تحقیقی

اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر مقادیر پروتئینی و بیان ژن نوروتروفین ٤/٥ در عضلات کند و تند تنش موش‌های صحرایی

دکتر رسول اسلامی[۱]، دکتر رضا قراخانلو*[۲]، دکتر سیدجواد مولی[۳]، دکتر حمید رجبی[٤]، ریحانه محمدخانی[٥]

۱- استادیار، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه علامه طباطبائی. ۲- دانشیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس. ۳- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس. ٤- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه خوارزمی. ٥- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس.

چکیده

زمینه و هدف : *خانواده عوامل رشدی نقش مهمی را در سلامت سیستم عصبی-عضلانی ایفا می‌کند. این مطالعه به منظور تعیین اثر یک جلسه تمرین بدنی از نوع مقاومتی بر مقادیر پروتئینی و بیان ژن NT-4/5 در عضلات کند و تند تنش موش‌های صحرایی انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی ١٦ موش صحرایی نر به طور تصادفی در دو گروه ۸ تایی تمرین مقاومتی و کنترل قرار گرفتند. تمرین مقاومتی شامل بالارفتن از نردبان یک متری به همراه وزنه‌های بسته شده به دم موش‌ها بود. برای اندازه‌گیری بیان ژن NT-4/5 از Quantitative Real time RT-PCR و برای اندازه‌گیری پروتئین آن از روش الایزا استفاده شد.*

یافته‌ها : *یک جلسه تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی‌داری در بیان ژن NT-4/5 و افزایش معنی‌دار پروتئین آن در عضله سولئوس شد (P<۰/۰۵). یک جلسه تمرین مقاومتی بر مقادیر پروتئینی و بیان ژن NT-4/5 در عضله خم کننده بلند انگشتان اثر آماری معنی‌داری نداشت.*

نتیجه‌گیری : *یک جلسه تمرین بدنی از نوع مقاومتی باعث تغییرات در مقادیر پروتئینی و بیان ژن NT-4/5 در عضله اسکلتی شد که این تغییرات به نوع عضله نیز وابسته است.*

کلید واژه‌ها : *نوروتروفین ٤/٥ ، عضلات تند تنش ، عضلات کند تنش ، تمرین مقاومتی*

* نویسنده مسؤول : دکتر رضا قراخانلو ، پست الکترونیکی ghara_re@modares.ac.ir

نشانی : تهران، تقاطع جلال آل احمدوبزرگراه چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی، تلفن و نمابر ۸۲۸۸٤٦٤٦-۰۲۱

وصول مقاله : ۹۱/۱۰/۲۷ ، اصلاح نهایی : ۹۲/۱/۲۰ ، پذیرش مقاله : ۹۲/۲/۲۲

مقدمه

حفظ و رشد سیستم عصبی - عضلانی مهره‌داران نیازمند فعالیت مجموعه‌ای از پلی‌پپتیدهایی است که تحت عنوان عوامل نوروتروفیک شناخته شده‌اند. نوروتروفین‌ها گروه کوچکی از عوامل رشدی هستند که به لحاظ ساختاری و عملکردی به هم مرتبط هستند (۷-۱). خانواده نوروتروفین‌ها از شش پروتئین عامل رشد عصبی (nerve growth factor: NGF)، عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (brain-derived neurotrophic factor: BDNF)، نوروتروفین-۳ (NT-3)، NT-4/5 و NT-6 تشکیل شده است (۳).

پویایی‌شناسی بیان نوروتروفین‌ها به دنبال تمرین ورزشی به مقدار زیادی در سرتاسر سیستم عصبی مورد بررسی قرار گرفته است (۱و۲و۴و۱۱-۸)؛ اما به رغم تداوم بیان نوروتروفین در عضله اسکلتی در دوران بزرگسالی (۵و۱۲)، به اهمیت عملکردی نوروتروفین‌های مشتق از عضله در سیستم عصبی عضلانی بالغ توجه اندکی شده است (۱۳). فرض شده است که دوتا از پروتئین‌های نوروتروفین؛ BDNF و NT-4/5 ، در سازگاری هماهنگ سیستم عصبی عضلانی به افزایش فعالیت درگیر هستند (۱۴و۱۵). همچنین چندین مطالعه رهایش، سنتز و ترجمه وابسته به فعالیت BDNF و NT-4/5 در جمعیت‌های سلولی مختلف را گزارش کرده‌اند (۱۲و۱۸-۱۶). برای مثال، عضله اسکلتی NT-4 را در شیوه‌ای وابسته به فعالیت سنتز می‌کند (۱۲). همچنین مطالعه دیگری نشان داد که ۸ هفته تمرین مقاومتی در موش صحرایی سبب افزایش بیان اسفنگوزین -۱-فسفات عضلانی، ایزوفرم‌های مختلف زنجیره سنگین میوزینی (MHCs) و بیان ژن اسفنگوزین-۱-فسفات کیناز۱ می‌گردد (۱۹).

