©2023 ASP Ins., Afarand Scholarly Publishing Institute, Iran

ISSN: 2322-2166: Journal of Islamic Life Style, 2022:6:166-175

Effect of Four Weeks of Increasing Resistance Training with Date Palm Pollen Extract on the Gene expression of CHRN-G and Semaphorine-A3 in the Gastrocnemius Muscle of Healthy Male Rats

ARTICLE INFO

Article Type
Research Article

Authors
Mozhgan Hassan Zadeh[1]
Mohammad Ali Azarbayjani [2*]
Shahin Riyahee Malayeri[3]
Maghsoud Piri[1]
Hassan Matin Homaee [1]

How to cite this article
Mozhgan Hassan Zadeh, Mohammad Ali Azarbayjani, Hassan Matin Homaee, Effect of Four Weeks of Increasing Resistance Training with Date Palm Pollen Extract on the Gene expression of CHRN-G and Semaphorine-A3 in the Gastrocnemius Muscle of Healthy Male Rats, *Islamic Life Style*. 2022; 6:166-175.

1. Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding Author).

3. Department of Sports Sciences, Tehran East Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

**** Correspondence:***
Address:
Phone:
Email: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

Article History
Received: 2022/10/12
Accepted: 2023/01/04

ABSTRACT

Purpose: Regular exercise training with different volumes by date palm pollen extract is an effectives strategy in improving gene expression and neuromuscular function. The purpose of this study was to determine the Effect of four weeks of increasing resistance training with date palm pollen extract on the gene expression of CHRN-G and Semaphorine-a3 in the Gastrocnemius muscle of healthy male rats.

Materials and Methods: This is an experimental study. For this purpose, 42 six week old healthy of male rats were divided into 6 groups of numbers 7; Control (C), Resistance training (TR), Testosterone (T), SUP (S), Resistance training with extract (RT+SUP), Resistance training with Testostrone (RT+T). Extraction was performed with 90% ethanol at a rate of 670 ml and repeated three times. The extract was concentrated in vacuo and the solvent was completely removed. The extraction efficiency was 87.17%. Consumption of the extract at a dose of 100 mg / kg per day to the extract groups and exercise with the extract was gavaged intraperitoneally. Testosterone at a dose of 2 mg / kg per day was injected into the testosterone and testosterone training groups.increasing resistance training, extract and testosterone interventions were performed for five days a week for four weeks. After 24 hours the last training session and afterward recovery, subjects were sacrificed and their gastrocnemius muscle was extracted. PCR Real time was used to determine the expression of CHRN-G and Semaphorine-a3 genes. to compare the groups independent Two way anova was used at alpha level of 0/05.

Findings: genes expression of CHRN-G in the training with extract group (P=0.024) and training with testosterone (P=0.045) respectively showed a significant decrease compared to the extract group. Semaphorine-a3 of gene in the training with extract group (P=0.016) respectively showed a significant decrease compared to the extract group. Weight did not significantly change in any of the groups.

Conclusion: It seems that possibly 4 weeks of increasing resistance training with consumption of date palm male pollen extract can improve neuromuscular function by reducing the expression of CHRN-G and Semaphorine-a3 genes in the presynaptic space.

Keywords: Increasing Resistance Training, Date Palm Pollen, Chrn-G, Semaphorine-A3

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

اثر تمرین مقاومتی و عصاره گرده نر نخل خرما بر CHRN-G و Semaphorin-a3 موش های سالم

مژگان حسن زاده[۱]
گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

محمد علی آذربایجانی[۲*]
گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

شاهین ریاحی ملایری[۳]
گروه علوم ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

مقصود پیری[۴]
گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

حسن متین همائی[۵]
گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

هدف: تمرین منظم با حجم متفاوت همراه با مصرف عصاره گرده نر نخل خرما استراتژی مؤثری در بهبود بیان ژن و عملکرد عصبی- عضلانی است. هدف از مطالعه حاضربررسی اثر۴ هفته تمرین مقاومتی فزاینده با عصاره گرده نر نخل خرما بر بیان ژ ن های CHRN-G و Semaphorine-a3 درعضله دوقلوی موش های صحرائی نر سالم بود.

مواد و روش ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۴۲ سر موش صحرائی نر سالم شش هفته‌ایی، با میانگین وزن ۱۹۵ تا۲۲۰ گرم به طور تصادفی به ۶ گروه ۷ تایی; کنترل(C) ، تمرین مقاومتی(RT) ، تستوسترون(T) ، عصاره(SUP) ، تمرین مقاومتی با عصاره (RT+SUP)، تمرین تمرین مقاومتی با تستوسترون (RT+T) تقسیم شدند. عصاره گیری با اتانول ۹۰٪ به میزان ۶۷۰ میلی لیتر انجام و سه بار تکرار شد. عصاره بدست آمده بوسیله دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ و حلال آن بطور کامل حذف شد. میزان بازده عصاره گیری ۸۷/۱۷ درصد بود. مصرف عصاره به مقدار 100 mg/kg در روز به گروه های عصاره و تمرین با عصاره به صورت درون صفاقی گاواژ شد. تستوسترون به مقدار 2 mg/kg در روز به گروه های تستوسترون و تمرین با تستوسترون تزریق شد. مداخلات تمرین مقاومتی فزاینده، عصاره و تستوسترون ۵ روز درهفته به مدت ۴ هفته انجام شد. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین و ریکاوری بعد از آن آزمودنی ها قربانی و عضله دوقلوی آن ها استخراج شد. جهت تعیین بیان ژن های CHRN-G و-Semaphorine a3از روش Real time- PCR استفاده شد. برای مقایسه گروه ها از آزمون آنووای دو راهه در سطح آلفای ۰/۰۵ استفاده شد .

