پاسخ miR-206 در عضلات تند و کند انقباض رت‌های نر تمرین کرده و بی‌تمرین به یک وهله فعالیت مقاومتی وامانده ساز

عباس فلاح: کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. abbasfallah@gmail.com
* **رضا قراخانلو**: دانشیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (*نویسنده مسئول).ghara_re@modares.ac.ir
مسعود سلیمانی: دانشیار، گروه خون شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.soleim_m@modares.ac.ir
شیما مجتهد: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. shmojtahedi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۴

چکیده

زمینه و هدف: microRNAs گروهی از RNAs کوچک کدگذاری نشده هستند که در تنظیم منفی پس رونویسی بیان ژن و عضله زائی نقش دارند. هدف این مطالعه بررسی تغییرات بیان miR-206 در پاسخ به یک وهله فعالیت مقاومتی در عضلات تند و کند انقباض رت‌های نر ویستار تمرینی و بی تمرین بود.

روش کار: این مطالعه از نوع تجربی و با مدل حیوانی انجام شد.۳۰ رت نر ویستار به سه گروه کنترل (۶ سر)، تمرین کرده (۱۲ سر) و بی تمرین (۱۲ سر) تقسیم شدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین گروه تمرین کرده (تمرین شامل بالابردن وزنه روی نردبان به مدت ۸ هفته بود)، هر دو گروه تمرین کرده و بی تمرین، یک جلسه فعالیت مقاومتی وامانده ساز انجام دادند و در یک باز ه ی زمانی ۴ ساعته پس از فعالیت قربانی شدند. بیان miR-206 با تکنیک Real time – PCR اندازه‌گیری و تفاوت بین متغیرها با روش آماری تحلیل واریانس یک سویه بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌سویه نشان داد که در بیان miR-206 بین گروه‌های تمرین کرده و بی تمرین در مقایسه با گروه کنترل به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در سطح $p\leq ۰/۰۵$ در عضلات FHL و نعلی وجود دارد. هم‌چنین این پاسخ در هر دو گروه در عضله‌ی FHL افزایش و در عضله‌ی نعلی کاهش داشت.

نتیجه‌گیری: یافته‌های حاضر نشان می‌دهد که پاسخ miR-206 به یک وهله فعالیت مقاومتی وامانده ساز با و بدون ایجاد سازگاری در پی تمرین مقاومتی در عضلات کند و تند انقباض رت‌ها متفاوت است.

کلیدواژه‌ها:miR-206، تمرین مقاومتی، یک وهله فعالیت مقاومتی، Real time – PCR، نعلی، FHL

مقدمه

microRNAs گروه مهمی از RNAs کوچک کدگذاری نشده هستند که تأثیر پس رونویسی منفی بر بیان ژن دارند (۴-۱). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که miRNAs عضلات، تنظیم‌کننده‌ی بیان فاکتورهای رونویسی و ازجمله‌ی تعدیل‌کننده‌هایی مهم پیام‌رسانی در فرایندهای بنیادینی همچون تنظیم، تکثیر و تمایز در طی عضله زایی هستند (۶ و ۵).

سوء بیان miRNAs در بیماری‌های عضلانی مانند آتروفی عضلانی مشاهده شده است. miRNAs نقش مرکزی در تنظیمات پس رونویسی بیان ژن در طی عضله زایی ایفا می‌کنند. نشان داده شده که miR-206 عضله زایی را القا می‌کند (۸-۵). miRNAs مخصوص عضلات (۱، ۱۳۳، ۲۰۶، a 208، b 208، ۴۹۹) در اکثر فرایندهای عضله زایی (تکثیر، تمایز، ویژگی‌های تار) و هایپرتروفی و آتروفی عضلات درگیر هستند (۱۰ و ۹).

اخیراً در مورد miR-206 و عملکردش در عضله اطلاعات زیادی به دست آمده و نقش‌های جدید بالقوه‌ای برای miR-206 در زیست‌شناسی عضله‌ی اسکلتی پیشنهاد شده است. miR-206 عضوی از خانواده‌ی miR-1 از miRNAs عضلانی می‌باشد (۸ و ۶). پروفایل بیانی miRNA در عضلات اسکلتی حیوانات بسیاری نشان داد که بیان این

miRNA بسیار بالاست و شاید حتی غنی‌ترین miRNA در مقایسه با سایرین باشد (بسیار مهم). با استفاده از تکنیک‌های Northern blot, microarray, Rnase protection assay و RT-PCR دیده شده که miR-206 به میزان قابل‌توجهی در عضلات اسکلتی و به‌ندرت در عضلات قلبی بیان می‌شود (۶).

