3</sup>

1. PhD, Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Professor, Department of Exercise Physiology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4. Professor, Department of Sports Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 2022/07/17

Accepted: 2022/08/09

## Abstract

### \*Correspondence:

### Email:

mehdiofiran@yahoo.com

**Introduction and purpose:** Decreased physical activity due to sciatic nerve ligation (SNL) cause muscle atrophy. The purpose of the present study was to investigate the effect of decreased physical activity in the form of spinal nerve ligation (SNL) on the expression of muscle atrophy-related genes (TWEAK and Fn14) after resistance, endurance and combined exercises.

**Materials and Methods:** Thirty rats were randomly divided into four groups: 1- Control group-SNL (Sham+SNL) (N=7), 2- Mixed training group-SNL (Mix+SNL) (N=7), 3- Endurance training group-SNL (TE+SNL) (N=8), and 4- Resistance training group-SNL (LA+SNL) (N=8). Mix+SNL, TE+SNL and LA+SNL groups participated in training program for six weeks. Decreased physical activity was implemented for four weeks. Real time-PCR technique was used to measure gene expression. To determine the difference between research variables, analysis of variance, Tukey's post hoc test were used at a significance level of 0.05.

**Results:** The results showed that the gene expression of TWEAK and Fn14 increased by decreased activity. The expression of TWEAK in SNL+La and SNL+Mix groups was significantly lower than Sham+SNL group (P=0.001), and the expression of Fn14 was significantly lower only in the SNL+Mix group compared to the Sham+SNL group (P=0.003). However, there was no significant change in the expression of TWEAK and Fn14 genes in SNL+TE group compared to Sham+SNL group.

**Discussion and Conclusion:** These findings show that performing six weeks of resistance or combined training compared to endurance training before reduced activity (SNL), prevents the increase in the gene expression of TWEAK and Fn14. Therefore, the animals that included resistance training in their training program are more resistant to muscle atrophy caused by reduced physical activity than the group that only did endurance training.

**Key words:** Decreased activity, Muscle atrophy, TWEAK, Fn14.