تحریک الکتریکی عصب سیاتیک موش صحرایی برای یک ساعت میزان NT-4/5 mRNA را در هر دو عضله سولئوس و گاستروکنمیوس در مدت ۳ ساعت افزایش داد و در ۱۲ ساعت به

بیشترین سطح رساند (۱۲). اگرچه این مطالعات وابستگی به نوع واحد حرکت را در بیان NT-4/5 در پاسخ به شرایط فیزیولوژیک مختلف گزارش نکرده‌اند؛ این احتمال وجود دارد که بیان آن در انواع تار عضلانی به‌طور متفاوتی تنظیم شود (۲۰). از این‌رو در مطالعه حاضر از تمرین مقاومتی به عنوان مدلی از افزایش فعالیت بدنی برای مطالعه بیان درونی NT-4/5 در عضله اسکلتی استفاده گردید تا از این طریق رفتار آن نسبت به این نوع از تحریک بررسی شود. از طرفی مشخص شده بیان نوروتروفین‌ها در بعضی از بیماری‌ها دچار تغییر می‌شود. برای مثال در نوروپاتی دیابت کاهش حمایت تروفیکی مشاهده شده است (۲۱). همچنین نقش حمایتی نوروتروفین‌ها در بیماران آمیوتروفیک لترال اسکلروسیس (ALS) (amyotrophic lateral sclerosis) به خوبی ثابت شده است (۲). از این‌رو با توجه به رویکرد درمانی نوروتروفین‌ها، مطالعه آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین با توجه به نقش عملکردی نوروتروفین‌های مشتق از عضله و گیرنده‌هایشان در سلامت سیستم عصبی - عضلانی و سازگاری هماهنگ این سیستم به افزایش فعالیت، مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر یک جلسه تمرین بدنی از نوع مقاومتی بر مقدار پروتئین NT-4/5 و تغییرات mRNA آن در عضلات تند تنش و کند تنش موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۱۶ موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در دو گروه ۸ تایی یک جلسه تمرین مقاومتی و کنترل قرار گرفتند. حیوانات با ۱۰ هفته سن از انستیتو پاستور خریداری شدند و تا ۳ ماهگی در دمای اتاق و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. بعد از یک هفته عادت دادن به پروتکل تمرینی، جلسه تمرین اصلی انجام گرفت. برای به حداقل رساندن هرگونه استرس ناشی از دستکاری در گروه تمرین، حیوانات گروه کنترل نیز در هر جلسه آشناسازی با تمرین از قفس بیرون آورده شدند و در زمانی مشابه با گروه تمرین مورد تیمار قرار گرفتند. پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

تمرین مقاومتی شامل بالارفتن از نردبانی به ارتفاع یک متر بود که دارای ۲۶ پله و زاویه ۸۵ درجه نسبت به زمین بود (۲۲و۲۳). برای اعمال اضافه بار از وزنه‌هایی استفاده شد که به دُم حیوانات بسته شد. در هفته آشنایی با تمرین حیوانات ۳ روز اول هفته به تمرین و ۴ روز بعدی به استراحت پرداختند. تمرین به این صورت اجراء شد که حیوانات در پایین نردبان قرار داده شدند و با تیمار دُم به بالای نردبان هدایت شدند. در جلسه اصلی تمرین، حیوانات ۳ دوره و در هر دوره ۵ بار از نردبان بالا رفتند. بین تکرارها یک دقیقه و بین هر دوره ۲ دقیقه استراحت در نظر گرفته شد (۲۳). با توجه به تحقیقات قبلی وزنه حمل شده توسط حیوانات معادل ۳۰ درصد از وزنشان بود (۲۲و۲۳).