یافته ها: بیان ژن CHRN-Gدر گروه تمرین با عصاره (P=۰/۰۲۴) و تمرین با تستوسترون (P=۰/۰۴۵) نسبت به گروه عصاره کاهش معناداری را نشان داد. ژن Semaphorine-a3 در گروه تمرین با عصاره (P=۰/۰۱۶) نسبت به گروه عصاره کاهش معناداری نشان داد. وزن در هیچ یک از گروه ها تفاوت معناداری نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد که احتمالا ۴ هفته تمرین مقاومتی فزاینده با مصرف عصاره گرده نر نخل خرما با کاهش در بیان ژ ن های CHRN-G و Semaphorine-a3 در فضای پیش سیناپسی، می تواند عملکرد عصبی عضلانی را بهبود دهد .

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی فزاینده، گرده نرنخل خرما، CHRN-G، Semaphorine-a3

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۴
*نویسنده مسئول m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

مقدمه

عضله اسکلتی بیشترین بافت سلولی در بدن می‌باشد که در فعل و انفعالات هورمونی نقش بسزایی دارد(۱). ژن‌های مهمی در پیوستگاه عصبی- عضلانی و در پایانه عصب حرکتی قرار دارند که باعث انتقال پیام عصبی به سلول تارهای عضله می‌شوند(۲). انعطاف پذیری عضله نیازمند کنترل عصبی نیرومند است که در تولید نیرو و انتقال آن به تاندون و استخوان بتواند حرکت ایجاد کند(۲). با این‌حال تغییر نامناسب در فرآیند رونویسی و جهش ژن‌های مرتبط با عملکرد عصب می‌تواند موجب مهار مهاجرت سلول، تضعیف در قدرت و کاهش در عملکرد عضله شود(۳). از طرفی کم تحرکی یا بی تحرکی باعث افزایش در تراکم بافت‌های غیر انقباضی می‌شود و متعاقب آن قدرت تضعیف می‌گردد(۴). لازم به ذکر است که ضعف در قدرت به دلیل کم تحرکی، تولید برخی از پروتئین‌های مهارگر را در محل تلاقی عصب به عضله افزایش می‌دهد و باعث کاهش خوشه‌گیری استیل کولین می‌شود(۵) و با اثر ضد رگ‌زایی موجب کاهش در قدرت شده و آتروفی غیر مرضی یا مرضی ایجاد می-کند(۶). زمانیکه ایمپالس عصبی به پایانه آکسون برسد بر اثر فرآیند دیپلاریزاسیون کانال‌های سدیمی غشاء موجب بازشدن کانال‌های ولتاژی کلسیم شده و به وسیله تخلیه کلسیم در منطقه آکسوپلاسم در مجاورت پلاسمالم باعث می‌شود استیل کولین با واکنش اگزوسیتوزی با کلسیم رها شده همجوشی برقرار کند و در شکاف سیناپسی در انتهای آکسون تخلیه شود و باعث انتشار نیرو گردد(۷). زیر واحد استیل کولین گاما (CHRN-G)[1] از جمله ژن‌هایی است دارای فعالیت آنزیمی در ۴ زیر واحد کروی شکل با عملکرد مهاری که تولید و رهایش استیل کولین را مهار کرده و قدرت

[1] - Acetylcholine receptor-Y

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

عضلانی را ضعیف می‌کند(۷). همچنین بیان دسته‌ای از نشانگان هدایت آکسون به نام سمافورین‌ها در پایانه‌های عصب حرکتی(۸) فعالیت آکسونی را ضعیف کرده، قدرت را کاهش می‌دهد(۹). از بین مجموع سمافورین نوع a3 (Semaphorine-a3) در پایانه عصبی تارهای عضلانی نوع۲ (II) تولید می‌شود و بر گیرنده‌های نوروپیلین۱ (NRP-1)[1] و پلکسین a (PLX-A)[2] فعالیت آکسونی را مختل می‌کند(۱۰). عضلات اسکلتی دارای تارهای کند و تند انقباض است که هر کدام از آن‌ها در موقعیت خاصی فعال شده و نیرو تولید می‌کنند(۱۱). با این‌حال مهار در تولید نیرو و کاهش قدرت در تارهای تند انقباض به دلیل دارا بودن بیشترین مقادیرگیرنده‌های استیل کولین نسبت به تارهای کند بیشتر و سریع-تر اتفاق می‌افتد(۸). بر این اساس به بتازگی به بیان دسته‌ای از نشانگان تخریب‌گر هدایت آکسونی در پایانه‌های عصب حرکتی توجه معطوف شده است(۱۲). طبق مطالعات انجام شده، فعالیت ورزشی می‌تواند به عنوان مکانیسم محافظتی و غیر تهاجمی در پیشگیری از انواع بیماری‌ها(۱۳) و حفظ ساختار و عملکرد سیناپس در پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با سیستم عصبی عضلانی موثر باشد(۱۴). همچنین در رابطه با تاثیر تمرین با توجه به شدت و مدت آن و نیز حجم عضلات درگیر در انقباض نتایج متفاوت و متناقضی وجود دارد(۱۵). تمرین استقامتی از راه فراخوانی مسیرهای مرتبط با بیوژنز میتوکندری در تولید انرژی با راه اندازی مسیر چرخه انتقال الکترون و افزایش بیان ژن کلسی تونین در جسم سلولی نورون‌های عضلات فعال، بر سرعت انتقال آکسون در اتصال عصب به عضله با فعال‌سازی گیرنده‌های استیل کولین و افزایش تولید استیل کولین استراز موثر است(۱۶). در حالیکه انجام تمرین مقاومتی مانند وزنه برداری اجزاء پیش و پس سیناپسی را در اتصالات عصب انتهای تار عضله گسترش می‌دهد(۱۰). زیرا تمرین مقاومتی تنش ویژه عضله در حال انقباض را با تولید یون سدیم، کلسیم و رهایش استیل کولین از پایانه‌های عصبی را به طور سریع افزایش می‌دهد و تسهیل بیشتری در اتصال عصبی عضلانی ایجاد می‌کند(۱۷) در مقایسه با تمرین استقامتی با شدت کمتر و در طول دوره طولانی‌تر، تمرین مقاومتی با تحمل اضافه بار مکانیکی و افزایش فراخوانی تارهای نوعII با راه اندازی ایزوفرم‌های زنجیره سنگین میوزین(MHC)[3] در افزایش محتوای کمی وزیکول‌ها و تولید نوتروفین‌ها در کاهش خستگی سیناپسی و کارایی بالاتر عصبی موثرتر است(۱۸). از طرف دیگر استراحت بین ست‌های تمرین مقاومتی در راه‌اندازی مسیر هایپرتروفی پس از برانگیختگی عصب حرکتی در عضلات تند انقباض و افزایش قدرت اثر گذار است(۱۹). بر این اساس شدت تمرین نسبت به مدت آن عامل مؤثرتری در تنظیم بیان ژن و بهبود سنتز پروتئین عنوان می‌شود(۱۵). امروزه به مصرف مکمل‌های گیاهی به دلیل عوارض کمتر نسبت به مصرف داروهای شیمیایی در اثربخشی تمرین مقاومتی بر بهبود عملکرد و افزایش توده عضله توجه معطوف شده است(۲۰). در این خصوص می‌توان به عصاره گرده نر نخل خرما که به اختصار به آن DPP می‌گویند از درخت نخل با نام علمی (phoenix dactylifera) و ترکیبات موثر آنتی اکسیدانی(۲۱) و آنابولیکی بر بهبود قدرت اشاره کرد(۲۲). همچنین منبعی غنی از ویتامین‌ها (A،B،C وE) و اسیدهای آمینه، استرول‌های گیاهی آن مانند ساپونین، گالیک و تانن آنتی موتاژن و ضد آتروفی بوده و با تاثیر بر تستوسترون بر افزایش قدرت عضلانی موثر است(۲۳). لذا با توجه به تاثیر مفید تمرین مقاومتی و نیز ترکیبات آنتی اکسیدان و استرولی مؤثر بر قدرت در گرده نر نخل خرما، مطالعه حاضر برای اولین بار به بررسی اثر۴ هفته تمرین مقاومتی فزاینده با مکمل گرده نر نخل خرما بر بیان ژن‌های CHRN-G و Semaphorine-a3 درعضله دوقلوی موش-های صحرائی نر سالم پرداخت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار، سن۶ هفته با وزن حدود ۱۸۵ تا ۲۲۰ کیلوگرم خریداری و به آزمایشگاه حیوانات انتقال داده شد. جدول۱. بعد از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه در قالب ۶ گروه ۷ تایی: ۱- گروه کنترل (C)، ۲- گروه تمرین مقاومتی (RT)، ۳- گروه تستوسترون (T)، ۴- گروه عصاره (SUP)، ۵- گروه تمرین مقاومتی با عصاره (RT+SUP)، ۶- گروه تمرین با تستوسترون (RT+T) تقسیم بندی و در قفس‌های پلی کربنات شفاف ساخت شرکت رازی راد در محیط با درجه حرارت ۲±۲۲درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنائی- تاریکی ۱۲:۱۲ با دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص حیوانات (پلت) نگهداری شدند. تمامی مراحل مطالعه با رعایت اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و با تصویب کد اخلاق به شماره در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد.

