Original Article

The Effect of Endurance Exercise on the Expression of miR-1 in Slow- and Fast-Twitch Skeletal Muscles in Male Wistar Rats

Mohammad Fathi*

Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Lorestan University, Khoramabad, Iran.

Corresponding Author:
Mohammad Fathi,
Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Lorestan University, Khoramabad, Iran.

Email: fathi.m@lu.ac.ir

Received: 28 Mar, 2015

Accepted: 23 May, 2015

Abstract

Background and Objectives: MicroRNA-1 (miR-1) is involved in various cellular processes, but the effect of endurance exercise on miR-1 expression in fast- and slow- twitch skeletal muscles has still remained unclear. The aim of this study was to evaluate the effect of one period of endurance exercise on miR-1 expression in slow- and fast-twitch skeletal muscles in male Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 14 rats weighing 113±20 grams were housed under controlled conditions (animal laboratory of Tarbiat Modares university, 2014), and after familiarization (weight, 231±24 grams) were randomly divided into two groups of control (n=7) and experimental (n=7) groups. The experimental group did an endurance activity program (30m/min, 50 min/session, 6 session/week for 14 weeks) on a treadmill and 48 hours after the end of the last session, was anesthetized and sacrificed together with the control group. Then, the soleus and EDL muscles were removed. The expression level of miR-1 was measured using real-time RT-PCR. In the following, data were evaluated and compared using t-test.

Results: According to t-test results, The mean expression of miR-1 of soleus and EDL muscles in the experimental group, respectively, increased 2.77- and 4.48- fold, compared to the control group due to 14 weeks of endurance exercise, which these increases were significant at $p<0.01$ level.

Conclusion: The findings of this study showed that despite the difference in twitch type and muscle fiber properties, endurance exercise has the same effect on miR-1 expression in fast- and slow-twitch skeletal muscles.

Keywords: Physical endurance; Muscle fibers, Skeletal; Muscle, Skeletal; Sports.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دهم، شماره سوم، خرداد ۹۵
صفحه ۱ الی ۹

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان miR-1 عضلات اسکلتی کُند و تند انقباض در رت‌های نر نژاد ویستار

محمد فتحی*

گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: microRNA-1 (miR-1)، در فرآیندهای سلولی متفاوتی درگیر است، اما هنوز تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان آن در عضلات اسکلتی تند و کُند انقباض روشن نشده است. این مطالعه با هدف ارزیابی اثر یک دوره فعالیت استقامتی بر بیان miR-1 عضلات اسکلتی کُند و تند انقباض در رت‌های نر نژاد ویستار انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۱۴ رت با وزن ۲۰±۱۱۳ گرم تحت شرایط کنترل‌شده (آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس، سال ۱۳۹۲) نگهداری و بعد از آشناسازی (با وزن ۲۴±۲۳۱ گرم) به‌صورت تصادفی به دو گروه کنترل (۷ سر) و تجربی (۷ سر) تقسیم شدند. گروه تجربی یک برنامه استقامتی (۳۰ متر در دقیقه، ۵۰ دقیقه در هر جلسه، ۶ جلسه در هفته به مدت ۱۴ هفته) را روی تردمیل اجرا کرد و ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه، همراه با گروه کنترل، بیهوش و تشریح شدند، سپس عضله نعلی و EDL آنها خارج گردید. با استفاده از روش Real time-PCR، سطح بیان miR-1 اندازه‌گیری شد. در ادامه، داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون آماری تی، ارزیابی و مقایسه گردید.

یافته‌ها: طبق نتایج آزمون تی، میانگین بیان miR-1 عضله نعلی و EDL گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی به ترتیب ۴/۴۸ و ۲/۷۷ برابر افزایش یافت که این افزایش در سطح $p<0/01$، معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان داد فعالیت استقامتی باوجود تفاوت در ایجاد نوع تنش عضله و خصوصیات تار عضلانی، تأثیر مشابهی بر بیان miR-1 عضلات تند و کُند انقباض دارد.

