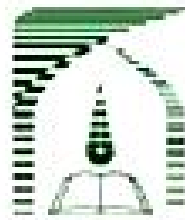


به نام

آفریدگار



دانشگاه تربیت مدرس

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده: علوم انسانی

رساله دوره دکتری تخصصی (Ph.D.) رشته تربیت بدنی و علوم ورزشی

گرایش فیزیولوژی ورزشی

اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان **miR-1** و ژن های  
**myoD**، **MEF2** و **HDAC4** در عضلات تند و کند موش های ویستار

محمد فتحی

استاد راهنما:

دکتر رضا قراخانلو

استادان مشاور

دکتر مسعود سلیمانی

دکتر حمید رجبی

شهریور ۱۳۹۲

بنام خدا

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم انسانی

بدینوسیله گواهی می شود آقای محمد فتحی در تاریخ ۹۲/۶/۲۴ از رساله دکتری ۱۸ واحدی خود با عنوان: اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 و ژن های myoD ، MEF2 و HDAC4 در عضلات تند و کند موش های ویستار دفاع کرد.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا بررسی کرده و پذیرش آنرا برای دریافت درجه دکتری تخصصی (Ph.D) تأیید می نمایند.

امضاء	رتبه علمی	نام و نام خانوادگی	اعضای هیات داوران
	دانشیار	دکتر رضا قراخانلو	۱- استاد راهنما
	دانشیار	دکتر مسعود سلیمانی	۲- استاد مشاور (اول)
	دانشیار	دکتر حمید رجبی	۳- استاد مشاور (دوم)
	دانشیار	دکتر حمید آقا علی نژاد	۴- استاد ناظر (داخلی)
	دانشیار	دکتر محمد احسانی	۵- استاد ناظر (داخلی)
	استاد	دکتر علی اصغر رواسی	۶- استاد ناظر (خارجی)
	استادیار	محمد رضا کردی	۷- استاد ناظر (خارجی)
	دانشیار	دکتر محمد احسانی	۸- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی

## آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ رساله ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری **محمد فتحی** در رشته **تربیت بدنی** است که در سال **۱۳۹۱** در دانشکده **علوم انسانی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای **دکتر رضا قراخانلو**، مشاوره جناب آقای **دکتر مسعود سلیمانی** و جناب آقای **دکتر حمید رجبی** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب **محمد فتحی** دانشجوی رشته **تربیت بدنی (فیزیولوژی ورزش)** مقطع **دکتری** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی:

محمد فتحی

تاریخ و امضا: ۱۳۹۲/۶/۲۴

## آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس

**مقدمه:** با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب محمد فتحی دانشجوی رشته تربیت بدنی و علوم ورزشی (فیزیولوژی ورزش) ورودی سال تحصیلی ۱۳۸۸ مقطع دکتری دانشکده علوم انسانی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین‌نامه فوق‌الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا: محمد فتحی

تاریخ: ۱۳۹۲ / ۶ / ۲۴

تقديم به:

# روح مادرم

## تشکر و قدردانی

سپاسی شایسته آفریدگار توانا، که انسان را اندیشمند آفرید تا چراغ های دانش را بیفروزد و راه کمال را هموار سازد. رسیدن به این مرحله از تحصیل مرهون تلاش معلمانی بوده که در طول تحصیل اینجانب، همواره راهنمای من بودند، صمیمانه از همه آنها سپاسگزاری می شود.

از صمیم قلب از معلم خوبم جناب آقای دکتر رضا قراخلو که نه تنها درس را در حضور ایشان مشق کردیم بلکه کمال را در محضر ایشان آموختیم سپاسگزاری می شود.

از استاد مشاور خوبم جناب آقای دکتر مسعود سلیمانی که هم با راهنمایی هایشان و هم با فراهم کردن امکانات، زمینه اجرای این رساله را مهیا نمودند صمیمانه سپاسگزاری می شود. از استاد مشاور شریفم جناب آقای دکتر حمید رجبی که مشورت های ایشان همواره راهنمایم بود سپاسگزاری می شود.

از استادان داور، جناب آقای دکتر علی اصغر رواسی، دکتر محمدرضا کردی، دکتر حمید آقا علی نژاد و دکتر محمد احسانی که نگاه دقیقشان موجب ارتقاء این رساله شد، صمیمانه سپاسگزاری می شود.

