DOI: 10.48305/jims.v42.i779.0696

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | سال چهل و دوم/شماره‌ی ۷۷۹/هفته‌ی سوم مهر ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۶ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۲ | تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۰۷/۲۰

بررسی اثر یک دوره تمرین ترکیبی بر فرایند میوژنز از طریق مسیر ژن‌های Decorin/sparc فیبرهای عضلانی تند و کند انقباض موش‌های صحرایی نر نابالغ

محمدرضا خلیلی فر[۱]، محمد رضا فدائی چافی[۲]، علیرضا علمیه[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: عضله‌ی اسکلتی، به عنوان یک عضو اصلی غدد درون‌ریز شناخته می‌شود که میوکین‌هایی را آزاد می‌کند و نقشی محوری در ارتباط بین عضله و سایر بافت‌ها ایفا می‌کند. هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثر یک دوره تمرین ترکیبی بر فرایند میوژنز از طریق مسیر ژن‌های دکورین و اسپارک عضله موش‌های نر نابالغ بود.

روش‌ها: در مطالعه‌ی حاضر، تعداد ۱۰ سر موش صحرایی نر ویستار دو هفته‌ای به طور تصادفی در دو گروه شاهد و تمرین قرار گرفتند. برنامه‌ی تمرین مقاومتی- هوازی به مدت ۶ هفته در روزهای مجزا انجام شد. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی، موش‌ها تشریح شدند و عضلات دوقلو و نعلی جدا و جهت انجام آزمایش‌ها و بیان ژن استفاده شدند. برای بررسی بیان ژن دکورین و اسپارک از روش Real-Time PCR استفاده گردید.

یافته‌ها: بر اساس آنالیز آماری، مشخص شد در گروه تمرین بیان ژن اسپارک ($P \leq ۰/۰۰۱$) و دکورین ($P \leq ۰/۰۰۱$) در عضله‌ی نعلی و بیان ژن اسپارک ($P \leq ۰/۰۲۸$) و دکورین ($P \leq ۰/۰۰۱$) در عضله‌ی دوقلو دارای مقادیر بالاتری نسبت به گروه شاهد بود. با این حال مقادیر بیان ژن اسپارک ($P \leq ۰/۰۱۵$) و دکورین ($P \leq ۰/۰۰۱$) در عضله‌ی نعلی در مقایسه با عضله دوقلو به طور معنی‌داری بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد میوژنز در اثر تمرین مقاومتی- هوازی در موشهای صحرایی نر نابالغ افزایش یافت که با افزایش بیان ژن دکورین، اسپارک در هر دو نوع فیبر عضلانی کند و تند انقباض همراه بود. با این حال بیان هر دو ژن اسپارک و دکورین در فیبر کند انقباض گروه تمرین مقادیر بالاتری نسبت به فیبر های تند انقباض داشت که دلالت بر تمرین‌پذیری بیشتر این نوع فیبر عضلانی دارد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی؛ ورزش؛ عضله‌ی اسکلتی؛ میوژنز؛ استئونکتین؛ دکورین

ارجاع: خلیلی فر محمدرضا، فدائی چافی محمد رضا، علمیه علیرضا. **بررسی اثر یک دوره تمرین ترکیبی بر فرایند میوژنز از طریق مسیر ژن‌های Decorin/sparc فیبرهای عضلانی تند و کند انقباض موش‌های صحرایی نر نابالغ.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۷۹): ۷۰۲-۶۹۶.

مقدمه

تشکیل بافت‌های عضلانی از طریق تمایز سلول‌های پیش‌ساز میوبلاست‌ها به میوسیت‌ها است که در دوران رشد جنین اتفاق می‌افتد. میوژنز در دوره رشد رخ می‌دهد و عاملی که باعث میوژنز می‌شود، فاکتورهای تقویت کننده میوسیت (MEs) است که باعث افزایش میوژنز می‌شوند. ژن این پروتئین با چندین فاکتور تنظیمی میوژنیک در ارتباط است و موجب فعال‌سازی ژن‌های ویژه عضله می‌شود. برخی از ژن‌هایی که توسط این فاکتور تنظیم می‌شوند عبارتند از: مایوژنین، پروتئین تمایزی عضله (myoD)، میوگلوبین و تروپونین C که در نتیجه استروئیدها می‌توانند میوژنز را تنظیم کنند (۱).

