مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲٦، شماره ٤، مهر و آبان ۱٤۰۰(شماره پی در پی (۱)۱٤۷)

اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن *myoD* در عضلات کند و تند انقباض موش‌های صحرایی

محمد فتحی[۱*]، سمیه احمدآبادی[۲]

[۱]گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران، [۲]گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

تاریخ وصول:۱۳۹۹/۰۵/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: افزایش بیان فاکتور *myoD* مشخصه فعال‌سازی و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای در پی محرک‌های القاء شده در عضلات اسکلتی است، اما به نظر می‌رسد پاسخ عضلات تند و کند و هم‌چنین آشکار شدن این نشانگر در اثر محرک‌های یکسان متفاوت است. بنابراین هدف از این مطالعه تعیین و ارزیابی اثر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن *myoD* در عضله اسکلتی تند و کند انقباض موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۹ انجام شد، ۱٤ موش صحرایی(با میانگین وزنی ۳۳±۲۹٤ گرم) از انستیتوی پاستور تهیه و برای همه آنها شرایط طبیعی (دسترسی آزاد به آب و غذا، چرخه تاریکی و روشنایی، دما و رطوبت مناسب) مهیا شد و به صورت تصادفی به دوگروه کنترل(۷ سر) و تجربی(۷ سر) تقسیم شدند. گروه تجربی ۱٤ هفته فعالیت استقامتی (٦ جلسه در هفته، هر جلسه ۱ ساعت تمرین استقامتی با سرعت ۳۰ متر در دقیقه) را اجرا کرده، در پایان ٤۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، بی هوش و تشریح شدند. از روش Real time RT-PCR برای تعیین میزان بیان ژن *myoD* عضله بازکننده دراز انگشتان(EDL) و عضله نعلی استفاده و با استفاده از آزمون آماری تی مستقل برای ارزیابی اطلاعات استفاده شد.

یافته‌ها: تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن *myoD* در عضله بازکننده بلند انگشتان(p=۰/۰۲۲)شد. هم‌چنین این تغییر در عضله نعلی به طور معنی‌داری(p=۰/۰۰۱)دیده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد فعالیت استقامتی با ایجاد چالش‌های متابولیکی موجب افزایش بیان ژن *myoD* در عضله کند انقباض یعنی عضله نعلی و هم‌چنین عضلهEDL یعنی عضله تند انقباض می‌شود.

واژه‌های کلیدی: فعالیت استقامتی، *myoD*، عضله نعلی، عضله بازکننده

*نویسنده مسئول:**محمد فتحی،** خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، گروه تربیت بدنی

Email: fathi.m@lu.ac.ir

مقدمه

تعداد سلول‌های ماهواره‌ای در عضلات تحت تأثیر عواملی از قبیل؛ سن، نوع تار عضلانی و گونه قرار دارد. این سلول‌ها در زیر غشاء پایه عضلات اسکلتی یعنی دقیقاً در مجاورت سارکولمای میوفیبریل‌ها قرار دارند و بین ۲ تا ۷ درصد فضایی درون تار را به خود اختصاص می‌دهند(۱). میزان این سلول‌ها شدیداً تحت تأثیر سن قرار دارد به گونه‌ای که از موش‌های نوزاد، تا سالمند تعداد آنها از ٤٣ درصد به ۲ درصد از هسته‌های عضلانی کاهش می‌یابد(۲). کاهش سلول‌های ماهواره‌ای موجب افزایش هسته‌های عضلانی(تارهای گلیکولیتیک و اکسیداتیو) و کاهش تعداد کلی سلول‌های ماهواره‌ای(تارهای گلیکولیتیک) می‌شود(۳ و۲). افزایش تراکم سلول‌های ماهواره‌ای با نزدیکی به مویرگ‌ها، هسته‌های عضلانی و پیوندگاه عصبی ـ عضلانی در ارتباط است(۲)، مشخص شده که تعداد آنها در تارهای کند انقباض در مقایسه با تارهای تند انقباض به مراتب بیشتر است(۲). در حالت عادی این سلول‌ها در عضلات بالغ نهفته‌اند(٤)، اما در پاسخ به برخی محرک‌ها مانند انقباضات شدید و یا آسیب عضلانی فعال می‌شوند. فعالیت آنها به صورت وارد شدن به سیکل سلولی است و سلول‌های آغازگر عضله‌زا(mpc)[۲] را شکل می‌دهند که بعد از چند دور تقسیم سلولی و قبل از ادغام با میوفیبریل‌های موجود یا ایجاد تارهای جدید، موجب بازسازی تارهای عضلات آسیب دیده می‌شوند(۷ـ٥). این سلول‌ها تعداد مشخص و ثابتی دارند که به نظر می‌رسد آنها خود تکثیر هستند، یعنی بعد از فعال‌شدن، بخشی از جمعیت آنها، مخازن خالی شده خود را ترمیم می‌کنند(۸).

