ORIGINAL ARTICLE

Effect of One Session Resistance Exercise on mRNA Expression of NT4/5 and P75 Proteins in Slow and Fast Skeletal Muscles of Wistar Rats

Rasool Eslami[1],
Reza Gharakhanlou[2],
Seyyed Javad Mowla[3],
Hamid Rajabi[4]

[1] Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Phycology and Education, Allameh Tabatabai University, Tehran, Iran
[2] Associated Professor, Department of Physical Education, Faculty of Humanity, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3] Associated Professor, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[4] Associated Professor, Department of Physiology, Faculty of Physical Education, Tarbiat Moallem University, Tehran, Iran

(Received December 3, 2012; Accepted May 13, 2013)

Abstract

Background and purpose: Activity-dependent expression of neurotrophins in skeletal muscle is not well established. In this research we aimed at studying the effect of one session resistance exercise on mRNA expression of NT4.5 and P75 proteins in slow and fast skeletal muscles of Wistar rats.

Materials and methods: Sixteen male Wistar rats (10 wk of age) were housed at room temperature under a controlled light/dark (12-h) cycle with ad libitum access to food and water. They were randomly divided into two groups (resistance exercise (T) and control (C); n=8 in each group). The resistance training protocol consisted climbing a 1-meter–long ladder, with a weight attached to a tail sleeve. For NT-4.5 and P75 expressions, quantitative real time RT-PCR was used. For data analysis the independent-samples t-test was used in SPSS. The level of significance was set at $P<0.05$.

Results: This study showed that resistance exercise significantly decreased mRNA expression of NT4.5 in soleus muscle (P= 0.003). However, no significant alteration was detected in Flexor Hallucis Longus (FHL) muscle (P= 0.743). Our results also indicated that resistance exercise significantly increased mRNA expression of P75 in soleus muscle (P= 0.043). However, this increase was not found in FHL muscle (P= 0.417).

Conclusion: One session resistance training altered the mRNA expression of NT4/5 and P75 receptor in soleus muscle. This alteration indicated that probably muscle-derived neurotrophin release plays a key role for exercise-induced adaptation in skeletal muscle.

Keywords: Neurotrophin-4.5, P75 receptor, slow and fast muscles, resistance training

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(100): 74-82 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم شماره ۱۰۰ اردیبهشت سال ۱۳۹۲ (۸۲-۷۴)

بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان ژن های NT-4/5 و p75 در عضلات سریع و آهسته موش های صحرایی

رسول اسلامی[۱]
رضا قراخانلو[۲]
سید جواد مولا[۳]
حمید رجبی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: بیان وابسته به فعالیت نوروتروفین‌ها در عضله اسکلتی به خوبی روشن نشده است. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان ژن‌های NT-4/5 و p75 در عضلات تند و کند موش‌های صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، ۱۶ موش نر ویستار (۱۰ هفته سن) در دمای اتاق و تحت چرخه ۱۲ ساعته روشنایی/ تاریکی و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و به طور تصادفی در دو گروه ۸ تایی (فعالیت مقاومتی (T) و کنترل (C) قرار گرفتند. فعالیت مقاومتی شامل بالا رفتن از یک نردبان ۱ متری همراه با وزنه‌های بسته شده به دم حیوانات بود. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های NT-4/5 و P75 از روش Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS و روش آماری t-test استفاده شد، همچنین سطح معنی‌داری p≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که یک جلسه فعالیت مقاومتی باعث کاهش معنی‌داری در بیان ژن NT-4/5 در عضله نعلی شد (p=۰/۰۰۳)، در حالی که، چنین تأثیری در عضله خم‌کننده بلند انگشتان دیده نشد (p=۰/۷۴۳). همچنین، داده‌ها نشان داد که یک جلسه فعالیت مقاومتی باعث افزایش بیان ژن p75 در عضله نعلی شد (p=۰/۰۴۳)، اما تأثیری بر بیان ژن p75 در عضله خم‌کننده بلند انگشتان نداشت (p=۰/۴۱۷).

استنتاج: می‌توان بیان کرد که یک جلسه فعالیت مقاومتی توانست مقادیر NT-4/5 mRNA و P75 را در عضله نعلی دچار تغییر کند. این تغییرات نشان دهنده این موضوع است که احتمالاً برای تحقق سازگاری‌های ناشی از مدل فعالیت مقاومتی، رهایش این مجموعه نوروتروفینی در عضله اسکلتی نقش مهمی را ایفا می‌کند.

