

## تأثیر خراش عصب نخاعی بر بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 عضله بازکننده طویل انگشتان پا موش صحرایی نر پس از شش هفته تمرین تناوبی شدید

آرش برزگر<sup>۱</sup> - عبدالرضا کاظمی<sup>۲\*</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج)، رفسنجان،

ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۴، تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۰۲/۰۳)

### چکیده

شناخت سازوکارهای درگیر در آتروفی و بازسازی عضله به توسعه روش‌های درمانی جدید برای مقابله با آتروفی ناشی از بی‌حرکتی کمک خواهد کرد. بنابراین، با توجه به کاهش توده عضلانی در شرایط کاهش فعالیت عضله و نقش TRPC1 و TRPC3 در برخی از مدل‌های آتروفی عضلانی، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر کاهش فعالیت بدنی پس از یک دوره HIIT بر بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله EDL موش‌های صحرایی نر بود. ۳۲ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای با وزن  $250 \pm 20$  گرم (در ابتدا) خریداری شدند. حیوانات موردنظر به روش تصادفی ساده به ۴ گروه کنترل (C)، کنترل - فعالیت کاهش یافته (Sham-CCI)، تمرین - فعالیت کاهش یافته (HIIT-)، تمرین (CCI) و تمرین (HIIT) تقسیم شدند. مدت برنامه تمرینی، ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه بود. به منظور ایجاد مدل خراش عصبی (CCI) از روش دایس و رسانز (۲۰۱۳) استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری بیان mRNA ژن‌های موردنظر از روش Real-Time PCR استفاده شد. برای تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری آنوا دو راهه و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نتایج نشان داد که یک دوره HIIT سبب افزایش بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله EDL نسبت به گروه کنترل می‌شود (به ترتیب  $P=0/01$  و  $P=0/000$ ). همچنین ایجاد CCI سبب کاهش معنادار در بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 نسبت به گروه HIIT شد (به ترتیب  $P=0/000$  و  $P=0/003$ ). علاوه بر این، تفاوت معناداری بین گروه CCI-HIIT و HIIT در بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 مشاهده شد (به ترتیب  $P=0/001$  و  $P=0/003$ ). این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین به شیوه HIIT سبب افزایش بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله EDL موش می‌شود و کاهش فعالیت بدنی پس از HIIT به کاهش بیان این ژن‌ها منجر می‌شود. در این پژوهش همچنین کاهش معنادار در وزن عضله EDL در گروه Sham-CCI نسبت به گروه کنترل و نیز افزایش چشمگیری در وزن عضله EDL در HIIT-CCI نسبت به گروه Sham-CCI پس از پایان دوره پژوهش مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که کاهش فعالیت بدنی به شکل CCI سبب کاهش وزن عضله می‌شود. با این حال تمرین به شیوه HIIT می‌تواند این کاهش را کمتر کند.

### واژه‌های کلیدی

CCI عصب نخاعی، TRPC1، TRPC3، تمرین تناوبی شدید.

## مقدمه

آتروفی عضلانی ناشی از عدم استفاده طولانی مدت از عضله و به دلایل مختلفی رخ می‌دهد. در فزانوردانی که دور از جاذبه هستند (۱) و همچنین شرایط پاتولوژیک مانند کاهش خون‌رسانی، تغذیه ناکافی و قطع عصب یک عضله (آتروفی نوروزنیک) از دلایل آتروفی عضلانی اند (۲). آتروفی عضلانی زمانی اتفاق می‌افتد که تخریب پروتئین بیش از سنتز آن باشد (۳، ۴). هرچند آتروفی پیامد فرایندهای فیزیولوژیک معینی است، به‌عنوان یکی از ویژگی‌های اصلی در بسیاری از بیماری‌ها مورد توجه قرار می‌گیرد. در هر دو مورد وضعیت‌های پاتولوژیک و فیزیولوژیک، ضعف و آتروفی عضلانی می‌تواند کیفیت زندگی را پایین آورد، ناتوانی در انجام کارهای روزانه را منجر شود و همچنین خستگی و ایجاد بیماری‌های ثانویه مثل پوکی استخوان و دیابت را در پی داشته باشد. کاهش سطح مقطع تارهای عضلانی و اختلال در نیروی عضلانی، مشخصه اصلی آتروفی عضلانی است. همچنین، آتروفی عضلانی به‌وسیله تغییر در ترکیب تار عضلانی ویژگی می‌یابد (۴). عضله اسکلتی، بافت تغییرپذیری است که با توجه به سطح فعالیت خود (بار مکانیکی در مقابل غیرفعال بودن) از طریق تغییر در توده عضله، بیان پروتئین‌های عضلانی و تغییر در نوع تار به لحاظ انقباضی و متابولیکی، سازگار می‌شود. شواهد در دسترس نشان می‌دهند که دسته‌ای از رویدادها در عضله اسکلتی اتفاق می‌افتد تا بتوانند تعادل خالص پروتئینی را از طریق کنترل سنتز و تجزیه پروتئین حفظ کنند (۵، ۶). عضله اسکلتی شکل‌پذیری بسیار بالایی در پاسخ به بارهای مکانیکی دارد. فرایندهای رشد و حفظ عضله با آبشارهای پیام‌رسان درون سلولی که رونویسی و ترجمه پروتئین را کنترل می‌کنند، تنظیم می‌شود. نشان داده شده است که بدون بار کردن مکانیکی<sup>۱</sup> در جوندگان موجب کاهش توده

عضلانی و سطح مقطع عرضی میو فیبریل‌ها (۷) و همچنین کاهش تولید نیرو می‌شود (۸، ۹). بازسازی عضله نیازمند فعال شدن سلول‌های اقماری و القای فاکتورهای تنظیم‌کننده عضله‌زایی است (۱۰).

چندین مسیر پیام‌رسان کاتابولیک و آنابولیک مرتبط با تغییر اندازه عضله وجود دارند (۱۱، ۱۲). شواهد بسیار قوی نشان می‌دهد که اندازه عضله با تعادل بین سنتز و تخریب پروتئین مشخص می‌شود (۱۳). همچنین یافته‌های پژوهشی نشان می‌دهد که مسیرهای وابسته به کلسیم نقش مهمی در هر دو فرایندهای آتروفی و رشد مجدد به ترتیب در بدون بار شدن و بارگیری مجدد ایفا می‌کنند (۱۴، ۱۵). افزایش غلظت کلسیم درون سلولی خیلی زود و از روز دوم بدون بار شدن در عضله اسکلتی اتفاق می‌افتد (۱۶). این افزایش می‌تواند پروتئولیز وابسته به کلسیم را توسعه دهد و به تخریب قابل توجه پروتئین‌های سیتواسکلتونی منجر شود (۱۷). رشد مجدد عضلات پس از یک دوره عدم استفاده شامل هر دو هایپر تروفی و بازسازی نیازمند تکثیر و تمایز میوبلاست‌ها و همچنین تنظیم افزایشی فاکتورهای تنظیم‌کننده عضله است (۱۸، ۱۹). مشخص شده است که کلسیم در این فرایندها نقش کلیدی ایفا می‌کند (۲۰، ۲۱). روی هم رفته، مسیرهای پیام‌رسان وابسته به کلسیم در برخی از انواع آتروفی عضلانی مانند تعلیق اندام تحتانی (بدون بار کردن مکانیکی) و همچنین بی‌فعالیتی بدنی مانند بستن عصب نخاعی فعال می‌شود. پروتئین‌ها و ژن‌های زیادی در آتروفی عضلانی نقش دارند که در اینجا به تمرکز بر کانال‌های فاکتور هسته‌ای فعال شده با سلول‌های T (TRPC)<sup>\*</sup> است.

