DOI: 10.48305/jims.v43.i818.0623

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۱۸/هفته‌ی دوم مرداد ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۱ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۵/۱۷

اثر تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی بعد از ۲ هفته تعلیق اندام تحتانی

محمد مانی‌زاده[۱]، عبدالرضا کاظمی[۲]، حمیده عبدل‌زاده[۳]، حسین بابایی[۳]، وحید قنبری‌مزیدی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: دوره‌های طولانی مدت عدم فعالیت یا تعلیق مکانیکی می‌تواند منجر به از دست دادن قابل توجه توده و قدرت عضلات اسکلتی شود. در پژوهش حاضر، اثر ۴ هفته تمرین مقاومتی بر تغییرات بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx درگیر در آتروفی عضلانی پس از یک دوره تعلیق در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر بررسی شد.

روش‌ها: تعداد ۳۲ سر موش صحرایی‌نر ویستار به صورت تصادفی به گروه‌های معلق، باز تمرین، بی‌تمرین، و تمرینی تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به مدت ۴ هفته و هر هفته ۳ جلسه تمرین داشتند. تمرین مقاومتی به صورت صعود به‌همراه وزنه متصل به دم حیوانات از یک نردبان عمودی انجام شد. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین، عضله‌ی نعلی استخراج و میزان سطوح بیان ژن‌ها با تکنیک Real-Time PCR سنجیده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها تعیین تفاوت میان متغیرهای پژوهش با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری، $P < ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx بطور معنی‌داری در اثر تمرین مقاومتی در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی‌نر بویژه در گروه بازتمرینی نسبت به سایر گروه‌ها کاهش می‌یابد (به ترتیب $P = ۰/۰۰۰۱$، $P = ۰/۰۰۰۱$ و $P = ۰/۰۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی قبل و بعد از تعلیق اندام تحتانی، سبب کاهش آتروفی در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر می‌شود، با این حال گروه بازتمرینی نسبت به آتروفی مقاوم‌تر هستند. از طرفی تعلیق اندام تحتانی بیان ژن‌های آتروفیک (FOXO3, MuRF1 و MAFbx) در عضله‌ی نعلی موش‌ها را افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی؛ آتروفی عضلانی؛ بیان ژن

ارجاع: مانی‌زاده محمد، کاظمی عبدالرضا، عبدل‌زاده حمیده، بابایی حسین، قنبری‌مزیدی وحید. **اثر تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی بعد از ۲ هفته تعلیق اندام تحتانی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۱۸): ۶۲۳- ۶۳۱

مقدمه

عضله‌ی اسکلتی با توجه به سطح فعالیت خود از طریق تغییر در توده‌ی عضلانی، بیان پروتئین‌های عضلانی و تغییر در نوع تار از نظر انقباضی و متابولیک سازگار می‌شود. شواهد پژوهشی نشان می‌دهد دسته‌ای از رویدادها در عضله‌ی اسکلتی اتفاق می‌افتد تا بتوانند تعادل خالص پروتئینی را حفظ کنند. عضله‌ی اسکلتی شکل‌پذیری بسیار بالایی در پاسخ به بارهای مکانیکی دارد، مطالعات نشان داد تعلیق مکانیکی در جوندگان موجب کاهش توده‌ی عضلانی، سطح مقطع عرضی میوفیبریل‌ها و تولید نیرو می‌شود (۱).

پروتئولیز در عضلات اسکلتی توسط لیگازهای یوبیکوئیتین (Ubiquitin Proteasome) تنظیم می‌شود و در عضله، لیگازهای یوبیکوئیتین Cullin-RING بزرگترین دسته شناخته شده را تشکیل می‌دهند. به خصوص، لیگازهای یوبیکوئیتین E3 خاص عضلانی، مانند MuRF1 (muscle RING fnger 1) و (muscle atrophy F-Box) Atrogin-1/MAFbx، که در تنظیم تخریب پروتئین در عضله‌ی اسکلتی نقش دارند (۲). بیان یوبیکوئیتین لیگاز نیز توسط یک فاکتور

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

۲ – دانشیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

۳ - استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

۴ – کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: عبدالرضا کاظمی: دانشیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

Email: rkazemi22@yahoo.com

رونویسی به نام FoxO (Forkhead box protein O) تنظیم می‌شود. Akt، FoxO را فسفریله می‌کند و در نتیجه منجر به ارسال آن‌ها از هسته به سیتوپلاسم می‌شود. از سوی دیگر، هنگامی که مسیر Akt توسط مدل‌های آتروفی عضلانی ضعیف می‌شود، FoxO به هسته وارد و باعث بیان لیگازهای یوبیکوئیتین می‌گردد (۳).

تمرینات ورزشی یکی از شیوه‌های مؤثر توصیه شده برای پیشگیری یا به تاخیر انداختن آتروفی عضلانی است که موجب افزایش سنتز پروتئین انقباضی و ساختاری، بهبود روند ترجمه، افزایش در نشانگرهای تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای و تعداد آن‌ها، تعداد هسته‌های هر تار عضله، افزایش تمایز میوبلاست‌ها و همجوشی آن‌ها می‌شود (٤). فعالیت‌های ورزشی از طریق تحریک ترشح هورمون رشد، (Adenosine AMPK (monophosphate-activated protein kinase و بالانس مثبت انرژی، تحریک گیرنده‌های انسولینی به ویژه آمینواسیدها می‌توانند موجب افزایش عوامل تحریکی مسیر AKT شوند و هایپرتروفی را از طریق مهار عوامل آتروفی از جمله FOXO فعال کنند (٥).

در این رابطه، نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد که ۸ هفته تمرینات مقاومتی با ۱۰ درصد وزن بدن می‌تواند در جلوگیری از آتروفی عضلانی و کاهش توده و قدرت عضلات مؤثر باشد (٦، ٧).