میوبلاست، نوعی سلول پیش‌ساز جنینی است که برای تشکیل سلول‌های عضلانی تمایز می‌یابد. سلول‌های عضلانی زمانی ساخته می‌شوند که میوبلاست‌ها به یکدیگر جوش می‌خورند؛ بنابراین سلول‌های عضلانی دارای هسته‌های متعددی هستند، و ادغام میوبلاست‌ها مختص عضله اسکلتی است (۲). افزایش تعداد هسته‌ها به لطف جمعیتی از پیش سازهای عضلانی که پس از تولد باقی می‌مانند، به نام سلول‌های بنیادی عضله امکان‌پذیر است. که در طول دوره‌های

۱- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۳- دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: محمد رضا فدائی چافی: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

Email: mfadaei2000@yahoo.com

رشد عضلانی، این سلول‌های بنیادی تحت تکثیر و همجوشی گسترده با فیبرهای عضلانی موجود قرار می‌گیرند، در نتیجه هسته‌ها را اضافه می‌کنند و به فیبرهای عضلانی اجازه رشد می‌دهند و این مکانیسم به ویژه برای افزایش سریع طول و عرض فیبرهای عضلانی که در سال‌های اول زندگی اتفاق می‌افتد بسیار مهم است (۳).

انواع فیبرهای عضلانی را می‌توان با توجه به تفاوت در خواص ساختاری و عملکردی آنها مشخص کرد. تارهای کند (عضله‌ی نعلی یا سلئوس) و تند انقباض (عضله‌ی دوقلو یا گاسترکنیموس) معمول‌ترین دسته‌بندی آنهاست، تارهای تند انقباض به سرعت منقبض شده، ولی زود دچار خستگی می‌شوند در صورتی که تارهای کند انقباض به آرامی منقبض، ولی دیرتر خسته می‌شوند. توزیع انواع فیبرهای عضلانی تند و کند انقباض در بدن متفاوت است (۴).

عضله‌ی اسکلتی به عنوان یک عضو اصلی غدد درون‌ریز شناخته می‌شود که میوکین‌هایی را آزاد می‌کند که نقشی محوری در ارتباط بین عضله و سایر بافت‌ها ایفا می‌کند. بنابراین، میوکین‌های خاصی که از عضلات منقبض آزاد می‌شوند ممکن است تأثیرات ارتقاء سلامتی فعالیت بدنی را واسطه کنند (۵-۷) میوکین‌های آزاد شده در حین ورزش نقش مهمی را در تنظیم عملکرد و متابولیسم ایفا می‌کند و بسیاری از پروتئین‌های تنظیم‌کننده توسط عضلات اسکلتی ترشح می‌شوند. اگرچه تعدادی از آنها نقش مهمی در برقراری مجدد هموستاز پس از ورزش حاد و یا ایجاد سازگاری با تمرینات ورزشی مزمن دارند، در واقع میوکین‌ها عملکرد فیزیولوژیکی را تنظیم می‌کنند (۸، ۹).

یک از میوکین‌هایی که توسط Kanzleiter و همکاران شناسایی شده است دکورین (Decorin) نام دارد. دکورین یک پروتئوگلیکان کوچک غنی از لوسین است که در طول انقباض عضلانی در عضلات اسکلتی ترشح می‌شود و نقش مهمی در رشد عضلات دارد. دکورین در پاسخ به انقباض عضله با استفاده از روش‌های گوناگونی رها می‌شود. دکورین، از انقباض میوتپ‌ها در انسان منتشر شده و سطوح در گردش دکورین در پاسخ به تمرین مقاومتی حاد در انسان را افزایش می‌دهد (۱۰). علاوه بر این، بیان دکورین در عضله‌ی اسکلتی انسان و موش پس از فعالیت ورزشی مزمن افزایش می‌یابد از آنجا که دکورین مستقیماً به میوستاتین، یک مهارکننده‌ی قوی رشد عضلانی متصل است؛ محققین دکورین را یک تابع پتانسیل در تنظیم رشد عضلات اسکلتی بیان کردند (۱۱).

یکی دیگر از میوکین‌های مهم که در ورزش نقش دارند اسپارک (Sparc termed osteonectin) می‌باشد. اسپارک، پروتئین ترشح شده‌ی اسیدی و غنی از سیستئین که به نام استئونکتین یا BM-40 نیز شناخته می‌شود این ژن در طول بسیاری از مراحل رشد در ارگانیسم‌های مختلف بیان می‌شود، اسپارک عملکردهای بالقوه زیادی از جمله تنظیم ترشح انسولین و سرکوب تومورزایی کولون را دارد. در مهره‌داران بالغ، عمدتاً به بافت‌هایی که چرخش ثابتی دارند یا به مکان‌هایی محدود می‌شود که به طور گسترده توسط فیزیولوژیست‌های ورزش مورد مطالعه قرار گرفته است (۸، ۱۲).

