تأثیر اجرای یک دوره تمرین مقاومتی بر مسیر پیام رسانی mTOR و $p70^{s6k}$ در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی

جواد نعمتی✉[۱]، مهدی صمدی[۲]، وحید حدیدی[۳]، برایان مکین تاش[۴]

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شیراز، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی، بخش تربیت بدنی و علوم ورزشی
۲. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشگاه شیراز، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی، بخش تربیت بدنی و علوم ورزشی
۳. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشگاه شیراز، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی، بخش تربیت بدنی و علوم ورزشی
۴. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه کلگری کانادا، دانشکده تربیت بدنی، آزمایشگاه عملکردی انسان

تاریخ دریافت مقاله:۹۴/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۰۷/۱۹

چکیده

مقدمه: شناخت سازوکارهای پیام رسانی سلولی درگیر در فرایند هایپرتروفی عضلانی یکی از چالش‌های بیولوژیست‌های ورزشی می‌باشد. در این مورد عنوان شده است هدف راپاماسین در پستانداران (mTOR)" مهمترین عامل تنظیم‌گر این فرایند است که از طریق فسفریله کردن "پروتئین ریبوزومی ۷۰ کیلو دالتونی S6 کیناز ($p70^{S6K}$)" سنتز پروتئین را در عضله اسکلتی افزایش می‌دهد.
هدف: هدف از پژوهش حاضر، تعیین تأثیر اجرای یک دوره تمرین مقاومتی بر بیان پروتئین‌های تام و فسفریله mTOR و $p70^{s6k}$ به عنوان تنظیم‌گر اصلی هایپرتروفی در عضله خم کننده طویل انگشتان پا (FHL) رت‌های نر سالم بود. **روش شناسی:** به همین منظور ۱۲ سر رت نر اسپرادوگولی به دو گروه کنترل (n=۶) و تمرین (n=۶) تقسیم شدند. گروه تمرین مقاومتی طی هشت هفته و هر هفته پنج جلسه بالا رفتن از نردبان یک متری با وزنه‌ای آویزان به دم اجرا کردند. افزایش بار به صورت هفتگی بر اساس وزن بدن موش‌ها به طوری بود که در هفته اول از ۳۰٪ به ۲۰۰٪ در هفته هشتم رسید. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، عضله FHL استخراج شد و میزان بیان پروتئین‌های مربوطه به روش الایزا اندازه‌گیری گردید و برای تحلیل آماری از روش آنوا یکطرفه استفاده شد. **نتایج:** نتایج نشان داد، اجرای تمرین مقاومتی موجب افزایش معنادار شکل فسفریله پروتئین‌های mTOR و $p70^{s6k}$ می‌شود (P=۰/۰۰۱) (P=۰/۰۴). اما موجب افزایش معنادار محتوی پروتئینی تام mTOR و $p70^{s6k}$ نشد (P=۰/۴۲۱) (P=۰/۹۴). **بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، می‌توان عنوان کرد که هایپرتروفی ناشی از تمرین مقاومتی با افزایش فسفریلاسیون mTOR و $p70^{s6k}$ همراه است.

کلید واژه‌ها: mTOR، $p70^{s6k}$، تمرین مقاومتی، هایپرتروفی عضلانی، پیام رسانی سلولی

Effect of resistance training on mTOR and P70S6K Signaling pathway in skeletal muscle of rats

Abstract

Introduction: Elucidating cell signaling mechanisms involved in muscle hypertrophy is one of the challenges of sport biologists. **Purpose:** The mammalian target of Rapamycin (mTOR) is the most important factor in this process that regulated through phosphorylated the ribosomal protein S6 kinase of 70 kDa ($p70^{S6K}$) and increases protein synthesis in skeletal muscle. The purpose of this study was to determine the effect of resistance training (RT) on total (TmTOR) and phosphorylated (PmTOR) mTOR protein content and total (TP70) and phosphorylated $p70^{s6k}$ (PhP70) protein content, as markers of hypertrophy regulation in flexor hallucis longus (FHL) in normal male rats undergoing RT. For this purpose, 12 male Sprague Dawley rats were randomly divided into control (6 = n) and RT (6 = n). The RT consisted of climbing a ladder carrying a load suspended from the tail for 8 weeks (5 session week). The load of training was progressively changed 30-200 % of subject's bodyweight. To investigate muscle samples, 48 hour after the last training session, FHL muscle was removed while animals were anestheitized. TmTOR, PmTOR, TP70PC and PhP70PC was measured by ELISA in muscle extract. One-way ANNOVA was used. **Results:**The results showed RT muscle had a significantly greater Pour and p70s6k (P=0.001) (P=0.04).but no significant difference in TmTOR and p70s6k (p=0.421) (p=0.94). Totally, these **Conclusion:** findings, demonstrate that RT causes hypertrophy with increased phosphorylation of mTOR and p70s6k fitted.