Bae و همکاران، نشان دادند که در مقایسه با گروه کنترل سطوح فاکتورهای مربوط به اتوفاژی و FOXO3 در عضلات دوقلو و نعلی در گروه تمرین مقاومتی به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین ۸ هفته تمرین مقاومتی به‌طور قابل توجهی سطوح MuRF1 و Atrogin-1 را کاهش و فسفوریلاسیون FOXO3 را به واسطه پروتئین کیناز بی (AKT) افزایش داد (٦).

در مطالعه‌ای دیگر Moradi و همکاران، در بررسی تأثیر فعالیت‌های ورزشی مختلف بر بیان ژن‌های MuRF1 و Atrogin-1 در عضله‌ی پهن جانبی موش‌های نر ویستار دریافتند که در گروه تمرین مقاومتی، بیان Murf1 و Arogin-1 در مقایسه با سایر گروه‌های تمرینی و گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش داشت (٧).

با توجه به نقشی که عضلات اسکلتی در بدن انسان ایفا می‌کنند، حفظ و سلامت توده‌ی عضلانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با پیشرفت در درک مکانیسم‌های مولکولی و سلولی درگیر در آتروفی ناشی از تعلیق مکانیکی، چندین مسیر سیگنالینگ مختلف برای درک نقش تنظیمی آنها در این فرایند مورد مطالعه قرار گرفته است. با این حال، شکاف‌های قابل توجهی در درک ما از مکانیسم‌های نظارتی درگیر و همچنین اهمیت عملکردی آنها وجود دارد (٨) و مقابله با آتروفی عضلانی ناشی از تعلیق مکانیکی هنوز هم یک نیاز و چالش بالینی بزرگ است (٩). از طرفی درک مکانیسم‌های درگیر در آتروفی و بازسازی عضلانی به گسترش جدیدترین روش‌های درمانی جهت مقابله با شکل‌های مختلف آتروفی بویژه در وضعیت‌های بی‌تحرک و تعلیق مانند استراحت‌های مطلق در زمان بیماری و آسیب‌های ورزشی، گچ گرفتن اندام و عصب‌برداری و سایر بیماری‌های آتروفیک کمک می‌کند (١٠).

با توجه به اینکه تمرین مقاومتی معمولاً عضلات تند انقباض را درگیر می‌کند و عضله‌ی نعلی کند انقباض می‌باشد هدف بررسی، اثر تمرین و بی‌تمرینی بر ژن‌های آتروفیک در عضله کند انقباض است. بنابراین هدف این بررسی با توجه به کاهش توده‌ی عضلانی در شرایط تعلیق و نقش ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx در برخی از مدل‌های آتروفی این است که در شرایط تعلیق مکانیکی و انجام تمرینات مقاومتی قبل و بعد از آن بیان این ژن‌ها در عضله‌ی نعلی چه تغییری خواهد کرد؟

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع بنیادی به روش تجربی بود. تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر ویستار (٤ تا ٦ ماه) و وزن ۲۵۰ گرم از مرکز آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان خریداری و به آزمایشگاه حیوانات منتقل و در شرایط دمایی ۱±۲۲ سانتی‌گراد تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۷ صبح و شروع خاموشی ۷ عصر) و رطوبت طبیعی نگهداری شدند. تمامی موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند و در سراسر دوره پژوهش توسط ۱ نفر جابه‌جا و دستکاری شدند. تمام فرایندهای پژوهش حاضر مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات انجام شد، که توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان بررسی و با کد IR.RUMS.AEC.1402.010 تأیید شده بود.

گروه‌های پژوهش: حیوانات به طور تصادفی به ٤ گروه تقسیم شدند: ۱. تعلیق (کنترل- تعلیق- کنترل)/ (n = ٦)، ۲. بازتمرین (تمرین- تعلیق- تمرین)/ (n = ٦)، ۳. تمرین (کنترل- تعلیق- تمرین)/ (n = ٦)، ٤. بی‌تمرین (تمرین- تعلیق- کنترل)/ (n = ٦). در گروه بازتمرین، موش‌ها بعد از یک دوره تمرین مقاومتی تعلیق و پس از تعلیق، مجدد تمرین مقاومتی انجام شد. در گروه تمرینی، در ابتدا هیچ تمرین مقاومتی انجام نشد و موش‌ها بعد از یک دوره تعلیق، تمرین مقاومتی داشتند. در گروه بی‌تمرین، موش‌ها بعد از یک دوره تمرین مقاومتی و یک دوره تعلیق، در بی‌تمرینی به سر بردند و سپس همراه با سایر گروه‌ها قربانی شدند. در پایان، موش‌ها تشریح و بافت‌برداری برای انجام آزمایشات سلولی و مولکولی به عمل آمد.

پروتکل تمرینی: تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از یک نردبان ۱ متری با ٢٦ پله بود که با اضافه کردن وزنه به دم موش‌ها انجام گرفت.

حیوانات طوری قرار می‌گرفتند که هر مرحله را متوالی انجام دهند، جایی که یک تکرار در امتداد نردبان نیاز به ۲۶ بار بلند کردن اندام توسط حیوان (یا ۱۳ بار برای هر اندام) داشت. پیش از شروع برنامه تمرینی بالا رفتن از نردبان به حیوانات آموزش داده شد.