توانایی جا به جایی و مهاجرت سلول‌های ماهواره‌ای یعنی حرکت شیمیوتاکسی آنها با یکپارچگی و سلامت غشاء پایه سلول در ارتباط است. تخریب غشاء پایه عضلانی موجب حرکت سلول‌های ماهواره‌ای به تارهای آسیب دیده همجوار می‌شود که این جا به جایی با استفاده از ارتباطات بافتی صورت می‌گیرد، اما آسیب بافتی محدود به طوری که منجر به پارگی لامینای پایه نشود موجب می‌شود که سلول‌های ماهواره‌ای در ترمیم بافت عضلانی از ابتدای بخش سالم میوفیبریل(در زیر غشاء) به محل آسیب دیده حرکت کند(۹ و۲).

٦ ساعت پس از آسیب عضله، فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای آغاز می‌شود که مشخصه آن افزایش بیان ژن *myoD* است(۸ و۲)، بنابراین *myoD* در عضلات اسکلتی بالغ به عنوان نشانگر فعال‌سازی و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای به حساب می‌آورند(۲)، اما میزان ظهور mRNA آن تحت تأثیر سن متفاوت است(۱۱ و۱۰). همچنین میزان ظهور آن در عضلات تند انقباض بالاتر از عضلات کند انقباض است(۱۲). مشخص شده که میزان پروتئین آن در عضلات تند و کند انقباض رت‌های مسن کمتر است هر چند میزان آن در عضلات کند انقباض به مراتب پایین‌تر است(۱۳).

1-Basal Lamina
2-Myogenic Precursor Cells

بیـــان ژن *myoD* بـــا انـــواع آســـیب‌هـــای (فارمـاکولوژی، پـاتولوژی یـا فعالیـت‌هـای قـدرتی) عضلانی افزایش می‌یابد که مشخصه تکثیر سلول‌هـای ماهواره‌ای جهت بازسازی و تـرمیم آسـیب عضـلانی است(١٤). فعالیت‌های اسـتقامتی و مقـاومتی بـا ایجـاد آسیب‌هـای ریـز در سـاختار عضـله از طریـق فرآینـد فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای، تکثیر، شیمیوتاکسی و ادغـام بـا میوفیبریـل‌هـا، موجـب رشـد عضـلات می‌شود(١٦ و١٥)، از طرف دیگر پاسخ عضلات تنـد و کند انقباض و هـم‌چنـین محتـوای *myoD* آنهـا متفـاوت اسـت(٢٠ــ١٧). حـال ایـن سـوال مطـرح اسـت آیـا فعالیت‌های استقامتی که موجب چالش‌های متـابولیکی و آسیب‌های ساختاری در عضلات اسکلتی می‌شود بر میـزان بیـان *myoD* در هـر دو عضـله تـأثیر دارد؟ یـا نشانه‌های مشابهی از ترمیم و بازسـازی در عضـلات کند و تند انقباض در اثر فعالیت یکسان ایجاد می‌شود. بنابر این هدف از این مطالعه تعیین و ارزیابی اثـر یـک دوره تمرین اسـتقامتی بـر بیـان ژن *myoD* در عضـله اسکلتی تند و کند انقباض موش‌های صحرایی نر نـژاد ویستار است.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ١٣٩٩ انجام شـد، میزان بیان ژن *myoD* در عضله نعلی و عضله بازکننده دراز انگشتان(EDL) و متغیر مستقل یـک دوره فعالیـت استقامتی(١٤ هفته) بود. ٢٠ سر رت صحرایی نر نـژاد ویستار با ٥ هفته سن و وزن ٢٠±١١٣ گرم از انستیتو پاستور تهیه شد. همه آنها به مدت ٣ هفتـه در شـرایط مناسـب آزمایشـگاهی (دسترسـی آزاد بـه آب و غـذا مخصـوص رت، چرخـه روشـنایی و تـاریکی ١٢:١٢ سـاعت، میـانگین دمـا ٣±٢٢ درجـه سـانتی گـراد) تـا رسـیدن بـه سـن بلـوغ (٨ هفتـه) در ٤ قفـس یکسـان نگهداری شـدند. در پایـان هفتـه هشـتم، وزن آنهـا بـه ٢٤±٢٣١ گرم رسید. معیار ورود به مطالعه رسیدن به وزن دوران بلوغ، و معیار حذف از مطالعه نرسیدن به وزن بلوغ، ناتمام گذاشتن پروتکل بود. در انتهـای ایـن مرحلـه دوره آشناسـازی بـا فعالیـت اسـتقامتی یعنـی دویدن روی تردمیل ویژه حیوانات به مدت ١٠ روز (٥ جلسه ٩ متر در دقیقه، ٥ دقیقه و ٤ روز در هفته) آغاز شد.