مادام تکامل عضله‌ی اسکلتی ژن‌های pax3 و pax7 قادرند تا از تمیز اولیه‌ی مایوبلاست‌ها ممانعت به عمل آورند. در حالتی که بیان این ژن‌ها کاهش نیابد این تمایز اولیه به تأخیر خواهد افتاد، افزایش بیان miR-206 در همین حین منجر به هدف قرار داده شدن و سرکوب بیان این ژن‌ها و تسریع در تمایز مایوبلاست‌ها خواهد شد.

در بالادست miRNA-206 فاکتور رونویسی MyoD قرار دارد که برنامه‌ی تمایز عضله‌ی اسکلتی را فعال می‌کند. این فاکتور علاوه بر فعال‌سازی ژن‌های مخصوص عضله زایی، miRNAs را که بیان ژن‌های مهار عضله زایی را در طی تمایز عضله‌ی اسکلتی سرکوب می‌کنند، فعال می‌کند (۷-۵). خانواده‌ی MyoD از فاکتورهای رونویسی میوژنیک، نقشی مرکزی را در کنترل عضله زایی در عضله‌ی اسکلتی بازی می‌کنند. سطوح MyoD mRNA بین عضلات کند و تند متفاوت است که این نکته پیشنهاد می‌کند که MyoD ممکن است جنبه‌هایی از نوع تار را تنظیم کند (۱۲). نشان داده شده که پروتئین‌های MyoD در طی تکوین به هسته‌ی فیبرهای نوع تندتر در عضلات تند محدود می‌شوند. MyoD بیان miR-206 مخصوص عضله‌ی اسکلتی را تحریک می‌کند (۶ و ۵).

Myostatin نیز یکی دیگر از ژن‌هایی است ک درگیر در روند عضله زایی است و مورد هدف miR-206 قرار می‌گیرد. در موش‌هایی که Myostatin شان ناک اوت شد ۲ تا ۳ برابر افزایش در توده ی عضله نسبت به گروه کنترل مشاهده شده است. به‌علاوه گزارش شده که بی‌وزنی، اضافه‌بار و تمرین بیان Myostatin را تغییر می‌دهند. miR-206 می‌تواند بیان Myostatin را کاهش دهد و منجر به افزایش توده‌ی عضلانی شود (۱۱).

عضله‌ی اسکلتی یک بافت با خصوصیت تغییرپذیری بالا است که تحت تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی در پاسخ به تحریکاتی از قبیل تمرین و فعالیت بدنی قرار می‌گیرد. تمرین مقاومتی یک محرک بالقوه برای افزایش سنتز پروتئین عضله است که منجر به هایپرتروفی عضلانی و افزایش قدرت می‌شود (۱۳).

با توجه به اهمیت miRNAs مخصوص عضله در تکوین عضله، جالب‌توجه خواهد بود که نقش آن‌ها را در شکل‌پذیری عضله‌ی اسکلتی بزرگسالان تعیین کنیم (۶ و ۵). هدف ما در این مطالعه پاسخ به این سؤالات اساسی و مهم بود؛ ۱- پاسخ miR-206 به یک وهله فعالیت مقاومتی وامانده ساز در عضلات تند FHL (Flexor Hallucis Longus) و کند انقباض نعلی (Soleus) رت‌ها پس از سازگاری ایجاد شده در پی ۸ هفته تمرین مقاومتی و بدون ایجاد سازگاری در رت‌هایی که تا روز آزمون هیچ تمرینی انجام نداده بودند و ۲- همچنین در پی چگونگی پاسخ مشاهده شده در دو نوع عضله؛ miRNA تمایزی 206 در کدام نوع تار میل به افزایش بیشتری در پی فعالیت ورزشی دارد؟

روش کار

نگه‌داری از حیوانات، تمرین مقاومتی و تهیه بافت‌ها: این تحقیق از نوع تجربی و با مدل حیوانی انجام شد. ۳۰ سر رت نر ۸ هفته با میانگین وزنی ۲۵±۲۷۰ از مرکز حیوانات رازی خریداری و به‌طور تصادفی به ۳ گروه کنترل (۶ سر)، تمرین کرده (۱۲ سر) و بی تمرین (۱۲ سر) تقسیم شدند. پروتکل تمرینی برای گروه تمرین کرده از ۸ هفته تمرین مقاومتی تشکیل شده بود. رت‌ها در چرخه‌ی شبانه‌روزی استاندارد ۱۲ ساعت روز ۱۲ ساعت شب نگه‌داری شدند. تمرین در بعدازظهرها انجام شد، آب و غذای کافی در اختیار تمامی حیوانات قرار گرفت و هر هفته وزن حیوانات اندازه‌گیری می‌شد.

