

The effect of 8-week resistance training on the content of RAS and RAF-1 proteins in the EDL muscle of old rats

Hamid Khodaverdi¹, Neda Aghaei Bahmanbeglou^{1*}, Reza Rezaee Shirazi¹, Saeedeh Shadmehri²

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran
2. Department of Physical Education and Sport Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding author e-mail: Nedaaghaei@aliabadiu.ac.ir

Abstract

Background and Objective: The mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway is one of the important pathways in the regulation of muscle volume, and aging is one of the important factors in this disorder. Therefore, the aim of this research is the effect of eight weeks of resistance training on the content of RAS and RAF-1 proteins in the extensor digitorum longus (EDL) muscle of old rats.

Materials and Methods: In this fundamental experimental research, 12 male Sprague-Dawley rats aged 20 months with an average weight of 400 ± 30 gr were randomly divided into 2 groups: 1-control (6 rats) and 2- resistance training (6 rats). The resistance training program was 3 sessions per week for 8 weeks. Rats climbed a one meter vertical ladder with an 85-degree incline, 26 rungs and two cm of space between each rung. The content of proteins was measured through Western Blot laboratory method. Data analysis was done through independent t-test in SPSS version 27 and GraphPad Prism version 10.2.2. The significance level was set at $P\leq 0.05$.

Results: Eight weeks of resistance training led to a significant increase in RAS and RAF-1 protein levels in the EDL muscle of aged rats ($P=0.0001$). Cohen's test showed a strong effect size for the amount of RAS (4.44) and RAF-1 (4.88) proteins.

Conclusion: It seems that the increase of RAS and RAF-1 proteins following resistance training can lead to the initiation of the MAPK pathway as a pathway in the regulation of muscle volume and mass.

Keywords: Resistance training, RAS protein, RAF-1 protein, EDL muscle, Aging

Received: Apr 13, 2024

Revised: May 28, 2024

Accepted: Jun 17, 2024

How to cite this article: Khodaverdi H, Aghaei Bahmanbeglou N, Rezaee Shirazi R, Shadmehri S. The effect of eight weeks of resistance training on the content of RAS and RAF-1 proteins in the EDL muscle of old rats. *Daneshvar Medicine* 2024; 31(2):63-72. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.19018.1487

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین‌های RAS و RAF-1 در عضله EDL موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر

حمید خداوردی^۱، ندا آقایی بهمن‌بگلو^{۱*}، رضا رضایی شیرازی^۱، سعیده شادمهری^۲

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران
۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: ندا آقایی بهمن‌بگلو Email: Nedaaghaei@aliabadiu.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: مسیر پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوزن (MAPK)، از مسیرهای مهم در تنظیم حجم عضلانی می‌باشد و پیری از عوامل مهم در اختلال این است؛ بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین‌های RAS و RAF-1 در عضله بازکننده طولی انگشتان پا (Extensor Digitorum Longus) موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی بنیادی حاضر، تعداد ۱۲ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر ۲۰ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزنی 40.0 ± 3.0 گرم به صورت تصادفی به ۲ گروه ۱- کنترل (۶ سر) و ۲- تمرین مقاومتی (۶ سر) تقسیم شدند. برنامه تمرین مقاومتی به مدت ۸ هفته، هفته‌ای ۳ جلسه بود. رت‌ها از یک نردبان عمودی با شیب ۸۵ درجه به طول یک متر با ۲۶ پله و دو سانتی‌متر فضای بین هر پله بالا می‌رفتند. از طریق روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات محتوای پروتئین‌ها اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آزمون t-مستقل در نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۷ و گراف‌پد پرسم نسخه ۱۰/۲/۲ انجام شد. سطح معناداری $P \leq 0.05$ بود.

نتایج: هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین‌های RAS و RAF-1 در عضله EDL موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر شد ($P=0.0001$). آزمون کوهن اندازه اثر قدرتمندی را برای میزان پروتئین‌های RAS (۴/۴۴) و RAF-1 (۴/۸۸) نشان داد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد افزایش پروتئین‌های RAS و RAF-1 به دنبال انجام تمرین مقاومتی می‌تواند منجر به شروع مسیر MAPK به عنوان یک مسیر در تنظیم حجم و توده عضلانی شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین مقاومتی، پروتئین RAS، پروتئین RAF-1، عضله EDL، پیری

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۱/۲۵

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۰۸

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۸

مقدمه

با افزایش سن افراد حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از فیبرهای عضلانی اسکلتی و به طور متوسط حدود ۴۰ درصد از قدرت خود را از دست می‌دهند. این کاهش توده عضلانی و قدرت ناشی از افزایش سن، که سارکوپنیا نامیده می‌شود، عامل اصلی از دست دادن تحرک، استقلال و عوارض در سالمندان است (۱). به عبارت دیگر سارکوپنیا یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش کیفیت زندگی سالمندان می‌باشد و با عوارض و مرگ و میر همراه است (۲). شیوه زندگی و مداخلات دارویی برای کاهش اثرات سارکوپنیا، از اهمیت زیادی برای سلامت عمومی برخوردار است (۳).

