تاثیر یک دوره تمرین ورزشی با شدت بالا بر بیان ژن سمافورین A۳ در عضله بازکننده طویل انگشتان پای موش‌های پیر C57BL/6

لیلا قدیری حرمتی[۱]، محسن امینایی[۱*]، امیربهادر دخیلی[۲]، مجید اسدی شکاری[۳]

۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲) گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳) مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۷ تاریخ پذیرش:۹۴/۱۱/۳

چکیده

مقدمه: هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن Sema3a در عضله EDL موش‌های پیر C57bl/6می‌باشد.

مواد و روش‌ها: بدین منظور، ۲۰ سر موش نر C57bl/6 پیر(n=۱۰) و بالغ(n=۱۰) در ۲ گروه تمرین و کنترل قرار گرفتند، که گروه-های تمرین بعد از یک هفته آشناسازی در برنامه ۴ هفته تمرین تناوبی شدید شرکت کردند و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی قربانی شدند، سپس عضله EDL استخراج و بوسیله روش Real-time Pcr بیان ژن Sema3a اندازه گیری گردید.

یافته‌های پژوهش: نتایج نشان داد که با افزایش سن بیان ژن Sema3a در عضله EDL افزایش یافته است (P=۰/۰۰۱)، ولی تمرین موجب کاهش بیان آن در هر دو گروه بالغ(P=۰/۱۰۵) و پیر(P=۰/۰۲۵) شد. هر چند که، در موش‌های بالغ به لحاظ آماری معنی دار نبود. هم‌چنین، یافته‌ها نشان می‌دهدکه پیری اثر معنی داری بر وزن نسبی عضلهEDL داشته است به طوریکه تفاوت معنی داری بین موش‌های بالغ و پیر در گروه کنترل(P=۰/۰۳۲) مشاهده شد. از سوی دیگر، هرچند که تمرین ورزشی وزن آن را مقداری افزایش داده است ولی این مقدار به لحاظ آماری در هر دوگروه بالغ (P=۰/۱۱۷) و پیر(P=۰/۳۲۱) معنی دار نبود.

بحث و نتیجه گیری: افزایش سن همراه با افزایش در بیان ژن Sema3a می‌باشد که احتمالا می‌تواند در تغییرات عصبی عضلانی در سالمندی نقش داشته باشد. تمرینات تناوبی شدید با فراخوانی تارهای نوع تند می‌توانند بیان آن را تعدیل نموده و احتمالا از دست رفتن عصب و آتروفی عضلانی در پیری را کاهش دهند.

واژه‌های کلیدی: سمافورین A۳، تمرین تناوبی شدید، پیوندگاه عصبی عضلانی، پیری

* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

Email: maminai@yahoo.com

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

مقدمه

پیری به وسیله کاهش در توده و عملکرد عضلات اسکلتی، که نتیجه کاهش تعداد تارهای عضلانی، آتروفی تارهای باقی مانده و افزایش در تراکم بافت‌های غیر انقباضی می‌باشد، توصیف می‌شود؛ که به این فرایند سارکوپنیا گفته می‌شود (۱،۲). هر چند که عقاید بسیاری در خصوص علل سارکوپنیا از قبیل اختلال در محیط آنابولیکی/کاتابولیکی در گردش خون، افزایش نقص عملکرد میتوکندری، آسیب اکسایشی و افزایش در غلظت سایتوکاین‌های التهابی به عنوان عوامل درگیر در کاهش توده عضلانی با افزایش سن در نظر گرفته شده‌اند (۱،۳). شواهد نشان می‌دهد که از دست رفتن نورون‌های حرکتی، مخصوصا در تارهای تند، که موجب کاهش عصب‌دهی تارهای عضلانی می‌شود، به عنوان یکی از مکانیسم‌هایی درگیر در تحلیل توده عضلانی و تبدیل نوع تار با سارکوپنیا، در نظر گرفته می‌شود (۱،۳). تارهای بدون عصب شده دچار آتروفی شده و در نهایت تخریب می‌شوند (۴).

طبق پدیده مرگ رو به عقب، تخریب نرون حرکتی از پایانه عصبی شروع شده و به طرف جسم سلولی پیشروی می‌کند، که این رایج‌ترین الگوی دیده شده در دامنه وسیعی از تخریب‌ها و مسمومیت‌های سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌باشد (۵). بنابراین، این احتمال وجود دارد که بدون عصب شدن ناشی از پیری از این الگو پیروی کند. هرچند که سیناپس‌های عصبی–عضلانی در تارهای عضلانی مختلف، ظرفیت متفاوتی را در تغییر پذیری نسبت به شرایطی از قبیل پیری و بیماری‌ها نشان می‌دهند، ولی عوامل مولکولی این تفاوت به طورکامل شناخته نشده است (۶)، در همین راستا، نشان داده شده است که سلول‌های شوان پایانی می‌توانند با بیان دسته‌ای از نشانگان هدایت آکسونی به نام سمافورین‌ها بر انسجام اتصال عصبی–عضلانی (NMJ) اثر بگذارند (۶،۷). اعضا خانواده سمافورین در سیستم عصبی، ایمنی و قلبی عروقی گونه‌های مختلف پستانداران بیان می‌شوند. در سیستم عصبی، سمافورین‌ها می‌توانند نقش دفع و یا جذب کنندگی برای آکسون‌ها به بافت هدف داشته باشند (۸،۹). سمافورین۳ A (Sema3A)، یکی از اعضا این خانواده می‌باشد که در TSCs تارهای عضلانی نوع IIb/x بیان می‌شود و بوسیله گیرنده نروپیلین۱ (NRP1) و پلکسینآ مانع از توسعه مخروط رشد می‌شود و می‌تواند موجب دفع آکسون از بافت هدف شود (۹،۷). از این رو، نشان داده شده است که در موش‌های G93-hSOD1 بیان Sema3a در TSCs تارهای نوع IIb/x افزایش می یابد و این می‌تواند به طور منفی ریز محیط سیناپس را تحت تاثیر قرار دهد (۶).