واژه های کلیدی: نروتروفین- ۴/۵، گیرنده P75، فعالیت مقاومتی، عضلات تند و کند

مقدمه

خانواده نوروتروفین (Neurotrophins) از شش پروتئین تشکیل شده است که شامل فاکتور رشد عصبی Nerve growth factor (NGF) (NGF)، فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز Brain-derived neurotrophicfactor(BDNF) (BDNF)، نوروتروفین-۳ (NT-3)، NT-4/5 و NT-6 است(۱). نوروتروفین‌ها

مؤلف مسئول: رسول اسلامی- تهران: دانشگاه علامه طباطبایی دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی E-mail: R_eslami1000@yahoo.com
۱. استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی، دانشگاه علامه طباطبایی، تهران، ایران
۲. دانشیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۹/۱۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۱/۱۲/۲۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۲/۲/۲۳

تأثیراتشان را از طریق دو دسته گیرنده اعمال می‌کنند؛ گیرنده نوروتروفین P75 (p75NTR) p75 neurotrophin receptor (p75NTR) و خانواده گیرندهای تیروزین کیناز Receptors (Trk) Tyrosine kinase (Trk). اگرچه همه نوروتروفین‌ها می‌توانند به P75 متصل شده و آن را فعال کنند اما گیرنده‌های Trk دارای اولویت‌هایی بوده و به صورت ویژه- لیگاند (Ligand-specific) عمل می‌کنند، به این ترتیب که TrkA برای NGF ، TrkB برای BDNF و NT-4/5، و TrkC برای NT-3(۲). وجود نوروتروفین‌ها در بسیاری از بافت‌های بدن به اثبات رسیده است. مشخص شده است که سیستم عصبی عضلانی از جایگاه‌هایی است که نوروتروفین‌ها تأثیرات ویژه‌ای را در آن‌جا اعمال می‌کنند، برای مثال: نوروتروفین‌ها از نقشی حیاتی در تنظیم بقاء و حفظ عملکردهای ویژه برای جمعیت گوناگون نورون‌ها برخوردار هستند(۴،۳). علاوه بر بیان نروتروفین‌ها و گیرنده ایشان در جمعیت‌های مختلف موتونرونی، مشخص شده است که نوروتروفین‌های BDNF،NT-3 و NT-4/5 در عضله اسکلتی نیز بیان می‌شوند(۸،۵-۶). در حال حاضر، بسیاری از آن‌چه که در مورد این پروتئین‌ها شناخته شده است حاصل از استفاده برونزاد (Exogenous Application) از پروتئین‌های نروتروفین است. اگرچه آن‌ها تأثیرات بالقوه‌ای بر ویژگی‌های نرون حرکتی و عضله دارند، اما این‌که آیا نروتروفین‌هایی که به صورت اگزوژنز به کار رفته‌اند در محدوده فیزیولوژیکی مناسب بیان این پروتئین‌ها قرار می‌گیرند یا نه هنوز مشخص نیست(۹،۵). بنابراین، استفاده از فعالیت بدنی به عنوان مدلی که ممکن است بتواند تولید درونی (Endogenous Production) نروتروفین‌ها را بالا ببرد، به لحاظ فیزیولوژیکی درک مناسبی را از عملکرد آن‌ها در عضله اسکلتی فراهم خواهد کرد، هم‌چنان‌که در این روش احتمال بیان نروتروفین‌ها در جایگاه فیزیولوژیکی‌شان نسبت به اعمال اگزوژنز بیش‌تر است(۱۰).

پویایی شناسی بیان نروتروفین‌ها به دنبال تمرین ورزشی به مقدار زیادی در سرتاسر سیستم عصبی مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته است(۵-۳،۹،۱۱،۱۲). اما، به رغم تداوم بیان نروتروفین در عضله اسکلتی در دوران بزرگ‌سالی، به اهمیت عملکردی نروتروفین‌های مشتق از عضله (Muscle derived Neurotrophins) در سیستم عصبی عضلانی بالغ توجه اندکی شده است(۶،۱۴،۱۵). فرض شده است که NT-4/5 در سازگاری هماهنگ سیستم عصبی عضلانی به افزایش فعالیت درگیر است(۱۶،۱۷). همچنین، چندین مطالعه رهایش، سنتز و ترجمه وابسته به فعالیت NT-4/5 در جمعیت‌های سلولی مختلف را گزارش کرده‌اند(۲۰،۱۴-۱۸). برای مثال، عضله اسکلتی NT-4/5 را در شیوه‌ای وابسته به فعالیت سنتز می‌کند(۱۴). تحریک الکتریکی عصب سیاتیک رَت برای ۱ ساعت میزان NT-4/5 mRNA را در هردو عضله نعلی و دوقلو در مدت ۳ ساعت افزایش داد و در ۱۲ ساعت به بیش‌ترین سطح رسید. اگرچه تغییرات در بیان نروتروفین‌ها اغلب هم زمان با تغییرات در بیان trkB می‌باشد، داده‌های اخیر بیان می‌کنند که گیرنده دیگر نروتروفین‌ها، p75، ممکن است با نقش آن‌ها در عضله اسکلتی ارتباط بیش‌تری داشته باشد(۱۲،۱۵). از طرفی، مشخص شده است که بیان نروتروفین‌ها در بعضی از بیماری‌ها دچار تغییر می‌شود؛ برای مثال، در نوروپاتی دیابت کاهش حمایت تروفیکی مشاهده شده است(۲۲). همچنین، نقش حمایتی نروتروفین‌ها در بیماری‌های مولتیپل اسکلروسیس (Multiple sclerosis) آمیوتروفیک لَترال اسکلروسیس Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) و آلزایمر به خوبی ثابت شده است(۲۵-۲۳). از این‌رو، با توجه به رویکرد درمانی نروتروفین‌ها، مطالعه آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین، با توجه به نقش عملکردی نروتروفین‌های مشتق از عضله و گیرنده‌هایشان در سلامت سیستم عصبی- عضلانی و سازگاری هماهنگ این سیستم به افزایش فعالیت، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی

بر بیان ژن‌های NT-4/5 و p75 در عضلات تند و کند تنش موش‌های صحرایی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در قالب یک تحقیق تجربی با دو گروه کنترل و تجربی روی ۱۶ موش نر ویستار انجام گرفت که به طور تصادفی به ۲ گروه ۸ تایی کنترل و یک جلسه فعالیت مقاومتی تقسیم شدند. حیوانات با ۱۰ هفته سن از انستیتو پاستور خریداری شده و تا ۳ ماهگی در دمای اتاق و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری شدند. در این زمان، بعد از یک هفته عادت دادن به پروتکل تمرینی، یک جلسه فعالیت مقاومتی انجام گرفت. برای به حداقل رساندن هرگونه استرس ناشی از دستکاری در گروه تمرین، حیوانات گروه کنترل نیز در هر جلسه آشناسازی با تمرین و در زمانی مشابه با گروه تمرین مورد دستکاری قرار گرفتند.

تمرین مقاومتی: بالارفتن از نردبانی به ارتفاع ۱ متر که دارای ۲۶ پله و زاویه ۸۵ درجه نسبت به زمین بود به عنوان تمرین مقاومتی در نظر گرفته شد. برای اعمال اضافه بار از وزنه‌هایی استفاده شد که به دُم حیوانات بسته می‌شدند و ۳۰ درصد وزن هر حیوان بود(۲۷،۲۶). در هفته آشنایی با تمرین حیوانات ۳ روز اول هفته را تمرین کرده و ۴ روز بعدی را استراحت کردند. تمرین به این صورت اجراء شد که حیوانات در پایین نردبان قرار گرفته و با تیمار دُم به بالای نردبان هدایت می‌شدند. در جلسه اصلی تمرین، حیوانات ۳ ست و در هر ست ۵ بار از نردبان بالا رفتند. بین تکرارها ۱ دقیقه و بین هر ست ۲ دقیقه استراحت بود(۲۷).

آماده‌سازی بافت: با توجه به این‌که اوج بیان NT-4/5 mRNA به دنبال تحریک الکتریکی ۲۴-۱۲ ساعت بعد از تحریک گزارش شده است، ۲۴ ساعت بعد از جلسه تمرینی حیوانات با ترکیبی از کتامین (30-50 mg/kg w) و زایلازین(3-5mg/kg w) بیهوش شده و عضلات نعلی (عضله کند) و خم‌کننده بلند انگشتان (Flexor Hallucis Longus (FHL) (عضله تند) آن‌ها تحت شرایط استریل از طریق شکاف بر روی ناحیه پشتی جانبی اندام تحتانی جدا شد(۲۸،۱۴). بافت مورد نظر پس از وزن شدن بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و ضمن انتقال به آزمایشگاه تا زمان اجرای اندازه گیری‌های بعدی در دمای ۸۰- نگهداری شد. بافت‌های مورد نظر با استفاده از هاون و دسته هاون هموژن شدند و بافت هموژن شده در ویال‌های مربوطه و در دمای ۸۰- نگهداری شدند.

اندازه‌گیری بیان ژن: به منظور بررسی بیان ژن‌ها از روش Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. جهت استخراج RNA مقدار ۱۰۰ میلی گرم از بافت عضلانی به وسیله هاون هموژن شد. سپس مقدار ۱ ml از واکنشگر ترایزول (Trizol reagent) به بافت هموژن شده اضافه شد و طبق دستور العمل مورد نظر مراحل استخراج RNA انجام گرفت(۱۰). در نهایت RNA به دست آمده با ۳۰µl از DEPC water رقیق شد. برای اطمینان از درست بودن استخراج مقدار ۲µl از RNA استخراج شده روی ژل آگاروز الکتروفورز ران شد و باندهای ۱۸s و ۲۸s به طور منفک دیده شد. همچنین، میزان کمی RNA استخراج شده از طریق قرائت جذب نوری (OD) در طول موج ۲۶۰nm و ۲۸۰مشخص شد و نسبت آن به دست آورده شد، به طوری که عدد ۱/۸-۲ برای این نسبت به عنوان غلظت قابل قبول در نظر گرفته شد.

