

اثر کاهش فعالیت بدنی پس از یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های STIM1، Orai1 و MG29 در عضله پلاتناریس موش‌های نر ویستار

عبدالرضا کاظمی^{۱*}، مختار قنبرزاده^۲، ضیا نویدی^۳، شیما امام بخش^۴

۱. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

۲. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی کرمان، کرمان، ایران

۳. استادیار، گروه بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۴. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی کرمان، کرمان، ایران

* نشانی نویسنده مسئول: رفسنجان، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، گروه علوم ورزشی

Email: rkazami22@yahoo.com

پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۱۶

دریافت: ۱۴۰۱/۵/۱۷

چکیده

مقدمه و هدف: کاهش فعالیت بدنی در جوانان موجب کاهش در توده عضلانی، سطح مقطع عرضی میوفیبریل‌ها (CSA) و تولید نیرو می‌شود. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر کاهش فعالیت بدنی پس از یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های STIM1، Orai1 و MG29 در عضله پلاتناریس موش‌های نر ویستار بود.

مواد و روش‌ها: ۱۶ سر رت نژاد ویستار در محدوده وزنی 20 ± 25 گرم به صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه کنترل - لیگاسیون عصب نخاعی (SNL): شامل ۸ سر موش صحرانی نر ۸ هفته‌ای بوده که سه شاخه سیاتیک آن‌ها به طور محکم گره زده شد. گروه تجربی شامل ۸ سر موش صحرانی که پس از یک دوره تمرین استقامتی و SNL را دریافت کردند. پروتکل تمرین استقامتی در پژوهش حاضر به مدت ۴ روز در هفته و به مدت ۶ هفته بود. از ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در هفته اول، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. بعد از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین بی‌هوش و بافت عضله استخراج شد. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری تی مستقل با سطح معناداری $P < 0.05$ استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین استقامتی قبل از SNL باعث عدم تغییر معنادار ژن MG29 ($P=0.07$) و افزایش معنادار ژن Stim1 ($P=0.01$) و Orai1 ($P=0.05$) شد.

بحث و نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی قادر به تعدیل اختلال بیان پروتئین‌های، Stim1 و Orai1 در حالت نورپاتی بود که ممکن است به واسطه سازوکارهای گوناگونی نظیر کنترل عوامل استرس اکسایشی و عوامل رشدی بتواند اثرات سودمند خود را اعمال کند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت کاهش‌یافته، STIM1، Orai1، MG29.

مقدمه

تخریب پروتئین بیش از سنتز آن باشد آتروفی عضلانی اتفاق می‌افتد (۳). هر چند که آتروفی پیامد فرایندهای فیزیولوژیک معینی است، ولی به عنوان یکی از ویژگی‌های اصلی در بسیاری از بیماری‌ها مورد توجه قرار می‌گیرد. در هر دو مورد وضعیت‌های پاتولوژیک و فیزیولوژیک، ضعف و آتروفی عضلانی می‌تواند کیفیت زندگی را پایین آورده، ناتوانی در

آتروفی عضلانی ناشی از عدم استفاده طولانی مدت از عضله و به دلایل مختلفی رخ می‌دهد. افرادی که به مدت طولانی دچار فقر حرکتی هستند (۱) از طریق شرایط پاتولوژیک نظیر کاهش خون‌رسانی، تغذیه ناکافی و قطع عصب یک عضله (آتروفی نورونیک) دچار آتروفی عضلانی می‌شوند (۲). در عضله اگر

میزان کلسیم آزاد شده در طول انقباض در عضلات آتروفی شده شود. این عملکرد ناقص در هموستاز کلسیم می‌تواند نهایتاً موجب ضعف عضلانی و آتروفی در دوران پیری شود (۱۱). در همین راستا، نشان داده شده است که عضلات اسکلتی موش‌های پیر در حدود ۴۰ درصد ^۴STIM1 (مولکول واکنشگر استرومال) کمتری نسبت به موش‌های جوان دارند (۱۲). موش‌هایی که فاقد MG29^۵ هستند عملکرد غیرطبیعی را در عضلات اسکلتی از قبیل نیروی انقباضی ضعیف و اختلال در SOCE نشان می‌دهند (۱۳). همچنین، همانطور که در بیماری‌های تخریب عضلانی مزمن یا اختلالاتی از قبیل آتروفی و سارکوپینیا مرتبط با سن نشان داده شده است، موش‌های فاقد MG29 بیشتر مستعد خستگی می‌باشند (۱۴). همراه با این، در عضلات اسکلتی موش‌ها MG29 به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. افزایش خستگی در موش‌های فاقد MG29 بدلیل کاهش میزان کلسیم آزاد شده از شبکه سارکوپلاسمی می‌باشد (۱۴).

پروتئین شماره‌ی یک کانال کلسیمی آزاد-فعال شده کلسیم، یک کانال یونی انتخابی کلسیم است که در انسان توسط ژن ^۱Orai1 کدگذاری می‌شود. کانال‌های Orai نقش مهمی در فعال‌سازی لئوسیت‌های T دارند. از دست دادن جهش عملکرد Orai1 باعث نقص شدید سیستم ایمنی بدن در انسان می‌شود (۱۰). نقص در عملکرد Orai1 باعث ایجاد عفونت‌های تهدید کننده شدیدی می‌شود. این شرایط عمدتاً بر فعال شدن لئوسیت‌ها اثر می‌گذارد، همچنین نشان داده شده است که کانال‌های Orai1 پس از تخلیه ذخایر کلسیم داخلی، فعال می‌شوند (۱۱). پس از فعال شدن فسفولیپاز C توسط گیرنده‌های مختلف سطوح سلولی، اینوزیتول تری فسفات تشکیل می‌شود تا کلسیم را از شبکه آندوپلاسمی آزاد کند (۱۱). با توجه به اثر مثبت فعالیت ورزشی به ویژه بر بهبود توده عضلانی و افزایش عملکرد عضلانی در افراد و سازگاری‌هایی مثبت در جابجایی کلسیم این سوال پیش می‌آید که آیا کاهش فعالیت بدنی به شکل خراش عصبی پس از یک دوره فعالیت ورزشی می‌تواند بر بیان ژن‌های ^۱Orai1، ^۲STIM1 (هدایت کننده کلسیم در سیستم T عضلات) و MG29 که در جریان SOCE