با وجود شواهد فزاینده از پیامدهای بالینی سارکوپنیا در عضله اسکلتی سالمندان، مکانیسم‌های سلولی دقیق زیربنای آن هنوز ناشناخته است. علاوه بر این، یک تشخیص ناقص پاتولوژیک و فیزیولوژیک سارکوپنیا منجر به استراتژی‌های مداخله‌ای شکست خورده برای مطالعات می‌شود (۴). حفظ فیزیولوژیکی بافت عضله اسکلتی به تعادل بین مسیرهای آنابولیک و کاتابولیک بستگی دارد. تعادل بین سنتز پروتئین و تخریب پروتئین یک پارامتر تعیین‌کننده برای حفظ توده عضلانی اسکلتی در طول سالمندی است (۵).

مسیرهای سیگنالینگ بسیاری در این تعادل درگیر هستند. آبشار پروتئین کیناز فعال‌شده توسط میتوزن (MAPK)^۱ شامل سرین/ترئونین کینازهایی است که مولکول‌های خارج سلولی مانند عوامل رشد (انسولین و IGF-1)، هورمون‌ها و عوامل تمایز سلولی را به سیگنال‌های داخل سلولی برای تنظیم تکثیر، تمایز و بقاء سلول هدایت و تبدیل می‌کنند (۶). چهار پروتئین مهم که هسته‌ی مرکزی این آبشار سلولی را تشکیل می‌دهند شامل RAS، RAF، MEK و ERK هستند که منجر به فعال‌شدن این مسیر سلولی می‌شوند. پروتئین RAS، یک پروتئین بالادست مسیر MAPK است و دارای یک ترکیب اتصال GTP

فعال و یک ترکیب اتصال GDP غیرفعال است (۷). پروتئین RAS دارای سه عضو (N-RAS، Ki-RAS و HA-RAS) و پروتئین RAF دارای سه عضو (A-RAF، B-RAF و RAF-1) می‌باشند (۸،۹). پروتئین‌های RAS و RAF-1 نقش مهمی در مسیر سیگنالینگ MAPK ایفا می‌کنند (۱۰). پروتئین RAS با فعال‌کردن پروتئین RAF-1 می‌تواند منجر به فعال‌شدن عوامل پایین‌دست مانند MEK و MAPK شود و در نهایت سیگنال‌های تکثیر و تمایز سلولی را با تنظیم فعالیت تنظیم‌کننده‌های رونویسی مختلف که بیان ژن را تنظیم می‌کنند به هسته می‌رساند (۱۱).

استراتژی‌های فعلی برای مدیریت سارکوپنیا شامل تمرین ورزشی همراه با حمایت تغذیه‌ای است (۱۲). در میان راهبردهای مداخله‌ای، فعالیت‌های ورزشی برای بهبود عملکرد عضلات اسکلتی به خوبی شناخته شده است (۱۳). تمرین‌های مقاومتی یک مداخله ورزشی اولیه است که برای توسعه قدرت و تحریک هیپرتروفی عضلانی استفاده می‌شود. افزایش توده عضلانی به دلیل ارتباط بین سطح مقطع عضلانی و قدرت عضلانی، مؤلفه‌های کلیدی آمادگی در ورزش‌های مختلف را تشکیل می‌دهد (۱۴). علاوه بر این، سطوح کافی توده عضلانی یک موضوع مهم از نظر سلامتی است زیرا سطوح پایین آن با افزایش خطر ابتلا به چندین بیماری مانند بیماری قلبی-عروقی، خطر متابولیک قلبی و همچنین دیابت نوع ۲ مرتبط در نوجوانان تا افراد میانسال و مسن است (۱۶). در تحقیقی میردار هریجانی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که RAS و RAF-1 در سلول‌های اپیتلیال ریه موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در معرض کارسینوزن به دنبال ۱۲ هفته تمرین ورزشی شنا با شدت زیربیشینه کاهش می‌یابد (۱۷). در تحقیقی دیگر نشان داده شد که پس از ۴ هفته ۲۷ ژن مرتبط با مسیر سیگنالینگ MAPK تغییر کرده است و بیان کردند که تجویز ۴ هفته تمرین هوازی همراه با کنترل

¹ Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK)

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی بود که به صورت گروه تجربی و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر ۲۰ ماهه از نژاد اسپراگ داوولی با میانگین وزنی 400 ± 30 گرم خریداری شدند. معیار ورود آزمودنی‌ها سن موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بود که سن ۲۰ ماه و بالاتر در نظر گرفته شد. موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در آزمایشگاه مخصوص حیوانات با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد توجه قرار گرفت. موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر به صورت تصادفی به ۲ گروه (۱ کنترل (۶ سر) و ۲ تمرین مقاومتی (۶ سر) تقسیم می‌شوند. گروه کنترل در طول انجام تحقیق هیچ‌گونه فعالیتی نداشت.