برای تمرین وزنه به دم رت‌ها متصل شده بود که باید این وزنه را از نردبانی دارای ۲۶ پله بالا می‌بردند. در هر بار بالا رفتن؛ این حیوانات ۱۳ بار

با دست و پای چپ و ۱۳ بار با دست و پای راست وزنه‌ی الحاقی را لیفت می‌کردند (۱۴). گروه تمرین کرده ۵ روز آشنا سازی داشتند و پس از ۷۲ ساعت استراحت تمرین آن‌ها شروع شد. وزنه‌ی تمرینی این گروه با ۵۰٪ وزن بدنشان شروع شد و به‌تدریج در طی ۸ هفته به ۲۰۰٪ وزن بدن افزایش یافت. افزایش این وزنه‌ها از هفته‌ی اول تا چهارم، هر هفته ۳۰٪ وزن بدن و در چهار هفته‌ی پایانی تمرین هر هفته ۱۵٪ وزن بدن بود.

گروه بی تمرین پس از ۳ روز آشنا سازی به مدت ۷۲ ساعت استراحت داشت و پس از آن به همراه گروه تمرین کرده یک جلسه فعالیت مقاومتی وامانده ساز را انجام دادند. گروه تمرین کرده ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین یک جلسه فعالیت مقاومتی وامانده ساز را انجام دادند. طی این جلسه تمرین با وزنه‌ای به جرم ۵۰٪ وزن بدن شروع و تا حد وامانده‌سازی پیش رفت. برای هر دو گروه تمرینی ۴ ست با ۵ تکرار در نظر گرفته شد که بین ست‌ها ۵ دقیقه و بین تکرارها ۳۰ تا ۴۵ ثانیه استراحت لحاظ شد. گروه کنترل نیز تمام مدت تمرین را در قفس گذراندند.

تمام گروه‌ها با استفاده از تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (100 mg/kg body wt) و زایلازین (10 mg/kg) قربانی شدند. بعد از تشریح، بافت‌ها سریعاً در نیتروژن مایع منجمد، سپس در ۸۰- درجه برای مراحل بعدی تحقیق نگه‌داری شدند.

جداسازی RNA تام: در این مرحله هر دو هیپوکمپ چپ و راست از هر حیوان در 1ml از محلول کایزول (QIAGEN) ادغام شد و با استفاده از دستگاه همگن‌کننده‌ی بافت (QIAGENE) کاملاً هموژن شد. در مرحله‌ی بعد جداسازی RNA از فاز آبی به کمک 2.5/0 ml کلروفرم انجام پذیرفت. RNA استخراج شده با 1ml اتانول سرد ۷۰٪ شستشو و خشک شد و سپس به آن آب استریل (5/1 µl/mg tissue) اضافه شد. جهت سنجش کمی RNA استخراج شده از دستگاه بایو فوتومتر، (eppendorf) با طول موج 260nm استفاده شد. میانگین OD (Optical Density) خوانده شده ۱/۸۸ (مقیاس ۱/۸-۲) بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده بود.

آنالیز بیان miRNA بالغ: جهت انجام Real time PCR از دو کیت کمپانی strata gene در کنار هم استفاده شد. ۱. Strata gene miRNA (600036 1st-strand cDNA synthesis kit)، برای دو مرحله‌ی پلی آدنیلاسیون و cDNA سازی و ۲. High specificity miRNA QPCR core reagent kit (600545). جهت انجام real time PCR پس از ساخت cDNA، پرایمر Forward miR-206 با توالی TGG AAT GTA AGG AAG TGT GTG G و با استفاده از نرم افزار GENE RUNNER طراحی شد و با مراجعه به پایگاه BLAST،NCBI شد. Universal reverse primer به‌عنوان پرایمر Reverse از کیت شماره‌ی ۱، برای مرحله Real time PCR مورد استفاده قرار گرفت.

واکنش پلی آدنیلاسیون: بر اساس دستورالعمل کیت؛ پس از آماده‌سازی ترکیبات موردنظر در این مرحله برای هر یک از ۱۸ نمونه، میکروتیوب‌ها را به آرامی ورتکس کرده و هر نمونه ۳۰ دقیقه در C37° جهت انجام واکنش پلی آدنیلاسیون و ۵ دقیقه در C 95° جهت غیرفعال کردن آنزیم PAP انکوبه شد. نمونه ها بلافاصله جهت انجام مرحله‌ی بعدی به روی یخ منتقل شدند.