انجام کارهای روزانه را منجر شود و همچنین خستگی و ایجاد بیماری‌های ثانویه مثل پوکی استخوان و دیابت را به دنبال داشته باشد. کاهش سطح مقطع تارهای عضلانی و اختلال در نیروی عضلانی، مشخصه اصلی آتروفی عضلانی است. همچنین، آتروفی عضلانی به وسیله تغییر در ترکیب تار عضلانی نیز اتفاق می‌افتد (۴). عضله اسکلتی یک بافت تغییر پذیر است که با توجه به سطح فعالیت خود (بار مکانیکی در مقابل غیر فعال بودن) از طریق تغییر در توده عضله، بیان پروتئین‌های عضلانی و تغییر در نوع تار به لحاظ انقباضی و متابولیکی، سازگار می‌شود.

کاهش فعالیت بدنی در جوانان موجب کاهش در توده عضلانی، سطح مقطع عرضی میوفیبریل‌ها (CSA)^۱ و تولید نیرو شده است. بدن‌ها آن بارگذاری مجدد فعالیت بدنی، آبشاری از رویدادها از قبیل آسیب‌های خفیف عضلانی، التهاب، بازسازی و رشد را تحریک می‌کند که در نتیجه موجب بازیافت توده عضلانی و CSA می‌شود (۵). بنابراین، شناخت مکانیسم‌های درگیر در آتروفی و بازسازی عضله به توسعه روش‌های درمانی جدید برای مقابله با بیماری‌هایی از قبیل دیستروفی عضلانی، آتروفی ناشی از بی‌حرکی و پیری کمک خواهد کرد (۶).

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که تجزیه پروتئین بواسطه یوبی کوئیتین، نقش قابل توجهی در آتروفی عضلانی دارد (۷). در وضعیت‌های کاتابولیکی مختلف، آتروفی عضله اسکلتی ناشی از فعال شدن سیستم پایین دستی یوبی کوئیتین پروتئازوم وابسته به ATP^۲ می‌باشد (۷). ژانو و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که SOCE^۳ (ورودی کلسیم عمل‌کننده توسط ذخایر) در عضلات اسکلتی آتروفی شده به شدت دچار اختلال می‌گردد (۸). پاینه و همکاران (۲۰۰۹) تفاوتی در ژن‌های مرتبط با SOCE مشاهده نکردند (۹). گزارش شده است که نفوذپذیری غشا پلاسمایی به کاتیون‌های دو ظرفیتی در عضلات اسکلتی کاهش می‌یابد و کاهش SOCE در سلول‌های عصبی و فیبروبلاست‌ها نشان داده شده است (۱۰).

گزارش شده است که کاهش SOCE می‌تواند منجر به کاهش مزمن ذخایر کلسیم شبکه سارکوپلاسمی و کاهش در

۴. Stromal Interaction Molecule 1

۵. Mitsugumin 29

۶. Calcium release-activated calcium channel *protein* 1

1. Cross sectional earia

2. Adenosine 3-phosphat

3. Suppressor of cytokine signalling

نقش دارند اثر بگذارد؟ از این رو، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر کاهش فعالیت بدنی به شکل لیگاسیون عصب نخاعی بر بیان ژن های **STIM1**، **Orai1** و **MG29** در عضله پلاتناریس موش های صحرایی نر پس از یک دوره تمرین استقامتی می باشد.

روش شناسی

تحقیق حاضر تجربی و از نوع بنیادی می باشد. حیوانات مورد استفاده در این تحقیق ۱۶ سر از رت های نر نژاد ویستار^۱ در محدوده وزنی 20 ± 250 گرم بودند که به صورت تصادفی از بین رت های پرورش یافته در مرکز تحقیقات فیزیولوژی انتخاب شده و رت ها در آزمایشگاه حیوانات در اطاقی به ابعاد $1/60$ در $2/20$ متر در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) دما (23 ± 3 سانتی گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. تعداد سه تا پنج عدد رت در قفس هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی متر به گونه ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. در پژوهش حاضر کار با حیوانات بر اساس کلیه اصول اخلاقی تایید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان (IR.KMU.REC.1399.190) و دستورالعمل های سازمان بین المللی مطالعه درد (IASP)^۲ انجام پذیرفت. رت های مورد مطالعه به روش تصادفی ساده به دو گروه تقسیم شدند:

۱) گروه اول: گروه کنترل - لیگاسیون عصب نخاعی (SNL): این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی نر ۸ هفته ای بوده که سه شاخه سیاتیک آن ها بر اساس روش کیم و چانگ (۱۹۹۱) به طور محکم گره زده شد (۱۵). این موش ها نیز همزمان با بقیه گروه ها قربانی شدند و کلیه مراحل و آزمایشات مطابق دیگر گروه ها بر روی آن ها انجام پذیرفت.