کلید واژه‌ها: استقامت جسمی؛ تارهای ماهیچه‌ای؛ ماهیچه اسکلتی؛ ورزش.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
محمد فتحی، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
fathi.m@lu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۸

تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۲

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Fathi M. The effect of endurance exercise on the expression of miR-1 in slow- and fast-twitch skeletal muscles in male wistar rats. Qom Univ Med Sci J 2016;10(3):1-9. [Full Text in Persian]

مقدمه

microRNAs (miRs) در بسیاری از پروسه‌های سلولی مانند رشد، تکامل، تکثیر، تمایز، همچنین بیماری‌ها درگیرند (۱). در حقیقت، miRs حد فاصل بین رونویسی و ترجمه می‌باشند و این جایگاه موجب گردیده تا عمل Fine-tuning بیان نهایی ژن را به این عناصر نسبت دهند (۲).

برخی از miRs خاص عضله بوده که به آنها myomiR می‌گویند (۳)، miR-1، عضوی از myomiRها می‌باشد (۴،۱) و دارای دو همولوگ miR-1-1 و miR-1-2 است که در نوع توالی نوکلئوتید با هم تفاوتی نداشته و تنها تفاوت آنها به محل قرارگیری بر روی کروموزوم‌ها برمی‌گردد که به ترتیب در موش‌ها بر روی کروموزوم شماره ۲ و ۱۸ قرار دارد (۱). miR-1 دارای ۲۱ نوکلئوتید است (۱)، که ژن‌های هدف آن عبارتند از: Hand2 (درگیر در تکثیر سلول‌ها)، lrx5, KCND2 (کنترل هدایت‌پذیری سیگنال‌های قلب)، Histone Deacetylase 4 (HDAC4) (درگیر در عضله‌زایی) و Delta (درگیر درعضله‌زایی قلب) (۱).

تحقیقات اندکی با رویکرد فعالیت بدنی در این حوزه صورت گرفته است (۱۰-۵)، اما نتایج نشان می‌دهد فعالیت بدنی بر بیان miRs تأثیرگذار است (۴) و تغییر در miRs نیز موجب ایجاد سازگاری‌های ناشی از فعالیت بدنی می‌شود (۸،۵). در اثر فعالیت ورزشی (استقامتی و مقاومتی) که منجر به ایجاد سازگاری‌های عضلانی می‌شود (۱۳-۱۱)، بیان myomiRs تغییر کرده و زمانی‌که تمرین برای مدتی قطع (Detraining) شود، میزان بیان آنها دوباره به حالت پایه برمی‌گردد (۸).

از آنجا که سازگاری عضلات به فعالیت‌های بدنی می‌تواند فرآیند تکثیر و تمایز سلول‌های عضلانی را درگیر کند (۱۴)، همچنین، با توجه به اینکه myomiRs در این فرآیندهای عضلانی، نقش تعیین‌کننده‌ای دارند (۱۶،۱۵)، لذا احتمال دارد این عناصر در سازگاری‌های پیچیده عضله به فعالیت بدنی درگیر باشند. نتایج تحقیقات انجام شده با رویکرد ورزشی در مورد myomiRs نشان داده است که این فاکتورها نه تنها به فعالیت‌های بدنی پاسخ می‌دهند؛ بلکه عناصر هدف خود را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند. در تحقیقی گزارش گردید یک جلسه فعالیت استقامتی باعث افزایش بیان معنی‌دار miR-1 و miR-108 می‌شود (۱۷).

McCarthy و همکاران نیز نشان دادند miR-1 و miR-133 در پاسخ به یک دوره اضافه بار عملکردی (Functional overload) در عضلات نعلی و پلانتاریس کاهش می‌یابد (۵) همچنین در مطالعات Nielsen، McCarthy و Drummond، (۸،۷،۵)، تأثیرپذیری miRs از فعالیت بدنی تأیید شده است.