کانال‌های فاکتور هسته‌ای فعال شده با سلول‌های T (TRPC) و به‌طور ویژه ایزوفرم‌های TRPC1 و TRPC3 در تارهای عضلات اسکلتی بیان می‌شوند. نشان داده شده

ارتباط بین آتروفی عضلانی و پروتئین‌ها و همچنین مسیرهایی که در این زمینه فعال می‌شوند، توجه بسیاری از محققان را جلب کرده است. به نظر می‌رسد که ژن‌های گوناگونی نقش کلیدی در ایجاد آتروفی عضلانی دارند. همچنین به نقش ژن‌های مربوط به لیزوزومال پروتئاز، فاکتورهای رونویسی، تنظیم‌کننده بیان پروتئین‌ها و آنزیم‌های مرتبط با آتروفی عضلانی اشاره شده است (۳۲) که تعیین اهمیت نقش هر کدام مستلزم بررسی و آزمایش است. شناخت سازوکارهای درگیر در آتروفی و بازسازی عضله به توسعه روش‌های درمانی جدید برای مقابله با وضعیت‌ها و برخی بیماری‌ها مانند دیستروفی عضلانی و آتروفی ناشی از بی‌حرکی کمک خواهد کرد. در تحقیق حاضر از خراش عصبی به‌عنوان مدلی برای کاهش فعالیت بدنی در عضلات پا و مدل مؤثر بر آتروفی عضلانی از طریق بی‌فعالیتی استفاده شده است (۴۸). با توجه به کاهش توده عضلانی در شرایط کاهش فعالیت عضلانی و نقش TRPC1 و TRPC3 در برخی مدل‌های آتروفی عضلانی، این سؤال پیش می‌آید که آیا بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در شرایط کاهش فعالیت بدنی به‌دنبال تمرین ورزشی تغییر خواهد کرد؟ نحوه تغییرات ژن‌های مرتبط به آتروفی عضلانی در عضلات تندانقباض که بیشتر تحت تاثیر آتروفی قرار می‌گیرند چگونه است؟ با توجه به اینکه تمرینات تناوبی شدید به‌عنوان تمرینات سرعتی تناوبی که عضلات تند را درگیر می‌کند، محقق تغییرات آتروفیک را در عضله EDL بررسی کرد. احتمالاً مسیر غالب در حفظ توده عضلانی در تارهای تندانقباض مسیر پیام‌رسان PI3K/Akt است که ژن‌های TRPC1 و TRPC3 از طریق این مسیر در حفظ پروتئین در عضله EDL نقش دارند (۲۳، ۲۴). از این‌رو، هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر کاهش فعالیت بدنی به شکل CCI پس از یک دوره

است که این کانال‌های کلسیمی مرتبط با رشد و توسعه عضله هستند. TRPC1 ورود کلسیم و نیز مهاجرت و تمایز میوبلاست‌ها را تنظیم می‌کند (۲۲، ۲۳). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که TRPC1 در طول بازسازی عضله با تعدیل مسیر PI3K/AKT نقش خود را اعمال می‌کند (۲۴). همچنین در زمان عضله‌زایی تنظیم افزایشی می‌یابد (۲۳). TRPC3، دیگر خانواده پروتئینی TRPC است که به میزان زیادی در عضله اسکلتی بیان می‌شود و مطالعات نشان داده‌اند که TRPC3 در مراحل اولیه تمایز مایوتیوب‌ها تنظیم افزایشی می‌یابد. از این گذشته، نشان داده شده است که TRPC3 جریان ورودی کلسیم را واسطه‌گری می‌کند و به فعال شدن عامل هسته‌ای فعال‌کننده سلول‌های T (NFAT) در عضله در حال دوباره شکل‌گیری منجر می‌شود. نقش TRPC1 و TRPC3 در بسیاری از فرایندهای پاتوفیزیولوژیک عضلات اسکلتی در ارتباط با رشد عضله، پیام‌رسانی و هموستاز کلسیم مشخص شده است (۲۵). نشان داده شده است که سرکوب ژن TRPC1 در جریان ورودی کلسیم، بیان مارکرهای تمایز مایوژنیک را کاهش می‌دهد و در نهایت عضله‌زایی را متوقف می‌کند (۲۳). از سوی دیگر، مشخص شده است که کاهش بیان TRPC1 می‌تواند مرتبط با کاهش در جریان ورودی کلسیم باشد، و بدین‌وسیله فرایند عضله‌زایی را تحت تاثیر قرار دهد (۲۶، ۲۷). در سطوح سلولی، نارسایی در جابه‌جایی کلسیم، به‌عنوان عامل مهم در نارسایی الکتریکی عضلانی مرتبط با پیری، شناخته شده است (۲۸-۳۰). به‌عبارت دیگر، رهاسازی کلسیم سیتوپلاسمیک به شکل ناقص به‌عنوان ضعف عضلانی وابسته به پیری شناخته شده است که ناکارایی صحیح درشت‌ملکول‌های مجموعه رایانودین در این شرایط نقش اصلی را ایفا می‌کند (۳۱).

HIIT بر بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله EDL موش‌های نر ویستار بود.

### روش‌شناسی

#### نمونه آماری

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی است که برای بررسی فرضیات پژوهش حاضر و رسیدن به اهداف، ۳۲ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای با وزن  $250 \pm 20$  گرم (در ابتدا) از مرکز فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شدند. حیوانات موردنظر به روش تصادفی ساده به چهار گروه تقسیم شدند:

۱. گروه اول: گروه کنترل (C) این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای بود که هیچ‌گونه مداخله‌ای را دریافت نکردند، اما در پایان پژوهش، با استفاده از گاز  $CO_2$  بی‌هوش و سپس بافت عضله EDL آنها استخراج و این نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر منجمد و در دمای  $-70$  - درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

۲. گروه دوم: گروه کنترل - فعالیت کاهش‌یافته (Sham-CCI). این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای بود که سه شاخه عصب سیاتیک آنها براساس روش دایس و رسانز (۲۰۱۳) محکم گره زده شد. این موش‌ها نیز همزمان با بقیه گروه‌ها قربانی شدند و تمامی مراحل و آزمایش‌ها مطابق دیگر گروه‌ها روی آنها انجام پذیرفت.

۳. گروه سوم: گروه تمرین - فعالیت کاهش‌یافته (HIIT-CCI): این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای بود که پس از یک دوره HIIT، سه شاخه عصب سیاتیک آنها براساس روش دایس و رسانز (۲۰۱۳) محکم گره زده شد. این موش‌ها نیز همزمان با بقیه گروه‌ها قربانی شدند و تمامی مراحل و آزمایش‌ها مطابق دیگر گروه‌ها روی آنها انجام پذیرفت.