حیولنات در مجموع ٤ هفته و هر هفته ۳ روز تمرین کردند. همه حیوانات در ابتدای هفته برای نظارت بر میزان افزایش وزن و برای حیوانات آموزش دیده مقاومتی، برای تعیین مقدار جرمی که باید به دم آن‌ها اضافه می‌شد، وزن می‌شدند. همه حیوانات تمرین مقاومتی را با ۳۰ درصد توده بدنی (BMI) اضافه شده به دم آن‌ها در هفته‌ی اول، ٦۰ درصد در هفته‌ی دوم، ۹۰ درصد در هفته‌ی سوم، ۱۲۰ درصد در هفته‌ی چهارم انجام دادند، جایی که این مقاومت را تا پایان هفته‌ی ٤ حفظ کردند (۱۱).

تعلیق اندام تحتانی: با استفاده از چسب‌های ارتوپدی و حلقه فلزی، یک سوم دیستال دم موش‌ها به میله‌های فلزی بالای قفس متصل شد، تا اندام تحتانی آن‌ها تعلیق و بی‌بار شود. ارتفاع تعلیق نیز به گونه‌ای بودکه اندام تحتانی با هیچ سطح حمایتی تماس نداشت (تقریباً ۳۰ درجه). دست‌های حیوانات برای دسترسی به غذا و آب و حرکت آزادانه با کف قفس تماس داشت. حیوانات برای دو هفته در این حالت قرار داشتند (۱۲).

روش استخراج بافت: حیوانات ٤۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، با ترکیبی از زایلازین/کتامین بی‌هوش و بلافاصله وزن‌کشی شدند. استخراج بافت در شرایط کاملاً استریل و با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت خلفی ساق پا، عضله‌ی نعلی با قطع تاندون پروگزیمال و دیستال انجام گردید. بافت‌های استخراج شده با ترازوی آزمایشگاهی (دقت ۰/۰۰۰۱ مدل GRAND ساخت کشور ژاپن) وزن و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و تا انجام آزمایشات سلولی و مولکولی در دمای ۸۰- در فریزر نگهداری شدند (۱۳).

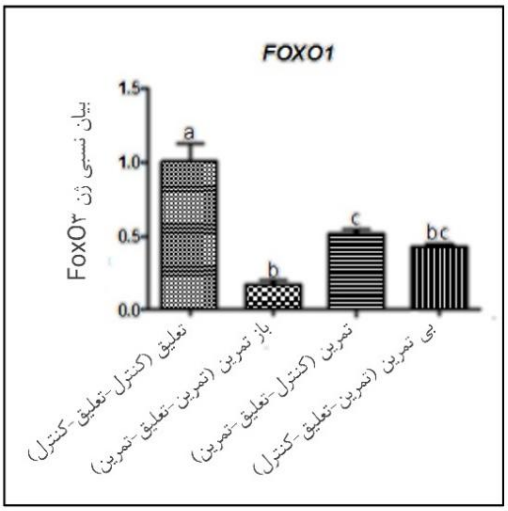
استخراج RNA و سنتز cDNA: حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت عضله‌ی نعلی برای استخراج total RNA، به نسبت ۱ به ۱۰ در معرف کیازول لزیز (QIAzol Lysis Reagent) هموژن گردید. جهت جداکردن اجزاء پروتئینی، محصول در دما ٤°c، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شده و سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. سپس در ٤ °c، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد تا بخش معدنی و آبی از هم جدا گردید. بعد از آن بخش حاوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول (Isopropanol) مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها شد و سپس در ٤°c، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. سپس پلت‌های حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ میکرولیتر آب RNAS-Free حل شد. غلظت RNA با استفاده از دستگاه اپندورف آلمانی (Germany- Eppendorf) مورد سنجیده شد و به نسبت ۲٦۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز Cdna با استفاده از یک میکروگرم از RNA و به وسیله کیت سنتز Cdna ساخت فرمنتاز و آنزیم مخصوص انجام گرفت (۱٤).

Real time-PCR: جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix syber green II انجام شد (Applied Biosystems, USA). مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت تکراری انجام گرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های FOXO3, MuRF1, MAFbx و در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکروژن (Macrogen Inc. Seoul, Korea) انجام گرفت. در ضمن از β-actin به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل: ۹۵ °c به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ °c به مدت ۱۵ ثانیه، ٦۰ °c به مدت ۱ دقیقه (تکرار ٤۰ چرخه) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر نیز با روش 2-ΔΔct اندازه‌گیری شد (۱۵).

از آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها و از آمار استنباطی برای آزمون فرضیه‌های پژوهش استفاده گردید. در قسمت آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار و در بخش آمار استنباطی جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. همچنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven سنجیده شد. پس از احراز این مفروضه‌ها، جهت تعیین معنی‌داری تفاوت در بیان ژن‌ها از آزمون آماری ANOVA یک‌راهه و همچنین از آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه‌ی بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۰۵ و در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد.

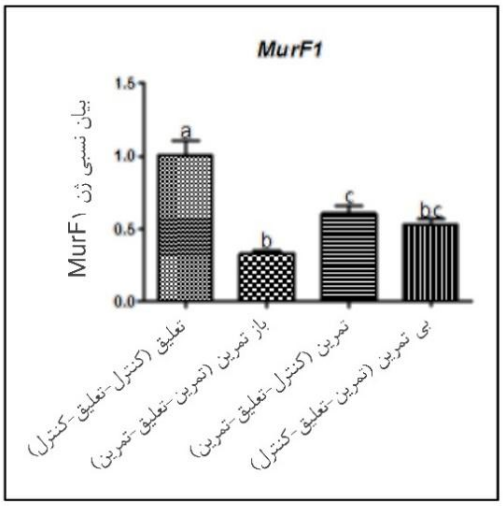
یافته‌ها

نتایج تغییرات بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx در گروه‌های پژوهشی در اشکال ۱-۳ و تغییرات نسبت وزن عضله به وزن حیوانات نیز در شکل ٤ نشان داده شده است. نتایج تجزیه و تحلیل‌های آماری نشان داد، میزان بیان ژن FOXO3 و MuRF1 در تمام گروه‌ها که حداقل یک مرحله تمرین مقاومتی داشتند نسبت به گروه تعلیق (کنترل-تعلیق-کنترل) به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < ۰/۰۵$)، اما در گروه بی‌تمرین (تمرین-تعلیق-تمرین) نسبت به گروه‌های بازتمرین (تمرین-تعلیق-تمرین) و تمرینی (کنترل-تعلیق-تمرین) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > ۰/۰۵$).



