فصلنامه علمی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۶۳، دوره ۱۶، شماره ۳، تابستان۱۴۰۲، صفحه ۶۵ تا ۷۵
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

اثر یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید همراه بامکمل یاری گلوتامین بر بیان نسبی ژن های مایوژنین و مایوزین کراتین کیناز در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ نژاد ویستار

منصور متحدی[۱]، **طاهره باقر پور**[۲]، اردشیر ظفری[۳]، نعمت الله نعمتی[۴]

۱-دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران .
۲-استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران .نویسنده مسئول: bagherpoor_ta@yahoo.com
۳-استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و هنر، واحد زنجان، دانشگاه آزد اسلامی ، زنجان ، ایران.
۴-دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران .

تاریخ دریافت:۱۴۰۲/۰۲/۰۸ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۸**

چکیده

زمینه و هدف: باوجود اهمیت پروتکل تمرین مقاومتی و مکمل گلوتامین بر هایپرتروفی، همچنان اثرگذاری آنها در روند بیان ژن های میوژنیک نامعلوم است. ازینرو هدف پژوهش حاضر بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی شدید بهمراه مکمل گلوتامین بر بیان ژن میوژنین و کراتین کیناز میوزین رت های نر ویستار بود.

مواد و روش ها: تعداد ۳۰ سر موش نر ۸ هفته ای با وزن تقریبی ۲۰±۲۲۰ تهیه و به سه گروه کنترل، تمرین شدید مقاومتی و تمرین شدید مقاومتی بهمراه مکمل گلوتامین، بصورت تصادفی ساده تقسیم شدند. گروه های تمرین در یک جلسه فعالیت مقاومتی صعود از سطح شیبدار با ۴ ست، ۵ تکرار، ۳۰ ثانیه استراحت بین تکرار ها و۲ دقیقه استراحت بین ست ها شرکت کردند. مکمل گلوتامین یک بار در روز پودر حل شده در ۱۰۰ سی سی آب مقطر با دوز ۵/.گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن در هر روز و به مدت ۵ روز بود. بافت عضله باز کننده دراز انگشتان جهت مطالعات بیان ژن های میوژنین و کراتین کیناز میوزین به آزمایشگاه مربوطه فرستاده شدند. از روش فولدچنج نسبی جهت بررسی داده های بیان ژن درسطح معنی داری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج: نتایج بیان ژن نشان داد مقادیر بیان ژن میوژنین و کراتین کیناز میوزین در نتیجه یک جلسه تمرین مقاومتی پرشدت و بهمراه مکمل گلوتامین نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی دار داشت و این مقدار در گروه تمرین مقاومتی بارزتر بود ($p<۰.۰۵$).

نتیجه گیری: بنظر میرسد یک جلسه تمرین شدید مقاومتی نسبت به مکمل گلوتامین بر افزایش ژن های میوژنیک، موثرتر باشد.

کلمات کلیدی: ژن میوژنین، کراتین کیناز میوزین، تمرین مقاومتی شدید، گلوتامین

مقدمه

عضلات اسکلتی نقش اساسی در حفظ سلامت جسمی و متابولیک و به طور حیاتی در تحرک دارند. بر این اساس، استراتژی‌ها و پروتکل های تمرینی متمرکز بر افزایش کیفیت و کمیت عضلات اسکلتی مرتبط هستند و تمرینات مقاومتی برای فرآیند هیپرتروفی عملکردی ضروری اند. ما می دانیم که تمرینات مقاومتی و دریافت پروتئین کافی به صورت هم افزایی عمل می کنند و موثرترین محرک ها را برای افزایش توده عضلانی اسکلتی فراهم می کنند. با این حال، پیچیدگی‌های مولکولی که زیربنای تنوع پاسخ ها به هیپرتروفی، ناشی از تمرین مقاومتی است، پیچیده هستند (۱). متغیرهای ورزش مقاومتی و تغذیه نظیر پروتئین رژیم غذایی (به ویژه گلوتامین و لوسین) و همچنین مکمل های آنابولیک به عنوان قابل اطمینان ترین متغیرهای برون زا برای هیپرتروفی عضلات اسکلتی در نظر گرفته می شوند. بنابراین، متغیرهای درون‌زا تحت‌تاثیر متغیرهای برون‌زا قرار می‌گیرند، مانند اصلاح هیستون‌ها، فاکتورهای رونویسی، سلول‌های ماهواره‌ای و/یا محتوای گیرنده آندروژن، که تعیین‌کننده‌های کلیدی هیپرتروفی عضلات اسکلتی هستند (۲). گلوتامین فراوان ترین و پرکاربردترین اسید آمینه در بدن است و برای متابولیسم واسطه، تبادل نیتروژن بین اندامی از طریق انتقال آمونیاک (NH_3) بین بافت ها و هموستاز pH اهمیت اساسی دارد. تقریباً در هر سلولی، گلوتامین می تواند به عنوان بستری برای سنتز نوکلئوتیدها (پورین ها، پیریمیدین ها و قندهای آمینه)، نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH)، آنتی اکسیدان ها و بسیاری از مسیرهای بیوسنتزی دیگر که در حفظ یکپارچگی و عملکرد سلولی نقش دارند، استفاده شود (۳). بسیاری از پژوهش ها از اثربخشی دریافت اسیدآمینه گلوتامین بر افزایش حجم و قدرت در عضله اسکلتی خبر داده اند و نشان داده اند این اسیدآمینه هم در مسیرهای بالادست و هم پایین دست بر آبشار های درون سلولی درگیر اثرگذار است (۴, ۵). یکی از مهم ترین عوامل اثرگذار بر هایپرتروفی عضلانی مخصوصا در عضلات تند انقباض، مسیر ارتباطی بیان ژن میوژنین و سلول های ماهواره ای منطقه است که نشان داده شده است اسید آمینه گلوتامین نقش اساسی در بهبود تنظیم این مسیر دارد و تعدادی از عوامل کلیدی رشد و بازسازی عضلات را تنظیم می کند. فاکتور رونویسی جعبه جفت ۷ (PAX7) همیشه در سلول‌های ماهواره‌ای منطقه بیان می‌شود و رشد عضلانی را در فاز اولیه تکثیر سلولی تنظیم می‌کند و تمایز سلول‌های بنیادی عضلانی را محدود می‌کند. گیرنده فعال شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کواکتیواتور گاما ۱- آلفا (PPARGC1A) یک تنظیم کننده احتمالی فعال سازی سلول های ماهواره ای است. هنگامی که سلول های ماهواره ای فعال می شوند، فاکتورهای تنظیم کننده میوژنیک (MRFs) از جمله پروتئین تعیین میوبلاست ۱ (MYOD)، فاکتور میوژنیک ۵ (MYF5)، فاکتور میوژنیک ۶ (MYF6 یا MRF4) و میوژنین (MYOG) شروع به تعدیل تمایز سلول های عضلانی می کنند. نشان داده شد که MYOD، MYF5 و MRF4 تنظیم کننده هایی برای تمایز سلول های ماهواره ای به میوسیت ها در داخل بدن و برای تمایز اولیه در شرایط in vitro، هستند، در حالی که MYOG برای تمایز پایانی ضروری است (۶). همچنین میوژنین یک فاکتور رونویسی مخصوص عضله است که می تواند باعث ایجاد میوژنز در انواع مختلف سلول در کشت بافت شود و برای رشد عضلات اسکلتی عملکردی ضروری است. ژن میوژنین به عنوان یک فعال کننده رونویسی عمل می کند که رونویسی