۴. گروه چهارم: گروه تمرین (HIIT). این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای بود که در برنامه ۶ هفته‌ای HIIT شرکت کردند و سپس به زندگی عادی خود ادامه دادند. در پایان پژوهش، این موش‌ها نیز همزمان با بقیه گروه‌ها قربانی شدند و تمامی مراحل و آزمایش‌ها مطابق دیگر گروه‌ها روی آنها انجام پذیرفت.

#### نگهداری و تغذیه موش‌ها

موش‌ها در آزمایشگاه در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۷ صبح و شروع خاموشی ۷ عصر) دما ( $22 \pm 1$ ) درجه سانتی‌گراد) و رطوبت طبیعی نگهداری شدند. ۳ تا ۵ موش در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با در توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به‌گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. در پژوهش حاضر کار با حیوانات براساس کلیه اصول اخلاقی تأییدشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان (IR.KMU.REC.1399.190) و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی مطالعه درد (IASP) انجام پذیرفت.

#### برنامه تمرینی

به‌منظور آشناسازی، موش‌های گروه تمرین به مدت ۵ روز بر روی نوار گردان مخصوص جوندگان (Model T510E, Diagnostic and Research, Taoyuan, Taiwan) با شیب صفر درصد و سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه دویدند. هر جلسه برنامه HIIT شامل ۱۰ تکرار ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود که پس از هر تکرار ۲ دقیقه استراحت فعال انجام می‌گرفت. سرعت نوار گردان در طول برنامه تمرینی از ۱۶ تا ۲۶ متر در دقیقه (برابر با ۸۵-۹۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) متغیر بود که به‌صورت تدریجی افزایش می‌یافت. مدت برنامه تمرینی، ۶ هفته و هر هفته ۵

الکتريکی (۲/۳-۰/۰ میلی‌آمپر) برای تحریک موش‌ها در جلسات آشنایی و تمرینات اصلی استفاده شد (استفاده از شوک فقط ۳ بار متوالی مجاز بود).

جلسه بود (جدول ۱) (۳۳). برای وادار کردن حیوان برای ادامه فعالیت روی تردمیل، ابتدا با ایجاد صدا و سپس از شوک الکتريکی استفاده شد. در مواقع ضروری از شوک

جدول ۱. پروتکل تمرین HIIT

هفته تمرینی	۱	۲	۳	۴
جلسات تمرینی	۵	۵	۵	۵
درصد اکسیژن مصرفی بیشینه	۸۵/۹	۸۷/۶	۸۸/۹	۸۹/۶
میانگین سرعت در هفته تمرینی (متر بر دقیقه)	۱۷	۱۹/۳	۲۲/۸	۲۴/۸

دقت ۰/۰۰۱ گرم (BL1000 ساخت ژاپن) وزن‌کشی و بلافاصله در نیتروژن مایع، منجمد و برای انجام آزمایش‌های سلولی مولکولی در یخچال ۸۰- نگهداری شد. همچنین، پس از جداسازی کامل عضلات و بافت‌های پیوندی از استخوان درشت‌نی، طول بیشینه استخوان درشت‌نی با کولیس اندازه‌گیری شد. سپس به منظور نرمال‌سازی داده، توده عضلانی نسبت به طول درشت‌نی محاسبه شد (گرم به سانتی‌متر).

#### استخراج RNA و سنتز cDNA

حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت به‌صورت جداگانه، به‌منظور استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent به روش دستی هم‌وزن شد. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در ۰C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول در ۰C ۴، ۱۵min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شده، بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۰C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شست‌وشو و در ۲۰L μ آب RNase-Free حل شد. غلظت RNA مورد سنجش واقع شده (Eppendorf, )

#### القای فعالیت کاهش‌یافته به شکل CCI

به‌منظور ایجاد مدل CCI از روش دایس و رسانز (۲۰۱۳) استفاده شد. پس از بی‌هوش کردن حیوان، موهای بالا و پشت ران حیوان کاملاً تراشیده و با استفاده از تیغ بیستوری شکافی به طول دو سانتی‌متر بر روی ران پای چپ ایجاد شد. پس از بریدن عضلات، قسمت مشترک سه شاخه عصب سیاتیک رؤیت شد. سپس با استفاده از دو میله کوچک شیشه‌ای، بافت‌های اطراف عصب، جدا و به‌وسیله نخ بخیه کرومیک چهار صفر قبل از سه شاخه شدن عصب چهار گره با فواصل یک میلی‌متر به‌نحوی که فشار کمی بر عصب وارد کند، ولی اختلالی در جریان خون عصب به‌وجود نیابد زده می‌شد. آنگاه با استفاده از نخ بخیه چهار صفر سیلک، عضله و پوست به‌صورت جداگانه دوخته شدند (۳۴). به‌منظور اطمینان از ایجاد CCI از آزمون‌های رفتاری هایپرآلژیا و آلودینیایی مکانیکی استفاده شد. گروه‌هایی که تحت CCI قرار گرفتند، آستانه درد پایین‌تری نسبت به گروه‌های دیگر داشتند.

#### استخراج نمونه

پس از اتمام دوره کاهش فعالیت بدنی به شکل خراش عصبی، موش‌ها با استفاده از گاز CO<sub>2</sub> بی‌هوش شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در ساق پای موش، عضله EDL با قطع تاندون پروگزیمال و دیستال استخراج شد. سپس با ترازوی آزمایشگاهی با

TRPC1، TRPC3 و  $\beta$ -actin در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc. Seoul, Korea) انجام گرفت. اطلاعات ژن‌های موردنظر نیز ارائه شده است (جدول ۲). ضمن اینکه از  $\beta$ -actin به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه - ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) خواهد بود. میزان بیان ژن‌های موردنظر نیز با روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  اندازه‌گیری شد (۳۵).

(Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. سنتز cDNA با استفاده از  $1\mu\text{g}$  از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم transcriptase Mmuly Reverse انجام گرفت.

به‌منظور اندازه‌گیری سطوح بیان ژن TRPC1 و TRPC3 از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix Syber GreenII (Applied Bio systems Step One, USA) استفاده شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی  $20\mu\text{L}$  و هر واکنش به‌صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

ژن‌ها	توالی پرایمر	بانک ژن
TRCP1	F=CAGCCTCAGACATTCCAGGT R=TCAAACGCTCTCAGAATTGGA	NM_053558
TRCP3	F= TGCTAATTATGGTCTGGGTTCTC R=CCACAGCTGCAGGATGTACT	NM_021771
$\beta$ -actin	F= '5 AGCGTGGCTACAGCTTCACC -3' R='5 AAGTCTAGGGCAACATAGCACAGC -3'	NM_031144

### نتایج

در جدول ۳ توده بدنی موش‌ها پیش و پس از دوره پروتکل ارائه شده است. با استفاده از ترازوی مخصوص موش و با دقت ۰/۱ گرم وزن موش‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. برای تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس و آزمون توکی استفاده شد.