برنامه تمرین مقاومتی

برنامه تمرین مقاومتی موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر شامل صعود از نردبان مخصوص جوندگان بود و مرحله آشناسازی به مدت یک هفته بالارفتن از نردبان بدون بستن وزنه به دم موش‌های بزرگ آزمایشگاهی انجام شد. برنامه تمرینی اصلی تمرین مقاومتی شامل ۸ هفته و هفته‌ای ۳ جلسه بالارفتن از یک نردبان عمودی با شیب ۸۵ درجه به طول یک متر با ۲۶ پله و دو سانتی‌متر فضای بین هر پله بود. هر جلسه تمرین مقاومتی شامل ۳ نوبت با ۵ تکرار انجام شد که در فاصله هر تکرار یک دقیقه استراحت و در فاصله بین هر ست ۲ دقیقه استراحت در نظر گرفته شد. اصل اضافه بار برای موش‌های بزرگ آزمایشگاهی به این صورت بود که در هفته اول، دوم و سوم میزان وزنه‌های بسته شده به دم موش‌های بزرگ آزمایشگاهی شامل ۵۰ درصد وزن بدن آن‌ها بود و در هفته‌های چهارم و پنجم و ششم به ۷۵ درصد وزن بدن آن‌ها رسید و در نهایت در هفته‌های هفتم و هشتم به ۱۰۰ درصد وزن بدن آن‌ها

رژیم غذایی می‌تواند نقش مهمی در مسیر سیگنالینگ MAPK در آزمودنی‌های چاق ساده داشته باشد (۱۸).

همچنین در تحقیقی مشاهده شد که ۱۲ هفته تمرین ورزشی همراه با کاهش محدودیت کالری رژیم غذایی منجر به کاهش سطوح RAS و MAPK می‌شود. این محققان بر اساس نتایج خود گزارش کردند که کاهش مسیرهای سیگنالینگ Ras-MAPK یک هدف پیشگیری‌کننده از بیماری‌هایی مانند سرطان است (۱۹).

تمرین‌های مقاومتی در پیشگیری و درمان تحلیل عضلانی ناشی از سالمندی به دلیل توانایی آن در ترویج آنابولیسم پروتئین خالص عضلانی و در نتیجه سازگاری‌های عضلانی متابولیکی و مورفولوژیکی خاص مؤثر هستند (۲۰، ۲۱). تحلیل عضلانی ناشی از پیری یک بیماری چند عاملی است که با کاهش توده عضلانی اسکلتی، قدرت و عملکرد ناشی از افزایش سن از طریق مهار سنتز پروتئین و هموستاز مشخص می‌شود. فواید فعالیت‌های ورزشی در تحلیل عضلانی گسترده است و بر اساس نوع ورزش، شدت و فرکانس متفاوت است. تاثیرگذاری شرایط پاتولوژیک پیری و سالمندی بر مسیرها و پروتئین‌ها مرتبط با تنظیم حجم و توده عضلانی متفاوت هستند و درک روشن و مشخصی از مسیرهای سلولی مرتبط با مسیرهای اتوفازی، میتوفاژی، آتروفی و سنتز عضلانی وجود ندارد. پروتئین‌های تحقیق حاضر به عنوان شروع‌کننده مسیر MAPK می‌تواند منجر به تنظیم حفظ و توده عضلانی ناشی از انجام تمرین‌های مقاومتی شود. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین‌های RAS و RAF-1 در عضله بازکننده طویل انگشتان پا (EDL)^۱ موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر بود.

¹ Extensor Digitorum Longus

سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتامرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد Tween 20 TBST) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ۴ درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی‌های اولیه anti-RAS (259) (sc-35) و anti-RAF-1 (E-10) (Sc-7267) ثانویه anti-m-IgGκ BP-HRP: sc-516102 و rabbit IgG-HRP: sc-2357 شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها از آزمون t-مستقل برای بررسی میانگین بین گروه‌ها استفاده شد. اندازه اثر از طریق آزمون کوهن بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۷ و گراف‌پد پریم نسخه ۱۰/۲/۲ استفاده شد. نمودارها در نرم‌افزار گراف‌پد پریم طراحی شد. سطح معناداری در سطح $P \leq 0.05$ بررسی شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس آزمون t-مستقل نشان داد، مقدار t برای محتوای درون سلولی پروتئین RAS، ۷/۶۹ است؛ بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود دارد ($P=0.0001$) (نمودار ۱).