از خانم دکتر مهدیه ملا نوری، دکتر ابراهیم بنی طالبی، خانم مریم زیلایی، خانم راضیه رضایی، دکتر رسول اسلامی، علی خازنی، مهدی بیاتی، محمد امین ساعی، مصطفی بارانچی، یعقوب شیری و امیر بهادر دخیلی در گروه تربیت بدنی صمیمانه سپاسگزاری می شود.

از جناب آقای دکتر سعید آبرون، دکتر امیرآتشی، دکتر مقدسی، خانم جعفریان، خانم مشهدی خان و خانم شوکتی در گروه هماتولوژی صمیمانه تشکر می شود.

و در پایان از تمام دوستانی که در به پایان رساندن این رساله به هر نحوی به اینجانب کمک کردند سپاسگزاری می شود.

## چکیده

هدف این تحقیق بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 و بیان ژن های myoD، MEF2 و HDAC4 در عضلات تند و کند رت های ویستار بود. ۱۵ رت نر ویستار از انستیتو پاستور خریداری و تمام شرایط طبیعی (دما، چرخه خواب و بیداری، غذا و...) برای آنها فراهم شد. رت ها به صورت تصادفی به دو گروه تمرینی (N=10) و کنترل (N=5) تقسیم شدند. گروه تمرینی یک جلسه تمرین مقاومتی را اجرا کردند [صعود از نردبان ۲۶ پله ۱ متری با وزنه هایی که به دمشان متصل بود (۴ ست، ۵ تکرار، با ۳۰ ثانیه استراحت بین تکرار ها و ۲ دقیقه استراحت بین ست ها)]. رت های هر دو گروه بعد از بی هوش شدن تشریح شدند که رت های گروه تمرینی به دو گروه مساوی تقسیم و در دو زمان ۳ ساعت و ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی تشریح شدند. در ادامه عضله نعلی و EDL آنها استخراج شد. برای اندازه گیری بیان miR-1، myoD، MEF2 و HDAC4 از تکنیک Real time RT-PCR استفاده شد. و از نرم افزار SPSS و آزمون آماری t برای ارزیابی بیان ژن ها استفاده شد. حداقل سطح معنی داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که میزان بیان miR-1 عضله EDL و ۳ ساعت پس از تمرین به صورت معنی داری کاهش می یابد، اما تغییر معنی داری در بیان miR-1 عضله نعلی مشاهده نشد. همچنین مشاهده شد که میزان بیان MEF2 عضله EDL در حال افزایش بود و در ۶ ساعت پس از تمرین معنی دار شد، در حالی که MEF2 عضله نعلی در ۳ ساعت پس از تمرین کاهش معنی داری را نشان داد. تغییر معنی داری در میزان بیان HDAC4 و myoD عضلات نعلی و EDL مشاهده نشد.

در نتیجه به نظر می رسد این شبکه رونویسی در عضله EDL بیشتر تحت تاثیر تمرین مقاومتی قرار می گیرد تا عضله نعلی، احتمالاً این تفاوت از جریان های کلسیمی بالا و یا آسیب بافتی بیشتر در عضله EDL نسبت به عضله نعلی ناشی می شود.

**کلمات کلیدی:** تمرین مقاومتی، miR-1، myoD، MEF2 و HDAC4.



## فصل اول (کلیات و طرح تحقیق)

۲	مقدمه	۱-۱
۴	بیان مساله	۲-۱
۷	ضرورت انجام پژوهش	۳-۱
۸	اهداف پژوهش	۴-۱
۸	فرضیه ها	۵-۱
۹	متغیرهای پژوهش	۶-۱
۹	محدودیت های پژوهش	۷-۱
۹	روش شناسی پژوهش	۸-۱
۱۰	تعریف واژه ها و اصطلاحات	۹-۱