در انتهای دوران آشناسازی به طور تصـادفی به ٢ گروه(١٠سر گروه کنتـرل و ١٠سـر دیگـر گـروه تجربی) تقسیم شدند. در طی اجرای پروتکـل از گـروه تجربی ٣ سـر نتوانسـت برنامـه تمرینـی را بـه پایـان برساند، بنابراین سه سر از گروه کنتـرل بـه صـورت تصادفی حذف شد و تعـداد نهـایی بـه ١٤ سـر(٧ سـر کنترل و ٧ سر تجربی) کاهش یافت.

برنامه تمرینی(١٤ هفته، هفته‌ای ٦ روز) گـروه تجربی عبارت بود از؛ دویدن روی تردمیل که سـرعت و شیب و زمان آن قابل برنامه‌ریزی بود(٢٢ و ٢١).

شدت بخش اصلی این برنامه حدود ٧٠ درصد Vo_2 max رت بود(٢٤ و٢٣)، که بین ساعات ٥ تا ٧ بعـد از ظهر هر روز اجرا می‌شد(جدول ١). ٤٨ ساعت پـس از آخرین جلسه تمرینی در پایان پروتکل با ترکیبـی از

کتامین(۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل(به طوری که به تحریک اعمال‌شده پاسخ ندهد)، عضله نعلی(عضله کند انقباض) و عضله بازکننده بلند انگشتان تحت شرایط استریل خارج شد.

طبق دستورالعمل برای استخراج RNA ۱ میلی لیتر ترایزول(Invitrogen) به ۱۰۰ میلی‌گرم بافت (هموژن شده) داخل میکروتیوب اضافه شد و پس از مخلوط‌کردن کامل(پیپتاژکردن) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری(انکوبه) شد، سپس ۲/ ۰ میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه شد و پس از پیپتاژ(۱۵ ثانیه) حدود ۲ تا ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، در ادامه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ (شرکت Eppendorff کشور آلمان) شدند، سپس مایع رویی به دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد اضافه شد و بعد از هم‌زدن ملایم در دمای ۲۰ــ درجه سانتی‌گراد باقی ماندند. روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه مجدداً سانتریفیوژ شدند که در این مرحله یک رسوب سفید رنگ در ته اکثر میکروتیوب‌ها قابل مشاهده بود. با سمپلر(شرکت Eppendorff کشور آلمان) مایع رویی با دقت خارج شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه شد و بعد از تکان‌دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با ۷۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقی مانده اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود. بعد از این مرحله ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به آرامی پیپتاژ صورت گرفت. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر(شرکت Eppendorff کشور آلمان) ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲٦۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۸ تا ۲ بود. در پایان این مرحله برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت ترموساینتفیک(Thermo Scientific با K1621 # Cat) استفاده شد. تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از Random Hexamer انجام شد. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت Eppendorff (ساخت کشور آلمان) بود. قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک PCR Real Time نیاز بود که میزان کارآیی(Efficiency) ژن رفرنس(*gapdh*) و ژن هدف(*myoD*) برای هر عضله بررسی شود که مشخص شد میزان کارآیی برای این دو ژن در بالاترین میزان خود(یعنی ۱) بود. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت آپلاید بایوسیستم(Applied Biosystem)(کشور آمریکا) استفاده شد. سایبرگرین مسترمیکس(SYBR green master mix) استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا(کشور ژاپن با Cat # RR820L) بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارآیی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه ۱۰ لاندایی ترکیبی از مسترمیکس(۵ لاندا) پرایمر(۱ لاندا)، cDNA (۱ لاندا) و

آب مقطر (۳ لاندا) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run(۴۰ سیکلی) یک نمونه به عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی مسترمیکس(طبق دستورالعمل شرکت آپلاید بایوسیستم نباید CT آن کمتر از ۳۵ باشد) در نظر گرفته شد. کنترل داخلی(*gapdh*)، کنترل مثبت(گروه کنترل) و *myoD* هم‌زمان(در یک Run) به صورت دوتایی(Duplicate) برای هر عضله ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه میانگین آنها محاسبه شد. لازم به ذکر است در برخی موارد نیاز بود تست مجدداً تکرار شود که در صورت نیاز تکرار می‌شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم افزار Excel طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن *myoD* محاسبه شد(۲۵). مشخصات پرایمرها از جمله ژن رفرنس یعنی ژن *gapdh* (Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase) در جدول ۲ آمده است.

داده‌های به دست آمده از دستگاه Real Time PCR که به صورت CT (Cycle threshold) بودند و با استفاده از نرم افزار Excel به ΔΔct تبدیل شدند، سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta C}$ اعداد نهایی به دست آمد. با انتقال این اعداد به نرم‌افزار SPSS ابتدا نرمال‌بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلکس (Shapiro-Wilks) ارزیابی شد و مشخص شد که داده‌ها دارای توزیع طبیعی هستند و سپس برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی از گروه کنترل از آزمون تی مستقل استفاده شد.

