

پاسخ ژن‌های TrKB و FNDC5 و پروتئین SG6K1 به فعالیت مقاومتی اکستریک و کانستریک در مردان جوان

چکیده

زمینه: هدف از پژوهش حاضر بررسی بیان ژن‌های TrKB و FNDC5 و پروتئین SG6K1 در پاسخ به تمرینات مقاومتی اکستریک و کانستریک در مردان سالم بود.

روش کار: در یک کارآزمایی میدانی ۱۰ مرد سالم بصورت تصادفی در دو گروه انقباض کانستریک و اکستریک، در هر گروه ۵ نفر قرار گرفتند. پروتکل‌های انقباض آیزوکینتیک شامل اکستریک و کانستریک اکستنشن زانو با حداکثر قدرت و سرعت زاویه‌ای ۶۰ درجه بر ثانیه بود. گشتاورهای تعیین شده برای هر آزمودنی به منظور همسان سازی بارکاری در هر دو پروتکل یکسان در نظر گرفته شد و سرعت رفت و برگشت ۶۰ درجه بر ثانیه بود. در ابتدا و انتهای فعالیت از بافت عضله پهن جانبی برای بررسی بیان ژن‌های TrKB و FNDC5، و میزان پروتئین SG6K1 نمونه‌برداری انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، تغییرات درون گروهی TrKB و FNDC5، در گروه اکستریک و کانستریک معنادار نبود ($p \geq 0/05$). باینحال تغییرات درون گروهی پروتئین SG6K1 بعد از یک جلسه فعالیت، در گروه اکستریک و گروه کانستریک معنادار بود ($p \leq 0/05$). و نیز تغییرات بین گروهی در مرحله پس آزمون در هیچ یک از متغیرها، نشان دهنده تفاوت معنادار بین دو گروه نبود ($p \geq 0/05$).

نتیجه‌گیری: درمجموع مطالعه حاضر نشان داد یک جلسه فعالیت اکستریک و کانستریک منجر به تغییر فاکتورهای درگیر در قدرت و هایپرتروفی عضلات اسکلتی می‌شود. علاوه براین، این تغییرات در مجموع در انقباض اکستریک بیش از کانستریک بود. بر این اساس، می‌توان توصیه نمود، جهت افزایش هایپرتروفی و قدرت عضلانی تمرکز بیشتری بر تمرینات کانستریک شود.

واژگان کلیدی: انقباض اکستریک، انقباض کانستریک، پروتئین SG6K1، ژن FNDC5، ژن TrKB

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

^۲ استاد گروه فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

^۳ دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

^۴ استادیار گروه فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:

گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

نشانی الکترونیک:

m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

مقدمه

(۱) یا فاکتور رشد مکانیکی (MGF^1) در عضله می‌باشد که متعاقباً منجر به فعال شدن یک آبشار سیگنالینگ در سلول می‌شود که به ترتیب شامل فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز ($PI3K^2$)، کیناز ۱ وابسته به فسفوانوسیتید ($PDK1^3$)، کیناز ۲ وابسته به فسفوانوسیتید ($PDK2^4$) و AKT می‌باشد. بعد از این مرحله AKT باعث بهبود فعالیت دو مسیر mTOR و گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا ($GSK3-B^5$) می‌شود. که نقش کلیدی در مسیر هایپر تروفی عضله اسکلتی در پاسخ به تمرینات قدرتی دارند (۱۲). بعد از فسفریله شدن mTOR، PV0s6k که محرک سنتز پروتئین است، فسفریله می‌شود. از طرف دیگر عامل‌های مهارى رشد عضله یعنی 4e-BPI و $EIF2^6$ مهار می‌شوند. در همین راستا نعمتی و همکاران تأثیر اجرای یک دوره تمرین مقاومتی بر مسیر پیام رسانی p70 و mTOR در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که هایپر تروفی ناشی از تمرین مقاومتی با افزایش فسفریلاسیون p70 و mTOR همراه است (۱۳).

ژن FNDC5 که با نام دیگر پروتئین پروکسی زومی (PEP^8) شناخته شده است، پروتئین پراکسی زومی با نام دیگر Fibronectin typeIII domain 5 نیز شناخته شده می‌باشد. مشاهدات ابتدایی نشان داد که بیان ژن PEP به تدریج در بافت قلب جنین موش افزایش می‌یابد و در بافت قلب موش بالغ به حداکثر بیان خود می‌رسد. فعالیت بدنی منجر به افزایش بیان ژن $PGC1\alpha$ می‌شود. $PGC1\alpha$ سبب افزایش بیان ژن PEP در عضله و ترشح محصولی از سلول‌های عضله‌ای به نام آیریزین، درون خون می‌شود. ژن PEP در سال ۲۰۰۲ توسط فرر مارتینز و همکاران کلون شد و نشان داد، در بافت‌های نظیر قلب، ماهیچه اسکلتی و مغز بالا بوده است (۱۴). در انسان ژن FNDC5 به طور عمده در عضلات بیان می‌شود و به دنبال آن سطوح آیریزین در گردش مشاهده شده است. سطوح کاهش یافته آیریزین در گردش و کاهش بیان PEP ژن در بافت چربی و عضله بیماران بسیار چاق و دیابت نوع دو، کاهش ویژگی‌های بافت چربی قهوه‌ای را نشان می‌دهد و به عنوان راهکار درمانی در نظر گرفته می‌شود (۱۵). از طرفی امروزه نقش دستکاری نوع انقباض عضلانی در تمرینات مقاومتی نیز مسئله مهمی تلقی می‌شود، زیرا اکثر برنامه‌های تمرینی و بازتوانی شامل هر دو انقباض کانستریک و اکستریک طی هر تکرار می‌باشند (۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت اکستریک از نظر متابولیک در سطح پایبندی از فعالیت کانستریک است، اما همواره منجر به آسیب بیشتر تارعضلانی و پاسخ‌های التهابی بیشتر می‌شود (۱۷). هورتوباگی و

تغییر ساختار عضله اسکلتی ناشی از افزایش سطح مقطع عضله اسکلتی به وسیله بیوسنتز ساختارهای جدید درگیر در انقباض عضلانی است که به عنوان یکی از تغییرات اصلی عضله در نتیجه تمرینات ورزشی شناخته شده است (۱). توسعه تکنیک‌های زیست شناسی مولکولی به پیشرفته‌ای عمده در درک مسیر های سیگنالینگ داخل سلولی مسئول تنظیم تغییرات عضلات اسکلتی و سازگاری آنها با انواع مختلف تمرینات کمک کرده است. بعلاوه، چندین مطالعه به تازگی منتشر شده است که به این موضوع با جزئیات بیشتری پرداخته است (۱و۲). سنتز واحدهای انقباضی جدید بوسیله فرآیندهای شناخته شده انجام می‌شود و مطالعات در مورد جریان ژن نشان داده است که این امر با حفظ و بازسازی تکرار DNA، از طریق سنتز و پردازش RNA (رونویسی) آغاز می‌شود و با سنتز و پردازش تنظیمات پروتئین‌ها (ترجمه) ادامه می‌یابد (۱).

فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز به عنوان مهمترین عامل تنظیم کننده تفکیک نورون‌ها، شکل‌پذیری سیناپسی و روند مرگ سلولی معرفی شده است (۳). فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز با وجود نامش، فقط در مغز وجود ندارد، بلکه در انواع بافت‌ها و سلول‌ها از جمله شبکیه چشم، کلیه‌ها و پروستات نیز بیان می‌شود (۴). رفتارها و چگونگی سبک زندگی ما بر میزان بیان فاکتور رشدی BDNF در مغز تأثیر می‌گذارد و تجربیات توأم با سلامت عاطفی مانند فعالیت ورزشی، در محیط‌های غنی شده به افزایش سطح این نوروتروفین مهم، منجر می‌شوند (۵). در همین راستا نشان داده شده است که موش‌های صحرایی تمرین کرده مقادیر بالاتری از BDNF را در مقایسه با موش‌های غیرفعال داشته‌اند (۶). علاوه بر این، مطالعات پیشین بیان کرده‌اند، افزایش سطوح BDNF به شدت (۷)، مدت (۸) و تواتر (۹) فعالیت وابسته است. نوروتروفین‌ها، از طریق دو نوع گیرنده سطح سلولی تیروزین کینازی B (TrkB) و گیرنده نوروتروفینی p75 عملکردهای خود را انجام می‌دهند. لیگاند BDNF گرایش بالایی به گیرنده Trkb خود دارد. با این حال، این لیگاند گرایش پائینی نیز به گیرنده p75 دارد (۱۰). مطالعات نشان داده‌اند که BDNF نابالغ ترجیحاً به گیرنده p75 واکنش می‌دهد، درحالی‌که BDNF بالغ بطور اختصاصی به گیرنده TrkB متصل می‌شود (۱۰).

یکی از محرک‌های اصلی فعال سازی مسیر mTOR، فشار و بار مکانیکی وارد شده به عضله است. عوامل رشدی، مواد مغذی، هورمون‌ها و سایتوکین‌ها از دیگر محرک‌های مسیر mTOR هستند. تمرین ورزشی از نوع مقاومتی - قدرتی با تحریک مکانیکی همراه است که این تحریک یک عامل بسیار قوی برای افزایش توده عضله اسکلتی است (۱۱). این افزایش به دلیل ترشح فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-

1. Insulin-like growth factor

۲. Mechano growth factor

۳. Phosphoinositide 3-kinase

۴. Phosphoinositid Dependent Kinase1

۵. Phosphoinositid Dependent Kinase2

۶. Glycogen synthase kinase 3

۷. Eukaryotic translation Initiation Factor 4E

۸. Peroxisomal Protein

پروتکل فعالیت کانستریک و اکستریک

آزمودنی‌ها در هر جلسه ابتدا پس از مراجعه به آزمایشگاه به مدت ۱۰ دقیقه به حالت نشسته استراحت کردند و مراحل کار بار دیگر برای آنها به منظور اطمینان از درک آنها از نحوه اجرای تمرین مرور شد. پس از آن آزمودنی بر روی صندلی دینامومتر نشسته و تنظیمات برای آماده سازی دستگاه صورت گرفت. این تنظیمات شامل جهت-گیری دینامومتر ۹۰ درجه، تیلت دینامومتر. درجه، جهت گیری صندلی ۹۰ درجه، تیلت پشتی صندلی ۸۵ درجه، دامنه حرکت ۰ تا ۹۰ درجه و محور چرخش دینامومتر در صفحه ساجیتال در راستای خطی که از کندیل خارجی محور می‌گذرد، انتخاب شد. گرم کردن اختصاصی با سیستم آیزوکینتیک شامل ۲ ست ۵ تایی و زمان استراحت بین هر ست ۳۰ ثانیه بود. آزمودنی‌ها سپس یکی از دو پروتکل مختلف انقباض عضلانی آیزوکینتیک که از قبل و به صورت تصادفی برای آنها تعیین شده بود را با پای راست اجرا کردند. پس از اتمام فعالیت پای تمرین کرده بدون هیچ فشاری تا زمان انجام نمونه‌برداری Bi-opsy ثابت نگاه داشته شد. نمونه‌برداری از هر آزمودنی ۳ تا ۴ ساعت پس از اتمام پروتکل تمرینی انجام شد. طی اجرای پروتکل در انتهای هر ست میزان درک فشار با استفاده از مقیاس ۲۰ نمره ای بورگ (RPE) تعیین گردید. مقیاس بورگ همبستگی بالایی با میزان ضربان قلب، میزان تنفس و تجمع اسید لاکتیک دارد و یکی از راه‌های تعیین شدت فعالیت بدنی می‌باشد. از آزمودنی‌ها خواسته شد که پس از اتمام هر ست عدد مربوط به مقیاس بورگ را اعلام کنند. زمانیکه آزمودنی عدد ۲۰ را اعلام می‌کرد با تشویق کلامی ۲ ست دیگر تمرین ادامه پیدا می‌کرد و هنگامی که توانایی اجرای کامل پروتکل توسط آزمودنی وجود نداشت، تمرین متوقف می‌شد. پروتکل‌های انقباض آیزوکینتیک شامل اکستریک و کانستریک اکستنشن زانو با حداکثر قدرت و سرعت زاویه‌ای ۶۰ درجه بر ثانیه بود. گشتاورهای تعیین شده برای هر آزمودنی به منظور همسان سازی بارکاری در هر دو پروتکل یکسان در نظر گرفته شد و سرعت رفت و برگشت ۶۰ درجه بر ثانیه بود. انقباض‌ها شامل حداکثر ۱۲ ست، ۱۰ تکراری برای پای راست، زمان استراحت بین هر ست ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد. بدیهی است که زمان اجرای تمرینات اکستریک بیشتر از تمرینات کانستریک بود.