از سوی دیگر نشان داده شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند یک مکانیسم محافظتی غیر تهاجمی و غیر دارویی را در برابر بیماری‌ها و ناتوانی‌های عصبی عضلانی ایجاد کند و هم‌چنین، برای حفظ عملکرد و ساختار سیناپس و بعلاوه ریکاوری نورون‌های آسیب دیده اهمیت بسزایی دارد (۱۰–۱۲). تمرین استقامتی باعث افزایش قابل‌توجه طول شاخه پایانه عصبی می‌شود (۱۳). هم‌چنین، می‌تواند اندازه طبیعی صفحه انتهایی را حفظ نماید(۱۳) و در موش‌های پیر، تغییرات مورفولوژیکی و از دست رفتن عصب را در عضلات اسکلتی کاهش دهد (۱۴). لذا، تمرین استقامتی در موش‌های پیر تا حدی تغییرات مرتبط با سن در NMJs را معکوس می‌کند (۱۴).در همین راستا، مشخص شده است که فعالیت ورزشی بخشی از اثرات خود را بر اعصاب محیطی و NMJ، از طریق تحریک بیان عوامل رشدی، افزایش بیوژنز میتوکندریایی (۱۵،۱۶)، افزایش سرعت و میزان انتقال آکسونی (۱۷) اعمال می‌نماید. به طور مثال نشان داده شده است که تمرین ورزشی بیان نروتروفین۳ را در نخاع و عصب سیاتیک رت‌های مبتلا به آسیب اعصاب محیطی افزایش می‌دهد (۱۸). در پژوهش دیگری نشان داده شد که فاکتور رشد عصبی مشتق از سلول گلیال (GDNF) در پی یک دوره تمرین ورزشی افزایش می‌یابد که همراستا با سازگاری در صفحه انتهایی می‌باشد (۱۹،۱۰). قراخانلو و همکاران (۱۹۹۹) گزاش کردند که ۱۶ هفته تمرین استقامتی بیان پپتید مرتبط با ژن کلسی تونین (CGRP) را به طور معنی داری در جسم سلولی نورون‌های حرکتی و در عضله افزایش می‌دهد، و از طرفی سرعت و میزان انتقال آکسونی را در عصب سیاتیک افزایش می‌دهد (۱۷). اما تا به امروز نقش

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

پروتئین‌های هدایت آکسونی و بویژه sema3a در سازگاری‌های عصبی-عضلانی به فعالیت ورزشی مشخص نشده است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر ۴ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن Sema3A در عضله بازکننده طویل انگشتان موش-های C57BL/6 پیر انجام شده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط نگهداری

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود که برای این منظور ۲۰ سر موش C57BL/6 با سن ۴ تا ۶ (n=۱۰) و ۲۴ تا ۲۶ (n=۱۰) ماه از مرکز تحقیقات فناوری بن یاخته تهران تهیه گردید، کلیه موش‌ها در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای ۳±۲۲ درجه سانتی گراد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت (شروع چرخه بیداری ساعت ۱۷) و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش نگهداری گردیدند. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید، موش‌ها در دو گروه پیر و بالغ با زیر گروه‌های تمرین(n=۵) و بدون تمرین(n=۵) به صورت تصادفی قرار گرفتند. در طول مرحله آشناسازی، به منظور کاهش استرس و همچنین آشنایی با دویدن روی تردمیل، موش‌ها در یک برنامه تمرینی به مدت یک هفته با سرعت ۱۰ تا ۱۸ متر در دقیقه و مدت زمان ده دقیقه شرکت کردند.