۲) گروه دوم: ۸ سر موش صحرایی نر ۸ هفته ای که پس از یک دوره تمرین استقامتی و SNL را دریافت کردند. در پایان پژوهش، با گاز CO_2 بی هوش و سپس بافت عضله استخراج و نمونه ها تا زمان انجام آزمایشات در $80^\circ -$ منجمد و نگهداری شد.

پروتکل تمرین: ابتدا در طول مرحله آشناسازی، به منظور خونگیری به شرایط آزمایشگاه، نوار گردان و دست کاری، حیوانات پنج روز در هفته به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۵ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. همچنین، به منظور سازش به آزمایش های رفتاری، حیوانات به مدت ۳ روز در معرض آزمایش های رفتاری (۲ بار برای هر آزمایش) قرار گرفتند.

پروتکل تمرین استقامتی در پژوهش حاضر از شدت تمرینی متوسط (۶۰-۷۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) استفاده گردید؛ برای تبدیل سرعت نوار گردان 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 نوار گردان ثابت و ۲۵ درجه بود. هر دو دقیقه سرعت نوار گردان 0.3 متر بر ثانیه (حدود $2/8 - 1$ متر بر دقیقه) به طور خودکار افزایش یافت تا زمانی که موش صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نباشد. ملاک ناتوانی در ادامه فعالیت، سه بار افتادن روی شوک یا خروج از نوارگردان بود. مدت زمان فعالیت، کل فاصله دویده شده، سرعت نهایی کسب شده و میزان کار انجام گرفته برای هر موش محاسبه شد سپس VO_{2peak} طبق فرمول $Y=162x-1$ به دست آمد (Y = پاسخ VO_2 0.75 میلی لیتر بر کیلوگرم در دقیقه)؛ x = سرعت دویدن (متر بر ثانیه) (۱۵).

بدین صورت که گروه های ورزشی در معرض تمرین نوارگردان با شدت متوسط برای ۴ روز در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵-۱۴ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵-۱۴ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. جهت رسیدن سازگاری های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند (جدول ۱).

1. Wistar
2. International Association for the Study of Pain

جدول ۱. نمایش عددی پروتکل در هفته‌های مختلف

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸

جهت سنجش آلوداینای مکانیکی حیوان بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار می‌گرفت. پس از سازگاری حیوان با محیط جدید، از فیبرهای Von Frey^۳ در محدوده وزنی ۲ تا ۶۰ گرم (۶۰-۲۶-۱۵-۸-۶-۴-۲) ساخت شرکت Stoltzing Inc استفاده شد. آزمایش با سبک‌ترین فیبر شروع و در صورت عدم پاسخ به ترتیب از فیبرهای سنگین‌تر استفاده شد. برای ایجاد تحریک، هر فیبر سه بار متوالی و به فاصله ۵ ثانیه، هر بار به مدت یک ثانیه به کف پای حیوان فشار وارد شد. چنانچه ۲ بار متوالی پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده می‌شد، همان وزن فیبر به عنوان آستانه پاسخ محسوب می‌گردید. چنانچه حیوان به هیچ یک از فیبرها پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد (۱۷).

استخراج بافت

استخراج نمونه ۷۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش و عضله استخراج شد. تمامی نمونه‌ها در نیتروژن منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA

برای استخراج RNA، QIAzol[®] Lysis Reagent (Qiagen, Germany) و کلروفرم (Qiagen, Germany) به صورت دستی و مطابق دستورالعمل‌های تولیدکننده مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور استخراج total RNA (نسبت ۱ به ۱۰)، ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت عضله پلاتناریس به طور جداگانه از هر یک از گروه‌ها همگن شد. برای برداشتن اجزای پروتئینی، محصول نهایی به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (۱۲۰۰×g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد). سپس این محصول با نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط شده و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. برای

القا فعالیت کاهش یافته به شکل لیگاتوربندی نخاع

جهت لیگاسیون، ابتدا رت‌ها با سدیم پنتوباریتول (۶۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم بصورت درون صفاقی) بی‌هوش شده و سپس عصب پنجم کمری نخاعی آن‌ها بر اساس روش کیم و چانگ (۱۹۹۲) به طور محکم گره زده شد. به طور خلاصه، عضلات بین مهره‌ای در سطح مهره چهارم کمری و دوم خاجی جدا شده و زائده عرضی مهره ششم کمری برداشته شد. عصب پنجم کمری سمت چپ نخاع مشخص و با ظرافت از اعصاب مجاور جدا می‌گردد. عصب پنجم کمری به طور محکم با استفاده از نخ مخصوص (Thread silk)، دقیقاً در انتهای دیستال جهت اطمینان از ایجاد اختلال در تمام فیبرها گره زده شد (۱۶). با توجه به تاخیر در بروز علائم رفتاری نوروپاتی، پس از گذشت مدتی از تزریق STZ تا زمان اثبات بروز نوروپاتی، هیچ مداخله‌ای صورت نپذیرفت. لذا در مطالعه حاضر ۲ هفته پس از تزریق STZ، رت‌هایی که علائم نوروپاتی (آلوداینیا مکانیکی و پردردی حرارتی) را نشان دادند به عنوان مدل نوروپاتی دیابت در نظر گرفته شدند.

آزمون رفتاری جهت سنجش درد

برای سنجش هایپرالجزیا حرارتی از دستگاه Radiation Heat استفاده شد که در آن بخش میانی کف پای حیوان از میان سطح پلکسی گلاس در معرض تشعشع ثابت حرارتی قرار گرفت و زمان آستانه پس کشیدن پنجه (PWTs)^۲ محاسبه گردید. تحریکات گرمائی سه مرتبه و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه تکرار می‌شدند. برای سنجش هایپرالجزیا مکانیکی دوباره حیوان بر روی شبکه سیمی قرار داده شد و به فاصله ۱۵ ثانیه، به مدت یک ثانیه کف پای حیوان با وارد نمودن نیرو توسط Pin Prick تحریک گردید. چنانچه حیوان پای خود را بلند می‌کرد، به عنوان پاسخ مثبت و در غیر اینصورت به عنوان پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. درصد پاسخ از محاسبه نسبت تعداد پاسخ مثبت حیوان به کل تعداد تحریکات محاسبه گردید.