جدول ۱: خلاصه‌ای از اجرای پروتکل فعالیت استقامتی پژوهش در طی ۱۴ هفته

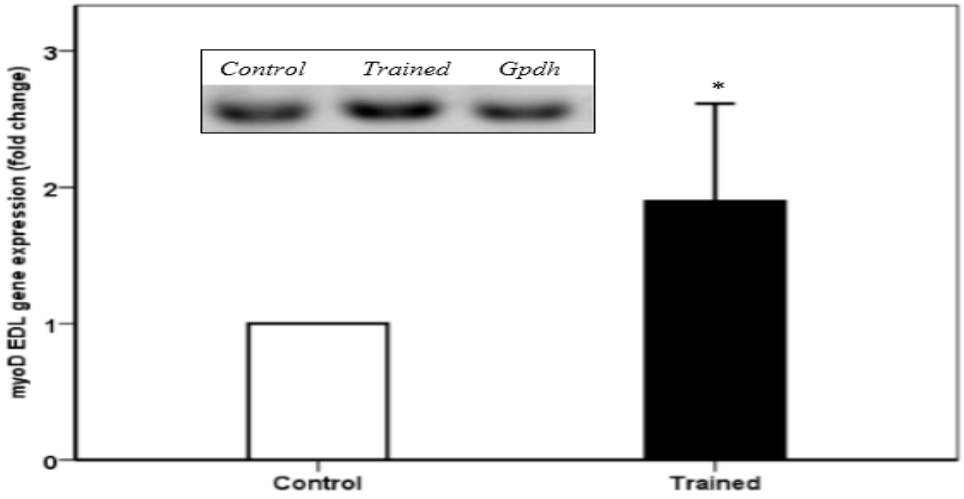
بخش شاخص	گرم کردن	بدنه اصلی تمرین	سرد کردن	نحوه تغییرات شاخص‌ها طی ۱۴ هفته پروتکل
زمان	۵ دقیقه	۵۰ دقیقه	۵ دقیقه	از ۱۲ دقیقه طی ۲۳ روز به ۵۰ دقیقه رسید
سرعت	۱۲ متر در دقیقه	۳۰ متر در دقیقه	۹ متر در دقیقه	از ۲۰ متر در دقیقه طی ۵ هفته به ۳۰ متر در دقیقه رسید
شیب	صفر	۵ درجه	صفر	به تدریج ۵ درجه شیب از هفته هفتم تا دهم اضافه شد

جدول ۲ : مشخصات پرایمرهای ژن هدف و ژن رفرنس مورد استفاده در پژوهش

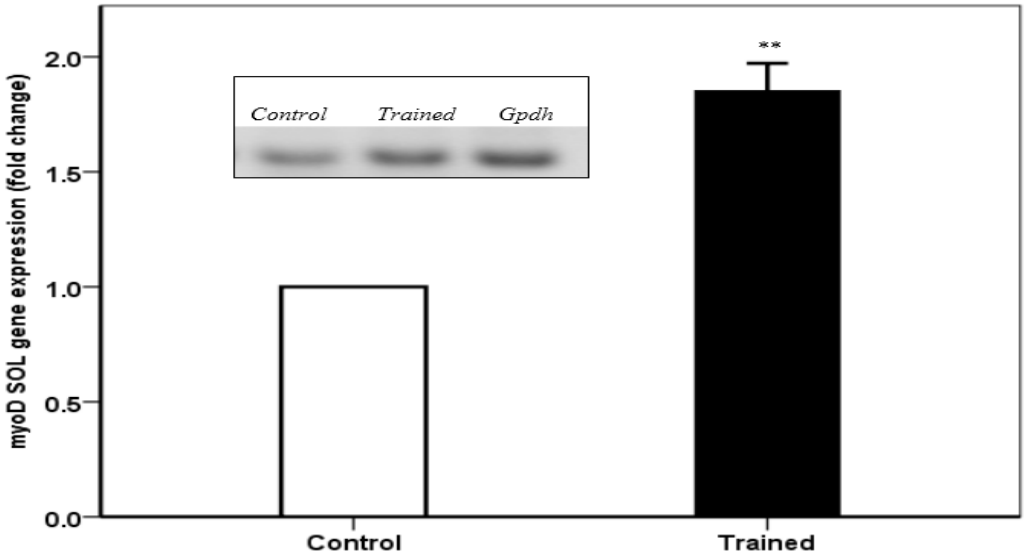
name		Sequence 5-3	NCBI Reference Sequence	Product size
gapdh	F	AACCCATCACCATCTTCCAG	NM_017008.4	74
	R	CACGACATACTCAGCACCAG		
myoD	F	TCTGATGGCATGATGGATTAC	NM_176079.1	74
	R	TAGTAGGCGGCGTCGTAG		

