مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۹، شماره ۱۲، اسفند ۱۴۰۱ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

اثر همزمان تمرین مقاومتی با شدت بالا همراه با مکمل ارگانیک و غیرارگانیک بر بیان ژن myoD در عضله نعلی موش‌های نر بالغ

آمنه زندی: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

طاهره باقرپور: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران (* نویسنده مسئول) bagherpoor_ta@yahoo.com

نعمت ا... نعمتی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: مصرف مکمل‌ها راهکاری مناسب در جهت مهار عوارض ناشی از فعالیت‌های بدنی است، بنابراین هدف مطالعه، بررسی اثر همزمان یک جلسه تمرین مقاومتی با شدت بالا و مقایسه عملکرد مکمل‌های ارگانیک و غیر ارگانیک بر بیان ژن myoD در عضله کند انقباض عضله نعلی موش‌های نر بالغ انجام شد.

روش کار: در این مطالعه آزمایشی، تعداد ۴۰ موش نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰۰- ۱۰۰ گرم تهیه و در گروه‌های کنترل (۱۰ = تعداد)، تمرین (۱۰ = تعداد)، اسپیرولینا+ تمرین (۱۰ = تعداد)، گلوتامین+ تمرین (۱۰ = تعداد) تقسیم شدند. موش‌های گروه تمرین، مدت دو هفته برنامه تمرین ۳ روز در هر هفته راه رفتن روی سطح شیبدار (۴ ست، ۵ تکرار، ۳۰ ثانیه استراحت بین تکرارها) انجام دادند و گروه مکمل+ تمرین، برنامه مصرف مکمل پنج روز قبل از اجرای پروتکل اصلی روزانه یک بار نیم گرم /کیلوگرم وزن بدن مصرف داشتند.

یافته‌ها: نتایج تحلیل واریانس نشان داد که بین میزان بیان نسبی ژن MyoD در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود دارد [$P \leq ۰/۰۰۱$ و $F =۱۰۱۰/۱۸۲$] و همچنین نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که این تفاوت بین گروه تمرین و تمرین+ اسپیرولینا ($P \leq ۰/۰۰۱$) و نیز گروه تمرین و تمرین+ گلوتامین معنی‌دار می‌باشد ($P \leq ۰/۰۰۱$). در حالی که بین دو گروه تمرین+ اسپیرولینا و تمرین+ گلوتامین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P = ۰/۲۴۵$).

نتیجه‌گیری: به طور کلی می‌توان نتیجه گیری کرد که مصرف مکمل ارگانیک، شیوه‌ی مناسبی جهت جلوگیری از کاهش بیان و میزان آسیب‌های وارده به تارهای عضلانی پس از ورزش مقاومت با شدت بالا است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

کلیدواژه‌ها

اسپیرولینا،

ژن MyoD،

عضله کند انقباض،

آسیب عضلانی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸

شیوه استناد به این مقاله:

Zandi A, Bagherpoor T, Nemati N. Simultaneous Effect of a High-Intensity Resistance Training with Organic and Inorganic Supplements on myoD Gene Expression in the Horseshoe Muscle of Adult Male Mice. Razi J Med Sci. 2023;29(12): 1-11.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

Razi Journal of Medical Sciences. 2023;29(12):1-11. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Simultaneous Effect of a High-Intensity Resistance Training with Organic and Inorganic Supplements on myoD Gene Expression in the Horseshoe Muscle of Adult Male Mice

Ameneh Zandi: PhD Student in Sports Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
Tahereh Bagherpoor: Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran (* Corresponding author) bagherpoor_ta@yahoo.com
Nematolah Nemati: Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Abstract

Background & Aims: Increasing the intensity of physical activity and as a result increasing oxidative stress causes free radicals in the body and these free radicals destroy cell biological structures such as proteins, fats, membranes, and structures. They are inherited. Considering that taking supplements can be a good way to control the effects of strenuous physical activity; therefore, it is important to study the mechanism of action of complementary compounds of organic and non-organic origin and compare their effects and performance at the biochemical and genetic level. In this regard, the study of the expression of genes related to the inhibition of oxidative stress can be a direct and appropriate solution to evaluate the function of various supplements. The satellite cells beneath the skeletal muscle basement membrane are adjacent to Myofibrillar sarcoma and makeup 2 to 7% of the nuclei of a muscle fiber. The number of satellite cells depends on the type of muscle fiber, age, and species. The amount of these cells varies at different ages; in the neonatal, adult, and older mice, they make up 30%, 4%, and 2% of the muscle nuclei, respectively, and as they age, the decrease in satellite cells increases the number of muscle nuclei. It becomes glycolytic fibers. The migration capacity of satellite cells depends on the integrity and integrity of the cell's basement membrane. After rupture (high-intensity destruction) of the basement membrane by muscle damage, satellite cells migrate to adjacent damaged myofibrils using tissue connections, but only if tissue damage is limited. And if there is no rupture in the basal lamina, the satellite cells move to the affected area from the beginning of the healthy myofibril section (below the membrane) to participate in the repair of muscle tissue. Activation of satellite cells (six hours after muscle injury) rapidly increases the expression of the myoD gene, which is why this factor transcribes into adult skeletal muscle, activates and multiplies satellite cells. They take into account. The amount of myoD transcription factor mRNA varies at different ages and is more pronounced in fast-twitch muscles. In animal models, the amount of myoD gene protein is lower in the fast and slow-twitch muscles of older mice. This value is lowest in the horseshoe muscle and therefore the response of the horseshoe myoD gene (slow-twitch muscle) is also lower than that of the Plantaris muscle (fast-twitch muscle). In addition, the effects of supplements on myoD gene expression in muscle have not been studied, but in a study, the protective effect of organic Spirulina supplementation in preventing the destruction of hereditary structures in mice has been shown and appears. Consumption of this supplement is a good way to prevent injuries caused by oxidative stress in muscle, and most of the research done on this gene has paid less attention to slow-twitch and fast-twitch muscle contraction and experimental models (animal and human). While the protocols for this research were either endurance or the

Keywords
Spirulina,
Myod Gene,
Slow-Twitch Muscle,
Muscle Injury

Received: 17/12/2022
Published: 07/02/2023

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

measurement times after physical activity was not appropriate. With this description, the aim of this study was to compare the effects of organic and inorganic supplementation on myoD gene expression in slow-twitch muscle after a session of high-intensity resistance activity to determine whether organic and inorganic supplementation on myoD gene expression. In slow muscle, does the contraction of the horseshoe muscle have different effects after a session of high-intensity resistance activity?