برنامه تمرینی

قبل از اعمال پروتکل تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه آشناسازی، جهت مشخص شدن سرعت حداکثر، موش‌ها یک آزمون فزاینده تا مرز خستگی را انجام دادند که با سرعت ده متر بر دقیقه شروع شد و به ازای هر دو دقیقه، دو متر بر سرعت آن افزوده شد (۲۰). زمان رسیدن به خستگی با عدم توانایی موش‌ها در دویدن روی تردمیل با وجود ایجاد محرک‌های مختلف از قبیل زدن ضربه روی درپوش تردمیل و تحریک بادی مشخص شد(میانگین حداکثر سرعت برای گروه بالغ ۲/۳۳±۳۳/۶۶ و گروه پیر ۳/۲۶±۲۹/۳۳ متر بر دقیقه). سپس، براساس سرعت حداکثر بدست آمده، تمرین تناوبی شدید طراحی و به مدت چهار هفته و پنج جلسه در هفته بر گروه‌های تمرینی اعمال شد. در ابتدا تمرین تناوبی با شدتی برابر با ۸۵ درصد حداکثر سرعت شروع و در ادامه، برنامه تناوبی به صورت هفتگی پنج درصد به سرعت افزوده شد و دو هفته اخر با ۹۵ درصد سرعت خاتمه یافت. هر تناوب شامل دو دقیقه فعالیت با فواصل استراحتی یک دقیقه‌ای (با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه) همراه بود. وهله‌های تمرینی در هفته اول شامل شش، هفته دوم هشت، هفته سوم و چهارم ده تناوب بود (۲۱).

استخراج بافت

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش‌ها با استفاده از گاز CO_2 بی‌هوش شدند و در محیط کاملا استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت قدامی ساق پای موش، عضله بازکننده طویل انگشتان (EDL) با قطع تاندون پروگزیمال و دیستال استخراج گردید و سپس با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم (BL1000 ساخت کشور ژاپن) وزن گردید و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و جهت انجام آزمایشات سلولی مولکولی در فریزر ۸۰- نگهداری شد. با توجه به غالب بودن تارهای نوع تند در EDL، این عضله برای پژوهش حاضر در نظر گرفته شد (۲۲).

استخراج RNA و سنتز cDNA

جهت استخراج اسید ریبونوکلیک کل (TRNA) از عضله بازکننده طویل انگشتان، این عضله به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAZOL Reagent Lysis هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول در 0C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در 0C ۴، ۱۵min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در 0C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در Lµ20 آب RNAS-Free حل گردید.غلظت RNA مورد سنجش واقع شد (Eppendorf, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از gμ1 از RNA و بااستفاده از کیت سنتز cDNA ساخت شرکت فرمنتاز و آنزیم Mulv Reverse Transcriptase انجام گرفت.

Real time – PCR

جهت اندازه گیری سطوح بیان اسید ریبونوکلیک پیام رسان (mRNA) sema3a از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Prime Xyber Green II انجام شد(USS Applied Biosystems). مخلوط واکنش در حجم نهایی Lμ20 و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت.طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌هایSema3a (XM_006503558.2) و β-actin (NM_007393.4)در بانک ژنی NBCI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc., Seoul, Korea) انجام شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل: ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه– ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن های موردنظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه گیری شد. ضمن اینکه از β-actin به عنوان ژن کنترل استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده‌ها براساس میانگین ± انحراف استاندارد توصیف شده‌اند. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، همسان بودن واریانس‌ها از آزمون Leven استفاده شد. جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD و از آزمون T زوجی برای مقایسه تفاوتات پیش و پس آزمون استفاده گردید. سطح معنی داری نیز $P\leq$۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام گرفت.

یافته‌های پژوهش

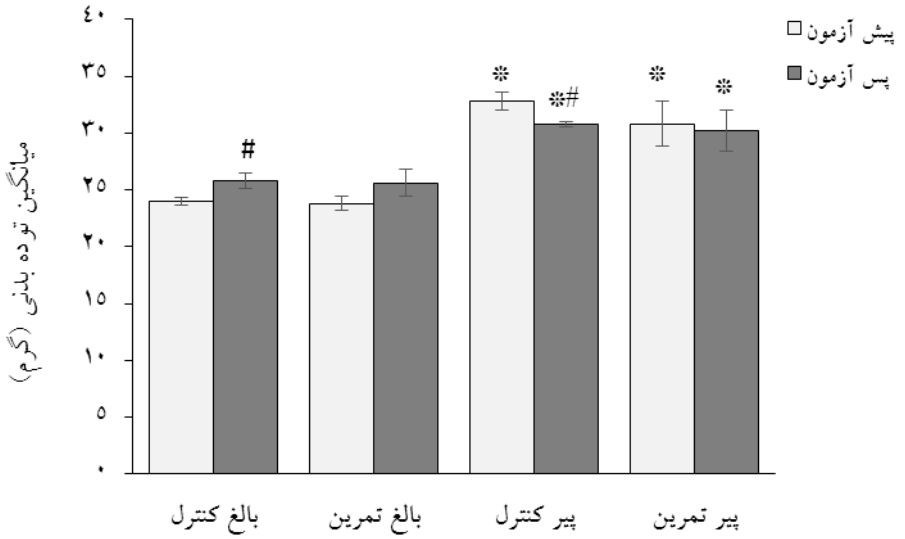
توده بدنی

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که تفاوت معنی داری در توده بدنی بین گروه‌های مختلف پژوهش قبل و بعد از دوره تمرین وجود دارد. از این رو، آزمون تعقیبی تفاوت معنی داری را بین موش‌های بالغ و پیر در گروه کنترل در هر دو پیش (*P*=۰/۰۰۱) و پس‌آزمون (*P*=۰/۰۰۳) نشان داد. اما تفاوت معنی داری در توده بدنی بین موش‌های بالغ در گروه‌های کنترل و تمرین در پیش (*P*=۰/۸۹۱) و پس‌آزمون (*P*=۰/۸۹۰)، هم‌چنین بین موش‌های پیر در گروه‌های کنترل و تمرین در پیش (*P*=۰/۱۸۳) و پس‌آزمون (*P*=۰/۶۸) مشاهده نشد (نمودار۱).