یافته‌ها

نتایج این تحقیق نشان داد در وزن موش‌های صحرایی گروه تجربی در پایان دوره تمرینی تغییر معنی‌داری(p=۰/۰۵٦) ایجاد نشد، اما مشخص شد که میزان بیان ژن *myoD* در عضله بازکننده بلند انگشتان پس از ١٤ هفته فعالیت استقامتی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که این افزایش در سطح p=۰/۰۲۲ معنی‌دار بود، به این معنی که میزان بیان ژن *myoD* در گروه تجربی ۲ برابر افزایش داشت(شکل ـ۱). همچنین مقادیر آزمون تی(۱۷/۵۳) نشان داد که بیان ژن *myoD* در عضله نعلی در گروه تجربی پس از ١٤ هفته فعالیت استقامتی حدود ۲ برابر افزایش می‌یابد که این افزایش در مقایسه با گروه کنترل در سطح p=۰/۰۰۱ معنی‌داربود (شکل ـ۲).



شکل۱: تأثیر ١٤ هفته فعالیت استقامتی بر بیان *myod* عضله EDL نسبت به گروه کنترل و همچنین نمایش محصول PCR ژن *myoD* عضله EDL، *سمت چپ گروه کنترل، وسط گروه تجربی و سمت راست gapdh*



شکل۲: تأثیر ١٤ هفته فعالیت استقامتی بر بیان myoD عضله نعلی نسبت به گروه کنترل و همچنین نمایش محصول PCR ژن myoD عضله نعلی، سمت چپ گروه کنترل، وسط گروه تجربی و سمت راست ژن gapdh

بحث

آیا فعالیت‌های استقامتی که موجب چالش‌های متابولیکی و آسیب‌های ساختاری در عضلات اسکلتی می‌شود بر میزان بیان *myoD* در عضلات تند انقباض و کند انقباض تأثیر دارد؟ یا نشانه‌های مشابهی از ترمیم و بازسازی در این عضلات در اثر فعالیت استقامتی یکسان است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و ارزیابی اثر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن *myoD* در عضله اسکلتی تند و کند انقباض موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار است.

نتایج این پژوهش نشان داد که بیان ژن *myoD* در اثر فعالیت استقامتی در عضله تند انقباض و کند انقباض به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد، به این صورت که بیان آن در عضله EDL و نعلی حدوداً تا دو برابر افزایش می‌یابد.

هرچند نمی‌توان نتایج پژوهش حاضر را با پژوهش‌هایی که پروتکل آنها تمرینات مقاومتی یا کوتاه مدت بوده‌اند مقایسه کرد، اما باید اذعان داشت تعداد پژوهش‌های مشابه در این مورد کم است، بنابراین برای روشن‌تر شدن نتایج این پژوهش در مقایسه با پژوهش‌هایی در این زمینه به چند مورد از آنها اشاره می‌شود. به عنوان مثال مشخص شده که تمرینات استقامتی حاد میزان بیان ژن *myoD* در عضله نعلی را تحت تأثیر(با پروتکل متفاوت) قرار نمی‌دهد(۱۷)، که متناقض با نتایج این پژوهش است، اما این موضوع در مورد عضله پهن جانبی اندکی تفاوت دارد. یک جلسه فعالیت استقامتی(۹۰ دقیقه تمرین رکاب‌زنی با ٦٠ درصد VO_2^{peak} در افراد سالم) سبب افزایش بیان ژن *myoD* در عضله پهن جانبی (عضله بینابینی) می‌شود(۱۸). هم‌چنین مشخص شده که ٤ ساعت پس از یک جلسه تمرین قدرتی میزان بیان ژن *myoD* در عضله پهن جانبی افراد جوان و پیر افزایش می‌یابد(۱۱). هم‌چنین قابل ذکر است که عضله نعلی در رت‌ها و انسان یک عضله کاملاً کند انقباض است و عضله پهن جانبی یک عضله بینابینی به حساب می‌آید(٢٦)، احتمالاً ترکیب نوع تارها(نوع کند و تند انقباض) بر پاسخ این ژن به فعالیت استقامتی تأثیر می‌گذارد، در تأیید این ادعا در پژوهشی مشاهده شد که در عضله پهن جانبی آزمودنی‌های انسانی، فعالیت مقاومتی موجب افزایش بیان *moyD* می‌شود که این موضوع با افزایش ژن ایزوفرم MHC IIa، بلافاصله بعد از تمرین و هم‌چنین افزایش ژن ایزوفرم‌های MHC I، MHC IIa و MHC IIx هم‌زمان بود. در تحقیق ذکر شده میزان بیان پروتئین‌ها نیز اندازه‌گیری شد و مشخص شد که میزان پروتئین *myoD*، پس از تمرین به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد(۲۷). هم‌چنین نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که فعالیت‌های بلندمدت نیز میزان ژن *myoD* را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نتایج این پژوهش نشان داد که تمرینات مقاومتی(به مدت ٦ هفته) در نمونه‌های انسانی به طور معنی‌داری باعث افزایش بیان ژن *myoD* در عضله سه سر بازو ـ عضله تندانقباض ـ می‌شود(۲۸).