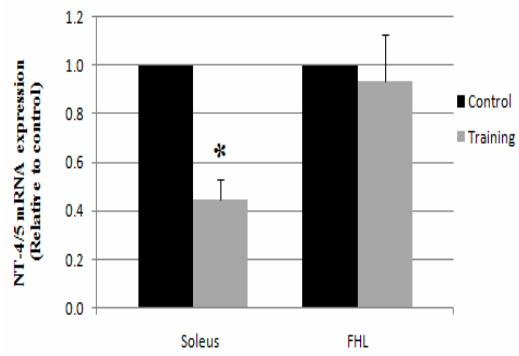
به‌منظور ساخت cDNA ابتدا عمل DNase Treatment انجام گرفت. بدین منظور از کیت خریداری شده از شرکت تاکارا (Takara) استفاده شد. برای ساخت cDNA طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت (PrimeScript RT Reagent Kit, Takara) ابتدا ۵µl از RNA در تیوب ریخته شد و به ترتیب ۴µl از First Strand Buffer، ۱µl از RT Enzyme Mix, oligo dT, Random 6 mers به آن اضافه شد. سپس برای ۲۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه و ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه

انکوبه شد. در این زمان ساخت cDNA اتمام گرفت و cDNA ساخته شده در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. با استفاده از cDNA ساخته شده و پرایمرهایی که برای NT-4/5، p75 و GPDH طراحی شده بود، با رنگ SYBR Green Master Mix کار بیان ژن با دستگاه Real-Time RT-PCR مدل ABI 7500 انجام گرفت. در این واکنش حجم نهایی واکنش ۲۰µl بود که ۲µl آن را cDNA و ۱۸µl دیگر را مسترمیکس تشکیل می‌داد. همچنین، روش محاسباتی نیز با به دست آوردن $2^{-\Delta\Delta ct}$ صورت گرفت(۲۹).

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آماری Independent t-test و نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. همچنین، سطح معنی‌داری در این تحقیق P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

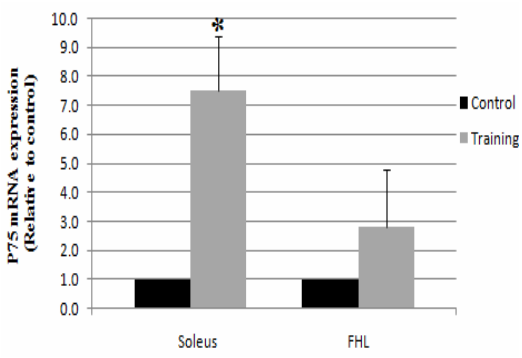
نتایج نشان داد که در عضله نعلی بیان ژن NT-4/5 در گروه فعالیت مقاومتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کم‌تر بود (p=۰/۰۰۳) (تصویر شماره ۱). با این حال، در عضله خم‌کننده بلند انگشتان، هیچ اختلاف معنی‌داری برای ژن‌های NT-4/5 بین دو گروه کنترل و فعالیت مقاومتی وجود نداشت (p=۰/۷۴۳) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: میزان بیان ژن NT-4/5 در عضلات نعلی (Soleus) و خم‌کننده بلند انگشتان (FHL)

* بین گروه کنترل و فعالیت مقاومتی برای ژن NT-4/5 در عضله نعلی اختلاف معنی دار وجود داشت (p<۰/۰۰۵).

به علاوه، یک جلسه فعالیت مقاومتی بیان ژن p75 در عضله نعلی را ۷/۵ برابر افزایش داد که این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار بود (p=۰/۰۴۳) (تصویر شماره ۲). با این حال، بیان این ژن در عضله خم‌کننده بلند انگشتان بین دو گروه کنترل و فعالیت تفاوت معنی‌داری نداشت (p=۰/۴۱۷) (نمودار شماره ۲)، به رغم افزایش ۲/۸ برابری.



نمودار شماره ۲: میزان بیان ژن p75 در عضلات نعلی (Soleus) و خم کننده بلند انگشتان (FHL)

* بین گروه کنترل و فعالیت مقاومتی برای ژن p75 در عضله نعلی اختلاف معنی دار وجود داشت (p<۰/۰۵).