Methods: In this experimental study, 40 Wistar rats with an average weight of 100-200 g were prepared and in the control groups (number = 10), exercise (number = 10), Spirulina + exercise (number = 10), glutamine + exercise (number = 10) were divided. Mice in the exercise group performed a two-week exercise program of 3 days per week of walking on a sloping surface (4 sets, 5 repetitions, 30 seconds rest between repetitions), and the supplement + exercise group performed a supplement program five days before the main protocol. They consumed half a gram/kg of body weight once a day. The obtained data were evaluated by t-test.

Results: The results showed that the relative expression of myoD gene in slow-twitch muscle tissue after taking an organic Spirulina supplement was significant after performing a session of high-intensity resistance activity ($P \leq 0.001$). While in slow muscle contraction, the change in expression after glutamine and resistance exercise is no different from the control group ($P = 0.245$).

Conclusion: In general, it can be concluded that the use of organic supplements is a good way to prevent reduced expression and the amount of damage to muscle fibers after high-intensity resistance exercise. These results may be due to possible injuries after high-intensity resistance exercise in slow-twitch fibers, or they may indicate a response to the development of adaptations related to the performance of resistance training in such fibers. It is important to note that in the Spirulina organic supplement group, prior to a high-intensity resistance activity session, myoD gene expression was lower than in high-intensity resistance activity without supplementation. Taking an organic supplement is a good way to prevent reduced expression and the amount of damage to muscle fibers. So far, the effects of glutamine and Spirulina supplements on the expression of myoD gene in muscle have not been studied, but a study has shown the protective effect of organic Spirulina supplementation in preventing DNA damage in mice. Taking this supplement is a good way to prevent injuries caused by oxidative stress in the muscle. Since in each study, there are limitations that can affect the results of the study, so this study also had such limitations that include not determining some of the basic physiological capacities in resting and training states of mice, lack of Determining the effects of organic and inorganic supplements on the expression of the target gene independently and without performing intense one-session resistance activity, no measurement of morphological changes in adult male Wistar rats, no measurement of protein content by the method Western blot and lack of control over the activity of adult male Wistar rats were in cages. According to the results of the study, it is suggested that in combination with high-intensity resistance activity, it is better to use appropriate supplements such as organic Spirulina supplement to increase the expression of myoD gene, which may be affected by the amount of damage to muscle fibers.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Zandi A, Bagherpoor T, Nemati N. Simultaneous Effect of a High-Intensity Resistance Training with Organic and Inorganic Supplements on myoD Gene Expression in the Horseshoe Muscle of Adult Male Mice. Razi J Med Sci. 2023;29(12): 1-11.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