ژن های هدف خاص عضله را ترویج می کند و در تمایز عضلانی، خروج از چرخه سلولی و آتروفی عضلانی نقش دارد. برای توسعه تمایز عضلانی فیبر اسکلتی جنینی عملکردی ضروری است. بیان شده است فعالیت مقاومتی یکی از عومل اثرگذار بر بیان این ژن میباشد و میتواند بر تعامل میان سلول های ماهواره ای منطقه و روند هایپرتروفی نقش تنظیمی ایفا کند (۱).

یکی دیگر از مسیرهای درگیر در افزایش قدرت و هایپرتروفی عضلات اسکلتی مخصوصا در در تارهای تند انقباض، تاثیر بروز التهاب ناشی از آسیب های عضلانی ایجاد شده ناشی از تمرینات شدید مقاومتی درونگرا و برونگرا میباشد و بیان شده است این آسیب های بوجود آمده ناشی از این انقباضات میتواند با اثرگذاری بر سیستم ایمنی، آبشارهای درون سلولی برای فعال کردن مجدد سلول های ماهواره ای منطقه بوجود آورند (۷). درین راستا، تحقیقات نشان میدهند، فعالیت بدنی حاد، به ویژه در افرادی که به فعالیت بدنی عادت ندارند، باعث آسیب موضعی به عضلات در حال کار شده و با آسیب بیشتر در هنگام انجام انقباضات برون گرا همراه است (۷). پاسخ آسیب عضلانی بیان سیتوکین های پیش التهابی از جمله IL-6 و TNF-α را افزایش می دهد و نفوذ لکوسیت ها را به عضله تحریک می کند، که بیشتر ماکروفاژها را برای برداشتن فیبرهای عضلانی آسیب دیده جذب می کند و منجر به آزاد شدن آنها می شود (۸). برخلاف التهاب مزمن، که با آتروفی عضله اسکلتی از طریق هایپرمتیلاسیون میوژنین همراه است، بیان سیتوکین ها به دنبال ورزش حاد برای ترمیم، بازسازی و هیپرتروفی عضله اسکلتی حیاتی است و فعالیت مقاومتی بالاخص برای اصلاح بیان mRNA IL6 و TNF در عضله اسکلتی بسیار حائز اهمیت می باشد. تغییرات رونویسی خاص بافت پس از تمرین مقاومتی نشان می‌دهد که مکانیسم‌های اپی ژنتیکی ممکن است تولید سیتوکین‌های ناشی از ورزش را کنترل کنند. با این حال، کمبود مطالعاتی برای بررسی متیلاسیون DNA این سیتوکین‌های حیاتی در پاسخ به تمرینات آسیب‌رسان عضلانی وجود دارد و این سازوکار برای رشد و هایپرتروفی ضروری به نظر میرسد (۷). درین بین، یکی از فاکتور های مهم که هم بیانگر آسیب سلولی است و هم برای افزایش هایپرتروفی و رشد عضلانی ضروری است و بیشتر در فعالیت های شدید مقاومتی برونگرا نیز افزایش می یابد، آنزیم میوزین کراتین کیناز است که در سطح پلاسما بیانگر آسیب عضلانی و در سطح بیان ژن، شروع مسیر هایپرتروفی را تسهیل میکند اگرچه همچنان اطلاعات بسیار کمی درین رابطه وجود دارد (۹). پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن یک آنزیم سیتوپلاسمی است که در هموستاز انرژی سلولی نقش دارد. پروتئین کدگذاری شده به طور برگشت پذیر انتقال فسفات "غنی از انرژی" را بین ATP و کراتین و بین فسفو کراتین و ADP کاتالیز می کند. بسیاری از پژوهش ها از اثرگذاری گلوتامین بر کاهش روند آسیب سلولی گزارش کرده اند اما از روند بیان ژن آن و تاثیر آن بر هایپرتروفی کمتر گزارشی منتشر شده است (۱۰). در حالی که دلیل آزاد شدن CK در گردش خون در مواردی مانند ایست قلبی مشخص است، کمتر مشخص است که چرا ورزش بدنی با شدت کم تا متوسط نیز باید منجر به آزاد شدن CK در سرم خون شود. مطمئناً گیج کننده است که تمرین مقاومتی بیشترین آزادسازی CK را ایجاد می کند و در عین حال بهترین مسیر را برای هیپرتروفی عضلانی فراهم می کند (۱۱). لذا پژوهش حاضر درصدد بررسی تاثیر یک جلسه پرشدت فعالیت مقاومتی و تاثیر مکمل یاری گلوتامین بر بیان