با توجه به این که اوج بیان NT-4/5 mRNA به دنبال تحریک الکتریکی ۲۴-۱۲ ساعت بعد از تحریک بود (۱۲)؛ ۲۴ ساعت بعد از جلسه تمرینی حیوانات با ترکیبی از کتامین (۵۰ mg/kg w-۳۰) و زایلازین (۵ mg/kg w-۳) بیهوش شدند (۲۴) و عضلات سولئوس (عضله کند) و فلکسور هالوسیس لانگوس (عضله تند) (FHL) (flexor hallucis longus) تحت شرایط استریل از طریق شکاف برروی ناحیه پشتی جانبی اندام تحتانی جدا شد. بافت مورد نظر پس از وزن شدن بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و ضمن انتقال به آزمایشگاه تا زمان اجرای اندازه‌گیری‌های بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. بافت‌های مورد نظر با استفاده از هاون هموژن شدند و بافت هموژن شده در ویال‌های مربوطه و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای بررسی بیان ژن‌ها از روش Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. برای استخراج RNA مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت عضلانی هموژنیزه شده مورد استفاده قرار گرفت. مقدار یک‌میلی‌لیتر از واکنشگر ترایزول به تیوب قفل‌داری اضافه شد که بافت هموژن شده در آن قرار داشت. سپس تیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه در زیر هود در دمای محیط قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، ۲۰۰ µl کلروفرم به آن اضافه شد. سپس ورتکس انجام گرفت تا زمانی که یک محلول کدر رنگ حاصل شد. برای ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور ۱۲۰۰۰rpm و دمای ۴درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ انجام شد. سپس حدود ۴۰۰µl از فاز بالایی که حاوی RNA بود؛ به تیوب جدیدی منتقل شد و در ادامه معادل آنچه از فاز بالایی برداشته شده بود (۴۰۰µl)؛ از ایزوپروپانول به این tube اضافه گردید. سپس سانتریفیوژ با شرایط قبلی انجام شد. در ادامه مایه رویه کاملاً تخلیه شد و برای شستشو مقدار یک میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه شد و سپس با دور ۷۵۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. در این زمان با خارج کردن الکل ۷۰ درصد RNA چسبیده به ته ویال با ۳۰µl از DEPC water رقیق شد. سپس RNA به دست آمده در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای اطمینان از درست بودن استخراج مقدار ۲µl از RNA استخراج شده روی ژل الکتروفورز ران شد. همچنین میزان کمی RNA استخراج شده از طریق قرائت جذب نوری (OD) در طول موج ۲۶۰nm مشخص گردید. به‌منظور ساخت cDNA ابتدا عمل DNase Treatment انجام گرفت. بدین منظور ابتدا برحسب غلظت RNA استخراج شده مقدار مورد نظر از آن برداشته شد و در مرحله بعد مقدار متناسبی از Recombinant DNase I (Takara) و Ribonuclease Inhibitor (Takara) به آن اضافه شد. سپس برای

۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در این مرحله برای غیرفعال کردن DNase مقدار متناسبی از EDTA به آن اضافه شد و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. برای ساخت cDNA از کیت سنتز cDNA تهیه شده از شرکت تاکارا (PrimeScript RT Reagent Kit, Takara) استفاده شد. در این روش ابتدا ۵µl از RNA در تیوب ریخته شد و به ترتیب ۴µl از First Strand Buffer، ۱µl از RT Enzyme Mix, oligo dT و Random 6 mers به آن اضافه شد. سپس برای ۲۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ ثانیه در دمای ۸۵ سانتی‌گراد درجه انکوبه شد. در این زمان ساخت cDNA اتمام یافت و cDNA ساخته شده در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

با استفاده از cDNA ساخته شده و پرایمرهایی که برای NT-4/5، GPDH و β-Actin طراحی شده بود؛ با رنگ SYBR Green Master Mix کار بیان ژن با دستگاه Real-Time RT-PCR مدل ABI 7500 انجام شد. همچنین روش محاسباتی با به دست آوردن مقادیر $2^{-\Delta\Delta ct}$ انجام شد (۲۵). توالی پرایمرهای استفاده شده عبارت از موارد زیر بود.

نام ژن	توالی
NT-4/5-F	5́- CCCTGCGTCAGTACTTCTTCGAGAC -3́
NT-4/5-R	5́- CTGGACGTCAGGCACGGCCTGTTC -3́
GPDH-F	5́- AGTCAAGGCTGAGAATGGGAAG -3́
GPDH-R	5́- CATACTCAGCACCAGCATCACC -3́
β-Actin-F	5́- TCAGGTCATCACTATCGGCAATG -3́
β-Actin-R	5́- GCATAGAGGTCTTTACGGATGTCAAC -3́

میزان کمی پروتئین NT-4/5 با روش سنجش ایمنی آنزیم‌دار الایزا اندازه‌گیری شد. کیت مذکور از کمپانی GENTAUR کشور بلژیک با کَت نامبر (CSB-E04691r Rat Neurotrophin 4,NT-4 ELISA) تهیه شد. به منظور آماده‌سازی بافت مورد اندازه‌گیری، ابتدا بافت مذکور با بافر فسفات سرد (اسیدیته ۷/۴ و غلظت ۱۰ میلی‌مولار) شستشو داده شد و سپس در همان بافر با نسبت ۱:۱۰ هوموژنیزه گردید. پس از ۴۵ دقیقه سانتریفیوژ در دور ۲۰۰۰۰ میزان پپتید موردنظر در محلول فوقانی اندازه‌گیری شد.