مقدمه

افزایش شـــدت فعالیت‌های بدنی و در نتیجه‌ی آن افزایش فشـارهای اکسـیداتیو موجب ایجاد رادیکال‌های آزاد در بدن می‌شود (۱). رادیکال‌های آزاد باعث تخریب ساختارهای زیستی سلول از قبیل پروتئین‌ها، چربی‌ها، غشـاها و سـاختارهای وراثتی می‌شـوند (۲). با توجه به این که مصـرف مکمل‌ها می‌تواند راهکاری مناسـب در جهت مهار عوارض ناشـی از فعالیت‌های بدنی سـنگین با شد (۳). از این رو مطالعه و برر سی مکانی سم عملکرد ترکیبات مکمل با منشـا ارگانیک و غیر ارگانیک و مقایسه اثرات و عملکرد آن‌ها در سطحی بیو شیمیایی و ژنتیکی دارای اهمیت ا ست (۴). در این را ستا، برر سی میزان بیـان ژن‌هـای مربوط بـه مهـار اسـترس های اکسیداتیو می‌تواند راهکاری مستقیم و مناسب در جهت بررسـی عملکرد مکمل های مختلف نیز باشـد (۵). سلول‌های ماهواره‌ای زیر غ شای پایه ع ضلات ا سکلتی، دقیقاً در مجاورت سـارکولمای میوفیبریل قراردارند و ۲ تا ۷ درصـد هسـته‌های یک تار عضـلانی را تشـکیل می‌دهند (۶). ظرفیت مهاجرت و جابجایی سـلول‌های ماهواره‌ای به یکپارچگی و سـالم بودن غشـای پایه‌ی سلول بستگی دارد. بعد از گسیختگی و پارگی (تخریب با شـدت بالا) غشـای پایه در اثر آسـیب عضـلانی، سلول‌های ماهواره‌ای با استفاده از ارتباطات بافتی به میو فیبریل‌های آ سیب دیده‌ی مجاور مهاجرت می‌کنند (۷). اما اگر آسـیب بافتی محدود باشـد و پارگی در لامینای پایه رخ نداده باشد، سلول‌های ماهواره‌ای برای مشارکت در ترمیم بافت عضلانی از ابتدای بخش سالم میوفیبریل (در زیر غشا) به محل آ سیب دیده حرکت می‌کنند (۸). با فعال سازی سلول‌های ماهواره‌ای (شش ساعت پس از آسـیب عضـلانی) بیان ژن myoD به سـرعت افزایش می‌یابد (۹). به همین دلیل این فاکتور رونویسـی را در عضـلات اسـکلتی بالغ، مارکر فعال سـازی و تکثیر سـلول‌های ماهواه‌ای به حسـاب می‌آورند (۱۰). مقدار mRNA فاکتور رونویسـی myoD در سـنین مختلف، متفاوت و در عضلات تند انقباض بیشتر ا ست (۱۱). در مدل‌های حیوانی، مقدار پروتئین ژن myoD در عضلات تند و کند انقباض موش‌های مسـن کمتر اسـت. این مقدار درعضله‌ی نعلی در کمترین مقدار و بنابراین پاسخ ژن myoD عضله‌ی نعلی (عضله کند انقباض) نسبت به عضـله پلانتاریس (عضـله تند انقباض) نیز کمتر اسـت (۷). با آسـیب عضـلانی (فارماکولوژی، پاتولوژی یا فعالیت‌های بدنی مقاومتی و قدرتی)، بیان ژن myoD افزایش می‌یابد که ن شانه‌ی تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای برای ترمیم آسـیب اسـت (۷, ۱۲). تمرین مقاومتی از طریق فرایند فعال‌سـازی سـلول‌های ماهواره‌ای، تکثیر، شـیمیوتاکسـی و ادغام با میوفیبریل‌های موجود برای م شارکت در ر شد ع ضلانی، موجب هایپرتروفی ع ضله می‌شود (۱۳). نشانه‌ی این فعال سازی نیز، افزایش بیان ژن myoD اسـت. برخی محققان، بیان ژن myoD را شـش سـاعت بعد از اجرای تمرین مقاومتی گزارش نمودند (۱۴). به نظر می‌رسـد که ترکیب نوع تارها در پاسـخ این ژن به تمرین اثر می‌گذارد. در تایید این ادعا نتایج پژوهشـی دیگر نشـان داد که یک جلسـه تمرین مقاومتی در عضـله پهن خارجی، در نمونه‌های انسـانی موجب بیان ژن myoD بلافا صله و شش ساعت پس از جلسـه تمرین شـده که این نتایج با افزایش mRNA ایزوفرم MHC IIa بلافاصـله بعد از تمرین و همچنین افزایش mRNA ایزوفرم های MHC IIx وMHC IIa و MHC L شش ساعت بعد از تمرین همزمان بود (۱۵). تمرینات ورزشی موجب آسیب‌های ریز عضلانی می‌شود که با فعال‌سـازی سـلول‌های ماهواره‌ای و در نتیجه افزایش بیان ژن myoD همراه اسـت. اما پاسـخ ژن myoD به فعالیت‌های بدنی متناقض اسـت (۱۶). به علاوه تا کنون اثرات مصرف مکمل‌ها بر بیان ژن myoD در ع ضلات مورد برر سی قرار نگرفته ا ست (۱۷). اما در تحقیقی, تأثیر حفاظتی مکمل ارگانیک اسـپیرولینا در جلوگیری از تخریب سـاختارهای وراثتی در موش‌ها نشان داده شده ا ست و به نظر می‌رسد که مصرف این مکمل شیوه مناسبی برای جلوگیری از آسیب‌های ناشی از اسـترس اکسـایشـی در عضـله باشـد (۱۸). عمده تحقیقات انجام گرفته در مورد این ژن کمتر به نوع کند انقباض و تند انقباض عضله و مدل‌های آزمودنی حیوانی (۱۵) و انسـانی (۱۹) توجه داشـته‌اند. ضـمن این که پروتکل‌های این تحقیقات یا ا ستقامتی بوده یا زمان‌های اندازه‌گیری آن بعد از فعالیت بدنی، منا سب نبوده ا ست (۲۰). با این توصیف، هدف پژوهش حاضر مقایسه اثرات مصـرف مکمل ارگانیک و غیر ارگانیک بر بیان ژن myoD در عضـله‌ی کند انقباض پس از یک جلسـه

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

فعالیت مقاومتی با شدت بالا است تا مشخص شود که آیا مصرف مکمل ارگانیک و غیر ارگانیک بر بیان ژن myoD در عضله‌ی کند انقباض عضله نعلی پس از یک جلسه فعالیت مقاومتی با شدت بالا اثرات متفاوتی دارد؟

روش کار

پژوهش حاضر از نوع تحقیقات بنیادی است که به روش تجربی انجام گرفت و با کد اخلاق IR.IAU.M.REC.1400.021 به تایید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت رسیده است. تعداد ۴۰ سر موش با سن شش هفته پس از تهیه از مرکز پژوهش حیوانات آزمایشگاه همدان وزن کشی با میانگین وزنی ۱۲۰-۱۰۰ گرم، تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: کنترل (۱۰ = تعداد)، تمرین (۱۰ = تعداد)، تمرین+ اسپیرولینا (۱۰ = تعداد)، تمرین+ گلوتامین (۱۰ = تعداد). همان ابتدای پژوهش از گروه کنترل به عنوان گروه پایه نمونه‌برداری بافت انجام و سپس گروه‌های تمرینی مدت دو هفته در شرایط کنترل شده از نظر دما (۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد)، رطوبت محیط (۵۰±۵ درصد) و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته، نگهداری شدند. در طی این دوره، تمامی موش‌ها به صورت آزادانه از غذای استاندارد و آب استفاده کردند. در طی این دو هفته، موش‌ها تحت برنامه آشنایی با نحوه فعالیت مقاومتی با شدت بالا روی سطح شیب‌دار قرار گرفتند. در این دوره مقدار شوک الکتریکی به میزان ۰/۱ میلی ولت ثابت بود. موش‌های مورد آزمایش در این تحقیق در قفس‌های پلی کربنات ساخت شرکت انحصاری رازی راد با اندازه تقریبی ۲۱ × ۳۴ × ۵۴ سانتی‌متر نگهداری شدند. متغیر وابسته میزان بیان ژن myoD در عضله کند انقباض می‌باشد. متغیرهای مستقل ورزش مقاومتی با شدت بالا و مکمل پودر گلوتامین و مکمل قرص ۵۰۰ میلی‌گرمی اسپرولینا که به صورت محلول امولسیونی مخلوط در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر ۵ روز قبل از اجرای پروتکل اصلی تمرین روزانه یکبار نیم گرم/ کیلوگرم وزن بدن مکمل مورد نظر به گروه‌های مصرف مکمل گاواژ شد. همه گروه‌ها به صورت آزادانه با آب و غذای معمولی جوندگان از محصولات شرکت خوراک دام پارس بر اساس وزن‌کشی روزانه با ترازو استاندارد ویژه با توجه به جیره طبیعی ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن و دسترسی به آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه صنایع رازی در اختیار آن ها قرار گرفت. برنامه یک جلسه فعالیت مقاومتی با شدت بالا در این مطالعه به شرح ذیل بود:

دوره آشنایی موش‌های گروه تجربی با برنامه فعالیت مقاومتی، دو هفته (شش جلسه) به طول انجامید. در سه جلسه هفته اول, موش‌ها از یک سطح شیب‌دار به ارتفاع یک و نیم متر و شیب ۴۵ درجه بالا رفتند؛ در حالی که یک کمربند پارچه‌ای حاوی کیسه شن به میزان ۲۰ درصد وزن بدن موش‌ها به دور تنه آن‌ها متصل شده بود. در سه جلسه هفته دوم و پس از توزین مجدد، موش‌ها از همان سطح شیب‌دار ولی با زاویه ۸۵ درجه بالا رفتند. برنامه گرم کردن و سرد کردن نیز به مدت ۵ دقیقه قبل و بعد از فعالیت مقاومتی به صورت راه رفتن روی سطح صاف و بدون بار اضافی اجرا شد. پس از پنج روز مصرف مکمل و توزین مجدد، هر دو گروه موش‌های تجربی در یک جلسه فعالیت مقاومتی (صعود از سطح شیب‌دار صاف به ارتفاع یک و نیم متر و شیب ۸۵ درجه) با ۴ ست، ۵ تکرار، ۳۰ ثانیه استراحت بین تکرارها و ۲ دقیقه استراحت بین ست‌ها شرکت کردند. بار اولیه، معادل ۵۰ درصد وزن بدن موش‌ها در نظر گرفته شد. سپس در ابتدای اجرای هر ست، ۱۰ درصد وزن بدن موش‌ها به بار اولیه اضافه شد، به گونه‌ای که هر موش در پایان ست چهارم، ۸۰ درصد وزن بدن خود را حمل می‌کرد (۲۱).

استخراج بافت به این صورت بود که همه موش‌ها ۶ تا ۸ ساعت بعد از آخرین تمرین در دستگاه دسیکاتور، با استفاده از گاز CO_2 بیهوش و زمانی که به هیچ تحریک اعمال شده پاسخ ندادند، با رعایت مسائل اخلاقی و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش استخراج بافت کند انقباض انجام و ثبت وزن دقیق آن‌ها با ترازوی آزمایشگاهی و دقت ۰/۰۰۰۱ گرم انجام شد. بافت عضله‌ی کند انقباض، درون میکروتیوب های ۱/۵ یا ۲ میکرولیتری حاوی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

RNA Later در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای نگهداری بافت مورد نظر جهت استخراج RNA از محلول های سدیم سیترات ۱ مولار (۲۵ میلی‌لیتر)، آمونیوم سولفات (۷۰۰ گرم)، آب مقطر استریل (۹۳۵ میلی‌لیتر)، ۵/۰ EDTA (۴۰ میلی‌لیتر) استفاده شد. در زیر هود این مواد با یکدیگر ترکیب و با استفاده از اسید سولفوریک PH آن به ۵ رسانده شده و در آخر، حجم محلول به ۱۵۰۰ میلی لیتر افزایش یافت. برای از بین بردن RNase خارجی از محلول ضدعفونی شامل H2O2 ٪۵ (۷۱/۴۲ میلی لیتر)،) ٪ ۱/۰ SDS ۵ میلی لیتر)، ۰۵/۰ NaOH مولار (۱ گرم) استفاده شد. در زیر هود مواد مورد نظر با یکدیگر ترکیب شده و روی هیتر قرار داده شد تا مواد به خوبی با هم مخلوط شوند و سپس با استفاده از آب مقطر استریل در درون استوانه مدرج حجم به ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. با این محلول تمامی لوازم و سطوح مورد استفاده ضدعفونی شده و از RNase خارجی پاک شد. برای استخراج mRNA از بافت، این گونه انجام شد که ابتدا مقداری از بافت مورد نظر روی لام قرار داده شده و توسط تیغ و پنس کاملاً خرد شد. بافت خرد شده توسط پنس در انتهای میکروتیوب های ۲ میکرولیتری قرار گرفت. به طوری که تمامی بافت ها در انتهای میکروتیوب جمع شدند. سپس با استفاده از سمپلر، روی نمونه‌ها یک میلی‌لیتر معادل ۱۰۰۰ میکرولیتر از کیت plus- RNX ساخت شرکت سینا ژن ریخته شد. به هر یک از میکروتیوب‌ها به مدت ۵ ثانیه با دستگاه ورتکس حرکت گردابی داده شده تا مواد موجود در انتهای میکروتیوب‌ها به خوبی مخلوط شود. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط اینکوبه شدند. پس از آن ۲۰۰ میکرولیتر از محلول کلروفورم روی نمونه‌ها ریخته شده و به مدت ۱۵ ثانیه با استفاده از حرکت دورانی دست تکان داده شد. میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه در محیط یخ اینکوبه شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه درون دستگاه سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. در انتها، میکروتیوب‌ها به آرامی و بدون تکان خوردن از سانتریفیوژ خارج شده و با استفاده از سمپلر از لایه رویی محلول بدست آمده بدون آن که سرسمپلر به لایه میانی برخورد کند، ۴۰۰ میکرولیتر برداشته شده و به داخل میکروتیوب ۱/۵ میکرولیتری فاقد RNase انتقال داده شد. پس از انتقال فاز آبی، مایع باقیمانده در میکروتیوب ۲ میکرولیتری دور ریخته شد. سپس ۴۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به فاز آبی میکروتیوب ۱/۵ میکرولیتری اضافه کرده و چندین بار به آرامی با دست تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در محیط یخ اینکوبه شد. پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه درون سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی گراد و با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شده و در انتها و پس از خروج آرام میکروتیوب‌ها از سانتریفیوژ مایع رویی دور ریخته شده و رسوب باقیمانده که همان RNA هدف است با ۱۰۰۰ میکرولیتر از الکل ۷۰ درصد توسط سمپلر ترکیب شد. این محلول به آرامی توسط دستگاه ورتکس به صورت گردابی تکان داده شد تا رسوب حاصل از ته میکروتیوب جدا شده و به صورت شناور قرار گرفت. این محلول به مدت ۸ دقیقه درون دستگاه سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور ۷۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده شده و مایع رویی ایجاد شده خارج شد. میکروتیوب‌ها به صورت بر عکس به مدت ۳۰ ثانیه روی گاز الکل زده شده قرار گرفته و سپس در رک قرار داده شدند تا در دمای اتاق خشک شوند. میکروتیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه در بن ماری قرار گرفته تا رسوب کاملاً در مایع حل شود. اکنون RNA هدف استخراج شده و آماده سنتز cDNA است. جهت انجام آزمایشات مولکولی از مواد و کیت های زیر استفاده شد: کیت plus-RNX ساخت شرکت سینا ژن، کیت cDNA، کیت Real Time- PCR ساخت شرکت ویراژن.