جدول ۱: مقادیر اولیه میانگین وزن به تفکیک گروه ها

گروه / متغیر	C	RT	T	SUP	RT+SUP	RT+T
وزن اول (گرم)	۲۰۵/۱۶±۱۴/۴۱	۲۰۹/۱۹±۱۰/۳۷	۲۰۳/۱۸±۱۴/۴۶	۲۰۹/۱۶±۹/۴۱	۲۰۵/۲۶±۲۴/۴۱	۲۰۴/۱۶±۱۳/۳۸
وزن آخر (گرم)	۲۰۷/۴۶±۱۲/۶۲	۲۰۸/۲۱±۱۲/۷۳	۲۰۶/۳۲±۱۳/۱۸	۲۰۹/۲۶±۱۰/۰۲	۲۰۸/۱۶±۹/۰۶	۲۰۵/۴۴±۱۴/۲۱

اعداد به شکل میانگین± انحراف استاندارد بیان شده اند

[1] - Neuropilin-1
[2] - Plexin-A
[3] - Myosin heavy chain

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

برنامه تمرینی

برای اجرای برنامه تمرین مقاومتی، پس از یک هفته آشنا سازی آزمودنی‌ها با برنامه تمرین مقاومتی (نردبان با ارتفاع ۱۱۰ سانتی متر، فاصله بین هر پله۲ سانتی‌متر و شیب نردبان ۸۰ درصد) بدون حمل وزنه به کمک تمرین دهنده۳ تا ۵ تکرار بالا رفتن از پله‌ها را انجام دادند. قبل از اجرای پروتکل تمرین مقاومتی فزاینده ابتدا حد اکثر یک تکرار بیشینه (1RM) آزمودنی‌ها با افزودن وزنه‌ای به دم به وسیله چسپ لکوپلاست (قبل از تمرین حساسیت دم موش‌ها به این نوع چسپ بررسی شد) بدین صورت انجام شد؛ تمرین در جلسه اول با افزودن وزنه‌ای به مقدار ۵۰ درصد وزن بدن به دم آنها آغاز شد، سپس ۳۰ گرم وزنه به هرست اضافه شد و تا زمانی که آزمودنی‌ها قادر به بالا بردن وزنه نبودند ادامه یافت، بر این اساس آخرین وزنه-ای که می‌توانست حمل کند به عنوان حداکثر یک تکرار بیشینه در نظر گرفته شد(۲۴). برنامه تمرین مقاومتی به مدت۴ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد و روز ششم در هر هفته جهت سنجش حد اکثر یک تکرار بیشینه آنها برای اضافه شدن تدریجی وزنه برای فته بعد در نظر گرفته شد. قبل از اجرای تمرین ابتدا برنامه گرم کردن را در۳ تکرار بدون حمل وزنه انجام می‌دادند، سپس اجرای تمرین مقاومتی در هفته اول با۵۰ درصد از وزن بدن آزمودنی‌ها انجام شد و برای جلسات بعد با۵۰ درصد آخرین وزنه حمل شده تمرین آغاز می‌گردید، به این ترتیب بار تمرین در هفته اول شامل ۵۰ درصد، هفته دوم ۷۵ درصد، هفته سوم۹۰ و در هفته چهارم با ۱۰۰ درصد حداکثر وزنه‌ای بود که موفق به حمل آن بر روی نردبان شده بودند. تعداد تکرار در هر جلسه۲ تکرار و در۳ ست با زمان استراحت بین هر تکرار۱ دقیقه و بین هرست۲ دقیقه در نظر گرفته شد(۲۴). جدول۲. در این مدت جهت یکسان سازی، گروه کنترل نیز ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه بر روی نردبان قرار داده می‌شدند.