ژن میوژنین که در تحریک هایپرتروفی و آنزیم کراتین کیناز میوزین که در سطح بیان ژن، نقش تنظیمی بر روند هایپرتروفی دارد، انجام شده است.

مواد و روش ها

این پژوهش تجربی تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و کد اخلاق IR.IAU.M.REC.1401.035 در آزمایشگاه حیوانات این دانشگاه به انجام رسید. در مطالعه حاضر، تعداد ۳۰ سر موش نر بالغ نژاد ویستار هشت هفته ای با وزن تقریبی ۲۰+_۲۲۰ تهیه و پس از دو هفته نگهداری در شرایط کنترل شده با هدف آشنایی و سازگاری با محیط زندگی، شرایط تغذیه ای و تمرینی؛ به سه گروه (۱۰ سر در هر گروه)، کنترل بدون تمرین و مکمل، گروه تمرین شدید مقاومتی و گروه تمرین شدید مقاومتی بهمراه مکمل گلوتامین، بصورت تصادفی ساده تقسیم شدند.

پروتکل تمرین

گروه های تمرین در یک جلسه فعالیت مقاومتی (صعود از سطح شیبدار صاف به ارتفاع ۱/۵ مترو شیب ۸۵ درجه) با ۴ ست، ۵ تکرار، ۳۰ ثانیه استراحت بین تکرار ها و۲ دقیقه استراحت بین ست ها شرکت کردند. بار اولیه، معادل ۵۰ درصد وزن بدن رت ها در نظر گرفته شد، سپس درابتدای اجرای هر ست،۱۰ درصد وزن بدن رت ها به بار اولیه اضافه شد، به گونه ای که هر رت در پایان ست چهارم، ۸۰ درصد وزن بدن خود را حمل می کرد (۱۲).

مکمل گلوتامین:

مکمل گلوتامین مورد استفاده در این پژوهش به صورت گاواژیک بار در روز پودر حل شده در ۱۰۰ سیسی آب مقطر با دوز ۰/۵گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن در هر روز و به مدت ۵ روز بود. ال گلوتامین از شرکت ویوا پاور تحت لیسانس ویتافارمد، دارنده پروانه شرکت فاریاب دارو توسط شرکت دارو سازی کارن (ایران) تحت لیسانس کشور سوئیس دربسته بندی قوطی های پلاستیکی حاوی پودر خالص و۱۰۰ درصد مکمل ال گلوتامین استفاده شد (۱۲).

تجزیه و تحلیل بیان ژن

بعد از ۸ ساعت از تمرین و مکمل دهی، رت ها ۱۲ ساعت ناشتا با دسترسی آزاد به آب نگهداری شده و درنهایت فاصله زمانی ساعت ۹ تا ۱۱ صبح با رعایت پروتکل های کمیته اخلاق با داروی بیهوشی کتامین و زایلازین بصورت درون صفاقی بیهوش و آماده نمونه گیری شدند. بعد از خارج کردن خون از قلب، با توجه به هدف مطالعه حاضر، بافت عضله باز کننده دراز انگشتان (۱۲)، درشرایط استریل برداشته شده و درون میکرو تیوب های ۱/۵ یا ۲ میکرولیتری حاوی RNA later در دمای ۷۰- درجه قرار داده شدند و جهت مطالعات بیان ژن به آزمایشگاه مربوطه فرستاده شد. اندازه گیری بیان ژن های میوژنین و کراتین کیناز میوزینی با تکنیک Real time-PCR، اندازه گیری شد. واکنشQ-PCR، با استفاده RealQ Plus 2x Master Mix Green در دستگاه Applied BioSystem DNA Analyzer، طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. به منظور طراحی پرایمرها، توالیهای مربوطه از سایتNCBI گرفته شده است. پرایمر ژنهای مدنظر و بتا اکتین توسط نرم افزارهای Genrunner و Oligo طراحی و بررسی شد. اختصاصی بودن پرایمرها برای ژنهای هدف به وسیله ی برنامهBLAST بررسی شد. در این مطالعه از ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده شده است. توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	توالی
میوژنین	F: 5_TGAATGCAACTCCCACACC3_ R: 5_CAGACATATCCTCCACCGTG3_
کراتین کیناز میوزین	F: 5′-CAT AAG ACC GAC CTC AAC CAC G-3′ R 5′-AAC CTC CTT CAT ATT GCC TCC CT-3′
GAPDH (Housekeeping)	F: GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG R: ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده در گروه ها ابتدا از روش فولدچنج نسبی [1] و محاسبه اختلاف داده ها با ژن مرجع با استفاده از فرمول $^{-\Delta\Delta ct}$ ۲ تجزیه و تحلیل شد و در ادامه جهت تعیین نرمال بودن جامعه توسط آزمون کلوموگروف-اسمیرنوف [2] و همچنین آزمون برابری واریانسها (لوین) [3]، از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه [4] و آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین اختلاف بین گروه ها و سطح معنی داری در این پژوهش ۵ درصد ($P<0.05$) درنظر گرفته شد.