به علاوه، نتایج آزمون T زوجی نشان داد که در گروه-های بالغ کنترل(*P*=۰/۰۳۷) و پیر کنترل(*P*=۰/۰۲۲) در پیش و پس آزمون تفاوت معنی داری از نظر توده بدنی وجود دارد، ولی در گروه‌های بالغ تمرین(*P*=۰/۲۳۳) و پیر تمرین(*P*=۰/۷۴۱) در پیش و پس آزمون تفاوت معنی داری مشاهده نشد (نمودار۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

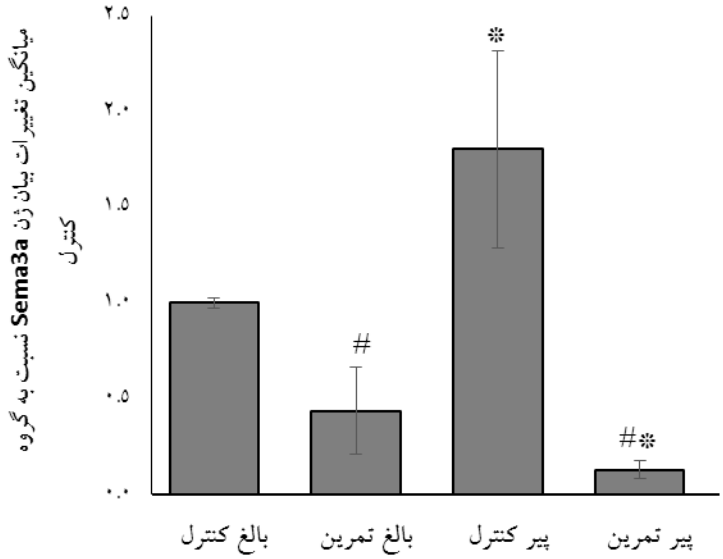
[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]



نمودار۱. میانگین توده بدنی پیش و پس از آزمون در گروه‌های پژوهش. تفاوت معنی دار نسبت به گروه بالغ کنترل(*) و نسبت به پیش آزمون (#).

تغییرات بیان Sema3a mRNA در عضله EDL

بیان نسبی Sema3a mRNA در نمودار ۲ نشان داده شده است.بررسی حاضر نشان می‌دهد که تفاوت معنی دار در سطوح بیان ژن Sema3a بین گروه‌ها در عضله EDL پس از چهار هفته تمرین تناوبی شدید وجود دارد($P\leq$۰/۰۰۱). به طوری‌که، بین گروه‌های بالغ تفاوت معنی داری وجود ندارد(P=۰/۱۰۵). ولی بین گروه‌های پیر (P=۰/۰۲۵) و گروه بالغ و پیر کنترل(P=۰/۰۰۱) تفاوت معنادری مشاهده شد (نمودار۲).



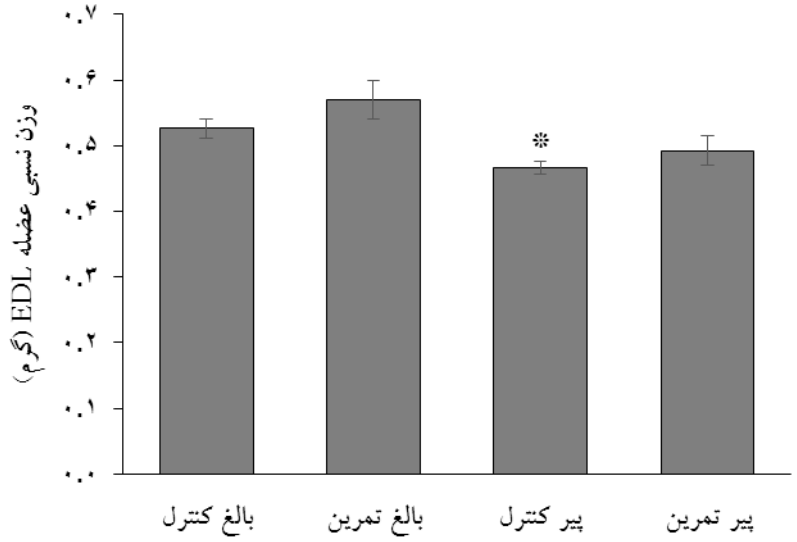
نمودار۱. تغییرات بیان ژن Sema3a نسبت به گروه بالغ کنترل . تفاوت معنی دار نسبت به گروه بالغ کنترل(*) و گروه پیر کنترل(#).

تغییرات وزن نسبی عضله EDL

در وزن عضله EDL بین گروه‌های بالغ (P=۰/۱۱۷) و پیر(P=۰/۳۲۱) تفاوت آماری معنی داری وجود ندارد، ولی بین گروه‌های بالغ و پیر کنترل(P=۰/۰۳۲) تفاوت معنی داری مشاهده شد (نمودار۳).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]



نمودار۲. تغییرات وزن عضله EDL بین گروه‌های پژوهش. تفاوت معنی دار نسبت به گروه بالغ کنترل(*).