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت ساخت شرکت تاکارا ژاپن استفاده شد. برای تهیه ماستر میکس جهت سنتز cDNA ابتدا تمامی موارد زیر را به همان نسبت ذکر شده در پروتکل کیت، به وسیله سمپلر درون یک میکروتیوب ریخته و سپس ۰/۵ میکرولیتر از RNA مورد نظر را به مستر میکس اضافه شد. ترکیب مواد در حوضچه یخ انجام شد. پس یک میکرولیتر از

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

دمای پرایمر	پرایمر	اندازه‌ی محصول (BP)	توالی پرایمرها
۵۸	GAPDH	(F)20bp	AACCCATCACCATCTTCCAG
		(R)20bp	CACGACATACTCAGCACCAG
۵۸	myoD	(F) 22 bp	TCTGATGGCATGATGGATTAAC
		(R) 18 bp	TAGTAGGCGGCGTCGTAG

R: معکوس F: پیشرو BP: جفت باز

cDNA سنتز شده به ماستر میکس اضافه شده و در نهایت طبق برنامه دمایی زیر، PCR در درون دستگاه اجرا شد. جهت اطمینان از سنتز cDNA مورد نظر، محصول را درون ژل آگارز لود کرده و سپس درون دستگاه UV باند مورد نظر حاصل از سنتز cDNA مشاهده شد. قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن کارایی ژن رفرنس و ژن هدف (myoD) بررسی شد و میزان کارایی این دو ژن در بیشترین مقدار خود عدد ۱ بود. در ادامه از تکنیک Real Time-PCR استفاده شد. ابتدا ۱۲/۵ میکرولیتر از مستر میکسسایبر گرین توسط سمپلر درون میکروتیوب ریخته شده در این پژوهش برای هر سیکل PCR به تعداد ۴۰ نمونه از ژن هدف, ۱۰ نمونه از ژن مرجع و ۲ نمونه به عنوان NTC شامل تمامی ترکیبات مستر میکس بجز cDNA را در میکروتیوب های ۰/۲ میکرولیتر آماده شد. تمامی نمونه ها شامل ژن های هدف و مرجع به صورت Duplicate بود. تمامی مراحل فوق در زیر هود و در تاریکی و در شرایط استریل انجام شد. بعد از آماده سازی، نمونه‌ها درون دستگاه قرار داده شده و تعداد سیکل‌ها و پروتکل دمایی به صورت زیر تنظیم شد. پس از پایان کار خط آستانه برای بهترین حالت در نرم افزار دستگاه Real time PCR تنظیم شد.

نحوه دریافت پرایمرها بدین صورت بود که پرایمرها به صورت ویال لیوفیلیزه دریافت شده و سپس با بافر TE شرکت سینا ژن و به نسبتی که روی ویال ذکر شده بود، رقیق شد. ابتدا ارزیابی ژن رفرنس GAPDH و ژن هدف صورت گرفت و میزان کارایی این دو ژن در جدول شماره زیر طراحی شده است پس از آن در داخل لوله‌های نام گذاری شده به مقدار ۱۸۰ میکرولیتر بافر TE و ۱۰ میکرولیتر پرایمر فوروارد (F) و ۱۰ میکرولیتر پرایمر ریورس (R) ریخته شد. توالی، طول و نوع پرایمر طراحی شده برای ژن myoD به صورت زیر بود.

برای آزمون طبیعی بودن توزیع متغیرها از آزمون شاپیروویلک و برای آزمون تجانس واریانس متغیرها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین در بخش آمار استنباطی، آزمون واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بنفرونی مورد استفاده قرار گرفت. شایان ذکر است که آزمون‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ در سطح معناداری P< ۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها

در جدول ۲، میانگین و انحراف استاندارد میزان بیان نسبی ژن MyoD در بافت عضله نعلی (کند انقباض) موش‌های نر بالغ نژاد ویستار پس از مصرف مکمل ارگانیک (اسپیرولینا) و غیرارگانیک (گلوتامین) و اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید به تفکیک گروه‌ها ارائه شد.

با توجه به جدول ۳، تحلیل واریانس یک راهه روی میزان بیان نسبی ژن MyoD در بافت عضله نعلی (کند انقباض) موش‌های نر بالغ نژاد ویستار بیانگر این بود که تفاوت گروه‌ها با یکدیگر معنی‌دار است [P ≤ ۰/۰۰۱ و F =۱۰۱۰/۱۸۲]. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که این تفاوت بین گروه تمرین و تمرین+ اسپیرولینا (P ≤ ۰/۰۰۱) و نیز گروه تمرین و تمرین+ گلو تامین معنی‌دار می‌باشد (P ≤ ۰/۰۰۱). در حالی که بین دو گروه تمرین+ اسپیرولینا و تمرین+ گلو تامین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P = ۰/۲۴۵).