جدول ۲- پروتکل تمرین در گروه‌های اکستریک و کانستریک

گروه	تعداد ست	تعداد حرکت	استراحت بین ست
اکستریک	حداکثر ۱۲ ست	۱۰ تکرار	۳۰ ثانیه استراحت بین ست‌ها با سرعت پایین
کانستریک	حداکثر ۱۲ ست	۱۰ تکرار	۳۰ ثانیه استراحت بین ست‌ها با سرعت بالا

همکاران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که فعالیت‌های برون‌گرا به دورنگرا سازگاری‌های بیشتری ایجاد می‌کنند (۱۸) در صورتی که کی و همکاران در تحقیق خود به سازگاری‌های عصبی یکسانی در هر دو نوع تمرین دست یافتند (۱۹). با توجه به این داده‌ها، نقش بالقوه TrKB و FNDC5 و پروتئین SG6K1 در تنظیم توده عضلانی اسکلتی انسانی و سازگاری‌های قدرت در پاسخ به تمرینات مقاومتی مورد توجه قرار دارد. بنابراین پژوهش حاضر به بررسی بیان ژن‌های TrKB و FNDC5 و پروتئین SG6K1 در پاسخ به تمرینات اکستریک و کانستریک می‌پردازد.

روش کار آزمودنی‌ها

در یک کارآزمایی میدانی از بین مردان جوان سالم و فعال در دامنه‌ی سنی ۱۸ تا ۳۰ سال (افرادی که به منظور سلامت عمومی بدن و ارتقای ترکیب بدنی حداقل ۳ روز به صورت تفریحی تمرین مقاومتی انجام می‌دادند، ۱۰ مرد سالم بصورت تصادفی در هر یک از گروه‌ها (گروه کانستریک ۵ نفر و گروه اکستریک ۵ نفر) تقسیم شدند. به منظور تعیین سلامتی آزمودنی‌ها و به حداقل رساندن خطرهای مرتبط با سیستم قلبی عروقی از راهنمای سلامت کالج پزشکی ورزشی آمریکا (ACSM) استفاده شد. آزمودنی‌ها شش ماه قبل از شرکت در مطالعه عمل جراحی نداشته و در زمان مطالعه تحت درمان دارویی نبودند. همچنین کد اخلاق این پژوهش IR.UT.SPORT.REC.1397.029 که توسط دانشگاه تهران صادر و در سایت وزارت بهداشت جمهوری اسلامی ایران به ثبت رسیده است. پس از انتخاب آزمودنی‌ها، اهداف و اقدامات مطالعه برای آنان شرح داده شد و آنها فرم رضایت نامه شرکت در مطالعه را امضای نمودند. مشخصات آزمودنی‌ها در جدول یک ارائه شده است.

جدول ۱- مشخصات عمومی آزمودنی‌ها. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد

گروه‌ها	متغیر	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد
گروه فعالیت کانستریک گروه فعالیت اکستریک	وزن (کیلوگرم)	۷۱/۵۰ $\pm$ ۸/۱۶ ۷۲/۱۰ $\pm$ ۹/۶۱
گروه فعالیت کانستریک گروه فعالیت اکستریک	BMI (kg/m ²)	۲۳/۴۵ $\pm$ ۲/۲۶ ۲۴/۲۶ $\pm$ ۱/۹۷
گروه فعالیت کانستریک گروه فعالیت اکستریک	قد (سانتیمتر)	۱۷۸/۸۰ $\pm$ ۴/۲۶ ۱۷۶/۲۶ $\pm$ ۴/۶۷
گروه فعالیت کانستریک گروه فعالیت اکستریک	سن (سال)	۲۶/۷۶ $\pm$ ۳/۴۵ ۲۵/۱۵ $\pm$ ۲/۶۸

۹. American College of Sports Medicine (ACSM)

کل ۲۰ نمونه به دست آمد. نمونه‌های عضلانی در زمان پایه و ۳ تا ۴ ساعت پس از تمرین به دست آمد.

اندازه‌گیری بیان FNDC5، TrkB بافتی

برای بررسی بیان ژن‌های FNDC5، TrkB، در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک PCR Real Time استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن‌های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کبازول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل سیناژن استخراج شد و جهت اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض DNase I (Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNAهای استخراج شده با دستگاه اسپکترومتری (DPI-1, Kiagen) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر (Oligo dt MWG-Bio-) جهت تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر (tech, Germany) و آنزیم نسخه برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از SYBER Green و (PCR master mix (Applied Biosystems) دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequences Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۲۰ ثانیه، ۵۸-۶۰ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳).

نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول

$$R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$$

$$\Delta\Delta CT = (CT_{\text{target}} - CT_{\text{reference}})_{\text{Time X}} - (CT_{\text{target}} - CT_{\text{reference}})_{\text{Time 0}}$$

منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن با استفاده از حداقل ۵ غلظت لگاریتمی به ترتیب رقیق شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم گردید. میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta CT_{\text{target}}}}{(E_{\text{reference}})^{\Delta CT_{\text{reference}}}}$$

$$\begin{aligned} (\Delta CT_{\text{reference}} = CT_{\text{control}} - CT_{\text{treatment}}) \Delta CT_{\text{target}} \\ = CT_{\text{control}} - CT_{\text{treatment}} \end{aligned}$$



شکل ۱: آزمودنی در حال اجرای پروتکل تمرینی

نمونه برداری بافت عضله

در ابتدا و انتهای مطالعه از بافت عضله پهن جانبی نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌برداری در دو جهت دیستال و پروگزیمال عضله پهن جانبی انجام شد. نمونه در شرایط پایه برای بار اول و ۳ تا ۴ ساعت پس از انجام تمرین در شرایط کاملاً استریلیزه و در بیمارستان فوق تخصصی بقیه الله و توسط فوق تخصص جراحی ارتوپد انجام شد (۲۰). نمونه‌های عضلانی پوستی (۱۵ تا ۲۰ میلی گرم) از قسمت میانی عضله پهن جانبی در نقطه میانی بین کشکک و تروکانتر بزرگتر ران در یک عمق بین ۱ تا ۲ سانتی متر بر اساس روش‌های قبلاً تأیید شده به دست آمد. برای تمامی آزمودنی‌ها از پای راست استفاده شد. ناحیه بیوپسی تمیز شده و موهای پا در آن ناحیه کاملاً برداشته شد و با صابون ضد عفونی شسته و با الکل ضد عفونی شد. علاوه بر این، مکان بیوپسی با سم زدایی نیز با بتادین (آنتی سپتیک مایع) ضد عفونی شد. یک ناحیه کوچک از پوست تمیز شده، تقریباً ۲ سانتی متر قطر، با یک تزریق زیر جلدی ۰/۱ میلی لیتر موضعی لیدوکائین بی حس شد. پس از بی‌حسی، یک نمونه بیوپسی آسپیراسیون سوزنی با اندازه ۱۶ اینچی (Tru-Core I Biopsy Instru-) در عمق تقریبی ۱ سانتی متر برای استخراج نمونه عضلانی قرار گرفت. پس از بیوپسی اولیه، بیوپسی بعدی، با استفاده از نشانه‌های پیش بیوپسی و نشانه‌های عمق روی سوزن، بافت عضلانی را از تقریباً همان مکان اولیه استخراج شد. پس از استخراج عضله، بافت چربی از نمونه‌های عضلانی برداشته شد. نمونه‌ها بلافاصله در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی گراد ذخیره شدند. در هر یک از دو جلسه آزمون، دو نمونه عضلانی به دست آمد که مجموعاً ۱۰ نمونه عضلانی طی دوره مطالعه برای هر گروه و در

در فرمول فوق E معرف Efficiency است و با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای ژن به دست می آید.