بحث و نتیجه گیری

پژوهش حاضر به بررسی نقش پیری و تمرین ورزشی بر بیان ژن پروتئین هدایت آکسونی سمافورین۳A به عنوان یک عامل در تغییر عصب‌رسانی تارهای عضلانی پرداخته است. سمافورین A۳ به عنوان یک پروتئین دفع کننده عصب در وضعیت‌های مختلف از قبیل بیماری‌های تخریب عصبی و آسیب اعصاب محیطی، به طور ویژه در تارهای تند خستگی‌پذیر، موجب تخریب نرون حرکتی می‌گردد (۶)، از این رو، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پیری همراه با افزایش معنی دار در بیان Sema3a mRNA در عضله EDL نسبت به گروه بالغ می‌باشد، و این همراستا با مطالعاتی می‌باشد که نشان داده‌اند تخریب NMJ و نورون حرکتی با پیری افزایش می‌یابد (۲۳)، هم‌چنین، در موش‌های مدل ALS (G93A-hSOD1) که الگوی تخریب عصبی مشابه با پیری را نشان می‌دهند (۲۴)، بیان Sema3a در تارهای نوع IIb/x تنظیم افزایشی می‌یابد و این آکسون‌های حرکتی که تارهای عضلانی IIb/x را عصب رسانی می‌کنند، در بیماری-های موتونرون‌ها و پیری آسیب پذیرتر می‌باشند (۶).

از یافته‌های قابل توجه پژوهش حاضر، اثر معنی دار تمرین ورزشی بر بیان Sema3a در عضله EDL بود. به طوری‌که، در موش‌های پیر چهار هفته تمرین تناوبی شدید بیان Sema3a را در عضله EDL به طور معنی داری کاهش داده بود. هرچند که اثر تمرین تناوبی شدید بر بیان Sema3a در موش‌های بالغ معنی دار نبود، ولی روند کاهشی را مشابه با موش‌های پیر نشان دادند. براساس یافته‌های بدست آمده می‌توان اظهار داشت که بیان Sema3a با میزان فعالیت عصبی عضلانی ارتباط دارد، به طوری‌که در پی تمرینات اینتروال شدید بیان آن به طور قابل توجهی در هر دو موش‌های بالغ و پیر کاهش یافت. در حمایت از این یافته، می‌توان به مطالعاتی اشاره کرد که نشان داده‌اند شاخه‌زایی پایانه‌های عصبی در موتونورون‌های تارهای عضلانی نوع کند اتفاق می‌افتد (۲) و برخلاف موتونورون‌های تارهای نوع تند(۳۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ تکانه در روز)، این موتونورون‌های تارهای کند(۳۰۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ تکانه در روز) فعالیت بیشتری را در عملکردهای روزمره دارند و انتقال عصبی-عضلانی در NMJ این تارها بیشتر است(۲۵-۲۷). از طرفی، نشان داده شده است که بیان Sema3a mRNA در پیوندگاه عصبی عضلانی تارهای کند انقباض بسیار اندک می-باشد (۶). بنابراین، این احتمال وجود دارد که تمرین با شدت بالا استفاده شده در پژوهش حاضر فراخوانی تارهای تند را به همراه داشته است، و در نتیجه بیان Sema3a mRNA را به طور قابل توجهی در عضله EDL هر دو موش‌های بالغ و پیر کاهش داده است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

در رابطه با عواملی که بیان Sema3a را تنظیم می‌کنند اطلاعات بسیار محدود می‌باشد و فقط چند مطالعه نشان داده‌اند که التهاب، استرس اکسایشی و هیپوکسی عوامل تنظیم کننده بیان خانواده سمافورین می‌باشند (۲۸،۲۹). پژوهش‌های قبلی به طور قوی نشان داده‌اند که در طول پیری بدلیل نقص عملکرد میتوکندری، تجمع گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) در بافت‌های مختلف از جمله عضله اسکلتی افزایش (۳۰، ۳۱) و علاوه بر این، ظرفیت آکسیدانی با افزایش سن برای مقابله با استرس اکسایشی کاهش می‌یابد (۳۲). هم‌چنین، شواهد نشان می‌دهد که بیان سایتوکاین‌های التهابی از قبیل اینترلوکین۱بتا (IL-1β) و عامل نکروز دهنده توموری آلفا TNF-α با افزایش سن در عضلات اسکلتی افزایش می‌یابد (۳۵-۳۳) هم‌چنین، همبستگی بین مارکر های التهاب سیستمیک و کاهش توده و قدرت عضلانی در سالمندی وجود دارد و نسبت به افراد بالغ بیان سایتوکاین‌های التهابی در افراد پیر بالاتر می‌باشد (۳۶). همانطور که نتایج نشان داد برنامه تمرین تناوبی شدید بیان Sema3a را در هر دو گروه پیر و بالغ کاهش داده است. با توجه به اینکه تا به حال پژوهشی در زمینه اثر فعالیت ورزشی بر بیان Sema3a انجام نگرفته است مکانیسم‌های احتمالی این کاهش مشخص نشده‌اند، ولی این احتمال وجود دارد تمرین ورزشی بتواند از طریق تنظیم کاهشی عوامل فوق بر بیان این پروتئین اثر گذارد. به طور مثال، نشان داده شده است که تمرینات شدید بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی را کاهش و ضد التهابی را افزایش می‌دهد (۳۷). علاوه بر این، یافته‌های حاصل از پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی منظم موجب تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی و تقلیل فشار اکسایشی در بافت‌های مختلف از جمله عضله اسکلتی و در وضعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی گوناگون از قبیل پیری می‌شود (۴۲-۳۸). هم‌چنین، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که پیری به طور معنی داری وزن عضله EDL را کاهش داده است و تفاوت معنی داری بین گروه بالغ و پیر کنترل وجود دارد و این یافته در تحقیقات گذشته نیز مورد تأیید قرار گرفته است (۴۳).

