پژوهش‌نامهٔ فیزیولوژی ورزشی کاربردی **مقاله پژوهشی**

سال هفدهم/ شماره سی و چهارم/پاییز و زمستان ۱۴۰۰

دریافت: ۱۴۰۰/۷/۳ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۶ ص ص: ۱۵۱-۱۴۱

تاثیر چهار هفته تمرین استقامتی فزاینده بر مقادیر پروتئین‌های سارکولیپین، FNDC5 و PGC1α در عضلات نعلی و بازکننده طویل انگشتان موش‌های صحرایی نر ویستار

معین فصیحیان[۱]، فریبا خداقلی[۲]، مریم نورشاهی[۳]

چکیده

زمینه و هدف: یکی از عوامل مهم در جهت افزایش متابولیسم پایه در اثر تمرینات ورزشی، تغییرات سلولی و مولکولی در سطح عضلات می‌باشد که پژوهش حاضر با هدف مشخص کردن تاثیر چهار هفته تمرین استقامتی فزاینده بر مقادیر پروتئین-های سارکولیپین (SLN)، FNDC5 و PGC1α در عضلات نعلی (SOL) و بازکننده طویل انگشتان (EDL) در موش‌های صحرایی بالغ نر ویستار، انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۱۴ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (با سن ۱۱ هفته و میانگین وزنی۱۹/۲۱± ۲۹۳ گرم) در دو گروه ۷ تایی کنترل و تمرین تقسیم بندی شدند. گروه تمرین، ۴ هفته و در هر هفته ۵ جلسه، تمرینات استقامتی که شامل دویدن با شدت ۷۵ تا ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی را انجام دادند و در همان زمان گروه کنترل هیچگونه تمرینی نداشت. رت‌ها به دلیل از بین بردن اثرات حاد ورزشی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین تشریح شدند و عضلات کند انقباض (SOL) و تند انقباض(EDL) استخراج گردید و در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان آنالیز بافت‌ها در دمای۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد و سپس میزان تغییرات پروتئین‌های SLN و FNDC5 و PGC1α عضلانی با روش وسترن بلاتینگ سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری t مستقل و با سطح معنی داری (P≤ ۰/۰۵) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج: تجزیه و تحلیل آماری نشان داد، چهار هفته تمرین استقامتی فزاینده باعث تغییرات معنی‌داری در مقادیر پروتئین‌های SLN(P= ۰/۰۳۵)، FNDC5 (P=۰/۰۲) و PGC1α (P=۰/۰۱۲) در عضله نعلی، نسبت به گروه کنترل شد. همچنین در عضله EDL تغییرات معنی‌داری در مقادیر پروتئین‌های SLN (P= ۰/۰۱) و FNDC5 (P=۰/۰۴۳) در مقایسه با گروه کنترل، مشاهده شد ولی در تغییرات پروتئین PGC1α در عضله EDL نسبت به گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۱۷).

نتیجه‌گیری: با توجه به پارامترهای حاصل از مطالعه به نظر می‌رسد، فعالیت ورزشی استقامتی می‌تواند موجب افزایش میزان پروتئین‌های مرتبط با گرمازایی و متابولیسم در هر دو نوع تار عضلانی کند و تند انقباض شود.

واژه‌های کلیدی: متابولیسم پایه، تمرینات استقامتی فزاینده، سارکولیپین، گرمازایی، میتوکندری

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۲] دانشیار مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۳] دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. نویسنده مسئول:m-nourshahi@yahoo.com

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل مرتبط با اکثر بیماری‌ها، چاقی و اضافه وزن، شناخته می‌شود که از دلایل اصلی آن می‌توان به کم تحرکی، تغذیه نامناسب و سبک زندگی غلط، اشاره کرد که تمامی این عوامل باعث کاهش متابولیسم پایه در این افراد می‌شود و در نهایت باعث افزایش عوامل پاتولوژیک از قبیل چاقی، دیابت می‌شود (Park et al., 2020; Kahan et al., 2020).

