

مقاله پژوهشی

پاسخ مایوکاین‌های mTOR/P70S6K به فعالیت بدنی اکستریک و کانستریک
در مردان جوان سالم

امیرحسین نیرومند*، اردوان جامی الاحمدی، حسن متین همایی

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: Niroumand_amirhossein@hotmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۶

DOI: 10.22034/ascij.2024.1907991.1184

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی پاسخ مایوکاین‌های mTOR/P70S6K به فعالیت بدنی اکستریک و کانستریک در مردان جوان سالم بود. ۱۰ مرد سالم بصورت تصادفی در هر یک از گروه‌ها (گروه کانستریک ۵ نفر - گروه اکستریک ۵ نفر) تقسیم شدند. پروتکل‌های انقباض آیزوکیتیک شامل اکستریک و کانستریک اکستنشن زانو با حداکثر قدرت و سرعت زاویه‌ای ۶۰ درجه بر ثانیه بود. گشتاورهای تعیین شده برای هر آزمودنی به منظور همسان سازی بارکاری در هر دو پروتکل یکسان در نظر گرفته شد و سرعت رفت و برگشت ۶۰ درجه بر ثانیه بود. در ابتدا و انتهای مطالعه از بافت عضله پهن جانبی بایوپسی انجام شد. برای بررسی بیان ژن mTOR/P70S6K، از تکنیک Real Time PCR استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش از روش آماری تی وابسته و آزمون کوواریانس در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد. نتایج نشان داد، تغییرات درون‌گروهی mTOR در گروه کانستریک معنادار اما در گروه اکستریک معنادار نبود. همچنین تغییرات درون‌گروهی P70S6K در گروه اکستریک و کانستریک معنادار نبود ($p \geq 0/05$). همچنین تغییرات بین‌گروهی نشان دهنده عدم تفاوت بین دو گروه در هر دو متغیر بود ($p \geq 0/05$). بنظر می‌رسد عدم تغییرات معنادار در متغیرهای مورد نظر ناشی از عدم فشار تمرینی کافی جهت تحریک افزایش mTOR/P70S6K باشد. و با توجه به بررسی پاسخ بنظر می‌رسد در بحث سازگاری نتایج متفاوتی بدست آید که نیاز به بررسی دارد.

کلمات کلیدی: انقباض اکستریک، انقباض کانستریک، mTOR/P70S6K

مقدمه

عنوان یکی از محرک‌های تغییر هموستاز در عضله اسکلتی است که در طول زمان به شکل افزایش تعداد و عملکرد پروتئین‌های عضله پدیدار می‌شود. بافت عضلانی از پروتئین‌های بی‌شماری تشکیل شده است که میزان کلی این پروتئین‌ها بوسیله تعادل بین سنتز و تجزیه پروتئین تعیین می‌شود (۲۲). مطالعات گذشته

اهمیت حیاتی عضله اسکلتی برای سلامت عمومی و فعالیت‌های روزمره افراد به خوبی مورد قبول همگان می‌باشد. بنابراین حفظ، افزایش و همچنین جلوگیری از کاهش توده عضلانی ضروری به نظر می‌رسد (۱۷). مشخص شده است، تمرین ورزشی موثرترین راه افزایش بهبود عملکرد عضلانی می‌باشد (۴) و به

می‌باشد. بعد از این مرحله AKT باعث بهبود فعالیت دو مسیر mTOR و گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا (GSK3-B) می‌شود که نقش کلیدی در مسیر هایپرتروفی عضله اسکلتی در پاسخ به تمرینات قدرتی دارند (۱۶). بعد از فسفریله شدن mTOR، PV0s6k که محرک سنتز پروتئین است، فسفریله می‌شود. از طرف دیگر عامل‌های مهار رشد عضله یعنی 4e-BPI و EIF2 مهار می‌شوند. در همین راستا نعمتی و همکاران (۱۳۹۴) تأثیر اجرای یک دوره تمرین مقاومتی بر مسیر پیام‌رسانی p70 و mTOR در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی با افزایش فسفریلاسیون p70 و mTOR همراه است (۱۵). از طرفی بر طبق گزارش‌های قبلی، تمرینات مقاومتی باعث سازگاری‌های عصبی-عضلانی می‌گردند و زمان اجرای انقباضات عضلانی زیربیشینه را بهبود می‌بخشد (۶). امروزه نقش دستکاری نوع انقباض عضلانی در تمرینات مقاومتی نیز مسئله مهمی تلقی می‌شود، زیرا اکثر برنامه‌های تمرینی و بازتوانی شامل هر دو انقباض کانستریک و اکستریک طی هر تکرار می‌باشند. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت اکستریک از نظر متابولیک در سطح پایین‌تری از فعالیت کانستریک است، اما همواره منجر به آسیب بیشتر تارعضلانی و پاسخ‌های التهابی بیشتر می‌شود (۲۱). هورتوباگی و همکاران (۱۹۹۶) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که فعالیت‌های برون‌گرا به دورنگرا سازگاری‌های بیشتری ایجاد می‌کنند (۸) در صورتی که کی و همکاران (۲۰۰۰) در تحقیق خود به سازگاری‌های عصبی یکسانی در هر دو نوع تمرین دست یافتند (۹). فعالیت مسیر mTOR به سن، جنس، نوع و شدت فعالیت انجام شده، نوع و میزان سرعت انقباض (درون‌گرا-برون‌گرا) و همچنین نوع تار بستگی دارد