## فصل دوم (مبانی نظری و پیشینه تحقیق)

۱۳	مقدمه	۱-۲
۱۳	تغییرپذیری عضلات اسکلتی	۲-۲
۱۴	فنون تیپ تار عضلانی	۳-۲
۱۵	تغییر پذیری عضلات اسکلتی	۴-۲
۱۷	بازسازی، تکثیر و تمایز عضلات	۵-۲
۲۰	نقش فاکتور های رونویسی در تنظیم بازسازی عضلات	۶-۲
۲۰	ویژگی پروتئین های تنظیمی	۷-۲
۲۲	تنظیم بیان ژن	۸-۲
۲۳	ساختار ماریچ-پیچ-ماریچ	۱-۸-۲
۲۴	پروتئین های تنظیمی با دومن هایی برای تعامل پروتئین-پروتئین	۲-۸-۲
۲۴	زیپ لوسینی	۳-۸-۲
۲۵	پروتئین های خانواده ماریچ - قوس - ماریچ بازی	۴-۸-۲
۲۶	فاکتورهای رونویسی ویژه عضله	۹-۲
۲۷	هیستون داستیلاز-۴ (HDAC4)	۱-۹-۲
۲۹	عملکرد HDAC4	۱-۱-۹-۲
۳۱	HDACs و فعالیت های ورزشی	۲-۱-۹-۲
۳۶	MEF2 و عملکرد آن	۲-۹-۲
۴۱	ساختار MEF2	۱-۲-۹-۲
۴۷	ساختار دومن و تعدیلات پس رونویسی MEF2C	۲-۲-۹-۲
۴۲	ارتباط MEF2 با سایر عناصر	۳-۲-۹-۲
۴۶	MEFs، عضلات و محرک های آنان	۴-۲-۹-۲
۴۷	MEF2 و فعالیت های ورزشی	۵-۲-۹-۲
۴۸	فاکتور تنظیمی myoD	۳-۹-۲
۴۹	ساختار myoD	۱-۳-۹-۲
۵۰	عملکرد myoD و تعامل آن با سایر پروتئین ها	۲-۳-۹-۲

۵۳	..... MyoD ، عضلات و محرک های آنان	۳-۳-۹-۲
۵۶	..... myoD و فعالیت های ورزشی	۴-۳-۹-۲
۵۶	..... microRNAs	۴-۹-۲
۵۸	..... microRNAs ، فاکتورهای تنظیمی، تکثیر و تمایز عضلات	۱-۴-۹-۲
۶۱	..... miRs عضلات و محرک های آنان	۲-۴-۹-۲
۶۴	..... فعال سازی و تمایز عضلات پس از تمرینات	۱۰-۲

### **فصل سوم (روش شناسی)**

۶۸	..... مقدمه	۱-۳
۶۸	..... روش پژوهش	۲-۳
۶۸	..... جامعه آماری و روش انتخاب نمونه	۳-۳
۶۸	..... متغیرهای پژوهش	۴-۳
۶۹	..... ابزار و مواد جمع آوری اطلاعات	۵-۳
۶۹	..... روش انجام پژوهش	۶-۳
۶۹	..... پروتکل تمرینی	۷-۳
۷۰	..... آماده سازی بافت	۸-۳
۷۱	..... miR-1 بیان و ژن های هدف	۹-۳
۷۳	..... استخراج RNA از بافت	۱۰-۳
۷۳	..... سنتز cDNA	۱۱-۳
۷۳	..... ارزیابی بیان ژن	۱۲-۳
۷۵	..... تجزیه و تحلیل داده ها	۱۳-۳

### **فصل چهارم (نتایج)**

۷۷	..... مقدمه	۱-۴
۷۷	..... توصیف داده ها	۲-۴
۷۸	..... housekeeping ژن های هدف با ژن	۳-۴
۷۹	..... آزمون فرضیه ها	۴-۴
۷۹	..... فرضیه اول	۱-۴-۴
۸۱	..... فرضیه دوم	۲-۴-۴
۸۲	..... فرضیه سوم	۳-۴-۴
۸۴	..... فرضیه چهارم	۴-۴-۴
۸۵	..... فرضیه پنجم	۵-۴-۴
۸۷	..... فرضیه ششم	۶-۴-۴
۸۸	..... فرضیه هفتم	۷-۴-۴
۹۰	..... فرضیه هشتم	۸-۴-۴

## فصل پنجم (بحث و نتیجه گیری)

۹۳	۱-۵- مقدمه
۹۳	۲-۵- خلاصه
۹۴	۳-۵- بحث و بررسی
۹۴	۱-۳-۵- پاسخ تارهای کند و تند به فعالیت مقاومتی
۱۰۴	۲-۳-۵- تفاوت عضلات در پاسخ به متغییر مستقل
۱۰۶	۳-۳-۵- محور MEF2 و miR-1 و نقش سیستم عصبی
۱۰۷	۴-۵- جمع بندی
۱۰۸	۶-۵- پیشنهاد های برخواسته از پژوهشی
۱۰۸	۷-۵- پیشنهادات پژوهشی