بحث

نتایج نشان داد اثر متغیرهای یک جلسه فعالیت مقاومتی با شدت بالا و مکمل‌های ارگانیک اسپیرولینا و غیر ارگانیک گلوتامین و تعامل آن‌ها در تغییرات متغیر

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد میزان بیان نسبی ژن MyoD در گروه‌های مطالعه

گروه‌ها	انحراف استاندارد ± میانگین
تمرین	۶/۶۴ ± ۰/۲۶
تمرین+ اسپیرولینا	۳/۱۲ ± ۰/۱۶
تمرین+ گلوتامین	۳/۲۸ ± ۰/۱۳
کنترل	۱/۰۰ ± ۰/۰۹

جدول ۳- نتایج آزمون تفاوت میانگین‌های بیان ژن MyoD در بافت عضله نعلی (کند انقباض) موش‌ها

متغیر	منبع تغییرات	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	مقدار F	معنی‌داری
ژن MyoD	بین گروهی	۷۹/۰۱۹	۲	۳۹/۵۰۹	۱۰۱۰/۱۸۲	P ≤ ۰/۰۰۱
	درون گروهی	۱/۰۵۶	۲۷	۰/۰۳۹		
	کل	۸۰/۰۷۵	۲۹			

میزان بیان ژن MyoD در بافت عضله کند انقباض موش‌های نر بالغ نژاد ویستار مؤثر است. این نتایج با یافته دیگر محققان مانند موریس (Morais) و همکاران (۲۰۱۸) (۱۰)، الویرا (Oliveira) و همکاران (۲۰۱۸) (۱۱) و لوک و همکاران (۲۰۱۹) (۷) که گزارش کردند به د نال تمرین م قاومتی و مک مل های ار گان یک و غیرارگانیک، بیان ژن MyoD تعدیل می‌شود، همسو می‌باشد. تقریباً شش تا هشت ساعت پس از اجرای فعالیت‌های بدنی مقاومتی با شدت بالا و بروز آسیب دیدگی عضلانی، سلول‌های ماهواره‌ای فعال شده، تکثیر می شوند و باعث افزایش بیان ژن MyoD می‌گردند. هر چند که میزان رونویسی ژن MyoD در تارهای تندانقباض بیشتر از تارهای کندانقباض است ولی به نظر می‌رسد که احتمالاً میزان آسیب بیشتر تارهای کندانقباض پس از اجرای فعالیت های مقاومتی با شدت بالا، عامل افزایش بیشتر بیان نسبی ژن MyoD در تارهای کندانقباض باشد و نوع تارهای عضله در ایجاد پاسخ‌های متفاوت بیان نسبی ژن MyoD به اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی با شدت بالا مؤثر می‌با شد (۸). تمرین مقاومتی از طریق فرایند فعال سازی سلول های ماهواره ای، تکثیر، شیمیوتاکسی و ادغام میوفیبریل های موجود برای مشارکت در رشد عضلانی، موجب هایپرتروفی ع ضله می شود. ن شانه ی این فعال سازی، افزایش بیان ژن MyoD است (۱۴). تمرینات ورزشی موجب آسیب‌های ریز عضلانی می‌شود که طبعاً با فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و به تبع آن افزایش بیان ژن MyoD همراه است؛ اما پاسخ ژن MyoD به فعالیت های بدنی متناقض است (۹). برای مثال در مدل‌های حیوانی (رت‌ها) مشاهده شد که یک جلسه تمرین تردمیل فزاینده با شیب منفی (القا کننده‌ی آسیب عضلانی) بر بیان MyoD mRNA عضلات نعلی و باز کننده اثر معناداری ندارد (۲۲). هر چند گزارش شده که بازسازی عضلات آسیب دیده‌ی نعلی رت‌ها با فعالیت‌های ورزشی (فعالیت‌های شدید و اختیاری) تشدید می‌شود که این موضوع با افزایش مقدار پروتئین MyoD همراه بود (۲۳). افزایش بیان ژن MyoD نشانه‌ی تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای است و تکثیر این سلول‌ها زمانی بیشتر می شود که آ سیب (فارماکولوژی، پاتولوژی، یا فعالیت‌های قدرتی) عضلانی رخ دهد. با وجود معنادار نبودن، اما ۲/۳۶ برابر افزایش در بیان ژن MyoD احتمالاً ناشی از این موضوع است که تمرین قدرتی (پروتکل این تحقیق) توانسته موجب آسیب تمرینی در عضله‌ی بازکننده دراز انگشتان دست و فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و به تبع آن افزایش مارکر این سلول‌ها یعنی ژن MyoD شود (۲۴).

گلوتامین فراوان ترین اسید آمینه موجود در پلاسما و عضلات اسکلتی است. بطوری که حدودا بیش از ۶۰ درصد ذخایر اسید آمینه درون عضلانی را تشکیل می‌دهد. مکمل‌سازی گلوتامین توسط ورزشکاران به هنگام ورزش‌های طولانی مدت و وامانده ساز مرسوم است (۲۵). اما اثر آن روی تمرینات قدرتی یا آسیب‌های ع ضلانی نا شی از انقباض‌های شدید کمتر مطالعه شده