ساخت cDNA: طی این مرحله با استفاده از پرایمر مکمل ناحیه پلی آدنیله (آداپتور پرایمر)، تک رشته cDNA، مکمل miRNA ساخته شد. در این مرحله نیز پس از آماده‌سازی ترکیبات موردنظر برای هر نمونه‌ی پلی آدنیله شده، بدون ورتکس کردن و به آرامی ترکیب در دستگاه ترموسایکلر Biorad ۵ دقیقه در C55°، ۱۵ دقیقه در C25°، ۳۰ دقیقه درC42° جهت ساخت cDNA به وسیله‌ی آنزیم RT و ۵ دقیقه در C95° جهت غیرفعال کردن آنزیم RT انکوبه شدند.

Real time PCR: در این مرحله به جهت بررسی میزان افزایش بیان miR-124 نسبت به نمونه ی کنترل بر اساس دستورالعمل کیت µl1 از پرایمر miR-206 Forward، 1 µl از cDNA و Master Mix حاوی فلورسنت Eva green dye به

نمونه‌ها اضافه شد و در دستگاه (Real time PCR Corbett) با برنامه‌ی C95° برای ۱۰ دقیقه، C95° برای ۱۰ ثانیه، 60° C برای ۱۵ ثانیه و C72° برای ۲۰ ثانیه PCR شد. واکنش از مرحله‌ی دوم به بعد، برای ۴۰ سیکل تکرار شد. یک نمونه کنترل منفی با عنوان (NTC (No template Control نیز تهیه شد که شامل تمامی موارد فوق به غیر از cDNA بود. برای هر نمونه cDNA نیز، یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر snRNA ی (non-coding small nuclear RNA) U87 (ACA ATG ATG ACT TAT GTT T) به‌عنوان کنترل داخلی، جهت آزمون حضور cDNA، تهیه شد.

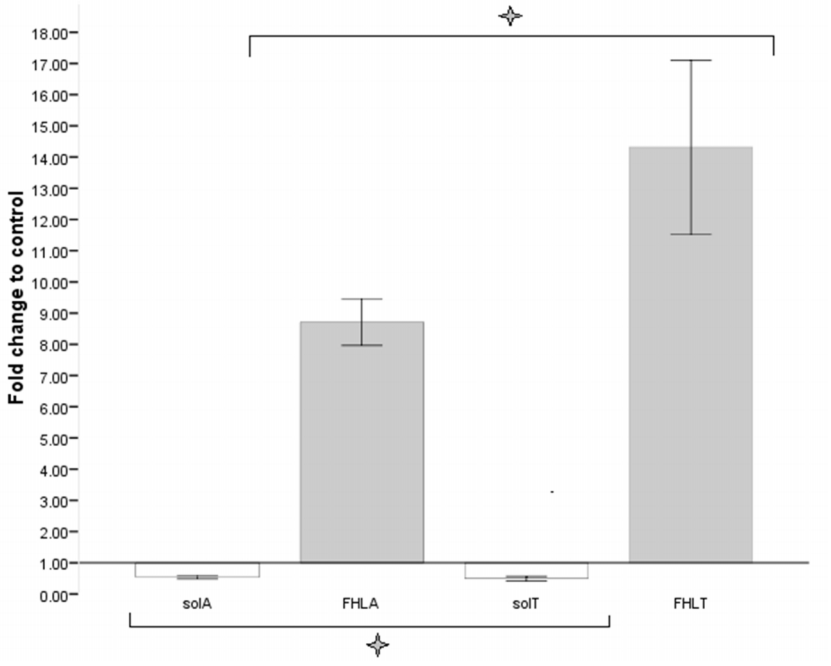
محاسبات: تغییرات بیان miR-206 نسبت به گروه کنترل پس از نرمال شدن با ژن خانه‌داری U87، با استفاده از روش $Ct\Delta\Delta^{-2}$ محاسبه شد.