### روش آماری

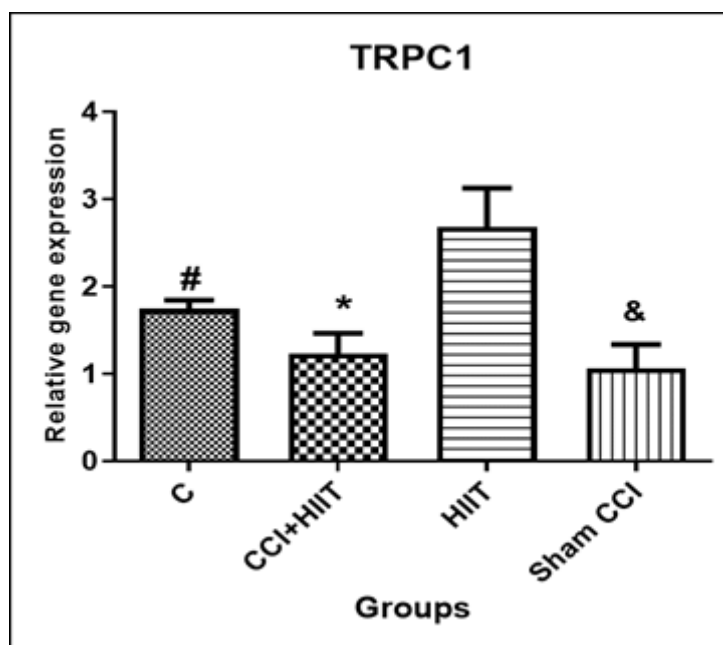
در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار و در بخش آمار استنباطی برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها، آزمون کولموگروف - اسمیرنوف (KS) استفاده شد. همچنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven سنجیده شد. برای تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری تحلیل واریانس دوراهه و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS-17 استفاده شد. حداقل سطح معناداری داده‌ها، برابر با  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

جدول ۳. میانگین توده بدنی در گروه‌های مختلف پژوهش

گروه‌ها	توده بدنی (گرم)	
	بلافاصله پیش از شروع تحقیق	در پایان پروتکل
C	۲۹۰±۲۰	۳۲۵±۲۱
Sham-CCI	۲۹۵±۱۹	۲۷۵±۲۳
HIIT	۲۹۰±۲۱	۳۱۲±۲۵
HIIT-CCI	۲۸۷±۲۲	۳۱۱±۱۸

دوره HIIT به افزایش بیان ژن TRPC1 در عضله EDL نسبت به گروه کنترل منجر می‌شود. از طرف دیگر، CCI سبب کاهش معنادار در بیان این ژن در گروه‌هایی که تحت CCI قرار گرفتند، نسبت به گروه HIIT شد (نمودار ۱).

با توجه به نتایج آزمون تحلیل واریانس ( $P < 0.05$ ) و آزمون تعقیبی توکی، تفاوت معناداری بین گروه C و HIIT ( $P = 0.01$ )، بین گروه Sham-CCI و HIIT ( $P = 0.01$ ) و همچنین بین گروه CCI-HIIT و HIIT ( $P = 0.01$ ) در بیان ژن TRPC1 وجود دارد. نتایج نشان می‌دهد که یک

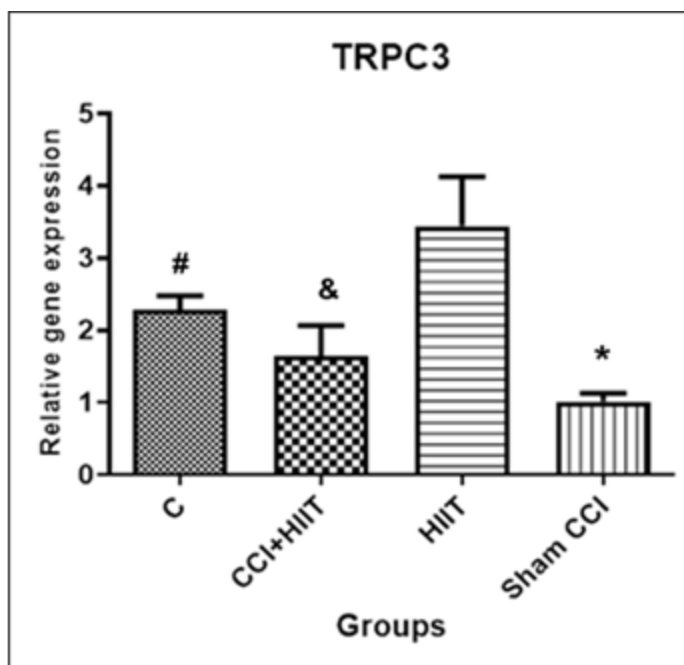


نمودار ۱. تغییرات بیان ژن TRPC1 در گروه‌های پژوهش

# و \* نشان دهنده تفاوت معنادار با گروه HIIT ( $P < 0.05$ )

می‌دهد که یک دوره HIIT به بیان افزایش یافته ژن TRPC3 در عضله EDL نسبت به گروه کنترل منجر می‌شود. از طرف دیگر، CCI به کاهش معنادار بیان این ژن در گروه‌هایی که تحت CCI قرار گرفتند، نسبت به گروه HIIT انجامید (نمودار ۲).

با توجه به نتایج آزمون تحلیل واریانس ( $P < 0.05$ ) و آزمون تعقیبی توکی، تفاوت معناداری بین گروه C و HIIT ( $P = 0.000$ )، بین گروه Sham-CCI و HIIT ( $P = 0.003$ ) در بیان ژن TRPC3 وجود دارد. همچنین این نتایج نشان



نمودار ۲. تغییرات بیان ژن TRPC3 در گروه‌های پژوهش

## بحث

EDL به طول درشت‌نی در گروه‌های مختلف پژوهش بررسی شد و کاهش چشمگیری در گروه Sham-CCI نسبت به گروه کنترل و نیز افزایش شایان ملاحظه‌ای در HIIT-CCI نسبت به گروه Sham-CCI پس از پایان دوره پژوهش در وزن عضله EDL مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که کاهش فعالیت بدنی به شکل CCI سبب کاهش وزن عضله می‌شود. با این حال تمرین به شیوه HIIT می‌تواند این روند را کاهش دهد.