شکل ۱. تغییرات بیان ژن FOXO3 در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی

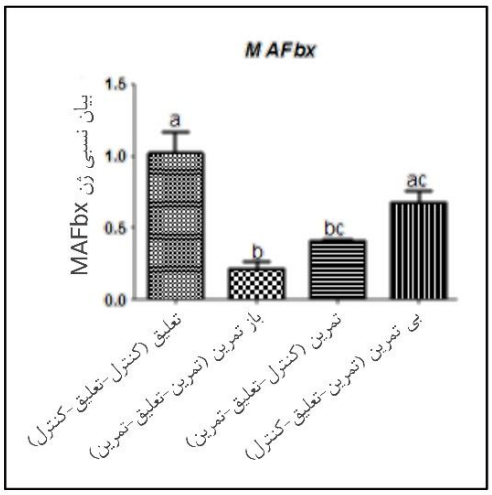
a، b و c نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین تمام گروه‌ها به جز گروه بی‌تمرین (تمرین–تعلیق–کنترل) که فقط با گروه تعلیق (کنترل–تعلیق–کنترل) تفاوت معنی‌دار دارد (P < ۰/۰۵).



شکل ۲. تغییرات بیان ژن MurF1 در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی

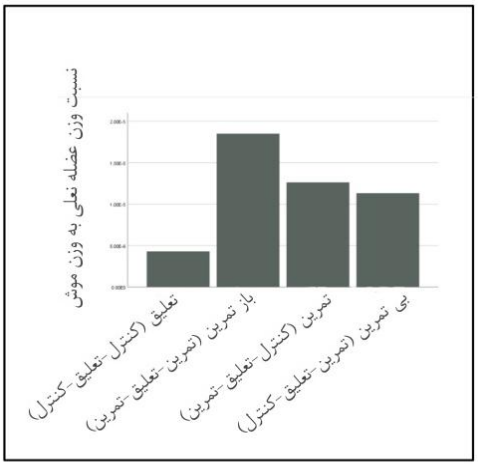
a، b و c نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین تمام گروه‌ها به جز گروه بی‌تمرین (تمرین–تعلیق–کنترل) که فقط با گروه تعلیق (کنترل–تعلیق–کنترل) تفاوت معنی‌دار دارد (P < ۰/۰۵).

از سویی دیگر بیان ژن MAFbx فقط در گروه بازتمرین (تمرین–تعلیق–تمرین) و گروه تمرینی (کنترل–تعلیق–تمرین) نسبت به گروه تعلیق (کنترل–تعلیق–کنترل) و گروه بازتمرین (تمرین–تعلیق–تمرین) نسبت به گروه بی‌تمرین (تمرین–تعلیق–کنترل) کاهش معنی‌داری وجود دارد (P < ۰/۰۵) و در سایر گروه‌ها نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P > ۰/۰۵).



شکل ۳. تغییرات بیان ژن MAFbx در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی

a، b و c نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین گروه بازتمرین (تمرین–تعلیق–تمرین) نسبت به گروه تعلیق (کنترل–تعلیق–کنترل) و گروه بی‌تمرین (تمرین–تعلیق–کنترل) و عدم معنی‌دار بودن گروه تمرینی (کنترل– تعلیق– تمرین) نسبت به گروه بازتمرین (تمرین– تعلیق– تمرین) و گروه بی‌تمرین (تمرین–تعلیق–کنترل) نسبت به گروه تعلیق (کنترل–تعلیق–کنترل) (P < ۰/۰۵).



شکل ٤. نسبت تغییرات وزن عضله‌ی نعلی به وزن موش‌های صحرایی

تفاوت معنی‌دار بین گروه بازتمرین (تمرین–تعلیق–تمرین) نسبت به سایر گروه‌ها.

به طور کلی نتایج تغییرات بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی نر نشان می‌دهد، تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های نامبرده می‌گردد (P < ۰/۰۵).

بحث

به خوبی روشن شده است که عدم تمرین و بی‌تحرکی به دلایل متفاوتی همچون آسیب دیده‌گی، استراحت و یا شرایط تعلیق فضایی برای طولانی‌مدت، اختلالات قوی در فرایندهای متابولیک بدن ایجاد می‌کند

که این اختلالات ناشی از بی‌تحرکی می‌تواند آتروفی عضلانی را به دنبال داشته باشد. در این مطالعه به بررسی اثر تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx به عنوان مهم‌ترین شاخص‌های آتروفی و تجزیه‌ی پروتئینی پرداخته شد (۱۶). نتایج نشان داد که ٤ هفته تمرین مقاومتی باعث کاهش و سرکوب بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx بعد از ۲ هفته تعلیق لندام تحتانی در عضله‌ی نعلی بویژه در گروه بازتمرینی می‌شود و عامل بسیار مهمی در پیشگیری از آتروفی عضلانی ناشی از کاهش فعالیت بدنی است.

گزارش شده است که در شرایط مختلف آتروفی عضلانی در مدل‌های حیوانی و انسانی بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx به صورت افزایشی تنظیم می‌شوند (۱۷). مطالعات نشان داده‌اند که ورزش حاد می‌تواند فسفوریلاسیون FOXO1 را افزایش دهد (۱۸). از سازوکارهای ناشی از تمرین مقاومتی که باعث رشد عضلات و پیشگیری از آتروفی عضلانی می‌شود، می‌توان به فعال‌سازی مسیر mTOR-AKT-IGF1 اشاره کرد (۱۹) و غیرفعال شدن این مسیر می‌تواند منجر به آتروفی عضلانی از طریق فعال شدن FOXO شود (۱٦).