بحث

مطالعه حاضر تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان ژن‌های NT-4/5 و p75 را در عضلات سولئوس و FHL موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که ژن β–Actin از تمرین مقاومتی تأثیر پذیرفت. با این حال، ژن GPDH از تمرین مقاومتی تأثیری نپذیرفت و ثبات خود را حفظ کرد (داده‌ها نمایش داده نشده است). بنابراین، در مطالعه حاضر از ژن GPDH به عنوان ژن رفرنس استفاد شد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که یک جلسه فعالیت مقاومتی باعث کاهش بیان NT- mRNA 4/5 در عضله نعلی شد. با این حال، در عضله خم‌کننده بلند انگشتان، تفاوتی بین گروه کنترل و فعالیت مقاومتی برای بیان NT-4/5 mRNA پیدا نشد. در حالی که بعضی از محققین NT-4/5 را به عنوان نوروتروفین اصلی در سیستم عصبی عضلانی بالغ معرفی کرده‌اند، تاکنون

بیان وابسته به فعالیت NT-۴/۵ به دنبال فعالیت ورزشی مورد تحقیق قرار نگرفته است(۶). تنها Funakoshi و همکاران نشان داده‌اند که عضله اسکلتی در زمان تحریک الکتریکی NT-4/5 را در شیوه‌ای وابسته به فعالیت سنتز می‌کند. بنابراین، آن‌ها نتیجه گرفتند که NT-4/5 مشتق از عضله به عنوان یک سیگنال تروفیکی وابسته به فعالیت برای رشد و تغیر شکل عصب حرکتی بالغ عمل کرده و ممکن است تا اندازه‌ای مسئول تأثیرات ورزش و تحریک الکتریکی بر اجراء عصبی عضلانی باشد(۱۴). با این حال، ارتباط وابسته به فعالیت بیان این پروتئین توسط Deschenes و همکاران رد شده است. آن‌ها هیچ تغییر معنی‌داری را در مقادیر NT-4/5 به دنبال یک دوره بی‌باری اندام پشتی مشاهده نکرده‌اند، درحالی که کاهش در NT-4/5 مورد انتظار بود(۳۰). تأثیرات ورزش بر بیان NT-4/5 تا اندازه زیادی نامشخص است. Walker و Schon یافتند که هیچ تفاوتی در بیان NT-4/5 بین مردان ساکن و دوچرخه سواران تمرین کرده هوازی وجود ندارد(۸). نتایج تحقیق Ogborn با این یافته موافقت دارد و دلالت می‌کند که تمرینی که از شدت کافی برای افزایش بیان BDNF mRNA در عضله نعلی برخوردار است هیچ تأثیری بر بیان NT-4/5 mRNA در عضلات نعلی و دوقلوی میانی ندارد(۱۰).

داده‌های اخیر بیان می‌کنند که احتمالاً ارتباط جالب توجه‌ای بین بیان نوروتروفین و بیان ایزوفورم‌های MHC کند وجود دارد. در طول رشد پس از جنینی عضله نعلی متحمل تغییری در بیان MHC تند به سمت MHC کند می‌شود که این اتفاق در غیاب NT-4/5 رخ نخواهد داد(۳۱). همچنین، Simon و همکاران نشان دادند که در قطع عصب وجود NT-4/5 از کاهش تارهای نوع ۱ در عضله نعلی جلوگیری می‌کند. به علاوه، وقتی که NT-4/5 به عصب سیاتیک قطع شده تزریق شد، عضله تند انقباض بازکننده طویل انگشتان افزایشی را در تولید تارهای نوع ۱ نمایش داد(۳۲).

بنابراین، از آن‌جایی که تمرین استقامتی بیان MHC کند را بالا می‌برد، این احتمال وجود دارد که افزایش بیان وابسته به فعالیت NT-4/5 مشاهده شده توسط فاناکوشی و همکاران به دنبال تحریکی الکتریکی می‌تواند با افزاش در بیان MHC کند مرتبط باشد. در مقابل، حجم بالایی از تحقیقات نشان داده‌اند که تمرین مقاومتی باعث افزایش بیان MHC تند در عضله اسکلتی می‌شود(۳۴،۳۳). از این رو، این احتمال وجود دارد که کاهش بیان NT-4/5 در عضله نعلی به خاطر سیگنال های تمرین مقاومتی باشد که درپی این تمرین به عضله اسکلتی وارد شده است. در حمایت از این یافته Sakuma و همکاران کاهش معنی‌داری را در NT-4/5 عضله پلانتاریس بعد از اعمال اضافه بار جبرانی گزارش کرده‌اند(۵).