جدول۲: برنامه اضافه بار تمرین مقاومتی فزاینده

	RT			
هفته های تمرین	۱	۲	۳	۴
مقدار وزنه در هر جلسه (1RM)	٪۵۰	٪۷۵	٪۹۰	٪۱۰۰
تعداد ست تمرین در هر جلسه	۳	۳	۳	۳
تعداد تکرار در هر ست تمرین در هر جلسه	۲	۲	۲	۲
زمان استراحت بین هرست (min)	۲	۲	۲	۲
زمان استراحت بین هر تکرار (min)	۱	۱	۱	۱

نحوه تهیه و مصرف عصاره

مقدار ۳۰۰ گرم پودر گرده نر نخل خرما از عطاری معتبری در تهران تهیه و پس از شناسایی و تائید توسط کارشناس هرباریوم در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در کمالشهر کرج مراحل عصاره گیری بدین صورت انجام شد؛ مقدار۲۵۰ گرم از گرده در دستگاه پرکولاتور قرار داده شد. مقدار ۹۰٪ اتانول (merck، آلمان) به میزان ۶۷۰ میلی لیتر به آن اضافه گردید و این کار برای سه بار تکرار شد. عصاره‌های حاصل بوسیله دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ شد. سپس عصاره الکلی صاف و توسط دستگاه روتاری به طور کامل حلال از آن حذف گردید تا عصاره خالص بدست آید. بدین ترتیب میزان بازده عصاره گیری خالص ۸۷/۱۷ درصد بود. دریافت عصاره به موش‌ها در گروه‌های عصاره و تمرین با عصاره به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته به مقدار mg/kg ۱۰۰ به صورت درون صفاقی گاواژ شد(۲۵). تستوسترون نیز به مقدار mg ۱۰۰ انانتات از داروخانه معتبر تهیه و مقدار mg/kg ۲در روز به مدت۴ هفته، ۵ روز در هفته به موش‌ها در دو گروه تستوسترون و تمرین با تستوسترون به صورت زیر جلدی تزریق شد(۲۶).

سنجش متغیرهای پژوهش

در هفته چهارم و۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین و ریکاوری بعد از آن، موش‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰mg/kg) و زایلازین (mg/kg ۱۰) بیهوش شدند. سپس نمونه خونی به طور مستقیم از قلب موش‌ها جمع‌آوری و جداسازی پلاسما با سانترفیوژ کردن در دمای ۱۵ درجهٔ سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام گردید. سپس بافت عضله دوقلو با برش اندام تحتانی بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۲۰- منجمد و جهت سنجش بیان ژن در فریزر ۸۰- نگه‌داری شد. برای سنجش بیان ژن CHR-G و Semaphorine-a3 از روش Realtime-PCR با Premix Extaqit و از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده شد و اندازه گیری مقدار بیان این ژن به صورت توأمان با هر یک از ژن‌ها به وسیله کیت Mir 50 nasy mini kit(qiagene ساخت آلمان) بر اساس دستور العمل انجام گردید . برای استخراج RNA میزان ۵۰ میلی گرم بافت منجمد عضله دوقلوی موش هموژن کرده و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت محلول RNA از آن استخراج و به وسیله آنزیم DNaseI از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب کننده RNA پاکسازی شد. از هرکدام از نمونه‌ها ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA استفاده شد. مقدار نسبی بیان ژن برای ژن‌های مورد مطالعه در عضله دوقلو با کمک پرایمرهای اختصاصی آنها اندازه گیری شد و نسبت جذبی

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

۲۶۰ تا ۲۸۰ نانوگرمی برای تمام نمونه های استخراج شده ۱/۸ تا ۲ بود. همینطور بررسی کیفیتRNA استخراج شده از روش الکتروفروز و ژل آگارز۱ درصد استفاده شد. لازم به ذکر است که قبل از سنجش cDNA برای اطمینان از نبود DNA در نمونه استخراج شده thermos) DNAs treatment scientific , ساخت آلمان) انجام شد. سنتز cDNA به وسیله کیت transe criptor first strand cDNAsinthesis kit (roch, ساخت آلمان) طبق دستورالعمل کیت‌ها انجام گردید. برنامه Real time PCR با دستگاه "Rotrogene 6000, corbet) ساخت آلمان انجام شد. این برنامه بر طبق SYBER Green (ampligon, ساخت دانمارک) با دور ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و بلافاصله ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه با پرایمر طراحی شده (ساخت نیکا زیست ژن ایران) انجام شد. جدول۳.