1. Streptozocin

۲. Paw-withdrawal thresholds

۳. Filaments

نظر گرفته شد. تولید DNA با استفاده از Quantitect Reverse Transcription kit (Qiagen, Germany) و بر اساس دستورالعمل های تولیدکننده انجام شد (۱۸).

روش های آماری

در بخش آمار توصیفی از شاخص های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار و در بخش آمار استنباطی جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری تی مستقل استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. حداقل سطح معناداری داده ها، برابر با $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

جدا کردن مواد معدنی و بخش های آبی محصول موردنظر، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ ($12000 \times g$) در دمای ۴ درجه سانتی گراد) انجام شد. در مرحله بعد، بخش حاوی RNA جدا شده و با استفاده از ایسوپروپانول به نسبت ۱ به ۰/۵ مخلوط شده و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه ($12000 \times g$) در ۴ درجه سانتی گراد) سانتریفیوژ شد. برای شستن پلت های حاوی RNA از اتانول استفاده شد. پس از آن غلظت RNA اندازه گیری شد و در ۲۰ میکرو لیتر آب بدون Rnas (Eppendorff Germany) معلق شد. نسبت ۲۶۰ تا ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان خالص سازی بهینه در

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن ها	توالی پرایمر	NCBI	Amplicon Size, bp
Orai1	F= 5'-ccataagacgggaccgacagt-3' R= 5'-gggaaggtggaggacttaggc-3'	NM_001013982.1	132
STIM	F= 5'-tggagctgccgagcagtatgag-3' R= 5'-tgattgtggcagtcgaagag-3'	NM_001108496.2	196
MG29	F=GGAATTCgCGCTGGGCTTCATCA AAGTCTCC R=CGGGATCgCGACTCACCTGAAGG GGATAGCC	AB158471.1	196

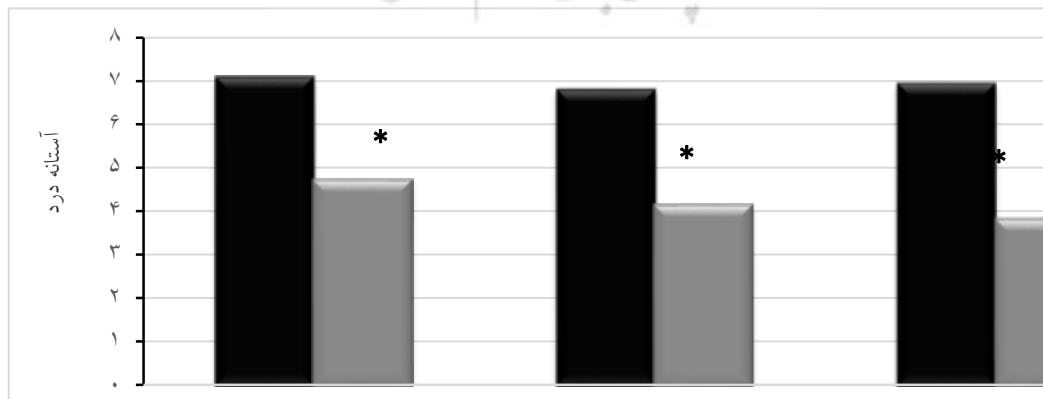
یافته ها

گروه کنترل نسبت گروه تمرین در هفته های ۰، ۳ و ۶ شده است. ($P=0/0001$) (نمودار ۱). در نمودار ۲ نتایج نشان داد ۶ هفته تمرین استقامتی آستانه پس کشیدن پنجه در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود ($P=0/0001$).

توده بدنی موش ها قبل و پس از دوره پروتکل در جدول ۳ ارایه شده است. با استفاده از ترازوی مخصوص موش و با دقت ۰/۱ گرم وزن موش ها اندازه گیری و ثبت شد. الفاء بی فعالیتی موجب کاهش معنادار آستانه درد موش ها در

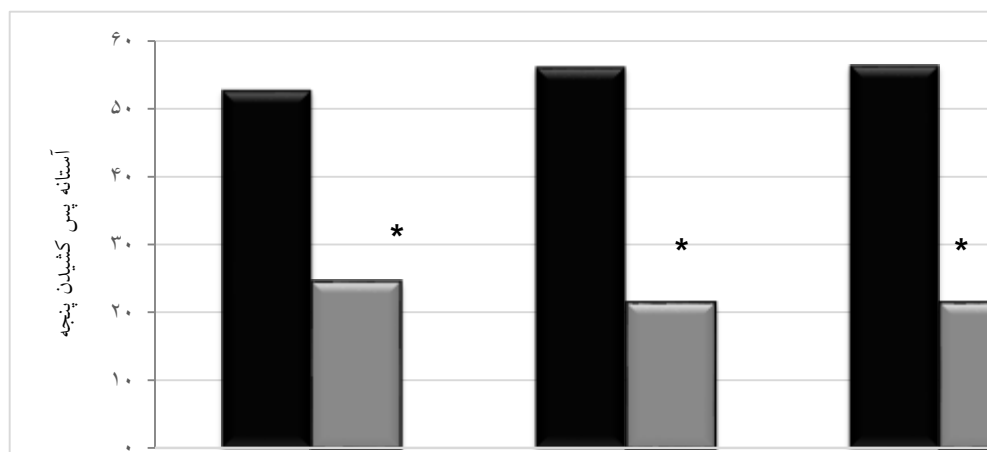
جدول ۳. میانگین توده بدنی پیش و پس از تمرین در گروه های پژوهش