نشان داده‌اند که تمرین سنتز و تجزیه پروتئین را افزایش می‌دهد، این در صورتی است که تجزیه را ۳۰ درصد افزایش داده اما سنتز را بیش از ۳۰۰ درصد افزایش می‌دهد (۱۸). راپامایسین هدف یک پروتئین ۲۹۰ کیلودالتونی است که در دهه‌ی ۱۹۷۰ از جداسازی یک مخمر مقاوم در برابر ویژگی‌های مهار رشد سلول بوجود آمده است (۱). راپامایسین می‌تواند یک عامل ضدسرطانی، ضدقارچ و همچنین ضدسرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی بدن از طریق یک ترکیب تولید شده از نوعی باکتری به نام راپا نوئی (Rapa nui) باشد. اختلال آن منجر به بروز بیماری‌هایی از قبیل سرطان (سینه، پروستات، تخمدان)، هایپرتروفی قلب و آتروفی عضلانی می‌شود. راپامایسین هدف (TOR) به دو شکل وجود دارد: مجموعه راپامایسین هدف ۱ (TORC1) و مجموعه راپامایسین هدف ۲ (TORC2). هر کمپلکس با سوبسترای متفاوتی فسفریله می‌شود و به عنوان کنترل‌کننده‌ی اصلی در رشد سلول شناخته می‌شوند. در شکل ۱ نقش محوری TOR در رشد و تکثیر سلولی بدن مشاهده می‌شود (۲۲). یکی از محرک‌های اصلی فعالسازی مسیر mTOR، فشار و بار مکانیکی وارد شده به عضله است. عوامل رشدی، مواد مغذی، هورمون‌ها و سایتوکین‌ها از دیگر محرک‌های مسیر mTOR هستند. تمرین ورزشی از نوع مقاومتی-قدرتی با تحریک مکانیکی همراه است که این تحریک یک عامل بسیار قوی برای افزایش توده‌ی عضله‌ی اسکلتی است (۱). این افزایش به دلیل ترشح فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) یا فاکتور رشد مکانیکی (MGF) در عضله می‌باشد که متعاقباً منجر به فعال شدن یک آبشار سیگنالینگ در سلول می‌شود که به ترتیب شامل فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز (PI3K)، کیناز ۱ وابسته به فسفواینوسیتید (PDK1)، کیناز ۲ وابسته به فسفواینوسیتید (PDK2) و AKT

(۱۲). لذا پژوهش حاضر در نظر دارد تا به مقایسه یک جلسه فعالیت اکستریک و کانستریک بر بیان ژن-های mTOR/P70S6K مورد ارزیابی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری، نمونه آماری و نحوه انتخاب: در این پژوهش دانشجویان مرد دانشگاه تهران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز ۱۸ تا ۳۰ سال که بصورت تفریحی تمرین قدرتی انجام می‌دهند (افرادی که به منظور سلامت عمومی بدن و ارتقای ترکیب بدنی ۳ تا ۶ روز در هفته تمرین می‌کنند) جامعه آماری مورد نظر را تشکیل دادند. ۱۰ مرد سالم بصورت تصادفی در هر یک از گروه‌ها (گروه کانستریک ۵ نفر- گروه اکستریک ۵ نفر) تقسیم شدند. در این پژوهش برای به حداقل رساندن تاثیر بین جنسی در بیان ژن، تنها از مردان استفاده شد. به منظور تعیین سلامتی آزمودنی‌ها و به حداقل رساندن خطرهای مرتبط با سیستم قلبی عروقی از راهنمای سلامت دانشکده پزشکی ورزشی آمریکا استفاده شد. از طرفی افراد حاضر در پژوهش با توجه به خود اظهاری، در ۶ ماه منتج به تمرین از هیچ مکمل ورزشی استفاده نکرده بودند. همچنین کد اخلاق این پژوهش IR.UT.SPORT.REC.1397.029 که توسط دانشگاه تهران صادر و در سایت وزارت بهداشت جمهوری اسلامی ایران موجود است. آزمودنی‌ها دو جلسه در آزمایشگاه حضور پیدا کردند. هدف از جلسه اول آشنایی با محیط آزمایشگاه، سیستم آیزوکینتیک (دستگاه دینامومتر آیزوکینتیک ساخت کمپانی Biodex کشور آمریکا) و اندازه‌گیری قد، وزن، توضیح پرسشنامه درک فشار تمرین بورگ و تعیین گشتاور بود. در جلسه دوم، آزمودنی‌ها به صورت تصادفی یکی از پروتکل‌های اکستریک یا کانستریک را در ساعت ۸ تا ۹ صبح انجام دادند. پروتکل تمرین: آزمودنی‌ها در هر جلسه ابتدا پس از