از آنجایی‌که miR-1 در بسیاری از سازگاری‌های عضلانی، به‌ویژه فعالیت‌های استقامتی (۸) درگیر است، همچنین با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی در زمینه ارزیابی پاسخ miR-1 عضله اسکلتی تند و کند انقباض به فعالیت‌های استقامتی بلندمدت و شدید صورت نگرفته است. بنابراین، این پژوهش با هدف ارزیابی اثر یک دوره برنامه استقامتی بر بیان miR-1 عضلات نعلی و EDL (Extensor Digitorum Longus) موش‌های نر نژاد ویستار انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، تأثیر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی بر بیان ژن miR-1 عضله نعلی و EDL ارزیابی شد. بدین منظور، ۲۰ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن (وزن ۲۰±۱۱۳گرم) در پایان سال ۱۳۹۲ از انستیتو پاستور تهیه گردید. برای همه حیوانات شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص رت، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما ۳±۲۲ درجه سانتیگراد) به‌صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در این مدت، رت‌ها در ۴ قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، میانگین وزن رت‌ها، ۲۴±۲۳۱ گرم بود. سپس دوره آشناسازی رت‌ها با فعالیت استقامتی (دویدن روی تردمیل با سرعت ۹ متر در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه و ۴ روز در هفته) آغاز شد که این دوره، ۱۰ روز (۵ جلسه) به‌طول انجامید. در پایان جلسات آشناسازی، رت‌ها به‌صورت تصادفی به ۲ گروه (۱۰ سر گروه کنترل و ۱۰ سر گروه تمرینی) تقسیم شدند. از رت‌های گروه تمرینی، ۳ سر نتوانست پروتکل را به پایان برساند. از آنجایی که در روش Real time (نسبی) باید تعداد گروه شاهد و تجربی مساوی باشند، با حذف ۳ سر از رت‌های گروه کنترل (به‌طور تصادفی)، تعداد نهایی به ۱۴ سر (گروه شاهد و تجربی

هرکدام، ۷ سر) کاهش یافت. با استفاده از منابع علمی، یک پروتکل فعالیت استقامتی ویژه رت طراحی شد (۱۹،۱۸).

پروتکل (۱۴ هفته، هفته‌ای ۶ روز) گروه تمرینی عبارت بود از: دویدن روی تردمیل با سرعت، شیب و زمان قابل‌برنامه‌ریزی که در انتهای آن یک شوکر برای جلوگیری از توقف تعبیه شده بود، هر جلسه با یک بخش ۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای گرم‌کردن شروع می‌شد. در جلسه اول، بخش اصلی پروتکل ۱۲ دقیقه بود که به‌طور هفتگی مدت زمان بخش اصلی پروتکل افزایش می‌یافت (در هفته اول تا سوم، هر روز ۲ دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه می‌شد)؛ به‌طوری‌که در پایان روز ۲۳، مدت بخش اصلی پروتکل به ۵۰ دقیقه رسید و با احتساب ۵ دقیقه گرم‌کردن و ۵ دقیقه سردکردن، مدت زمان کلی به ۶۰ دقیقه افزایش یافت. آغاز شدت تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه بود، و هر هفته، ۲ متر بر دقیقه به سرعت اضافه شد، به‌طوری‌که در پایان هفته ششم، سرعت به ۳۰ متر در دقیقه رسید. در نهایت، در طی هفته‌های هفتم تا دهم، به‌تدریج ۵ درجه شیب (ابتدای هر هفته تقریباً ۱/۲ درجه شیب) نیز اضافه گردید. این پروتکل [۶۰ دقیقه دویدن (شامل ۵ دقیقه گرم‌کردن با سرعت ۱۲ متر در دقیقه، ۵۰ دقیقه دویدن با سرعت ۳۰ متر در دقیقه، با شیب ۵ درجه به‌عنوان بخش اصلی پروتکل و در نهایت، ۵ دقیقه دویدن با سرعت ۹ متر در دقیقه به‌عنوان بخش سرد کردن)] تا پایان هفته ۱۴ حفظ شد. پروتکل بین ساعات ۷-۵ بعدازظهر هر روز اعمال می‌شد. در نهایت، ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به‌ازای هرکیلوگرم) بیهوش شدند. بعد از بیهوشی کامل (طوری‌که رت به تحریک اعمال‌شده پاسخ ندهد)، عضلات نعلی و EDL تحت شرایط استریل خارج و بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب متناسب با بافت و رت، جاسازی و وارد تانک نیتروژن شدند. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموژن، بافت‌ها در دمای ۸۰- سانتیگراد نگهداری شدند، سپس با استفاده از هاون و نیتروژن مایع، عمل هموژن بافت‌ها انجام شد.