جدول۳: توالی پرایمری ژن‌ها در مورد مطالعه حاضر

ژن	توالی پرایمر $(5' \rightarrow 3')$
CHRN-G	AGAGAATGGTCCAGAAATGAG Forward GCTAGGAAACAGACACGGT Reserve
Semaphorine-a3	CTACTGGACATTTCTTTGGTC Forward GGCTCCTGCTTCGTAGTCT Reserve

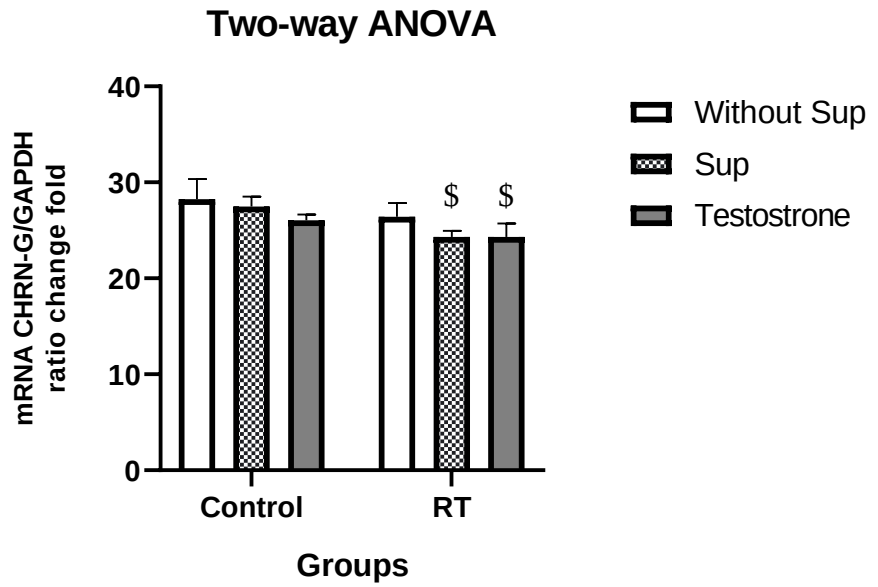
تجزیه و تحلیل یافته‌ها

کمی سازی بیان ژن‌های مورد نظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ و مقادیر Change Foldمحاسبه شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیروویلک مشخص گردید. جهت تعیین اثر اصلی تمرین، اثر اصلی عصاره و تعامل تمرین با عصاره از تحلیل واریانس دو راهه استفاده شد. همه مراحل آماری با نرم افزار Graph pad prism نسخه ۸ در سطح معنی‌داری $P\leq$۵٪ انجام شد.

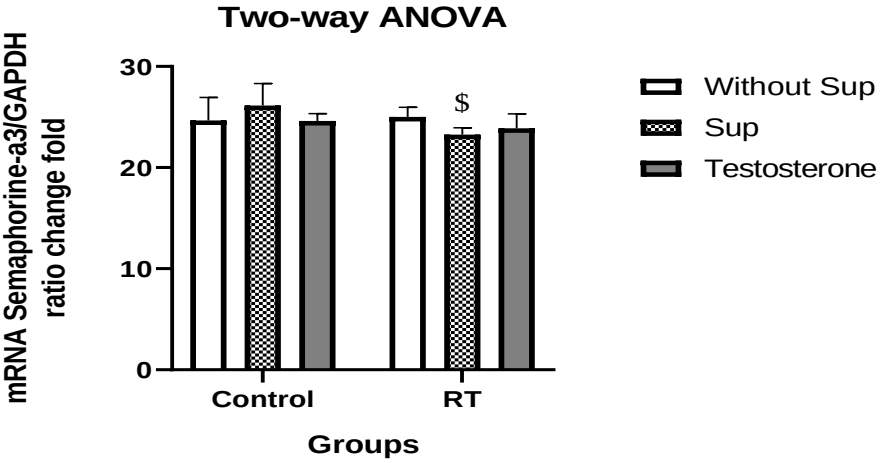
یافته‌ها

تغییرات وزن پس از گذشت ۴ هفته تمرین مقاومتی و مداخله تمرین با عصاره به لحاظ آماری معنادار نشد. اما تغییرات بیان ژن CHRN-G در گروه تمرین با عصاره (P=۰/۰۲۴) و تمرین با تستوسترون (P=۰/۰۴۵) نسبت به گروه عصاره کاهش معناداری داشت. اما گروه تمرین با عصاره (P=۰/۰۷۵) و تمرین بدون عصاره (P=۰/۲۸۳) و عصاره (P=۰/۷۸۴) نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت. بین گروه تمرین با عصاره و تمرین با تستوسترون تفاوت معناداری مشاهده نشد(P=۰/۷۹۹). شکل۱. بیان ژن Semaphorin-a3 در گروه تمرین با عصاره نسبت به گروه عصاره کاهش معناداری داشت(P=۰/۰۱۶). اما درگروه تمرین با عصاره (P=۰/۳۳۴) و تمرین بدون عصاره (P=۰/۹۹۸) و عصاره (P=۰/۲۸۵) نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد. بین گروه تمرین با تستوسترون (P=۰/۸۱۱) و تستوسترون (P=۰/۶۹۹) نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد. همینطور بین گروه تمرین با عصاره و تمرین با تستوسترون تفاوت معناداری مشاهده نشد(P=۰/۵۱۹). شکل۲.

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]



$معناداری نسبت به گروه مکمل (برابر نسبت تغییر به گروه کنترل)



$معناداری نسبت به گروه مکمل (برابر نسبت تغییر به گروه کنترل)

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر به بررسی اثر۴ هفته تمرین مقاومتی فزاینده با عصاره گرده نر نخل خرما بر بیان ژن‌های CHRN-G و Semaphorine-a3 درعضله دوقلوی موش‌های صحرائی نر سالم پرداخت. برطبق یافته‌های بدست آمده بیان ژن‌های CHRN-G در گروه تمرین با عصاره و تمرین باتستوسترون و بیان ژن Semaphorin-a3 در گروه تمرین با عصاره نسبت به گروه عصاره کاهش معناداری نشان داد. درحالیکه تمرین، عصاره و تستوسترون بر بیان ژن‌ها تغییر معناداری ایجاد نکرد. همینطور بین تمرین با عصاره و تمرین با تستوسترون در بیان ژن‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد. تغییرات وزن نیز پس از گذشت۴ ماه تمرین و مداخلات عصاره و تستوسترون به لحاظ آماری معنادار نشد. از جمله عوامل اصلی در اثر گذاری تمرین مقاومتی بر افزایش کارایی عصب حرکتی در عضلات تند انقباض فعال در تمرین بیان شده که از مهمترین آن‌ها عبارتند از؛ افزایش محتوای کمی وزیکول‌ها با راه اندازی زنجیره سنگین میوزین و تولید نوتروفین‌ها از پایانه عصبی انتهای تار عضلات(۱۸) و استراحت کوتاه بین ست‌های شدید تمرین بعد از برانگیختگی عصب حرکتی در بکارگیری تار نوع II (۱۹) و نیز افزایش متابولیت‌های سلولی با تولید هورمون رشد GH، فاکتور رشد شبه انسولین IGF-1 و تستوسترون ارتباط دارد(۱۵) و با راه اندازی مسیر اولیه هایپرتروفی موجب افزایش قدرت می-شود(۱۹). همچنین به حجم عضلات مورد استفاده در تمرین نیز در ایجاد پاسخ‌های سازگاری به نوع یا شدت تمرین توجه می‌شود(۱۸)، زیرا با فراخوانی واحدهای حرکتی بزرگتر تجمع مواد متابولیکی از جمله آدنوزین و اسیدلاکتیک همراه با آسیب‌های بافتی پاسخ آندوکراین بالاتری صادر می‌کند(۱۵) که محرک مسیر اولیه سازگاری عصبی به عنوان مقدمه‌ای بر سازگاری عضلانی در ایجاد هایپرپلازی و سپس هایپرتروفی می‌باشد(۲۷). همینطور مکانیسم افزایش در تولید Ca^{++} و افزایش در راه اندازی و عملکرد