یافته‌ها

پردازش داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS19 و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌سویه (One way ANOVA) به‌منظور تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌های گروه‌های مختلف انجام شد. برای پیگیری و بررسی تفاوت‌های معنی‌دار از آزمون تعقیبی (Post hoc LSD) استفاده شد. ارزش P در سطح کوچک‌تر از ۰/۰۵ گزارش شد. بیان miR-206 در عضله‌ی FHL در گروه بی تمرین؛ ۸/۷۰ و در گروه تمرینی ۱۴/۳۱ برابر نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار (p=۰/۰۰۰۱) و در عضله‌ی نعلی در گروه تمرین

جدول ۱- توصیف کلی از مقادیر کمی بیان miR-206

گروه و ژن		شاخص آماری	تعداد	میانگین	بیشترین	کمترین	انحراف استاندارد
کنترل	miR-206	FHL	۶	۱	۱	۱	۱
		Sol		۱	۱	۱	۱
تمرین کرده	miR-206	FHL	۱۲	۱۴/۳۱	۲۱/۳۱	۷/۲۴	۴/۴
		Sol		۰/۴۹	۰/۶۴	۰/۳۰	۰/۱
بی تمرین	miR-206	FHL	۱۲	۸/۷	۱۰/۳۶	۶/۴۲	۱/۱۷
		Sol		۰/۵۳	۰/۶۳	۰/۳۷	۰/۰۸



شکل ۱- تغییرات بیان microRNA-206 در پاسخ به یک وهله فعالیت مقاومتی وامانده ساز.

اختصارهای A و T به ترتیب نمایانگر گروه های بی تمرین و تمرین کرده می باشند. علامت ستاره نشان دهنده ی تغییرات معنی دار نسبت به گروه کنترل است.

نکرده ۴۷٪ و در گروه تمرینی ۳۶٪ نسبت به گروه کنترل کاهش داشت (p=۰/۰۰۰۱). بین گروه‌های تمرین کرده و بی تمرین تفاوت معنی‌داری در میزان بیان miR-206 در عضله‌ی نعلی مشاهده نشد (p=۰/۲۲). اما این تفاوت در عضله‌ی FHL معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۰۱) (جدول ۱). گروه‌ها در میزان بیان miR-206 نسبت به هم اختلاف معنی‌داری داشتند (F=۹۴/۹۸) (نمودار ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف اصلی مطالعه‌ی حاضر بررسی تغییرات بیان miR-206 در عضلات تند و کند انقباض رت‌های نر تمرین کرده و بی تمرین در پاسخ به یک وهله فعالیت مقاومتی وامانده ساز بود. یافته‌ی اصلی این تحقیق این بود که بیان mir-206 در عضله‌ی FHL در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل افزایش و در عضله‌ی Sol در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل کاهش داشت. در مورد تأثیر تمرین بر بیان miR-206 تحقیقات محدودی انجام شده است.

مک کارتی و همکارانش (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای با اورلود موش‌های C57 به‌وسیله‌ی روش Functional overload بر روی عضله‌ی Sol، افزایشی ۱۸/۳ برابری در miR-206 در عضله‌ی نعلی نسبت به گروه کنترل مشاهده کردند. آن‌ها گزارش کردند که بیان miR-206 در عضلات نعلی و پلانتاریس طی هایپرتروفی با یکدیگر متفاوت است به‌طوریکه بیانmiR-206 در عضله‌ی Sol ۷ برابر بزرگ‌تر از بیان آن در پلانتاریس بود (۷).

درآموند و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی بیان miRNA پیشرو و بالغ در مردان جوان و سالخورده پس از یک جلسه تمرین باز کردن پا همراه با خوردن اسیدهای آمینه‌ی ضروری به‌عنوان محرک‌های آنابولیکی پرداختند. آن‌ها دریافتند که Pri–miR-206 در مردان پیر و جوان در زمان‌های، ۳ و ۶ ساعت پس از تمرین در عضله‌ی پهن جانبی بالا رفت درحالی‌که در مورد miR-206 تغییرات معنی‌دار نبود (۱۵).

در مطالعه‌ی دیگر درآموند و همکارانش (۲۰۰۹) به بررسی بیان miRNA های عضله‌ی اسکلتی پس از یک جلسه تمرین مقاومتی پرداختند و بیوپسی‌هایی در لحظه‌های زمانی ۰، ۶ و ۲۴ ساعت پس از تمرین از عضله‌ی پهن جانبی گرفتند. آن‌ها مشاهده کردند که miR-206، ۶ و ۲۴ ساعت پس از تمرین کاهش بیان داشت ولی در لحظه ی زمانی صفر پس از تمرین تغییری مشاهده نکردند (۱۶). با توجه به تفاوت نتایج مطالعات فوق با یکدیگر و تفاوت برخی از آن ها با نتایج مطالعه‌ی حاضر احتمال می‌رود عواملی چون نوع تمرین، نوع عضله، نوع گونه و زمان‌های مورد مطالعه و همچنین بعضی از محرک‌های اعمال شده و شرایط آزمایشگاهی از دلایل این اختلاف نتایج باشند.