مطالعات قبلی نیز تأثیر تمرین مقاومتی بر بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx همسو با یافته‌های ما نشان داده‌اند، اولین بار Jones و همکاران نشان دادند که یک دوره کوتاه و شدید انقباض عضلانی که بلافاصله پس از بی‌تحرکی انجام می‌شود، می‌تواند یک اثر سرکوب‌کننده‌ی سریع و عمیق بر بیان MAFbx و MuRF1 داشته باشد (۲۰).

همچنین Azimian و همکاران، پروتئین‌های Atrogin-1، Murf1 و FOXO3 را پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی بررسی کردند که بیان این ژن‌ها در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل چاق کاهش یافته بود (۲۱).

شواهد نشان داد، تعلیق مکانیکی باعث طولانی شدن فرایند التهابی در عضله‌ی اسکلتی پس از آسیب می‌شود. چنین یافته‌هایی بر تنظیم ماکروفاژهای پیش‌التهابی به عنوان یک هدف درمانی در تحریک بازسازی عضله‌ی اسکلتی آسیب دیده دلالت دارند (۲۲).

یکی از سازگاری‌های احتمالی دیگر و از اثرات مفید تمرینات مقاومتی کاهش نشانگرهای مخرب التهابی مانند Tumor Necrosis Factor alpha) TNF-α) و دیگر سایتوکاین‌ها می‌باشد که می‌تواند در پایین دست بیان و فعال‌سازی مسیرهای مرتبط با آتروفی عضلانی را تحت تأثیر قرار دهد (۱۸). در پاسخ به التهاب، فعالیت FOXO1 افزایش می‌یابد و فعالیت رونویسی (Nuclear factor kappa B) NF-KB باعث ارتقای ژن‌های پایین‌دست می‌شود، سپس NF-KB فعال شده با FOXO1 به صورت هم‌افزایی عمل می‌کند و بیان عوامل پیش‌التهابی مانند IL-1β (Interleukin-1β) را افزایش می‌دهد (۲۳). از سوی دیگر، التهاب با فعال‌سازی FOXO و بیان بیش از حد میوستاتین همراه است که به نوبه خود می‌تواند باعث آتروفی عضلانی مستقل از NF-KB شود (۲٤). این نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی با کاهش نشانگرهای التهابی نظیر TNF-α سبب کاهش فعالیت FOXO3 و در نتیجه کاهش عوامل آتروفی عضلانی می‌شود (۲۱).

یک مطالعه نشان داد که بیان SMAD و FOXO باعث افزایش فعالیت پروموتر میوستاتین و مهار تمایز میوبلاست می‌شود (۲۵). مطالعات همچنین وجود مکان‌های اتصال عملکردی برای FOXO1 را در پروموتر میوستاتین نشان داده‌اند که نشان‌دهنده‌ی تحریک بیان ژن میوستاتین از طریق فاکتور رونویسی FOXO1 است (۱۸). مهار فعالیت رونویسی FOXO3 و NF-KB توسط PGC-1α و β باعث کاهش تخریب پروتئین می‌شود (۲٦). مطالعات همچنین نشان داد زمانی که یک عضله در معرض استرس مکانیکی قرار می‌گیرد، (c-Jun N-terminal kinases) JNK با مهار (Suppressor of Mothers against Decapentaplegic) SMAD و میوستاتین شروع به رشد عضلانی می‌کنند. JNK انتقال هسته‌ای SMAD2/3 و فعالیت رونویسی ناشی از میوستاتین را مهار می‌کند. بنابراین، فسفوریلاسیون SMAD2 اثر مهاری بر فعالیت میوستاتین دارد (۲۷).

اثرات تعلیق بر پارامترهای متابولیک کلیدی، از جمله کاهش ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری در عضله، زمینه‌ساز مقاومت انسولین ناشی از چربی، از طریق فعال شدن PKCθ (Protein kinase C) می‌شود (۲۸). در نتیجه از مکانیسم‌های احتمالی دیگر می‌توان بر اثر تمرین مقاومتی بر عملکرد انسولین اشاره کرد، تأثیر فعالیت بدنی در عملکرد بهتر انسولین به خوبی مشخص است و مطالعات متفاوت در زمینه‌ی تمرینات مقاومتی در بهبود تحمل گلوکز و تعدیل مقاومت به انسولین در آزمودنی‌های دیابتی مشخص کرده است که فعالیت بدنی با استفاده از افزایش گیرنده انسولین و ناقل گلوکز GLUT4، بهبود پیام‌رسانی داخل سلولی انسولین، افزایش تحویل گلوکز به عضله و کاهش تجمع تری‌گلیسرید در سلول‌های عضلانی، مقاومت به انسولین را بهبود می‌بخشد.

در همین راستا خالقی و همکاران، تأثیر همزمان تمرینات مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی لندوتلیال بر بیان فاکتور MuRF-1 و رابطه‌ی آن با مقاومت به انسولین را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد، ٦ هفته تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی‌دار MuRF-1و شاخص مقاومت به انسولین می‌شود (۲۹).

البته لازم به ذکر می‌باشد که نتایج متناقضی نیز وجود دارد مثلا در پژوهشی که در سال ۲۰۰٦ بر روی انسان انجام شد نشان داد که ۸ هفته تمرین مقاومتی جدای از افزایش فسفوریلاسیون AKT باعث

افزایش بیان ژن‌های MuRF-1 و Atrogin-1 در عضلاتی که هایپرتروفی داشتند، می‌شود، که البته آن‌ها اشاره کردند این افزایش Atrogin-1 و MuRF-1 در تارهای عضله سالم احتمالا برای حفظ سطح طبیعی تخریب پروتئین در عضلاتی که هایپرتروفی می‌شوند، مورد نیاز می‌باشد (۳۰).