عدم تغییر معنی‌دار NT-4/5 mRNA در عضله خم‌کننده بلند انگشتان شاید به این دلیل باشد که مقادیر پایه پروتئین NT-4/5 در این عضله نسبت به عضله نعلی بیش‌تر است. از طرفی، با توجه به این‌که طبق گزارشات قبلی تمرین مقاومتی استفاده شده در پژوهش حاضر طی ۸ هفته باعث هایپرتروفی ۱۷ درصد در عضله خم‌کننده بلند انگشتان شده است، نمی‌توان از نقش احتمالی NT-4/5 در هایپرتروفی عضلانی چشم‌پوشی کرد(۲۷). اضافه بار مکانیکی (از جمله تمرین مقاومتی) به طور قابل توجه‌ای فعالیت و یا حجم تار عضلانی را تغییر می‌دهد. پروتئین‌های ساختاری و انقباضی مورد نیاز در عضله هایپرتروفی شده تنظیم مثبت می‌شوند که ممکن است در نتیجه نیرومندسازی پس سیناپسی وابسته به فعالیت (Activity-dependent postsynaptic potentiation) NT-4/5 باشد(۵). این احتمال وجود دارد که پروتئین نوروتروفین-۵/۴، که از دسته‌بندی ناشی از آگرین گیرنده استیل کولین (AchR) ممانعت می‌کند، در مرحله اولیه احیاء ناشی از بازسازی پیوندگاه عصبی عضلانی بعد از آسیب کاهش یابد. از طرفی، مشخص شده است که تمرین مقاومتی به طور معنی داری قادر است ساختار پیوندگاه عصبی- عضلانی را تغییر شکل

دهـد و باعـث پراکنـدگی گیرنـده‌هـای اسـتیل کـولین (AChR) شود(۳۵). در این راسـتا، سـاکوما و همکـاران، نشان دادند که بازسازی ناشـی از آگـرین پیونـدگاه‌هـای عصبی عضلانی آسیب دیده بر اثـر اضـافه بـار مکـانیکی نیازمنـد کـاهش سـریع و قابـل توجـه پـروتئین NT-4/5 است(۵). بنابراین، احتمـالاً تعامـل بـین وظـایف متفـاوت NT-4/5 در عضله خم‌کننده بلند انگشتان، افزایش NT-4/5 برای بهبـود انتقـال عـصبی عـضلانی از یـک سـو و کاهش NT-4/5 در اثر سیگنال هایپرتروفی و تغییر شکل پیوندگاه عصبی- عضلانی از سوی دیگر، دلیلی بر عـدم تغییر سطح NT-4/5 mRNA در این عضله باشد.

نتایج تحقیق حاضر برای اولین بـار نـشان داد کـه بـه دنبال یک جلسه فعالیـت مقـاومتی بیـان P75 mRNA در عضله کند انقباض نعلی تا ۷/۵ برابـر افـزایش پیـدا کـرد. همچنین، افزایش ۲/۸ برابـری بیـان P75 mRNA نیـز در عضله تند انقباض FHL دیده شد اما این افزایش معنی‌دار نبود. با توجه به این‌کـه، اکثـر مطالعـات قبلـی عـدم تـأثیر فعالیت بدنی را بر بیان گیرنده‌های کینازی نشان داده‌انـد، نتـایج تحقیـق حاضـر از نقـش احتمـالی گیرنـده P75 در ارتباط بـا عملکـرد نـوروتروفین‌هـای مـشتق از عـضله در پاسخ به فعالیت بدنی حمایت می‌کند. با این حال، به دلیل نبود تحقیقات کـافی تـصمیم‌گیـری در ایـن زمینـه بـسیار مشکل است.

