Research Paper

The effect of eight weeks of resistance training on KIF5B protein in soleus and extensor digital longus muscle tissue in aged male rats

Mojtaba Sadegh Ghomi[1*], Majid Kashef[1], Mojtaba Saleh pour[1], Fariba Khodagholi[2]

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Science , Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran
2. Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: MojtabaSadeghghomi@sru.ac.ir**

Citation: Sadegh Ghomi M, Kashef M, Saleh pour M, Khodagholi F. The effect of eight weeks of resistance training on KIF5B protein in soleus and extensor digital longus muscle tissue in aged male rats. Daneshvar Medicine 2022; 30(5):79-89.
doi: 10.22070/DANESHMED.2022.16869.1282

Received: 17 Sep 2022
Last revised: 12 Dec 2022
Accepted: 26 Dec 2022

Abstract

Background and Objective: The reduction of effective motor proteins in axoplasmic transport is proposed as a possible reason for the occurrence of sarcopenia. The aim of the present study was determination of the effect of eight weeks of resistance training on amount of KIF5B protein in soleus and extensor digital longus (EDL) muscle tissue in aged male rats.

Materials and Methods: 18 Aged and young male rats were randomly divided into 3 groups: aged resistance training, aged sham exercise and young sham exercise. The aged resistance training group climbed a one-meter ladder for eight weeks, 4 days a week, with one set and 8 repetitions, with a 2-minute rest interval between repetitions. To measure the amount of KIF5B protein, ELISA method was used, to measure the relative weight of muscles, a weighing scale was used, and to test the hypotheses, one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used at the level of $p \leq 0.05$.

Results: Following aging, the amount of KIF5B protein decreased significantly in soleus muscle and EDL compare to Young Sham group. Eight weeks of resistance training caused a significant increase in the amount of KIF5B protein in the soleus and EDL compared to the aged sham exercise. The Relative weight of both muscles in the resistance training group had a significant increase compared to the aged sham exercise.

Conclusion: Eight weeks of resistance training increases the amount of KIF5B protein in soleus and EDL muscles and their hypertrophy in aged male rats.

Keywords: Resistance training, KIF5B, Soleus muscle, Extensor digital longus muscle, Aged rat

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر مقدار پروتئین KIF5B بافت عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان موش های بزرگ آزمایشگاهی نر سالمند

نویسندگان: مجتبی صادق قمی[1*]، مجید کاشف[1]، مجتبی صالح پور[1]، فریبا خداقلی[2]

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: مجتبی صادق قمی **Email: Mojtabasadeghghomi@sru.ac.ir**

چکیده

مقدمه و هدف: کاهش موتورپروتئین‌های مؤثر در انتقال آکسوپلاسمی به عنوان یک دلیل احتمالی در بروز سارکوپنیا مطرح می شود. هدف پژوهش حاضر، تعیین تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر مقدار پروتئین KIF5B بافت عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر سالمند بود.

مواد و روش ها: تعداد ۱۸ سر موش نر سالمند و جوان به طور تصادفی در ۳ گروه تمرین مقاومتی سالمند، شم تمرین سالمند و شم تمرین جوان تقسیم شدند. گروه تمرین مقاومتی سالمند برای هشت هفته، هر هفته ٤ روز، به بالا رفتن از نردبان یک متری با یک نوبت و ۸ تکرار و با فاصله استراحتی ۲ دقیقه بین تکرارها پرداختند. برای اندازه گیری مقدار پروتئین KIF5B از روش الایزا، برای اندازه گیری وزن نسبی عضلات از ترازوی وزن کشی و برای آزمون فرضیه ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح $p<۰/۰۵$ استفاده شد.

نتایج: به دنبال سالمندی مقدار پروتئین KIF5B، در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان در مقایسه با گروه شم جوان به طور معناداری کاهش یافت. هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنادار مقدار پروتئین KIF5B در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان نسبت به گروه شم تمرین سالمند شد. وزن نسبی هر دو عضله در گروه تمرین مقاومتی نسبت به شم تمرین سالمند افزایش معنادار داشت.

نتیجه‌گیری: هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش مقدار پروتئین **KIF5B** در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان و همچنین هایپرتروفی آن ها در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر سالمند می شود.

واژه های کلیدی: تمرین مقاومتی، **KIF5B**، عضله نعلی، عضله بازکننده طویل انگشتان، موش بزرگ آزمایشگاهی سالمند

دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۷
آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۱/۰۹/۲۱
پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۵

مقدمه

سارکوپنیا یکی از مهم ترین عوارض سالمندی زیستی در سطح عضله اسکلتی است که باعث برهم خوردن پروتئوستازیس[1] (تعادل سنتز و تجزیه پروتئین) تار عضله اسکلتی می‌شود (۱). این برهم خوردن تعادل به نحوی است که مسیرهای پیام رسانی تجزیه پروتئین‌ها مانند مسیر FOXO3/MAFbx/MuRF و مسیر مایواستاتین-SMAD بر مسیرهای سنتز پروتئین‌ها مانند Akt/PI3K/mTORC1 و مسیر CaMK/MEF-2/TEF-1 غلبه می‌کنند (۳-۱). کار گروه اروپایی سارکوپنیا در افراد مسن (EWGSOP[2])، سارکوپنیا را به عنوان یک سندرم سالمندی، عمدتاً با دو معیار کاهش عملکرد عضلانی (دیناپنیا[3]) و کاهش توده عضلانی برای تشخیص بالینی سارکوپنیا تعریف می‌کند (۱). افراد سارکوپنیک، بسیاری از اثرات نامطلوب جسمانی مانند اختلالات حرکتی، افزایش خطر افتادن و شکستگی، اختلال در توانایی انجام فعالیت‌های روزمره، ناتوانی‌ها، کیفیت پایین زندگی، از دست دادن استقلال و افزایش خطر مرگ را تجربه می‌کنند (۱،۲).