برای استخراج RNA از بافت‌های هموژن‌شده، به ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی‌لیتر تریزول (Invitrogen) اضافه و پس از مخلوط کردن کامل (پیپتاژکردن) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری (انکوبه) شد، سپس ۰/۲ میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه گردید و پس از پیپتاژ (۱۵ ثانیه)، حدود ۳-۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، در ادامه میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (شرکت Eppendorff) شدند. سپس مایع رویی به دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAase free منتقل گردید (از این مرحله به بعد، از سرسمپلر فیلتردار استفاده شد). در ادامه، ۰/۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد اضافه و بعد از هم زدن ملایم، در دمای ۲۰- درجه باقی ماند (Overnight). روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه مجدداً سانتریفوژ شدند که در این مرحله یک رسوب سفیدرنگ در ته اکثر میکروتیوب‌ها قابل‌مشاهده بود. با سمپلر (شرکت Eppendorff)، مایع رویی با دقت خارج و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه گردید و بعد از تکان دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۷۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شد، در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه گردید و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد، تا باقی‌مانده اتانول تبخیر و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله، ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به آرامی عمل پیپتاژ صورت گرفت. در پایان، غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت eppendorff) ارزیابی گردید که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۸-۱/۶ بود. تمام مراحل کار (بجز مراحلی که در آن نیاز به میکروتیوب‌های حاوی مواد، سانتریفوژ و یا ورتکس بود) زیر هودی که از قبل آماده شده بود (استریل‌شده با الکل ۷۵٪ و نور UV) انجام گرفت. در طی این مراحل از دستکش لاتکس بدون پودر استفاده شد که به محض نیاز به تعویض دستکش‌ها، تعویض می‌شدند.

کیت‌ها دقیقاً قبل از استفاده از یخچال ۲۰- خارج و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل شدند. تمام سمپلرها طبق زمان‌بندی گروه کالیبره‌شده بودند. برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Exiqon (Cat # 203300) استفاده گردید و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت Eppendorff بود.

برای ارزیابی بیان ژن، از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت Applied Bio- system استفاده شد.

SYBR Green master mix استفاده‌شده (Cat # 203450) در این مرحله، همچنین پرایمرهای miR-1 (با توالی UGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAU) و کنترل آن، Housekeeping،(U6) متعلق به شرکت Exiqon بود. طبق دستورالعمل کیت برای یک نمونه ۱۰ لاندای ترکیبی از Mastermix (۵ لاندا) پرایمر (۱ لاندا) و cDNA (۴ لاندا) رقیق‌شده (۱ به ۸۰) در نظر گرفته شد و میزان بیان miR-1 با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run یک نمونه به‌عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی Master Mix {طبق دستورالعمل شرکت Applied Biosystem و CT (Cycle Threshold) بیشتر از ۳۵} درنظر گرفته شد و کنترل داخلی (U6)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و miR-1 همزمان (در یک Run واحد) ارزیابی گردید. نمونه‌ها به‌صورت دوتایی (Duplicate) ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه، میانگین آنها محاسبه گردید. لازم به ذکر است در برخی موارد نیاز به تکرار تست بود که درصورت نیاز انجام می‌شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم‌افزار Excel طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$، میزان بیانmiR-1 محاسبه گردید (۲۰). مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده در جدول آمده است. پرایمرهایmiR-1 و U6 از شرکت Exiqon تهیه شد.