برخی از پژوهش‌های بیان ژن *myoD* را ٦ ساعت پس از تمرین دانسته‌اند(۲)، اما نتایجی نیز در دست هست که خلاف این ادعا را نشان می‌دهد، به عنوان مثال دیده شد که یک جلسه تمرین مقاومتی شدید در عضله پهن جانبی(نمونه انسانی) بلافاصله پس از تمرین، میزان بیان ژن *myoD* را تا ٤ برابر افزایش می‌دهد، این در حالی بود که تا ٤٨ ساعت پس از تمرین، تغییری مشاهده نشد(۲۹) و در تحقیقی دیگر، یک جلسه تمرین قدرتی در عضله بازکننده پا در نمونه‌های انسانی موجب افزایش بیان ژن *myoD* تا ۸ ساعت پس از تمرین شد که این افزایش پس از ۲۰ ساعت ناپدید شد(۳۰). به نظر می‌رسد نوع عضله، نوع تمرین و مدل آزمودنی بر بیان این ژن تأثیرگذار است، به همین دلیل تناقضاتی در نتایج وجود دارد.

برخی پژوهش‌ها، افزایش بیان ژن *myoD* در اثر تمرینات(چه پاسخ، چه سازگاری) ورزشی را تأیید نکرده‌اند. به عنوان مثال دیده شد که یک جلسه تمرین قدرتی در نمونه‌های انسانی بر بیان *myoD* عضله پهن جانبی اثر معنی‌داری ندارد(۱۰) و هم‌چنین تمرین قدرتی به مدت ۸ هفته بر بیان *myoD* mRNA پهن جانبی در نمونه‌های انسانی(با سطح تستوتسترون طبیعی یا کاهش یافته) تأثیر معنی‌داری ندارد(۳۱). در مورد دیگر مشخص شد که *myoD* در عضله پهن جانبی، تحت تأثیر یک جلسه تمرین(مقاومتی در نمونه‌های انسانی) و مصرف محرک آنابولیکی(در آن ساعات اندازه‌گیری) قرار نمی‌گیرد(۳۲)، که این یافته‌ها با یافته تحقیق حاضر متناقض است، هرچند تفاوت‌هایی در مدل آزمودنی(انسانی و حیوانی) و نوع پروتکل وجود دارد، به نظر می‌رسد صرفاً فعالیت بدنی با ایجاد آسیب‌های ریز در عضلات اسکلتی برای افزایش بیان ژن *myoD* کافی نیست، زیرا مشخص شده تمریناتی که باعث آسیب عضلانی شدند، بیان*myoD* را بیشتر تحت تأثیر قرار ندادند. به عنوان مثال در مدل‌های حیوانی(رت) مشاهده شده که یک جلسه تمرین تردمیل فزاینده با شیب منفی(القا کننده آسیب عضلانی) بر بیان *myoD* mRNA عضلات نعلی و بازکننده‌ها اثر معنی‌داری ندارد(۳۳). هرچند گزارش شده که بازسازی عضلات آسیب دیده نعلی رت با فعالیت‌های ورزشی(فعالیت‌های شدید و اختیاری) تشدید می‌شود که این موضوع با افزایش میزان پروتئین *myoD* همراه بود(٣٤). افزایش بیان ژن*myoD* نشانه تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای است و تکثیر این سلول‌ها زمانی بیشتر می‌شود که آسیب(فارماکولوژی، پاتولوژی یا فعالیت‌های قدرتی) عضلانی رخ دهد(١٤). بیان تقریباً دو برابری افزایش در بیان *myoD* احتمالاً ناشی از این موضوع است که تمرین قدرتی(پروتکل این تحقیق) توانسته تا حدودی موجب آسیب تمرینی در عضله EDL و سایر عوامل مؤثر در افزایش *moyD* شود که موجب فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای، به تبع آن افزایش مارکر این سلول‌ها یعنی ژن *myoD* شود. از جمله محدویت‌های این مطالعه می‌توان به عدم ارزیابی دقیق درگیر بودن عضلات در فعالیت‌های استقامتی

اشاره کرد. پیشنهاد می‌شود که برای ارزیابی دقیق‌تر بیان این ژن میزان و شدت تمرین استقامتی برای هر عضله یکسان‌سازی شود.

در تعمیم یافته‌ها و اعلام نتایج پایانی این موضوع که آیا تمرین بر بیان ژن *myoD* عضله تأثیر دارد، باید به مدل آزمودنی، نوع پروتکل، نوع عضله، سن آزمودنی‌ها، روش‌های اندازه‌گیری بیان ژن دقت کرد و همچنین باید پروسه پاسخ و سازگاری را از هم جدا نمود.