دو ژن GPDH و β-Actin به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-17 و آزمون Independent t-test تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

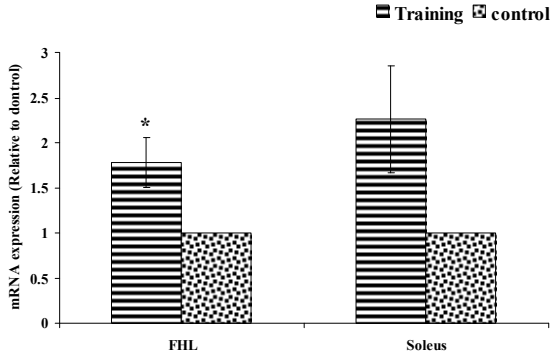
یافته‌ها

نتایج نشان داد که بیان ژن β-Actin در اثر تمرین مقاومتی تغییر نموده است. ژن β-Actin در هر دو عضله تنظیم مثبت شد که در عضله FHL این اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۳۸)؛ اما در عضله سولئوس معنی‌دار نبود (نمودار یک). با این حال، ژن GPDH از ثبات نسبتاً خوبی برخوردار بود و نسبت به تمرین تغییری نکرد (عضله FHL P<۰/۵۷۶، عضله سولئوس P<۰/۸۱۱) (نمودارهای ۱و۲).

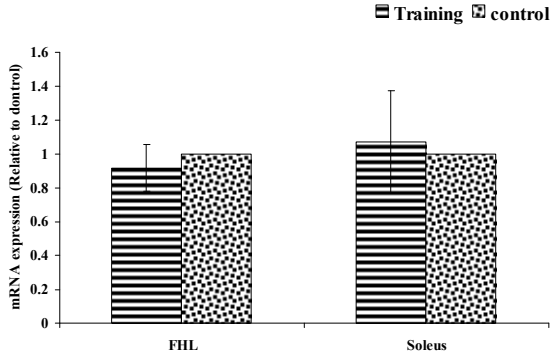
در عضله سولئوس بیان ژن NT-4/5 در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل ۶۶درصد کمتر بود (P<۰/۰۰۳). با این حال در عضله FHL هیچ اختلاف معنی‌داری برای ژن‌های NT-4/5 بین دو گروه کنترل و تمرین مقاومتی وجود نداشت (نمودار ۳).

در حالت پایه و در گروه کنترل مقادیر پروتئین NT-4/5 در عضله FHL بیشتر از عضله سولئوس بود (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۴).

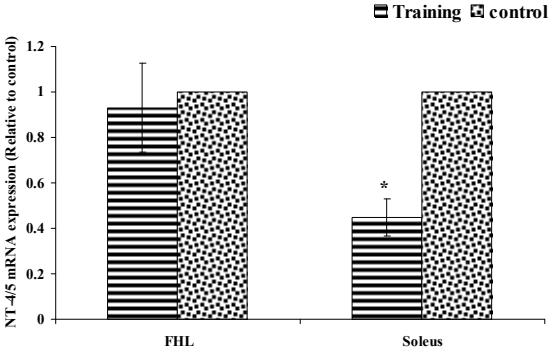
یک جلسه تمرین مقاومتی سبب افزایش معنی‌دار پروتئین NT-4/5 در عضله سولئوس شد (P<۰/۰۰۱). با این وجود در عضله FHL هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین و گروه کنترل برای پروتئین NT-4/5 یافت نشد (نمودار ۵).



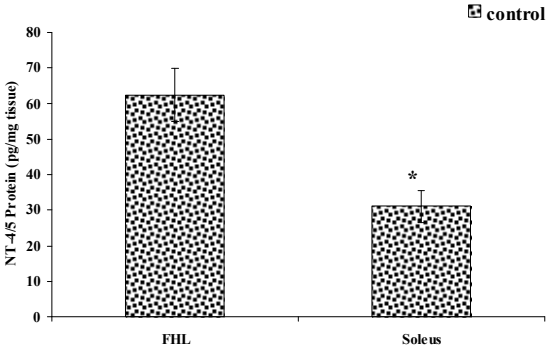
نمودار ۱ : میزان اثرپذیری ژن β-Actin از تمرین مقاومتی (Soleus ، FHL)
**** اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و تمرین مقاومتی (P<۰/۰۵)***



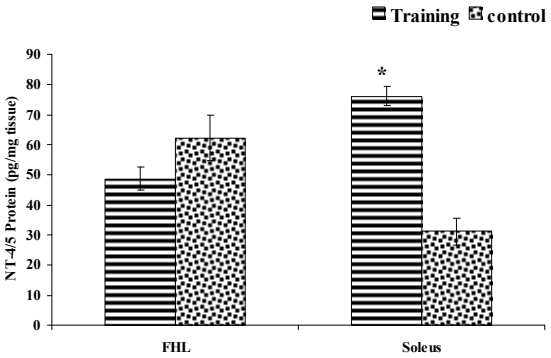
نمودار ۲ : میزان اثرپذیری ژن GPDH از تمرین مقاومتی از تمرین مقاومتی (Soleus ، FHL)