اسپارک همچنین به عنوان استئونکتین، یک گلیکوپروتئین ماتریسلولی (Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function) متصل به کلسیم است که توسط چندین نوع سلول ترشح می‌شود و با رشد، بازسازی بافت، ترمیم و آسیب مرتبط است. اسپارک یک پروتئین چند عملکردی است که در استخوان زایی، بهبود زخم، رگزایی و پاتوژنز و بیماری نقش دارد. تغییرات در سطوح یا فعالیت اسپارک با چندین بیماری رایج انسانی مانند پوکی استخوان، آرتریت، سرطان، بیماری قلبی، چاقی مرتبط است. در عضله‌ی اسکلتی اسپارک در طول رشد عضلانی و در بازسازی عضلات و همچنین در سلول‌های ماهواره‌ای میوبلاست و در فیبرهای عضلانی بیان می‌شود که نقش مهمی را برای اسپارک در عضله‌ی اسکلتی نشان می‌دهد (۱۳).

مطالعات در زمینه‌ی تأثیر عضله‌ی اسکلتی به عنوان عضوی از غدد درون‌ریز و نقش مایوکاین‌ها در سازگاری‌های ورزشی مطرح شده است؛ اما محققین اندکی به تأثیر فعالیت ورزشی و نقش آن بر دکورین و اسپارک پرداخته‌اند.

Kanzleiter و همکاران در مطالعه‌ی خود به بررسی تأثیر انقباضات عضلانی بر تنظیم بیان دکورین در انسان‌ها و رت‌ها پرداختند. یافته‌ها حاکی از افزایش ترشح دکورین از میوتوپ‌ها (Myotubes) در پاسخ به فعالیت ورزشی در تنظیم هایپرتروفی عضلات و نقش آن در روند بازسازی عضله‌ی اسکلتی مربوط به فعالیت ورزشی مقاومتی بود (۱۰).

Zhu و همکارن در مطالعه‌ی خود به بررسی تأثیر هشت هفته دویدن بر روی تردمیل با شدت های متوسط و شدید بر بیان دکورین در تاندون عضله‌ی اسکلتی رت‌های نژاد ویستار پرداختند. نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار دکورین در گروه فعالیت با شدت متوسط نسبت به گروه شاهد و کاهش معنی‌دار دکورین در گروه فعالیت ورزشی با شدت بالا نسبت به گروه شاهد بود (۱۴).

Ghanemi و همکاران، در مطالعه‌ی خود که تغییرات فنوتیپ عضلانی ناشی از ورزش وابسته به اسپارک را بر روی موش‌ها بررسی کردند، نشان دادند اسپارک اثرات مفیدی بر بافت‌های عضلانی داشته از جمله بهبود قدرت عضلانی و عملکرد متابولیک دارد (۱۵).

با این حال کمتر تحقیقی بر اثر تمرین ترکیبی روی دو نوع تار عضلانی کند و تند انقباض در دوران رشد پرداخته است؛ بنابراین در این مقاله به دنبال پاسخ به این سؤال هستم که آیا یک دوره تمرین

ترکیبی بر فرایند میوژنز از طریق مسیر ژن‌های دکورین و اسپارک تارهای تند و کند انقباض موش‌های نر نابالغ تأثیر می‌گذارد.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی و با رویکرد بنیادی می‌باشد. نمونه‌های پژوهش را ۱۰ سر موش صحرایی نر نابالغ با سن دو هفته و محدوده‌ی وزنی ۱۰۰-۱۵۰ گرم تشکیل دادند که از موسسه‌ی پاستور تهیه و برای انجام پروتکل پژوهش به شرکت دانش بنیان بافت و ژن پاسارگاد منتقل شدند. نمونه‌ها پس از یک هفته سازگاری با محیط جدید به صورت تصادفی در ۲ گروه شاهد (پنج سر) و تمرین (پنج سر) تقسیم شدند. شرایط نگهداری نمونه‌ها بدین صورت بود که در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲±۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه‌ی تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته قرار گرفتند. پروتکل تمرینی شامل تمرینات مقاومتی و هوازی بود که برای ۶ هفته اجرا شد. طرح پژوهش حاضر در آزمایشگاه موسسه بافت و ژنتیک پاسارگاد تهران و با نظارت اساتید فیزیولوژی و متخصصین آزمایشگاهی و نیز با رعایت کلیه اصول اخلاقی انجام شد. بدین صورت که کلیه‌ی اصول نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، مطابق دستورالعمل موسسه‌ی ملی سلامت (National Institutes of Health) NIH رعایت گردید. و تمام مراحل آن توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت با کد اخلاق تأیید IR.IAU.RASHT.REC .1402.050 گردید.