Keywords: mTOR, $p70^{s6k}$, Resistance training, muscle hypertrophy, cell signaling

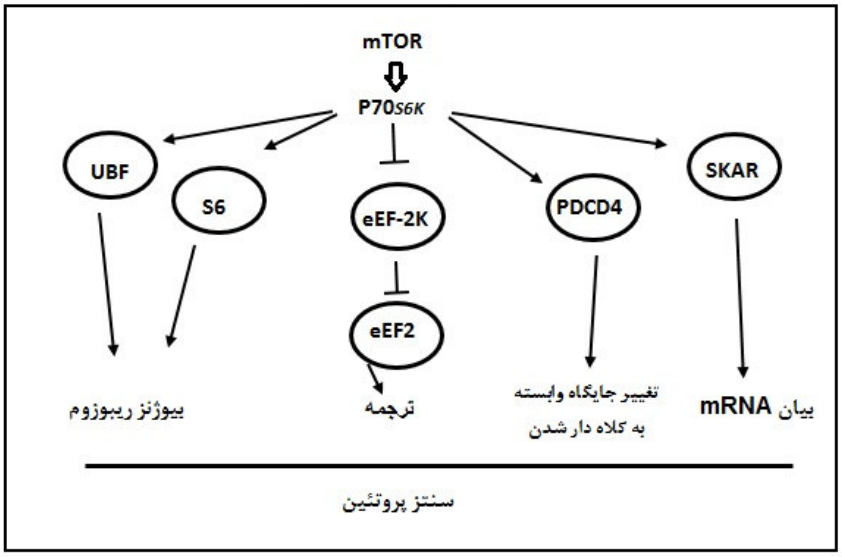
✉ **نویسنده مسئول:** جواد نعمتی تلفن: ۰۹۱۲۳۹۴۳۰۹۵
آدرس: شیراز، میدان ارم، پردیس ارم دانشگاه شیراز، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی، بخش تربیت بدنی و علوم ورزشی
پست الکترونیکی: nemati_phy@yahoo.com

مقدمه:

اهمیت حیاتی عضله اسکلتی برای سلامت عمومی و فعالیت‌های روزمره افراد به خوبی مورد قبول همگان می‌باشد. بنابراین حفظ، افزایش و همچنین جلوگیری از کاهش توده عضلانی ضروری به نظر می‌رسد(۱). مشخص شده است، تمرین مقاومتی موثرترین راه افزایش حجم عضلانی بوده (۲) و به عنوان یکی از محرک‌های تغییر هموستاز در عضله اسکلتی است که در طول زمان به شکل افزایش تعداد و عملکرد پروتئین‌های عضله پدیدار می‌شود(۳). بافت عضلانی از پروتئین‌های بی‌شماری تشکیل شده است که میزان کلی این پروتئین‌ها بوسیله تعادل بین سنتز و تجزیه پروتئین تعیین می‌شود(۴). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که تمرین مقاومتی سنتز و تجزیه پروتئین را افزایش می‌دهد، این در صورتی است که تجزیه را ۳۰٪ افزایش داده اما سنتز را بیش از ۳۰۰٪ افزایش می‌دهد(۵).

اگر چه این پدیده به طور وسیع مورد تحقیق قرار گرفته است، اما سازوکارهای سیگنالی این افزایش توده عضله اسکلتی تا حدود زیادی ناشناخته مانده است و شناخت این سازوکارها امروزه یکی از چالش‌های جدی بیولوژیست‌های ورزشی می‌باشد(۶). حدود ۲۰۰ سال است که توجه محققان به فنوتیپ حیوانات پرواری معطوف گردیده و عوامل متعددی را مثل میوستاتین، فولستاتین، عامل رشدی شبه انسولینی که در فرایند هایپرترفی درگیرند را شناسایی کردند(۶) اما در این میان مشخص شده است که مهم‌ترین فاکتور در سنتز پروتئین " هدف راپاماسین در پستانداران[۱] (mTOR)" است که علاوه بر سنتز پروتئین نقش بسزایی در تجزیه پروتئین هم ایفاء می‌کند(۸،۷).

mTOR یک سرین/ترئونین کیناز از خانواده پروتئین کینازهای مرتبط با فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز[۲] (PIKKs) بوده که به صورت انتخابی توسط آنتی بیوتیک‌های ماکرولیدی راپامایسین مهار می‌شود و نام گذاری آن نیز بر همین اساس صورت گرفته است(۹). اثرات mTOR، شامل افزایش ترجمه پروتئین، بیوژنز ریبوزوم (افزایش ظرفیت یک سلول برای سنتز پروتئین) و همچنین مهار فرایند اُتوفاژی[۳] (یک پدیدهٔ کاتابولیکی است که در حین آن پروتئین‌ها و حتی اندامک‌های سیتوپلاسمی در داخلِ حفراتِ دو غشایی محصور شده و در نهایت تجزیه می‌شوند) است. علاوه بر این، mTOR تقسیم سلولی و رونویسی برخی از ژن‌ها را نیز افزایش می‌دهد(۱۱،۱۰،۷). مشخص شده است mTOR در مسیر پیام رسانی خود، باعث فسفریله شدن "پروتئین ریبوزومی ۷۰ کیلو دالتونی S6 کیناز[۴] ($p70^{S6K}$)" که برای سنتز پروتئین ضروری است، می‌شود(۱۲) (شکل ۱).