جدول: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

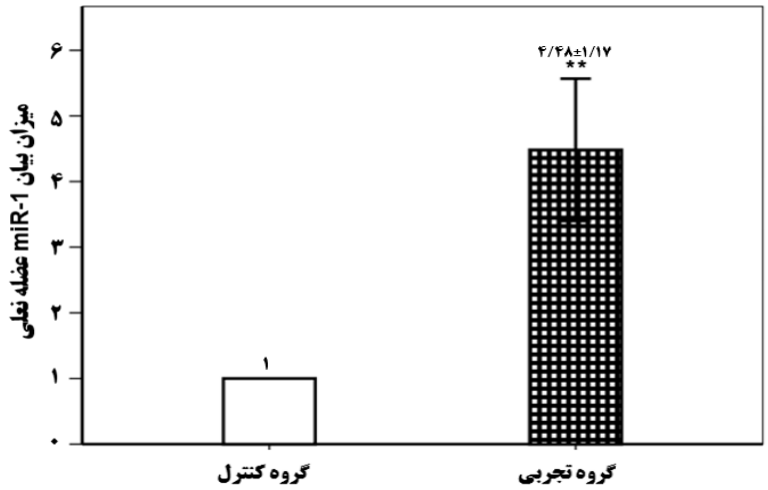
miR-1	205104 rno-miR-1, LNA™ PCRprimer set, UniRT .miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR, microRNA primer set.
U6	203907, U6 snRNA (hsa, mmu, rno) PCR primer set, UniRT. miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR, reference gene primer set. NCBI Symbol U6snRNA, NCBI Accesion: x59362

داده‌های به‌دست‌آمده از دستگاه Real Time PCR که به‌صورت CT (میانگین CT برای هر نمونه) بودند (۲۳-۲۱)، با استفاده از نرم‌افزار Excel به ΔΔct تبدیل شدند و سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$، اعداد نهایی به‌دست آمد (۲۴).

در این مطالعه از نرم‌افزار SPSS، آزمون Shapiro-Wilk (جهت نرمال بودن توزیع داده‌ها) و آزمون تی تک‌نمونه‌ای (برای تعیین اختلاف میانگین‌ها، به این دلیل که در روش نسبی real time همیشه میزان بیان ژن در گروه کنترل بعد از تفاضل ژن رفرنس با ژن هدف تبدیل به عدد یک می‌شود) استفاده گردید.

یافته‌ها

میانگین بیان miR-1 عضله نعلی گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی، ۴/۴۸ برابر افزایش یافت (نمودار شماره ۱)، که این افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۰۰۱) بود. همچنین در عضله EDL، میانگین بیان miR-1 در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی، ۲/۷۷ برابر افزایش یافت (نمودار شماره ۲)، این افزایش نیز معنی‌دار (p=۰/۰۰۲) بود.



نمودار شماره ۱: تأثیر یک دوره فعالیت استقامتی بر بیان miR-1 عضله نعلی در گروه کنترل و تجربی.

****= تفاوت میانگین گروه‌ها (تجربی و کنترل) در سطح p≤۰/۰۱.**

نمودار شماره ۲: تأثیر یک دوره فعالیت استقامتی بر بیان miR-1 عضله EDL در گروه کنترل و تجربی.
****= تفاوت میانگین گروه‌ها (تجربی و کنترل) در سطح p≤۰/۰۱.**