مراجعه به آزمایشگاه به مدت ۱۰ دقیقه به حالت نشسته استراحت کردند و مراحل کار بار دیگر برای آنها به منظور اطمینان از درک آنها از نحوه اجرای تمرین مرور شد. پس از آن آزمودنی بر روی صندلی دینامومتر نشسته و تنظیمات برای آماده‌سازی دستگاه صورت گرفت. این تنظیمات شامل جهت‌گیری دینامومتر ۹۰ درجه، تیلت دینامومتر. درجه، جهت-گیری صندلی ۹۰ درجه، تیلت پشتی صندلی ۸۵ درجه، دامنه حرکت ۰ تا ۹۰ درجه و محور چرخش دینامومتر در صفحه ساجیتال در راستای خطی که از کندیل خارجی محور می‌گذرد انتخاب شد. گرم کردن اختصاصی با سیستم آیزوکینتیک شامل ۲ ست ۵ تایی و زمان استراحت بین هر ست ۳۰ ثانیه بود. آزمودنی‌ها سپس یکی از دو پروتکل مختلف انقباض عضلانی آیزوکینتیک که از قبل و به صورت تصادفی برای آنها تعیین شده بود را با پای راست اجرا کردند. پس از اتمام فعالیت پای تمرین کرده بدون هیچ فشاری تا زمان انجام بایوپسی ثابت نگاه داشته شد. بایوپسی از هر آزمودنی ۳ تا ۴ ساعت پس از اتمام پروتکل تمرینی انجام شد. طی اجرای پروتکل در انتهای هر ست میزان درک فشار با استفاده از مقیاس ۲۰ نمره‌ای بورگ (RPE) تعیین گردید. مقیاس بورگ همبستگی بالایی با میزان HR، میزان تنفس و تجمع اسید لاکتیک دارد و یکی از راه‌های تعیین شدت فعالیت بدنی می‌باشد. از آزمودنی‌ها خواسته شد که پس از اتمام هر ست عدد مربوط به مقیاس بورگ را اعلام کنند. زمانیکه آزمودنی عدد ۲۰ را اعلام می‌کرد با تشویق کلامی ۲ ست دیگر تمرین ادامه پیدا می‌کرد و هنگامی که توانایی اجرای کامل پروتکل توسط آزمودنی وجود نداشت، تمرین متوقف می‌شد. پروتکل‌های انقباض آیزوکینتیک شامل اکستریک و کانستریک اکستنشن زانو با حداکثر قدرت و سرعت زاویه ای ۶۰ درجه بر ثانیه بود. گشتاورهای تعیین

را از تقریباً همان مکان اولیه استخراج شد. پس از استخراج عضله، بافت چربی از نمونه‌های عضلانی برداشته شد. نمونه‌ها بلافاصله در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. در هر یک از دو جلسه آزمون، دو نمونه عضلانی به دست آمد که مجموعاً ۱۰ نمونه عضلانی طی دوره مطالعه برای هر گروه و در کل ۲۰ نمونه به دست آمد. نمونه‌های عضلانی در زمان پایه و ۳ تا ۴ ساعت پس از تمرین به دست آمد. اندازه‌گیری بیان mTOR/P70S6K بافتی: برای بررسی بیان ژن‌های mTOR/P70S6K، در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک Real Time PCR استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن‌های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کواژول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل ساینژن استخراج شد و جهت اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض (DNase I Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNAهای استخراج شده با دستگاه اسپکترومتری (DPI-1, Kiagen) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تهیه cDNA تک‌رشته‌ای از پرایمر (-Oligo dt MWG, Biotech, Germany) و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از PCR master mix (Applied Biosystems) و SYBER Green در دستگاه (ABI Step One, Applied Biosystems, Sequences Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰

شده برای هر آزمودنی به منظور همسان سازی بارکاری در هر دو پروتکل یکسان در نظر گرفته شد و سرعت رفت و برگشت ۶۰ درجه بر ثانیه بود. انقباض‌ها شامل حداکثر ۱۲ ست ۱۰ تکراری برای پای راست، زمان استراحت بین هر ست ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد. بدیهی است که زمان اجرای تمرینات اکستنتریک بیشتر از تمرینات کانسنتریک بود.

نمونه‌برداری بافت عضله: در ابتدا و انتهای مطالعه از بافت عضله پهن جانبی بایوپسی انجام شد. بایوپسی در دو جهت دیستال و پروگزیمال عضله پهن جانبی انجام شد. نمونه بایوپسی در شرایط پایه برای بار اول و ۳ تا ۴ ساعت پس از انجام تمرین در شرایط کاملاً استریلیزه و در بیمارستان فوق تخصصی بقیه‌الله و توسط فوق تخصص جراحی ارتوپد انجام شد (۵). بایوپسی‌های عضلانی پوستی (۱۵ تا ۲۰ میلی‌گرم) از قسمت میانی عضله پهن جانبی در نقطه میانی بین کشکک و تروکانتر بزرگتر ران در یک عمق بین ۱ تا ۲ سانتی متر بر اساس روش‌های قبلاً تأیید شده به دست آمد. برای تمامی آزمودنی‌ها از پای راست استفاده شد. ناحیه بایوپسی تمیز شده و موهای پا در آن ناحیه کاملاً برداشته شد و با صابون ضد عفونی شسته و با الکل ضد عفونی شد. علاوه بر این، مکان بایوپسی با سم‌زدایی نیز با بتادین (آنتی‌سپتیک مایع) ضد عفونی شد. یک ناحیه کوچک از پوست تمیز شده، تقریباً ۲ سانتی متر قطر، با یک تزریق زیر جلدی ۰/۱ میلی‌لیتر موضعی لیدوکائین بی حس شد. پس از بی‌حسی، یک نمونه بایوپسی اسپیراسیون سوزنی با اندازه ۱۶ اینچی (Tru-Core I Biopsy, Techniques Device Technologies Instrument, Gainesville, FL) در عمق تقریبی ۱ سانتی‌متر برای استخراج نمونه عضلانی قرار گرفت. پس از بایوپسی اولیه، بایوپسی بعدی، با استفاده از نشانه‌های پیش بایوپسی و نشانه‌های عمق روی سوزن، بافت عضلانی

کالیبراتور در نظر گرفته شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها برای تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش از روش-های آماری توصیفی و استنباطی استفاده شد. از آمار توصیفی برای محاسبه میانگین و انحراف استاندارد داده‌ها استفاده شد و از آمار استنباطی برای مقایسه گروه‌ها با هم استفاده شد. همچنین برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌های درون گروهی از روش آماری تی وابسته در سطح معناداری ($p < 0.05$) استفاده شد. برای مقایسه دو گروه از آزمون کوواریانس استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS21 برای رسم نمودارها از نرم افزار Exell 2013 استفاده شد.

ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن با استفاده از حداقل ۵ غلظت لگاریتمی به ترتیب رقیق شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم گردید. میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان

جدول ۱- پروتکل تمرین در گروه‌های اکستریک و کانستریک

گروه	تعداد ست	تعداد حرکت	استراحت بین ست
اکستریک	حداکثر ۱۲ ست	۱۰ تکرار	۳۰ ثانیه استراحت بین ست ها با سرعت پایین
کانستریک	حداکثر ۱۲ ست	۱۰ تکرار	۳۰ ثانیه استراحت بین ست ها با سرعت بالا

جدول ۲- توالی پرایمرهای استفاده شده در تکنیک Real Time PCR

Gene	Forward/Reverse	Primer (5' → 3')
mTOR	F	TCTCCAACCTCATACCACCACT
	R	CTCATCCTTCCCATACTCATTCT
P70S6K	F	TGAAGGGAGAAGACATTGG
	R	GGAAGATAGGGAGAGGTTAGA
GAPDH	F	GCA GGG ATG ATG TTC TGG
	R	CTT TGG TAT CGT GGA AGG AC

نتایج

فعالیت کانستریک و گروه فعالیت اکستریک معنادار نیست ($p \geq 0.05$). از آزمون کوواریانس جهت بررسی اثرات بین گروهی استفاده شد. نتایج نشان داد مقدار F تعامل پیش‌آزمون mTOR ۱/۳۱۳ می‌باشد و $p \geq 0.05$ که معنادار نمی‌باشد و می‌توان نتیجه گرفت که پیش فرض همگنی شیب رگرسیون رعایت شده است. همچنین مقدار F تعامل پیش‌آزمون P70S6K ۲/۴۰۵ می‌باشد ($p \geq 0.05$) که معنادار نمی‌باشد و

در این بخش ابتدا داده‌های توصیفی مرتبط با شاخص‌های دموگرافیک آزمودنی‌ها (جدول ۳) ارائه شده است. طبق نتایج جدول ۴ بین مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون mTOR گروه فعالیت کانستریک تفاوت معنادار وجود دارد ($p \leq 0.05$). اما بین مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون mTOR گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود ندارد ($p \geq 0.05$). همچنین بین مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون P70S6K گروه

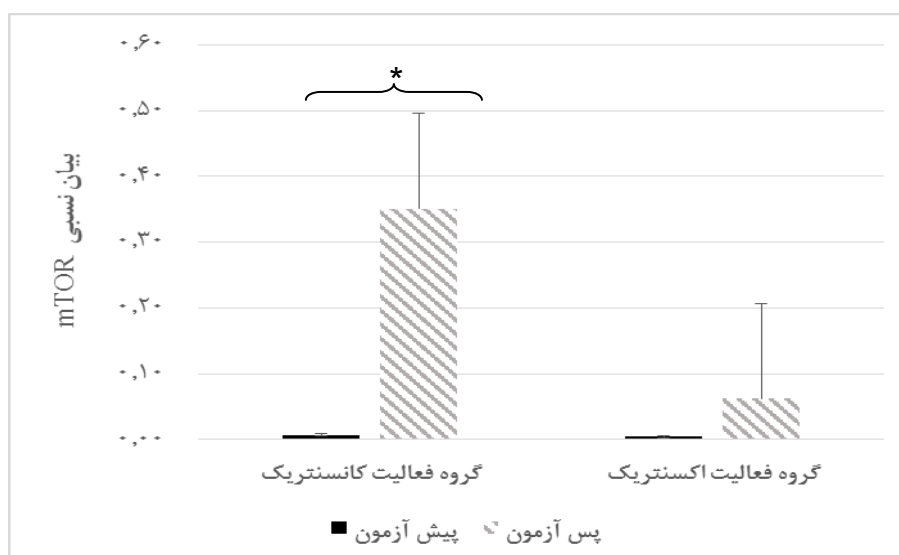
می‌توان نتیجه گرفت که پیش فرض همگنی شیب رگرسیون رعایت شده است. همچنین نتایج حاصل از جدول تحلیل کوواریانس نشان می‌دهد که بین گروه‌های مختلف در مقادیر پس‌آزمون mTOR ($p = ۰/۲۵۳$) P70S6K و ($F = ۱/۵۸۶$ و $p = ۰/۲۴۸$) و ($F = ۱/۴۲۶$ و $p = ۰/۲۴۸$) اختلاف معناداری وجود ندارد.

جدول ۳- شاخص‌های دموگرافیک آزمودنی‌ها در دو گروه

متغیر	گروه‌ها	میانگین \pm انحراف استاندارد
وزن (کیلوگرم)	گروه فعالیت کانستریک	۷۱/۵۰ \pm ۸/۱۶
	گروه فعالیت اکستریک	۷۲/۱۰ \pm ۹/۶۱
BMI (kg/m^2)	گروه فعالیت کانستریک	۲۳/۴۵ \pm ۲/۲۶
	گروه فعالیت اکستریک	۲۴/۲۶ \pm ۱/۹۷
قد (سانتیمتر)	گروه فعالیت کانستریک	۱۷۸/۸۰ \pm ۴/۲۶
	گروه فعالیت اکستریک	۱۷۶/۲۶ \pm ۴/۶۷
سن (سال)	گروه فعالیت کانستریک	۲۶/۷۶ \pm ۳/۴۵
	گروه فعالیت اکستریک	۲۵/۱۵ \pm ۲/۶۸