جدول ۳: توالی پرایمرهای استفاده شده در تکنیک PCR Real Time

Gene	Forward/ Reverse	Primer (5' 3')
TrkB	F	TCTCCAACCTCATACCACCACT
	R	CTCATCCTTCCCATACTCATTCT
FNDC5	F	CAGCCATTGTCACTACTGGCC
	R	GGGAGAGAGAGAGGGAGAAGGAG
hGAP	F	GCA GGG ATG ATG TTC TGG
	R	CTT TGG TAT CGT GGA AGG AC

اندازه گیری بیان پروتئین SG6K1 بافتی

برای اندازه گیری بیان پروتئین SG6K1 بافتی از روش ایمونوسیتوشیمی (ICC) استفاده شد. به طور کلی این روش برای جابجایی یا تشخیص جایگاه زیر سلولی آنتی ژن ها یا پروتئین های ویژه با کمک آنتی بادی های برچسب دار به کار می رود که در آن کمپلکس آنتی ژن - آنتی بادی به وسیله مارکرهای آنزیمی و رنگ های فلوروسانسی و یا نشانگرهای رادیواکتیو آشکارسازی می شوند.

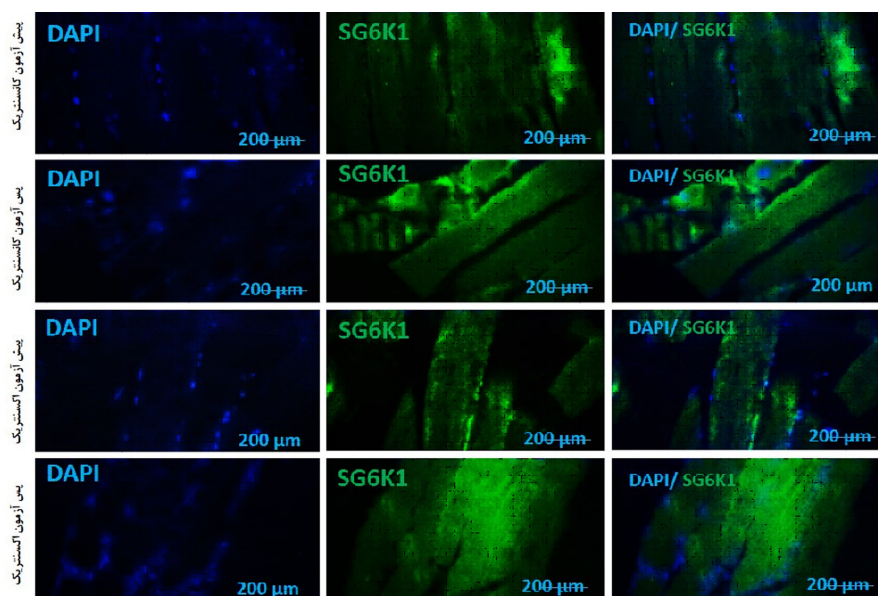
به این منظور سوسپانسیون سلولی بر روی لامل های ژلاتینه استریل کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت با PBS شست و شو داده شده و به مدت ۲۰ دقیقه با پارافمالدئید ۴ درصد در دمای یخچال فیکس شدند. لامل ها پس از شست و شو با PBS در اسید کلریدریک با نرمالیت ۲ به مدت بیست دقیقه در دمای محیط انکوبه شدند. لامل ها پس از شست و

شو با PBS در معرض تریتون ۰/۳ X-1002 درصد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند (تریتون غشای سلولی را به آنتی بادی ها نفوذ پذیر می کند). در مرحله بعد سرم بز ۱۰ درصد به مدت نیم ساعت به سلول ها اضافه شد. پروتئین های سرم بز باعث می شود که محل های غیر اختصاصی آنتی ژنی پوشیده شده و از واکنش غیر اختصاصی جلوگیری شود. سلول ها به مدت ۱ ساعت با آنتی بادی اولیه رقیق شده به نسبت ۱ به ۱۰۰ در PBS به مدت یک شب در دمای یخچال و در اتاقک مرطوب انکوبه شدند. استفاده از پارافیلیم و مرطوب نگه داشتن شرایط از خشک شدن آنتی بادی جلوگیری می کند. سپس دوبار با PBS شست و شو داده شدند و به مدت ۶۰ دقیقه در معرض آنتی بادی ثانویه کونژوگه با رقت ۱ به ۲۰۰ در تاریکی و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از ۳ بار شست و شو با PBS به منظور رنگ آمیزی هسته ها از PI یا DAPI استفاده شد و سپس با میکروسکوپ فلورسنت بررسی شدند.

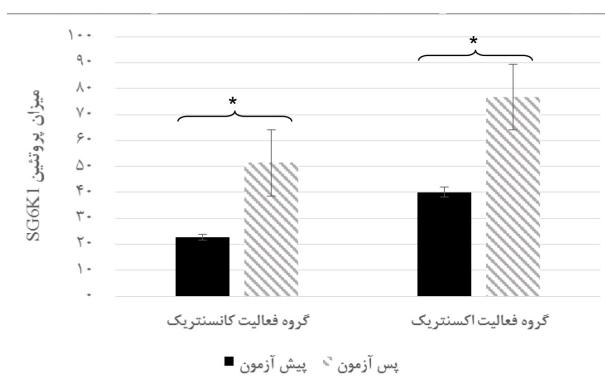
پس از جمع آوری داده ها برای تجزیه و تحلیل داده های این پژوهش از روش های آماری توصیفی و استنباطی استفاده شد. از آمار توصیفی برای محاسبه میانگین و انحراف استاندارد داده ها استفاده شد و از آمار استنباطی برای مقایسه گروه ها با هم استفاده شد. برای مقایسه دو گروه از آزمون کوواریانس استفاده گردید. برای تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

یافته ها

شکل ۲ و ۳ تغییرات مقادیر بیان پروتئین SG6K1 را در دو گروه فعالیت کانستریک و اکستریک نشان میدهد. نتایج تحلیل کوواریانس نشان داد که تفاوت معناداری در میزان بیان SG6K1 عضله پهن

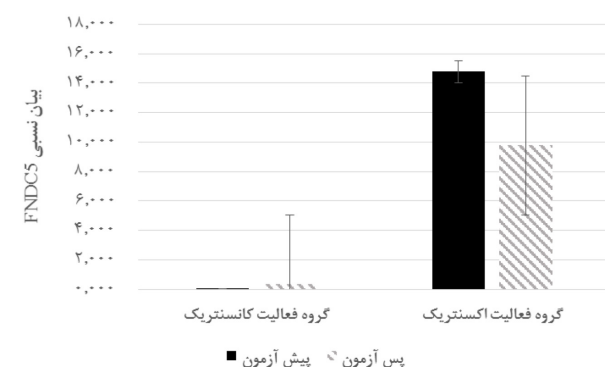


شکل ۲. نشان دادن مقادیر پروتئین SG6K1 در پیش آزمون و پس آزمون دو گروه در عضله پهن جانبی با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت.