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد میانگین بیان miR-1 عضله نعلی و EDL گروه تجربی نسبت به گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در توجیه یافته‌های این پژوهش ابتدا باید یادآوری کرد miR-1 در زمان تمایز میوبلاست‌های اولیه و سلول‌های ماهواره‌ای به مقدار زیادی بیان می‌گردد و موجب تمایز سلول‌های ماهواره‌ای شده و تکثیر آنها را نیز محدود می‌کند (۱۶). از طرف دیگر، افزایش miR-1 سبب سرکوب HDAC4 می‌شود (۱)، که فشردگی کروماتین را درپی دارد. بنابراین، دسترسی RNA پلیمراز به DNA برای آغاز رونویسی، شدیداً محدود می‌شود (۲۵). در پایین دست HDAC4، فاکتور ۲، افزایش‌دهنده میوسیت (Myocyte Enhancer Factor 2, MEF2) قرار دارد (۲۶)، که در حقیقت القاکننده تارهای نوع کند است (۲۷). HDAC4 سرکوب‌کننده MEF2 می‌باشد (۲۶). بنابراین، اگر فعالیت‌های استقامتی منجر به افزایش بیان miR-1 گردد بیان HDAC4 کاهش یافته و MEF2 فعال می‌شود که نتیجه نهایی این فرآیند، افزایش بیان تارهای نوع کُند انقباض است. بنابراین، به‌نظر می‌رسد نتیجه نهایی افزایش miR-1، تمایز سلول‌های عضله اسکلتی است (۲۸)، که احتمالاً می‌تواند نشانه‌ای از فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای در مرحله تمایز آنها باشد (۲۹)، همچنین این فرآیند ممکن است در تارهایی که توانایی بالایی برای گرایش به سمت تارهای کند انقباض را دارند، رخ دهد؛ زیرا برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان تارهای نوع آهسته‌تر (MHC IIa) و در همان زمان، کاهش بیان تارهای تندتر (MHC IIb) می‌شود، هرچند تغییری در میزان بیان MHC I گزارش نشده است (۳۱،۳۰). به‌طورکلی می‌توان گفت فعالیت استقامتی بلندمدت، ظرفیت تبدیل نوع تارها را به سمت تارهای نوع کُند انقباض تغییر می‌دهد و ممکن است افزایش miR-1 نشانه‌ایی در این جهت باشد. این احتمال در عضله EDL با داشتن درصد کمی از تارهای نوع کُند نیز ممکن است بیشتر باشد. هرچند تارهای عضله نعلی، درصد بسیار بالایی از فیبرهای کُند انقباض را دارا هستند، اما ممکن است افزایش بیان miR-1 در این عضله، نشانه‌ای از تثبیت تارهای کُند انقباض در عضله نعلی باشد. نتایج برخی از تحقیقات انجام‌شده (۸) با یافته‌های این پژوهش مغایرت دارد که احتمالاً شدت و مدت پروتکل اعمال‌شده می‌تواند منجر به این تناقض‌ها شده باشد؛ زیرا با مقایسه مدت فعالیت و نوع آن، در مطالعات قبلی مشاهده گردید بیان miR-1 در اثر پروتکل‌های تمرینی یکسان نیست، به‌عنوان مثال دیده شده است فعالیت‌های مقاومتی و بلندمدت، تغییری در بیان آن ایجاد نمی‌کند (۹) و یا یک دوره ۷ روزه، فعالیت عملکردی بیان آن را کاهش می‌دهد (۵). در جلسات حاد تمرین مقاومتی، بیان miR-1 کاهش می‌یابد (۷)، البته نتایج برخی مطالعات (۱۷،۸) با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. اما باید اشاره کرد در پروتکل پژوهش حاضر و مطالعات دیگر، همسانی وجود ندارد.

همان‌طورکه اشاره شد فعالیت‌های بدنی بلندمدت موجب القای برنامه تبدیل تار می‌شود (۳۲). لذا احتمال دارد برنامه تبدیل تارها با بیان miR-1 در ارتباط باشد؛ زیرا دیده شده است در پاسخ به فعالیت مقاومتی حاد یکسان، miR-1 در افراد جوان کمتر از افراد مسن بیان می‌شود (۷)، لذا این احتمال وجود دارد که این تفاوت ریشه در تغییر نوع تاری داشته باشد که با افزایش سن رخ می‌دهد؛ زیرا میزان تارهای تند انقباض با افزایش سن، کاهش می‌یابد (۳۳). مطالعه Soci (سال ۲۰۱۱) که بر روی رت‌ها انجام شد تنها مطالعه‌ای است که در آن می‌توان شباهتی از نظر مدت و تا حدودی شدت تمرینی مشاهده کرد. وی نشان داد فعالیت استقامتی بلندمدت (۱۰ هفته شنا به مدت ۵ روز در هفته) می‌تواند با شدت متوسط و بالا موجب کاهش بیان miR-1 در عضله قلب هر دو گروه گردد (۶)، که باوجود شباهت نسبی در پروتکل تمرینی، نتایج آن با یافته‌های این پژوهش در تضاد بود. همان‌طورکه ذکر گردید در پژوهش یادشده، محقق بیان miR-1 را در بافت قلب ارزیابی کرده که ممکن است علت تناقض نتایج این مطالعات، ناشی از تفاوت بافت‌های مورد بررسی باشد. البته نباید از نقش پیوندگاه عصبی عضلانی نیز غافل شد؛ زیرا miR-1 در این قسمت نیز عملکردهایی دارد. گیرنده‌های نیکوتینی استیل‌کولین در عضلات کُند و تند انقباض تحت تأثیر فعالیت‌ها قرار می‌گیرند (۳۵،۳۴). گیرنده‌های استیل‌کولین در پیوندگاه عصبی عضلانی (۳۶)، از جمله اهداف miR-1 محسوب می‌شوند. miR-1 به‌وسیله جفت کردن تغییر فعالیت عضلانی با تغییر در عملکرد سیناپسی موجب تنظیم کارکرد سیناپسی می‌شود (۳۶). با توجه به نتایج این پژوهش و مطالعات دیگری که اشاره شد به‌نظر می‌رسد در سطح بیان ژن، فعالیت موجب افزایش miR-1 در عضله EDL می‌شود، در نتیجه افزایش miR-1 فرصتی است برای تغییر گیرنده‌های استیل‌کولین {میزان این گیرنده‌ها با کاهش miR-1 (۳۶) در اثر تمرینات مختلف ورزشی افزایش می‌یابند}. همچنین دیده شده است افزایش میزان miR-1 با افزایش MEF2 همزمان بوده و از این طریق حلقه ارتباطی بین عصب و عضله با miR-1/MEF2 حفظ می‌گردد (۳۷،۳۶). البته مطالعات متعددی نیاز است تا برآیند این تغییرات را در سطح پس‌رونویسی (تأثیر بر میزان پروتئین) بررسی کند؛ زیرا در این حالت می‌توان دیدگاه جامع‌تری نسبت به این موضوع پیدا کرد. با توجه به تأثیر و نقش miR-1 در فرآیندهای سلولی، تمرکز پژوهش‌ها بر نقش آن در بیماری‌ها، همچنین تغییرات پس‌رونویسی، لازم و ضروری است.