در بافت‌های عـصبی، عملکـرد گیرنـده P75 در دو مسیر متضاد مرگ سلولی و حفظ حیات سلول نشان داده شـده اسـت، بـا ایـن حـال، اهمیـت عملکـردی P75 در عضلات اسکلتی هنوز مشخص نیست(۳۷). گیرنـده P75 زمانی که با Trk بیان می‌شـود، یـک اثـر تعـدیلی مثبـت روی عملکرد Trk ایجاد می‌کند. از آن‌جا که هر گیرنده می‌تواند به تنهایی نیز سیگنال‌های مستقلی را ایجـاد کنـد عملکرد نوروتروفین‌ها به بیـان P75 و Trk هـر کـدام بـه تنهایی و یا به بیـان Trk بـه همـراه P75 بـستگی دارد(۳۸، ۳۹). به هر حال، مطالعات از نقش احتمـالی گیرنـده P75 در رشد و احیاء عضله حمایت مـی‌کننـد(۲۵). موسـوی و جاسمین فرض کرده‌اند که گیرنده P75 نشانگری بـرای سلول‌های اقماری عضله اسکلتی اسـت و تعـدیل کننـده قوی در فرآیند احیاء پس از آسیب اسـت(۱۵). در همـین راستا،Co-expressed و همکاران نشان دادنـد کـه NGF از طریق ارتبـاط بـا گیرنـده P75 مـسیرهای سـیگنالینگ ضـروری بـرای تمـایز مایوژنیـک و احیـاء عـضلانی را تنظیم می‌کند(۳۹). از آن‌جایی که تحریـک اعمـال شـده در تحیق حاضر از نوع فعالیت مقاومتی بوده و این نوع از تحریک قادر به فعال سازی مسیرهای مایوژنیـک اسـت، این احتمال وجود دارد که افزایش مشاهده شده در بیـان P75 در نتیجـه فعـال‌سـازی مـسیر مایوژنیـک یـا احیـاء عضلانی باشد. با این حال، Colombo و همکـاران نـشان دادند که گیرنده P75 در تارهای عضلانی دچار التهـاب افزایش یافته است. آن‌ها پیشنهاد کردند که سـیگنالینگ نوروتروفین از طریـق گیرنـده P75 ممکـن اسـت پاسـخ محافظتی بافت به التهاب را در میوفیبریـل‌هـای عـضلانی تعدیل کند(۴۰). بنابراین، از آن‌جایی که فعالیت مقاومتی قادر به ایجاد التهاب در بافت عضلانی است شـاید بتـوان افزایش گیرنده P75 در عضله نعلی را به تأثیرات التهـابی فعالیت مقاومتی در این عضله نسبت داد.

در پایـان مـی‌تـوان نتیجـه‌گیـری کـرد کـه بـه طـور خلاصه، نتایج تحقیق حاضـر نـشان داد کـه یـک جلـسه فعالیت مقاومتی بـر میـزان بیـان NT-4/5 و گیرنـده P75 عضله به ویژه عضله نعلی تأثیر مـی گـذارد. بـا توجـه بـه پیامدهای جدی عصبی- عضلانی در بیماری‌هـایی نظیـر ALS و نروپاتی ناشی از دیابت که بـا آتروفـی عـضلات وضعیتی نظیر نعلی همراه است، تأثیر یک جلـسه تمـرین مقـاومتی بـر NT-4/5 مـی‌توانـد شـروع خـوبی بـرای بررسی‌های آینده، با امید به نقش مثبت تمرین بـر بهبـود این بیماری‌ها، تلقی شود.

سپاسگزاری

از گروه ژنتیک دانشگاه تربیت مدرس که مـا را در انجام این تحقیق یاری کردند کمال تشکر را داریم.

References

1. Ibanez CF, Ebendal T, Persson H. Chimeric molecules with multiple neurotrophic activities reveal structural elements determining the specificities of NGF and BDNF. Embo J 1991; 10(8): 2105-2110.
2. Klein R, Lamballe F, Bryant S, Barbacid M. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for neurotrophin-4. Neuron 1992; 8(5): 947-956.
3. Barde YA. Trophic factors and neuronal survival. Neuron 1989; 29(6): 1525-1534.
4. Thoenen H. The changing scene of neurotrophic factor. Trends Neurosci 1991; 14(5): 165-170.
5. Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I, Nakano H, Li YJ, et al. A possible role for BDNF, NT-4 and TrkB in the spinal cord and muscle of rat subjected to mechanical overload, bupivacaine injection and axotomy. Brain Res 2001; 907(1-2): 1-19.
6. Griesbeck O, Parsadanian AS, Sendtner M, Thoenen H. Expression of neurotrophins in skeletal muscle: quantitative comparison and significance for motoneuron survival and maintenance of function. J Neurosci Res 1995; 42(1): 21-33.
7. Carrasco DI, English AW. Neurotrophin 4/5 is required for the normal development of the slow muscle fiber phenotype in the rat soleus. J Exp Biol 2003; 206: 2191-2200.
8. Walker UA, Schon EA. Neurotrophin-4 is up-regulated in ragged-red fibers associated with pathogenic mitochondrial DNA mutations. Ann Neurol 1998; 43(4): 536-540.
9. Adlard PA, Perreau VM, Engesser-Cesar C, Cotman CW. The timecourse of induction of brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein in the rat hippocampus following voluntary exercise. Neurosci Lett 2004; 363(1): 43-48.
10. Ogborn DI, Gardiner PF. Effects of Exercise and Muscle Type on BDNF, NT-4/5, and TrkB Expression in Skeletal Muscle. Muscle Nerve 2010; 41(3): 385-391.
11. Oliff HS, Berchtold NC, Isackson P, Cotman CW. Exercise-induced regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) transcripts in the rat hippocampus. Brain Res Mol Brain Res 1998; 61(1-2): 147-153.
12. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. J Neurophysiol 2002; 88(5): 2187-2195.
13. Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman C. Exercise and brain neurotrophins. Nature 1995; 373(6510): 109.
14. Funakoshi H, Belluardo N, Arenas E, Yamamoto Y, Casabona A, Persson H, et al. Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. Science 1995; 268(5216): 1495-1499.
15. Mousavi K, Jasmin BJ. BDNF is expressed in skeletal muscle satellite cells and inhibits myogenic differentiation. J Neurosci 2006; 26(21): 5739-5749.
16. Gordon T, Munson JB, Tyreman N, Rafuse VF. Fast-to-slow conversion following chronic low-frequency activation of medial gastrocnemius muscle in cats. I.Muscle and. Motor unit properties. J Neurophysiol 1997; 77(5): 2585-2604.
17. Klein R, Nanduri V, Jing SA, Lamballe F, Tapley P, Bryant S, et al. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for brain-derived