نتایج

بیان ژن میوژنین

نتایج بیان ژن در Real-time PCR، نشان داد مقادیر بیان ژن میوژنین در نتیجه یک جلسه تمرین مقاومتی پرشدت به تنهائی (p=۰/۰۰۱) و بهمراه مکمل گلوتامین (p=۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی دار داشت (جدول ۲). ازطرفی نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد موش های صحرائی در گروه تمرین مقاومتی پرشدت نسبت به گروه تمرین مقاومتی بهمراه مکمل گلوتامین در یک جلسه تمرین (p=۰/۰۴۸)، بصورت معنی داری مقادیر بالاتری از ژن میوژنین را در باز کننده دراز انگشتان خود بیان کردند (نمودار ۱).

این نتایج, نشان دهنده تغییر معنی دار و افزایش میزان بیان نسبی ژن مایوژنین در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ به واسطه اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید و مصرف مکمل گلوتامین در پیش از آن است؛ به گونه ای که میزان بیان نسبی ژن مایوژنین در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ به واسطه اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید و مصرف مکمل گلوتامین نسبت به گروه کنترل ۴۵ درصد افزایش نشان داده است. این تغییر معنی دار و افزایش در میزان بیان نسبی ژن مایوژنین در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ به واسطه اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید نسبت به گروه کنترل ۶۵ درصد بوده است و نشان می دهد که مصرف گلوتامین به میزان ۱۲ درصد در تغییر معنی دار و کاهش میزان بیان نسبی ژن مایوژنین در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ موثر بوده است.

بیان ژن کراتین کیناز میوزین

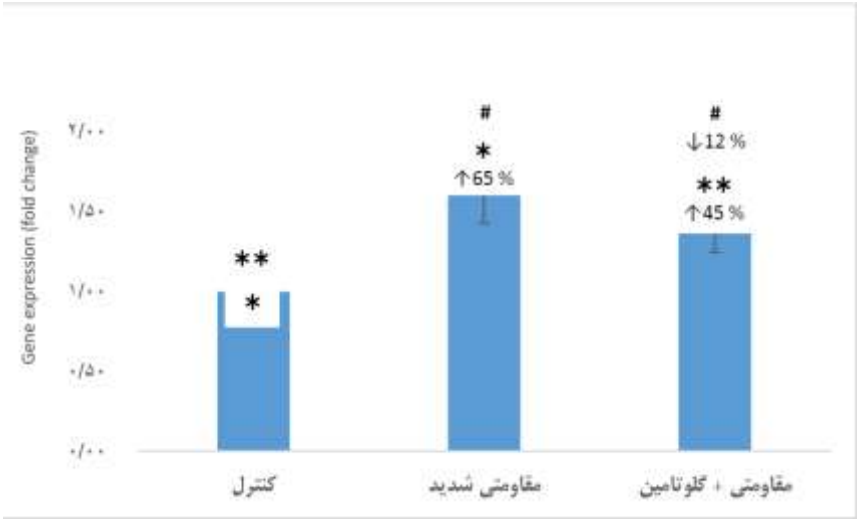
نتایج بیان ژن در Real-time PCR، نشان داد مقادیر بیان ژن کراتین کیناز میوزین در نتیجه یک جلسه تمرین مقاومتی پرشدت به تنهائی (p=۰/۰۰۱) و بهمراه مکمل گلوتامین (p=۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی دار

[1] . Relative fold change
[2] Kolmogorov-Smirnov
[3] Leven's Test
[4] One-Way ANOVA

داشت (جدول ۳). ازطرفی نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد موش های صحرائی در گروه تمرین مقاومتی پرشدت نسبت به گروه تمرین مقاومتی بهمراه مکمل گلوتامین در یک جلسه تمرین (p=۰/۰۰۱)، بصورت معنی داری مقادیر بالاتری از ژن کراتین کیناز میوزین را در باز کننده دراز انگشتان خود بیان کردند (نمودار ۲). این نتایج, نشان دهنده تغییر معنی دار و افزایش میزان بیان نسبی ژن مایوزین کراتین کیناز در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ به واسطه اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید و مصرف مکمل گلوتامین در پیش از آن است؛ به گونه ای که میزان بیان نسبی ژن مایوزین کراتین کیناز در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ به واسطه اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید و مصرف مکمل گلوتامین نسبت به گروه کنترل ۱۸۶ درصد افزایش نشان داده است. این تغییر معنی دار و افزایش در میزان بیان نسبی ژن مایوزین کراتین کیناز در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ به واسطه اجرای یک جلسه فعالیت مقاومتی شدید نسبت به گروه کنترل ۲۷۵ درصد بوده است و نشان می دهد که مصرف گلوتامین به میزان ۲۳/۷۳ درصد در تغییر معنی دار و کاهش میزان بیان نسبی ژن مایوزین کراتین کیناز در تار عضلانی تند انقباض موش های نر بالغ موثر بوده است.