یکی از مهم ترین عوامل عصبی بروز سارکوپنیا کاهش سرعت انتقال آکسوپلاسمی به دنبال سالمندی است (۲). انتقال آکسوپلاسمی، انتقال سریع یا آهسته و دو سویه ارگانل‌ها، پروتئین‌ها و پپتیدها میان اعصاب حرکتی و تارهای عضله اسکلتی مربوط به آن از طریق سیلندر آکسونی است و ضرورت آن حفظ ساختار طبیعی و سوخت و ساز سلولی تار عضلانی و نورون حرکتی می باشد (۵-٤). در انتقال آکسوپلاسمی، سازوکار اصلی انتقال، موتور های مولکولی هستند و این انتقال نیازمند ATP و غلظت معینی از کلسیم است. مهم ترین موتور پروتئین موثر در انتقال رو به جلو کاینزین و در انتقال رو به عقب داینئین نام دارد (۷-٤).

ابَرخانواده کاینزین، ٤٥ ژن در ژنوم انسان را تشکیل می‌دهد که ۳۸ ژن در مغز بیان می شوند (۷). اعضای زیر خانواده کاینزین-۱، کاینزین-۲، کاینزین-۳ و تا حدی کمتر کاینزین-٤ در انتقال آکسونی سریع (۵۰-٤۰۰ میلی متر در روز) و آهسته (کمتر از ۸ میلی متر در روز) نقش دارند (۵،٦). موتورهای فعال کاینزین-۱ از یک دایمر زنجیره های سنگین کاینزین (که توسط سه ژن پستانداران به نام های KIF5A، KIF5B و KIF5C کدگذاری شده‌اند) یک دایمر از زنجیره های سبک کاینزین (کدگذاری شده توسط KLC1، KLC2، KLC3 و KLC4)که اغلب اما نه همیشه بخشی از مجموعه است و به مکانیزم خود بازدارندگی موتور کمک می کند، تشکیل می‌شوند. KIF5A و KIF5C به طور ویژه در نورون ها بیان می شوند، در حالی که KIF5B در همه سلول های بدن بیان می‌شود (۸).

KIF5B از طریق تعامل با سینتاکسین-۱ و سینتابولین، انتقال آکسونی پیش ساز های منطقه فعال را میانجیگری می‌کند (۹). KIF5B در سلول های عصبی، پیش‌سازهای وزیکولی سیناپسی و اندامک های غشایی را حمل می کند که حاوی اجزای پروتئین های وابسته به شکل پذیری سیناپسی مانند پروتئین مرتبط با سیناپتوزوم ۷۲۵ و سینتاکسین-۱ هستند (۹،۱۰). در سلول‌های عضله اسکلتی، KIF5B نقش مهمی در انتقال α-اکتین سارکومری، میوزین IIB غیرعضلانی، همراه با پروتئین‌های فیلامان میانی دسمین و نستین به نوک در حال رشد میوتوب‌های طویل شده دارد (۱۱).

شواهد نشان می‌دهند که KIF5B می‌تواند با افزایش انتقال رو به جلو، وزیکول های حاوی عوامل نوتروفیکی مانند عامل نوتروفیکی مشتق از مغز(BDNF)، آگرین، پپتید مرتبط با ژن‌کلسی‌تونین (CGRP)، عامل رشد فیبروبلاستی (FGF)، عامل محرک القای گیرنده اگرین (ARIA) که برای بیان ژن و استحکام گیرنده نیکوتینی استیل کولین ضروری است و از انحطاط پیوندگاه عصبی عضلانی جلوگیری می‌کند را به پایانه آکسونی منتقل کند. انحطاط پیوندگاه عصبی عضلانی خود یک عامل مستقل برای بروز سارکوپنیاست و با کاهش انتقال موج پتانسیل عمل می‌تواند باعث برهم خوردن تعادل سنتز و تجزیه پروتئین‌های عضله اسکلتی شود (۱۲). از طرفی دیگر مشخص شده است که KIF5B با بایوژنز میتوکندریایی مرتبط است و می‌تواند با اثر بر تولید ATP بیشتر در تولید و بسته‌بندی و زیکول‌های حاوی عوامل نوتروفیکی،

[1] Proteostasis
[2] European Working Group on Sarcopenia in older People
[3] Dynapenia

عملکرد صحیح گیرنده‌های پورینرژیکی برای خاتمه انتقال سیناپسی، عملکرد مناسب پمپ های سدیم پتاسیم غلاف میلین و پتانسیل استراحت نقش به سزایی داشته باشد (۹،۱۰).