گروه ها	پیش از تمرین	توده بدنی (گرم)	پس از تمرین
کنترل-شم	۲۵۰±۱۰/۷۰		۲۵۵/۳۰±۱۰/۳۰
تمرین-استقامتی	۲۵۰/۸۰±۱۱/۳۰		۲۶۰/۶۰±۹/۴۰



نمودار ۱. تغییرات آستانه درد در گروه های پژوهش

* اختلاف معناداری در سطح $P < 0/05$



نمودار ۲. آستانه پس کشیدن پنجه در گروه‌های پژوهش

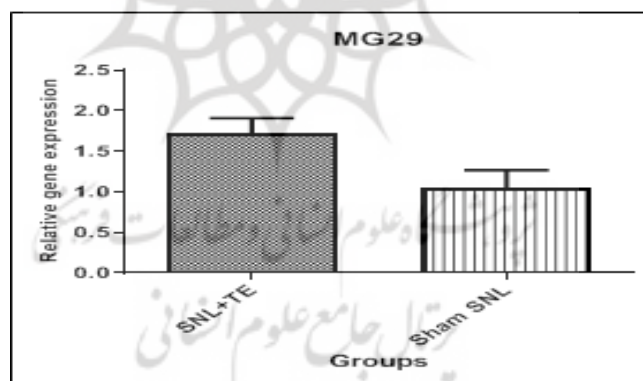
* اختلاف معناداری در سطح $P < 0.05$

لذا، تمرین استقامتی قبل از SNL بر بیان ژن MG29 در عضله پلانتاریس موش‌های صحرائی نر اثر معنادار ندارد (نمودار ۳)

نتایج تحقیق حاضر اثر غیر معناداری را در عامل تمرین بر سطوح بیان ژن MG29 در عضله پلانتاریس دو گروه کنترل-شم و تمرین-SNL نشان می‌دهد (جدول ۴) ($P = 0.07$).

جدول ۴. نتایج آزمون T مستقل بیان ژن MG29 در عضله پلانتاریس

منبع تغییرات	مجموع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره F	P
مدل	۳۵/۸۴۵	۳	۷/۷۱۱	۱۰/۲	۰/۰۷
خطا	۶/۶۲۶	۸	۰/۹۴۷		
کل	۶۹/۴۷۱	۱۲			



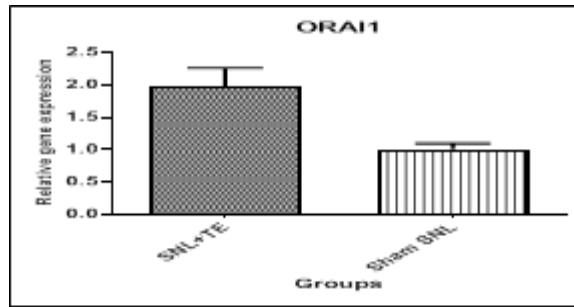
نمودار ۳. تغییرات بیان ژن MG29 در گروه‌های پژوهش

بنابراین، انجام تمرین استقامتی قبل از SNL بر بیان ژن Orai1 در عضله پلانتاریس موش‌های صحرائی نر اثر معنادار دارد. (نمودار ۴)

نتایج تحقیق حاضر اثر معناداری را در عامل تمرین بر سطوح بیان ژن Orai1 در عضله پلانتاریس دو گروه کنترل-شم و تمرین-SNL نشان می‌دهد. ($P = 0.05$).

جدول ۵. نتایج آزمون T مستقل بیان ژن Orai1 در عضله پلانتاریس

منبع تغییرات	مجموع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
تمرین استقامتی	۱۰/۸۶۵	۱	۱۰/۸۶۵	۱۵/۱	۰/۰۵
خطا	۵/۰۲۶	۸	۰/۷۱۸		
کل	۸۵/۵۹۷	۱۲			



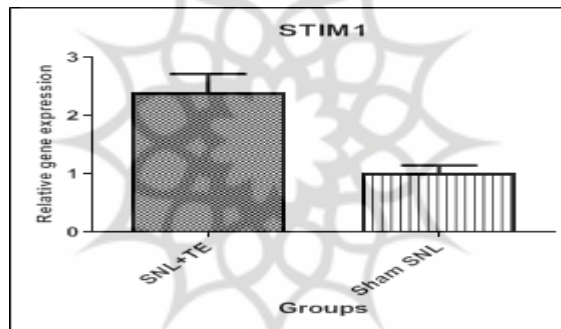
نمودار ۴. تغییرات بیان ژن **ORAI1** در گروه‌های پژوهش

بنابراین، انجام تمرین استقامتی قبل از SNL بر بیان ژن **Stim1** در عضله پلانتراریس موش‌های صحرایی نر اثر معنادار دارد. (نمودار ۵)

همچنین نتایج آزمون T مستقل اثر معناداری را در عامل تمرین بر سطوح بیان ژن **Stim1** در عضله پلانتراریس دو گروه کنترل و تمرین-SNL نشان می‌دهد. ($P=0/0001$)

جدول ۶. نتایج آزمون T مستقل بیان ژن **Stim1** در عضله پلانتراریس

منبع تغییرات	مجموع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
تمرین	۲۵/۲۶۴	۱	۴۰/۰۸۸	۲۰/۰	۰/۰۱
خطا	۸/۱۲	۳	۱/۲۳۰		
کل	۱۵۲/۵۰۳	۹			