## فهرست جداول

۷۲	۱-۳- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش
۷۷	۱-۴- میانگین تعداد سیکل های گروه کنترل و ۳ ساعت پس از تمرین مقاومتی
۷۸	۲-۴- میانگین تعداد سیکل های گروه کنترل و ۶ ساعت پس از تمرین مقاومتی
۷۸	۳-۴- توصیف میزان $2-\Delta\Delta ct$ ژن ها و miR-1 نمونه های عضله نعلی و بازکننده دراز انگشتان
۸۰	۴-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۸۰	۵-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل
۸۱	۶-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۸۱	۷-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل
۸۳	۸-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۸۳	۹-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل
۸۴	۱۰-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۸۴	۱۱-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل
۸۶	۱۲-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۸۶	۱۳-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل
۸۷	۱۴-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۸۷	۱۵-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل
۸۹	۱۶-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۸۹	۱۷-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل
۹۰	۱۸-۴- نتایج آزمون t برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی
۹۰	۱۹-۴- نتایج آزمون همگنی واریانس ها و t مستقل

## فهرست شکل ها

۲۴	شکل-۱-۲- نمایش موتیف مارپیچ آلفا و توالی آمینو اسیدی که پیچ آن را شکل می دهد
۲۵	شکل-۲-۲- تصویری از یک زیپ لوسینی که از یک طرف با DNA و طرف دیگر آن با پروتئین ها درگیر است
۲۶	شکل-۳-۲- تعامل پروتئین های خانواده مارپیچ-قوس-مارپیچ بازی با شیار بزرگ مولکول DNA
۲۹	شکل-۴-۲- استیلایسون دم های هیستونی به وسیله هیستون استیل ترانسفراز ها

- شکل ۲-۵- تغییر هستونی..... ۳۱
- شکل ۲-۶- بیان ژن ناشی از ورزش از طریق تنظیم HDAC5..... ۳۳
- شکل ۲-۷- مدلی از کنترل تارهای کند انقباض و اکسیداتیو به وسیله MEF2 و HDACs کلاس II..... ۳۹
- شکل ۲-۸- تصویری از اتصال پروتئین های MEF2A (یک زیر واحد) به DNA..... ۴۰
- شکل ۲-۹- نمایش شماتیکی از ۴ فاکتور MEF2..... ۴۱
- شکل ۲-۱۰- نمایش دومن های پروتئین MEF2..... ۴۲
- شکل ۲-۱۱- مسیر های سیگنالینگ..... ۴۳
- شکل ۲-۱۲- تعاملات گونه های MEF2 و bHLH مایوژنیک..... ۴۵
- شکل ۲-۱۳- تعامل پروتئین های bHLH با DNA..... ۴۹
- شکل ۲-۱۴- تنظیم کننده های منفی و مثبت MyoD به وسیله ارتباط مستقیم یا مکانیزم های غیر مستقیم..... ۵۱
- شکل ۲-۱۵- نواحی مختلف MyoD..... ۵۲
- شکل ۲-۱۶- ارتباط miR-1 و miR-133 با فاکتورهای مایوژن..... ۵۸
- شکل ۳-۱- تصویری از تمرین مقاومتی در گروه تجربی..... ۷۰
- شکل ۳-۲- استخراج بافت های مورد مطالعه..... ۷۰
- شکل ۳-۳- نمودار بیان برخی از ژن ها..... ۷۱
- شکل ۳-۴- کنترل طول محصول و تایید پرایمرها با استفاده از ژل آگاروز..... ۷۲
- شکل ۳-۵- کنترل اختصاصی بودن پرایمرها..... ۷۴
- شکل ۳-۶- تصویر منحنی ذوب miR-1 و کنترل آن..... ۷۴
- شکل ۴-۱- بررسی میزان efficiency ژن MEF2 با ژن GAPDH با استفاده از منحنی استاندارد..... ۷۹
- شکل ۴-۲- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 عضله EDL..... ۸۰
- شکل ۴-۳- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان myoD عضله EDL..... ۸۲
- شکل ۴-۴- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان MEF2 عضله EDL..... ۸۳
- شکل ۴-۵- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان HDAC4 در عضله EDL..... ۸۵
- شکل ۴-۶- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1..... ۸۶
- شکل ۴-۷- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1..... ۸۸
- شکل ۴-۸- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان MEF2..... ۸۹
- شکل ۴-۹- تاثیر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان HDAC4..... ۹۱
- شکل ۵-۱- مقایسه بیان ژن ها در عضلات SOL و EDL..... ۹۷
- شکل ۵-۲- روند بیان ژن ها در عضله EDL..... ۱۰۶
- شکل ۵-۳- روند بیان ژن ها در عضله SOL..... ۱۰۶