از طرفی دیگر شواهد نشان می دهند که فعالیت‌های ورزشی می‌توانند با به راه انداختن مسیرهای پیام رسانی سلولی و مولکولی، موجب تنظیم KIF5B و احتمالاً جلوگیری از تحلیل عضلانی گردند (۱۳). رحمتی، طاهرآبادی (۲۰۲۱) در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که میزان پروتئین های KIF5B و GAP-43 در گروه دیابتی کنترل نسبت به گروه سالم کنترل به طور معناداری پایین تر بود. همچنین تمرین منظم نوارگردان باعث افزایش بیان KIF5B و GAP-43 در گروه دیابتی تمرین کرده و همچنین موش های سالم در مقایسه با گروه دیابتی کنترل گردید. همچنین آنها دریافتند که تمرین استقامتی منظم در موش های سالم، با افزایش سطوح پروتئین های KIF5B و GAP-43 همراه بود (١٤). در تحقیقی دیگر کِرندی و همکاران (۲۰۱۹) به این نتیجه رسیدند که به دنبال تمرین تناوبی شدید بیان ژن KIF5B و داینئین و همچنین میزان پروتئین KIF5B و داینئین بافت هیپوکمپ در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کاهش می یابد (۱۵). جهانی گلبار و همکاران (۲۰۱۸) در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که دیابت باعث افزایش معنادار محتوای موتور پروتئین‌های KIF5B و داینئین نسبت به گروه سالم می شود. همچنین افزایش معنادار محتوای موتور پروتئین‌های KIF5B و داینئین درگروه فعالیت ورزشی سالم نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد (١٦).

بنابراین به نظر می رسد که بیشتر تحقیقات در خصوص نقش فعالیت ورزشی هوازی تداومی و تناوبی و نه تمرین مقاومتی بر KIF5B بیشتر در سطح ژنومیک و کمتر در سطح پروتئومیک بوده است. علاوه بر این، تحقیقات موجود بیشتر بر بافت هیپوکمپ و سیاتیک و کمتر بر بافت عضله اسکلتی متمرکز بوده است. همچنین تحقیقات مختصری به بررسی اثر موتور پروتئین‌های انتقال آکسوپلاسمی مانند KIF5B به عنوان عاملی در بروز سارکوپنیا پرداخته است. همچنین این مارکر بیشتر در شرایط بیماری دیابت و نه سالمندی زیستی بررسی شده است. بنابراین به نظر می رسد با توجه به تفاوت‌های ساختاری در عضله کند انقباض نعلی و تند انقباض بازکننده طویل انگشتان و توجه به این موضوع که تفاوت‌های ساختاری می توانند مسیرهای پیام رسانی متفاوتی را به دنبال تمرین مقاومتی به راه بیاندازند، پیش بینی می‌شود که احتمالا تمرین مقاومتی بیشتر در عضله بازکننده طویل انگشتان به دلیل داشتن شبکه‌های آندوپلاسمی بیشتر و بزرگ تر و همچنین کلسیم بیشتر این ساختارها اثر بگذارد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، تعیین تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر مقدار پروتئین KIF5B بافت عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان و همچنین وزن نسبی عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر سالمند نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به لحاظ هدف توسعه‌ای، به لحاظ روش آزمایشی، به لحاظ اجرا آزمایشگاهی با مدل حیوانی بود و در یک طرح با پیش و پس آزمون انجام شد. در این تحقیق سعی شد تا تمامی متغیرهای تحقیق کنترل شوند. بنابراین محدوده تحقیق یا متغیرهای قابل کنترل تحقیق شامل: آب و غذای یکسان و بدون محدودیت کالریک، دما و رطوبت نگهداری یکسان (دما ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد)، چرخه خواب و روشنایی یکسان (۱۲:۱۲، ۷ شب و ۷ صبح)، جنسیت و وضعیت سلامتی و سن یکسان (همگی نر و سالم با سن ۱۸ تا ٢٤ ماه)، زمان تمرین یکسان، محل نگهداری و پروتکل تمرین یکسان بود. برای نیل به اهداف تحقیق تعداد ۱۸ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار از موسسه پاستور تهران خریداری شد که تعداد ۱۲ سر از آن ها سالمند با میانگین سنی هجده تا بیست و چهار ماه و میانگین وزنی ٤٠٦/٣٣±١٥/٦١ گرم و تعداد ٦ سر آن ها جوان با میانگین سنی هشت تا ده هفته و میانگین وزنی ١٨٠/٦٧±١٠/٣٦ گرم بودند. پس از خریداری موش‌ها و یک هفته سازگاری با محیط به طور تصادفی گروه بندی شدند. بدین صورت که ۱۲ سر موش سالمند به طور تصادفی به ۲ گروه ٦ سری شامل تمرین مقاومتی سالمند و شم تمرین سالمند

تقسیم شدند. همچنین تعداد ٦ سر موش جوان نیز در گروه شم تمرین جوان قرار گرفتند.

گروه تمرین مقاومتی سالمند پس از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه در هفته دوم به یادگیری تمرین مقاومتی پرداختند.