در مطالعه دیگری نیز Mousavi Mozafar و همکاران در تناقض با یافته‌های مطالعه‌ی پیش‌رو چنین گزارش کردند که یک جلسه تمرین مقاومتی، نتوانست کاهش معنی‌داری در بیان فاکتورهای آتروفی MuRF-1 ایجاد کند که شاید این نتیجه به علت محدود بودن تعداد جلسات تمرین مقاومتی باشد (۳۱).

اما از مهم‌ترین یافته‌های پژوهش حاضر همانطور که پیش‌تر نیز گفته شد، تأثیر مضاعف تمرین مقاومتی بر ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx در گروه بازتمرین مقاومتی نسبت به سایر گروه‌ها می‌باشد. از مکانیسم‌های احتمالی کاهش معنی‌دار ژن‌های مدنظر گروه بازتمرینی نسبت به سایر گروه‌ها می‌توان به سازگاری‌های عملکردی که ممکن است در اثر تمرینات قبلی بوجود آمده باشد اشاره کرد. مطالعات نشان داده‌اند که اثر تمرینات مقاومتی و قدرتی حتی پس از دوره‌های طولانی مدت بی‌تحرکی حفظ شده و افرادی که قبل از بی‌تحرکی تمرین داشته‌اند سریع‌تر قدرت و توده‌ی عضلانی از دست رفته خود را به دست می‌آورند. از جمله این سازگاری‌ها می‌توان به مکانیسم‌های سلولی حافظه عضلانی اشاره کرد که در همین راستا Lee و Jun در سال ۲۰۱۹ نشان دادند که میونوکلئول‌های به دست آمده از تمرینات قبلی، بیوژنز میتوکندری را در پاسخ به بازتمرینی با افزایش تعامل بین میتوکندری و میونوکلئوس در میوفیبرهای از پیش شرطی شده تسهیل می‌کنند (۳۲). مطالعات همچنین نشان می‌دهد، هسته‌های جدید بوجود آمده در طول هیپرتروفی اولیه ناشی از تمرین، دائمی هستند و در نتیجه این فرضیه مطرح شده است که حفظ فراوانی هسته‌ها در طول بی‌تمرینی ممکن است مسئول بازسازی و بازگشت سریعتر اندازه و عملکرد عضلات در طول بازتمرینی باشد (۳۳). البته لازم به ذکر است که در مطالعاتی نیز مشاهده شده است که هسته‌های عضلانی ممکن است در اثر بی‌تمرینی از بین بروند (۱۱)، که این نتایج متناقضی را نشان می‌دهد و نیاز به بررسی بیشتر دارد.

فراتر از تعداد هسته، شواهد اخیر نشان می‌دهد که تغییرات متیلاسیون DNA (Methylation) در عضله‌ی اسکلتی ناشی از تمرین می‌تواند طولانی‌مدت باشد و نشان‌دهنده‌ی خاطره‌ای از قرار گرفتن در معرض تمرین قبلی است که سازگاری آینده را تسهیل می‌کند. گزارش شده است که miRNA (MicroRNAs)های خاص عضلانی (Muscle-specific microRNAs) (myomiRs) در غیاب آنزیم پردازش miRNA Dicer برای دوره‌های طولانی‌مدت باقی می‌مانند. اگر پایداری طولانی مدت miRNA یک کیفیت خاص برای عضلات اسکلتی باشد، myomiRs می‌توانند نامزدهای خوبی به عنوان تنظیم کننده‌های اپی ژنتیکی طولانی‌مدت سازگاری با ورزش باشد، به ویژه با توجه به عملکرد شناخته شده‌ی آن‌ها در تنظیم توده‌ی عضلانی (۳٤).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۸ Seaborne و همکاران برای اولین بار در انسان، متیلاسیون DNA در سطح ژنوم و تجزیه و تحلیل بیان ژن پس از هیپرتروفی عضلانی (بارگیری)، بازگشت توده عضلانی به حالت اولیه (تخلیه بار)، و به دنبال آن هیپرتروفی بعدی (بارگیری مجدد) را بررسی نمودند. آن‌ها پس از بارگذاری مجدد نسبت به بارگذاری قبلی افزایش فراوانی هیپومتیلاسیون در سراسر ژنوم را کشف کردند و نشان دادندکه عضله‌ی اسکلتی انسان دارای حافظه اپی‌ژنتیکی از محرک‌های آنابولیک حاد و مزمن اولیه در هنگام مواجهه با هیپرتروفی عضلانی بعدی است (۳۵).

نتیجه‌گیری

به طور کلی یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین مقاومتی چه قبل از تعلیق و بی‌تحرکی چه بعد از آن باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های FOXO3, MuRF1 و MAFbx می‌گردد و گروهی که قبل و بعد از بی‌تحرکی تمرین مقاومتی داشتند (گروه بازتمرین) نسبت به سایر گروه‌ها در برابر آتروفی عضلانی مقاوم‌تر هستند. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی عامل مهمی در پیشگیری از آتروفی عضلانی و بازیابی توده‌ی عضلانی از دست رفته باشد. در این راستا پیشنهاد می‌شود این نوع تمرینات در برنامه‌های توانبخشی بیماران و ورزشکاران و نیز افرادی که به هر دلیلی دچار کاهش فعالیت بدنی شدند، گنجانده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی فیزیولوژی ورزشی با کد ۵۲۲۷ می‌باشد که در دانشگاه ولی عصر رفسنجان به تصویب رسیده است.