برنامه‌ی تمرین مقاومتی: تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان به ارتفاع یک متر و دارای ۲۶ پله با وزنه بسته شده به دم حیوانات بود که ۳ جلسه در هفته بصورت یک‌روز در میان به مدت ۶ هفته اجرا شد. در هر جلسه، ۳ نوبت و هر نوبت شامل ۴ تکرار و بین هر نوبت ۳۰ ثانیه استراحت برای حیوانات در نظر گرفته شد. در هفته‌ی اول میزان وزنه بسته شده به دم حیوان ۳۰ درصد وزن بدن آنها بود و به تدریج از هفته‌ی دوم ۷۰ درصد، هفته‌ی سوم ۱۰۰ درصد، هفته‌ی چهارم ۱۲۰ درصد، که تا پایان هفته‌ی ششم بدون تغییر باقی ماند (۱۶).

برنامه‌ی تمرین هوازی: در ابتدا حداکثر سرعت موش‌ها بدست آمد سپس برنامه تمرین هوازی شامل ۳ جلسه در هفته در روزهای متناوب بدون تداخل با تمرینات مقاومتی با دویدن بر روی نوارگردان با شدت ۲۵ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت موش به مدت ۶ هفته شامل ۳۰ دقیقه بود. که در هفته‌ی اول ۲۵ درصد و به تدریج از هفته‌ی دوم ۳۰ درصد، هفته‌ی سوم ۳۵ درصد، هفته‌ی چهارم ۴۰ درصد، و از هفته‌ی پنجم ۵۰ درصد تا پایان هفته‌ی ششم بدون تغییر ماند (۱۷).

در هر گروه وزن در ابتدا و انتهای مطالعه بررسی شد. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرین، و بعد از وزن‌کشی موش‌ها با استفاده از گاز CO_2 بی‌هوش شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در عضلات پای آنها، عضله‌ی دوقلو (تند انقباض) و نعلی (کند انقباض) استخراج گردید و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و جهت بررسی بیان ژن استفاده شدند. به منظور بررسی بیان ژن دکورین و اسپارک ابتدا طراحی پرایمر ساخت شرکت سیناکلون ایران انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در روش Real-time PCR

Gene Name	Primer sequence
r-Decorin	F: AAGGTGGTGAAAACGCATGAG R: GGGGCACATAGATATCAGGGG
r-Sparc	F: AAACATGGCAAGGTGTGTGAG R: TGCTGCACACCTTTTCAAACT
r-GAPDH	F: AGGTCGGTGTGAACGGATTTG R: TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA

بافت: بافت‌ها قبل از استفاده با استفاده از دستگاه هموژنایزر و یا به روش دستی به طور کامل هموژن شدند و سپس مقدار مشخصی ترایزول (۱ ml) اضافه گردید تا لیزات سلولی بدست آید. به ازای (۱ ml) ترایزول اضافه شده مقدار ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید و ۱۵ ثانیه تکان داده شد سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵دقیقه انکوبه شدند و به مدت ۱۵دقیقه در ۱۲۰۰۰ RPM و دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. به میکروتیوب‌های فاز شفاف رویی حاوی RNA جدا شده ایزوپروپانول اضافه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای فریزر ۲۰- انکوبه شدند. به منظور رسوب RNA نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ RPM و دمای ۴ درجه سانتریفیوژ شدند.

استخراج RNA ابتدا محیط رویی سلول‌ها تخلیه شده سلول‌ها با بافر PBS شستشو داده شدند و پس ازتخلیه، PBS مقدار مشخصی از ترایزول (۱ ml) در ظرفی ریخته شد تا سلول‌ها لیز شوند. سپس لیزات سلولی حاصل در میکروتیوب ۱/۵ ml جمع‌آوری گردید. سوسپانس سلولی موجود سانتریفیوژ و محیط رویی سلول‌ها دور ریخته شد و رسوب سلولی در مقدار مشخصی ترایزول (۱ ml) لیز گردید. در نهایت لیزات سلولی حاصل در میکروتیوب ۱/۵ ml جمع‌آوری گردید.