پژوهش‌های انجام‌گرفته در زمینه تأثیر کاهش فعالیت بدنی پس از تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 بسیار محدود است و پژوهش حاضر جزء نخستین بررسی‌ها در این زمینه است. در پژوهش رامز و همکاران (۲۰۱۹) با عنوان «تأثیر پیش آماده‌سازی با تمرین تناوبی شدید بر محافظت قلبی و عملکرد بطن چپ در برابر ایسکمی-خون‌رسانی مجدد<sup>۱</sup> (IR)»، نشان داده شد که یک دوره کوتاه‌مدت تمرین تناوبی شدید می‌تواند سبب کاهش اندازه سخته و جلوگیری از کاهش بارز عملکرد قلب در برابر

در پژوهش حاضر به بررسی اثر کاهش فعالیت بدنی پس از یک دوره HIIT بر بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله بازکننده دراز انگشتان (EDL) موش‌های نر و بیستار پرداخته شد. نتایج نشان داد که یک دوره HIIT سبب بیان افزایش یافته ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله EDL نسبت به گروه کنترل می‌شود. همچنین ایجاد CCI در موش‌های تحت بررسی سبب کاهش معنادار در بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 نسبت به گروه HIIT شد. علاوه بر این تفاوت معناداری بین گروه C و HIIT، بین گروه Sham-CCI و HIIT و همچنین بین گروه CCI-HIIT و HIIT در بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 مشاهده شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین به شیوه HIIT سبب افزایش بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله EDL موش می‌شود و کاهش فعالیت بدنی پس از HIIT به کاهش بیان این ژن‌ها منجر می‌شود. در این پژوهش همچنین میزان تغییرات نسبت وزن عضله

2. Ischemia /Reperfusion

1. Ramez



شرایط سندروم متابولیک، کانال‌های TRPC دچار تنظیم افزایشی می‌شوند و تمرین استقامتی این وضعیت را معکوس می‌کند. به‌طور کلی، تأثیرات تمرین استقامتی بر پیام‌رسانی کلسیم، فنوتیپ عضله صاف کرونری را تعدیل می‌کند (۳۹). این یافته‌ها با یافته‌های پژوهش حاضر همراستا نیست، چراکه در پژوهش حاضر نشان داده شد که تمرین HIIT به افزایش بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 و کاهش فعالیت بدنی به کاهش بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 منجر می‌شود. افزون بر این پژوهش ایزدی و همکاران (۱۳۹۷) نشان داده شد که HIIT در رت‌های مبتلا به دیابت، تنظیم نامناسب کانال‌های کلسیمی RyR2<sup>۵</sup> را به‌وسیله سازوکاری که شدت و مدت تمرین را هدف قرار داده است، بهبود می‌بخشد و این نوع تمرین اثر کاهشی بیان ژن SERCA2a و RyR2 و بدکاری آنها را که از کاردیومیوپاتی دیابتی ناشی می‌شود، طبیعی می‌سازد یا کاهش می‌دهد (۴۰). همچنین لیو و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که در گروه تمرین، بیان mRNA ژن‌های تنظیم‌کننده کلسیم سلولی مانند STIM1 و Orai1 به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد و تمرین ورزشی مزمن با شدت متوسط سبب بهبود سیگنال‌های کلسیم داخل‌سلولی در لنفوسیت‌های کبدی می‌شود (۴۱). استرادا<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که جریان مختل‌شده کلسیم در شبکه آندوپلاسمی شریان‌های کرونری در موش‌های دیابتی که به‌علت کاهش در بیان پروتئین STIM1 ایجاد می‌شود، سبب تضعیف ریلکسیشن مرتبط با آندوتلیوم در شریان‌های کرونری دیابتی می‌شود. درحالی‌که بیش‌بینی STIM1 تأثیر درمانی مفیدی بر اختلالات آندوتلیال کرونری در دیابت دارد (۴۲). تناقض مشاهده‌شده در ادبیات پژوهشی

آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد شود. یافته‌های آنها همچنین نشان داد که آسیب IR و در پی آن افزایش فشار اکسایشی و ROS توانسته سبب افزایش بیان کانال‌های TRPC6 و فعالیت آنها و در نتیجه ورود بیش از حد کلسیم به داخل سلول و در نهایت افزایش آسیب و اندازه سخته و اختلال در عملکرد بطن چپ شود. براساس نتایج این پژوهش، افزایش پروتئین کلوتوآدر پی تمرین و در نتیجه بیان کمتر کانال‌های TRPC6 در جریان IR می‌تواند از سازوکارهای افزایش محافظت قلبی و کاهش اختلال در عملکرد قلب باشد (۳۶). این یافته‌ها همراستا با نتایج پژوهش حاضر است چراکه در پژوهش حاضر نشان داده شد که کاهش فعالیت بدنی پس از HIIT سبب کاهش بیان ژن‌های TRPC1 و TRPC3 می‌شود. همچنین یافته‌های پژوهش دنیل کورت<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۷) نشان می‌دهد که حذف ژن TRPC1 در موش‌هایی که تحت رژیم غذایی پرچرب و تمرین استقامتی بودند، به‌دلیل کاهش توده بافت چربی (در نتیجه کاهش اتوفاژی و افزایش آپوپتوز) از چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب و خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ محافظت می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش بیان ژن TRPC1 نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های متابولیک مانند دیابت نوع ۲ و چاقی وابسته به رژیم غذایی پرچرب دارد. همچنین می‌تواند تأثیر مثبت تمرین استقامتی را در پیشگیری از این بیماری‌ها از بین ببرد (۳۷). جانسون<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر جریان ورودی کلسیم مرتبط با سندروم متابولیک نشان دادند که این شیوه تمرینی بر افزایش بیان TRPC1 و STIM1 تأثیر محافظتی دارد و به کاهش آنها منجر می‌شود (۳۸). علاوه بر این نشان داده شده است که در

5. Ryanodine receptor2

6. liu

7. Estrada

1. Reactive oxygen species

2. Klotho

3. Danielle Krout

4. Janson

همچنین ظهور نشانه‌های پاتولوژیک مانند آتروفی عضلانی، عصبی، تسریع روند آپوپتوز و توسعه و تخریب عصبی می‌شود (۴۵). کاظمی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی تأثیر ۶ هفته فعالیت کاهش‌یافته به شکل درد نوروپاتیک بر بیان ژن پروتئین راننده یکشنبه عصب سیاتیک رت‌های نر ویستار نشان دادند که فعالیت کاهش‌یافته در اثر درد نوروپاتی با افزایش بیان پروتئین راننده یکشنبه همراه بوده است که احتمالاً این افزایش با آسیب و اختلال مرتبط با تخریب عصب و انتقال آکسونی در فعالیت کاهش‌یافته به شکل درد نوروپاتیک مرتبط است (۴۶). رحمتی و همکاران (۱۳۹۷) در پژوهش خود با عنوان «تأثیر فعالیت کاهش‌یافته به شکل درد نوروپاتیک بر بیان ژن GSK-3 $\beta$  در عصب سیاتیک رت‌های نر ویستار» نشان دادند که آلودینیای مکانیکی، پردردی حرارتی و فعالیت کاهش‌یافته با افزایش بیان ژن GSK-3 $\beta$  در عصب سیاتیک مرتبط است. با توجه به نتایج پژوهش آنها مشخص شد در سطوح سلولی، افزایش پاتولوژیک بیان ژن GSK-3 $\beta$  به‌عنوان عامل کلیدی و تنظیم‌کننده در نورون‌ها و کارکرد آنها، سبب تسریع عوارض مخرب در پی یک دوره فعالیت کاهش‌یافته با مدل SNL می‌شود که در این تحقیق فواید فعالیت افزایش‌یافته (ورزشی) بیش از پیش مشخص شد. در واقع، می‌توان نتیجه گرفت فعالیت کاهش‌یافته (مدل CCI و SNL) و افزایش‌یافته (تمرین ورزشی) در دو سوی پیوستار با تغییرات در سطوح سلولی و آنزیمی نورون‌ها می‌تواند سبب ظهور شرایط تخریب عصبی، آپوپتوز، آتروفی عصبی یا بهبود رشد و جوانه‌زنی نورونی در شبکه نورونی، جلوگیری از روند آپوپتوز و آتروفی عصبی شود که اهمیت فعالیت بدنی را بیش از پیش نمایان می‌سازد (۴۷).