neurotrophic factor and neurotrophin-3. Cell 1991; 66(2): 395-403.
18. Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. Nat Rev Neurosci 2001; 2(1): 24-32.
19. Lu B. BDNF and activity-dependent synaptic modulation. Learn Mem 2003; 10(2): 86-98.
20. Cohen-Cory S. The developing synapse: Construction and modulation of synaptic structures and circuits. Science 2002; 298(5594): 770-776.
21. Zhan WZ, Mantilla CB, Sieck GC. Regulation of neuromuscular transmission by neurotrophins. Acta Physiologica Sinica 2003; 55(6): 617-624.
22. Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity. Nat Rev Neurosci 2008; 9(1): 36-45.
23. Schulte-Herbrüggen O, Jockers-Scherübl M C and Hellweg R. Neurotrophins: From Pathophysiology to Treatment in Alzheimer's Disease. Curr Alzheimer Res 2008; 5(1): 38-44.
24. Fernyhough P, Diemel LT, Brewster WJ, Tomlinson DR. Altered neurotrophin mRNA levels in peripheral nerve and skeletal muscle of experimentally diabetic rats. J Neurochem 1995; 64(3): 1231-1237.
25. Chevrel G, Hohlfeld R, Sendtner M. The Role of Neurotrophins in Muscle under Physiological and Pathological Conditions. Muscle & Nerve 2006; 33(4): 462-476.
26. 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): 579-584.
27. Lee S, Farrar RP. Resistance Training Induces Muscle-Specific Changes in Muscle Mass and Function in Rat. JEPonline 2003; 6(2): 80-87.
28. Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossaini-Kakhak SA, Rahbarizadeh F, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver. Biochem Biophys Res Commun 2007; 361(4): 841-846.
29. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{(delta\ delta}$ c(T)) Method. Methods 2001; 25(4): 402-408.
30. Deschenes MR, Wilson MN. Age-related differences in synaptic plasticity following muscle unloading. J Neurobiol 2003; 57(3): 246-256.
31. Carrasco DI, English AW. Neurotrophin 4/5 is required for the normal development of the slow muscle fiber phenotype in the rat soleus. J Exp Biol 2003; 206(13): 2191-2200.
32. Simon M, Poter R, Brown R, Coulton GR, Terenghi G. Effect of NT-4 and BDNF delivery to damaged sciatic nerves on phenotypic recovery of fast and slow muscles fibers. Eur J Neurosci 2003; 18(9): 2460-2466.
33. Andersen JL, Aagaard P. Myosin heavy chain IIX overshooting in human skeletal muscle. Muscle Nerve 2000; 23(7): 1095-1104.
34. Fry AC. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. Sports Med 2004; 349(10): 663-679.
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): 1576-1581.
36. Nykjaer A, Willnow TE, Petersen CM. $P75^{NTR}$-live or let die. Curr Opin Neurobiol 2005; 15(1): 49-57.
37. Barker PA, Shooter EM. Disruption of NGF binding to the low-affinity neurotrophin

receptor p75LNTR reduces NGF binding to TrkA on PC12 cells. Neuron 1994; 13(1): 203-215.

38. Verdi JM, Birren SJ, Ibanez CF, Persson H, Kaplan DR, Benedetti M, et al. P75LNGFR regulates trk signal transduction and NGF-induced neuronal differentiation in MAH cells. Neuron 1994; 12(4): 733-745.
39. Deponti D, Buono R, Catanzaro G, Palma CD, Longhi R, Meneveri R, et al. The Low-Affinity Receptor for Neurotrophins p75NTR Plays a Key Role for Satellite Cell Function in Muscle Repair Acting via RhoA. Mol Biol Cell 2009; 20(16): 3620-3627.
40. Colombo E, Romaggi S, Blasevich F, Mora M, Falcone C, Lochmüller H, et al. The neurotrophin receptor p75NTR is induced on mature myofibres in inflammatory myopathies and promotes myotube survival to inflammatory stress. Neuropathol App Neurobiol 2012; 38(4): 367-378.