## **فصل اول**

# **کلیات و طرح پژوهش**

## ۱-۱- مقدمه

همگام با پیشرفت در زمینه های فیزیولوژی و بیولوژی، پنجره ای بر روی پژوهش ها ورزشی نیز گشوده می شود که منطقی به نظر می رسد. زیرا فعالیت بدنی بعد جدایی ناپذیر زندگی انسان می باشد. از جمله این فعالیت ها تمرینات مقاومتی است که موجب تغییرات گسترده ای در ساختار و عملکرد و همچنین بیان ژن های عضلات تند و کند می شود [۱]. فعالیت حاد استقامتی، تحریک الکتریک عصب بر بیان mRNA فاکتور MyoD [۲] و ژن و پروتئین MEF2<sup>1</sup> [۳، ۴] اثر می گذارد، میزان حضور پروتئین های هیستون داستیلاز کلاس II مانند HDAC4<sup>2</sup> (سرکوب کننده فاکتور رونویسی MEF2) در عضله تند و کند تنش متفاوت است [۵]. افزایش بیان HDAC کلاس II باعث سرکوب بیان تارهای کند تنش می شود که این سرکوب از طریق مهار فعالیت MEF2 صورت می گیرد [۵].

از طرفی دیگر کشف miRs (microRNAs) در سال های اخیر دیدگاه تازه ای از بیولوژی حیات را (از تا تکامل بیماری و مرگ) ارائه کرده است. عملکرد اصلی miRs سرکوب رونویسی ژن می باشد که این عمل را به وسیله جفت کردن نوکلئوتید های ۲ تا ۸ خود (یعنی ناحیه seed) با ناحیه غیر ترجمه ای 3' mRNA به انجام می رساند [۶]. هر mRNA می تواند هدفی برای چندین miR باشد و هر miR می تواند چندین mRNA را هدف قرار دهد [۷]. میزان سرکوب کنندگی miR بستگی به مکمل بودن ۷ نوکلئوتید (نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸) ناحیه seed موجود در طرف 5' miR با ناحیه غیر ترجمه ای 3'

---

1. Myocyte Enhancer factor 2  
2. Histone Deacetylase 4

mRNA دارد، به این معنی هرچه نوکلئوتیدهای این نواحی با هم بیشتر مکمل باشند، سرکوب شدید تر است.

برخی از miRs در عضلات بیان می شوند و به آنها myomiR می گویند [۸]، که miR-1 از جمله آنهاست [۶، ۹]. myomiRs تحت تاثیر فعالیت های بدنی قرار می گیرند و پژوهش ها با رویکرد فعالیت بدنی در این حوزه انگشت شمار می باشد [۱۰-۱۴]، مشخص شده هم فعالیت بدنی بر بیان miRs اثر می گذارد [۹] و هم تغییر در miRs موجب ایجاد سازگاری های ناشی از فعالیت بدنی می شود [۱۰، ۱۳]. دستگاه عضلانی توانایی بالایی در پاسخ به محرک ها دارد. تحریک و عدم تحریک، هر دو موجب سازگاری در عضلات می شود. پاسخ عضلات به محرک ها به صورت هایپرτροφی و یا آتروفی و یا افزایش یا کاهش آنزیم های متابولیکی بروز می کند. که این امر از طریق تغییر در اندازه میوفیبریل های انقباضی، ماتریکس خارج سلولی، فاکتورهای رونویسی، آنزیم های هوازی و غیرهوازی [۱۵-۱۷] و همچنین miRs صورت می گیرد [۱۳]. در اثر تمرینات ورزشی که منجر به ایجاد سازگاری های عضلانی (استقامتی و مقاومتی) می شود، بیان myomiRs تغییر می کند و زمانی که تمرین برای مدتی قطع می شود<sup>۱</sup> میزان بیان آنها دوباره به حالت پایه برمی گردد [۱۳]. در حقیقت miRs حد فاصل بین رونویسی و ترجمه می باشند و این جایگاه موجب شده که عمل تنظیم دقیق<sup>۲</sup> بیان نهایی ژن را به این عناصر نسبت دهند [۱۸].