پروتکل اصلی تمرین مقاومتی برای گروه سالمند مقاومتی بالا رفتن از نردبان ۱ متری با شیب ۸۵ درجه و تعداد ۳٤ پله که به فاصله ۲ سانتی متری از هم قرار داشتند، برای مدت ۸ هفته، با تواتر ٤ روز غیر متوالی و در ۱ نوبت با ۸ تکرار و فاصله استراحتی ۲ دقیقه بین تکرارها بود. در روز اول تمرین مقاومتی، از موش ها آزمون وامانده ساز یک تکرار بیشینه یا 1RM- گرفته شد تا هم به عنوان متغیر تثبیت کننده و هم برای پایش مقادیر جدید شدت تمرین استفاده شود. در روز تمرین اصلی برای شروع تمرین در اولین تکرار هر موش وزنه ای معادل ۵۰ درصد 1RM- خود را حمل می کرد ؛ در تکرار دوم ۷۵ درصد، در تکرار سوم ۹۰ درصد، در تکرار چهارم ۱۰۰ درصد 1RM- خود را و از تکرار پنجم تا هشتم در صورت موفقیت در مراحل قبلی ۳۵ گرم برای هر تکرار اضافه می شد. اگر یک موش تا قبل از تکرار هشتم به واماندگی می رسید، با ۷۰ درصد آخرین وزنه بالا برده شده، تا تکرار هشتم ادامه می داد. موش های گروه شم تمرین سالمند و شم تمرین جوان هیچ گونه مداخله ای را انجام ندادند و فقط در طول مدت ۸ هفته، استرس حضور در نردبان مقاومتی و دست تمرین دهنده را دریافت کردند. برای اثبات کفایت پروتکل تمرین مقاومتی به لحاظ شدت و حجم موثر، از متغیر تثبیت کننده 1RM- برای گروه تمرین مقاومتی سالمند استفاده شد (۱۷).

برای از بین بردن پاسخ آخرین جلسه تمرین استقامتی، ٤۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، موش ها در ۱۲ ساعت ناشتایی، وزن کشی و نمونه گیری شدند. برای بیهوشی هر موش با استفاده از گاز کربن دی اکسید در محفظه مخصوص به صورت استنشاقی بیهوش و سپس پوست برداری و نمونه‌گیری شدند. نمونه ها پس از وزن کشی در میکروتیوب قرار گرفته و در ازت مایع منجمد تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های بافت عضله اسکلتی به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

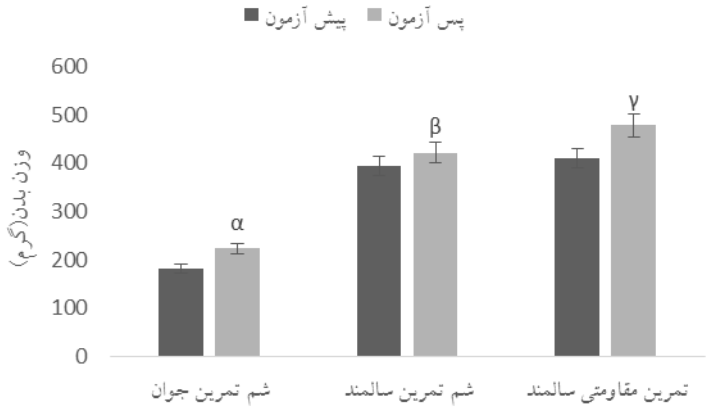
برای اندازه‌گیری میزان پروتئین KIF5B بافت عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان از روش سنجش ایمنی آنزیم دار (الایزا) استفاده شد. به این صورت که ابتدا نمونه‌ها با استفاده از ازت مایع و هاون چینی پودر گردید. سپس به ازای هر ۲۰ میلی گرم بافت، ۲۰۰ میکرولیتر لایزیس بافر در درون میکروتیوب های مخصوص هموژنایزر قرار گرفت و پس از هموژن کردن، با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ رسوب گیری انجام شد (۱۸). برای تعیین غلظت تام پروتئین های محلول از آزمون بردفورد با استفاده از کیت DNAbiotech Bradford Protein Assay Kit, Catalog no.: DB0017 ساخت ایران استفاده شد. در ادامه برای اندازه گیری KIF5B از کیت الایزای Rat sensitive Kiensin-1 heavy chain (KIF5B) ELISA Kit , Zellbio GmbH(Germany),cat.No:ZB-s16367C-R9648 ساخت کشور آلمان با حساسیت ۷/۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و دامنه تشخیص ٦۰ تا ۱۹۲۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و مطابق با دستورالعمل کیت های کمپانی زلبایو استفاده شد. در ادامه پس از ترسیم معادله خط رگرسیون برای استاندارد ها، غلظت های پروتئین KIF5B محاسبه شد.

در آمار توصیفی از میانگین و انحراف معیار و برای تعیین توزیع طبیعی داده ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد. در آمار استنباطی از آزمون تحلیل واریانس یک راهه، آزمون تی همبسته، آزمون تعقیبی توکی، آزمون کراسکال والیس و آزمون تعقیبی یو من ویتنی استفاده شد. سطح معناداری برای همه آزمون ها $p\leq$۰/۰۵ بود و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۲ و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که پس از هشت هفته تمرین مقاومتی، میانگین وزن برای گروه تمرین مقاومتی سالمند (t=-۵/۱۳۵، P=۰/۰۰٤) برای گروه شم تمرین سالمند (t=-٦/۰۵۱، P=۰/۰۰۲) و شم تمرین جوان (t=-۱۲/۳۳۵، P=۰/۰۰۰۱) افزایش معنادار داشت. این نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین نتایج آزمون تی همبسته برای برای تعیین تفاوت درون گروهی گروه تمرین مقاومتی سالمند در پیش‌آزمون و پس‌آزمون

برای متغیر تثبیت‌کننده یک تکرار بیشینه نشان داد که پس از هشت هفته تمرین مقاومتی، 1-RM موش ها افزایش معنادار داشته است (t=-۱۷/٤٥۲، P=۰/۰۰۰۱). تغییرات متغیر تثبیت کننده یک تکرار بیشینه برای گروه تمرین مقاومتی سالمند به این صورت بود که در پیش آزمون (ابتدای هفته اول) ۱۷/۵۱±۱٤۱/٦۷ گِرم و در پس آزمون(انتهای هفته هشتم) وزنه ٦٤/۱٦±۵۹۲/۵۰ گِرم را از نردبان مقاومتی بالا بردند.