نمودار ۵. تغییرات بیان ژن **STIM1** در گروه‌های پژوهش

پژوهش حاضر همخوانی ندارد. از دلایل ناهمسو بودن می‌توان به مدت تمرینی اشاره کرد زیرا لیو و همکاران از برنامه تمرینی ۳ ماهه استفاده کرده بودند و آن‌ها گزارش کردند که تمرینات طولانی مدت با شدت متوسط یکی از عوامل مهم نتایج تحقیقشان است. از سوی دیگر یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج پژوهش ایرنا و همکاران (۲۰۱۲) همراستا است، آن‌ها نشان دادند که جریان مختل شده کلسیم در شبکه آندوپلاسمی شریان‌های کرونری در موش‌های دارای نورپاتی که به علت کاهش در بیان پروتئین **STIM1** ایجاد می‌شود، منجر به تضعیف ریلکسیشن مرتبط با آندوتلیوم در شریان‌های کرونری می‌شود. در حالی که بیش بیانی **STIM1** تاثیر درمانی مفیدی بر اختلالات آندوتلیال کرونری در دیابت دارد (۲۰). همچنین

بحث

در تحقیق حاضر، تأثیر تمرین استقامتی بر ژن‌های درگیر در جریان کلسیم در عضله پلانتراریس موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که یک دوره تمرین استقامتی منجر به عدم افزایش در بیان ژن **MG29** و افزایش معنادار در بیان ژن‌های **Orai1** و **STIM1** در عضله پلانتراریس رت‌های صحرایی نر نسبت به گروه کنترل شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین استقامتی بیان این ژن‌ها را تغییر می‌دهد.

پژوهش لیو و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که در گروه تمرین، بیان mRNA ژن‌های تنظیم کننده کلسیم سلولی مانند **STIM1** و **Orai1** به طور قابل توجهی کاهش یافته و تمرین ورزشی مزمن با شدت متوسط باعث بهبود سیگنال‌های کلسیم داخل سلولی در لئوسیت‌های کبدی می‌شود (۱۹) که با نتایج

ویسلوف و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند در رت‌های نوروپاتی شده به وسیله STZ، علاوه بر کاهش در بیان ژن و پروتئین‌های تنظیم‌کننده چرخه کلسیم در عضله قلب، یکپارچگی و عملکرد درست گیرنده‌های رایانودین با ابتلای به این بیماری کاهش می‌یابد (۲۱) که این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا بود. این تناقضات مشاهده شده در ادبیات پژوهشی را می‌توان به نوع تمرین، نوع آزمودنی و روش‌های اندازه‌گیری متغیرهای مورد استفاده در پژوهش‌ها نسبت داد.

از طرفی دیگر این سازوکار ممکن است به واسطه کاهش عملکرد استیل کولین [Ach] سلول‌های عضلات صاف باشد. گزارش شده است که کاهش انتشار Ca^{2+} از ER در عروق کرونری توسط هیپرگلیسمی و کاهش عملکرد استیل کولین یکی از دلایل اختلالات کرونری در بیماری دیابتی می‌باشد. انتشار تضعیف شده و کاهش سطح $[Ca^{2+}]$ در شبکه آندوپلاسمی ناسازگاری‌هایی اعمال می‌کند که باعث تضعیف قابل توجهی بر عملکردهای فیزیولوژیکی اندوتلیوم از جمله انسداد شریان قلبی در بیماران مبتلا به دیابت می‌شود (۲۲). زیرا هیپرگلیسمی یکی از دلایل ضعیف شدن عروق کرونری است. یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار بر تغییرات مسیرهای SOCE، ممکن است تولید اکسید نیتریک باشد زیرا گزارش شده است در شرایط استراحت و در غیاب Ca^{2+} خارج سلولی در موش‌های دیابتی در مقایسه با موش‌های سالم کاهش می‌یابد. اما این کاهش به طور قابل توجهی توسط STIM1 به سطح عادی بازگردانده می‌شود. بنابراین می‌توان گفت که بیان پروتئین STIM1 در بیماری دیابت منجر به کاهش انتشار Ca از ER می‌شود و در نتیجه عملکرد وابسته به اندوتلیوم را در موش‌های دیابتی را کاهش می‌دهد. یکی دیگر از عوامل تغییرات STIM1 در پژوهش حاضر ممکن است سطح گلوکز پلاسما و اسیدهای چرب آزاد باشد، زیرا این فاکتورها در بیماری دیابت به طور قابل توجهی بیماری‌های عروقی را افزایش می‌دهند و این عوامل STIM1 را به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد (۲۳).

کاظمی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی تأثیر ۶ هفته فعالیت کاهش‌یافته به شکل درد نوروپاتیک بر بیان ژن پروتئین راننده یکشنبه (گیرنده پروتئینی که با پروتئین کاینزین و گیرنده داینکتین در ارتباط است و در تنظیم عملکرد آن‌ها نقش دارد) عصب سیاتیک رت‌های نر و استار نشان دادند که فعالیت