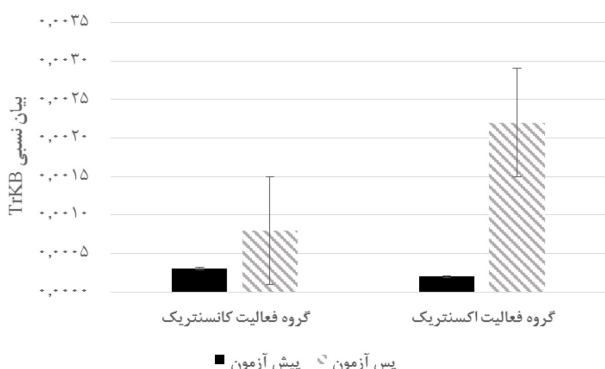


شکل ۳. مقادیر SG6K1 در پیش آزمون و پس آزمون دو گروه. مطابق با تحلیل آماری بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون SG6K1 گروه فعالیت کانستریک و گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود داشت ($P \leq 0/05$).

* تفاوت معنی‌دار پیش آزمون و پس آزمون ($P \leq 0/05$).



شکل ۴. مقادیر بیان نسبی FNDC5 در پیش آزمون و پس آزمون دو گروه. مطابق با تحلیل آماری بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون FNDC5 گروه فعالیت کانستریک و گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود نداشت ($P \geq 0/05$).



شکل ۵. مقادیر بیان نسبی TrkB در پیش آزمون و پس آزمون دو گروه. مطابق با تحلیل آماری بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون TrkB گروه فعالیت کانستریک و گروه فعالیت اکستریک تفاوت معنادار وجود نداشت ($P \geq 0/05$).

تار بستگی دارد (۱۳). در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات مقاومتی با انقباضات اکستریک و کانستریک می‌تواند از طریق فعالسازی مسیر AKT/PI3K منجر به افزایش فعالیت mTOR شود. از آنجائیکه که مسیر سیگنالینگ mTOR برای هایپرتروفی ناشی از تمرینات مقاومتی لازم می‌باشد، بنابراین نتایج مطالعه حاضر و همچنین مطالعات آتی باید در جهت بررسی تغییرات این مسیر در مدت

جانبی گروه‌های تحقیقی مشاهده نشد ($F=4/156$ و $P=0/134$). همچنین بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون SG6K1 گروه فعالیت کانستریک ($P=0/008$) و گروه فعالیت اکستریک ($P=0/020$) تفاوت معنادار وجود داشت.

نتایج تحلیل کوواریانس نشان داد که تفاوت معناداری در میزان بیان ژن FNDC5 عضله پهن جانبی بین گروه‌های تحقیقی مشاهده نشد ($F=4/738$ و $p=0/066$). همچنین بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون FNDC5 گروه فعالیت کانستریک ($P=0/186$) و گروه فعالیت اکستریک ($P=0/677$) تفاوت معنادار وجود نداشت (شکل ۴).

همچنین نتایج نشان داد، بیان TrkB عضله پهن جانبی تفاوت معناداری را در مقادیر پس آزمون گروه های تمرینی (اکستریک و کانستریک) نشان نداد ($F=3/963$ و $P=0/087$). همچنین بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون TrkB گروه فعالیت کانستریک ($P=0/165$) و گروه فعالیت اکستریک ($P=0/141$) تفاوت معنادار وجود نداشت (شکل ۵).

بحث

در این مطالعه افزایش معنادار بیان SG6K1 مشاهده گردید. پروتئین SG6K1 توسط ژن RPS6KB1 کدگذاری می‌شود اما بر اساس جستجوهای انجام شده، تحقیقی در زمینه تأثیرات تمرینات ورزشی بر بیان RPS6KB1 مشاهده نگردید. احتمالاً در این مطالعه انقباض اکستریک منجر به افزایش بیان RPS6KB1 شده است و در ادامه بیان SG6K1 افزایش پیدا کرده است. این یافته‌ها موافق با مطالعه گودمن و همکاران می‌باشد. در آن مطالعه از حذف عضلات کمکی برای ایجاد فشار مکانیکی استفاده کرده بودند، در حالیکه در این مطالعه، با افزایش فشار مکانیکی از طریق انقباض اکستریک موجب افزایش ۴۰ درصدی محتوای بیان این پروتئین شد (۲۱).

همچنین شرافتی مقدم و همکاران به بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های P70S6K1 در عضله اسکلتی نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداختند. یافته‌ها نشان داد که میزان در P70S6K1 تفاوت معنی‌داری بین دو گروه، مشاهده نشد (۲۲). همچنین نعمتی و همکاران به بررسی تعیین تأثیر اجرای یک دوره تمرین مقاومتی بر بیان پروتئین p70s6k به عنوان تنظیم‌گر اصلی هایپرتروفی در عضله خم کننده طویل انگشتان پا (FHL) موش‌های صحرایی نر سالم پرداختند. نتایج نشان داد، اجرای تمرین مقاومتی موجب افزایش معنادار شکل فسفریله پروتئین‌های p70s6k گردید. اما موجب افزایش معنادار محتوای پروتئینی تام p70s6k نشد. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، می‌توان عنوان کرد که هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی با افزایش فسفریلاسیون p70s6k همراه است. فعالیت مسیر mTOR به سن، جنس، نوع و شدت فعالیت انجام شده، نوع و میزان سرعت انقباض (درون‌گرا-برون‌گرا) و همچنین نوع

طولانی تر مورد نظر قرار گیرد.