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

کالمودولین II باعث فعال شدن AMPK[1] و ERK1/2[2] می‌شود(۲۸). این مسیر تولید و ترشح فاکتور میوژنین Murf-1[3] و آنژیوژنین Ang-1 را به عنوان دو فاکتور مهم تجزیه‌گر پروتئین، مهار می‌کند و با ایجاد سازگاری عصبی بر افزایش قدرت اثرگذار است(۲۹). از طرف دیگر اولین سازگاری‌های عصبی در پیوستگاه عصبی عضلانی به دلیل تغییرات پس ترجمه‌ای ورود یون Na^+ در همکاری با کلسیم و افزایش بکارگیری واحدهای حرکتی Y در حین انقباضات مکرر موجب پیشگیری از ضعف عضلانی و افزایش در تولید نیرو می‌گردد(۱۷). از این رو تمرین مقاومتی مانند وزنه برداری باعث گسترش اجزاء پیش و پس سیناپسی در اتصالات عصبی می‌شود زیرا در انقباض و تولید نیرو با بکارگیری تارهای تند انقباض در افزایش عملکرد استیل کولین و در زمان ریکاوری با مصرف متابولیت‌های تولید شده توسط عضلات فعال حین تمرین و عملکرد عضلات غیر فعال در زمان ریکاوری و تولید استیل کولین استراز فضای پیش سیناپسی را گسترش می‌دهد(۳۰). تستوسترون با تاثیر برگیرنده‌های LH و FSH موجب سنتز هورمون رشد می‌شود و بر افزایش قدرت تاثیر می‌گذارد(۲۶). در رابطه با تاثیر آنابولیکی گرده خرما به دلیل وجود ترکیبات استرولی ساپونین و اسیدهای آمینه موجود در آن آنزیم ۵ آلفا ردوکتاز را مهار می‌کند و از تولید دی هیدروکسی تستوسترون پیشگیری می‌کند و در تبدیل آندروژن به استروژن قدرت را افزایش می‌دهد(۲۳). از طرف دیگر افزایش تولید تستوسترون از طریق بیوسنتز ۱۷ بتا هیدروکسی استروئید 17β- HSD متابولیسم استروئیدها را افزایش می‌دهد و بر قدرت عضله نیز مؤثر است(۳۱). همچنین مواد موثره عصاره گرده خرما به دلیل وجود آلکالوئید، کربوهیدرات، تانن و مواد معدنی مختلف بر بهبود متابولیسم سلولی دارای فعالیت ضد موتاژنی است و باعث تنظیم بیان ژن می‌شود(۲۳). از طرفی تمرین قدرتی محرک تولید مسیرهای آنابولیکی است(۱۹) و این کار را با دخالت مسیر هایپرتروفی در ایجاد آسیب در منطقه Z در ناحیه سارکومر به دلیل لغزش فیلامان‌های آکتین و میوزین در حین انقباضات مکرر در تحمل فشار وزنه و فعال شدن پروتئازها، افزایش آنزیم‌های فسفولیپازی AKT/PI3K و برانگیختگی عصبی در عضلات فعال میسر می‌سازد(۱۶). در رابطه با تاثیر تعاملی تمرین قدرتی و دریافت مکمل بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیرات HMB، نتایج مطالعه‌ای نشان داد، این مکمل در موش‌های پیر و جوان تاثیری بر آروماتازها و افزایش قدرت عضله ندارد و اثر خود را بر عملکرد اعصاب محیطی ایجاد می‌کند(۳۲). در مقایسه اثر ۴هفته تمرین شنای اجباری به مدت ۳۰ دقیقه با تمرین اختیاری بر روی نوار گردان در موش‌های مبتلا به MS سنتز پروتئین NCAM-PAS در الیگودندریت عضله سولئوس موش افزایش معناداری مشاهده شد و بر بهبود عملکرد عصبی موثر بود(۳۳). درحالیکه در مطالعه دیگری ورزش اجباری در موش‌های مدل انسداد عصب باعث افزایش در بیان پروتئین NCAM و افزایش اندازه سیناپس در ناحیه اتصال عصب در عضله دوقلوی موش صحرائی شد(۱۰). برطبق نتایج مطالعه‌ای داد۱۲ هفته تمرین هوازی بر روی تردمیل بر توزیع مقادیر گیرنده‌های استیل کولینα در اتصال عصبی- عضلانی تاثیری ایجاد نشد(۳۴). در مقایسه شدت تمرین ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، تمرین استقامتی و تمرین ترکیبی (قدرتی- استقامتی) اجرای تمرین ترکیبی افزایش بالاتری بر تعداد گیرنده‌های استیل کولین ACh در تارهای تند و کند انقباض نسبت به دو نوع تمرین دیگر ایجاد کرد که از دلایل آن افزایش عملکرد گیرنده‌های کلسی‌تونین CGPR[4] در انتهای صفحه محرکه تار عضله فعال در انقباض عنوان شد(۳۵). سوخو و همکاران(۲۰۰۳) نیز در بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین قدرتی روی نردبان دارای ۲۶ پله با عمود ۸۵ درجه و اجرای۵ روز در هفته، در هفته اول با وزنه ۳۰ درصدی وزن آغاز و به ۲۰۰ درصد وزن بدن در هفته آخر رسید، تفاوتی در توده عضلات نعلی و دوقلو مشاهده نشد درحالیکه حجم عضله خم کننده انگشتان پا افزایش معناداری نشان داد(۱۹). همچنین با انجام ۴ هفته تمرین HIIT و ۵ جلسه در هفته بیان ژن Semaphorine-a3 در عضلات طویل انگشتان پای موش پیر کاهش یافت. که از دلایل آن بکارگیری تارهای تند انقباض در اجرای تناوب‌های شدید عنوان شد(۳۶). طبق یافته‌های بدست آمده از مطالعه حاضر۴ هفته تمرین مقاومتی فزاینده همراه با عصاره گرده نر نخل خرما موجب کاهش در بیان ژن‌های CHRN-G و Semaphorin-a3 و تمرین با تستوسترون تنها بر کاهش CHRN-G اثر گذار بود. بر این اساس احتمالا مصرف عصاره گرده نر نخل خرما اثر تمرین را بر تنظیم بیان ژن در فضای پیش سیناپسی تقویت کرده و بر بهبود عملکرد عصبی – عضلانی مؤثر است. در مکانیسم احتمالی مشترک تمرین با عصاره بر پیشگیری از جهش ژن و بهبود متابولیسم سلول می‌توان به این موارد اشاره کرد: تمرین قدرتی از طریق راه اندازی مسیر کلسیم و اتصال آن به CAMK-II(۲۸) باعث تولید و رهایش پروتئین تیروزین کیناز IGF-1/AKT شده، محرک مسیرهای آنابولیک می‌شود(۱۵). ترکیبات اسیدآمینه‌ای و مواد معدنی موجود در عصاره نخل خرما در راه اندازی مسیر بتا هیدروکسی استروئید قدرت را افزایش می‌دهد(۲۳). اما در مطالعه حاضر تمرین و مداخله عصاره در مقدار وزن آزمودنی‌ها تغییری ایجاد نکرد. همینطور تمرین، مکمل و تستوسترون به تنهایی بر بیان ژن‌های مذکور تفاوتی ایجاد نکردند. که از دلایل آن می‌توان به سطح سلامت آزمودنی‌ها و طول دوره تمرین اشاره کرد(۲۴). که از دلایل آن به توان به طول دوره تمرین اشاره کرد. طبق مطالعات انجام شده فعالیت ورزشی که از شدت مناسبی برخوردار باشد(۱۵) می‌تواند نیروی عضلانی بیشتری را از راه برانگیختگی واحدهای حرکتی بزرگتر با یک انقباض ویژه ایجاد کند (۱۳) و به وسیله متابولیسم سلولی بالاتر عامل تنظیم‌گری در بیان ژن باشد(۳۶). با توجه به مطالب عنوان شده در خصوص تاثیر تمرین مقاومتی در بهبود عملکرد عصبی-عضلانی هنوز به مطالعات بیشتری نیاز است تا به نتایج دقیق‌تری در این زمینه دست یابیم. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم دسترسی به نمونه‌های انسانی اشاره