در سال‌های اخیر، فعالیت‌های بدنی به عنوان یک نوع نسخه غیرتهاجمی برای اکثر بیماری‌ها توسط متخصصان پزشکی و ورزشی، توصیه می‌شود که طبق مطالعات صورت گرفته در این زمینه، اکثر مطالعات گزارش کرده‌اند که تمرینات ورزشی باعث افزایش متابولیسم پایه خواهد شد و این پدیده را می‌توان دلیل اصلی اثرات فعالیت‌های بدنی در بهبود بیماری‌های متابولیک، دانست (Loellgen et al., 2020).

تمرینات ورزشی استقامتی به عنوان یک نوع فعالیت ورزشی موثر در بهبود توانایی استقامت قلبی–تنفسی ورزشکاران و افرادی که به دنبال سلامت عمومی و تندرستی هستند، شناخته می‌شود (Lizamore et al., 2020) و همچنین این نوع تمرینات در اثر سازگاری طولانی مدت باعث تغییرات سلولی مولکولی در ارگان‌ها و اندامک‌های سلولی مختلف خواهند شد (Hoppeler et al., 2020). از جمله عوامل تاثیر پذیر در تغییرات سلولی مولکولی، پروتئین‌های تنظیمی هستند که این پروتئین‌ها دارای نقش موثری در تغییرات عملکردی سلول‌های مختلف می‌باشند که با در نظر گرفتن مزایای فعالیت‌های ورزشی، این پروتئین‌ها می‌توانند دلیلی برای افزایش متابولیسم و تجزیه منابع ذخیره شده چربی و قندی که به عنوان عوامل پاتولوژیک شناخته می‌شوند، باشند (Vogt et al., 2020).

سلول‌های عضلانی به عنوان یکی از جایگاه‌های اصلی مصرف انرژی شناخته می‌شوند که با توجه به نیاز فعالیت‌های ورزشی به ATP، اندامک‌هایی نظیر میتوکندری، شبکه سارکوپلاسمیک و...، در اثر سازگاری به تمرینات ورزشی، دستخوش تغییراتی خواهند شد که در این بین پروتئین سارکولیپین (SLN) اخیرا به عنوان یکی از عوامل موثر در افزایش مصرف ATP که به گرمازایی بدون لرزش[1] ختم می‌شود، شناخته شده است که توسط کاهش میل ترکیبی کلسیم با پمپ کلسیم وابسته به ATP (SERCA[2]) باعث هدر رفت انرژی می‌شود (Bal et al., 2020) و از طرفی فرایند تولید ATP که در میتوکندری‌ها انجام می‌شود را تحت تاثیر قرار می‌دهد که باعث افزایش عوامل مرتبط با بایوژنز میتوکندریایی (PGC1α) و افزایش بیان فاکتور تغییر دهنده فنوتیپ بافت چربی (FNDC5)، می‌شود(Maliszewska et al., 2021; Reguero et al., 2021).

تا کنون تحقیقات زیادی به بررسی تغییرات سلولی مولکولی مرتبط با عوامل متابولیکی در اثر تمرینات ورزشی پرداخته‌اند که دارای نتایج ضد و نقیضی هستند. در تحقیقی گزارش شد بیان بیش از حد پروتئین سارکولیپین می‌تواند با افزایش مصرف انرژی همراه باشد که در اثر این پدیده بایوژنز میتوکندریایی افزایش خواهد یافت و همچنین از دیستروفی عضلانی جلوگیری خواهد شد که در نهایت متابولیسم افراد بیمار را می‌توان از این طریق افزایش داد (Bal et al., 2021). در مقابل مورالس و همکاران گزارش کردند که تمرینات ورزشی در افراد کم تحرک باعث تغییری در بیان پروتئین سارکولیپین نشد در حالی متابولیسم پایه در این افراد افزایش داشت و علاوه بر آن در اثر تمرینات سرعتی مقادیر پروتئین سارکولیپین کاهش یافت که در نهایت در این مطالعه گزارش شد که