نمودار ۳ : میزان اثر پذیری ژن NT-4/5 از تمرین مقاومتی در عضلات سولئوس و FHL
** اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و تمرین مقاومتی برای ژن NT-4/5 در عضله سولئوس (P<۰/۰۵)*



نمودار ٤ : اثر نوع عضله بر مقادیر NT-4/5
** اختلاف معنی‌دار بین عضله سولئوس و عضله FHL در حالت پایه برای پروتئین NT-4/5 (P<۰/۰۵)*



نمودار ۵ : میزان اثرپذیری پروتئین NT-4/5 از تمرین مقاومتی در عضلات سولئوس و FHL
** اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و تمرین مقاومتی برای پروتئین NT-4/5 در عضله سولئوس (P<۰/۰۵)*

بحث

نتایج مربوط به ژن‌های کنترل نشان داد که ژن β–Actin از تمرین مقاومتی اثرپذیری دارد. از این رو در مطالعاتی که از تمرین مقاومتی استفاده می‌کنند؛ استفاده از ژن β–Actin به عنوان ژن رفرنس بایستی با احتیاط بیشتری انجام شود. با این حال ژن GPDH از تمرین مقاومتی تاثیری نپذیرفت و ثبات خود را حفظ کرد. بنابراین در مطالعه حاضر از ژن GPDH به عنوان ژن رفرنس استفاده شد. همچنین مقادیر پروتئینی پایه NT-4/5 در عضله تندانقباض FHL به طور معنی‌داری بیشتر از عضله کندانقباض سولئوس بود. بیان NT-4/5 mRNA و پروتئین آن در هر دو نوع تارکند و تند کشف شده است (۴و۶)؛ با این حال قبلاً تفاوت‌های بزرگی در بیان آن بین عضلات با فنوتایپ مختلف دیده شده است. Sakuma و همکاران بیان بیشتر پروتئین NT-4/5 را در عضلات غالباً تند انقباض گاستروکنمیوس و بازکننده طویل انگشتان در مقایسه با عضلات نسبتاً کند انقباض سولئوس و دیافراگم مشاهده کردند (۴). برعکس Funakoshi و همکاران نسبت بزرگ‌تری از تارهای بیان کننده NT-4/5 را در عضله سولئوس نسبت به عضله گاستروکنمیوس با دو روش ایمونوهیستوشیمی و هیبریدیزیشن در حالت in situ مشاهده کردند (۱۲). در آن تحقیق، رنگ‌آمیزی میوزین ATPase نشان داد که تارهای نوع یک منبع اصلی NT-4/5 در عضله اسکلتی است (۱۲). هرچند مطالعات قبلی نشان داده‌اند که عضله گاستروکنمیوس میانی غالباً متشکل از تارهای تند انقباض است (۲۶) و عضله سولئوس اغلب از تارهای کند انقباض تشکیل شده است (۲۷). با این وجود Ogborn و همکاران هیچ تفاوتی در بیان NT-4/5 mRNA بین این دو عضله پیدا نکردند (۷). مطالعه Walker و Schon روی انسان انجام شد (۶) و Funakoshi و همکاران (۱۲) و Sakuma و همکاران (۴) از مدل حیوانی استفاده کردند. لذا تفاوت بین گونه‌ها را نمی‌توان نادیده گرفت. روشن است که تحقیقات آینده به روش‌های چندگانه نیاز دارند تا NT-4/5 را از طریق وسترن بلات و RT-PCR را بر روی عضله کمی کرده و از طریق هیبریدیزیشن و ایمونوهیستوشیمی در حالت in situ بر روی دامنه وسیعی از عضلات اسکلتی نقش NT-4/5 در سیستم عصبی عضلانی را تعیین کنند.

در مطالعه حاضر یک جلسه تمرین مقاومتی باعث کاهش بیان NT-4/5 mRNA در عضله سولئوس شد. این در حالی است که مقدار پروتئین NT-4/5 در این عضله افزایش معنی‌داری را در پی یک جلسه تمرین مقاومتی نشان داد. NT-4/5 ممکن است از طریق گیرنده trkB انتقال عصبی عضلانی را به واسطه اثرات کوتاه مدت بر رهایش نروترانسمیترها بهبود دهد که این کار را از طریق فسفوریلاسیون سیناپسین یا رهایش کلسیم انجام می‌دهد (۲۰). مطالعات گزارش کرده‌اند که NT-4/5 مشتق از عضله به عنوان یک سیگنال تروفیکی وابسته به فعالیت برای رشد و تغیر شکل عصب حرکتی بالغ عمل می‌کند (۱۲). به‌علاوه NT-4/5 ممکن است تااندازه‌ای مسؤول اثرات ورزش و تحریک الکتریکی بر اجرای عصبی عضلانی باشد (۱۲). همچنین مشخص شده NT-4/5 مشتق از