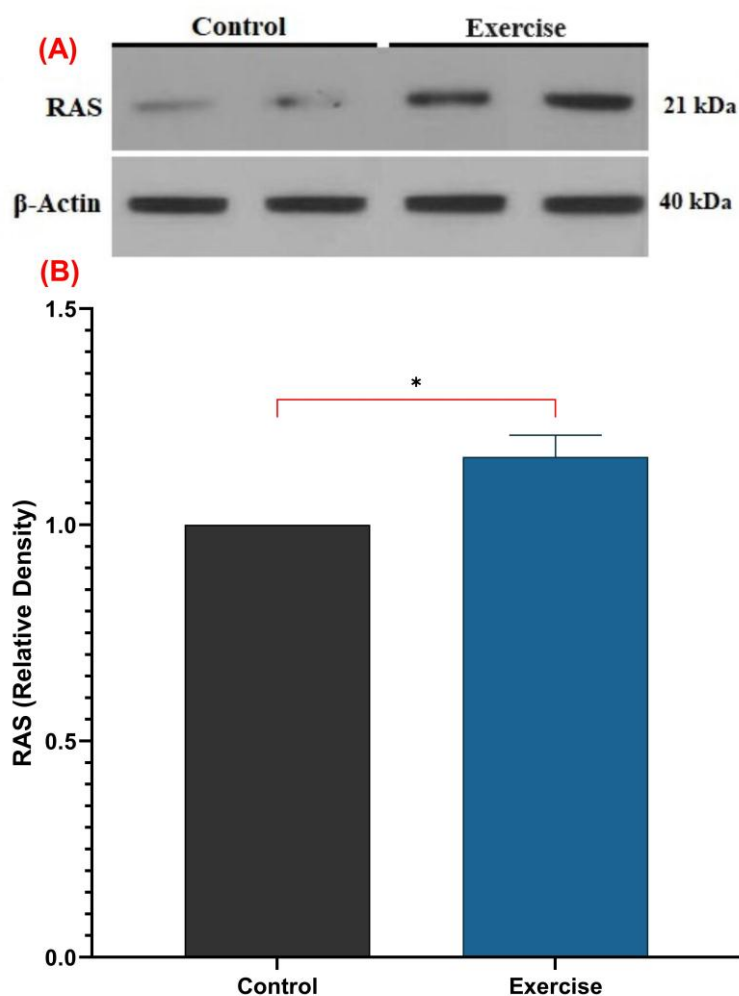
اعمال شد. به‌منظور گرم کردن و سرد کردن، قبل از انجام تمرین اصلی بین ۳ تا ۴ مرتبه بالا رفتن از نردبان بدون وزنه، قبل و بعد از هر جلسه تمرین در نظر گرفته شد (۲۲).

روش‌های بافت برداری

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت EDL بدن حیوان برداشته و بعد از شستشو در سرم فیزیولوژیک، بلافاصله در تانک ازت منجمد شد. سپس نمونه‌های بافتی عضله EDL برای سنجش‌های بعدی با دمای -80°C در فریزر گذاشته می‌شود.

روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت عضله EDL از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS) به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد و سپس در یک سانتیفریوژر یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲۰۰۰ و ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژر شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده‌ی پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری گردید (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگهداری شد، سپس هموژن به دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه‌ی لودینگ بافر (mM50) تریس کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل



نمودار ۱. مقایسه‌ی محتوای پروتئین RAS در گروه‌های تمرین مقاومتی و کنترل

(A). تصاویر وسترن‌بلات محتوای پروتئین RAS و β-Actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بافت عضله EDL. (B). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین RAS در مقابل لودینگ کنترل که به‌صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است. (* وجود افزایش معنی‌دار بین گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل، $P=0.0001$)

هفته تمرین مقاومتی می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر محتوای پروتئین RAS داشته باشد.