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه در متغیر بیان ژن میوژنین

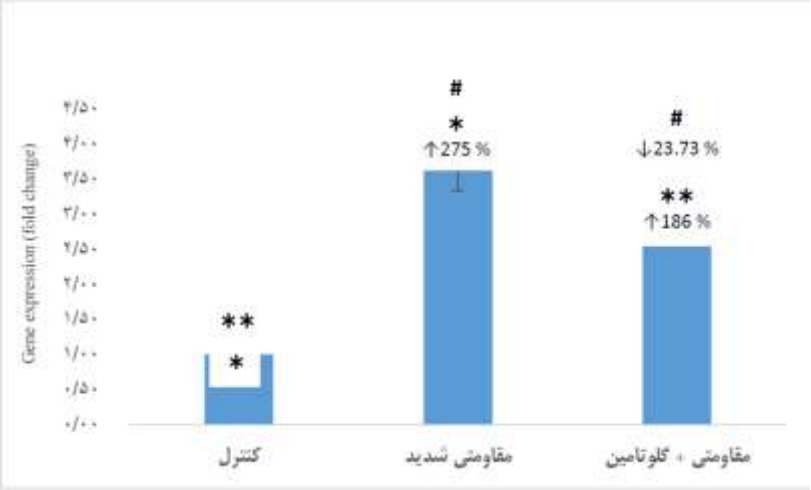
متغیر	منبع تغییرات	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	مقدار F	معنی داری			
بیان نسبی ژن مایوژنین در تارهای تند انقباض موش های نر بالغ	بین گروهی		۲	۲/۲۱۷	۱/۱۰۸	۳۵/۲۰۶	P ≤ ۰/۰۰۱		
	درون گروهی		۲۷	۰/۸۵۰	۰/۰۳۱				
	کل		۲۹	۳/۰۶۷					



نمودار ۱-تغییرات بیان ژن میوژنین در گروه های مختلف. p<0.05 *،، #**

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه در متغیر بیان ژن کراتین کیناز میوزین

متغیر	منبع تغییرات	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	مقدار F	معنی داری
بیان نسبی ژن مایوزین کراتین کیناز در تارهای تند انقباض موش های نر بالغ	بین گروهی	۳۹/۳۸۱	۲	۱۹/۶۹۰	۲۷۸/۴۹۱	P ≤ ۰/۰۰۱
	درون گروهی	۱/۹۰۹	۲۷	۰/۰۷۱		
	کل	۴/۱۲۹	۲۹			



نمودار ۲. تغییرات بیان ژن کراتین کیناز میوزین در گروه های مختلف. p<0.05 *،، #**

بحث

پژوهش حاضر نشان داد دریافت یک جلسه فعالیت شدید مقاومتی با و بدون دریافت مکمل گلوتامین موجب افزایش معنی دار بیان ژن های میوژنین و کراتین کیناز میوزین در عضله بازکننده دراز موش های صحرائی نژاد ویستار میشود. همچنین این نتایج نشان داد در گروه های تمرین و مکمل گلوتامین، این میزان افزایش بارزتر و مشهود تر است و بنظر میرسد انجام فعالیت شدید مقاومتی بر بیان این ژن ها موثرتر باشد.

در رابطه با بیان ژن میوژنین پژوهش فوق با بسیاری از پژوهش ها همسو (۱۳-۱۵) و اگرچه با برخی نیز نا همسو (۱۶-۱۹) است که دلایل تناقض و نا همسویی پژوهش های حاضر به دلیل تفاوت در شدت و نمونه های آزمودنی است. برای نمونه در تحقیق واتسون[5] و همکاران (۲۰۱۷)، بیان ژن های میوژنیک در پی فعالیت مقاومتی در بیماران دچار نارسائی کلیوی بررسی شده است و نتایج حاکی از عدم تغییر و یا کاهش ناچیز این ژن ها میباشد (۱۷). در بسیاری از منابع از حساسیت بالای ژن های درگیر در هایپرتروفی عضله مخصوصا در عضلات تند انقباض گفته می شود و بیان میشود این ژن ها تحت تاثیر عوامل داخلی و خارجی بسیاری است (۲۰). بطور کلی بیان شده است ژن میوژنین در نتیجه بارکار

[5] .Watson et al

پرفشار بر روی تارهای تند انقباض و البته کند انقباض افزایش می یابد و این افزایش در تارهای تند انقباض بیشتر است. درین راستا، بیکل[۶] و همکاران نشان دادند علاوه بر افزایش سه برابری بیان ژن میوژنین در اثر یک وهله فعالیت مقاومتی، این مقادیر حتی تا ۲۴ ساعت بعد از فعالیت نیز افزایش داشته است (۲۱). اگرچه بسیاری از محققان این افزایش را ناشی از بارکار برونگرای بیشتر در تمرینات مقاومتی میدانند، اما برخی نیز سایر عوامل از جمله میزان مجموع دسته جات میوفیبریل درگیر در فعالیت را نیز حائز اهمیت میدانند که به خودی خود عمل مهمی در تفاوت سایر پروتکل های تمرینی نسبت به تمرینات مقاومتی است مضافا اینکه تمرینات مقاومتی در جوندگان نسبت به نمونه های انسانی نیز متفاوت است و بیان شده است میزان مقاومت در جوندگان نسبت به نمونه های انسانی بالاتر است لذا فشار ناشی از تمرینات مقاومتی بر نمونه های انسانی بیشتر است (۲۲, ۲۳). بعلاوه دریافت مکمل گلوتامین با و بدون فعالیت نیز عامل مهمی در تحریک و افزایش بیان ژن های میوژنیک می باشد. درین رابطه گیرون[۷] و همکاران (۲۰۱۶)، نشان دادند دریافت مکمل گلوتامین به تنهائی درمان جایگزین مناسبی برای تحریک رشد عضلانی ناشی از تحلیل عضلانی در بیماران مختلف میباشد (۲۴). همچنین هو[۸] و همکاران (۲۰۲۳)، در پژوهش خود نشان دادند اسید آمینه های لوسین و گلوتامین قادر به تقلیل آتروفی عضلانی هم در کوتاه مدت و هم بلند مدت می باشند (۲). از نتایج جالب و قابل بررسی پژوهش حاضر، افزایش بیشتر بیان ژن میوژنین در گروه تمرین مقاومتی شدید به تنهائی است که می توان دلائل متفاوتی را در این زمینه مطرح کرد. بنظر میرسد شدت تمرینات بدنی عامل موثر تری نسبت به مکمل گلوتامین دانست این نتایج ممکن است به دلیل فشار بیشتر احتمالی به الیاف سریع انقباض، یا ممکن است نشان دهنده پاسخ به توسعه سازگاری های مربوط به عملکرد تمرینات مقاومتی در چنین فیبرهایی باشد. همچنین ممکن است دوز دریافتی گلوتامین جهت اثرگذاری بر روند بیان ژن میوژنین در پژوهش حاضر ناکافی بوده باشد. برای مثال کویکه[۹] و همکاران (۲۰۲۲)، نشان دادند دوز موثر گلوتامین جهت اثرگذاری بر سیگنالینگ هایپرتروفی و قدرت ۱ گرم به ازاء هر کیلوگرم در روز است که تقریبا ۲ برابر دوز استفاده شده در پژوهش حاضر است (۲۵). بنظر میرسد تحقیقات بیشتری جهت بدست آوردن دوز موثر گلوتامین جهت اثرگذاری بر هایپرتروفی عضلانی مورد نیاز است.