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

است. ذخایر گلوتامین عضله متعاقب برخی فعالیت‌های متابولیکی به طور معنی‌داری کاهش می یابد (۸). به لحاظ تئوری، گلوتامین دارای اثرات نیروافزا در ورزش‌های مختلف است. گلوتامین سنتز گلیکوژن عضلانی را سرعت می‌بخشد و به افزایش بالقوه قدرت عضلانی منجر می‌شود. برخی محققان این فرضیه را مطرح نموده‌اند که آن دسته از ورزشکارانی که درگیر بیش تمرینی یا ورزش‌های سنگین هستند به نوعی با کاهش سطوح گلیکوژن پلاسما همراه هستند که با آسیب ورزشی و کاهش عملکرد همراه خواهند بود (۲۶). مشخص شده است که هر دو مکمل‌سازی کوتاه و طولانی مدت گلوتامین دارای اثرات نیروافزایی روی توده عضلانی یا عملکرد عضلانی نیستند. این مطالعات نشان داده اند که مکمل‌سازی گلوتامین یک ساعت قبل از آزمون ورزشی دارای هیچ تاثیری روی عملکرد مقاومتی تا رسیدن به خستگی نسبت به گروه دارونما نیست. همچنین شش هفته مکمل سازی گلوتامین در طول تمرینات استقامتی به تغییری در افزایش توده عضلانی یا قدرت عضلانی نسبت به گروه دارونما منجر نمی شود (۲۷). مکمل‌سازی گلوتامین با منظور به حداقل رساندن موجودیت آن در پلاسما انجام می‌گیرد. برخی محققان نیز مکمل‌سازی گلوتامین را به جهت کاهش آسیب‌های عضلانی ناشی از انقباض‌های شدید عضلانی توصیه نموده‌اند. اما یافته‌های یک مطالعه در این زمینه نشان داد که اگرچه تمرینات مقاومتی مداوم و ادامه‌دار در کاهش ایجاد آسیب‌های عضلانی موثر واقع می شوند اما مکمل‌سازی گلوتامین اندازه آسیب عضلانی را تغییر نمی‌دهد (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر که با هدف تعیین اثر مکمل‌سازی گلوتامین بر کاهش به استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی انجام گرفت. یافته‌ها نشان داد که مکمل‌سازی گلوتامین برای مدت چهار هفته به کاهش استرس اکسیداتیو و همچنین افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی منجر می‌شود. اما برخی مطالعات به عدم اثربخشی آن نسبت به آسیب‌های عضلانی متعاقب انقباض‌های برونگرای شدید اشاره نموده‌اند. نتایج نشان داد که سه جلسه مکمل سازی گلوتامین در هفته برای مدت چهار هفته به تغییری در سطوح شاخص‌های آسیب عضلانی و فعالیت الکترومیوگرافی در مردان جوان منجر نمی شود. تناقض در یافته‌های موجود زمینه جهت اجرای مطالعات جدید با هدف اثر تغییر و دستکاری در نوع، زمان یا طول دوره مکمل سازی روی شاخص‌های آسیب عضلانی یا سیستم آنتی اکسیدانی متعاقب اجراهای شدید عضلانی در جمعیت‌های مختلف ورزشکار یا غیر ورزشکار فراهم می‌کند (۱۰).

تا کنون اثرات مصرف مکمل‌های گلوتامین و اسپیرولینا روی بیان ژن MyoD در عضلات مورد مطالعه قرار نگرفته است، اما در تحقیقی اثر حفاظتی مکمل ارگانیک اسپیرولینا در جلوگیری از تخریب DNA در موش‌ها نشان داده شده است. مصرف این مکمل شیوه مناسبی برای جلوگیری از آسیب‌های ناشی از استرس اکسایشی در عضله می‌باشد (۲۲). اسپیرولینا، نوعی آنتی اکسیدان است که سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی را طوری تنظیم می‌کند که خطر آسیب‌های اکسایشی را به هنگام افزایش اکسیدان‌ها یا رادیکال‌های آزاد کاهش می‌دهد (۷). اسپیرولینا دارای اثرات سودمند بر کاهش شاخص‌های فشار اکسایشی، جلوگیری از افزایش سطح مالون آلوئید، پراکسیداسیون لیپیدی، کراتین کینتاز، لاکتات دهید روژناز، و شاخص کوفتگی عضلانی تاخیری است (۲۳). به علاوه, موجب تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی، کاهش استرس اکسیداتیو، جلوگیری از صدمات و آسیب‌های عضلانی می‌شود (۱۱).

از آنجایی که در هر مطالعه‌ای، محدودیت‌هایی وجود دارند که می‌توانند بر نتایج مطالعه، اثرگذار باشند، بنابراین این مطالعه نیز از چنین محدودیت‌ایی برخوردار بوده است که شامل عدم تعیین برخی از ظرفیت‌های فیزیولوژیک پایه در حالت‌های استراحت و تمرین موش‌ها، عدم تعیین اثرات مکمل‌های ارگانیک و غیر ارگانیک بر بیان ژن هدف به صورت مستقل و بدون اجرای فعالیت مقاومتی شدید یک جلسه‌ای، عدم اندازه‌گیری تغییرات مورفولوژیکی موش‌های نر بالغ نژاد ویستار، عدم اندازه گیری محتوی پروتئین‌های مورد نظر توسط روش وسترن بلات و عدم کنترل میزان فعالیت موش های نر بالغ نژاد ویستار در قفس بود.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

با توجه به نتایج مطالعه، پیشنهاد می‌شود که همراه با فعالیت مقاومتی با شدت بالا، بهتر است که از مکمل‌های مناسب نظیر مکمل ارگانیک اسپیرولینا استفاده شده تا مقادیر بیان ژن MyoD که احتمالاً تحت تأثیر میزان آسیب‌های وارده به تارهای عضلانی افزایش می‌یابد، افزایش کمتری را نشان دهد.

نتیجه‌گیری

این نتایج می‌تواند نا شی از بروز آ سیب‌های احتمالی پس از ورزش م قاومتی با شدت بالا در تار های کندانقباض باشد یا می تواند نشانه بروز یک پاسخ در راستای ایجاد سازگاری‌های مرتبط با اجرای تمرینات مقاومتی در این گونه تارها باشد. نکته مهم این است که در گروه مصرف مکمل ارگانیک اسپیرولینا پیش از اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی با شدت بالا، میزان بیان ژ ژن MyoD کمتر از حالتی است که فعالیت مقاومتی با شدت بالا بدون مصرف مکمل بوده است. مصرف مکمل ارگانیک شیوه‌ی مناسبی جهت جلوگیری از کاهش بیان و میزان آسیب های وارده به تارهای عضلانی است.