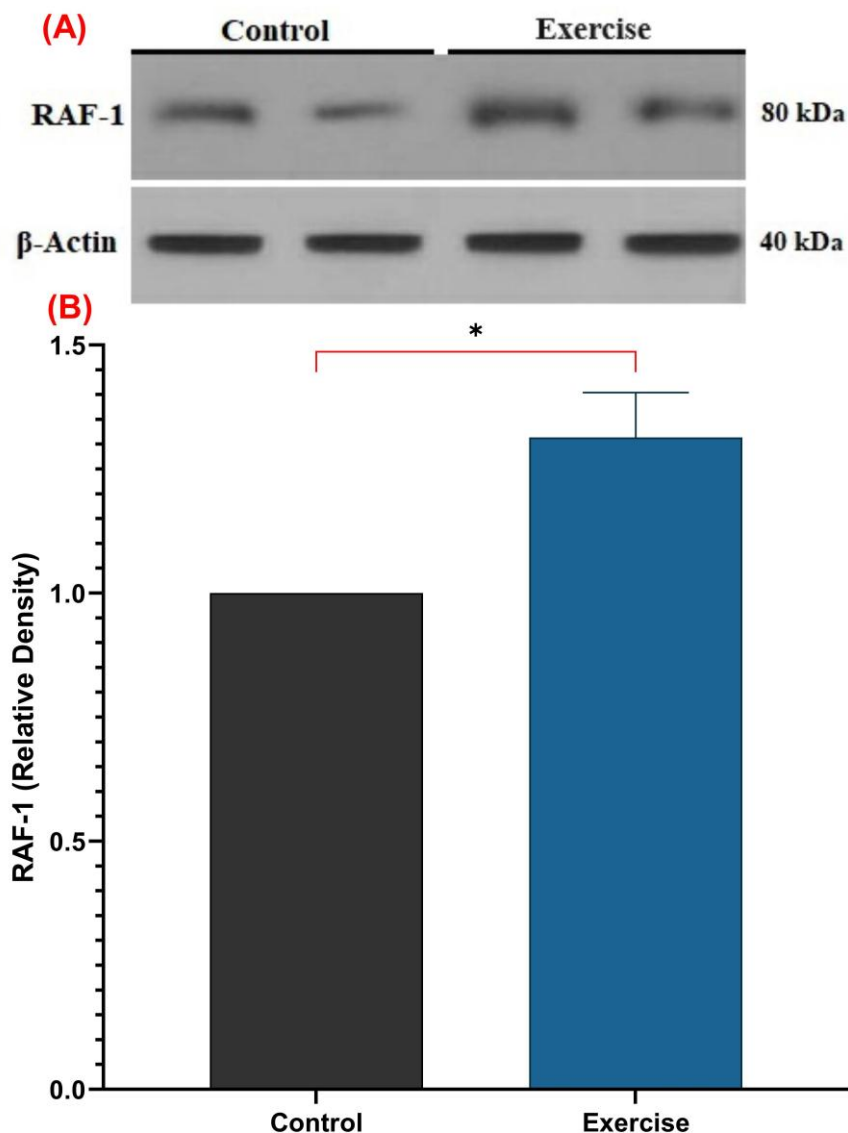
همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد، مقدار t برای محتوای درون سلولی پروتئین RAF-1، 46/8 است؛ بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود دارد ($P=0.0001$) (نمودار ۲). این نشان می‌دهد هشت هفته تمرین مقاومتی بر میزان پروتئین RAF-1 در عضله EDL موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر تأثیر معنی‌داری دارد و این تأثیر به صورت افزایش در محتوای گروه تمرین مقاومتی نسبت به کنترل است. آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین RAF-1، اثر قدرتمندی را نشان داد

این نشان می‌دهد هشت هفته تمرین مقاومتی بر میزان پروتئین RAS در عضله EDL موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر تأثیر معنی‌داری دارد و این تأثیر به صورت افزایش در محتوای گروه تمرین مقاومتی نسبت به کنترل است.

آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین RAS، اثر قدرتمندی را نشان داد ($\text{Effect Sizes}=4/44$)؛ با توجه به اینکه اندازه اثر به دست آمده از مقادیر مرجع آزمون کوهن (بالتر از ۰/۸، اندازه اثر بزرگ) بیشتر است، می‌توان ذکر کرد که اندازه اثر ۴/۴۴، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری قابل‌توجهی بین گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل است و می‌توان نتیجه گرفت که انجام هشت

تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل است و می توان نتیجه گرفت که انجام هشت هفته تمرین مقاومتی می تواند تاثیر قابل توجهی بر محتوای پروتئین RAF-1 داشته باشد.