از سوی دیگر، نتایج نشان داد که چهار هفته تمرین تناوبی شدید تا حدودی آتروفی عضلانی را در موش‌های پیر پیشگیری کرده است. هر چند که در پژوهش حاضر سازوکارهای درگیر در آتروفی عضلانی ارزیابی نگردید ولی با توجه به ادبیات موجود در این زمینه می‌توان اظهار داشت که احتمالا تمرین ورزشی استفاده شده در پژوهش حاضر از طریق کاهش در بیان Sema3a بدون عصب شدن و یا شاخه زایی جانبی را تعدیل نموده و توانسته است از طریق مکانیسم‌های مرتبط با از دست رفتن عصب، میزان آتروفی را کاهش دهد. بر این اساس نشان داده شده است که بدون عصب شدن تارهای عضلانی بیان پروتئولیزهای MuRF1 (۴۴،۴۵)، تولید ROS میتوکندریایی (۴۶) را در عضله افزایش می‌دهد. هم‌چنین، هموستاز کلسیم در نتیجه بدون عصب شدن دچار اختلال می‌گردد و با فعال کردن مسیرهای آپوپتوزی و اختلال در عملکرد میتوکندریایی، می‌تواند توده عضلانی را کاهش دهد (۴۷،۴۸).

از سوی دیگر احتمالا تمرین ورزشی به طور مستقیم بر عوامل ایجاد کننده آتروفی در پیری تاثیر گذاشته و اثرگذاری آن‌ها را کاهش داده است. به طور مثال، نشان داده شده است که TNF-α از طریق مسیرهای p38 MAPK و NFκB بیان لیگازهای آتروژین ۱/ MAFbx و MuRF1 را در عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد (۴۹،۵۰). همانطور که در بالا اشاره گردید، التهاب یکی از سازوکارهای درگیر در آتروفی عضلانی ناشی از پیری می‌باشد. احتمالا تمرین ورزشی می‌تواند با اثرات ضدالتهابی خود این مسیر را تحت تاثیر قرار دهد (۳۷). فعالیت ورزشی با تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی (۴۱) می‌تواند از افزایش بیان پروتئازوم‌های عضلانی ناشی از افزایش ROS جلوگیری کند (۴۹).

به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان Sema3a در عضله EDL موش‌های پیر افزایش یافت که با کاهش در توده عضله EDL همراه بود. از سوی دیگر، تمرینات ورزشی احتمالا می‌تواند با افزایش فراخوانی تارهای نوع تند بیان ژن Sema3a را تعدیل نماید و با آتروفی عضلانی ناشی از پیری مقابله نماید.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

بنابراین، احتمالا افراد سالمند با انجام تمرینات با شدت بالا می‌توانند سلامت عصبی عضلانی خود را بهبود بخشند و در نتیجه از اثرات مخرب کاهش توده عضلانی در انجام کارهای روزمره و ابتلا به بیماری-های متابولیکی جلوگیری نمایند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان و سرکار خانم منوره صوتی و هم‌چنین مشاوره-های بی‌دریغ جناب آقای دکتر روح الله نیکویی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند سپاسگزاری می-گردد.

Reference

1.Rowan SL, Rygiel K, Purvessmith FM, Solbak NM, Turnbull DM, Hepple RT. Denervation causes fiber atrophy and myosin heavy chain co-expression in senescent skeletal muscle. PLos One 2012; 7:1-12.

2. Aagaard P, Suetta C, Caserotti P, Magnusson SP, Kjar M. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging strength training as a countermeasure. Scand J Med Sci Sport 2010; 20:49-64.

3.Deschenes MR, Roby MA, Eason MK, Harris MB. Remodeling of theneuromuscular junction precedes sarcopenia related alterations in myofibers. Exp Gerontol 2010;45:389-93.

4.Drey M, Krieger B, Sieber CC, Bauer JM, Hettwer S, Bertsch T. Motoneuron loss is associated with sarcopenia. J Am Med Dir Ass 2014;15:435-9.

5.Dadonnachum M, Melamed E, Offen D. The dying-back phenomenon of motor neurons in ALS. J Mol Neurosci 2011;43:470-7.