[1] -Activated protein kinase
[2] - Extracellular- signal Regulated protein kinase
[3] - Muscle Ring- finger protein-1
[4]- Calcitonin- Gene related peptide

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

کرد. محدودیت دیگر عدم استفاده از روش وسترن بلات برای اطمینان از سنتز پروتئین ژن‌های مذکور و نیز عدم استفاده از الکترومیوگرافی در بررسی عملکرد عصبی عضلانی است که از دلایل آن‌ها کمبود بودجه پژوهش می‌باشد.

به نظر می‌رسد که احتمالا ۴ هفته تمرین مقاومتی فزاینده با مصرف عصاره گرده نر نخل خرما با کاهش در بیان ژن‌های CHRN-G و Semaphorine-a3 در فضای پیش سیناپسی، می‌تواند عملکرد عصبی عضلانی را بهبود دهد. با اینحال جهت بدست آوردن نتایج قطعی‌تر به مطالعات گسترده‌تری نیاز است.

پیشنهادات

پیشنهاد می شود در مطالعات آینده طول مدت مصرف عصاره با انجام تمرین در شدت و مدت‌های مختلف بررسی گردد.

تشکر و قدردانی

با توجه به اینکه مقاله حاضر مستخرج از رساله مقطع دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی است، بدین وسیله از حمایت‌های معنوی معاونت پژوهش و فناوری واحد دانشگاهی مذکور تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع وجود ندارد.

References

1. Kraemer WJ, Spiering BA. Skeletal muscle physiology: plasticity and responses to exercise. Hormone Research in Paediatrics. 2006;66(Suppl. 1):2-16.

2. Koulmann N, Bigard A-X. Interaction between signalling pathways involved in skeletal muscle responses to endurance exercise. Pflügers Archiv. 2006;452(2):125-39.

3. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. Nature Reviews Immunology. 2015;15(9):545-58.

4. Aagaard P, Suetta C, Caserotti P, Magnusson SP, Kjær M. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 2010;20(1):49-64.

5. Suzuki T, Do M-KQ, Sato Y, Ojima K, Hara M, Mizunoya W, et al. Comparative analysis of semaphorin 3A in soleus and EDL muscle satellite cells in vitro toward understanding its role in modulating myogenin expression. The international journal of biochemistry & cell biology. 2013;45(2):476-82.

6. Bussolino F, Valdembri D, Caccavari F, Serini G. Semaphoring vascular morphogenesis. Endothelium. 2006;13(2):81-91.

7. Pumplin DW, Reese T, Llinas R. Are the presynaptic membrane particles the calcium channels? Proceedings of the National Academy of Sciences. 1981;78(11):7210-3.