شکل ۱. مسیر پیام رسانی mTOR و $p70^{S6K}$ [۱۰،۲].

$p70^{S6K}$ عضوی از خانواده پروتئین کینازهای AGC است و با فسفریله کردن چندین سوبسترا شامل SKAR[۵]، PDCD۴ [۶]، eEF-2K[۷]، eIF4B[۸] و پروتئین ریبوزومی S6، ترجمه mRNA را افزایش می‌دهد. در واقع، نقش $p70^{S6K}$ در افزایش ترجمه mRNA، به عنوان عامل فسفریله کننده eEF-2 کیناز (eEF-2k) به بهترین شکل مشخص می‌شود. eEF-2k از طریق فسفریله کردن eEF2، آن را سرکوب و باعث کاهش ترجمه mRNA می‌شود اما $p70^{S6K}$، eEF-2k را به‌طور مستقیم فسفریله و مهار می‌کند(۱۲). بدین ترتیب mTOR و $p70^{S6K}$ موجب افزایش فرایند ترجمه و بیان پروتئین‌های مورد نیاز ساختار عضله می‌شوند.

از آنجایی که افزایش سنتز پروتئین، اصلی‌ترین عامل هایپرتروفی عضله اسکلتی می‌باشد و با توجه شواهد بیان شده، مسیر پیام رسانی mTOR اصلی ترین مکانیزم در سنتز پروتئین است، احتمالا تمرینات مقاومتی از طریق فعال کردن این مسیر باعث هایپرتروفی عضلانی می‌شوند. اما مطالعات نتایج متناقضی را در این زمینه گزارش کرده‌اند. برای مثال، گودمن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند mTOR می‌تواند در پاسخ به تمرین مقاومتی افزایش یابد و باعث تولید ریبوزوم درعضلات موش‌های ترانس ژنیک شود(۱۳). در مقابل هاراگوچی و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده نمودند بیان ژن mTOR در پی تمرینات مقاومتی افزایش پیدا نکرده است(۱۴).

از طرف دیگر mTOR برای فعال شدن و اثر گذاری در موارد ذکر شده باید فسفریله شود(۱۱،۷) ولی هنوز به خوبی مشخص نگردیده است که آیا تمرینات مقاومتی mTOR تام را افزایش می‌دهند یا فقط فسفریله را، و کدامیک نقش اصلی را در سازگاری هایپرتروفی با تمرینات مقاومتی ایفا می‌کنند. در این زمینه اطلاعات اندکی موجود است، گودمن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند تمرینات مقاومتی از طریق افزایش mTOR تام و فسفریله موجب هایپرتروفی عضلانی می‌شوند(۱۳) اما نیاز است تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود. بنابراین با توجه به تناقض در یافته‌های تاثیر تمرین مقاومتی بر mTOR و p70S6K هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین مقاومتی بر سطوح تام و فسفریله پروتئین‌های mTOR و p70S6K در عضله FHL موش صحرایی نر سالم بود.

روش‌شناسی پژوهش:

نمونه‌ها. ۱۲سر موش صحرایی نر نژاد اسپرادوگولی[۹] (۲۰وزن ±۱۸۰ گرم و سن هشت هفته) به مدت یک هفته با پروتکل تمرین مقاومتی و صعود از نردبان عمودی در آزمایشگاه عملکردی انسان (HPL[۱۰]) در دانشگاه کلگری آشنا سازی شدند. سپس رت‌ها به طور تصادفی به دوگروه تمرین مقاومتی (n=6) و کنترل(n=6) تقسیم و نگهداری از رت‌ها تحت شرایط استاندارد و کاملا یکسان برای دو گروه (به جز برنامه تمرینی) انجام گردید. پروتکل تجربی حاضر توسط سازمان مراقبت از حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه تصویب و تمام مراحل بر اساس دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی موسسه ملی بهداشت (NIH) کانادا انجام گرفت.