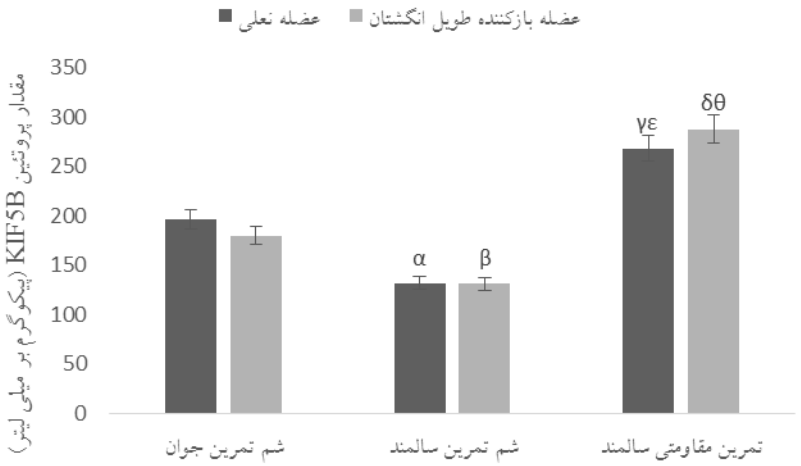


شکل ۱. تفاوت معنادار وزن بدن موش ها در ابتدا و انتهای پژوهش
α, β, γ به معنای افزایش معنادار در سطح $p \leq ۰/۰۵$ می باشد.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه برای تعیین تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی، تاثیر معنادار آن ها را بر مقدار پروتئین KIF5B در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان نسبت به شم تمرین سالمند نشان داد. نتایج میانگین و انحراف معیار مقدار F و سطح معناداری برای مقدار پروتئین KIF5B به تفکیک در گروه های تحقیق و عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان در جدول ۱ نشان داده شده است. همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین گروه های تحقیق در خصوص شاخص KIF5B در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان در شکل ۲ آمده است.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار مقدار پروتئین KIF5B گروه های پژوهش و سطح معناداری آنها

عضله	شم تمرین جوان	شم تمرین سالمند	تمرین مقاومتی سالمند	مقدار F	سطح معناداری
نعلی	۱۹۵/۹٦±۲٤/۸۱	۱۳۱/۳۳±۱۹/۱٦	۲٦۸/۱۸±۲۷/۵٤	۳۰/۷۳۹	۰/۰۰۰۱
بازکننده طویل انگشتان	۱۷۹/۸۵±۲۰/۹۱	۱۳۰/۵۹±۲۱/٤۰	۲۸۷/٦۲±۱۸/۸۷	٤۵/۱۱۹	۰/۰۰۰۱



شکل ۲. تفاوت معنادار مقدار پروتئین KIF5B عضلات نعلی و بازکننده طویل انگشتان در گروه های پژوهش

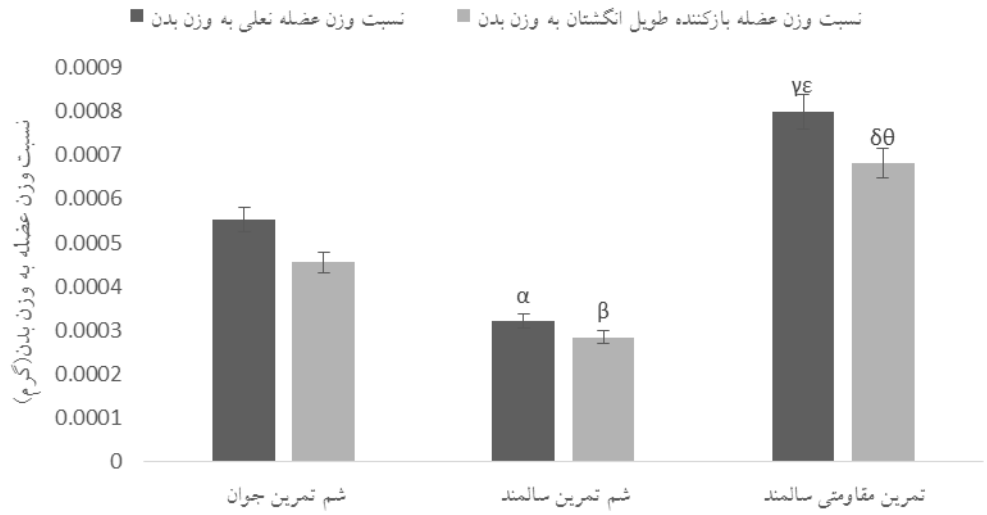
α و β . سالمندی باعث کاهش معنادار مقدار پروتئین KIF5B در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان نسبت به شم تمرین سالمند می شود.

γ و δ . هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنادار مقدار پروتئین KIF5B در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان نسبت به شم تمرین سالمند می شود.

ε و θ . هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنادار مقدار پروتئین KIF5B در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان نسبت به شم تمرین جوان می شود.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه برای تعیین تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر نسبت وزن عضله بازکننده طویل انگشتان بر وزن بدن تاثیر معنادار تمرین مقاومتی را نشان داد (F=٤٩/٦١٢ ، P=٠/٠٠٠١). همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که به دنبال سالمندی، نسبت وزن عضله بازکننده طویل انگشتان بر وزن بدن در مقایسه با گروه شم تمرین جوان کاهش معناداری پیدا می کند (P=٠/٠٠٠١). همچنین هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنادار این نسبت در مقایسه با گروه شم تمرین سالمند (P=٠/٠٠٠١) و شم تمرین جوان (P=٠/٠٠٠١) شد. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین گروه‌های تحقیق در خصوص وزن نسبی عضله بازکننده طویل انگشتان در شکل ۳ نشان داده شده است.