در مجموع نتایج این بررسی نشان داد که یک دوره HIIT سبب بیان افزایش‌یافته ژن‌های TRPC1 و TRPC3 در عضله EDL نسبت به گروه کنترل می‌شود و

را شاید بتوان به نوع تمرین، نوع آزمودنی و روش‌های اندازه‌گیری متغیرهای مورد استفاده در پژوهش‌ها نسبت داد.

در مورد تأثیر CCI بر بیان ژن‌های TRPC مرتبط با ژن‌های درگیر در جریان کلسیم تحقیقی یافت نشد. با این حال تأثیر کاهش فعالیت بدنی بر دیگر جنبه‌های سیستم عصبی - عضلانی بررسی شده است. رضایی‌پور و همکاران (۱۳۹۸) در پژوهش خود به بررسی اثر تمرین مقاومتی اندام فوقانی در پی یک دوره بی‌حرکی اندام تحتانی بر بیان ژن‌های MuRF1, FoxO3a و MAFbx عضله نعلی رت‌های تمرین‌کرده پرداختند. آنها نتیجه گرفتند که به‌نظر می‌رسد تمرین مقاومتی از طریق کاهش یا عدم افزایش بیان ژن‌های MuRF1, FOXO, MAFbx از آتروفی عضلانی در دوره بی‌حرکی جلوگیری کرده است و احتمالاً تمرین مقاومتی راه‌حل مناسبی برای کاهش آتروفی عضلانی ناشی از بی‌حرکی عضلانی است (۴۳). فرزاد و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی اثر تمرین شنا بر درد نوروپاتی الفاشده به روش CCI در موش‌های صحرایی نر بالغ پرداختند. یافته‌های آنان نشان داد که هایپرالژزیای مکانیکی و پردردی حرارتی در گروه‌هایی که متحمل جراحی CCI شده بودند، به شکل چشمگیری کاهش یافته و تمرینات شنا نیز شدت رفتارهای درد ناشی از CCI عصب سیاتیک را کاهش داده است. هرچند، این نکته قابل تأمل است که تمرینات شنا، به شکل کامل، رفتار درد را مهار نکرده است (۴۴). کاظمی و همکاران (۱۳۹۴) در پژوهشی با عنوان «اثر فعالیت کاهش‌یافته با لیگاتوربندی نخاع بر بیان CDK5 عصب سیاتیک و آزمون‌های رفتاری رت‌های نر ویستار دارای درد نوروپاتیک» نشان دادند که به‌نظر می‌رسد در پی یک دوره فعالیت کاهش‌یافته به شکل لیگاسیون عصبی، افزایش پاتولوژیک بیان ژن CDK5 سبب افزایش آثار مخرب بر سیستم عصبی و عضلانی و

مانند عضله EDL را درگیر می‌کند، سبب افزایش میزان بیان این دو ژن می‌شود. بنابراین احتمالاً مسیر PI3K/AKT از مسیرهایی است که در نتیجه تمرینات تناوبی شدید سبب افزایش توده عضلانی می‌شود. از طرف دیگر، مشخص شده است که این دو ژن در جریان کلسیم نیز درگیرند و با توجه به اینکه کاهش فعالیت بدنی سبب کاهش میزان بیان TRCP1 و TRCP3 همراه با آتروفی عضلانی شده است، مسیرهای آتروفیک وابسته به کلسیم و همچنین تنظیم کاهشی NFAT نیز با کاهش بیان این ژن‌ها ارتباط دارد یا ژن‌های TRCP1 و TRCP3 در کاهش توده عضلانی از طریق این مسیرها سهیم‌اند، زیرا بین کاهش مجموعه ریانودین و کاهش بیان این دو ژن در ضعف عضلانی ناشی از کاهش توده عضلانی ارتباطی وجود دارد (۳۱). به نظر می‌رسد تمرینات تناوبی شدید مسیرهای آتروفی وابسته به کلسیم و همچنین مسیرهای سنتز پروتئین را که در بالا اشاره شد، به ترتیب کاهش و افزایش داده است. از طرف دیگر، کاهش فعالیت بدنی به شکل CCI اثری معکوس داشته است.

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که انجام تمرین تناوبی شدید پیش از یک دوره کاهش فعالیت بدنی به شکل خراش عصبی می‌تواند سبب حفظ و افزایش سطوح بیان ژن‌های TRCP-1 و TRCP3 شود. از طرف دیگر، بیان ژن‌های درگیر در جریان کلسیم و ژن‌های مرتبط با آتروفی عضلانی با ایجاد خراش عصبی به‌عنوان روشی برای کاهش فعالیت بدنی کاهش یافت. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که انجام تمرین پیش از یک دوره بی‌فعالیتی که ممکن است به آتروفی عضلانی منجر شود، به‌منظور حفظ توده عضلانی

کاهش فعالیت بدنی به کاهش در بیان این ژن‌ها می‌انجامد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که کاهش فعالیت بدنی به شکل CCI سبب کاهش وزن عضله می‌شود، با این حال تمرین به شیوه HIIT می‌تواند این کاهش وزن عضلانی را کمتر کرده و از آتروفی عضلانی ناشی از کاهش فعالیت بدنی پیشگیری کند. این نتایج نشان می‌دهد که کاهش فعالیت بدنی تأثیر منفی و مخرب بر ژن‌های درگیر در جریان ورودی کلسیم در عضله اسکلتی می‌گذارد، چراکه نشان داده شده است که TRPC3 جریان ورودی کلسیم را واسطه‌گری می‌کند و سبب فعال شدن عامل هسته‌ای فعال‌کننده سلول‌های T (NFAT) در عضله در حال دوباره شکل‌گیری می‌شود. همچنین نقش TRPC1 و TRPC3 در بسیاری از فرایندهای پاتوفیزیولوژیک عضلات اسکلتی در ارتباط با رشد عضله، پیام‌رسانی و هموستاز کلسیم مشخص شده است (۲۵). سرکوب ژن TRPC1 در جریان ورودی کلسیم، بیان مارکرهای تمایز مایوژنیک را کاهش می‌دهد و در نهایت عضله‌زایی را متوقف می‌کند (۲۳). همچنین مشخص شده است که کاهش بیان TRPC1 می‌تواند با کاهش در جریان ورودی کلسیم مرتبط باشد و بدین‌وسیله فرایند عضله‌زایی را تحت تأثیر قرار دهد (۲۶، ۲۷). در سطوح سلولی، نارسایی در جابه‌جایی کلسیم، به‌عنوان عاملی مهم در نارسایی الکتریکی عضلانی مرتبط با پیری، شناخته شده است (۲۸). به‌عبارت دیگر، رهاسازی کلسیم سیتوپلاسمیک به شکل ناقص به‌عنوان ضعف عضلانی وابسته به پیری شناخته شده است (۳۱). مشخص شده است که TRCP1 و TRCP3 از طریق تعدیل مسیر PI3K/AKT بر حفظ توده عضلانی تأثیرگذار است (۲۳). میزان این ژن‌ها در زمان سنتز عضله افزایش می‌یابد (۲۴). در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد که تمرین تناوبی شدید که تارهای سرعتی

استفاده شود. به سایر محققان پیشنهاد می‌شود که از دیگر روش‌های بی‌فعالیتی پیش از انجام تمرینات ورزشی استفاده شود تا آثار تمرین ورزشی پس از چنین مدل‌های بی‌تمرینی بر ژن‌های درگیر در جریان کلسیم و همچنین ژن‌های درگیر در آتروفی عضلانی نیز مشخص شود.