کاهش‌یافته در اثر درد نوروپاتی با افزایش بیان پروتئین راننده یکشنبه (SYD) همراه بوده است که احتمالاً این افزایش با آسیب و اختلال مرتبط با تخریب عصب و انتقال آکسونی در فعالیت کاهش‌یافته به شکل درد نوروپاتیک مرتبط است (۲۴). رحمتی و همکاران (۱۳۹۷) در پژوهش خود با عنوان تأثیر فعالیت کاهش‌یافته به شکل درد نوروپاتیک بر بیان ژن $GSK-3\beta$ در عصب سیاتیک رت‌های نر و استار نشان دادند که آلودینیای مکانیکی، پردردی حرارتی و فعالیت کاهش‌یافته با افزایش بیان ژن $GSK-3\beta$ در عصب سیاتیک مرتبط است (۲۵). با توجه به نتایج پژوهش آن‌ها مشخص گردید در سطوح سلولی، افزایش پاتولوژیک بیان ژن $GSK-3\beta$ به عنوان یک عامل کلیدی و تنظیم‌کننده در نوروپاتی و کارکرد آن‌ها، سبب تسریع عوارض مخرب در پی یک دوره فعالیت کاهش‌یافته با مدل SNL می‌شود که در این مطالعه فواید فعالیت افزایش‌یافته (ورزشی) بیش از پیش مشخص گردید. در واقع، می‌توان نتیجه گرفت فعالیت کاهش‌یافته (مدل CCI و SNL) و افزایش‌یافته (تمرین ورزشی) در دو سوی پیوستار با تغییرات در سطوح سلولی و آنزیمی نوروپاتی می‌تواند سبب ظهور شرایط تخریب عصبی، آپوپتوز، آتروفی عصبی و یا سبب بهبود رشد و جوانه‌زنی نوروپاتی در شبکه نوروپاتی، جلوگیری از روند آپوپتوز و آتروفی عصبی شود که اهمیت فعالیت بدنی را بیش از پیش نمایان می‌سازد.

دیگر یافته پژوهش حاضر نشان داد که انجام تمرین استقامتی قبل از کاهش فعالیت بدنی، آستانه درد در گروه تمرین کرده نسبت به گروه تمرین نکرده به طور معناداری بالاتر بود. همچنین آزمون Von frey نشان داد که انجام تمرین استقامتی قبل از کاهش فعالیت بدنی، آستانه پس کشیدن پنجه در گروه تمرین کرده نسبت به گروه تمرین نکرده به طور معناداری بالاتر بود. طاهرآبادی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که ۴ هفته تمرین استقامتی زیربیشینه قادر به تعدیل پردردی حرارتی در موش‌های دارای نوروپاتی نیست (۲۶) که با یافته پژوهش حاضر همخوانی ندارد. هرچند مطالعات متعددی نشان می‌دهند که تمرین ورزشی قادر به تأخیر در آغاز درد نوروپاتی، کاهش حساسیت لامسه‌ای و آلودینیای مکانیکی و پردردی حرارتی می‌گردد. این تعارض‌ها را عمدتاً به شدت، مدت و نوع تمرینات ورزشی و محرک درد مورد استفاده نسبت داده‌اند (۲۷).

نتیجه گیری

صورت تمرین استقامتی قادر به تعدیل اختلال بیان این پروتئین‌ها در حالت نوروپاتی بود که ممکن است به واسطه سازوکارهای گوناگونی نظیر کنترل عوامل استرس اکسایشی و عوامل رشدی باشد و از این طریق اثرات سودمند خود را اعمال می‌کند.

در پژوهش حاضر نشان داده شد که بیان ژن‌های **STIM1**، **Orai1** و **MG29** در اثر تمرینات ورزشی قبل از یک دوره کاهش فعالیت بدنی تأثیرپذیر بوده و ممکن است جزو سازوکار شکل‌پذیری عضلانی باشند. همچنین تمرینات ورزشی به