عضله برای حفظ پهنه‌های AChR پس‌سیناپسی، پاسخ‌های الکترومایوگرافی طبیعی و مقاومت به خستگی عضلانی لازم و ضروری است. بنابراین این نوروتروفین ممکن است جزء مهمی از مکانیسم بازخوردی وابسته به فعالیت برای حفظ ارتباطات عصبی عضلانی و اجراء عضلانی باشد (۲۸). در مطالعه ما از تمرین مقاومتی استفاده شد که در مطالعات قبلی تاثیرات آن بر ناحیه اتصال عصبی عضلانی به اثبات رسیده است (۲۹). این شکل از افزایش فعالیت باعث افزایش انتقال عصبی عضلانی می‌شود. لذا نقش NT-4/5 در افزایش انتقال عصبی عضلانی بسیار برجسته می‌شود. کاهش بیان NT-4/5 mRNA در عضله سولئوس می‌تواند به خاطر افزایش مقدار پروتئین NT-4/5 باشد. به عبارت دیگر تمرین مقاومتی ممکن است از طریق تنظیمات پس‌ترجمه‌ای باعث کاهش بیان NT-4/5 mRNA شده باشد. در حمایت از این یافته، Gardiner به افزایش ظرفیت پس‌ترجمه‌ای به عنوان یکی از آثار کلاسیک تمرین مقاومتی اشاره کرده است (۳۰). افزایش سنتز پروتئین ممکن است از طریق افزایش متقارن در mRNA و یا به وسیله افزایش کارآیی نسخه‌برداری تحریک شود. به طور کلی تعدیل پروتئین‌های عضله اسکلتی در اثر فعالیت موخر بر تغییرات خاص در mRNAهای مربوطه است (۳۱و۳۲). لذا از این طریق یک سازوکار احتمالی برای سنتز پروتئین فراهم می‌شود. از طرفی، نیمه عمر یک پروتئین خاص به نوعی طولانی‌تر از نیمه عمر mRNA منطبق با آن است. از این رو، تغییرات و بالا و پایین رفتن‌های روزانه در mRNA ممکن است باعث افزایش آشکار در میزان ثبات سنتز پروتئین شود (۳۱و۳۲). همچنین، افزایش مقادیر پروتئینی شاید به دلیل انتقال روبه عقب NT-4/5 از آکسون به سمت عضله و رهایش و تجمع در این مکان باشد.

در مطالعه حاضر یک جلسه تمرین مقاومتی نتوانست تغییری در مقادیر پروتئینی و NT-4/5 mRNA در عضله FHL ایجاد کند. عدم تغییر معنی‌دار پروتئین و NT-4/5 mRNA در عضله FHL شاید به این دلیل باشد که مقادیر پایه NT-4/5 در این عضله نسبت به عضله سولئوس بیشتر است. از این رو بالا بودن مقادیر پایه NT-4/5 در عضله تند انقباض FHL نیازهای ایجاد شده به دنبال تحریک مقاومتی را در این عضله پاسخ داده است و لذا نیازی به افزایش بیان آن نبوده است. از طرفی، با توجه به این که تمرین مقاومتی استفاده شده در مطالعه‌ای طی ۸ هفته باعث هایپرتروفی ۱۷درصد در عضله FHL شد (۲۳)؛ نمی‌توان از نقش احتمالی NT-4/5 در هایپرتروفی عضلانی چشم‌پوشی کرد. اضافه بار مکانیکی (از جمله تمرین مقاومتی) به طور قابل توجهی فعالیت و یا حجم تار عضلانی را تغییر می‌دهد (۴). پروتئین‌های ساختاری و انقباضی مورد نیاز در عضله هایپرتروفی شده تنظیم مثبت می‌شوند که ممکن است در نتیجه نیرومندسازی پس‌سیناپسی وابسته به فعالیت NT-4/5 باشد (۴). این احتمال وجود دارد که پروتئین NT-4/5 که از دسته‌بندی ناشی از آگرین گیرنده استیل کولین (AChR) ممانعت می‌کند؛ در مرحله اولیه احیاء ناشی از بازسازی پیوندگاه عصبی عضلانی بعد از آسیب کاهش یابد. در این راستا Sakuma و همکاران نشان دادند که بازسازی ناشی از آگرین پیوندگاه‌های عصبی عضلانی آسیب دیده بر اثر اضافه بار مکانیکی نیازمند کاهش سریع و قابل توجه پروتئین NT-4/5 است (۴). بنابراین، احتمالاً تعامل بین وظایف متفاوت NT-4/5 در عضله FHL، افزایش NT-4/5 برای بهبود انتقال عصبی عضلانی از یک سو و کاهش NT-4/5 در اثر سیگنال هایپرتروفی از سوی دیگر، دلیلی بر عدم تغییر سطوح پروتئینی و NT-4/5 mRNA در این عضله باشد.