(Effect Sizes=۴/۸۸). با توجه به اینکه اندازه اثر به دست آمده از مقادیر مرجع آزمون کوهن (بالتر از ۰/۸، اندازه اثر بزرگ) بیشتر است، می توان ذکر کرد که اندازه اثر ۴/۸۸، نشان دهنده تفاوت معنی داری قابل توجهی بین گروه



نمودار ۲. مقایسه‌ی محتوای پروتئین RAF-1 در گروه‌های تمرین مقاومتی و کنترل

(A). تصاویر وسترن‌بلات پروتئین RAF-1 و β-Actin به عنوان لودینگ کنترل در بافت عضله EDL نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین RAF-1 در مقابل لودینگ کنترل که به صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است (B). وجود افزایش معنی دار بین گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل، (P=۰/۰۰۰۱) *

بزرگ آزمایشگاهی پیر انجام شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش معنی دار میزان پروتئین های RAS و RAF-1 در عضله EDL موش های بزرگ آزمایشگاهی پیر می شود.

بحث

این تحقیق با هدف تاثیر تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین های RAS و RAF-1 در عضله EDL موش های

تمرین‌های مقاومتی در پیشگیری و درمان تحلیل عضلانی ناشی از سالمندی به دلیل توانایی آن در ترویج آنابولیسم پروتئین خالص عضلانی و در نتیجه سازگاری‌های عضلانی متابولیکی و مورفولوژیکی خاص مؤثر هستند (۲۱،۲۰). مسیر MAPK، متشکل از آبشار سیگنالینگ MAPK است و ژن‌هایی را تنظیم می‌کند که مسئول تنظیم تکثیر، تمایز و بقای سلولی است. در داخل آبشار، ایزوفرم‌های متعدد RAS و RAF هر کدام از نظر عملکرد، کارایی و شروع آبشار سیگنالینگ بسیار مهم است (۲۳). در این راستا در تحقیقی کیم و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که پروتئین‌های مرتبط با مسیر MAPK به دنبال انجام تمرین ورزشی اسکلتی در عضله اسکلتی دوقلو افزایش می‌یابد (۲۴). فعالیت‌های ورزشی یک محرک قوی برای فسفوریلاسیون (فعال‌سازی) پروتئین‌های مرتبط با مسیر MAPK است. در حمایت از نقش در هیپرتروفی عضلانی، فعال‌شدن پروتئین‌های مسیر MAPK در عضلات اسکلتی منجر به رشد فیبر عضلانی در پاسخ به اضافه بار می‌شود (۲۵). فعالیت پایدار آبشار سیگنالینگ MAPK در عضله اسکلتی منجر به سوئیچ نوع فیبرها می‌شود و این نشان می‌دهد که تعدیل این مسیر سیگنالینگ ممکن است یک رویکرد درمانی برای افزایش اثربخشی متابولیک طولانی‌مدت عضلات بدن باشد (۲۶).

تمرین مقاومتی یکی از روش‌های مؤثر برای پیشگیری و کاهش اثرات منفی سنین پیشرفته بر عضلات است. تمرین مقاومتی می‌تواند باعث افزایش قدرت، حجم و کیفیت عضلانی شود. این اثرات ممکن است به دلیل تغییرات در فعالیت و بیان ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با رشد و تمایز عضلانی باشد. یکی از این پروتئین‌ها RAS است که یک مولکول سیگنالینگ است که در فرآیندهای میتوز، هاپرتروفیک و ضدآپوپتوزی عضلانی نقش دارد. پروتئین RAF-1 یکی از مهم‌ترین هدف‌های پایین‌دستی RAS است که مسیرهای MAPK را فعال می‌کند. این مسیرها در تنظیم رشد، تمایز، بازسازی و بقای سلول‌های عضلانی مؤثر هستند. بنابراین، می‌توان انتظار داشت که تمرین مقاومتی باعث افزایش محتوای پروتئین‌های RAS و RAF-1 در عضله EDL موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر شود. این نتایج با یافته‌های برخی از مطالعات قبلی که

اثر تمرین‌های ورزشی بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با مسیر MAPK را در عضلات مختلف موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بررسی کرده‌اند، مطابقت دارد (۲۴-۲۶). این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل تفاوت‌های در نوع، شدت، مدت زمان و تکرار تمرین مقاومتی، نوع و محل عضله مورد بررسی، روش اندازه‌گیری پروتئین‌ها و ژنوتیپ موش‌های بزرگ آزمایشگاهی باشد. بنابراین، برای درک بهتر از مکانیسم‌های مولکولی تمرین مقاومتی بر عضلات موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر، نیاز به انجام مطالعات بیشتر با شرایط متنوع ورزشی و مولکولی است. در این راستا در تحقیقی میردار هریجانی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که RAS و RAF-1 در سلول‌های اپیتلیال ریه موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در معرض کارسینوزن به دنبال ۱۲ هفته تمرین ورزشی شنا با شدت زیربیشینه کاهش می‌یابد (۱۷). نتایج مطالعات متعدد (۱۷، ۲۴، ۲۵) نشان می‌دهد که تمرین‌های ورزشی با ماهیت‌های گوناگون می‌تواند آبشار سیگنالینگ MAPK را فعال/غیرفعال کند. با این حال نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین مقاومتی منجر به افزایش دو عضو اساسی و شروع کننده این مسیر یعنی RAS-RAF شد. فعال‌شدن این عوامل مهم می‌تواند مسیر را به صورت کلی فعال کند و در نهایت منجر به هیپرتروفی عضلانی شود.