نتایج آزمون کراسکال والیس برای تعیین تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر نسبت وزن عضله نعلی بر وزن بدن تاثیر معنادار تمرین مقاومتی را نشان داد (Chi-=١٩/٢٩٥ Square ، P=٠/٠٠٠١). همچنین نتایج آزمون تعقیبی یو من ویتنی نشان داد که به دنبال سالمندی، نسبت وزن عضله نعلی بر وزن بدن در مقایسه با گروه شم تمرین جوان کاهش معناداری پیدا می کند (P=٠/٠٠٤). همچنین هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنادار این نسبت در مقایسه با گروه شم تمرین سالمند (P=٠/٠٠٤) و شم تمرین جوان (P=٠/٠٠٦) می‌شود. نتایج آزمون تعقیبی یو من ویتنی برای تعیین تفاوت بین گروه های تحقیق در خصوص وزن نسبی عضله نعلی در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل۳. تفاوت معنادار وزن نسبی عضلات نعلی و بازکننده طویل انگشتان در گروه های پژوهش

αوβ سالمندی باعث کاهش معنادار وزن نسبی هر دو عضله نسبت به شم تمرین جوان می شود.

γ وδ هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش وزن نسبی هر دو عضله نسبت به شم تمرین سالمند می شود.

ε و θ هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش وزن نسبی هر دو عضله نسبت به شم تمرین جوان می شود.

بحث

هدف از پژوهش حاضر، تعیین تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر مقدار پروتئین KIF5B بافت عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان و همچنین وزن نسبی عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر سالمند نژاد ویستار بود. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که به دنبال سالمندی مقدار پروتئین KIF5B در هر دو عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان و همچنین وزن نسبی هر دو عضله کاهش می یابد. همچنین در تایید فرضیه تحقیق مشخص شد که پس از هشت هفته تمرین مقاومتی، مقدار پروتئین KIF5B در هر دو عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان و وزن نسبی هر دو عضله افزایش می‌یابد.

نتایج پژوهش حاضر با تحقیق رحمتی، طاهرآبادی (۲۰۲۱) که گزارش کردند تمرین منظم نوارگردان باعث افزایش بیان و مقدار پروتئین KIF5B در عضله اسکلتی رت های سالم می شود، همسو بود (۱٤). همسو با نتایج تحقیق حاضر در تحقیقی دیگر جهانی گلبار و همکاران (۲۰۱۸) به این نتیجه رسیدند که محتوای موتور پروتئین‌های KIF5B و داینئین درگروه فعالیت ورزشی استقامتی سالم نسبت به گروه کنترل سالم در اعصاب سیاتیک افزایش معنادار پیدا می کند (۱٦). در تحقیقی دیگر کِرندی و همکاران (۲۰۱۹) به این نتیجه رسیدند که به دنبال تمرین تناوبی شدید بیان ژن KIF5B و داینئین و همچنین میزان پروتئین KIF5B و داینئین بافت هیپوکمپ در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کاهش می یابد که با نتایج تحقیق حاضر ناهمسو بود (۱۵). این ناهمسویی احتمالاً می‌تواند به دلیل تفاوت در پروتکل تمرین که پروتکل تناوبی شدید بود و همچنین بافت هدف که بافت عصبی هیپوکمپ بود، مرتبط دانست. به نظر می رسد که میزان افزایش بیان و مقدار پروتئین موتورهای مولکولی موثر در انتقال آکسوپلاسمی مانند KIF5B و داینئین به دنبال تمرین ورزشی با حد مطلوبی از شدت مرتبط است؛ به طوری که افزایش شدت تمرین خصوصاً در بافت عصبی می تواند آن را به طور معکوسی کاهش دهد. همسو با دلایل فوق رحمتی و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که تمرین نوار گردان در موش‌های سالم باعث افزایش معنادار بیان پروتئین های KIF5B و SYD در بخش های حسی و حرکتی نخاع و همچنین میزان بیان KIF5B در اعصاب سیاتیک می گردد (۱۹). همسو با نتایج تحقیق حاضر در خصوص افزایش نسبت وزن عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان به وزن بدن بحرینی پور و همکاران (۲۰۱۷) عنوان کردند که به دنبال یک دوره

تمرین استقامتی با شدت کم به همراه انسداد در جریان خون، نسبت وزن عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان به وزن بدن افزایش معنادار پیدا می کند (۲۰).