نحوه‌ی اجرای پروتکل تمرین مقاومتی. تمرین مقاومتی بر اساس مطالعه نعمتی و همکاران (۲۰۱۲) (۱۵) طراحی گردید. در هفته اول میزان وزن‌های بسته شده به موش‌ها ۳۰ درصد وزن بدن آن‌ها بود که به تدریج افزایش یافت و به حدود ۲۰۰ درصد وزن بدن آن‌ها در هفته پایانی رسید. این تمرین برای هشت هفته و هفته‌ای پنج جلسه صعود از نردبان یک متری با ۲۶ پله، که توسط گروه پژوهشی ساخته شده بود، اجرا شد. بار تمرینی بر اساس درصدی از وزن رت‌ها بود. بدین صورت که ابتدای هر هفته رت‌ها وزن کشی می‌شدند و درصدی از وزن بدن آن‌ها به عنوان بار تمرینی هفته در نظر گرفته می‌شد. در هفته اول میزان وزنه‌های بسته شده به دم رت‌ها حدود ۳۰ درصد وزن بدن آن‌ها بود که به تدریج افزایش یافت و در هفته پایانی به حدود ۲۰۰ درصد رسید (جدول ۱).

جدول ۱. برنامه هفتگی تمرینات مقاومتی مورد استفاده در تحقیق

هفته‌ها	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
بار (بر حسب درصد وزن بدن)	۳۰	۷۰-۸۰	۱۰۰	۱۲۰-۱۳۰	۱۴۰-۱۵۰	۱۷۰-۱۷۵	۱۸۰-۱۹۰	۲۰۰

صعود از نردبان در سه نوبت چهار تکراری انجام می‌شد و سه دقیقه بین نوبت‌ها و ۱۰ ثانیه بین تکرارها زمان استراحت در نظر گرفته شد(۱۵). گروه کنترل نیز برای تجربه‌ی تمام شرایط موجود (صدای محیط و پژوهشگران در حین تمرین)، در محل تمرینات نگهداری شدند.

آماده سازی بافت. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با ترکیبی از کتامین و زایلازین (۵۰-۳۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن) بی هوش شدند. عضله FHL آن‌ها تحت شرایط استریل از اندام تحتانی جدا و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد، سپس در دمای ۸۰- درجه برای اجرای سنجش آزمایشگاهی مورد نظر نگهداری شد.

اندازه‌گیری متغیرها. میزان بیان پروتئین‌های مورد نظر با روش الایزا ساندویچی و با استفاده از کیت‌های مخصوص موش صحرایی محصول شرکت Cell signaling کشور آمریکا به شماره سریال‌های ۷۹۷۴≠ برای mTOR تام و ۷۹۷۶≠ برای mTOR فسفریله، ۲۹۰۳≠ برای p70 ^{S6K} تام و ۹۲۰۵≠ برای p70 ^{S6K} فسفریله اندازه‌گیری شد. بعد از اینکه بافت‌ها با استفاده از بافر PBS با ترکیب آپروتینین به عنوان آنتی پروتئاز (۱ میلی لیتر) هموژن شدند. بافت هموژن شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، بخش محلول فوقانی جدا و با استفاده از دستورالعمل کیت‌ها محتوی پروتئین‌ها بدست آمد.

با نظر متخصص بیوشیمی آزمایشگاه، برای هر نمونه دو بار اندازه‌گیری انجام شد و میانگین دو مرحله اندازه‌گیری محاسبه گردید.

برای طبیعی سازی داده‌ها بر اساس وزن عضله و کنترل داخلی کیت ابتدا وزن عضله تقسیم بر ۱۰ شد و سپس میانگین محتوی پروتئینی بر آن تقسیم گردید. عدد بدست آمده نیز بر عدد کنترل داخلی کیت که توسط متخصص بیوشیمی بدست آمده بود، تقسیم شد. در نهایت برای بدست آوردن تغییرات چند برابری گروه تمرین نسبت گروه کنترل، داده‌های گروه تمرین بر میانگین گروه کنترل تقسیم شدند.

تحلیل آماری. برای مقایسه میانگین سطوح پروتئین‌های mTOR تام، mTOR فسفریله شده، p70 ^{S6K} تام و p70 ^{S6K} فسفریله شده از آزمون آنوا یکطرفه استفاده شد. پیش از اجرای طرح آماری مفروضه های پراکندگی طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیرو- ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون ارزیابی شدند. کلیه عملیات آماری توسط نرم افزار PASW نسخه ۱۸ انجام شد و سطح معناداری آزمون P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

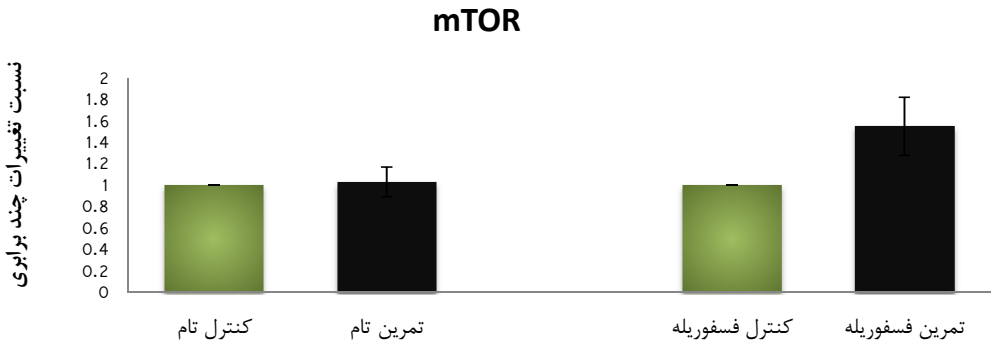
نتایج:

با آنکه اجرای آزمون قدرت یک تکرار بیشینه در موش‌های صحرایی تقریباً ناممکن است اما افزایش توانایی برای حمل ۲۰۰ درصد وزن بدن در رت‌هایی که در آغاز تمرینات برای حمل بار ۳۰ درصد وزن بدن با مشکل رو به رو بودند، حاکی از افزایش در قدرت آنان بود. بنابراین، به نظر می‌رسد پژوهش حاضر منجر به افزایش قدرت موش‌های صحرایی پس از هشت هفته تمرین مقاومتی صعود از نردبان با حمل وزنه شده است. ضمن اینکه وزن گروه تمرین مقاومتی در پایان تمرینات تقریبا برابر با گروه کنترل بود (جدول ۲).

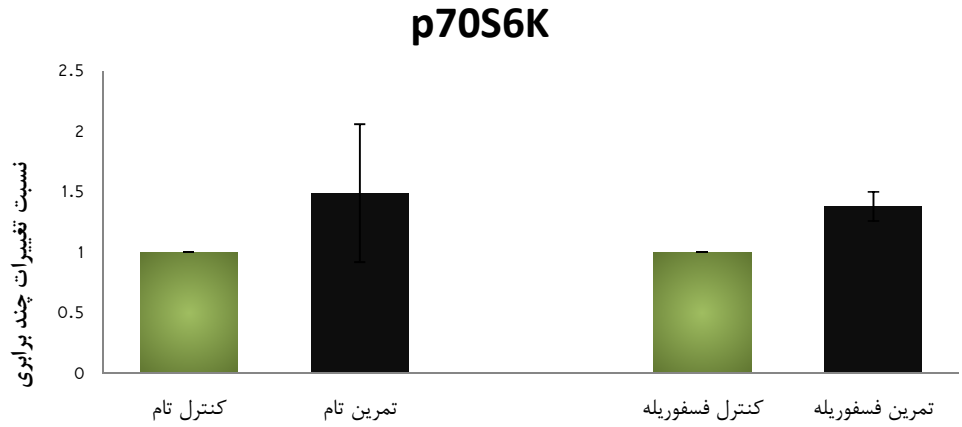
جدول ۲. وزن حیوانات گروه‌های کنترل و تجربی پیش و پس از مداخله (برحسب گرم)

	گروه کنترل		گروه تجربی	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
پیش از مداخله	۱۹۳/۱۳	۶/۲۱	۱۸۷/۵۰	۷/۴۱
پس از مداخله	۳۱۱/۰۰	۳۲/۵۱	۲۷۸/۶۷	۱۵/۱۶

نتایج یافته‌های این پژوهش نشان داده، یک دوره تمرینات مقاومتی بر محتوی پروتئین mTOR تام تاثیر معناداری نداشته است (P=۰/۴۲۱، F=۰/۷۲۰)، اما میزان mTOR فسفریله شده در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری داشت (P=۰/۰۰۱، F=۶۸۴/۸۹۳، Eta^2=۰/۹۸۸). برای محتوی p70 ^{S6K} تام نیز همانند mTOR تام تاثیر معناداری نداشته است(P=۰/۹۴، F=۳/۶۰۹)، اما برای p70 ^{S6K} فسفریله شده در بین گروه‌های ذکر شده تفاوت معناداری وجود داشت، به ترتیب (P=۰/۰۴، F=۵/۸۴، Eta^2=۰/۴۲) و (P=۰/۰۲۷، F=۷/۲۶۲، Eta^2=۰/۴۷۶) (نمودار ۱ و ۲).



نمودار۱. تغییرات mTOR در بین گروه‌های تمرین و کنترل



نمودار ۲. تغییرات میانگین p70S6K در بین گروه‌های تمرین و کنترل

بحث و نتیجه گیری:

هدف از این پژوهش، بررسی اثر یک دوره تمرین مقاومتی بر بیان پروتئین تام و فسفریله پروتئین‌های mTOR و $p70^{S6K}$ بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد، میزان mTOR و $p70^{S6K}$ فسفریله شده افزایش داشته است، اما محتوی تام آن‌ها افزایش معناداری نداشت.