با این حال، اثرات ورزش بر بیان NT-4/5 تا اندازه زیادی نامشخص است. Walker و Schon یافتند که هیچ تفاوتی در بیان NT-4/5 بین مردان ساکن و دوچرخه سواران تمرین کرده هوازی وجود ندارد (۶). نتایج تحقیق Ogborn و Gardiner با این یافته موافقت دارد و دلالت می‌کند که تمرینی که از شدت کافی برای افزایش بیان BDNF در سولئوس برخوردار است؛ هیچ اثری بر بیان NT-4/5mRNA در عضلات سولئوس و گاستروکنمیوس میانی ندارد (۷). لذا به این خاطر که مکانیسم دقیق مسؤول ترغیب بیان NT-4/5 و اهمیت عملکردی خود این پروتئین در عضله نامشخص است؛ پیش‌بینی حساس بودن بیان NT-4/5 نسبت به تمرین ورزشی، نیازمند تحقیقات بیشتری است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که یک جلسه تمرین بدنی از نوع مقاومتی باعث تغییرات در مقادیر پروتئینی و بیان ژن NT-4/5 در عضله اسکلتی می‌گردد. این تغییرات به نوع عضله نیز وابسته است. لذا این نتایج از نقش تمرین مقاومتی در سلامت دستگاه عصبی عضلانی از طریق خانواده عوامل رشدی حمایت می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه ریحانه محمدخانی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی ورزشی از دانشگاه تربیت مدرس بود. بدین‌وسیله از دانشجویان گروه ژنتیک دانشگاه تربیت مدرس که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند؛ سپاسگزاری می‌نماییم.

References

1. Barde YA. Trophic factors and neuronal survival. Neuron. 1989 Jun; 2(6):1525-34.

2. Thoenen H. The changing scene of neurotrophic factors. Trends Neurosci. 1991 May;14(5):165-70.

3. Ibáñez CF, Ebendal T, Persson H. Chimeric molecules with multiple neurotrophic activities reveal structural elements determining the specificities of NGF and BDNF. EMBO J. 1991 Aug;10(8):2105-10.

4. Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I, Nakano H, Li YJ, et al. A possible role for BDNF, NT-4 and TrkB in the spinal cord and muscle of rat subjected to mechanical overload, bupivacaine injection and axotomy. Brain Res. 2001 Jul;907(1-2):1-19.

5. Griesbeck O, Parsadanian AS, Sendtner M, Thoenen H. Expression of neurotrophins in skeletal muscle: quantitative comparison and significance for motoneuron survival and maintenance of function. J Neurosci Res. 1995 Sep;42(1):21-33.

6. Walker UA, Schon EA. Neurotrophin-4 is up-regulated in ragged-red fibers associated with pathogenic mitochondrial DNA mutations. Ann Neurol. 1998 Apr;43(4):536-40.

7. Ogborn DI, Gardiner PF. Effects of exercise and muscle type on BDNF, NT-4/5 and TrKB expression in skeletal muscle. Muscle Nerve. 2010 Mar;41(3):385-91.

8. Oliff HS, Berchtold NC, Isackson P, Cotman CW. Exercise-induced regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) transcripts in the rat hippocampus. Brain Res Mol Brain Res. 1998 Oct; 61(1-2):147-53.

9. Gómez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. J Neurophysiol. 2002 Nov; 88(5):2187-95.

10. Adlard PA, Perreau VM, Engesser-Cesar C, Cotman CW. The timecourse of induction of brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein in the rat hippocampus following voluntary exercise. Neurosci Lett. 2004 Jun;363(1):43-8.

11. Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman C. Exercise and brain neurotrophins. Nature. 1995 Jan;373(6510):109.

12. Funakoshi H, Belluardo N, Arenas E, Yamamoto Y, Casabona A, Persson H, et al. Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. Science. 1995 Jun; 268(5216):1495-9.

13. Mousavi K, Jasmin BJ. BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. J Neurosci. 2006 May; 26(21):5739-49.

14. Munson JB, Foehring RC, Mendell LM, Gordon T. Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. II. Motoneuron properties. J Neurophysiol. 1997 May;77(5):2605-15.

15. Klein R, Nanduri V, Jing SA, Lamballe F, Tapley P, Bryant S, et al. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. Cell. 1991 Jul; 66(2):395-403.

16. Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. Nat Rev Neurosci. 2001 Jan;2(1):24-32.

17. Lu B. BDNF and activity-dependent synaptic modulation. Learn Mem. 2003 Mar-Apr;10(2):86-98.

18. Cohen-Cory S. The developing synapse: construction and modulation of synaptic structures and circuits. Science. 2002 Oct; 298(5594):770-6.