6.Winter FD, Vo T, Stam FJ, Wisman LA, Bar PR, Niclou SP, et al. The expression of the chemorepellent Semaphorin 3A is selectively induced in terminal Schwann cells of a subset of neuromuscular synapses that display limited anatomical plasticity and enhanced vulnerability in motor neuron disease. Mol Cell Neurosci 2006;32:102-17.

7. Venkova K, Christov A, Kamaluddin Z, Kobalka P, Siddiqui S, Hensley K. Semaphorin 3A signaling through Neuropilin-1 is an early trigger for distal axonopathy in the SOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. J Neuropathol Exp Neurol 2014; 72:702-3.

8. Svensson A, Libelius R, Tagerud S. Semaphorin 6C expression in innervated and denervated skeletal muscle. J Mol Histol 2008;39:5-13.

9.Vo TT. Studies on semaphorin 3A in the neuromuscular junction and in perineuronal nets. Uni Amsterdam Publication.2011;P.45-81.

10.Gyorkos A, Mccullough M, Spitsbergen J. Glial cell line derived neurotrophic factor expression and NMJ plasticity in skeletal muscle following endurance exercise. Neuroscience 2014;257:111-8.

11.Dalbello V, Florence JM. Therapeutic exercise for people with amyotrophic lateral sclerosis or motor neuron disease. Cochrane Data Syst Rev 2013;5:32-7.

12.Smith MB, Mulligan N. Peripheral neuropathies and exercise. Top Geriatr Rehabil 2014;30:131-47.

13.Deschenes M, Tenny K, Wilson M. Increased And decreased activity elicits specific morphological adaptations of the neuromuscular junction. Neuroscience 2006;137: 1277-83.

14.Valdez G, Tapia JC, Kang H, Clemenson GD, Gage F, Lichtman JW, et al. Attenuation of age related changes in mouse neuromuscular synapses by caloric restriction and exercise. Proc Natl Acad Sci 2010; 10:14863-8.

15.Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol 2011;300:1303-10.

16.Forbes SC, Little JP, Candow DG. Exercise and nutritional interventions for improving aging muscle health. Endocrine 2012;42:29-38.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

17.Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the Rat. Neurosci 1999;89:1229-339.

18.English AW, Wilhelm JC, Sabatier MJ. Enhancing recovery from peripheral nerve injury using treadmill training. Ann Anat 2011;193:354-3561.

19.Gyorkos AM, Spitsbergen JM. GDNF content and NMJ morphology are altered in recruited muscles following highspeed and resistance wheel training. Physiol Rep 2014;2:1-11.

20.Davidson SR, Burnett M, Hoffmangoetz L. Training effects in mice after long-term voluntary exercise. Med Sci Sports Exe2006;38:250-5.

21.Thomas C, Bishop D, Mooremorris T, Mercier J. Effects of high intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles influence of chronic metabolic alkalosis. Am J Physiol Endocrinol Metab 2007;293: 916-922.

22.Schiaffino S, Reggiani C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. Physiol Rev2011;91:1447-531.

23.Gonzalezfreire M, Cabo R, Studenski SA, Ferrucci L. The neuromuscular junction aging at the crossroad between nerves and muscle. Front Aging Neurosci 2014;6:208.

24.Valdez G, Tapia JC, Lichtman JW, Fox MA, Sanes JR. Shared resistance to aging and ALS in neuromuscular junctions of specific muscles. Plos one 2012;7: 44-9.

25.Eken T, Elder GC, Lomo T. Development of tonic firing behavior in Rat soleus muscle. J Neurophysiol 2008;99:1899-905.

26.Deschenes MR, Hurst TE, Ramser AE, Sherman EG. Presynaptic to postsynaptic relationships of the neuromuscular junction are held constant across age and muscle fiber type. Dev Neurobiol 2013;73:744-53.

27.Schiaffino S, Reggiani C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. Physiol Rev 2011;91:1447-531.

28.Sun Q, Zhou H, Binmadi NO, Basile JR. Hypoxia inducible factor-1-mediated regulation of semaphorin 4D affects tumor growth and vascularity. J Biol Chem 2009;284:32066-74.

29.Joyal JS, Sitaras N, Binet F, Rivera JC, Stahl A ,Zaniolo K, et al. Ischemic neurons prevent vascular regeneration of neural tissue by secreting semaphorin 3A. Blood 2011;117:6024-35.

30.Peterson CM, Johannsen DL, Ravussin E. Skeletal muscle mitochondria and aging a review. J Aging Res 2012;2012:194821.

31.Cencioni C, Spallotta F, Martelli F, Valente S, Mai A, Zeiher AM, et al. Oxidative stress and epigenetic regulation in ageing and age-related diseases. Int J Mol Sci 2013;14:17643-63.

32.Jackson MJ, McArdle A. Age related changes in skeletal muscle reactive oxygen species generation and adaptive responses to reactive oxygen species. J Physiol 2011;589:2139-45.

33.Lees SJ, Zwetsloot KA, Booth FW. Muscle precursor cells isolated from aged rats exhibit an increased tumor necrosis factor α response. Aging cell2009;8:26-35.

34.Przybyla B, Gurley C, Harvey JF, Bearden E, Kortebein P, Evans WJ, et al. Aging alters macrophage properties in human skeletal muscle both at rest and in response to acute resistance exercise. Exp Gerontol 2006;41:320-7.