References

1. Madahi M, Gharakhanlou R, Kazemi A, Azarbayjani MA. Effect of Reduced Physical Activity on Murf-1 and Atrogin-1 Gene Expression in Soleus Muscle of Wistar Rats Following Endurance, Resistance and Combined Training. The Scientific Journal of Rehabilitation Medicine 2022; 11(2): 250-63.
2. Chen K, Gao P, Li Z, Dai A, Yang M, Chen S, et al. Forkhead Box O signaling pathway in skeletal muscle atrophy. Am J Pathol 2022; 192(12): 1648-57.
3. Kitajima Y, Yoshioka K, Suzuki N. The ubiquitin–proteasome system in regulation of the skeletal muscle homeostasis and atrophy: from basic science to disorders. J Physiol Sci 2020; 70(1): 40.
4. Moradiani H, Zolfaghari MR, Khodaei K. Comparison of the efficacy of 12 Weeks of Resistance and Combined Training on Activation of AMPK Signaling and Gene Expression of Muscle Atrophy markers in Middle-Aged Women. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology 2024; 12(1).
5. Sheikhan M, Kordi MR, Rajabi H. Effect of a Lower Limb Restless Period on Expression of Mir-1 and Mir-206 Neural Muscle Genes in Endurance Training Rats [in Persian]. J Arak Uni Med Sci 2020; 23(4): 570-9.
6. Bae JH, Seo DY, Lee SH, Shin C, Jamrasi P, Han J, et al. Effects of exercise on AKT/PGC1-α/FOXO3a pathway and muscle atrophy in cisplatin-administered rat skeletal muscle. Korean J Physiol Pharmacol 2021; 25(6): 585-92.
7. Moradi Y, Zehsaz F, Nourazar MA. Concurrent exercise training and Murf-l and Atrogin-1 gene expression in the vastus lateralis muscle of male Wistar rats. Apunts Sports Medicine 2020; 55(205): 21-7.
8. Gao Y, Arfat Y, Wang H, Goswami N. Muscle atrophy induced by mechanical unloading: mechanisms and potential countermeasures. Front Physiol 2018; 9: 235.
9. Zhang Z-K, Li J, Liu J, Guo B, Leung A, Zhang G, et al. Icaritin requires Phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/Akt signaling to counteract skeletal muscle atrophy following mechanical unloading. Sci Rep 2016; 6(1): 20300.
10. Kazemi A, Kerendi H, Khajehpour Z. Effect of Spinal Nerve Ligation after Endurance Training on the Gene Expression of MST1 and MAFbx in Plantaris Muscle of Male Wistar Rats [in Persian]. J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32(209): 1-12.
11. Dungan CM, Murach KA, Frick KK, Jones SR, Crow SE, Englund DA, et al. Elevated myonuclear density during skeletal muscle hypertrophy in response to training is reversed during detraining. Am J Physiol Cell Physiol 2019; 316(5): C649-C54.
12. Morey-Holton ER, Globus RK. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. J Appl Physiol (1985) 2002; 92(4): 1367-77.
13. Kazremi A, Masoumpor Z, Dakhili A, Zangiabadi A, Fathi I. The Effect of mechanical unloading on TRAF6 and MuRF1 genes expression in soleus muscle of male Wistar rats [in Persian]. Journal of Sport and Exercise Physiology 2021; 13(2): 67-74.
14. Rahmati M, Ghanbarzadeh M, Aghaei MH. The effect of decreased activity in the form of neuropathic pain on GSK-3 β gene expression in sciatic nerve fiber of male Wistar rats [in Persian]. Qom Univ Med Sci J 2018; 12(2): 11-8.
15. Madahi M, Gharakhanlou R, Kazemi A, Azarbayjani MA. Effect of Reduced Physical Activity on Murf-1 and Atrogin-1 Gene Expression in Soleus Muscle of Wistar Rats Following Endurance, Resistance and Combined Training [in Persian]. Journal of Sport and Biomotor Sciences 2022; 11(2): 250-63.
16. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogin-1. Am J Physiol Endocrinol Metab 2014; 307(6): E469-E84.
17. Kang S-H, Lee H-A, Kim M, Lee E, Sohn UD, Kim I. Forkhead box O3 plays a role in skeletal muscle atrophy through expression of E3 ubiquitin ligases MuRF-1 and atrogin-1 in Cushing's syndrome. Am J Physiol Endocrinol Metab 2017; 312(6): E495-E507.
18. Alizadeh Pahlavani H. Exercise therapy for people with sarcopenic obesity: myokines and adipokines as effective actors. Front Endocrinol (Lausanne) 2022; 13: 811751.
19. Yoshida T, Delafontaine P. Mechanisms of IGF-1-mediated regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy. Cells 2020; 9(9): 1970.
20. Jones SW, Hill RJ, Krasney PA, O'Conner B, Peirce N, Greenhaff PL. Disuse atrophy and exercise rehabilitation in humans profoundly affects the expression of genes associated with the regulation of skeletal muscle mass. FASEB J 2004; 18(9): 1025-7.
21. Azimian E, Akbarnejad Gharehloo A, Pournemati P. The effect of 8 weeks of resistance training on muscle function and some proteins related to sarcopenia in soleus muscle of obese aged male rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology 2023; 10(2): 13-26.
22. Kohno S, Yamashita Y, Abe T, Hirasaka K, Oarada M, Ohno A, et al. Unloading stress disturbs muscle regeneration through perturbed recruitment and function of macrophages. J Appl Physiol (1985) 2012; 112(10): 1773-82.
23. Wang Q, Hu J, Liu Y, Li J, Liu B, Li M, et al. Aerobic exercise improves synaptic-related proteins of diabetic rats by inhibiting FOXO1/NF-κB/NLRP3 inflammatory signaling pathway and ameliorating PI3K/Akt insulin signaling pathway. J Mol Neurosci 2019; 69(1): 28-38.
24. Foreman NA, Hesse AS, Ji LL. Redox signaling and sarcopenia: searching for the primary suspect. Int J Mol Sci 2021; 22(16): 9045.
25. Allen DL, Unterman TG. Regulation of myostatin expression and myoblast differentiation by FoxO and SMAD transcription factors. Am J Physiol Cell Physiol 2007; 292(1): C188-C99.
26. Romanello V, Sandri M. Mitochondrial quality control and muscle mass maintenance. Front Physio 2016; 6: 422.
27. Lessard SJ, MacDonald TL, Pathak P, Han MS, Coffey VG, Edge J, et al. JNK regulates muscle remodeling via myostatin/SMAD inhibition. Nat Commun 2018; 9(1): 3030.