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد ژن *myoD* در عضله تند انقباض و کند انقباض فارغ از نوع تار عضلانی تحت تأثیر فعالیت استقامتی قرار می‌گیرد. حال ممکن است میزان بیان این ژن متفاوت باشد، اما می‌توان آن را نشانه‌ای از فعال‌سازی روند بازسازی و ترمیم عضلات تند و کند انقباض دانست.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر برگرفته از طرح درون دانشگاهی دانشگاه لرستان با کد اخلاق LU.ECRA.2020.41 می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

REFERENCES

1.Biressi S, Rando TA. *Heterogeneity in the muscle satellite cell population.* Seminars in Cell & Developmental Biology 2010; 21(8): 845-54.
2.Hawke TJ, Garry DJ. *Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology.* J Appl Physiol 2001; 91(2): 534-51.
3. Incitti T, Magli A, Jenkins A, Lin K, Yamamoto A, Perlingeiro RCR. Pluripotent stem cell-derived skeletal muscle fibers preferentially express myosin heavy-chain isoforms associated with slow and oxidative muscles. Skeletal Muscle 2020; 10(1): 17.
4.Holterman CE, Rudnicki MA. *Molecular regulation of satellite cell function.* Seminars in Cell & Developmental Biology 2005; 16(4-5): 575-84.
5.Abreu P, Kowaltowski AJ. Satellite cell self-renewal in endurance exercise is mediated by inhibition of mitochondrial oxygen consumption. J Cachexia Sarcopenia Muscle 2020; 11(6): 1661-76.
6.Zammit PS. *All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others?* Journal of Cell Science 2008; 121(18): 2975-82.
7.Al Tanoury Z, Rao J, Tassy O, Gobert B, Gapon S, Garnier JM, et al. Differentiation of the human PAX7-positive myogenic precursors/satellite cell lineage in vitro. Development 2020; 147(12): 30.
8.Megeney LA, Kablar B, Garrett K, Anderson JE, Rudnicki MA. MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. Genes Dev 1996; 10(10): 1173-83.
9.Romagnoli C, Zonefrati R, Sharma P, Innocenti M, Cianferotti L, Brandi ML. Characterization of Skeletal Muscle Endocrine Control in an In Vitro Model of Myogenesis. Calcified Tissue International 2020; 107(1): 18-30.
10.Hameed M, Orrell RW, Cobbold M, Goldspink G, Harridge SD. Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. J Physiol 2003; 547(Pt 1): 247-54.
11.Raue U, Slivka D, Jemiolo B, Hollon C, Trappe S. Myogenic gene expression at rest and after a bout of resistance exercise in young (18-30 yr) and old (80-89 yr) women. Journal of Applied Physiology(Bethesda, Md: 1985) 2006; 101(1): 53-9.
12.Hughes SM, Koishi K, Rudnicki M, Maggs AM. MyoD protein is differentially accumulated in fast and slow skeletal muscle fibres and required for normal fibre type balance in rodents. Mech Dev 1997; 61(1-2): 151-63.
13.Tamaki T, Uchiyama S, Uchiyama Y, Akatsuka A, Yoshimura S, Roy RR, et al. Limited myogenic response to a single bout of weight-lifting exercise in old rats. Am J Physiol Cell Physiol 2000; 278(6): C1143-52.
14.Snijders T, Verdijk LB, van Loon LJC. The impact of sarcopenia and exercise training on skeletal muscle satellite cells. Ageing Research Reviews 2009; 8(4): 328-38.
15.Schultz E, McCormick KM. *Skeletal muscle satellite cells.* Rev Physiol Biochem Pharmacol 1994; 123: 213-57.
16. Blocquiaux S, Gorski T, Van Roie E, Ramaekers M, Van Thienen R, Nielens H, et al. The effect of resistance training, detraining and retraining on muscle strength and power, myofibre size, satellite cells and myonuclei in older men. Exp Gerontol 2020; 133: 110860.
17.Smith HK, Maxwell L, Rodgers CD, McKee NH, Plyley MJ. Exercise-enhanced satellite cell proliferation and new myonuclear accretion in rat skeletal muscle. Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md: 1985) 2001; 90(4): 1407-14.
18.Vissing K, McGee SL, Roepstorff C, Schjerling P, Hargreaves M, Kiens B. Effect of sex differences on human MEF2 regulation during endurance exercise. Am J Physiol Endocrinol Metab 2008; 294(2): E408-15.
19.Favier FB, Benoit H, Freyssenet D. *Cellular and molecular events controlling skeletal muscle mass in response to altered use.* Pflugers Arch 2008; 456(3): 587-600.
20.Bolotta A, Filardo G, Abruzzo PM, Astolfi A, De Sanctis P, Di Martino A, et al. Skeletal Muscle Gene Expression in Long-Term Endurance and Resistance Trained Elderly. Int J Mol Sci 2020; 21(11): 39.
21.Jin H, Yang R, Li W, Lu H, Ryan AM, Ogasawara AK, et al. Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000; 279(6): H2994-3002.
22.Sun L, Shen W, Liu Z, Guan S, Liu J, Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. Life Sci 2010; 86(1-2): 39-44.