ضروری است. در پژوهش حاضر انجام تمرینات سبب افزایش بیان ژن‌های مرتبط در عضله بازکننده دراز انگشتان به‌عنوان عضله تندانقباض شد. توصیه می‌شود پیش از دوره‌های جراحی یا هر گونه کاهش فعالیت بدنی از تمرینات تناوبی شدید به‌منظور کاهش آثار بی‌فعالیتی

#### منابع و مآخذ

1. Hodges P, Holm AK, Hansson T, Holm SJS. Rapid atrophy of the lumbar multifidus follows experimental disc or nerve root injury. 2006;31(25):2926-33.
2. Burnett MG, Zager ELJNf. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. 2004;16(5):1-7.
3. Ghulam Hussain, Jing Wang, Azhar Rasul, Haseeb Anwar, Muhammad Qasim, Shamaila Zafar, et al. Current Status of Therapeutic Approaches against Peripheral Nerve Injuries: A Detailed Story from Injury to Recovery. *Int J Biol Sci.* 2020; 16(1): 116–134.
4. Lars Larsson, Hans Degens, Meishan Li, Leonardo Salviati, Young il Lee, Wesley Thompson, et al. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol Rev.* 2019 Jan 1; 99(1): 427–511
5. Giger JM, Bodell PW, Zeng M, Baldwin KM, Haddad FJJoAP. Rapid muscle atrophy response to unloading: pretranslational processes involving MHC and actin. 2009;107(4):1204-12.
6. Rodriguez J, Vernus B, Chelh I, Cassar-Malek I, Gabillard J-C, Sassi AH, et al. Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. 2014;71(22):4361-71.
7. Radak Z, Sasvari M, Nyakas C, Kaneko T, Tahara S, Ohno H, et al. Single bout of exercise eliminates the immobilization-induced oxidative stress in rat brain. 2001;39(1):33-8.
8. Adams GR, Caiozzo VJ, Baldwin KMJJoap. Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models. *J Appl Physiol.* 2003; 95: 2185–2201.
9. Fitts RH, Riley DR, Widrick JJJJoap. Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. 2000;89(2):823-39.
10. Charge SB, Rudnicki MAJPr. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev.* 2004 Jan;84(1):209-38.
11. Chopard A, Hillock S, Jasmin BJJJoc, medicine m. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. 2009;13(9b):3032-50.
12. Rennie MJ, Wackerhage H, Spangenburg EE, Booth FWJARP. Control of the size of the human muscle mass. 2004;66:799-828.
13. Glass DJJNcb. Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. 2003;5(2):87-90.

14. Ingalls CP, Warren GL, Armstrong RJJ, AP. Intracellular Ca<sup>2+</sup> transients in mouse soleus muscle after hindlimb unloading and reloading. 1999;87(1):386-90.
15. Zhu Y, Fan X, Li X, Wu S, Zhang H, Yu LJ, NI. Effect of hindlimb unloading on resting intracellular calcium in intrafusal fibers and ramp-and-hold stretches evoked responsiveness of soleus muscle spindles in conscious rats. 2008;442(3):169-73.
16. Zhe Wang, Jie Zhang, Xiu-Feng Ma, Hui Chang, Xin Peng, Shen-Hui Xu, et al. A Temporal Examination of Cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> Levels, Sarcoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup> Levels, and Ca<sup>2+</sup>-Handling-Related Proteins in Different Skeletal Muscles of Hibernating Daurian Ground Squirrels. *Front Physiol.* 2020 Oct 21;11:562080.
17. Shenkman BS, Nemirovskaya TJ, Jomr, motility c. Calcium-dependent signaling mechanisms and soleus fiber remodeling under gravitational unloading. 2008;29(6-8):221-30.
18. van der Velden JL, Langen RC, Kelders MC, Wouters EF, Janssen-Heininger YM, Schols AMJA, JoP-CP. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  activity is sufficient to stimulate myogenic differentiation. 2006;290(2):C453-C62.
19. van der Velden JL, Langen RC, Kelders MC, Willems J, Wouters EF, Janssen-Heininger YM, et al. Myogenic differentiation during regrowth of atrophied skeletal muscle is associated with inactivation of GSK-3 $\beta$ . 2007;292(5):C1636-C44.
20. Michelle K. Tu, Jacqueline B. Levin, Andrew M. Hamilton, and Laura N. Borodinsky. Calcium signaling in skeletal muscle development, maintenance and regeneration. *Cell Calcium.* 2016; 59(2-3): 91–97.
21. Friday BB, Horsley V, Pavlath GK, JT, Jobc. Calcineurin activity is required for the initiation of skeletal muscle differentiation. 2000;149(3):657-66.
22. Louis M, Zanou N, Van Schoor M, Gailly PJ, Jocs. TRPC1 regulates skeletal myoblast migration and differentiation. 2008;121(23):3951-9.
23. Formigli L, Sassoli C, Squecco R, Bini F, Martinesi M, Chellini F, et al. Regulation of transient receptor potential canonical channel 1 (TRPC1) by sphingosine 1-phosphate in C2C12 myoblasts and its relevance for a role of mechanotransduction in skeletal muscle differentiation. 2009;122(9):1322-33.
24. Zanou N, Schakman O, Louis P, Ruegg UT, Dietrich A, Birnbaumer L, et al. Trpc1 ion channel modulates phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway during myoblast differentiation and muscle regeneration. 2012;287(18):14524-34.
25. Brinkmeier H. TRP channels in skeletal muscle: gene expression, function and implications for disease. *Transient Receptor Potential Channels: Springer;* 2011 .p. 749-58.
26. Zhang B-T, Yeung SS, Liu Y, Wang H-H, Wan Y-M, Ling S-K, et al. The effects of low frequency electrical stimulation on satellite cell activity in rat skeletal muscle during hindlimb suspension. 2010;11(1):87.
27. Washington TA, White JP, Davis JM, Wilson LB, Lowe LL, Sato S, et al. Skeletal muscle mass recovery from atrophy in IL-6 knockout mice. 2011;202(4):657-69.