در تحقیقی کوون و همکاران به بررسی ۷ هفته فعالیت ورزشی مقاومتی مرتبط با هیپرتروفی عضلانی با مدولاسیون اتوفژی در موش‌ها پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که انجام تمرینات مقاومتی منجر به افزایش فاکتورهای $p70S6K$ و $mTOR$ و AKT می‌شود (۲۳). محققان در این مطالعه به این نتیجه رسیدند که تمرینات مقاومتی منجر به مهار پروتئین‌های اتوفژی و افزایش بیان پروتئین‌های سنتز پروتئین می‌شود. بنظر می‌رسد افزایش فعالیت $mTOR$ منجر به افزایش بیان $p70S6K$ شده است. در واقع $p70S6K$ یکی از مهمترین هدف‌های پایین دست $mTOR$ است. چنانچه بدون آن $mTOR$ نمی‌تواند مرحله طویل‌سازی ترجمه را افزایش دهد و یکی از فاکتورهای تعیین کننده سنتز پروتئین می‌باشد. علاوه بر این $p70S6K$ از طریق فسفریلاسیون فاکتور بالادست رونویسی DNA ریبوزومی را افزایش داده باعث تولید زیستی ریبوزوم می‌شود (۲۴). از آنجا که ریبوزوم کارخانه پروتئین‌سازی است و موجودات زنده برای تولید پروتئین نیازمند وجود و فعالیت ریبوزوم هستند. فعال شدن مسیر $p70S6K$ $mTOR$ از طریق $eEF-2k$ تولید پروتئین و از طریق فسفریلاسیون فاکتور بالادست رونویسی ظرفیت تولید پروتئین را افزایش می‌دهد (۲۴).

در مطالعه‌ای دیگر، ایلیاسون و همکاران در آزمودنی‌های انسانی نشان دادند، انقباضات اکسنتریک منجر به افزایش بیشتر $p70s6k$ نسبت به انقباضات کانسنتریک شد (۲۵). در مطالعه‌ی مشابه، نادر و اسر نتایج مشابهی روی جوندگان مشاهده کردند (۲۶). یکی از فرضیات برای توضیح فعال سازی قوی تر بر اساس نوع فعالیت مکانیکی ناشی از انقباضات اکسنتریک در عضلات اسکلتی است. در طول انقباضات اکسنتریک در عضله هم تنش آن و هم طول آن افزایش می‌یابد، در صورتیکه در انقباضات کانسنتریک، تحریک کششی یا اتفاق نمی‌افتد و یا به مقدار کمی ایجاد می‌شود. بنابراین، بنظر می‌رسد هر دوی تحریک در طول انقباضات اکسنتریک می‌تواند $p70s6k$ را تحریک کند. در حقیقت، اخیراً نشان داده شده است که کشش مزمن عضله اسکلتی قادر به افزایش توده/طول آن از طریق فعال شدن مسیر $mTOR$ است (۲۷). بالینحال، کوتبرتسون و همکاران پاسخ‌های برابری از $p70s6k$ ناشی از انقباضات کانسنتریک و اکسنتریک مشاهده کردند. اگرچه آزمودنی‌ها در این مطالعه از مکمل‌های آمینو و ساکروز استفاده کردند، که بنظر می‌رسد بر پاسخ مشاهده شده اثرگذار باشد (۲۸). در کنار نوع انقباض، فاکتورهای مداخله ای دیگر همچون شدت/مدت و تواتر تمرینی می‌تواند در پاسخ‌های $p70s6k$ نقش داشته باشد. آرتون و همکاران در مطالعه‌ای اثرات طولانی مدت تحریکات الکتریکی با شدت پایین را مورد مطالعه قرار دادند، نتایج حاکی از تغییرات برابر با تمرینات هوازی بود. بالینحال مطالعات قبلی نشان داده اند که

تمرینات هوازی بیوژنز میتوکندری را در تارهای کند انقباض، فعال می‌کنند و در فعال سازی $p70s6k$ نقشی ندارند (۲۹). همچنین، تمرینات مقاومتی به شدت مسیر $p70s6k$ را فعال می‌کنند. در همین راستا نادر و اسر نشان دادند که هر دوی تمرینات با شدت بالا و پایین می‌توانند مسیر $p70s6k$ را تحریک کنند و پاسخ‌های تمرینات با شدت پایین کمتر ماندگار بودند (۲۶). بطور خلاصه در این پژوهش نشان داده شده است، فعالیت اکسنتریک و کانسنتریک باعث افزایش $p70S6K$ شده است. بالینحال برای تعیین مسیر پیام رسانی که باعث این اثرات می‌شود نیاز به تحقیقات جامع تر با مسدود کردن مسیرهای مختلف می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، یک جلسه فعالیت کانسنتریک منجر به افزایش بیان $FNDC5$ گردید، بالینحال این تغییرات در گروه اکسنتریک پاسخ کاهشی را در برداشت. اغلب مطالعات پیرامون $FNDC5$ مدت طولانی تمرین را مورد بررسی قرار داده‌اند و مطالعات کمی تاثیر پاسخ این فاکتور را به فعالیت ورزشی مجزای اکسنتریک و کانسنتریک بررسی کرده اند. در همین راستا مطالعات پیشین نشان داده اند؛ بیان $FNDC5$ عضله اسکلتی ممکن است در پاسخ به فعالیت استقامتی بعد از ۱۰ هفته افزایش پیدا کند (۳۰). همچنین، بعضی مطالعات تغییرات چندانی را در مقادیر پلاسمایی $FNDC5$ به دنبال دوره های فعالیت ورزشی مشاهده نکردند (۳۱). باین وجود، بوستروم و همکاران نشان دادند، فاکتور 1α -PGC می‌تواند رهاسازی و افزایش $FNDC5$ را از عضله در پاسخ به تمرینات استقامتی افزایش دهد (۳۰). همچنین سطوح $FNDC5$ تنها چند ساعت بعد از یک جلسه فعالیت ورزشی در حالت بیان بالا قرار می‌گیرند، و پس از ۲۴ ساعت به سطح پایه بر می‌گردند (۳۲). در مطالعه حاضر سطوح $FNDC5$ تنها در گروه کانسنتریک افزایش داشت و در گروه اکسنتریک علیرغم نمونه گیری بلافاصله بعد از تمرین، افزایشی مشاهده نشد. باتوجه به این یافته‌ها، بنظر می‌رسد این تفاوت ناشی از تفاوت در نوع انقباض عضلانی باشد. مهمترین وجه تمایز مطالعه حاضر با مطالعات پیشین بررسی نوع انقباض بر بیان ژن $FNDC5$ بود. در همین راستا، نورهم و همکاران افزایش $FNDC5$ را در عضله چهارسر رانی بعد از دویدن بر روی تردمیل مشاهده کردند (۳۳). اگرچه این نتایج مشابه نتایج پژوهش حاضر نیست، ولی نشان داده شد که عضلات چهارسر بیشترین درگیری را در حین فعالیت دارند. همچنین رشیدلمیر و همکاران به بررسی اثرات تمرین استقامتی و مقاومتی در بیان ژن $FNDC5$ در بافت کبد در موش‌های صحرایی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تمرین مقاومتی و استقامتی سبب افزایش معنادار در بیان ژن $FNDC5$ می‌شود. همچنین پیکالا و همکاران در پژوهشی بر روی چهارگروه تمرینی استقامتی با شدت کم، تمرین مقاومتی شدید، تمرین استقامتی طولانی مدت و ترکیب مقاومتی و استقامتی هر دو، دوبار