23.Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO(2 max) and cardiac hypertrophy. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001; 280(3): H1301-10.
24.Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. European Journal of Preventive Cardiology 2007; 14: 753-60.
25.Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative gene expression data using real-time quantitative pcr and the 2− δδct method. Methods 2001; 25(4): 402-8.
26.Talmadge RJ. Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms. Muscle Nerve 2000; 23(5): 661-79.
27.Willoughby DS, Nelson MJ. *Myosin heavy-chain mRNA expression after a single session of heavy-resistance exercise.* Med Sci Sports Exerc 2002; 34(8): 1262-9.
28.Liu Y, Heinichen M, Wirth K, Schmidtbleicher D, Steinacker JM. Response of growth and myogenic factors in human skeletal muscle to strength training. British Journal of Sports Medicine 2007; 42(12): 989-93.
29.Psilander N, Damsgaard R, Pilegaard H. *Resistance exercise alters MRF and IGF-I mRNA content in human skeletal muscle.* J Appl Physiol 2003; 95(3): 1038-44.
30.Vissing K, Andersen LJ, Schjerling P. *Are exercise-induced genes induced by exercise?* FASEB J 2005; 19(1): 94-6.
31.K Kvorning T, Andersen M, Brixen K, Schjerling P, Suetta C, Madsen K. Suppression of testosterone does not blunt mRNA expression of myoD, myogenin, IGF, myostatin or androgen receptor post strength training in humans. The Journal of Physiology 2006; 578(2): 579-93.
32.D Drummond MJ, McCarthy JJ, Fry CS, Esser KA, Rasmussen BB. Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids. Am J Physiol Endocrinol Metab 2008; 295(6): E1333-4.
33.Miyata T, Tanaka S, Tachino K. *MyoD and myogenin mRNA levels after single session of treadmill exercise in rat skeletal muscle.* Journal of Physical Therapy Science 2009; 21(1): 81-4.
34.Richard-Bulteau H, Serrurier B, Crassous B, Banzet S, Peinnequin A, Bigard X, et al. Recovery of skeletal muscle mass after extensive injury: positive effects of increased contractile activity. Am J Physiol Cell Physiol 2008; 294(2): C467-76.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Effect of Endurance Training on Increase of *myoD* Gene Expression in Rat Slow and Fast-Twitch Muscles

Fathi M[1*], Ahmadabadi S[2]

[1]Department of Physical Education & Sport Sciences, Lorestan University. Khorramabad, Iran, [2]Department of Physical Education & Sport Sciences, Farhangian University, Tehran, Iran

Received: 24 Jul 2020 Accepted: 19 Oct 2020

Abstract:

Background & aim: The increase of myoD gene expression is the characteristic of activation and proliferation of satellite cells due to induced stimulus in skeletal muscle. But it seems the fast and slow skeletal muscle response and the appearance of this marker due to stimulus are not similar. Accordingly, the present study aimed to evaluate the effect of endurance training on myoD gene expression in fast and slow skeletal muscle in Wistar male rats.

Methods: In the present study conducted in 2020, 14 rats (weight 234±24g) provided from Pasteur Institute and housed under natural conditions (temperature, light/dark (12-h) cycle, with ad Libitum access to food and water). The rats randomly divided to two groups experimental (n=7) and control (n=7); the experimental group performed an endurance training program (30 m/min, 50 min, 6 sessions per week for 14-weeks) on a motorized treadmill, and 48 hours after the end of the last session of endurance activity with the control group were anesthetized and sacrificed, then the soleus and extensor digitorum longus (EDL) muscles were removed. Real-time RT-PCR was used to determine if expression levels of myoD gene. To conclude, the data were analyzed by independent t-test.

Results: endurance training induced a significant increase (p=0.022) in EDL myoD gene expression; correspondingly, this modification was observed in soleus muscles (p=0.001)
Conclusion: it appeared that endurance training increased the myoD gene expression in soleus (slow-twitch muscle) and EDL (fast-twitch muscle).

Keyword: Endurance activity, myoD, Extensor Digitorum Longus and Soleus Muscle

***Corresponding Author:** Fathi M, Department of Physical Education & Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
Email: fathi.m@lu.ac.ir

Please cite this article as follows:
Fathi M, Ahmadabadi S. The Effect of Endurance Training on Increase of *myoD* Gene Expression in Rat Slow and Fast-Twitch Muscles. Armaghane-danesh 2021; 26(4(1)): 634-645.