همچنین در رابطه با ژن کراتین کیناز میوزین، نتایج پژوهش حاضر همانند ژن میوژنین با پژوهش های بسیاری همسو (۲۶-۲۸) و برخی ناهمو است (۲۹) که بیشتر دوره ریکاوری بعد از تمرینات مد نظر بوده است و البته همانطور که بیان شد همچنان افزایش کراتین کیناز بعد از فعالیت های بدنی مبهم و دو پهلو است. از یکسو این افزایش بیانگر آسیب عضلانی و تخریب برخی از مولکول های ساختاری مانند خطوط Z در مواجهه با بارکارهای پرشدت است و از سوی دیگر همین رخداد موجب بروز آبشارهای سلولی برای افزایش قدرت و حجم عضلانی با درگیر شدن سیستم ایمنی می شود (۱۱). تمرینات سنگین، به ویژه حرکات عضلانی غیرعادی (برونگرا)، اغلب منجر به سوراخ شدن سارکولم و آسیب به سارکومرها می شود .افزایش CK در گردش زمانی

[6] . Bickle et al
[7] . Girven et al
[8] . Hou et al
[9] . Koike et al

اتفاق می افتد که سارکولما و دیسک های Z آسیب ببینند و در نتیجه افزایش نفوذپذیری غشاء مشاهده می شود. افزایش نفوذپذیری غشاء اجازه می دهد تا CK به مایع بینابینی نشت کند، جایی که از طریق سیستم لنفاوی وارد گردش خون می شود. بنابراین یک آستانه شدت وجود دارد که ورزش باید از آن فراتر رود تا افزایش قابل توجهی در CK2 وجود داشته باشد. به طور معمول، فعالیت CK سرم در عرض چند ساعت پس از تمرین مقاومتی افزایش می یابد (۲۸). در مواجهه با پروتکل تمرینی مشابه (از جمله ورزش متوسط)، برخی از افراد سطوح بالایی از CK سرم را در مقایسه با سایر افراد مشابه دارند، حتی زمانی که عوامل اصلی مقایسه مانند جنسیت، سن و وضعیت تمرین در تجزیه و تحلیل داده‌ها لحاظ می‌شوند. به نظر می رسد هیچ ارتباط ثابتی بین ورزش معمولی یا ورزش غیرعادی با شدت بالا و افزایش بروز اختلال عملکرد یا اختلال عضلانی در افراد سالم ، حتی در حضور سطوح کراتین کیناز میوزین بیشتر از ۲۰ هزار واحد در لیتر وجود ندارد (۱۱). همچنین مکانیسم‌های مولکولی که منجر به آزاد شدن CK از عضله پس از ورزش خفیف می‌شوند، نامشخص هستند. توضیح بیشتر می‌تواند اطلاعات مهمی را برای ورزشکارانی که در مورد هیپرتروفی عضلانی، عملکرد و اهمیت دوره‌های استراحت بین دوره‌های تمرین نگران هستند، فراهم کند. در غیاب هر گونه آسیب مکانیکی عضلانی، این سوال باقی می ماند که آیا افزایش CK پس از تمرین نشان دهنده درجه ای از آسیب واقعی عضلانی یا نوعی محرک در فرآیندهای کنترل انرژی یا سایر مکانیسم های واکنش مولکولی است. اگر چنین باشد، افزایش سطح CK سرم ناشی از ورزش طبیعی ممکن است نتیجه فعالیت متابولیک طبیعی باشد نه نماینده آسیب فیزیکی به عضله (۲۸). درین راستا، بیان شده است افزایش افزایش کراتین کیناز موجب تحریک سایتوکاین های پیش التهابی و ضدالتهابی شده و درنهایت مسیرهای افزایش هایپرتروفی و قدرت را در بلند مدت مخصوصا در انقباضات برونگرا تحریک میکنند. این روند با ادامه فعالیت بدنی به دلیل سازگار شدن بدن و بیان ژن های جایگزین کاهش می یابد و مسیر هایپرتروفی سلولی از طریق سایر مسیر ها انجام میشود (۱۱). ازطرفی، بیان شده است دریافت مکمل گلوتامین موجب کاهش کراتین کیناز سرمی می شود. مارتینز و همکاران (۲۰۲۱)، نشان دادند دریافت ۶ گرم در روز به مدت ۲۰ روز گلوتامین موجب بهبود ظرفیت سیستم ایمنی و کاهش آنزیم های درگیر در التهاب سلولی و عضلانی می شود (۳۰). اگرچه همانطور که پیشتر بیان شد بیان ژن کراتین کیناز میوزین و افزایش این آنزیم در سطح سرم متفاوت است و باتوجه به رفتار دوگانه این انزیم افزایش مقادیر بیان ژن بنظر میرسد مربوط به سیگنالینگ هایپرتروفی و افزایش آن در سطح سرم بیانگر آسیب سلولی باشد. لذا در پژوهش فوق باتوجه به اندازه گیری این آنزیم در سطح بیان ژن و افزایش بیان این ژن در گروه های تمرین و مکمل نسبت به گروه کنترل میتوان بیان داشت این مقادیر موجب تحریک مسیرهای هایپرتروفی شده است و همانند بیان ژن میوژنین بطور شگفت آوری این مقادیر در گروه تمرین مقاومتی شدید محض نسبت به گروه دریافت کننده گلوتامین بیشتر است که نشان میدهد تمرین به تنهائی قادر به افزایش بیان این ژن در عضلات تند انقباض موش های صحرائی میشود. اگرچه همانطور که بیان شده ممکن است دوز دریافتی مکمل گلوتامین در تحقیق ما کافی نبوده باشد. لذا تحقیقات بیشتری برای درک مقادیر موثر این اسید آمینه بر روند بیان ژن کراتین کنیاز میوزین مورد نیاز است.