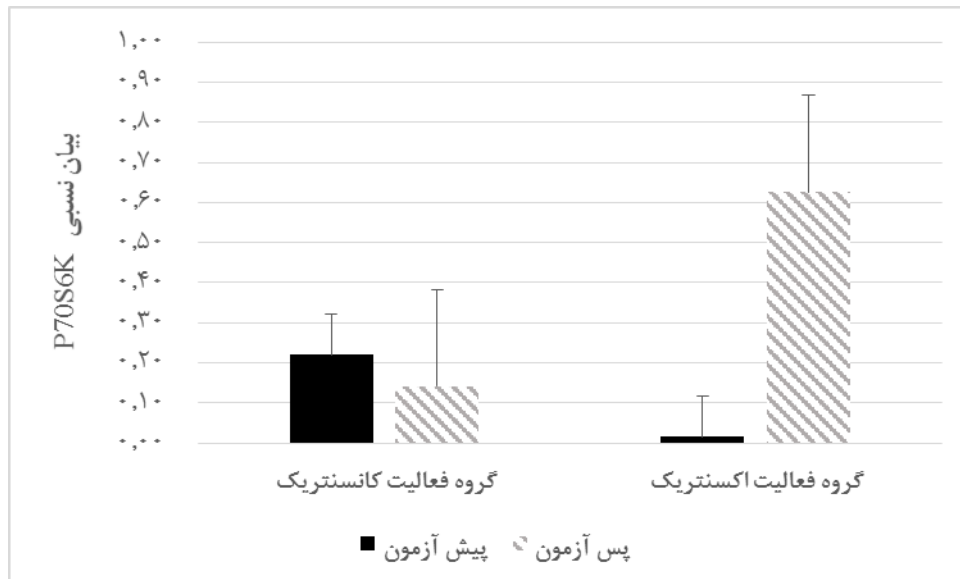
جدول ۴- نتایج آزمون T وابسته جهت مقایسه میانگین‌های پیش‌آزمون و پس‌آزمون mTOR/P70S6K در دو گروه

متغیر	گروه	اختلاف میانگین	T	درجات آزادی	p
mTOR	گروه فعالیت کانستریک	-۰/۳۴۳	-۱/۰۷۵	۴	۰/۰۳۴
	گروه فعالیت اکستریک	-۰/۰۵۸	-۲/۴۳۲	۴	۰/۰۷۲
P70S6K	گروه فعالیت کانستریک	۰/۰۷۹	۰/۷۳۱	۴	۰/۵۰۵
	گروه فعالیت اکستریک	-۰/۶۱۰	-۱/۸۶۶	۴	۰/۱۳۵



نمودار ۱- مقادیر بیان نسبی mTOR در پیش‌آزمون و پس‌آزمون دو گروه. مطابق با تحلیل آماری بین مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون mTOR گروه فعالیت کانستریک تفاوت معنادار وجود دارد، ولی در گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود ندارد.

* تفاوت معنی‌دار پیش‌آزمون و پس‌آزمون ($p \leq ۰/۰۵$)



نمودار ۲- مقادیر بیان نسبی P70S6K در پیش آزمون و پس آزمون دو گروه. مطابق با تحلیل آماری داده‌ها بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون P70S6K گروه فعالیت کانستریک و گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود ندارد.

بحث

مسیر سیگنالینگ mTOR تسهیل کننده‌ی اصلی رشد طبیعی عضله و مهم‌ترین مسیر سیگنالینگ درگیر در هایپرتروفی عضلات اسکلتی است. بطور مثال مهار AKT/mTOR در موش‌ها موجب نقص در رشد عضله‌ی آنها شده است. از طرفی موش‌هایی که بیان بالای AKT1 را در عضله خود داشتند، هایپرتروفی زیادی نیز به دنبال آن مشاهده شد (بودین، ۲۰۰۶). تمرین قدرتی هم بصورت حاد و هم مزمن مسیر AKT/mTOR را فعال می‌کند. بطور مثال در تحقیقی آزمودنی‌ها به سه گروه تمرین استقامتی، تمرین قدرتی و گروه کنترل تقسیم شدند و به مدت ۱۰ هفته فعالیت استقامتی و قدرتی را انجام دادند. نتایج نشان داد که در گروه تمرین قدرتی فعالیت AKT/mTOR به نسبت قبل از فعالیت افزایش داشت، در حالیکه هیچ تغییری در مقدار AMPK آنها رخ نداد. از طرفی در گروه تمرین استقامتی فقط مقدار AMPK افزایش داشت که با بایوژنز میتوکندریایی همراه بود. در واقع AMPK از طریق فسفوریله کردن راپتور که بخشی از کمپلکس mTOR است، باعث مهار فعالیت

AKT/mTOR می‌شود (۱۶). در پژوهش حاضر نشان داده شد که تغییرات درون گروهی mTOR بعد از یک جلسه فعالیت، در گروه اکستریک ($p = 0/073$) معنادار نبود، ولی در گروه کانستریک ($p = 0/034$) معنادار بود. همچنین تغییرات بین گروهی نشان دهنده عدم تفاوت بین دو گروه بود ($p = 0/253$). در همین راستا بروک و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی سازگاری هایپرتروفی عضله اسکلتی در ۳ و ۶ هفته تمرین مقاومتی برای سنتز پروتئین عضله از طریق مسیر سیگنالینگ mTORC1 پرداختند. سطوح پروتئین‌های mTOR و پروتئین AKT اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه هیچگونه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (۲). همچنین نعمتی و همکاران (۱۳۹۴) به بررسی تعیین تاثیر اجرای یک دوره تمرین مقاومتی بر بیان پروتئین‌های تام و فسفریله mTOR و p70s6k به عنوان تنظیم‌گر اصلی هایپرتروفی در عضله خم‌کننده طویل انگشتان پا (FHL) رت‌های نر سالم پرداختند. نتایج نشان داد، اجرای تمرین مقاومتی موجب افزایش معنادار شکل فسفریله پروتئین‌های mTOR و p70s6k