miRs عناصر هدف خود را نیز تحت تاثیر قرار می دهند. پاسخ miRs به تمرینات مقاومتی [۱۰] و عناصر هدف آنها در عضلات متفاوت است [۱۹]. پژوهش های Nielsen (۲۰۱۰)، McCarthy (۲۰۰۷)، Drummond (۲۰۰۸) [۱۰، ۱۲، ۱۳] و قراخانلو (منتشر نشده) تاثیر فعالیت بدنی بر بیان miRs و ژن های هدف آنها را نیز تایید کرده اند. از آنجا که سازگاری عضلانی به تمرینات مقاومتی ناشی از فرآیند

---

1. Detraining  
2. fine-tuning

تکثیر و تمایز سلول های عضلانی است [۲۰] و همچنین مشخص شده است که myomiRs و ژن های مرتبط با آنها در تکثیر و تمایز عضلات نقش تعیین کننده ای دارند [۲۱, ۲۲]، احتمال دارد که بیان آنها و همچنین ژن های هدفشان در پاسخ های پیچیده عضلات تند و کند تنش به تمرینات مقاومتی متفاوت باشند.

## ۲-۱- بیان مساله

تحت شرایط طبیعی، بافت عضلانی یک بافت ثابت<sup>۱</sup> با turnover هسته ای خیلی کم است [۲۰, ۲۳]. [۲۴]، هرچند بر اثر انقباض [۲۵] یا آسیب (تروما)، عضله اسکلتی به طور محسوسی توانایی آغاز یک پروسه ترمیمی گسترده و سریع برای جلوگیری از کاهش توده عضلانی را دارد [۲۶-۳۲]. پروسه ترمیم (بعد از ایجاد آسیب) شامل یک چرخه تکثیر و تمایز سلولی است که با فعال سازی سلول های ماهواره ای<sup>۲</sup> صورت می گیرد [۳۳]. رشد، تکثیر و تمایز چندین نوع از انواع سلول ها مانند قلب، عصب، لنفوئیدها و عضلات اسکلتی توسط فاکتورهای رونویسی<sup>۳</sup> bHLH ویژه بافت تحریک می شود [۳۴]. در برنامه میوژنز<sup>۴</sup> (چرخه تکثیر و تمایز سلولی) عضلات، دسته ای از پروتئین های bHLH محدود به بافت که آنها را پروتئین های خانواده<sup>۵</sup> MRFs می نامند در هماهنگی با E2A (کلاسی دیگر از HLH<sup>۶</sup>) برنامه تمایز را با القاء رونویسی ژن های ساختاری و تنظیمی فعال می کنند. از جمله پروتئین های خانواده bHLH (MyoD<sup>۷</sup>, Myf5<sup>۸</sup> و میوژنین<sup>۹</sup> و MRF4<sup>۱۰</sup>) که در تنظیم عضلات درگیرند، myoD و میوژنین است [۳۵] که به ترتیب در تکثیر و تمایز سلول عضلات اسکلتی نقش دارند. این فاکتورها مارکرهای فعال

- 
1. Stable Tissue
  2. Satellite Cells
  3. Basic Helix Loop Helix
  4. Myogenesis
  5. Myogenic Regulatory Factors
  6. Helix Loop Helix
  7. Myogenic Differentiation
  8. Myogenic Factor 5
  9. Myogenin
  10. myogenic regulatory factors



سازی سلول های ماهواره ای هستند [۲۷]. محل بیان این فاکتورها و برخی از MyomiRs بر روی یک قطعه ژنی وجود دارد که حاوی جایگاه miR-133 و miR-1 است. در حد فاصل بین این دو جایگاه یک اینترون قرار دارد که حاوی یک افزایش دهنده<sup>۱</sup> است. این افزایش دهنده -۳۳۰ جفت بازی- حاوی یک E-box<sup>۲</sup> (جایگاه اتصال bHLH) و یک جایگاه اتصال برای MEFs است [۳۶]. سرکوب MyoD و MEF2 موجب سرکوب بیان این myomiRs می شود [۳۷] که ارتباط آنها را در سطح ژنی نشان می دهد. به نظر می رسد میزان بیان فاکتورهای تنظیمی بافت عضله و همچنین miR ها در عضلات کند و تند متفاوت است [۳۸]. لذا همانطور که McCarthy (۲۰۰۷) نشان داد بیان miRs در عضلات تحت تاثیر تمرین مقامتی در عضلات کند و تند نیز متفاوت است [۱۰]. احتمال دارد که بخشی از پاسخ های متفاوت عضلات به تمرینات مقاومتی و استقامتی ناشی از بیان متفاوت miRs و فاکتورهای تنظیمی آنها باشد. لذا به نظر می رسد برای دستیابی به پاسخی دقیق مقایسه این عضلات منطقی باشد.