سنتز cDNA : در ابتدا تمام مواد کیت از دمای ۲۰- و نمونه‌های RNAاز ۷۰- درجه خارج و پس از آب شدن به روی یخ منتقل شدند. میکروتیوب‌های آماده شده حاوی RT mix و نمونه‌ی RNA در دستگاه ترموسایکلر یا Dry block heater به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و به دنبال آن ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰

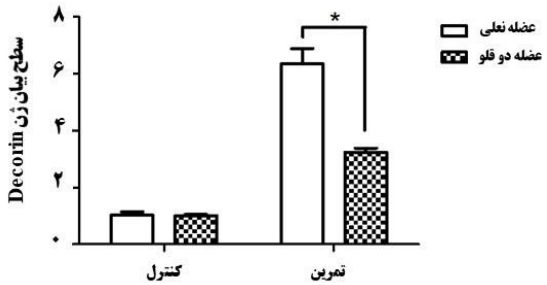
درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت، سپس نمونه‌های cDNA آماده شده تا زمان استفاده در ۲۰- °C نگهداری شدند.

بررسی کمی تغییرات بیان ژن: تمامی مواد لازم جهت PCR از فریز درآورده شده و برای هر ژن مخلوطی از اجزای مختلف PCR تهیه و پس از میکس کردن و اسپین در مقادیر ۹ میکرولیتری داخل میکروتیوپ‌های مخصوص دستگاه توزیع شده و در هر ویال یک میکرولیتر از نمونه cDNA مورد نظر اضافه گردید. میکروتیوپ‌های آماده حاوی واکنش PCR پس از میکس و ورتکس در دستگاه با دمای ۹۵ °C قرار داده شد. پس از پایان آزمایش، دیتاهای حاصل شامل اعداد CT یا سیکل آستانه (tereshold cycle) منحنی‌های تکثیر و ذوب مربوط به هر ژن آنالیز و اعداد CT مربوط به ژن رفرنس و ژن اصلی هر نمونه در فرمول 2-ΔΔct تغییرات بیان نسبی هر ژن محاسبه گردید.

در این مطالعه به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. همچنین برای مقایسه‌ی بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PRISM در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ≥ P صورت پذیرفت.

یافته‌ها

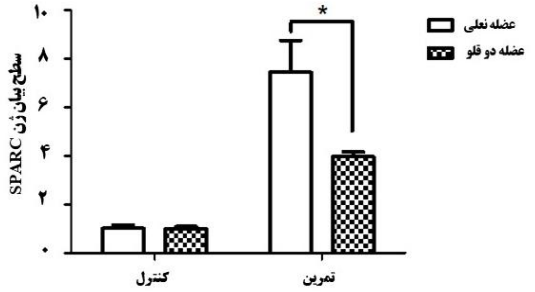
آنالیز آماری نشان داد بیان ژن دکورین گروه تمرین در عضله نعلی نسبت به گروه شاهد دارای مقادیر بالاتر و معنی‌دار بود (۰/۰۰۱ ≥ P) همچنین بیان این ژن در گروه تمرین عضله دوقلو نسبت به گروه شاهد دارای مقادیر بالاتر و معنی‌دار بود (۰/۰۰۱ ≥ P). با این حال مقادیر بیان ژن دکورین در عضله نعلی در مقایسه با عضله دوقلو به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (۰/۰۰۱ ≥ P) (شکل ۱).



شکل (۱) مقایسه‌ی سطح بیان ژن دکورین در دو گروه تمرین و شاهد عضله‌ی نعلی و دوقلو

***: سطح بیان ژن دکورین عضله‌ی نعلی در مقایسه با عضله‌ی دوقلو**

آنالیز آماری نشان داد بیان ژن اسپارک گروه تمرین در عضله‌ی نعلی نسبت به گروه شاهد دارای مقادیر بالاتر و معنی‌دار بود (۰/۰۰۱ ≥ P) همچنین بیان این ژن در گروه تمرین عضله دوقلو نسبت به گروه شاهد دارای مقادیر بالاتر و معنی‌دار بود (۰/۰۲۸ ≥ P) با این حال مقادیر بیان ژن اسپارک در عضله‌ی نعلی در مقایسه با عضله‌ی دوقلو به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (۰/۰۱۵ ≥ P) (شکل ۲).



شکل (۲) مقایسه‌ی سطح بیان ژن اسپارک عضله‌ی نعلی و دوقلو در دو گروه تمرین و شاهد

***: سطح بیان ژن اسپارک عضله‌ی نعلی در مقایسه با عضله‌ی دوقلو**

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، به بررسی تأثیر یک دوره‌ی تمرین ترکیبی مقاومتی- هوازی بر بیان ژن دکورین و اسپارک رت‌های نر نابالغ پرداخته شد. یافته‌های پژوهش حاکی از آن است که مقادیر بیان ژن دکورین و اسپارک در گروه تمرین به طور معنی‌داری از گروه شاهد بیشتر بود، پروتئوگلیکان دکورین و اسپارک اجزای ماتریکس خارج سلولی و تعدیل کننده فعالیت‌های فاکتور رشد هستند. دکورین به عنوان ضد میوستاتین که یکی از قوی‌ترین مهارکننده‌ی رشد عضلانی است، معرفی گردید.