یک مکانیزم احتمالی افزایش مقدار پروتئین KIF5B در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان به دنبال تمرین مقاومتی، افزایش تحریکات سمپاتیک و فعال شدن بیشتر مسیر پیام رسانی پروتئین کیناز A(PKA) است (۲۱،۲۲). آدرنالین آزاد شده از پایانه های آکسونی سیستم عصبی سمپاتیک و بخش مرکزی غده فوق کلیه بعد از اتصال با گیرنده آدنرژیک سمپاتیکی β2 از طریق مسیر پیام رسانی Gsα/Ac/ATP/cAMP/PKA باعث فسفوریلاسیون مستقیم یا غیر مستقیم موتور پروتئین های کاینزین و داینئین شده و باعث افزایش سرعت انتقال آکسوپلاسمی می شود. همچنین استیل کولین آزاد شده از پایانه های آکسونی سیستم عصبی پاراسمپاتیک، بعد از اتصال با گیرنده کولینرژیکی پاراسمپاتیکی m2 از طریق سرکوب مسیر پیام رسانی آدرنالین و با مسیر پیام رسانی Giα، باعث کاهش فسفوریلاسیون کاینزین و داینئین و نهایتا کاهش سرعت انتقال آکسوپلاسمی می شود. آزاد شدن استیل کولین در پایانه های آکسونی به دنبال شروع فعالیت ورزشی و با دستور فرمان مرکزی سرکوب می شود (۲۱). از سویی دیگر PKA می تواند با اثر بر کینازهای واسطه‌ای مانند PKC باعث افزایش بیان نروتروفین های عامل نروتروفیکی مشتق از مغز (BDNF) و نروتروفین-۳ (NT-3) گردد. نروتروفین-۳ با همکاری BDNF، سیناپسین-۱ و پروتئین مرتبط با رشد-۴۳(GAP-43) می‌تواند باعث افزایش بیان KIF5B و اعمال فیزیولوژیکی اش شود (۲۲). KIF5B می تواند با افزایش انتقال رو به جلو، وزیکول های حاوی عوامل نروتروفیکی مانند BDNF، اگرین، پپتید مرتبط با ژن کلسی تونین، عامل رشد فیبروبلاستی، عامل محرک القای گیرنده اگرین که برای بیان ژن و استحکام گیرنده نیکوتینی استیل کولین ضروری است و از انحطاط پیوندگاه عصبی عضلانی جلوگیری می کند را به پایانه آکسونی منتقل کند. انحطاط پیوندگاه عصبی عضلانی خود یک عامل مستقل برای بروز سارکوپنیاست و با کاهش انتقال موج پتانسیل عمل می‌تواند باعث برهم خوردن تعادل سنتز و تجزیه پروتئین‌های عضله اسکلتی شود. بنابراین KIF5B می‌تواند در تنظیم هموستاز عصبی و پروتئوستازیس عضله اسکلتی نقش مهمی داشته باشد (۲۳).

از دیگر مکانیزم های احتمالی افزایش مقدار پروتئین KIF5B می توان به افزایش مسیر پیام رسانی Ca^{2+}/CaMKK/MEF2 ناشی از اضافه بار کلسیم و اضافه بار مکانیکی و همچنین افزایش مسیر افزایش پتانسیل ردوکس و فشار اکسایشی(ROS/JNK/ERK/p38) اشاره کرد که به دنبال تمرین مقاومتی رادیکال های آزاد برای مدت زمان طولانی تری تولید می شوند. این مسیرها احتمالاً می توانند با فعال کردن کینازهای واسطه‌ای مانند PKC باعث افزایش نروتروفین های BDNF ، NT-3 شوند (۲۴-۲۲). هرچند که اندازه گیری نکردن نروتروفین‌ها در تحقیق حاضر می تواند از جمله محدودیت های تحقیق حاضر باشند اما به نظر می رسد این نروتروفین ها می توانند با اثر بر گیرنده های تیروزین کینازی خود باعث افزایش بیان و ترجمه KIF5B در جسم سلولی آلفا نورون گردند. همچنین افزایش اضافه بار مکانیکی به دنبال تمرین مقاومتی می تواند باعث افزایش ترشح عوامل اتوکراین عضله اسکلتی و مایوکاین ها گردد که خود این عوامل می‌توانند باعث افزایش فعالیت سلول های ماهواره ای برای هایپرتروفی عضله اسکلتی گردند (۲۵). از سویی دیگر BDNF که خود یک مایوکاین مهم محسوب می‌شود، می تواند پس از آزاد شدن و با همکاری NT-3 باعث افزایش بیان KIF5B گردد. با این حال برای اظهار نظرکردن قطعی در خصوص این مسیرهای سیگنالی احتمالی موثر در افزایش بیان KIF5B و ارتباط آن با تنظیم کننده های مسیرهای هایپرتروفی(Akt/PI3K/mTORC1) و آتروفی عضله اسکلتی(FOXO3/MAFbx/MuRF و مایواستاتین) به دنبال تمرین ورزشی مقاومتی به مطالعات بیشتری نیاز است.

نتیجه گیری

به نظر می رسد سالمندی در عضله اسکلتی با کاهش مقدار پروتئین **KIF5B** در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان و همچنین کاهش وزن نسبی عضلات مذکور همراه است. همچنین هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی می تواند باعث افزایش مقدار پروتئین **KIF5B** در عضله نعلی و بازکننده طویل انگشتان و افزایش وزن نسبی این عضلات در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر سالمند نژاد ویستار گردد.

ملاحظات اخلاقی

مقاله حاضر بر اساس اصول اخلاقی کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری با کد IR/SSRI.REC.1400.1346 و کد ردیابی ۱۰۱۹۹۶ مورخ ۱۴۰۰/۱۲/۸ انجام گردیده است.