مهم‌ترین محدودیت در تحقیق حاضر این بود که در این تحقیق میزان بیان پروتئین‌هایی که تحت تأثیر miR-1 هستند مورد ارزیابی قرار نگرفت؛ زیرا با ارزیابی این پروتئین‌ها می‌توان دورنمای بهتری از عملکرد miR-1 داشت.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد فعالیت استقامتی باوجود تفاوت در نوع تنش و خصوصیات تار عضلانی، تأثیر مشابهی بر بیان miR-1 عضلات تند و کُند انقباض دارد که احتمالاً نشان‌دهنده فعال‌سازی فرآیند تمایز و تجدید ساختار در این عضلات است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی کسانی‌که در اجرای این پژوهش همکاری و مساعدت داشتند سپاسگزاری می‌شود.

References:

1. van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles. Trends Genet 2008;24(4):159-66.
2. Schratt G. Fine-tuning neural gene expression with microRNAs. Curr Opin Neurobiol 2009;19(2):213-9.
3. McCarthy JJ. The MyomiR network in skeletal muscle plasticity. Exerc Sport Sci Rev 2011;39(3):150-4.
4. van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, et al. A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance. Dev Cell 2009;17(5):662-73.

5. McCarthy JJ, Esser KA. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. J Appl Physiol (1985) 2007;102(1):306-13.

6. Soci UP, Fernandes T, Hashimoto NY, Mota GF, Amadeu MA, Rosa KT, et al. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. Physiol Genomics 2011;43(11):665-73.

7. Drummond MJ, McCarthy JJ, Fry CS, Esser KA, Rasmussen BB. Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids. Am J Physiol Endocrinol Metab 2008;295(6):E1333-40.

8. Nielsen S, Scheele C, Yfanti C, Akerstrom T, Nielsen AR, Pedersen BK, et al. Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle. J Physiol 2010;588(Pt 20):4029-37.

9. Davidsen PK, Gallagher IJ, Hartman JW, Tarnopolsky MA, Dela F, Helge JW, et al. High responders to resistance exercise training demonstrate differential regulation of skeletal muscle microRNA expression. J Appl Physiol (1985) 2011;110(2):309-17.