در سلول عضلانی تغییر در محتوی تام پروتئین mTORنشان دهنده تغییر در میزان سنتز پروتئین‌های سلولی نیست، زیرا همانگونه که ذکر شده است، mTOR شکل فسفریله و غیر فسفریله دارد که شکل فسفریله‌ی آن فعال می‌باشد. اما می‌تواند شاخصی از افزایش بیان ژن mTOR و ظرفیت سنتز پروتئین باشد(۱۴). یافته‌های این پژوهش در مورد عدم افزایش محتوی تام پروتئینی mTOR همسو با هاراگوچی و همکاران (۲۰۱۳) و نا همسو با گود من و همکاران(۲۰۱۱) بود(۱۴،۱۳). علت عدم افزایش معنادار محتوی تام این پروتئین مشخص نیست و در این تحقیق بیان ژن آن نیز، اندازه‌گیری نگردید که مشخص شود آیا بیان ژنی آن افزایش داشته است یا خیر، اما به نظر می‌رسد باید به اثر پروتئین تنظیم‌کننده رشد و آسیب DNA (REDD1) بر مسیر سنتز پروتئین mTOR توجه کرد. زیرا گوردون و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که افزایش بیان پروتئین REDD1 بیان پروتئین mTOR را کاهش می‌دهد(۱۶).

مطالعات قبلی به خوبی نشان داده‌اند که برای تاثیر mTOR بر فرایند هایپرتروفی و افزایش سنتز پروتئین میزان فسفریله این پروتئین اثرگذار است و mTOR فسفریله شده مهم‌ترین شاخص سنتز پروتئین و هایپرتروفی عضلانی می‌باشد(۷). زیرا این پروتئین با

فسفریله شدن فعال می‌شود که در این پژوهش مشاهده نمودیم میزان آن در عضله رت‌ها افزایش یافته بود. mTOR چندین جایگاه برای فسفریله شدن دارد اما جایگاه سرین ۲۴۴۸ توسط تحریکات مکانیکی مانند تمرینات مقاومتی، فسفریله شده که باعث فعال شدن mTOR و فسفریله شدن پروتئین‌های پایین دست آن می‌شود(۱۸،۱۷).

mTOR از مسیرهای مختلفی می‌تواند فعال شود اما به طور کامل مشخص نشده است که تمرینات مقاومتی از کدام مسیر باعث فسفوریلاسیون mTOR می‌شوند(۱۹). یکی از مسیرهای پیشنهاد شده مسیر فاکتور رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1)-گیرنده تیروزین کیناز-فسفاتیدیل اینوزیتول-۳ کیناز (PI3K)-پروتئین کیناز B یا Akt می‌باشد که امروز مورد تردید واقع شده است زیرا با وجود مهار هریک از این پروتئین‌ها، تمرینات مقاومتی باعث فعال‌سازی mTOR شده‌اند(۲۰). به تازگی نظریه گیرنده‌های مکانیکی در سطح سلول مانند انتگرین(۲۱،۱۵)، دسیتروفین(۲۲) و کانال‌های فعال شده از طریق کشش(۲۳] مطرح شده است اما نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. نقش فساتیدیک اسید (PA) در فعال‌سازی mTOR در پاسخ به تمرینات مقاومتی، از مسیرهای دیگر بیشتر مورد تأیید می‌باشد(۲۴). PA برخلاف دیگر فاکتورها که از طریق TSC/Rheb باعث فعال‌سازی mTOR می‌شوند، به طور مستقیم با اثر بر ناحیه FRB باعث فعال‌سازی mTOR می‌شود(۲۶،۲۵).

همچنین در این پژوهش عدم افزایش معنادار محتوی تام پروتئین $p70^{S6K}$ مشاهده گردید البته اگر چه افزایش این پروتئین از لحاظ آماری معنادار نبود اما مشاهده شد بیان آن ۴۸ درصد افزایش یافت. پروتئین $p70^{S6K}$ توسط ژن RPS6KB1 کد گذاری می‌شود اما بر اساس جستجوهای انجام شده، تحقیقی در زمینه تأثیرات تمرینات ورزشی بر بیان ژن RPS6KB1 مشاهده نگردید. احتمالاً در این مطالعه تمرینات مقاومتی باعث افزایش بیان ژن RPS6KB1 شده است و در ادامه بیان پروتئین $p70^{S6K}$ تام افزایش هرچند نامعنادار پیدا کرده است. این یافته موافق با مطالعه گودمن و همکاران (۲۰۱۱) می‌باشد در آن مطالعه از حذف عضلات کمکی برای ایجاد فشار مکانیکی استفاده کرده بودند و ما در این تحقیق نشان دادیم تمرین مقاومتی با افزایش فشار مکانیکی موجب افزایش ۴۸ درصدی محتوی این پروتئین می‌شود(۱۳).