Kanzleiter و همکاران در سال ۲۰۱۴ برای اولین بار نشان دادند که سطوح پلاسمایی دکورین در داوطلبان انسانی در پاسخ به تمرین مقاومتی حاد افزایش می‌یابد. آنها بیان دکورین را در عضله‌ی اسکلتی پس از یک مداخله‌ی تمرینی ۱۲ هفته‌ای تجزیه و تحلیل کردند و نتایج نشان داد ترشح mRNA دکورین از انقباض میوتوب‌های انسانی در شرایط آزمایشگاهی در افراد گروه تمرینی افزایش یافت (۱۰).

در مطالعه‌ی دیگری که توسط Heinemeier و همکاران در سال۲۰۱۳ انجام شد، افزایش بیان دکورین در عضلات اسکلتی، ۶ ساعت پس از اتمام یک جلسه تمرین استقامتی شامل یک ساعت رکاب زدن با پا گزارش شد (۱۸).

Kishioka و همکاران نشان دادند دکورین با سرکوب فعالیت میوستاتین، تکثیر و تمایز میوبلاست‌های C2C12 را افزایش می‌دهد

(۵). یافته‌ها نشان داد که دکورین در پاسخ به ورزش از میوتوپ‌ها ترشح می‌شود و در تنظیم هایپرتروفی عضله می‌تواند نقش مهمی در فرایندهای بازسازی و رشد ناشی از ورزش در عضلات اسکلتی داشته باشد. هر چند که در مطالعات گذشته به اثر همزمان رشد طبیعی ورزش در سنین کودکی و نوجوانی اشاره نشد.

ما در این مطالعه، نشان دادیم بیان ژن اسپارک در عضلات اسکلتی موش‌های نابالغ گروه تمرین مقادیر بالاتری نسبت به گروه شاهد داشت. به نظر می‌رسد اسپارک می‌تواند یک عامل تنظیم‌کننده در تشکیل و رشد عضله در دوران رشد با تمرین باشد. اسپارک دارای چندین مکان بافت‌شناسی در عضله است زیرا در فیبرها، سلول های ماهواره‌ای، عروق خونی، بافت عضله و بافت فیبری مشاهده می‌شود. این نشان‌دهنده‌ی تنظیم بسیار پیچیده و ظریف زمانی و مکانی اسپارک در حمایت از فرایندهای رشدی و بازسازی عضله است. افزایش بیان اسپارک در شروع فرایند بلوغ میوبلاست‌های C2C12 و در hSC هنگام تکثیر و تمایز نشان داده شده است (۱۹).

Ghanemi و همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه‌ی خود بر روی موش‌ها به مدت ۱۲ هفته با سرعت آستانه لاکتات نشان دادند که SPARC موجب تغییرات ناشی از ورزش در فنوتیپ SM، از نظر افزایش عملکرد (متابولیک، قدرت و رشد) شد (۱۲).

Aoi و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که یک جلسه ورزش باعث افزایش بیان و ترشح SPARC در عضله‌ی اسکلتی موش و انسان شد (۲۰).

Cho و همکاران، نشان دادند C2C12 اسپارک باعث تمایز میوبلاست در بافت می‌شود. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که اسپارک می‌تواند نقش حیاتی در تغییرات مرفولوژیک میوبلاست‌ها داشته باشد و بیان ژن اسپارک ممکن است در مسیر وابسته به کلسیم در فرایند میوژنز نقش کنترل کننده داشته باشد (۱۹).

در تحقیق Lewis و همکاران نشان دادند که بیان پروتئین اسپارک وابسته به سن بود، بنابراین با تکامل میوتیوب‌ها به فیبرهای عضلانی بالغ، مقدار اسپارک در بافت عضلانی کاهش می‌یابد. در فیبرهای عضلانی بالغ، اسپارک به شیوه‌ای مشابه با دوران رشد در طی بازسازی فیبرهای آسیب دیده دوباره بیان می‌شود در حالی که در فیبرهای سالم تغییری دیده نشد (۲۱).

نشان می‌دهد تغییرات ناشی از ورزش در فنوتیپ SM از نظر افزایش عملکرد (متابولیک، قدرت و رشد)، از جمله تغییرات ناشی از لاکتات، وابسته به SPARC هستند.