10. Fathi M, Gharakhanluo R, Solimani M, Rajabi H, Rezai R. The study of timing series response of microRNA-1 expression to resistance exercise in slow and fast muscles of Wistar male rats. Sport Biomotor Sci 2013;9(1):5-15. [Full Text in Persian]

11. Fathi M, Gharakhanlou R, Solimani M, Rajabi H, Rezaei R. The effect of resistance exercise on myoD expression in slow and fast muscles of wistar rats. J Sport Biosci 2015;6(4):435-49. [Full Text in Persian]

12. Fathi M, Gharakhanlou R. The effect of endurance Activity on left ventricle Hand2 gene expression in wistar male rat. Sport Physiol 2015;7(25):57-68. [Full Text in Persian]

13. Fathi M, Gharakanlou R, Abroun S, Mokhtari-Dizaji M, Rezaei R. The evaluation of cardiac changes following endurance training in male Wistar rats. Yafteh 2014;15(5):112-23. [Full Text in Persian]

14. Adams G. The molecular response of skeletal muscle to resistance training. Deut Z Sport Med 2010;61(3):61-7.

15. Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu QL, Callis TE, Hammond SM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. Nat Genet 2006;38(2):228-33.

16. Chen JF, Tao YZ, Li JA, Deng ZL, Yan Z, Xiao XA, et al. microRNA-1 and microRNA-206 regulate skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by repressing Pax7. J Cell Biol 2010;190(5):867-79.

17. Safdar A, Abadi A, Akhtar M, Hettinga BP, Tarnopolsky MA. miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice. PLoS One 2009;4(5):e5610.

18. Jin H, Yang R, Li W, Lu H, Ryan AM, Ogasawara AK, et al. Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000;279(6):H2994-3002.

19. Sun L, Shen W, Liu Z, Guan S, Liu J, Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. Life Sci 2010 2;86(1-2):39-44.

20. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta ct}$ method. Methods 2001;25(4):402-8.

21. Yuan JS, Reed A, Chen F, Stewart Jr. Statistical analysis of real-time PCR data. BMC Bioinformatics 2006;7:85.

22. Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. Biotechniques 2005;39(1):75-85.

23. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. Nat Protoc 2008;3(6):1101-8.

24. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res 2001;29(9):45.

25. Kehat I, Accornero F, Aronow BJ, Molkentin JD. Modulation of chromatin position and gene expression by HDAC4 interaction with nucleoporins. J Cell Biol 2011;193(1):21-9.

26. Miska EA, Karlsson C, Langley E, Nielsen SJ, Pines J, Kouzarides T. HDAC4 deacetylase associates with and represses the MEF2 transcription factor. EMBO J 1999;18(18):5099-107.

27. Potthoff MJ, Wu H, Arnold MA, Shelton JM, Backs J, McAnally J, et al. Histone deacetylase degradation and MEF2 activation promote the formation of slow-twitch myofibers. J Clin Invest 2007;117(9):2459-67.

28. Chen JF, Callis TE, Wang DZ. microRNAs and muscle disorders. J Cell Sci 2008;122(1):13-20.

29. Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: Physiology to molecular biology. J Appl Physiol 2001;91(2):534-51.

30. Adams GR, Hather BM, Baldwin KM, Dudley GA. Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training. J Appl Physiol 1993;74(2):911-5.

31. Campos G, Luecke T, Wendeln H, Toma K, Hagerman F, Murray T, et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. Eur J Appl Physiol 2002;88(1-2):50-60.

32. O'Neill DS, Zheng D, Anderson WK, Dohm GL, Houmard JA. Effect of endurance exercise on myosin heavy chain gene regulation in human skeletal muscle. Am J Physiol 1999;276(2 Pt 2):R414-9.

33. Hameed M, Orrell RW, Cobbold M, Goldspink G, Harridge SD. Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. J Physiol 2003;547(Pt 1):247-54.

34. Desaulniers P, Lavoie PA, Gardiner PF. Endurance training increases acetylcholine receptor quantity at neuromuscular junctions of adult rat skeletal muscle. Neuroreport 1998;9(16):3549-52.

35. 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;23(10):1576-81.

36. Simon DJ, Madison JM, Conery AL, Thompson-Peer KL, Soskis M, Ruvkun GB, et al. The microRNA miR-1 regulates a MEF-2-dependent retrograde signal at neuromuscular junctions. Cell 2008;133(5):903-15.

37. Naya FJ, Wu C, Richardson JA, Overbeek P, Olson EN. Transcriptional activity of MEF2 during mouse embryogenesis monitored with a MEF2-dependent transgene. Development 1999;126(10):2045-52.