[1] Non Shivering Thermogenesis
[2] Sarco/endo Plasmic Reticulum Ca2+-ATPase

پروتئین سارکولیپین تاثیری بر تغییرات متابولیکی توده بافت چربی ندارد (Morales et al., 2020) با این حال در این زمینه به تحقیقات بیشتری در جهت مشخص شدن نقش این نوع پروتئین‌های تنظیمی در اثر سازگاری به تمرینات ورزشی، مورد نیاز می‌باشد.

با توجه به اهمیت شناسایی عوامل مرتبط با افزایش مصرف ATP، در راستای افزایش متابولیسم پایه، تا به حال تحقیقات کمی در زمینه تغییرات سیگنالینگ پروتئینی در سلول‌های مختلف عضلانی، متعاقب تمرینات استقامتی، صورت گرفته است که دارای نتایج ضد و نقیض زیادی هستند. بنابراین تحقیق حاضر به دنبال بررسی تاثیر چهار هفته تمرین استقامتی فزاینده بر مقادیر پروتئین‌های SLN، FNDC5 و PGC1α در عضلات SOL و EDL می‌باشد که در نهایت با بررسی این سیگنالینگ پروتئینی می‌توان به شناخت دقیق‌تر عوامل موثر در افزایش متابولیسم پس از انجام تمرینات استقامتی پی برد که آیا تمرینات استقامتی در هر نوع از فنوتیپ‌های تارهای عضلانی، می‌تواند تغییرات سلولی مولکولی متفاوتی ایجاد کند؟ و همچنین در تجویز تمرینات ورزشی می‌توان این روش را راهکار مناسبی برای افزایش متابولیسم پایه و چربی سوزی در نظر گرفت؟

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع بنیادی و به روش تجربی بود. در این پژوهش۱۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۱ هفته‌ای و با میانگین وزنی۱۹/۲۱± ۲۹۳ گرم، به عنوان نمونه تحقیق از (انستیتو پاستور، تهران، ایران) خریداری و در شرایط دمای ۲۲±۲ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۶±۵۰ درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل می شدند. تمام حیوانات به منظور آشناسازی با تردمیل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه دویدند که این پروتکل به مدت سه روز در هفته انجام شد. پس از آشنایی موش ها با شرایط آزمایشگاهی در هفته اول و انجام تمرینات آشناسازی در هفته دوم، موش ها به صورت تصادفی به دو گروه تمرین تداومی (n=۷) و گروه کنترل (n=۷) قرارگرفتند و با توجه به حداکثر سرعت به دست آمده در آزمون وامانده ساز تمرین داده شدند. پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۴ هفته به طول انجامید که در این مدت گروه کنترل هیچ نوع فعالیت ورزشی را انجام ندادند. در انتهای یک هفته آشناسازی، حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها، سنجیده شد و رت‌ها با توجه به پروتکل ورزشی و درصدی از حداکثر اکسیژن مصرفی، پنج جلسه تمرین در هر هفته را آغاز کردند و همه جلسات تمرین، عصر هنگام که بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیتی طبیعی رت‌ها است، انجام گرفت.

آزمون تعیین سرعت بیشینه: برای تعیین سرعت بیشینه از آزمون فزاینده استفاده شد. آزمون به این صورت بود که موش‌های صحرایی روی تردمیل با سرعت ۵ متر بر دقیقه شروع به راه رفتن کردند و پس از آن هر سه دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر بر دقیقه افزایش یافت، آزمون تا لحظه رسیدن موش صحرایی به واماندگی ادامه می‌یافت. سرعت نهایی موش صحرایی به عنوان سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی جهت محاسبه شدت های تمرینی استفاده گردید (Rodrigues et al., 2007; Bedford et al., 1979). از حیوانات هر هفته یک بار آزمون وامانده ساز گرفته و شدت تمرین با توجه به مقادیر جدید آزمون تعیین شد.