نتیجه گیری

بنظر میرسد یک جلسه تمرین مقاومتی شدید موجب افزایش معنی دار بیان ژن های میوژنین و کراتین کیناز میوزینی در عضله تند انقباض بازکننده انگشتان موش های صحرائی نر می شود و این افزایش در گروه تمرین مقاومتی به تنهائی چشمگیر تر است.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تعارض در منافع ندارند.

فهرست منابع

1. Joanisse S, Lim C, McKendry J, Mcleod JC, Stokes T, Phillips SM. Recent advances in understanding resistance exercise training-induced skeletal muscle hypertrophy in humans. F1000Research. 2020;9.

2. Hou Y-C, Wu J-M, Chen K-Y, Wu M-H, Yang P-J, Lee P-C ,et al. Glutamine and leucine administration attenuates muscle atrophy in sepsis. Life Sciences. 2023;314:121327.

3. Cruzat V, Macedo Rogero M, Noel Keane K, Curi R, Newsholme P. Glutamine: metabolism and immune function, supplementation and clinical translation. Nutrients. 2018;10(11):1564.

4. Zhao Y, Albrecht E, Stange K, Li Z, Schregel J, Sciascia QL, et al. Glutamine supplementation stimulates cell proliferation in skeletal muscle and cultivated myogenic cells of low birth weight piglets. Scientific Reports. 2021;11(1):13432.

5. Li Z, Sciascia QL, Görs S, Nguyen N, Baghal FR, Schregel J, et al. Glutamine supplementation moderately affects growth, plasma metabolite and free amino acid patterns in neonatal low birth weight piglets. British Journal of Nutrition. 2022;128(12):2330-40.

6. Shamim B, Hawley JA, Camera DM. Protein availability and satellite cell dynamics in skeletal muscle. Sports Medicine. 2018;48:1329-43.

7. Hunter DJ, James LS, Hussey B, Ferguson RA, Lindley MR, Mastana SS. Impacts of Eccentric Resistance Exercise on DNA Methylation of Candidate Genes for Inflammatory Cytokines in Skeletal Muscle and Leukocytes of Healthy Males. Genes. 2023;14(2):478.

8. Gjevestad GO, Hamarsland H, Raastad T, Ottestad I, Christensen JJ, Eckardt K, et al .Gene expression is differentially regulated in skeletal muscle and circulating immune cells in response to an acute bout of high-load strength exercise. Genes & nutrition. 2017;12(1):1-11.

9. Chen Z, Zhao T-J, Li J, Gao Y-S, Meng F-G, Yan Y-B, et al. Slow skeletal muscle myosin-binding protein-C (MyBPC1) mediates recruitment of muscle-type creatine kinase (CK) to myosin. Biochemical Journal. 2011;436(2):437-45.

10. Coqueiro AY, Raizel R, Bonvini A, Rogero MM, Tirapegui J. Effects of glutamine and alanine supplementation on muscle fatigue parameters of rats submitted to resistance training. Nutrition. 2019;65:131-7.

11. Baird MF, Graham SM, Baker JS, Bickerstaff GF. Creatine-kinase-and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. Journal of nutrition and metabolism. 2012;2012.

12. Damghan I. The Eeffect of a Resistance Training Course with Spirulina Supplementation and Glutamine Supplementation on Gene Expression (MyoD) in the Long Extensor Muscle of Male Mice. J Med Sci-۳۰۹:(۱۲)۲۸;۲۰۲۱ . .۱۸

13. Caldow MK, Thomas EE, Dale MJ, Tomkinson GR, Buckley JD, Cameron-Smith D. Early myogenic responses to acute exercise before and after resistance training

in young men. Physiological reports. 2015;3(9):e12511.

14. Wilborn CD, Taylor LW, Greenwood M, Kreider RB, Willoughby DS. Effects of different intensities of resistance exercise on regulators of myogenesis. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2009;23(8):2179-87.

15. 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. The FASEB Journal. 2020;34(1):1885-900.