در جمعیت‌هایی همچون سالمندان و بیماران مفید باشد. بسیاری از سازگاری‌ها مانند افزایش قدرت و توده بدون چربی، ناشی از تمرینات مقاومتی تکراری می‌باشد و این به دلیل درجه بالای شکل پذیری عضله اسکلتی در پاسخ به فشار تمرینی است. محرک‌های تمرینی متفاوت در ورزش‌های مقاومتی می‌تواند پاسخ‌های مولکولی متفاوتی را در ارتباط با سازگاری‌های ویژه عضله اسکلتی به نوع تمرین مقاومتی ایجاد کند. تجویز یک برنامه مقاومتی باید با توجه به دستکاری‌های انجام شده در متغیرها صورت گیرد. متغیرهای تمرینی شامل شدت، حجم و زمان تحت تنش می‌باشد. دستکاری هر یک از این متغیرها می‌تواند در نتیجه نهایی تاثیر گذار باشد. البته باید در نظر داشت که دستکاری تنها یک متغیر می‌تواند مطالعه اثر دیگر متغیرها را در پاسخ‌های مولکولی غیر ممکن کند. در مجموع مطالعه حاضر نشان داد یک جلسه فعالیت اکستریک و کانستریک منجر به تغییر معنی دار در فاکتورهای درگیر در قدرت و هایپرتروفی عضلات اسکلتی می‌شود. علاوه بر این، این تغییرات در مجموع در انقباض اکستریک بیش از کانستریک است. بر این اساس، می‌توان توصیه کرد، ورزشکارانی که تمایل به افزایش هایپرتروفی و قدرت عضلانی دارند در برنامه‌های تمرینی خود بیشتر بر تمرینات کانستریک متمرکز گردند.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی مهرناز غنی زاده می‌باشد. لذا از مساعدت و همکاری صمیمانه مسئولین دانشگاه تهران و بیمارستان بقیه الله و تمام افرادی که موجب تسهیل اجرای رساله شدند، تقدیر و تشکر می‌گردد. ضمناً تمامی هزینه‌های رساله به صورت شخصی بوده و هیچ سازمانی حمایت مالی نکرده است.

عدم تضاد منافع

نویسندگان عدم تضاد منافع را اعلام می‌نمایند.

در هفته تغییرات قابل توجهی در عضلات اسکلتی FNDC5 مشاهده نکردند، فقط در گروه مقاومتی شدید افزایش PGC1 α را ۴ برابر در افراد جوان و دو برابر در افراد مسن مشاهده کردند. علاوه بر این، آیریزین و FNDC5 با تحمل گلوکز و اضافه وزن و یا اختلالات متابولیکی در ارتباط نبود. که ممکن است عامل‌های دیگری در آن دخیل باشند (۳۱).

در رابطه با اثر تمرینات مقاومتی برگیرنده TrKB تاکنون مطالعات انسانی بسیار کمی انجام شده است. و تنها چند مطالعه بر روی موش‌ها اثرات تمرینات را بررسی کرده‌اند. به نظر می‌رسد که مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای است که به بررسی بیان TrKB در سطح بافت انسانی در پاسخ به فعالیت ورزشی پرداخته است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت اکستریک و کانستریک منجر به افزایش TrKB می‌شود. در همین راستا، مجتهدی و همکاران اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی را بر سطوح TrKB در هیپوکمپ موش‌های نر بالغ مورد بررسی قرار دادند. یافته‌ها حاکی از وجود تفاوت معنادار در سطوح پروتئینی TrKB در گروه تمرینی در مقایسه با گروه کنترل بود (۳۴). از سوی دیگر اسلامی و همکاران اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان برگیرنده TrKB در موش‌های نر صحرایی بررسی کردند. نتایج تحقیق نشان داد که یک جلسه تمرین مقاومتی تأثیری بر بیان TrKB، در هر دو عضله تند و کند انقباض موش‌های صحرایی، ندارد. آن‌ها عدم تغییر TrKB را به نقش احتمالی گیرنده P75 نسبت دادند (۳۵). آن‌ها در تحقیقی اثر یک جلسه فعالیت مقاومتی را بر بیان گیرنده P75 مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که بیان P75 حدود ۶ برابر افزایش یافت. در مجموع مطالعه حاضر اهمیت نقش یکی از تنظیم‌کننده‌های هایپرتروفی را در عضله اسکلتی در پاسخ به فعالیت اکستریک و کانستریک نشان داد. تمرینات مقاومتی مسیرهای سیگنالینگ عضله اسکلتی را در جهت سنتز پروتئین، دستخوش تغییر می‌کند. در همین راستا شناسایی هدف‌های مایوژنیک ممکن است استراتژی برای آنابولیس عضله را فراهم کند که بطور ویژه‌ای برای جلوگیری از کاهش عضلات اسکلتی

منابع

1. Flann KL, LaStayo PC, McClain DA, Hazel M, Lindstedt SL. Muscle damage and muscle remodeling: no pain, no gain? J Exp Biol 2011;214(Pt 4):674-9.
2. Spiering BA, Kraemer WJ, Anderson JM, Armstrong LE, Nindl BC, Volek JS, et al. Resistance exercise biology: manipulation of resistance exercise programme variables determines the responses of cellular and molecular signalling pathways. Sports Med 2008;38(7):527-40.
3. Lou SJ, Liu JY, Chang H, Chen PJ. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. Brain Res 2008;1210:48-55.
4. Ernfors P, Kucera J, Lee KF, Loring J, Jaenisch R. Studies on the physiological role of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 in knockout mice. Int J Dev Biol 1995;39(5):799-807.
5. Figueiredo C, Antunes BM, Giacon TR, Vanderlei LCM, Campos EZ, Peres FP, et al. Influence of Acute and Chronic High-Intensity Intermittent Aerobic Plus Strength Exercise on BDNF, Lipid and Autonomic Parameters. J Sports Sci Med 2019;18(2):359-368.
6. Banoujaafar H, Monnier A, Pernet N, Quiríé A, Garnier P, Prigent-Tessier A, et al. Brain BDNF levels are dependent on cerebrovascular endothelium-derived nitric oxide. Eur J Neurosci 2016;44(5):2226-35.
7. de Almeida AA, Gomes da Silva S, Fernandes J, Peixinho-Pena LF, Scorza FA, Cavalheiro EA, et al. Differential effects of ex-