تعارض و منافع

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

منابع

1. Wiedmer P, Jung T, Castro JP, Pomatto LC, Sun PY, Davies KJ, et al. Sarcopenia–Molecular mechanisms and open questions. Ageing Research Reviews 2021;65:101200.
2. He Y, Xie W, Li H, Jin H, Zhang Y, Li Y. Cellular Senescence in Sarcopenia: Possible Mechanisms and Therapeutic Potential. Frontiers in Cell and Developmental Biology 2022;9: 793088.
3. Larsson L, Degens H, Li M, Salviati L, Lee YI, Thompson W, et al. Sarcopenia: aging-related loss of muscle mass and function. Physiological Reviews 2019;99(1):427-511.
4. Sleigh JN. Axonal Transport: The Delivery System Keeping Nerve Cells Alive. Frontiers for Young Minds 2020;8.
5. Guillaud L, El-Agamy SE, Otsuki M, Terenzio M. Anterograde axonal transport in neuronal homeostasis and disease. Frontiers in Molecular Neuroscience 2020:13:556175 .
6. Sleigh JN, Rossor AM, Fellows AD, Tosolini AP, Schiavo G. Axonal transport and neurological disease. Nature Reviews Neurology 2019;15(12):691-703.
7. Maday S, Twelvetrees AE, Moughamian AJ, Holzbaur EL. Axonal transport: cargo-specific mechanisms of motility and regulation. Neuron 2014;84(2):292-309.
8. Cockburn JJ, Hesketh SJ, Mulhair P, Thomsen M, O'Connell MJ, Way M. Insights into kinesin-1 activation from the crystal structure of KLC2 bound to JIP3. Structure 2018;26(11):1486-1498. e6.
9. Mahdavi Jafari, Z., Shojaie, N. Effects of Six Weeks of Spinal Nerve Ligation on Sciatic Nerve Keynesin-1 Gene Expression in Male Rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology 2018; 5(2): 28-35.
10. Kazemi A, Rahmati M, Nezhadzamani A. Chronic effect of decreased activity in the form of spinal nerve ligation on KIF1B gene expression in male Wistar rat sciatic nerve fiber.Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2015; 20 (3) :23-32
11. Gan H, Xue W, Gao Y, Zhu G, Chan D, Cheah KSE Huang J. KIF5B modulates central spindle organization in late-stage cytokinesis in chondrocytes. Cell Bioscience 2019.9(85):1-16.
12. Sato T, Ishikawa M, Mochizuki M, Ohta M, Ohkura M, Nakai J, et al. JSAP1/JIP3 and JLP regulate kinesin-1-dependent axonal transport to prevent neuronal degeneration. Cell Death & Differentiation 2015;22(8):1260-1274.
13. Riuzzi F, Sorci G, Arcuri C, Giambanco I, Bellezza I, Minelli A, et al. Cellular and molecular mechanisms of sarcopenia: the S100B perspective. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle 2018; 9(7):1255-1268.

14. Rahmati M, Taherabadi SJ. The effects of exercise training on Kinesin and GAP-43 expression in skeletal muscle fibers of STZ-induced diabetic rats. Scientific Reports of Nature 2021.11(9535):1-9.
15. Kerendi H, Mirnasoori R, Rahmati M, Kazemi A. The Effect of 6 Weeks of High Intensity Interval Training on the Gene Expression and Content of KIF5B and Dynein Proteins in Hippocampus of Male Wistar Rats. Sport Physiology & Management Investigations 2018; 10(3): 123-137.
16. Golbar SJ, Gharekhanlu R, Kordi MR, Khazani A. Effects of Endurance Exercise Training on Kinesin-5 and dynein motor proteins in sciatic nerves of male wistar rats with diabetic neuropathy. International Journal of Sport Study Health 2018.1(1):1-6:e67758.
17. Lee S, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. Journal of Applied Physiology 2004;96(3):1097-104.
18. Roberts MD, Young KC, Fox CD, Vann CG, Roberson PA, Osburn SC, and etal. An optimized procedure for isolation of rodent and human skeletal muscle sarcoplasmic and myofibrillar proteinsJournal of Molecular Biology and Methods 2020.24(7):1-9.e127.
19. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla SJ, Khazani A, Fouladvand M, Jahani Golbar S. Treadmill training modifies KIF5B motor protein in the STZ-induced diabetic rat spinal cord and sciatic nerve. The Archives of Iranian Medicine2015.18(2):94-101.
20. Pour M-AB, Joukar S, Hovanloo F, Najafipour H. Long-term low-intensity endurance exercise along with blood-flow restriction improves muscle mass and neuromuscular junction compartments in old rats. Iranian Journal of Medical Sciences 2017.42(6):569-576.
21. Takenaka T, Kawakami T, Hori H, Hashimoto Y, Hiruma H, Kusakabe T. Axoplasmic transport and its signal transduction mechanism. Japanese Journal of Physiology 1998.48(6):413-420.
22. Mahdavi Jafari Z, Shojaie N. Effects of Six Weeks of Spinal Nerve Ligation on Sciatic Nerve Keynesin-1 Gene Expression in Male Rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology 2018; 5(2): 28-35.
23. Rahmati M, Taherabadi SJ. The effects of exercise training on Kinesin and GAP-43 expression in skeletal muscle fibers of STZ-induced diabetic rats. Scientific Reports of Nature 2021;11(9535):1-9.
24. Bahreinipour MA, Joukar S, Hovanloo F, Najafipour H, Naderi V, Rajiamirhasani A, et al. Mild aerobic training with blood flow restriction increases the hypertrophy index and MuSK in both slow and fast muscles of old rats: Role of PGC-1 α . Life Sciences 2018 1;202:103-109.
25. Yoo S-Z, No M-H, Heo J-W, Park D-H, Kang J-H, Kim SH, et al. Role of exercise in age-related sarcopenia. Journal of exercise rehabilitation. 2018;14(4):551.