بنابراین، به نظر می‌رسد که اسپارک به طور کلی در تشکیل عضله در طول رشد و همچنین ترمیم آن نقش دارد. در واقع اسپارک به عنوان یک عامل تنظیم‌کننده در پیدایش میوتوپ (Myotube) و بازسازی عضلات اسکلتی نقش مهمی بر عهده دارد و می‌تواند نقش چندمنظوره در فرایند میوژنز (Myogenic) هم در طول رشد و هم در ترمیم داشته باشد. با این حال، نتایج تحقیق ما حاکی از اثر ورزش بر افزایش بیان آن خصوصا در تارهای کند انقباض بود.

به طور خلاصه، مطالعه‌ی ما دکورین و اسپارک را به عنوان یک میوکین تنظیم شده با ورزش که در پاسخ به انقباض عضلانی ترشح می‌شود، معرفی می‌کند. مطابق با عملکرد احتمالی میوژنز در هیپرتروفی عضلانی، سطوح افزایش یافته دکورین و اسپارک در پاسخ به تمرینات ترکیبی می‌تواند منجر به رشد عضلانی شود.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد فرایند میوژنز در اثر تمرین مقاومتی- هوازی در موشهای صحرایی نر نابالغ افزایش یافت که با افزایش بیان ژن دکورین، اسپارک در هر دو نوع فیبر عضلانی کند و تند انقباض همراه بود. با این حال بیان هر دو ژن اسپارک و دکورین در فیبرهای کند انقباض مقادیر بالاتری داشت که حاکی از تمرین پذیری بیشتر تارهای عضلانی کندانقباض در مقابل تند انقباض است.

تشکر و قدردانی

از تمام همکاران پژوهشی، مدیریت و پرسنل محترم شرکت دانش بنیان بافت و ژن پاسارگاد صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Potthoff MJ, Wu H, Arnold MA, Shelton JM, Backs J, McAnally J, et al. Histone deacetylase degradation andMEF2 activation promote the formation of slow-twitch myofibers. J Clin Invest 2007; 117(9): 2459-67.
2. Draeger A, Weeds AG, Fitzsimons RB. Primary, secondary and tertiary myotubes in developing skeletal muscle: a new approach to the analysis of human myogenesis. J Neurol Sci 1987; 81(1): 19-43.
3. Shefer G, Rauner G, Stuelsatz P, Benayahu D, Yablonka-Reuveni Z. Moderate-intensity treadmill running promotes expansion of the satellite cell pool in young and old mice. FEBS J 2013; 280(17): 4063-73.
4. Sherizadeh H. Effect of exercise on Myosin Heavy Chain (MHC) [in Persian]. Iranian Journal of Biology 2022; 6(11): 144-55.
5. Kishioka Y, Thomas M, Wakamatsu Ji, Hattori A, Sharma M, Kambadur R, et al. Decorin enhances the proliferation and differentiation of myogenic cells through suppressing myostatin activity. J Cell Physiol 2008; 215(3): 856-67.