28. Thomas Seidel, Sutip Navankasattusas, Azmi Ahmad, Nikolaos A. Diakos, Weining David Xu, et al. Sheet-Like Remodeling of the Transverse Tubular System in Human Heart Failure Impairs Excitation-Contraction Coupling and Functional Recovery by Mechanical Unloading. *Circulation*. 2017. 25; 135(17): 1632–1645.
29. Janczewski AM, Lakatta EGJHfr. Modulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> cycling in systolic and diastolic heart failure associated with aging. 2010;15(5):431-45.
30. Zhu X, Altschafli BA, Hajjar RJ, Valdivia HH, Schmidt UJCC. Altered Ca<sup>2+</sup> sparks and gating properties of ryanodine receptors in aging cardiomyocytes. 2005;37(6):583-91.
31. Russ D, Grandy J, Toma K, Ward CJAP. Ageing, but not yet senescent, rats exhibit reduced muscle quality and sarcoplasmic reticulum function. 2011;201(3):391-403.
32. Sandri MJP. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. 2008;23(3):160-70.
33. Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, Hagve M, Khalid AM, Wisløff U, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. 2011;111(5):1235-41.
34. Dias Q, Rossaneis A, Fais R, Prado WJBJoM, Research B. An improved experimental model for peripheral neuropathy in rats. 2013;46(3):253-6.
35. Pfaffl MWJNar. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. 2001;29(9):e45-e.
36. Ramez M, Rajabi H, Ramezani F, Naderi N, Darbandi-Azar A, Nasirinezhad FJBcd. The greater effect of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury through Klotho levels and attenuate of myocardial TRPC6 expression. 2019;19(1):1-10.
37. Krout D, Schaar A, Sun Y, Sukumaran P, Roemmich JN, Singh BB, et al. The TRPC1 Ca<sup>2+</sup>-permeable channel inhibits exercise-induced protection against high-fat diet-induced obesity and type II diabetes. 2017;292(50):20799-807.
38. Edwards JM, Neeb ZP, Alloosh MA, Long X, Bratz IN, Peller CR, et al. Exercise training decreases store-operated Ca<sup>2+</sup> entry associated with metabolic syndrome and coronary atherosclerosis. 2010;85(3):631-40.
39. Sturek MJJoAP. Ca<sup>2+</sup> regulatory mechanisms of exercise protection against coronary artery disease in metabolic syndrome and diabetes. 2011;111(2):573-86.
40. Izadi MR, Gaeini AA, Ravasi AA, Delfan MJJoSB. Effect of 4 weeks high intensity interval training on gene expression of Ryanodine receptor calcium channels (RyR2), SERCA2a and Phospholamban in diabetic rat's heart. 2018;10(1):1-12.
41. Liu R, Fan W, Krüger K, Xiao Y, Pilat C, Seimetz M, et al. Exercise affects T-Cell function by modifying intracellular calcium homeostasis. 2017;49(1):29-39.
42. Estrada IA, Donthamsetty R, Debski P, Zhou M-H, Zhang SL, Yuan JX-J, et al. STIM1 restores coronary endothelial function in type 1 diabetic mice. 2012;111(9):1166-75.
43. Rezaeipour S, Kordi MR, Gaeini AA, Gharakhanloo R. An Investigation of the Effect of Upper Limb Resistance Training after Lower Limb Immobilization on FoxO3a, MuRF1 and

- MAFbx Gene Expressions of Soleus Muscle in Trained Rats. *sport physiology and management investigation*. 2020. 4 (11): 81-90.
44. Farzad B, Rajabi H, Gharakhanlou R, Nasirinezhad F, Janzadeh A, Jameie SJSPS. Effect of swimming training on neuropathic pain induced by CCI in male adult rats: behavioral study. 2016;8(30):15-30.
45. Kazemi A, Rahmati M, Montazer S. The effect of decreased activity in the form of spinal nerve ligation on CDK5 expression in sciatic nerve and behavioral test of wistar rats with neuropathic pain. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2016; 17(6): 22-32.
46. Kazemi A, Rahmati M, Ziasistani A. Effects of 6 Weeks Decreased Activity in the Form of Neuropathic Pain on Sunday Driver Gene Expression in the Rat Sciatic Nerve Fibers. 2016; 8 (31): 121-134.
47. Rahmati M, Khazani A, Gharakhanlou R, Movaheddin M, Manaheji HJP, *Pharmacology*. Chronic effects of moderate intensity endurance training on neuropathic pain symptoms in diabetic rats. 2013;16(4):435-45.
48. Chapter 3 - Emphasizing Histone-Related Chromatin Remodeling in the Central Nervous System of Animal Models of Chronic Pain. 2019; 7:69-73.

## The effect of spinal cord CCI on the gene expression of TRPC1 and TRPC3 in the extensor digitorum muscle of the male Wistar rats after a period of HIIT

Arash Barzegar<sup>1</sup> - Abdolreza Kazemi<sup>\*2</sup>

1.MSc in exercise physiology, Department of Physical Education, Faculty of Letters and Humanities, Islamic Azad University Kerman Branch, Kerman, Iran  
2.Associate professor, Department of Physical Education, Faculty of Letters and Humanities, Vali E Asr University, Rafsanjan, Iran

(Received:2020/11/24;Accepted:2021/05/24)

### Abstract

Understanding the mechanisms involved in muscle atrophy and regeneration will help to develop the new treatments for muscle atrophy caused by inactivity. Therefore, according to decrease in muscle mass due to decreased muscle activity and the role of TRPC1 and TRPC3 in some models of muscle atrophy, the aim of this study was to investigate the effect of the decreased physical activity after HIIT on the gene expression of TRPC1 and TRPC3 in EDL muscle. 32 eight-weeks-old rats were randomly divided into four groups: control (C), control-decreased activity (Sham-CCI), exercise- decreased activity (HIIT-CCI) and exercise (HIIT). The duration of the training program was six weeks and five sessions per week. Dias and Rossaneis method (2013) were used to create the CCI model. Real-Time PCR was used to measure the mRNA expression of the genes. To determine the significance of the differences between the variables, two-way ANOVA test was used and if necessary, Tukey post hoc test was used. The results of this study showed that a period of HIIT leads to increased genes expression of TRPC1 and TRPC3 in EDL muscle compared to the control group (respectively  $p=0/01$  and  $p=0/01$ ). CCI in mice showed a significant decrease in genes expression of TRPC1 and TRPC3 compared to the HIIT group (respectively  $p=0/001$  and  $p=0/000$ ). In addition, significant differences were observed CCI-HIIT and HIIT groups in genes expression of TRPC1 and TRPC3 (respectively  $p=0/001$  and  $p=0/003$ ). These findings indicate that HIIT training increases the genes expression of TRPC1 and TRPC3 and decreases physical activity after HIIT leads to decreased genes expression of TRPC1 and TRPC3. In this study, a significant decrease in EDL muscle weight in Sham-CCI was observed compared to the control group and also a significant increase in EDL muscle weight in HIIT-CCI compared to Sham-CCI group after the end of the research period. These results indicate that the CCI leads to a decrease in EDL muscle weight. However, HIIT can reduce this reduction.

### Key words

Spinal cord CCI, TRPC1, TRPC3, High intensity interval training

\* Corresponding Author: Email: a.kazemi@vru.ac.ir ; Tel: +989133982706