بیشتری نیز تولید شده و مسیر AKT/mTOR بیشتر درگیر می‌شود و اینکه در انقباض برونگرا آسیب بیشتری به عضله وارد می‌شود که این آسیب خود محرک ترشح IGF-1 و IL6 است که بر روی سلول‌های ماهواره‌ای گیرنده دارند و با فعال‌سازی سلول‌ها باعث هایپرتروفی عضلانی می‌شوند. از طرفی هرچه انقباض با سرعت بیشتری همراه باشد رشد عضله بیشتر تحریک می‌شود. مثلاً در دو گروه که یک جلسه تمرین قدرتی (یک گروه انقباض آهسته برونگرا و گروه دیگر انقباض سریع برونگرا) را با ۵ ست، ۸ تکراری انجام دادند، طی بایوپسی که ۲ ساعت بعد از اتمام فعالیت از قسمت ران دو گروه آزمودنی گرفته شد، مشخص شد که مقدار فسفوریله شدن AKT و P70s6k در گروه انقباض سریع خیلی بیشتر از گروه انقباض آهسته بوده است. در تحقیقی که به بررسی هفت هفته فعالیت ورزشی مقاومتی مرتبط با هایپرتروفی عضلانی با مدولاسیون توافازی در موش‌ها پرداختند، نتایج نشان داد که انجام تمرینات مقاومتی منجر به افزایش فاکتورهای p70S6K و mTOR می‌شود (۱۰). بطور کلی در مطالعه حاضر نوع انقباض تاثیر معناداری بر mTOR نداشت. اگرچه مطالعات انسانی قبلی گزارش کرده اند که انقباضات اکستریک سنتز پروتئین را بیشتر از انقباضات کانستریک تحریک می‌کند (۱۴). اگرچه دلیلی این تناقض نامشخص است، بنظر می‌رسد شیوه تحریک جهت انقباض عضله بر نتایج اثرگذار بوده است. همانطور که قبلاً گزارش شده است، الگو و میزان فعالیت عضله بین انقباضات کانستریک و اکستریک متفاوت است. بااینحال در مطالعه حاضر میزان فعال بودن عضلات با استفاده از EMG اندازه‌گیری نشد. بنابراین مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است. همچنین در این مطالعه عدم افزایش معنادار بیان P70S6K مشاهده گردید. اگرچه افزایش این پروتئین

می‌شود. اما موجب افزایش معنادار محتوی پروتئینی تام mTOR و p70s6k نشد (۱۵). mTOR از مسیرهای مختلفی می‌تواند فعال شود اما به طور کامل مشخص نشده است که تمرینات ورزشی از کدام مسیر باعث فسفوریله و فعال شدن mTOR می‌شود (۲۰). یکی از مسیرهای پیشنهاد شده مسیر IGF-1/PI3K/AKT است که با توجه به نتایج تحقیق حاضر که منجر به فعال شدن mTOR شده است مورد تایید است. نظریه‌ای که به تازگی ارائه شده است، نظریه گیرنده‌های مکانیکی در سطح سلول‌های مانند انتگرین، دسیتروفن و کانال‌های فعال شده از طریق کشش است. با توجه به نتیجه تحقیق حاضر می‌توان گفت که فعالیت ورزشی با تأثیر بر بعضی از پروتئین‌ها و مکانیسم‌ها می‌تواند به صورت مستقل منجر به فعال شدن mTOR شود. با این حال باید مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گیرد. در تحقیقی دیگر لوسیانو و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی اثر تمرینات مقاومتی بر سطوح پروتئین‌های AKT، mTOR پرداختند. نتایج این مطالعه تفاوت معنی داری را به دنبال فعالیت ورزشی مقاومتی در عضله چهار سر موش‌های صحرايي نشان دادند (۱۱). نتایج تحقیق حاضر کاهش را در فاکتور مورد نظر نشان داد که بنظر می‌رسد تفاوت در نوع آزمودنی‌ها (رت در مقابل انسان) همچنین نوع عضله و بافت برداری منجر به تفاوت در نتایج شده است. مهمترین تأثیر مسیرهای پیام‌رسانی mTORC1 اثر بر پروتئین‌های درگیر در کنترل ترجمه یعنی پروتئین‌های P70S6K1 است (۳). علاوه بر نوع تمرین، نوع و سرعت انقباض (درونگرا-برونگرا) نیز در تحریک مسیر رشد عضله تأثیر دارد. بطوریکه انقباض برونگرا به نسبت درونگرا باعث افزایش بیشتری در سنتز پروتئین‌های عضلانی می‌شود. چون در این نوع انقباض به نسبت انقباض درونگرا، تارهای عضلانی بیشتری درگیر می‌شود در نتیجه نیروی