مکانیسم‌های دقیقی که توسط آن تمرین‌های مقاومتی سنتز پروتئین را در عضلات پیر تحریک می‌کند هنوز به طور کامل شناخته نشده است. با این حال، در پاسخ به تمرین‌های مقاومتی، IGF-1 و گیرنده‌های آن و همچنین مسیرهای سیگنالینگ AKT/mTOR و AKT/Foxo3a ممکن است تعدیل شوند (۲۰). در واقع، در پاسخ به تمرین‌های مقاومتی، IGF-1-PI3K را فعال می‌کند، که منجر به جابجایی غشایی و متعاقب آن فسفوریلاسیون AKT توسط کیناز وابسته به فسفوئینوزیتید ۱ و ۲ (PDPK) می‌شود. پس از فعال‌شدن، AKT-mTOR و گلیکوژن سنتاز بتا کیناز (GSK3B) را فسفریله می‌کند. که نقش مهمی در سنتز پروتئین، فرآیندهای رونویسی و تکثیر مرتبط با پاسخ

¹ Proline-Directed Protein Kinase

² Glycogen Synthase Kinase 3 Beta

است به کاهش اثرات منفی سنین پیشرفته بر عضلات کمک کند. با این حال برای درک بهتر از مکانیسم‌های مولکولی تمرین مقاومتی بر عضلات موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر، نیاز به انجام مطالعات بیشتر با شرایط متنوع ورزشی و مولکولی است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با کد اخلاق IR.US.PSYEDU.REC.1402.066 به ثبت رسیده است.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

هیپرتروفیک و کنترل تخریب پروتئین دارند. مکانیسم‌های دیگری که در MPS دخیل هستند، آنهایی هستند که سیگنالینگ MAPK را تنظیم می‌کنند. نشان داده شده است که در پاسخ به تمرین‌های مقاومتی، فسفوریلاسیون ERK1/2 توسط MAPK افزایش یافته و mTOR فعال می‌شود. فعال شدن mTOR توسط مسیر ERK ممکن است از طریق فسفوریلاسیون کمپلکس توبروس اسکلروزیس ۲ (TSC2) رخ دهد (۲۷).

نتیجه‌گیری

در نهایت نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی منجر به افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین‌های RAS و RAF-1 در عضله EDL موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پیر می‌شود. این یافته‌ها حاکی از این است که تمرین مقاومتی می‌تواند با تحریک مسیر RAS/RAF/MAPK، فرآیندهای رشد، تمایز، بازسازی و بقای سلول‌های عضلانی را بهبود بخشد. این اثرات ممکن

منابع

- Jandova T, Narici MV, Steffl M, Bondi D, D'Amico M, Pavlu D, et al. Muscle Hypertrophy and Architectural Changes in Response to Eight-Week Neuromuscular Electrical Stimulation Training in Healthy Older People. *Life* 2020;10(9):184.
- Yasuda T. Selected Methods of Resistance Training for Prevention and Treatment of Sarcopenia. *Cells* 2022;11(9):1389.
- Straight CR, Fedewa MV, Toth MJ, Miller MS. Improvements in skeletal muscle fiber size with resistance training are age-dependent in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Applied Physiology* 2020;129(2):392-403.
- Seo DY, Hwang BG. Effects of exercise training on the biochemical pathways associated with sarcopenia. *Physical Activity and Nutrition* 2020;24(3):32-8.
- Adams SC, Segal RJ, McKenzie DC, Vallerand JR, Morielli AR, Mackey JR, et al. Impact of resistance and aerobic exercise on sarcopenia and dynapenia in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a multicenter randomized controlled trial. *Breast Cancer Research and Treatment* 2016;158:497-507.
- Jiang M, Wen F, Cao J, Li P, She J, Chu Z. Genome-wide exploration of the molecular evolution and regulatory network of mitogen-activated protein kinase cascades upon multiple stresses in *Brachypodium distachyon*. *Bmc Genomics* 2015;16:1-14.
- Muñoz-Maldonado C, Zimmer Y, Medová M. A comparative analysis of individual RAS mutations in cancer biology. *Frontiers in Oncology* 2019;9:1088.
- Knight T, Irving JAE. Ras/Raf/MEK/ERK pathway activation in childhood acute lymphoblastic leukemia and its therapeutic targeting. *Frontiers in Oncology* 2014;4:160.
- Yang S, Liu G. Targeting the Ras/Raf/MEK/ERK pathway in hepatocellular carcinoma. *Oncology Letters* 2017;13(3):1041-7.
- Roskoski Jr R. Targeting ERK1/2 protein-serine/threonine kinases in human cancers. *Pharmacological Research* 2019;142:151-68.
- Guo YJ, Pan WW, Liu SB, Shen ZF, Xu Y, Hu LL. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2020;19(3):1997-2007.
- Yang L-J, Wu G-H, Yang Y-L, Wu Y-H, Zhang L, Wang M-H, et al. Nutrition, physical exercise, and the prevalence of sarcopenia in elderly residents in nursing homes in China. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research* 2019;25:4390.
- Vikberg S, Sörlén N, Brandén L, Johansson J, Nordström A, Hult A, et al. Effects of resistance training on functional strength and muscle mass in 70-year-old individuals with pre-sarcopenia: a

- randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Directors Association* 2019;20(1):28-34.
14. Krzysztofik M, Wilk M, Wojdała G, Gołaś A. Maximizing Muscle Hypertrophy: A Systematic Review of Advanced Resistance Training Techniques and Methods. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2019;16(24):4897.
 15. Alizadeh Pahlavani H, Laher I, Knechtle B, Zouhal H. Exercise and mitochondrial mechanisms in patients with sarcopenia. *Frontiers in Physiology* 2022;13: 1-18.
 16. Son JW, Lee SS, Kim SR, Yoo SJ, Cha BY, Son HY, et al. Low muscle mass and risk of type 2 diabetes in middle-aged and older adults: findings from the KoGES. *Diabetologia* 2017;60(5):865-72.
 17. Mirdar Harijani S, Musavi N. The effect of 12 weeks of submaximal swimming training on immunoreactivity of Ras and Raf-1 in lung epithelial cells of Wistar rats exposed to carcinogen NN. *Research in Sport Medicine and Technology* 2020;18(19):113-26.
 18. Xu Y, Chen P, Wang R. Effect of Aerobic Exercise Prescription Combined with Dietary Intervention on MAPK Signal Pathway in Simple Obese Children. *Converter* 2021;536-41.
 19. Standard J, Jiang Y, Yu M, Su X, Zhao Z, Xu J, et al. Reduced signaling of PI3K-Akt and RAS-MAPK pathways is the key target for weight-loss-induced cancer prevention by dietary calorie restriction and/or physical activity. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2014;25(12):1317-23.
 20. Hodson N, West DWD, Philp A, Burd NA, Moore DR. Molecular regulation of human skeletal muscle protein synthesis in response to exercise and nutrients: a compass for overcoming age-related anabolic resistance. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2019;317(6):C1061-C78.
 21. Alizadeh Pahlavani H. Exercise Therapy for People With Sarcopenic Obesity: Myokines and Adipokines as Effective Actors. *Frontiers in Endocrinology* 2022;13: 1-20.
 22. Thirupathi A, da Silva Pieri BL, Queiroz JAMP, Rodrigues MS, de Bem Silveira G, de Souza DR, et al. Strength training and aerobic exercise alter mitochondrial parameters in brown adipose tissue and equally reduce body adiposity in aged rats. *Journal of Physiology and Biochemistry* 2019;75:101-8.
 23. Dillon M, Lopez A, Lin E, Sales D, Perets R, Jain P. Progress on Ras/MAPK Signaling Research and Targeting in Blood and Solid Cancers. *Cancers* 2021;13(20):5059.
 24. Kim M, Chun J, Jung HA, Choi JS, Kim YS. Capillarisin attenuates exercise-induced muscle damage through MAPK and NF- κ B signaling. *Phytomedicine* 2017;32:30-6.
 25. Attwaters M, Hughes SM. Cellular and molecular pathways controlling muscle size in response to exercise. *The FEBS Journal* 2022;289(6):1428-56.
 26. Boyer JG, Song T, Lee D, Fu X, Sadyappan S, Molkentin JD. Mitogen-Activated Protein Kinase-Dependent Fiber-Type Regulation in Skeletal Muscle. *Cold Spring Harbor Laboratory, Biorxiv* 2018, 361600: 1-21.
 27. Ziaaldini MM, Marzetti E, Picca A, Murlasits Z. Biochemical Pathways of Sarcopenia and Their Modulation by Physical Exercise: A Narrative Review. *Frontiers in Medicine* 2017;4: 1-8.