- ercise intensities in hippocampal BDNF, inflammatory cytokines and cell proliferation in rats during the postnatal brain development. *Neurosci Lett* 2013;553:1-6.
8. Sheikhzadeh F, Etemad A, Khoshghadam S, Asl NA, Zare P. Hippocampal BDNF content in response to short- and long-term exercise. *Neurol Sci* 2015;36(7):1163-6.
 9. Costa MS, Ardais AP, Fioreze GT, Mioranza S, Botton PH, Souza DO, Rocha JB, Porciúncula LO. The impact of the frequency of moderate exercise on memory and brain-derived neurotrophic factor signaling in young adult and middle-aged rats. *Neuroscience* 2012;222:100-9.
 10. Nasrallah P, Haidar EA, Stephan JS, El Hayek L, Karnib N, Khalifeh M, et al. Branched-chain amino acids mediate resilience to chronic social defeat stress by activating BDNF/TrkB signaling. *Neurobiol Stress* 2019;11:100170.
 11. Bodine SC. mTOR signaling and the molecular adaptation to resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(11):1950-7.
 12. Ogasawara R, Kobayashi K, Tsutaki A, Lee K, Abe T, Fujita S, et al. mTOR signaling response to resistance exercise is altered by chronic resistance training and detraining in skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985) 2013;114(7):934-40.
 13. Nemat J, Samadi M, Hadidi V, Macintosh B. Effect of Resistance Training on Mtor and P70s6k Signaling Pathway in Skeletal Muscle of Rats. *Physiology of Sport and Physical Activity* 2015; 8(1): 1149-56.
 14. Ferrer-Martínez A, Ruiz-Lozano P, Chien KR. Mouse PEP: a novel peroxisomal protein linked to myoblast differentiation and development. *Dev Dyn* 2002;224(2):154-67.
 15. Polyzos SA, Kountouras J, Shields K, Mantzoros CS. Irisin: a renaissance in metabolism? *Metabolism* 2013;62(8):1037-44.
 16. Franchi MV, Reeves ND, Narici MV. Skeletal Muscle Remodeling in Response to Eccentric vs. Concentric Loading: Morphological, Molecular, and Metabolic Adaptations. *Front Physiol* 2017;8:447.
 17. Koskinen SO, Lehti M. Molecular and Cellular Markers in Skeletal Muscle Damage after Acute Voluntary Exercise Containing Eccentric Muscle Contractions. *Muscle Cell and Tissue: Current Status of Research Field* 2018;19.
 18. Hortobágyi T, Barrier J, Beard D, Braspeninx J, Koens P, Devita P, et al. Greater initial adaptations to submaximal muscle lengthening than maximal shortening. *J Appl Physiol* (1985) 1996;81(4):1677-82.
 19. Kay D, St Clair Gibson A, Mitchell MJ, Lambert MI, Noakes TD. Different neuromuscular recruitment patterns during eccentric, concentric and isometric contractions. *J Electromyogr Kinesiol* 2000;10(6):425-31.
 20. Dieli-Conwright CM, Kiwata JL, Tuzon CT, Spektor TM, Sattler FR, Rice JC, et al. Acute Response of PGC-1 α and IGF-1 Isoforms to Maximal Eccentric Exercise in Skeletal Muscle of Postmenopausal Women. *J Strength Cond Res* 2016;30(4):1161-70.
 21. Goodman CA, Frey JW, Mabrey DM, Jacobs BL, Lincoln HC, You JS, et al. The role of skeletal muscle mTOR in the regulation of mechanical load-induced growth. *J Physiol* 2011;589(Pt 22):5485-501.
 22. SherafatiMoghadam M, Salesi M, Daryanoosh F, HematiNafar M, Fallahi A. The effect of 4 weeks of high intensity interval training on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in soleus skeletal muscle of rats with type 2 diabetes: An experimental study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 2018;17(9):843-54.
 23. Kwon I, Jang Y, Cho JY, Jang YC, Lee Y. Long-term resistance exercise-induced muscular hypertrophy is associated with autophagy modulation in rats. *J Physiol Sci* 2018;68(3):269-280.
 24. Moore DR, Phillips SM, Babraj JA, Smith K, Rennie MJ. Myofibrillar and collagen protein synthesis in human skeletal muscle in young men after maximal shortening and lengthening contractions. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288(6):E1153-9.
 25. Eliasson J, Elfegoun T, Nilsson J, Köhne R, Ekblom B, Blomstrand E. Maximal lengthening contractions increase p70 S6 kinase phosphorylation in human skeletal muscle in the absence of nutritional supply. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;291(6):E1197-205.
 26. Nader GA, Esser KA. Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise. *J Appl Physiol* (1985) 2001;90(5):1936-42.
 27. Aoki MS, Miyabara EH, Soares AG, Saito ET, Moriscot AS. mTOR pathway inhibition attenuates skeletal muscle growth induced by stretching. *Cell Tissue Res* 2006;324(1):149-56.
 28. Cuthbertson DJ, Babraj J, Smith K, Wilkes E, Fedele MJ, Esser K, Rennie M. Anabolic signaling and protein synthesis in human skeletal muscle after dynamic shortening or lengthening exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290(4):E731-8.
 29. Atherton PJ, Babraj JA, Smith K, Singh J, Rennie MJ, Wackerhage H. Selective activation of AMPK-PGC-1 α or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. *The FASEB journal* 2005;19(7):1-23.
 30. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Höglund K, Gygi SP, Spiegelman BM. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012;481(7382):463-8.
 31. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pöllänen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol* 2013;591(21):5393-400.
 32. Nygaard H, Slettaløkken G, Vegge G, Hollan I, Whist JE, Strand T, et al. Irisin in blood increases transiently after single sessions of intense endurance exercise and heavy strength training. *PLoS One* 2015;10(3):e0121367.
 33. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J* 2014;281(3):739-49.
 ۳۴. مجتهدی شب خیز، اکبرنژاد، علی صالحیان، امید. تاثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر سطوح پروتئینی نوروتروفین مشتق مغزی و گیرنده تیروزین کیناز B در هیپوکامپ رت‌های نر بالغ. *ارمغان دانش*. ۲۰۱۴؛ ۹(۵): ۳۸۰-۹.
 35. Eslami R, Gharakhanlou R, Mowla S, Rajabi H, Mohammadkhani R, Zarbaf R. Effect of one session of resistance exercise on mRNA expression of NT4/5 and TrkB proteins in slow and fast muscles of Wistar rats. *Journal of Sport in Biomotor Sciences* 2012;2013(6):2.