به دلیل در تقابل بودن تمرین مقاومتی با آتروفی، بررسی مطالعات انجام شده در زمینه تأثیر آتروفی بر بیان miR-206 می‌تواند مهم باشد. مک کارتی و همکارانش (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای به بررسی بیان miRNAs در عضله‌ی نعلی موش صحرائی در پاسخ به تعلیق پا پرداختند. آن‌ها مشاهده کردند که بیان ۱۸ نوع از انواع miRNAs در عضله‌ی نعلی به‌طور معنی‌داری در طی ۲ و یا ۷ روز تعلیق پا تغییر کرد ولی بیان miR-206 در این مدت تغییری نکرد (۷). در مطالعه‌ی دیگری آلن و همکارانش (۲۰۰۶) به بررسی بیان miR-206 در عضله‌ی دوقلوی موش پس از ۱۲ روز بی‌وزنی در فضا پرداختند. آن‌ها کاهش ۵۰ درصدی و معنی‌داری را در بیان miR-206 گزارش کردند که با یافته‌های مطالعه‌ی قبلی مک کارتی در تقابل است (۱۶). با توجه به نتایج مطالعه‌ی آلن در کاهش miR-206 در عضله‌ی تند انقباض دوقلو موش بر اثر آتروفی ممکن است افزایش miR-206 در اثر تمرین مقاومتی در عضله‌ی FHL در مطالعه‌ی حاضر بهتر توجیه شود. از سوی دیگر با توجه به هدف‌های miR-206 که اوتروفین (Utrn) و فولیستاتین (Fstl1) می‌باشند و همچنین نتایج حاصله از تحقیق حاضر احتمال می‌رود miR-206 در مکانیسم‌های سازگاری که به‌وسیله‌ی تمرین مقاومتی ایجاد می‌شود درگیر باشد و توجیهی مبنی بر سازوکارهای تأثیر مثبت تمرین مقاومتی بر سارکوپنیا و بیماری‌های مرتبط

با دیستروفین را عرضه نماید.

به‌طورکلی می‌توان گفت که در مطالعه‌ی حاضر بیان miR-206 در عضله‌ی نعلی کاهش و در عضله‌ی FHL افزایش نشان داد که این رخداد تمایزی بودن این miRNA را برجسته می‌کند و همچنین نشان می‌دهد که miR-206 از افزایش فعالیت متأثر می‌شود و از سوی دیگر تفاوت بین دو عضله را نیز احتمالاً می‌توان به میزان درگیری آن‌ها با این مدل تمرینی نسبت داد.

لی و فارار (۲۰۰۳) دریافتند که بیشترین افزایش محتوای پروتئینی در اثر تمرین مقاومتی مشابه با تحقیق حاضر در عضله‌ی FHL صورت می‌گیرد و مشاهده کردند که بعد از ۸ هفته تمرین حدود ۲۳٪ افزایش حجم در این عضله صورت گرفت (۱۳). در تحقیق حاضر نیز تغییرات معنی‌دار را در فاکتورهای مورد مطالعه در عضله‌ی FHL می‌بینیم. البته در این تحقیق‌هایپرترفی مورد مطالعه قرار نگرفت.

myoD یک فاکتور رونویسی خاص عضله است که در عضله زایی درگیر است. سطح MyoD mRNA بین عضلات کند و تند متفاوت است که این مطلب پیشنهاد می‌کند که MyoD جنبه‌هایی از نوع فیبر را تنظیم می‌کند (۱۶). در مطالعه‌ای هوقس و همکارانش (۱۹۹۷) نشان دادند که در جوندگان myoD به‌طور عمده در تار عضلانی FHL بیان می‌شود و با توجه به هایپرتروفی که به‌وسیله‌ی تمرین مقاومتی ایجاد می‌شود و افزایش بیان miR-206 در عضله‌ی FHL در تحقیق حاضر پیش‌بینی می‌شود که myoD نقش عمده‌ای در ایجاد سازگاری‌های ناشی از تمرین در تحقیق حاضر ایفا کند.

پیش‌بینی شده که myoD به‌عنوان یک فعال‌کننده‌ی نسخه‌برداری miR-206 عمل می‌کند که به‌وسیله اتصال به DNA بالادست miR-206 باعث فعال‌سازی نسخه‌برداری آن می‌شود (۱۴ و ۲۰). برای درک بهتر این امر پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده بیان pri-miR-206 و miR-206 در ارتباط با عواملی نظیر myoD مورد بررسی قرار گیرد.