پروتکل تمرین استقامتی: به منظور آشنا سازی حیوانات با پروتکل تمرینی و تردمیل ۵ روز در هفته به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه فعالیت داشتند و با شروع دوره پروتکل اصلی در هر جلسه ۳ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه (۴۵-۵۵ درصد Vo_{2max}) انجام شد. پروتکل تمرین استقامتی، به

صورت فزاینده از روز اول با سرعت ۲۳ متر بر دقیقه و به مدت ۲۲ دقیقه اجرا شد که معادل ۷۰ درصد Vo_2max بود و در روزهای بعد در همان هفته سرعت ثابت و به مدت زمان پروتکل هر دو روز یکبار ۲ دقیقه افزوده می‌شد و در هفته دوم سرعت به۲۴ متر بر دقیقه رسید و به مدت زمان آن مانند هفته اول افزوده می‌شد و به همین ترتیب تا پایان هفته چهارم هم بر سرعت و هم بر مدت زمان اجرای پروتکل افزوده شد که در نهایت در آخرین روز هفته چهارم، سرعت به ۲۶ متر بر دقیقه، معادل ۸۰ درصد Vo_2max و مدت زمان تمرین با احتساب گرم کردن و سرد کردن به ۴۶ دقیقه رسید (Haram et al., 2009).

بعد از اتمام پروتکل تمرینی به منظور از بین بردن اثر کوتاه مدت ورزشی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی محلول زایلازین (۱۰ mg/kg) و کتامین (۷۰mg/kg) بیهوش شدند و عضله (EDL) و عضله نعلی (SOL) آنها استخراج شد و پس از شست و شو با سرم فیزیولوژیک جهت انجماد سریع بلافاصله درون تانک نیتروژن مایع قرار داده شدند و ۲۴ ساعت بعد از نمونه گیری، وزن نمونه‌های بافت عضلانی به وسیله ترازوی Sartorious مارک CPA224S با دقت ۰/۰۰۰۱ میلی گرم محاسبه شد و از هر عضله به میزان ۲۵۰mg جدا گردید و به فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل شد.

تهیه و آماده‌سازی بافت: پس از یکسان سازی مجدد وزن تمامی بافت‌های استخراج شده، ابتدا نمونه‌ها توسط بافر هموژن (Tris+ HCL، PH=8، ۰/۰۰۳ گرم EDTA، ۰/۰۸ گرم Nacl، ۰/۰۲۵ گرم Deoxycholate Sodium، ۰/۰۱ گرم SDS، ۱/۲ قرص (Protease inhibitor cocktail) جهت ارزیابی مقادیر پروتئینی تجزیه شدند. برای هموژن کردن بافت، به اندازه ۳ تا ۴ برابر (بر اساس بافت عضله کند و تند انقباض) وزن نمونه‌ها بافر لیز کننده ریخته شد و با دستگاه هموژنایزر tomy 2 microsmash، با سرعت ۴۰۰۰ دور دقیقه و به مدت ۸ زمان ۲۰ ثانیه‌ای با فاصله زمانی ۳ دقیقه‌ای بین دفعات برای جلوگیری از گرم شدن و بازشدن پیوندهای پروتئینی (دناتوره[1])، هموژن صورت گرفت. سپس بافت هموژن شده به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴+ درجه سانتی گراد و با سرعت ۳۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتنت محلول جدا و در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شد. جهت تعیین غلظت پروتئین از روش بردفورد استفاده و توسط منحنی استاندارد، غلظت پروتئین‌های نمونه‌ها، محاسبه گردید.