منابع

- Hodges P, Holm AK, Hansson T, Holm SJS. Rapid atrophy of the lumbar multifidus follows experimental disc or nerve root injury. *J. Spine*. 2006; 31(25):2926-33.
- Burnett MG, Zager ELJNF. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus*. 2004; 16(5):1-7.
- Hussain G, Wang J, Rasul A, Haseeb A, Qasim M, Zafar SH, et al. Current Status of Therapeutic Approaches against Peripheral Nerve Injuries: A Detailed Story from Injury to Recovery. *Int J Biol Sci*. 2020; 16(1):116-134.
- Larsson L, Degens H, Li M, Salviati L, Lee Y-I, Thompson W, et al. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol Rev*. 2019; 99(1):427-511.
- Wang W, Zhang L, Wang Z, Wang X, Liu Y. Physicochemical and sensory variables of Maillard reaction products obtained from Takifugu obscurus muscle hydrolysates. *Food Chem*. 2019; 30:290:40-46.
- Hurley B, Goldberg AP, Hagberg JM, John O. Holloszy: An Enduring Legacy in Exercise Physiology, Aging and Muscle Research. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2019; 74(4):588-589.
- He N, Ye H. Exercise and Muscle Atrophy. *Adv Exp Med Biol*. 2020; 1228:255-267
- Zhao X, Weisleder N, Thornton A, Oppong Y, Campbell R, Ma J, et al. Compromised store-operated Ca^{2+} entry in aged skeletal muscle. *Aging cell*, 2008; 7(4):561-568.
- Payne AM, Jimenez-Moreno R, Wang ZM, Laura Messi, and Delbono O. Role of Ca^{2+} , membrane excitability, and Ca^{2+} stores in failing muscle contraction with aging. *Exp. Gerontol*. 2009; 44(4):261-273.
- Conte E, Imbrici P, Mantuano P, Coppola MA, Camerino GM, De Luca A, et al. Alteration of **STIM1/Orai1**-Mediated **SOCE** in Skeletal Muscle: Impact in Genetic Muscle Diseases and Beyond. *Cells*. 2021; 10(10):2722.
- Rosenberg P, Zhang H, Bryson VG, Wang CH. **SOCE** in the cardiomyocyte: the secret is in the chambers. *Pflugers Arch*. 2021; 473(3):417-434.
- Zhao H, Yan G, Zheng L, Zhou Y, Sheng H, Wu L, et al, **STIM1** is a metabolic checkpoint regulating the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Theranostics*. 2020; 16; 10(14):6483-6499.
- Pan Z, Hirata Y, Nagaraj RY, Zhao J, Nishi M, Hayek SM, et al. Co-expression of **MG29** and ryanodine receptor leads to apoptotic cell death: effect mediated by intracellular Ca^{2+} release. *J Biol Chem*. 2004; 279(19):19387-90.
- Correll RN, Lynch JM, Schips TG, Prasad V, York AJ, Sargent MA, et al. Mitsugumin 29 regulates t-tubule architecture in the failing heart. *Sci Rep*. 2017; 7(1):5328.
- Morten AH, Wisloff U, Kemi OJ, Oyvind Ellingsen Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur. J. Prev. Cardiol*. 2007; 14(6):753-60.
- Kim S, Chung J. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*. 1992; 50(3):355-63.
- Cruccu G, Anand P, Attal N, Garcia L-L, Haanpaa M, Jorum E, et al. EFNS guidelines on neuropathic pain assessment. *Eur. J. Neurol*. 2004; 11(3):62-153.
- Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res. Spec. Publ*. 2001; 29(9):45.
- R, Fan W, Krüger K, Xiao YU, Pilat C, Seimetz M, et al, Exercise Affects T-Cell Function by Modifying Intracellular Calcium Homeostasis. *Med Sci Sports Exerc*. 2017; 49(1):29-39.
- IA, Donthamsetty R, Debski P, Zhou MH, Zhang LZ, Yuan JX, et al. **STIM1** restores coronary endothelial function in type 1 diabetic mice. *Circ Res*. 2012; 111(9):1166-75.
- Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognum O, Haram PM. et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval-training versus moderate continuous training in heart failure patients, *Circulation*, 2007; 115:3086-3094.
- Shawer H, Norman K, Cheng CW, Foster R, Beech DJ, Bailey MA. et al. **Orai1** Ca^{2+} channel as a therapeutic target in pathological vascular remodelling. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9:653-812.
- Yeung PS, Yamashita M, Prakriya M. Molecular basis of allosteric **Orai1** channel activation by **STIM1**. *J Physiol*. 2020; 598(9):1707-1723.
- Kazemi A, Rahmati M, Montazer S. The effects of decreased activity in the form of spinal nerve ligation on **CDK5** expression in sciatic nerve and behavioral test of wistar rats with neuropathic pain. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2016; 17(6): 22-32. [In Persian]
- Rahmati M, Khazani A, Gharakhanlou R, Movaheddin M, Manaheji HJP. Chronic effects of moderate intensity endurance training on neuropathic pain symptoms in diabetic rats. *Physiol Pharmacol*. 2013; 16(4):435-45. [In Persian]
- Taherabadi SJ, Heidarianpour A, Basereh M. Effects of submaximal endurance training and vitamin D3 supplementation on pain threshold in diabetic rats. *Zahedan. J. Res*. 2013; 15(7):22-25. [In Persian]
- Izadi MR, Gaeini AA, Ravasi AA, Delfan M. Effect of 4 weeks high intensity interval training on gene expression of Ryanodine receptor calcium channels (**RyR2**), **SERCA2a** and Phospholamban in diabetic rat's heart, *JSB*. 2018; 10(1):1-12. [In Persian]

The effect of reducing physical activity after a period of endurance training on the expression of STIM1, Orai1 and MG29 genes in the plantaris muscle of male Wistar rats

Abdolreza Kazemi^{1*}, Mokhtar Ghanbarzadeh², Zia Navidi³, Shima Emambakhsh⁴

1. Associated Professor, Department of Sports Sciences, School of literature and Humanities, Vali-E-Asr University, Rafsanjan, Iran
2. MSc, Department of Sports Sciences, School of literature and Humanities, Islamic Azad University of Kerman, Kerman, Iran
3. Associated Professor, Department of anesthesiology, School of medicine, rafsanjan university of medical sciences, rafsanjan, iran
4. MSc, Department of Sports Sciences, School of literature and Humanities, Islamic Azad University of Kerman, Kerman, Iran

Received: 2022/08/08

Accepted: 2022/11/07

Abstract

*Correspondence:
Email:
rkazami22@yahoo.com

Introduction and purpose: Decreased physical activity in rodents has caused a decrease in muscle mass, cross-sectional area of myofibrils (CSA) and force production. The purpose of this study was to investigate the effect of reducing physical activity after a period of endurance training on the expression of STIM1, Orai1 and MG29 genes in the plantaris muscle of male Wistar rats.

Materials and methods: The current research is experimental and basic. 16 male white desert rats, Wistar breed, weighing 250 ± 20 grams, were randomly divided into two groups. Control group - Spinal nerve ligation (SNL): This group included 8-week-old male rats whose three sciatic branches were tightly tied. The second group included 8 rats who received SNL after a period of endurance training. They did the endurance training protocol in the present study was for 4 days a week for 6 weeks. It increased from 10 meters per minute for 10 minutes in the first week to 17-18 meters per minute for 30 minutes in the fifth week. After the last training session, rats were anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine and xylazine, and muscle tissue was extracted. To determine the significance of the difference between the variables, independent t-test was used, and SPSS-22 software was used to analyze the data with a significance level of $P < 0.05$.

Results: The results of the present research showed that endurance training before SNL caused a significant change in the MG29 gene ($P = 0.07$) and a significant increase in the Stim1 gene and Orai1 ($P < 0.05$).

Discussion and Conclusion: Endurance training was able to modulate the expression disorder of these proteins in the state of neuropathy, which may be due to various mechanisms such as controlling oxidative stress factors and growth factors, in this way exerts its beneficial effects.

Key words: Decreased activity, STIM1, Orai1, MG29