16. Yang Y, Creer A, Jemiolo B, Trappe S. Time course of myogenic and metabolic gene expression in response to acute exercise in human skeletal muscle. Journal of applied physiology. 2005;98(5):1745-52.

17. Watson EL, Viana JL, Wimbury D, Martin N, Greening NJ, Barratt J, et al. The effect of resistance exercise on inflammatory and myogenic markers in patients with chronic kidney disease. Frontiers in physiology. 2017;8:541.

18. Ziyaiyan A, Kordi M, Hofmeister M, Chamari K, Moalla W, Gaeini AA. High-intensity circuit training change serum myostatin but not myogenin in adolescents' soccer players: a quasi-experimental study. BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation. 2023;15(1):15.

19. Afsharnezhad Roudsari T, Amani A. The effects of resistance training on muscle strength, hypertrophy and myogenin protein level of gastrocnemius in elderly rats. Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport. 2019;7(14):31-44.

20. Zumbaugh MD, Johnson SE, Shi TH, Gerrard DE. Molecular and biochemical regulation of skeletal muscle metabolism. Journal of Animal Science. 2022;100(8):skac035.

21. Bickel CS, Slade J, Mahoney E, Haddad F, Dudley GA, Adams GR. Time course of molecular responses of human skeletal muscle to acute bouts of resistance exercise. Journal of applied physiology. 2005;98(2):482-8.

22. Mackey AL, Holm L, Reitelseder S, Pedersen T, Doessing S, Kadi F, et al. Myogenic response of human skeletal muscle to 12 weeks of resistance training at light loading intensity. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 2011;21(6):773-8.٢

23. Joanisse S, Gillen JB, Bellamy LM, McKay BR, Tarnopolsky MA, Gibala MJ, et al. Evidence for the contribution of muscle stem cells to nonhypertrophic skeletal muscle remodeling in humans. The FASEB Journal. 2013;27(11):4596.

24. Girven M, Dugdale HF ,Owens DJ, Hughes DC, Stewart CE, Sharples AP. l-glutamine Improves Skeletal Muscle Cell Differentiation and Prevents Myotube Atrophy After Cytokine (TNF-α) Stress Via Reduced p38 MAPK Signal Transduction. Journal of cellular physiology. 2016;231(12):272.٣٢-٠

25. Koike TE, Dell Aquila RA, Silva KS, Aoki MS, Miyabara EH. Glutamine supplementation improves contractile function of regenerating soleus muscles from rats. Journal of Muscle Research and Cell Motility. 2022;43(2):87-97.

26. Khajehlandi M, Janbozorgi M. Effect of one session of resistance training with and without blood flow restriction on serum levels of creatine kinase and lactate dehydrogenase in female athletes. Journal of Clinical and Basic Research. 2018;2(2):5-10.

27. de Castro A, Vianna JM, Damasceno V, de Matos Filho D. Muscle recovery after a session of resistance training monitored through serum creatine kinase. Journal of Exercise Physiology Online. 2011;14(5):38-45.

28. Koch A, Pereira R, Machado M. The creatine kinase response to resistance

exercise. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2014;14(1):68-77.

29. Fridén J, Lieber RL. Serum creatine kinase level is a poor predictor of muscle function after injury. Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports: Short communication. 2001 Apr;11(2):126-7.

30. Córdova-Martínez A, Caballero-García A, Bello HJ, Pérez-Valdecantos D, Roche E. Effect of glutamine supplementation on muscular damage biomarkers in professional basketball players. Nutrients. 2021;13(6):2073.

Journal of Animal Physiology and Development
Volume 16, Issue 3, Number 63, Pages 65-77
Qjaphd.sinaweb.net **ISSN: 9880-1735**

The effect of an intense resistance training with Glutamine supplementation on the relative expression of Myogenin and Myosin creatine kinase genes in fast-twitch muscle fibers of adult male Wistar rats

Mansur Mottahedy[1], **Tahereh Bagherpoor[2]**, Ardeshir Zafari[3], Nematolah Nemati[4]

1-Doctoral student in the Department of Sports Physiology and Sports Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2-Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran. Corresponding Author: bagherpoor_ta@yahoo.com
3-Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Humanities and Arts, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
4- Associate Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran

Received:2023.04. 28 **Accepted: 2023.06.08**

Abstract

Background & Aim: Despite the importance of resistance protocol and glutamine on hypertrophy, their effect on myogenic genes expression process is still unknown. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of an intense resistance session with glutamine on Myogenin and Myosin creatine kinase gene expression in male Wistar rats.
Materials & Methods: 30 8-week-old male rats with an approximate weight of 220±20 were prepared and divided into three groups, control, intense resistance training, and intense resistance training with glutamine, in a simple random manner. The training groups participated in a resistance session of climbing the ramp with 4 sets, 5 repetitions, 30 seconds of rest between repetitions and 2 minutes of rest between sets. Glutamine was once a day powder dissolved in 100 cc of distilled water at a dose of 5.5 grams per kilogram of body weight every day for 5 days. The Extensor Digitorum long muscle tissue was sent to the relevant laboratory to study the expression of Myogenin and Myosin creatine kinase genes. The relative fold change method was used to check gene expression data at a significance level of 5%.
Results: The gene expression results showed that myogenin and myosin creatine kinase gene expression levels increased significantly as a result of a high-intensity resistance training session with glutamine compared to the control group, and this value was more pronounced in the resistance training group ($p<0.05$).
Conclusion: It seems that an intense resistance training session is more effective than glutamine on the increase of myogenic genes.

Key words: Myogenin gene, myosin creatine kinase, intense resistance training, glutamine