با توجه به آنچه که گفته شد این مجموعه ارتباطی در قالب ژن های یکسان یا حداقل ژن های نزدیک به هم بیان می شوند و در این مورد تحقیقاتی هم صورت گرفته است که یکی از نزدیک ترین پژوهش، مطالعه Drummond و همکارانش (۲۰۰۸) [۱۲] است که این شبکه (miR-1، miR133، myoD، MEF2، HDAC4 و برخی فاکتورهای دیگر) را مورد مطالعه قرار داد. اما پژوهش حاضر با پژوهش ذکر شده در موارد زیر تفاوت دارد: ۱- در مطالعه Drummond (۲۰۰۸) فقط از عضله پهن جانبی بیوپسی به عمل آمد در صورتی که در این پژوهش هدف این بود که مشخصا پاسخ فاکتورهای ذکر شده عضلات کند و تند به تمرینات مقاومتی ارزیابی شود. ۲- در پژوهش ذکر شده اثر فعالیت قدرتی همراه با مصرف آمینو اسیدها که یک ساعت پس از تمرین مصرف شده بود، گزارش شد، اما تاثیر خالص فعالیت قدرتی گزارش نشد. لذا هدف این پژوهش، بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت قدرتی صرف بود. پژوهش دیگر

---

1. Enhancer  
2. Enhancer Box

که به این پژوهش نزدیک بود تحقیق McCarthy (۲۰۰۷) است [۱۰] که نشان داد miR-133 و miR-1 در عضلات نعلی و پلانتراریسی که یک هفته به جهت قطع عضله همکار متحمل بار عملکردی شده بودند، کاهش می یابد. البته پروتکل تمرینی که این محقق اجرا کرده بود با تمرینات مقاومتی متفاوت است. به این دلیل که عضله به صورت مزمن بدون هیچ استراحتی تحت اضافه بار قرار می گیرد، ضمن اینکه این محقق نشان داد عضلات مورد نظر ۴۵ درصد افزایش وزن (هایپرتروفی) داشته اند. با بررسی های انجام شده، تحقیقی که پاسخ miR-1 را به یک فعالیت قدرتی اندازه گیری کند، مشاهده نشد. لذا ارائه پاسخ منطقی و دقیق به موارد یاد شده، اهمیت مسئله را بیان می کنند.

تغییر در نوع تارها بر اثر تمرینات مقاومتی [۳۹] و سازگاری های متابولیکی که متعاقب تمرینات استقامتی [۴۰] و مقاومتی [۴۱] رخ می دهد، تقریباً به موضوعی اثبات شده تبدیل شده است. تمرینات قدرتی موجب می شود که تارهای تند نوع IIx به سمت تبدیل شدن به تارهای کند نوع IIa گرایش بیشتری داشته باشند. این موضوع با افزایش بیان ژن های <sup>1</sup>IGF-1، <sup>2</sup>MGF، MyoD و مایوژنین نیز همراه است. در مقایسه دیده شد که تمرینات ترکیبی (قدرتی و پلیومتریک) موجب می شود که این گرایش از سمت تارهای کند نوع I به سمت تارهای تندتر نوع IIa بیشتر شود و افزایش متوسطی در میزان بیان ژن MGF بدون تغییر معنی داری در بیان ژن MyoD و IGF-1 و یا مایوژنین رخ می دهد [۳۹].