35.Degens H. The role of systemic inflammation in age related muscle weakness and wasting. Scand J Med Sci Sports 2010;20:28-38.

36.Peake J, Dellagatta P, Cameronsmith D. Aging and its effects on inflammation in skeletal muscle at rest and following exercise induced muscle injury. Am J Physiol Reg Integ Comp Physiol 2010;298:1485-95.

37.Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA .The anti-inflammatory effects of exercise mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nat Rev Immunol 2011;11:607-15.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

38.Teixeira E, Oliveira J, Pascoa Pinheiro J, Reis F. Regular physical exercise as a strategy to improve antioxidant and anti inflammatory status benefits in type 2 diabetes mellitus. Oxid Med Cell Longev 2012;2012: 741545.

39.Marosi K, Bori Z, Hart N, Sarga L, Koltai E, Radak Z, et al. Long term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. Neurosci 2012;226:21-28.

40.Ashadevi S. Aging brain prevention of oxidative stress by vitamin E and exercise. Sci World J 2009;9:366-72.

41.Cunha TF, Bacurau A, Moreira J, Paixao NA, Campos JC, Ferreira J, et al. Exercise training prevents oxidative stress and ubiquitin proteasome system overactivity and reverse skeletal muscle atrophy in heart failure. PLos One 2012;7:41701.

42.Chang CK, Huang HY, Tseng HF, Hsuuw YD, Tso TK. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in Rat skeletal muscles. J Nut Biochem 2007;18:39-45.

43.Morissette MR, Stricker JC, Rosenberg MA, Buranasombati C, Levitan EB, Mittleman MA, et al. Effects of myostatin deletion in aging mice. Aging Cell 2009;8:573-83.

44.Moriscot AS, Baptista IL, Bogomolovas J, Witt C, Hirner S, Granzier H, et al. MuRF1 is a muscle fiber-type II associated factor and together with MuRF2 regulates type-II fiber trophicity and maintenance. J Struct Biol 2010;170:344-53.

45.Gomes AV, Waddell DS, Siu R, Stein M, Dewey S, Furlow JD, et al. Upregulation of proteasome activity in muscle RING finger 1-null mice following denervation. FASEB J 2012;26:2886-99.

46.Muller FL, Song W, Jang YC, Liu Y, Sabia M, Richardson A, et al. Denervation induced skeletalmuscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production. Am J Physiol Reg Integ Comp Physiol 2007;293:1159-68.

47.Siu PM, Alway SE. Mitochondria associated apoptotic signalling in denervated rat skeletal muscle. J Physiol 2005;565:309-23.

48.Tews D. Apoptosis and muscle fibre loss in neuromuscular disorders. Neuromuscul Disord 2002;12:613-622.

49.Li YP, Chen Y, John J, Moylan J, Jin B, Mann DL, et al. TNF−α acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogin1/MAFbx in skeletal muscle. FASEB J 2005;19:362-70.

50.Adams V, Mangner N, Gasch A, Krohne C, Gielen S, Hirner S, et al. Induction of MuRF1 is essential for TNF-α-induced loss of muscle function in mice. J Mol Biol 2008;384:48-59.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]

The Effect of High-Intensity Exercise Training on Gene Expression of Semaphorin 3A in Extensor Digitorum Longus Muscles of Aged C57bl/6 Mice

GhadirihormatiL[1, 3], Aminaei M[1], BahadordakhiliA[2], Asadishekaari M[3]*

(Received: November 28, 2015 Accepted: January 23, 2016)

Abstract

Introduction: The aim of this study was to evaluate the effect of high intensity interval training on gene expression of Sema3A in EDL muscles of aged C57bl/6 mice.

Materials & methods: For this purpose, twenty male C57bl/6 mice aged (n=10) and adult (n=10) were assigned in two groups of training and control. After one-week familiarization, training groups participate in four weeks high intensity training program and forty-eight hours. After the last training session, the mice were sacrificed. Then Gene expressions of Sema3A in EDL muscles were measured with Real time PCR technique.

Findings: The results showed that with increasing age Sema3A mRNA expression increased in the EDL muscle (*P*=0.001). But training can reduce its expression in both adult (*P*=0.105) and old (*P*=0.025) groups. Although, in adult mice was not statistically significant. In addition, the findings show that aging has significant effect on EDL muscle weight, and significant difference between adult and old control groups was observed (*P*=0.032). On the other hand, although training slightly increased EDL muscles weight in both adult (*P*=0.117) and old (*P*=0.321) groups, this value statistically was not significant.

*Discussion & conclusion*s: Aging is associated with an increase in expression of Sema3A, which could possibly be involved in neuromuscular changes in aging. Moreover, high intensity interval training by recruited fast fiber muscle types can modify Sema3A mRNA expression and probably reduce denervation and muscle atrophy in aging process.

Keywords: Semaphorin 3A, High intensity interval training, Neuromuscular junction and aging

1. Dept of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
2. Dept. Physical Education, Faculty of Humanities Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Neuroscience Research Center, Neuropharmacology Research Institute, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
** Correspondin author Email:* maminai@yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.92]