19. Banitalebi E, Ghatre Samani K, Mardani G, Soheili A, Ansari Samani R, Teimori H. [Effect of 8 weeks resistance training on sphingosine-1-phosphate level and gene expression of SK1 enzyme, isoforms of MHCs in skeletal muscles of male Wistar Rats]. J Gorgan Uni Med Sci. 2013; 14(4):44-51. [Article in Persian]

20. Zhan WZ, Mantilla CB, Sieck GC. Regulation of neuromuscular transmission by neurotrophins. Sheng Li Xue Bao. 2003 Dec;55(6):617-24.

21. Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity. Nat Rev Neurosci. 2008 Jan;9(1):36-45.

22. Godfrey JK, Kayser BD, Gomez GV, Bennett J, Jaque SV, Sumida KD. Interrupted resistance training and BMD in growing rats. Int J Sports Med. 2009 Aug;30(8):579-84.

23. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. JEP online. 2003 May; 6(2):80-7.

24. Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossaini-Kakhak SA, Rahbarizadeh F, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Oct; 361(4):841-6.

25. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001 Dec; 25(4):402-8.

26. Roy RR, Baldwin KM, Martin TP, Chimarusti SP, Edgerton VR. Biochemical and physiological changes in overloaded rat fast- and slow-twitch ankle extensors. J Appl Physiol. 1985 Aug; 59(2):639-46.

27. Delp MD, Duan C. Composition and size of type I, IIA, IID/X and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. J Appl Physiol. 1996 Jan;80(1):261-70.

28. Belluardo N, Westerblad H, Mudó G, Casabona A, Bruton J, Caniglia G, et al. Neuromuscular junction disassembly and muscle fatigue in mice lacking neurotrophin-4. Mol Cell Neurosci. 2001 Jul; 18(1):56-67.

29. Deschenes MR, Judelson DA, Kraemer WJ, Meskaitis VJ, Volek JS, Nindl BC, et al. Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology. Muscle Nerve. 2000 Oct; 23(10):1576-81.

30. Gardiner P. Neuromuscular Aspects of Physical Activity. 1st. Champaign: Human Kinetics. 2001; pp: 143-6.

31. Garcia MC, Gonzalez-Serratos H, Morgan JP, Perreault CL, Rozycka M. Differential activation of myofibrils during fatigue in phasic skeletal muscle cells. J Muscle Res Cell Motil. 1991 Oct; 12(5):412-24.

32. Godt RE, Maughan DW. Influence of osmotic compression on calcium activation and tension in skinned muscle fibers of the rabbit. Pflugers Arch. 1981 Oct;391(4):334-7.

Original Paper

Effect of resistance exercise on protein content and mRNA expression of NT 4/5 in rat slow and fast muscles

Eslami R (Ph.D)[1], Gharakhanlou R (Ph.D)*[2]
Mowla J (Ph.D)[3], Rajabi H (Ph.D)[4], Mohammadkhani R (M.Sc)[5]

[1]Assistant Professor, Faculty of Physical Education, Allameh Tabatabai University, Tehran, Iran. [2]Associate Professor, Department of Physical Education, Faculty of Humanity, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. [3]Associate Professor, Department of Genetics, Faculty of Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. [4]Associate Professor, Department of Physiology, Faculty of Physical Education, Kharazmi University, Tehran, Iran. [5]MSc in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Humanity Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Trophic factor family plays a key role for neuromuscular system healthy. This study was carried out to determine the effect of one session of resistance exercise on protein content and mRNA expression of NT4/5 in rat slow and fast muscles.

Methods: In this experimental study, sixteen adult male rats randomly were allocated into resistance exercise (T) and control groups. The resistance training protocol consisted of climbing a 1-meter–long ladder, with a weight attached to a tail sleeve. Quantitative Real time RT-PCR for NT-4/5 expression and ELISA Kit for protein assay were used.

Results: Resistance training significantly decreased mRNA expression and increased protein of NT4/5 in soleus muscle ($P<0.05$). Significant alteration was not detected in flexor hallucis longus muscle.

Conclusion: One session of resistance training can alter protein and mRNA of NT-4/5 in skeletal muscle and this alteration was dependent on muscle type.

Keywords: Resistance Training, Neurotrophin-4/5, Protein, Muscle

---

*** Corresponding Author: Gharakhanlou R (Ph.D), E-mail: ghara_re@modares.ac.ir**

Received 16 January 2013 **Revised** 9 April 2013 **Accepted** 12 May 2013

This paper should be cited as: Eslami R, Gharakhanlou R, Mowla J, Rajabi H, Mohammadkhani R. [Effect of resistance exercise on protein content and mRNA expression of NT 4/5 in rat slow and fast muscles]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 16(1): 35-41. [Article in Persian]