مهمترین یافته این تحقیق افزایش ۳۷ درصدی $p70^{S6K}$ فسفریله است که در این مورد باید عنوان کرد که $p70^{S6K}$ در چندین جایگاه مانند تروئونین ۲۲۹ و سرین ۴۰۴ و ۴۱۱ توسط AMPK و راپامایسین فسفریله و مهار می‌شود اما برای فعال شدن باید توسط mTOR در جایگاه تروئونین ۳۸۹ فسفریله شود(۱۷). در مطالعه پیرسون[11] و همکاران (۱۹۹۵) در جایگاه ۳۸۹ جهش ایجاد کرده و آلانین در جایگاه ۳۸۹ قرار گرفت، پس از آن $p70^{S6K}$ دیگر هیچ فعالیتی نداشته که نشان از اهمیت فسفریله شدن تروئونین ۳۸۹ توسط mTOR است[۲۷]. افزایش فسفریلاسیون $p70^{S6K}$ در این مطالعه همسو با پژوهش گودمن و همکاران (۲۰۱۱) است و تحقیق ناهمسانی یافت نشد(۱۳). احتمالاً می‌توان عنوان کرد در این تحقیق تمرین مقاومتی با افزایش mTOR فسفریله و فعال کردن آن باعث افزایش فسفریله شدن $p70^{S6K}$ شده است. در واقع $p70^{S6K}$ یکی از مهم‌ترین هدف‌های پایین دست mTOR است چنانچه بدون آن mTOR نمی‌توان مرحله طویل‌سازی ترجمه را افزایش دهد و یکی از فاکتورهای تعیین کننده سنتز پروتئین می‌باشد. علاوه بر این $p70^{S6K}$ از طریق فسفوریلاسیون فاکتور متصل بالا دست[12] (UBF) رونویسی DNA ریبوزومی را افزایش داده باعث تولید زیستی ریبوزوم می‌شود(۲۸). از آن‌جا که ریبوزم کارخانه پروتئین سازی است و موجودات زنده برای تولید پروتئین نیازمند وجود و فعالیت ریبوزوم هستند. فعال شدن مسیر mTOR، $p70^{S6K}$، از طریق eEF-2k تولید پروتئین و از طریق UBF ظرفیت تولید پروتئین را افزایش می‌دهد(۲۸،۱۲).

بطور خلاصه در این پژوهش نشان داده شده تمرین مقاومتی باعث فسفریلاسیون $p70^{S6K}$ /mTOR شده اما محتوی پروتئینی تام آن‌ها را افزایش نداده است. برای تعیین مسیر پیام‌رسانی که باعث این اثرات می‌شود نیاز به تحقیقات جامع‌تر با مسدود کردن مسیرهای مختلف می‌باشد.

تشکر و قدر دانی

از آنجا که این پژوهش در آزمایشگاه HPL دانشگاه کلگری انجام شده است، نویسنده مقاله وظیفه خود می‌داند که مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از حمایت‌های مالی و علمی پروفسور برایان مکین تاش ابراز نماید.

پی‌نوشت‌ها

1. mammalian target of rapamycin

5501.
[14] F. K. Haraguchi, C. Lopes de Brito Magalhães, L. X. Neves, R. Cardoso dos Santos, M. L. Pedrosa, and M. Eustáquio Silva. (2013) Whey Protein Modifies Gene Expression Related to Protein Metabolism Affecting Muscle Weight in Resistance-Exercised Rats, *Nutrition*,40(2): 310–322.
[15] J. Nemati, M. Norshahi, H. Rajabi, and R. Ghrakhanlo. (2010). The effects of eight weeks of resistance training on fast and slow twitch muscle protein content integrin in Wistar rat,. olympic,1 (61): 35–45.[persion].
[16] A. Sofer, K. Lei, C. M. Johannessen, and L. W. Ellisen. (2005). Regulation of mTOR and cell growth in response to energy stress by REDD1, *Mol. Cell. Biol.*, 25 (14): 5834–5845.
[17] N. Eidy, Z. Antonio, and H. Lancha. (2008). Mechanical stimuli of skeletal muscle□: implications on mTOR / p70s6k and protein synthesis, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 1(102): 253–263.
[18] T. Reynolds, S. Bodine, and J. J. Lawrence. (2002). Control of Ser 2448 phosphorylation in the mammalian target of rapamycin by insulin and skeletal muscle load., *J. Biol Chem*, 1(277): 17657–17662.
[19] E. Spangenburg, D. Le Roith, C. Ward, and S. Bodine. (2008). A functional insulin-like growth factor receptor is not necessary for load-induced skeletal muscle hypertrophy, *J. Physiol.* 1(586): 283–291.
[20] A. Philp, D. Hamilton, and K. Baar. (2011). Signals mediating skeletal muscle remodeling by resistance exercise: PI3-kinase independent activation of mTORC1, *J. Appl. Physiol.* 1(110): 561–568.
[21] R. Pankov, E. Cukierman, K. Clark, K. Matsumoto, C. Hahn, and B. Poulin.(2003). Specific beta1 integrin site selectively regulates Akt/protein kinase B signaling via local activation of protein phosphatase 2A, *J. Biol Chem*. 1(278): 18671–18681.
[22] I. Rybakova, J. Patel, and J. Ervasti. (2000) The dystrophin complex forms a mechan- ically strong link between the sarcolemma and costameric actin, *Juornal Cell Biol.*, 1, (150): 1209–1214.
[23] E. Spangenburg and T. McBride. (2006). Inhibition of stretch-activated channels during eccentric muscle contraction attenuates p70S6K activation, *J. Appl. Physiol.* 1(100): 129–135.
[24] J. M. Joy, D. M. Gundermann, R. P. Lowery, R. Jäger, S. A. Mccleary, M. Purpura, M. D. Roberts, S. M. C. Wilson, T. A. Hornberger, and J. M. Wilson. (2014) Phosphatidic acid enhances mTOR signaling and resistance exercise induced hypertrophy, *Nutrition&Metabolism*. 1(277): 1–10.
[25] M.-S. Yoon, Y. Sun, E. Arauz, Y. Jiang, and J.