mTOR شود. از آنجایی که که مسیر سیکنالینگ mTOR برای هایپرتروفی ناشی از تمرینات مقاومتی لازم می‌باشد، بنابراین نتایج مطالعه حاضر و همچنین مطالعات آتی باید در جهت بررسی تغییرات این مسیر در مدت طولانی تر مورد نظر قرار گیرد. در تحقیقی کون و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند، انجام تمرینات مقاومتی منجر به افزایش فاکتورهای p70S6K، mTOR و AKT می‌شود. محققان در این مطالعه به این نتیجه رسیدند که تمرینات مقاومتی منجر به مهار پروتئین‌های اتوفاژی و افزایش بیان پروتئین‌های سنتز پروتئین می‌شود (۱۰). در این تحقیق افزایش mTOR نیز مشاهده شد. بنظر می‌رسد افزایش فعالیت mTOR منجر به افزایش بیان p70S6K شده است. در واقع p70S6K یکی از مهمترین هدف‌های پایین دست mTOR است. چنانچه بدون آن mTOR نمی‌تواند مرحله طول‌سازی ترجمه را افزایش دهد و یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده سنتز پروتئین می‌باشد. علاوه بر این p70S6K از طریق فسفوریلاسیون فاکتور بالادست رونویسی DNA ریبوزومی را افزایش داده باعث تولید زیستی ریبوزوم می‌شود (۱۳). از آنجا که ریبوزوم کارخانه پروتئین‌سازی است و موجودات زنده برای تولید پروتئین نیازمند وجود و فعالیت ریبوزوم هستند. فعال شدن مسیر mTOR، p70S6K از طریق eEF-2k تولید پروتئین و از طریق فسفوریلاسیون فاکتور بالادست رونویسی ظرفیت تولید پروتئین را افزایش می‌دهد (۱۳).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش نشان داده شد فعالیت اکستریک و کانستریک باعث افزایش p70S6K می‌شود. با این حال برای تعیین مسیر پیام‌رسانی که باعث این اثرات می‌شود نیاز به تحقیقات جامع‌تر با مسدود کردن مسیرهای مختلف می‌باشد.

از لحاظ آماری معنادار نبود اما مشاهده شد بیان آن ۴۰ درصد در گروه اکستریک افزایش داشته است. پروتئین P70S6K توسط ژن RPS6KB1 کدگذاری می‌شود اما بر اساس جستجوهای انجام شده، تحقیقی در زمینه تاثیرات تمرینات ورزشی بر بیان RPS6KB1 مشاهده نگردید. احتمالاً در این مطالعه انقباض اکستریک منجر به افزایش بیان RPS6KB1 شده است و در ادامه بیان P70S6K افزایش هرچند نامعنادار پیدا کرده است. این یافته‌ها موافق با مطالعه گودمن و همکاران (۲۰۱۱) می‌باشد. در آن مطالعه پس از حذف عضلات کمکی برای ایجاد فشار مکانیکی استفاده کرده بودند و ما در این مطالعه با افزایش فشار مکانیکی از طریق انقباض اکستریک موجب افزایش ۴۰ درصدی محتوای بیان این پروتئین شد (۷). همچنین شرافتی و همکاران (۱۳۹۷) به بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های P70S6K1 در عضله اسکلتی نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ یک مطالعه تجربی پرداختند. یافته‌ها نشان داد P70S6K1 تفاوت معنی‌داری بین دو گروه، مشاهده نشد (۱۹). نعمتی و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند، اجرای تمرین مقاومتی موجب افزایش معنادار شکل فسفریله پروتئین‌های p70s6k می‌شود. اما موجب افزایش معنادار محتوای پروتئینی تام p70s6k نشد (۱۵). با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، می‌توان عنوان کرد که هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی با افزایش فسفوریلاسیون p70s6k همراه است. فعالیت مسیر mTOR به سن، جنس، نوع و شدت فعالیت انجام شده، نوع و میزان سرعت انقباض (درون‌گرا-برونگرا) و همچنین نوع تار بستگی دارد. در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات مقاومتی با انقباضات اکستریک و کانستریک می‌تواند از طریق فعالسازی مسیر AKT/PI3K منجر به افزایش فعالیت

movement-related cortical potential during human eccentric versus concentric muscle contractions. *Journal of Neurophysiology*, 86(4):1764-1772.

7. Goodman C.A., Frey J.W., Mabrey D.M., Jacobs B.L., Lincoln H.C., You J.S., Hornberger T.A. 2011. The role of skeletal muscle mTOR in the regulation of mechanical load-induced growth. *Journal of Physiology*, 589(22):5485-5501.

8. Hortobágyi T., Barrier J., Beard D., Braspeninx J., Koens P., Devita P., Lambert J. 1996. Greater initial adaptations to submaximal muscle lengthening than maximal shortening. *Journal of Applied Physiology* (1985), 81(4):1677-1682.

9. Kay D., St Clair Gibson A., Mitchell M.J., Lambert M.I., Noakes T.D. 2000. Different neuromuscular recruitment patterns during eccentric, concentric and isometric contractions. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 10(6):425-431.

10. Kwon I., Jang Y., Cho J.Y., Jang Y. C., Lee Y. 2018. Long-term resistance exercise-induced muscular hypertrophy is associated with autophagy modulation in rats. *The Journal of Physiological Sciences*, 68(3):269-280.

11. Luciano T.F., Marques S.O., Pieri B. L., de Souza D.R., Araujo L.V., Nesi R. T., de Souza C.T. 2017. Responses of skeletal muscle hypertrophy in Wistar rats to different resistance exercise models. *Physiological Research*, 66(2):317-323.

12. Luo L., Lu A.M., Wang Y., Hong A., Chen Y., Hu J., Qin Z.H. 2013. Chronic resistance training activates autophagy and reduces apoptosis of muscle cells by modulating IGF-1 and its receptors, Akt/mTOR and Akt/FOXO3a signaling in aged rats. *Experimental Gerontology*, 48(4):427-436.