6. Lee JH ,Jun H-S. Role of myokines in regulating skeletal muscle mass and function. Front Physiol 2019; 10: 42.
7. Zunner BE, Wachsmuth NB, Eckstein ML, Scherl L, Schierbauer JR, Haupt S, et al. Myokines and resistance training: a narrative review. Int J Mol Sci 2022; 23(7): 3501.
8. Pal M, Febbraio MA, Whitham M. From cytokine to myokine: the emerging role of interleukin-6 in metabolic regulation. Immunol Cell Biol 2014; 92(4): 331-9.
9. Das DK, Graham ZA, Cardozo CP. Myokines in skeletal muscle physiology and metabolism: Recent advances and future perspectives. Acta Physiol (Oxf) 2020; 228(2): e13367.
10. Kanzleiter T, Rath M, Görgens SW, Jensen J, Tangen DS, Kolnes AJ, et al. The myokine decorin is regulated by contraction and involved in muscle hypertrophy. Biochem Biophys Res Commun 2014; 450(2): 1089-94.
11. Xiujuan L, Zhang N, Biao S, Bin W. Time-specific effects of acute eccentric exercise on myostatin, follistatin and decorin in the circulation and skeletal muscle in rats. Physiol Res 2022; 71(6): 783.
12. Ghanemi A, Melouane A, Yoshioka M, St-Amand J. Exercise Training of Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine (Sparc) KO Mice Suggests That Exercise-Induced Muscle Phenotype Changes Are SPARC-Dependent. Appl Sci 2020; 10(24): 9108.
13. Pedersen BK. Muscular interleukin-6 and its role as an energy sensor. Med Sci Sports Exerc 2012; 44(3): 392-6.
14. Zhu J, Li Y, Shen W, Qiao C, Ambrosio F, Lavasani M, et al. Relationships between transforming growth factor-β1, myostatin, and decorin: implications for skeletal muscle fibrosis. J Biol Chem 2007; 282(35): 25852-63.
15. Ghanemi A, Yoshioka M, St-Amand J. Measuring exercise-induced secreted protein acidic and rich in cysteine expression as a molecular tool to optimize personalized medicine. Genes (Basel) 2021; 12(11): 1832.
16. Fadaei Chafy MR, Mohebbi H, Rahmani Nia F, Arabzadeh E. Possible crosstalk between leptin and insulin resistance in sedentary obese boys at different stages of puberty. Journal of Exercise & Organ Cross Talk 2021; 1(1): 15-23.
17. Fadaei Chafy MR, Bagherpour Tabalvandani MM, Elmieh A, Arabzadeh E. Determining the range of aerobic exercise on a treadmill for male Wistar rats at different ages: A pilot study. Journal of Exercise & Organ Cross Talk 2022; 2(3): 96-100.
18. Heinemeier K, Bjerrum S, Schjerling P, Kjaer M. Expression of extracellular matrix components and related growth factors in human tendon and muscle after acute exercise. Scand J Med Sci Sports 2013; 23(3): e150-e61.
19. Cho WJ, Kim EJ, Lee SJ, Do Kim H, Shin HJ, Lim WK. Involvement of SPARC in in vitro differentiation of skeletal myoblasts. Biochem Biophys Res Commun 2000; 271(3): 630-4.
20. Aoi W, Naito Y, Takagi T, Tanimura Y, Takanami Y, Kawai Y, et al. A novel myokine, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC), suppresses colon tumorigenesis via regular exercise. Gut 2013; 62(6): 882-9.
21. Lewis M, Machell J, Hunt N, Sinanan A, Tippett H. The extracellular matrix of muscle–implications for manipulation of the craniofacial musculature. Eur J Oral Sci 2001; 109(4): 209-21.

DOI: *10.48305/jims.v42.i779.0696*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 42, No. 779, 3rd Week, October 2024**

Received: 25.04.2024 Accepted: 03.10.2024 Published: 11.10.2024

Investigating the Effect of a Combined Training Course on the Myogenesis Process Through the Decorin/Sparc Gene Pathway of Fast and Slow Twitch Fibers of Immature Male Rats

Mohammad Reza Khalili Far[1], Mohammad Reza Fadaei Chafy[2], Alireza Elmieh[3]

Original Article

Abstract

Background: Skeletal muscle is a major endocrine organ that releases myokines and plays a pivotal role in the communication between muscle and other tissues. The present study aimed to determine the effect of a combined training course on the myogenesis process through the pathway of decorin and spark genes in the muscles of immature rats.

Methods: In the present study, 10 two-week-old male rats were randomly divided into two control and training groups. The resistance-aerobic training program was carried out for 6 weeks on separate days. 48 hours after the last training session, the rats were dissected and the gastrocnemius and soleus muscles were separated and used for pathological tests. Real-Time PCR was used to determine the genes.

Findings: Based on statistical analysis, it was found that in the training group, the expression of Spark gene (P = 0.001) and Decorin (P = 0.001) in the soleus muscle and the expression of Spark gene (P = 0.028) and Decorin (P = 0.001) in the gastrocnemius muscle had higher values than the control group. However, the expression values of Spark (P = 0.015) and Decorin (P = 0.001) genes in the soleus muscle were significantly higher compared to the gastrocnemius muscle.

Conclusion: The results showed that myogenesis increased as a result of resistance-aerobic training in immature male rats, which was associated with an increase in the expression of the decorin and spark gene in both types of slow and fast twitch muscle fibers. However, the expression of both spark and decorin genes in the slow-twitch fiber in the training group were higher values than the fast-twitch fibers, which indicates that this type of muscle fiber is more trainable.

Keywords: Resistance training; Exercise; Skeletal muscle; Muscle development; Osteonectin; Decorin

Citation: Khalili Far MR, Fadaei Chafy MR, Elmieh A. **Investigating the Effect of a Combined Training Course on the Myogenesis Process Through the Decorin/Sparc Gene Pathway of Fast and Slow Twitch Fibers of Immature Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2024; 42(779): 696-702.

1- PhD Candidate of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
2- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
3- Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
Corresponding Author: Mohammad Reza Fadaei Chafy, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran; Email: mfadaei2000@yahoo.com