2. Phosphatidylinositol kinase-related kinase
3. autophagy
4. 70-kDa ribosomal protein S6 kinase
5. S6K1 aly/REF-like target
6. programmed cell death 4
7. eukaryotic Elongation factor-2 kinase
8. eukaryotic translation Initiation factor 4B
9. Sprague-Dawley
10. Human Performance Lab. University of Calgary
11. Pearson
12. upstream binding factor

منابع

[1] A. Otto and K. Patel. (2010). Signalling and the control of skeletal muscle size, *Exp. Cell Res.* 316, (18): 3059–3066.
[2] V. G. Coffey and J. A. Hawley. (2007) The molecular bases of training adaptation, *Sport. Med.* 37(9): 737–763.
[3] O. A. J. Adegoke, A. Abdullahi, and P. Tavajohi-Fini. (2012). mTORC1 and the regulation of skeletal muscle anabolism and mass, *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*37(3), 395–406,.
[4] K. Watson and K. Baar. (2014). mTOR and the health benefits of exercise, in *Seminars in cell & developmental biology*. in press.
[5] S. M. Phillips, K. D. Tipton, A. Aarsland, S. E. Wolf, and R. R. Wolfe. (1997). Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans, *Am. J. Physiol. Metab.*, 36(1). E99.
[6] M. A. Egerman and D. J. Glass. (2013) Signaling pathways controlling skeletal muscle mass, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 49 (1): 59–68.
[7] L. Bar-Peled and D. M. Sabatini, Regulation of mTORC1 by amino acids. (2014). *Trends Cell Biol.* in press
[8] M. Laplante and D. M. Sabatini, mTOR signaling in growth control and disease. (2012). *Cell*. 149(2): 274–293.
[9] S. Davies, H. Reddy, M. Caivano, and P. Cohen. (2000). Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors, *Biochem. J*. 351 (1): 95–105.
[10] M. Laplante and D. M. Sabatini. (2009). mTOR signaling at a glance, *J. Cell Sci.* 122 (20): 3589–3594.
[11] C. A. Goodman. (2014) The Role of mTORC1 in Regulating Protein Synthesis and Skeletal Muscle Mass in Response to Various Mechanical Stimuli,. in press.
[12] S. Sengupta, T. R. Peterson, and D. M. Sabatini. (2010) Regulation of the mTOR complex 1 pathway by nutrients, growth factors, and stress,
[13] C. A. Goodman, J. W. Frey, D. M. Mabrey, B. L. Jacobs, H. C. Lincoln, J.-S. You, and T. A. Hornberger. (2011). The role of skeletal muscle mTOR in the regulation of mechanical load-induced growth, *J. Physiol.*, 589(22): 5485–

Chen. (2011). Phosphatidic acid activates mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) kinase by displacing FK506 binding protein 38 (FKBP38) and exerting an allosteric effect., *J. Biol Chem*. 1(286): 29568–29574.

[26] J. You, J. Frey, and T. Hornberger. (2012). Mechanical stimulation induces mTOR signaling via an ERK-independent mechanism: implications for a direct activation of mTOR by phosphatidic acid, *PLoS One*. 1(7): 47258.

[27] R. Pearson, P. Dennis, J. Han, N. Williamson, S. Kozma, R. Wettenhall, and G. Thomas. (1995). The principal target of rapamycin-induced p70s6k inactivation is a novel phosphorylation site within a conserved hydrophobic domain, *EMBO J*. 1(14): 5279–5287.

[28] C. Mayer, J. Zhao, X. Yuan, and I. Grummt. (2004). mTOR-dependent activation of the transcription factor TIF-IA links rRNA synthesis to nutrient availability, *Genes Dev.*, 18 (4): 423–434.