8. Svensson A, Libelius R, Tågerud S. Semaphorin 6C expression in innervated and denervated skeletal muscle. Journal of molecular histology. 2008;39(1):5-13.

9. Hoffmann K, Müller JS, Stricker S, Megarbane A, Rajab A, Lindner TH, et al. Escobar syndrome is a prenatal myasthenia caused by disruption of the acetylcholine receptor fetal γ subunit. The American Journal of Human Genetics. 2006;79(2):303-12.

10. Deschenes MR, Roby MA, Eason MK, Harris MB. Remodeling of the neuromuscular junction precedes sarcopenia related alterations in myofibers. Experimental gerontology. 2010;45(5):389-93.

11. Harridge SD. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. Experimental physiology. 2007;92(5):783-97.

12. Venkova K, Christov A, Kamaluddin Z, Kobalka P, Siddiqui S, Hensley K. Semaphorin 3A signaling through neuropilin-1 is an early trigger for distal axonopathy in the SOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology. 2014;73(7):702-13.

13. Gyorkos AM, McCullough MJ, Spitsbergen JM. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression and NMJ plasticity in skeletal muscle following endurance exercise. Neuroscience. 2014;257:111-8.

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

14. Smith MB, Mulligan N. Peripheral neuropathies and exercise. Topics in Geriatric Rehabilitation. 2014;30(2):131-47.
15. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2011.
16. GHARAKHANLOU R. INCREASED ACTIVITY IN THE FORM OF ENDURANCE TRAINIG INCREASES CALCITONIN GENE-RELATED PEPTIDE CONTENT IN LUMBAR MOTONEURON CELL BODIES IN THE RAT. 2002.
17. Maffiuletti NA, Zory R, Miotti D, Pellegrino MA, Jubeau M, Bottinelli R. Neuromuscular adaptations to electrostimulation resistance training. American journal of physical medicine & rehabilitation. 2006;85(2):167-75.
18. Gardiner PF. Neuromuscular aspects of physical activity: Human Kinetics; 2001.
19. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. Journal of Exercise physiology online. 2003;6(2).
20. Liang K-W, Lee W-J, Lee W-L, Lin S-Y, Hsu S-L, Wan C-J, et al. Persistent elevation of paraoxonase-1 specific enzyme activity after weight reduction in obese non-diabetic men with metabolic syndrome. Clinica Chimica Acta. 2011;412(19-20):1835-41.
21. El Arem A, Lahouar L, Saafi EB, Thouri A, Ghrairi F, Houas Z, et al. Dichloroacetic acid-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of date fruit extract. BMC Pharmacology and Toxicology. 2017;18(1):1-9.
22. Bahmanpour S, PANJEH SM, Talaei T, Vojdani Z, POUST PA, Zareei S, et al. Effect of Phoenix dactylifera pollen on sperm parameters and reproductive system of adult male rats. 2006.
23. Maema LP, Potgieter M, Mahlo SM. Invasive alien plant species used for the treatment of various diseases in Limpopo Province, South Africa. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 2016;13(4):223-31.
24. Gil JH, Kim CK. Effects of different doses of leucine ingestion following eight weeks of resistance exercise on protein synthesis and hypertrophy of skeletal muscle in rats. Journal of exercise nutrition & biochemistry. 2015;19(1):31.
25. Jiheel M, Arrak J. Effect of different doses of ethanolic extract of date palm pollen grains on serum gonadotropin and total Glutathione in mature female rats. Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences. 2015;6(2).
26. Chodari L, Mohammadi M, Mohaddes G, Alipour MR, Ghorbanzade V, Dariushnejad H, et al. Testosterone and voluntary exercise, alone or together increase cardiac activation of AKT and ERK1/2 in diabetic rats. Arquivos brasileiros de cardiologia. 2016;107(6):532-41.
27. Scott BR, Slattery KM, Sculley DV, Dascombe BJ. Hypoxia and resistance exercise: a comparison of localized and systemic methods. Sports medicine. 2014;44(8):1037-54.
28. Su Y-H, Su Z, Zhang K, Yuan Q-K, Liu Q, Lv S, et al. The changes of p-Akt/MuRF1/FoxO1 proteins expressions in the conditions of training and immobilization in rats' gastrocnemius muscle. Sheng li xue bao:[Acta physiologica Sinica]. 2014;66(5):589-96.
29. Gundersen K. Excitation-transcription coupling in skeletal muscle: the molecular pathways of exercise. Biological Reviews. 2011;86(3):564-600.
30. Wilson MH, Deschenes MR. The neuromuscular junction: anatomical

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]

features and adaptations to various forms of increased, or decreased neuromuscular activity. International journal of neuroscience. 2005;115(6):803-28.
31. Voogt P, Den Besten P, Kusters G, Messing M. Effects of cadmium and zinc on steroid metabolism and steroid level in the sea star Asterias rubens L. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. 1987;86(1):83-9.
32. Kao M, Columbus DA, Suryawan A, Steinhoff-Wagner J, Hernandez-Garcia A, Nguyen HV, et al. Enteral β-hydroxy-β-methylbutyrate supplementation increases protein synthesis in skeletal muscle of neonatal pigs. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2016;310(11):E1072-E84.
33. Torabimehr F, Kordi MR, Nouri R, Ai J, Bakhtiari Moghadam B, Shirian S. The Effect of Voluntary and Forced Exercise on the Expression Level of NCAM-PSA Protein in the Neuromuscular Junction of Soleus Muscle in a Mice Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Model. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2020:0-.
34. Fahim MA. Endurance exercise modulates neuromuscular junction of C57BL/6NNia aging mice. Journal of applied physiology. 1997;83(1):59-66.
35. Ciobica A, Popescu R, Haulica I, Bild W. Aspects regarding the neurobiology of psycho-affective functions. Journal of Medical Biochemistry. 2012;31(2):83-7.

[Downloaded from islamiclifej.com on 2023-12-17]