تمرینات استقامتی و مقاومتی همچنین بر سیستم عصبی تاثیر مطلوب دارند به طوری که محققان این تمرینات را به عنوان روشی درمانی پیشنهاد می دهند [۴۲، ۴۳]. تمرینات مقاومتی و همچنین استقامتی موجب افزایش سطح نروتروفیک فاکتورها می شوند (که در حفظ حیات سیستم عصبی و همچنین در بازسازی نرون ها پس از ضایعات مغزی نقش موثری دارند) [۴۴]. اما آنچه که در سال های اخیر بیشتر مورد نظر است مسیرهای سیگنالینگ است که توسط فعالیت های استقامتی و مقاومتی برانگیخته می

---

1. Insulin-like growth factor 1  
2. Mechano Growth Factor

شود تا سازگاری های مورد نیاز به وقوع بپیوندد. این مسیرها از تغییر پذیری تار عضلانی [۴۵] تا سازگاری های متابولیکی [۴۶] نقش اصلی را ایفا می کنند.

آنچه که مشخص است شکل گیری مجموعه منظم و پیچیده ای است که مقدمات تغییرپذیری و سازگاری عضله را به تمرینات مقاومتی و استقامتی فراهم می آورد. در این پژوهش با توجه به مسئله آن به برخی از فاکتورها که بر اثر تمرینات مقاومتی فعال شده و بر تجدید ساختار و سازگاری عضله اثر می گذارند پرداخته شد که عبارتند از ۱- فاکتورهای افزایش دهنده میوسیت ها که عضو خانواده MADS-Boxes، ۲- HATs و HDACs که تجدید ساختار کروموزوم برای بیان ژن را تنظیم می کنند، ۳- miRs که نقش مهمی در تنظیم این پروسه ایفا می کنند و ۴- در نهایت اعضای خانواده فاکتورهای رونویسی است که به عنوان سیگنال بلوغ و تمایز میوفیبریل ها و ترکیب کننده میوبلاست به داخل میوتیوب ها بیان می شوند. این عناصر در قالب یک شبکه تجدید ساختار مهم، پروسه سازگاری عضلات را تنظیم می کند.

### ۳-۱- ضرورت انجام پژوهش

فعالیت های ورزشی پروسه سازگاری و تجدید ساختار عضلات را فعال می کنند [۴۷] و در اثر تمرینات قدرتی، سازگاری های متفاوتی رخ می دهد [۴۸]. از آنجایی که miR-1 [۱۰] و همچنین عناصر بالا دست و پایین دست آن در بسیاری از پروسه های سلولی و همچنین در تکثیر و تمایز سلول های ماهواره ای و عضلانی نقش نقش بسیار مهمی دارند [۴۹، ۵۰] که معمولا با همکاری هم روند سازگاری در پاسخ به روش های متعدد تمرینی را ایجاد می کنند، به نظر می رسد ۱- بررسی پاسخ آنها با هم در قالب یک شبکه موثرتر باشد، ۲- پاسخ متفاوت عضلات کند و تند به تمرینات قدرتی [۴۷، ۵۱]، موضوعی دیگر است که باید به آن توجه کرد ۳- چگونگی پاسخ miR-1 عضلات کند و تند به فعالیت های مقاومتی سوالی است که هنوز تحقیقی در مورد آن صورت نگرفته است و در آخر باید گفت پژوهش در مورد پاسخ MEF2, HDACs و myomiRs به فعالیت بدنی انگشت شمار است. بنابراین برای پاسخ به این پرسش

ها، ضروری است در مورد آنها تحقیقاتی صورت گیرد. لذا هدف این پژوهش این بود که اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 و ژن های myoD، MEF2 و HDAC4 در عضلات تند و کند را بررسی کند.

#### ۴-۱- اهداف پژوهش

۴-۱-۱) هدف اصلی پژوهش

هدف اصلی این پژوهش بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 و ژن های myoD، MEF2 و HDAC4 در عضلات نعلی و EDL است.

۴-۱-۲) اهداف جزئی

۱. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 در عضله تند انقباض.
۲. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن myoD در عضله تند انقباض.
۳. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن MEF2 در عضله تند انقباض.
۴. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن HDAC4 در عضله تند انقباض.
۵. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 در عضله کند انقباض.
۶. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن myoD در عضله کند انقباض.
۷. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن MEF2 در عضله کند انقباض.
۸. بررسی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن HDAC4 در عضله کند انقباض.

#### ۵-۱- فرضیه ها

۱. یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان miR-1 در عضله تند انقباض تاثیر دارد.
۲. یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن myoD در عضله تند انقباض تاثیر دارد.
۳. یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن MEF2 در عضله تند انقباض تاثیر دارد.