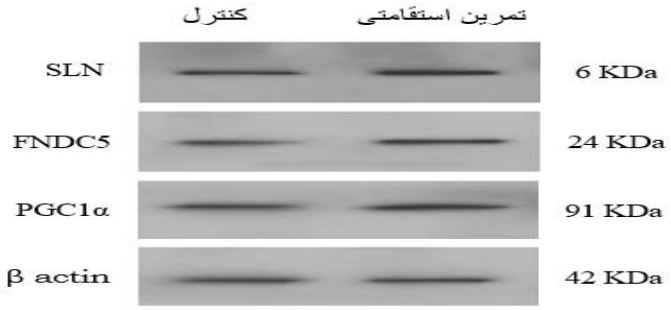
وسترن بلاتینگ: برای انجام آزمایش وسترن بلات، مقادیر مساوی از پروتئین‌ها توسط ژل پلی اکریل آمید SDS PAGE۱۸٪ برای پروتئین سارکولیپین (به دلیل وزن مولکولی کم (۶ کیلو دالتون) پروتئین سارکولیپین) و ژل ۱۲٪ برای پروتئین‌های FNDC5 و PGC1α، استفاده شد. بعد از مرحله الکتروفروز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شدند و کاغذ به مدت ۹۰ دقیقه در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس کاغذ به مدت ۱۸ ساعت (Over Night) در آنتی بادی اولیه (ANTI-SARCOLIPIN ساخت شرکت merck در کشور آلمان) در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در روز دوم ۳ مرحله با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ PVDF به مدت ۹۰ دقیقه با آنتی بادی ثانویه انکوبه شد. بعد از این مرحله بلات‌ها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند. سپس بلات‌ها را در بافر STREAPING شستشو داده و آنتی بادی اولیه (ANTI-FNDC5 ساخت شرکت abcam در کشور انگلستان) و همچنین برای پروتئین PGC1α از آنتی بادی (ANTI-PGC1α ساخت شرکت abcam در کشور انگلستان) استفاده شد که در نهایت دوباره انکوباسیون انجام شد و پروتئین‌های مورد نظر در فیلم رادیولوژی ظاهر شدند. در نهایت بلات‌ها دوباره در بافر استریپینگ شستشو

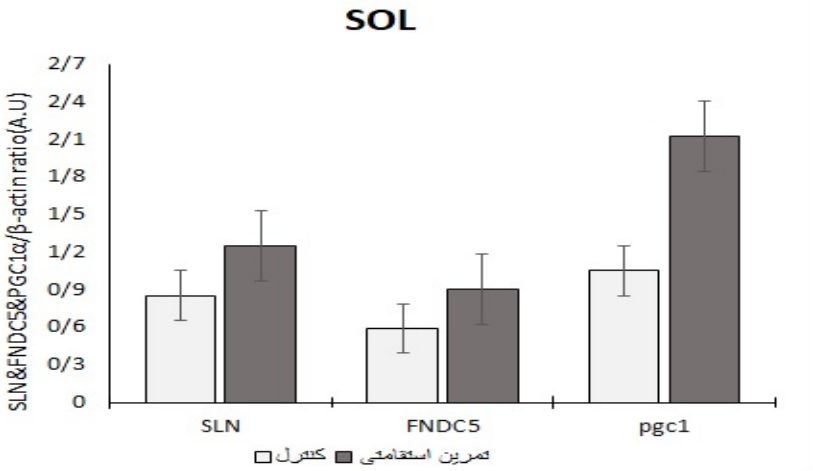
[1]Proteine Denaturation

داده شد و آنتی بادی بتا اکتین را برروی کاغذ PVDF گذاشته و دوباره آنتی بادی ثانویه انکوباسیون شد. برای ارزیابی نهایی از نرم افزار Image G جهت تراکم سنجی پروتئین‌های شناسایی شده بر روی بلات‌ها، استفاده شد. *تجزیه و تحلیل آماری*: در پژوهش حاضر پس از کسب اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شپیرو ویلک، برای بررسی اثر متغییر مستقل بر متغییر وابسته از آزمون تی (t-test) برای نمونه های مستقل استفاده شد. تمام عملیات آماری پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد و سطح معنی داری $\alpha \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد و همچنین از نرم‌افزار Excel 2016 نیز برای رسم نمودارها و جداول استفاده گردید.