ویلیامز و همکارانش گزارش کردند که miR-206 پیشرفت بیماری Amyotrophic: ALS (lateral sclerosis) را به تأخیر می‌اندازد و همچنین دوباره زائی سیناپس‌های عصبی در موش را تقویت می‌کند. با این که موش‌هایی که به‌طور ژنتیکی فاقد miR-206 بودند سیناپس‌های عصبی – عضلانی طبیعی را در طی نمو شکل دادند ولی فقدان miR-206 در موش های مدل ALS پیشرفت بیماری را تسریع کرد؛ بنابراین miR-206 پیشرفت ALS را به‌وسیله‌ی حساس کردن نورون‌های حرکتی آسیب‌دیده و تسریع دوباره زایی جبرانی سیناپس‌های عصبی – عضلانی، کند می‌کند (۲۰).

در مطالعه‌ای که کاسپار و همکارانش (۲۰۰۵) بر روی موش های مدل ALS انجام دادند، مشاهده کردند که ادغام ورزش و ژن‌درمانی اثر تشدیدی و تقویت‌کننده در کند کردن روند پیشرفت بیماری دارند. آن‌ها دریافتند که ورزش بهینه باعث افزایش و بهبود عملکرد و قدرت عضلانی، تضعیف مرگ آستروسیت و افزایش طول عمر در مدل‌های ALS می‌گردد (۲۱). همچنین به تازگی مشاهده شده است که بهبود قدرت بازکنندگی زانو در پی تمرین مقاومتی در افراد مسن به برخی miRNAs از جمله miR-206 وابسته است و این RNAs کوچک به‌عنوان مارکرهای زیستی پاسخ‌دهنده به تمرین مقاومتی تشخیص داده شده‌اند (۲۲). لذا با انجام تحقیق‌های بنیادینی نظیر تحقیق حاضر می‌توان به مطالعات کاربردی در حال انجام در این زمینه بیشتر کمک کرد.

ازآنجاکه تحقیق حاضر از نوع تجربی بود شرایط تقریباً کنترل شده بود ولی برخی موارد نظیر عدم کنترل فعالیت رت‌ها در فاز شبانه و یا تغییرات فیزیولوژیکی احتمالی در محیط آزمایشگاه در کنترل محقق نبود. با توجه به جنبه‌های مشترک ۳ مطالعه‌ی کاسپار، ویلیامز و تحقیق حاضر در مورد تمرین، miR-206 و ALS احتمال می‌رود که شناسایی بهتر مکانیسم‌های درگیر در تأثیر تمرین بر بیماری ALS با تأمل در نقش miR-206 حاصل شود. بنابراین، طراحی هدفمند مطالعات آینده در این زمینه و استفاده از برنامه‌ی تمرین مقاومتی مناسب برای کند کردن روند بیماری در

این دسته از بیماران نیز منطقی به نظر می‌رسد. به‌علاوه با توجه به این مسئله که در تحقیق حاضر بیان miR-206 در عضله‌ی کند (Sol) کاهش و در عضله‌ی تند (FHL) افزایش یافت می‌توان نتیجه گرفت که شاید نقش miR-206 پایدار کردن فنوتیپ نوع I به‌وسیله‌ی سرکوب کردن فنوتیپ نوع II باشد. لذا با این دیدگاه شاید بتوان بخشی از مکانیسم اثر تمرین مقاومتی را در تمایز تار توجیه کرد.