13. Mayer C., Zhao J., Yuan X., Grummt I. 2004. mTOR-dependent activation of the transcription factor TIF-IA links rRNA synthesis to nutrient availability. *Genes and*

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. لذا از مساعدت و همکاری صمیمانه مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی و تهران و تمام افرادی که موجب تسهیل اجرای پایان‌نامه شدند، تقدیر و تشکر می‌گردد. ضمناً تمامی هزینه‌های پایان‌نامه به صورت شخصی بوده و هیچ سازمانی حمایت مالی نکرده است.

منابع

1. Bodine S.C. 2006. mTOR signaling and the molecular adaptation to resistance exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38(11):1950-1957.
2. Brook M.S., Wilkinson D.J., Mitchell W.K., Lund J.N., Szewczyk N.J., Greenhaff P. L., Atherton P.J. 2015. Skeletal muscle hypertrophy adaptations predominate in the early stages of resistance exercise training, matching deuterium oxide-derived measures of muscle protein synthesis and mechanistic target of rapamycin complex 1 signaling. *FASEB Journal*, 29(11):4485-4496.
3. Ci Y., Shi K., An J., Yang Y., Hui K., Wu P., Xu C. 2014. ROS inhibit autophagy by downregulating ULK1 mediated by the phosphorylation of p53 in selenite-treated NB4 cells. *Cell Death and Disease*, 5:e1542.
4. Coffey V.G., Hawley J.A. 2007. The molecular bases of training adaptation. *Sports Medicine*, 37(9):737-763.
5. Dieli-Conwright C.M., Kiwata J.L., Tuzon C. T., Spektor T.M., Sattler F. R., Rice J.C., Schroeder E.T. 2016. Acute response of PGC-1alpha and IGF-1 Isoforms to maximal eccentric exercise in skeletal muscle of postmenopausal women. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 30(4):1161-1170.
6. Fang Y., Siemionow V., Sahgal V., Xiong F., Yue G.H. 2001. Greater

American Journal of Physiology, 273(1):E99-107.

19. Sherafati Moghadam M., Salesi M., Daryanoosh F., Hemati Nafar M., Fallahi A. 2018. The effect of 4 weeks of high intensity interval training on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in soleus skeletal muscle of rats with type 2 diabetes: An experimental study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 17(9):843-854.

20. Spangenburg E.E., Le Roith D., Ward C.W., Bodine S.C. 2008. A functional insulin-like growth factor receptor is not necessary for load-induced skeletal muscle hypertrophy. *Journal of Physiology*, 586(1):283-291.

21. Taghizadeh M., Ahmadizad S., Hovanloo F., Akbarinia A. 2013. Hemodynamic changes in response to concentric and eccentric isokinetic contractions and subsequent recovery period. *Cardiovascular Nursing Journal*, 2(2):48-56.

22. Watson K., Baar K. 2014. mTOR and the health benefits of exercise. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 36:130-139.

Development, 18(4):423-434.

14. Moore D.R., Phillips S.M., Babraj J.A., Smith K., Rennie M.J. 2005. Myofibrillar and collagen protein synthesis in human skeletal muscle in young men after maximal shortening and lengthening contractions. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 288(6):E1153-1159.

15. Nemati J. 2015. Effect of resistance training on mTOR and P70S6K Signaling pathway in skeletal muscle of rats. *Journal of Sport Physiology and Physical Activity*, 8(1):1149-1156.

16. Ogasawara R., Kobayashi K., Tsutaki A., Lee K., Abe T., Fujita S., Ishii N. 2013. mTOR signaling response to resistance exercise is altered by chronic resistance training and detraining in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 114(7):934-940.

17. Otto A., Patel K. 2010. Signalling and the control of skeletal muscle size. *Experimental Cell Research*, 316(18):3059-3066.

18. Phillips S.M., Tipton K.D., Aarsland A., Wolf S.E., Wolfe R.R. 1997. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans.

Response of mTOR / P70S6K myokines to eccentric and concentric physical activity in healthy young men

Amirhossein Niroumand^{*}, Ardavan Jamialahmadi, Hassan Matin Homaei

Department of Sport Physiology, Central Tehran branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the response of mTOR/P70S6K myokines to eccentric and concentric physical activity in healthy young men. 10 healthy men were randomly divided into each group (concentric group of 5 people - eccentric group of 5 people). Isokinetic contraction protocols included eccentric and concentric knee extensions with a maximum strength and angular velocity of 60 °/s. The torques set for each subject were considered the same in order to match the load in both protocols and the reciprocating speed was 60 degrees per second. At the beginning and end of the study, a biopsy was performed of lateral extensor muscle tissue. Real Time PCR technique was used to evaluate the expression of mTOR/P70S6K gene. To analyze the data of this study, dependent t-test and analysis of covariance were used at a significance level of 0.05. The results showed that the changes within the mTOR group were significant in the concentric group but not significant in the eccentric group. Also, the intragroup changes of P70S6K in the eccentric and concentric groups were not significant ($P \geq 0.05$). Also, intergroup changes showed no difference between the two groups in both variables ($P \geq 0.05$). It seems that the lack of significant changes in the desired variables is due to the lack of sufficient training pressure to stimulate the increase of mTOR/P70S6K. And according to the review of the answer, it seems that in the discussion of compatibility, different results are obtained that need to be examined.

Keywords: Eccentric contraction, Concentric contraction, mTOR / P70S6K.