28. Bilet L, Phielix E, van de Weijer T, Gemmink A, Bosma M, Moonen-Kornips E, et al. One-leg inactivity induces a reduction in mitochondrial oxidative capacity, intramyocellular lipid accumulation and reduced insulin signalling upon lipid infusion: a human study with unilateral limb suspension. Diabetologia 2020; 63(6): 1211-22.
29. Khaleghi I, Alijani E, Rahimi A, Mohsenzade M. Simultaneous effect of resistance training and endothelial ancestral cell injection on expression of MURF1 muscle degeneration factor and its relationship with insulin resistance in STZ-induced diabetic male rats [in Persian]. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2021; 21(3): 175-85.
30. Léger B, Cartoni R, Praz M, Lamon S, Dériaz O, Crettenand A, et al. Akt signalling through GSK-3β, mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. J Physiol 2006; 576(3): 923-33.
31. Mousavi Mozafar SM, Nourshahi M, Akbarnejad A. Muscle Murf1 and P70S6K Before and After 6 Weeks of Resistance Training and HMB Supplementation in Inactive Men. Sport Physiology 2020; 12(45): 79-94.
32. 32. Lee JH, Jun H-S. Role of myokines in regulating skeletal muscle mass and function. Front Physiol 2019; 10: 42.
33. Bruusgaard JC, Johansen I, Egner I, Rana Z, Gundersen K. Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(34): 15111-6.
34. Murach KA, Mobley CB, Zdunek CJ, Frick KK, Jones SR, McCarthy JJ, et al. Muscle memory: myonuclear accretion, maintenance, morphology, and miRNA levels with training and detraining in adult mice. J Cachexia Sarcopenia Muscle 2020; 11(6): 1705-22.
35. Seaborne RA, Strauss J, Cocks M, Shepherd S, O'Brien TD, van Someren KA, et al. Human skeletal muscle possesses an epigenetic memory of hypertrophy. Sci Rep 2018; 8(1): 1898.

DOI: *10.48305/jims.v43.i818.0623*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 43, No. 818, 2nd Week, August 2025**

Received: 12.11.2024 Accepted: 01.06.2025 Published: 08.08.2025

The Effect of Resistance Training on the Expression of FOXO3, Murf1 and Mafbx Genes in the Soleus Muscle of Rats after 2 Weeks of Lower Limb Suspension

Mohammad Manizadeh[1], Abdolreza Kazemi[2], Hamideh Abdolzadeh[3], Hossein Babaei[3], Vahid Ghanbari Mazidi[4]

Original Article

Abstract

Background: Long-term periods of inactivity or mechanical unloading can lead to significant loss of skeletal muscle mass and strength. In the present study, the effect of 4 weeks of resistance training on the expression changes of FOXO3, MuRF1 and MAFbx genes involved in muscle atrophy after a period of suspension in the soleus muscle of male rats was investigated.

Methods: Thirty-two male Wistar rats were randomly divided into four groups: suspended, retraining, detraining, and training. The training groups exercised 3 sessions per week for 4 weeks. Resistance training was performed by climbing a vertical ladder with a weight attached to the animals' tails. Forty-eight hours after the last training session, the soleus muscle was extracted and the gene expression levels were measured by Real-Time PCR technique. Data analysis was done with the difference between research variables was determined using one-way ANOVA tests and Tukey's post hoc test at a significance level of $P < 0.05$.

Findings: The findings showed that the expression of FOXO3, MuRF1, and MAFbx genes significantly decreased due to resistance training in the soleus muscle of male rats, especially in the retraining group compared to other groups ($P = 0.001$, $P = 0.001$, and $P = 0.001$, respectively).

Conclusion: It seems that resistance training before and after lower limb suspension reduces atrophy in the soleus muscle of male rats, however, the retraining group is more resistant to atrophy. On the other hand, lower limb suspension increases the expression of atrophic genes (FOXO3, MuRF1 and MAFbx) in the soleus muscle of rats.

Keywords: Resistance training; Muscle atrophy; Gene expression

Citation: Manizadeh M, Kazemi A, Abdolzadeh H, Babaei H, Ghanbari Mazidi V. **The effect of resistance training on the expression of FOXO3, MuRF1 and MAFbx genes in the soleus muscle of rats after 2 weeks of lower limb suspension.** J Isfahan Med Sch 2025; 43(818): 623-31.

1- MSc of Sports Physiology, Department of Sports Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Vali Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
2- Associated Professor, Department of Physical Education, Faculty of Letters and Humanities, Vali E-Asr University, Rafsanjan, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Letters and Humanities, Vali E-Asr University, Rafsanjan, Iran.
4- Master of Sports Physiology, Department of Sports Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Vali Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
Corresponding Author: Abdolreza Kazemi, Associated Professor, Department of Physical Education, Faculty of Letters and Humanities, Vali E-Asr University, Rafsanjan, Iran; Email: rkazemi22@yahoo.com