References

1. Venkatasamy VV, Pericherla S, Manthuruthil S, Mishra S, Hanno R. Effect of Physical activity on Insulin Resistance, Inflammation and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. J Clin Diagn Res. 2013;7(8):1764-6.
2. Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada JL, Covas MI, et al. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. Atherosclerosis. 2003;167(2):327-34.
3. Accattato F, Greco M, Pullano SA, Carè I, Fiorillo AS, Pujia A, et al. Effects of acute physical exercise on oxidative stress and inflammatory status in young, sedentary obese subjects. PLoS One. 2017;12(6):e0178900.
4. Padilha CS, Borges FH, Costa Mendes da Silva LE, Frajacomo FTT, Jordao AA, Duarte JA, et al. Resistance exercise attenuates skeletal muscle oxidative stress, systemic pro-inflammatory state, and cachexia in Walker-256 tumor-bearing rats. Appl Physiol Nutr Metab. 2017;42(9):916-923.
5. Britto FA, Gnimassou O, De Groote E, Balan E, Warnier G, Everard A, et al. Acute environmental hypoxia potentiates satellite cell□dependent myogenesis in response to resistance exercise through the inflammation pathway in human. FASEB J. 2020;34(1):1885-1900.
6. Gruntman AM, Flotte TR. The rapidly evolving state of gene therapy. FASEB J. 2018;32(4):1733-1740.
7. Luk HY, Levitt DE, Boyett JC, Rojas S, Flader SM, McFarlin BK, et al. Resistance exercise-induced hormonal response promotes satellite cell proliferation in untrained men but not in women. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2019;317(2):E421-E432.
8. Layne AS, Larkin-Kaiser K, MacNeil RG, Dirain M, Sandesara B, Manini TM, et al. Effects of blood-flow restriction on biomarkers of myogenesis in response to resistance exercise. Appl Physiol Nutr Metab. 2017;42(1):89-92.
9. Jang J, Park S, Kim Y, Jung J, Lee J, Chang Y, et al. Myostatin Inhibition-Induced Increase in Muscle Mass and Strength Was Amplified by Resistance Exercise Training, and Dietary Essential Amino Acids Improved Muscle Quality in Mice. Nutrients. 2021;13(5):1508.
10. Morais SRL, Brito VGB, Mello WG, Oliveira SHP. l-arginine modulates inflammation and muscle regulatory genes after a single session of resistance exercise in rats. Scand J Med Sci Sports. 2018;28(2):425-435.
11. Ishikawa K, Weber T, Hajjar RJ. Human Cardiac Gene Therapy. Circ Res. 2018;123(5):601-613.
12. Bechshøft CJL, Jensen SM, Schjerling P, Andersen JL, Svensson RB, Eriksen CS, et al. Age and prior exercise in vivo determine the subsequent in vitro molecular profile of myoblasts and nonmyogenic cells derived from human skeletal muscle. Am J Physiol Cell Physiol. 2019;316(6):C898-C912.
13. Sailani MR, Halling JF, Møller HD, Lee H, Plomgaard P, et al. Lifelong physical activity is associated with promoter hypomethylation of genes involved in metabolism, myogenesis, contractile properties and oxidative stress resistance in aged human skeletal muscle. Sci Rep. 2019;9(1):3272.
14. Peake JM, Markworth JF, Cumming KT, Aas SN, Roberts LA, Raastad T, et al. The effects of cold water immersion and active recovery on molecular factors that regulate growth and remodeling of skeletal muscle after resistance exercise. Front Physiol. 2020;11:737.
15. Moore NA, Morral N, Ciulla TA, Bracha P. Gene therapy for inherited retinal and optic nerve

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

degenerations. Expert Opin Biol Ther. 2018;18(1):37-49.

16. Choi Y, Lee SY. Biosynthesis of inorganic nanomaterials using microbial cells and bacteriophages. Nat. Rev. Chem. 2020;4(12):638-56.

17. Iqbal P, Ghani MA, Ali B, Shahid M, Iqbal Q, Ziaf K, et al. Exogenous application of glutamic acid promotes cucumber (Cucumis sativus L.) growth under salt stress conditions. EJFA. 2021:407-16.

18. Bhardwaj AK, Naraian R. Cyanobacteria as biochemical energy source for the synthesis of inorganic nanoparticles, mechanism and potential applications: a review. Biotech. 202;11(10):1-6.

19. Hassan F, Mobarez S, Mohamed M, Attia Y, Mekawy A, Mahrose K. Zinc and/or Selenium Enriched Spirulina as Antioxidants in Growing Rabbit Diets to Alleviate the Deleterious Impacts of Heat Stress during Summer Season. Animals (Basel). 2021;11(3):756.

20. Nasrollahzadeh M, Sajjadi M, Iravani S, Varma RS. Green-synthesized nanocatalysts and nanomaterials for water treatment: Current challenges and future perspectives. J Hazard Mater. 2021;401:123401.

21. 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(8):579-84.

22. Kemmler W, Kohl M, Fröhlich M, Schoene D, von Stengel S. Detraining effects after 18 months of high intensity resistance training on osteosarcopenia in older men-Six-month follow-up of the randomized controlled Franconian Osteopenia and Sarcopenia Trial (FrOST). Bone. 2021;142:115772.

23. Hohman TC. Hereditary Retinal Dystrophy. Handb Exp Pharmacol. 2017;242:337-367

24. Farsani ZH, Banitalebi E, Faramarzi M, Bigham-Sadegh A. Effects of different intensities of strength and endurance training on some osteometabolic miRNAs, Runx2 and PPARγ in bone marrow of old male wistar rats. Mol Biol Rep. 2019;46(2):2513-2521.

25. Jafarzadeh G, Shakerian S, Farbood Y, Ghanbarzadeh M. Effects of Eight Weeks of Resistance Exercises on Neurotrophins and Trk Receptors in Alzheimer Model Male Wistar Rats. Basic Clin Neurosci. 2021;12(3):349-359.

26. Bourzac C, Bensidhoum M, Manassero M, Chappard C, Michoux N, Pallu S, et al. Preventive Moderate Continuous Running-Exercise Conditioning Improves the Healing of Non-Critical Size Bone Defects in Male Wistar Rats: A Pilot Study Using µCT. Life (Basel). 2020;10(12):308.

27. Bosiacki M, Gutowska I, Piotrowska K, Lubkowska A. Concentrations of Ca, Mg, P, Prostaglandin E2 in Bones and Parathyroid Hormone; 1,25-dihydroxyvitamin D3; 17-β-estradiol; Testosterone and Somatotropin in Plasma of Aging Rats Subjected to Physical Training in Cold Water. Biomolecules. 2021;11(5):616.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]