منابع

1. Khudayberdiev E, Fiore R, Schratt G. MicroRNA as modulators of neuronal responses. Commun Integr Biol. 2009; 2(5):1-3.
2. Brodersen P, Voinnet O. Revisiting the principles of microRNA target recognition and mode of action. Nat Rev Mol Cell Biol. 2009; 10(2):141-8.
3. Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. Nature. 2008;455(7209):58-63.
4. Moazed D. Small RNAs in transcriptional gene silencing and genome defence. Nature. 2009;22; 457(7228):413-20.
5. Callis TE, Chen ZD, Wang DZ. Muscling Through the microRNA World. Exp Biol Med. 2008; 233:131-138.
6. McCarthy JJ. MicroRNA-206: the skeletal muscle-specificmyomiR. Biochim Biophys Acta. 2008;1779(11):682-691.
7. McCarthy JJ, Esser KA, Peterson CA, et al. Evidence of MyomiR network regulation of myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle atrophy. Physiol Genomics. 2009;39:219-226.
8. Kim HK, Lee YS, Sivaprasad U, et al. Muscle-specifi c microRNA miR-206 promotes muscle differentiation. The Journal of Cell Biology. 2006; 5:677-687.
9. Bell ML, Buvoli M, Leinwand LA. Uncoupling of Expression of an Intronic microRNA and its Myosin Host Gene by Exon Skipping. Mol. Cell. Biol. 2010;30(8):1937-45.
10. van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, et al. A Family of microRNAs Encoded by Myosin Genes Governs Myosin Expression and Muscle Performance. Developmental Cell. 2009;17:662–673.
11. Rosenberg MI, Georges SA, Asawachaicharn A, et al. MyoD inhibits Fstl1 and Utrn expression by inducing transcription of miR-206. J Cell Biol. 2006;175(1):77-85.
12. Hughes SM, Koishi K, Rudnicki M, Magss AM. MyoD protein is differentially accumulated in fast and slow skeletal muscle fibres and required for normal fibre type balance in rodents. Mech Dev. 1997;61(1-2):151-63.
13. Lee S, Farrar JP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. American Society of Exercise Physiologists. 2003;6(2):80-87.
14. McCarthy JJ, Esser KA. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. J Appl Physiol. 2007; 102:306–313.
15. Godfrey JK, Kayser BD, Gomez GV, Bennett J, Jaque SV, Sumida KD. Interrupted Resistance Training and BMD in Growing Rats. Int J Sports Med. 2009;30:579-584.
16. Allen DL, Bandstra ER, Harrison BC, Thorng S, Stodieck LS, Kostenuik PJ, et al. Effects of spaceflight on murine skeletal muscle gene expression. J Appl Physiol. 2009;106:582-595.
17. 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: E1333-E1340.
18. Drummond MJ, Glynn EL, Fry CS, Timmerman KL, Volpi E, Rasmussen BB. Essential amino acids increase microRNA-499, -208b, and -23a and downregulate myostatin and myocyte enhancer factor 2C mRNA expression in human skeletal muscle. J Nutr. 2009;139(12): 2279-84.
19. Marini M, Veicsteinas A. The exercised skeletal muscle. Eur J Translational Myol. 2010;20 (3):105-120.
20. Williams AH, Valdez G, Moresi V, et al. MicroRNA-206 Delays ALS Progression and Promotes Regeneration of Neuromuscular Synapses in Mice. Science. 2009;326(5959):1549-1554.
21. Kaspar BK, Frost LM, Christian L, Qi X, McAnally J, Elliott JL, et al. Synergy of Insulin-like Growth Factor-1 and Exercise in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Ann Neurol. 2005; 57(5): 649-55.
22. Zhang T, Birbrair A, Wang ZM, Messi ML, Marsh AP, Leng XI. Improved knee extensor strength with resistance training associates with muscle specific miRNAs in older adults. Exp Gerontol. 2014;62:7-13.

The expression of miR-206 in response to one session resistance exercise in fast and slow twitch skeletal muscles of Wistar male rats

Abbas Fallah, MA of Sport Physiology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. abbasfallah@gmail.com
***Reza Gharekhanloo**, Associate Professor, Department of Physical Education, Faculty of Human Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (*Corresponding author). ghara_re@modares.ac.ir
Masood Soleimani, Associate Professor, Department of Hematology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. soleim_m@modares.ac.ir
Shima Mojtahed, PhD student of Sport Physiology, Department of Physical Education, Faculty, of Physical Education, Tehran University, Tehran, Iran. shmojtahedi@ut.ac.ir

Abstract

Background: MicroRNAs are non-coding RNAs that are involved in post-transcriptional down regulation of genes and myogenesis. The purpose of this study was to investigate the effects of an acute bout of exhaustive resistance exercise on miR-206 expression in slow and fast twitch skeletal muscles in trained and untrained male wistar rats.

Methods: This experimental study was conducted with the animal model. 30 male wistar rats, were assigned in three groups: control (n=6), traind (n=12) and untrained (n=12). 48 h after the last training session in trained group (Resistance training included weight lifting up on a vertical ladder for 8 weeks), trained and untrained groups performed an acute exhaustive bout of resistance exercise and were sacrificed in a 4 time zone. Expression of miR-206 was measured by Real time – PCR technique. The differences between variables were determined by one way ANOVA method.

Results: statistical analysis by one-way ANOVA showed that between trained and untrained groups in FHL and Sol muscles there was a significant difference (p=0.05) statistically. Also in both groups expression of miR-206 in FHL muscle elevated and in Sol muscle decreased.

Conclusion: The findings showed that response of miR-206 to one bout resistance exercise with and without adaptation to training in fast and slow muscles is different.

Keywords: MiR-206, Resistance training, Resistance exercise, SOL, FHL, Real time PCR