یافته ها

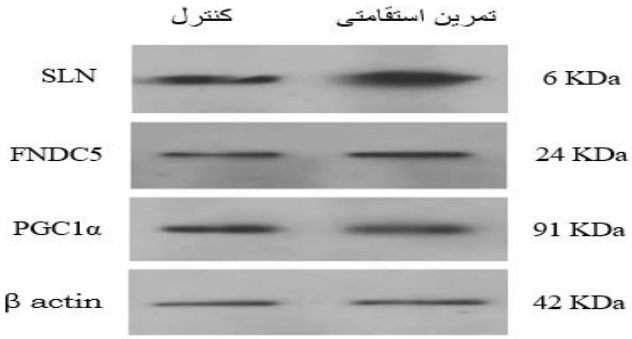
نتایج آزمون آماری نشان داد که بین میزان پروتئین‌های SLN، FNDC5 و PGC1α در عضله SOL در گروه تمرین استقامتی و کنترل، تفاوت معنی‌داری وجود داشت، SLN (P= ۰/۰۳۵)، FNDC5 (P=۰/۰۲) و PGC1α (P=۰/۰۱۲)، (نمودار ۱).

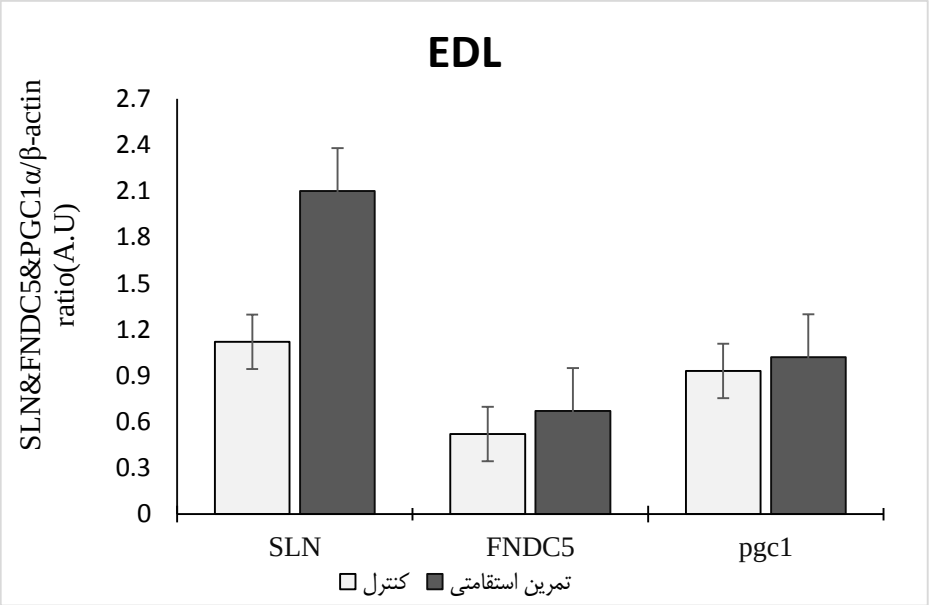




نمودار ۱: تغییرات پروتئین سارکولیپین، FNDC5 و PGC1α نسبت به پروتئین بتااکتین در گروه‌های تمرین استقامتی و کنترل در عضله نعلی.

در عضله EDL تغییرات معنی‌داری در مقادیر پروتئین‌های SLN (P= ۰/۰۱) و FNDC5 (P=۰/۰۴۳) در مقایسه با گروه کنترل، مشاهده شد ولی در تغییرات پروتئین PGC1α در عضله EDL نسبت به گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۱۷)، (نمودار ۲).





نمودار ۲: تغییرات پروتئین سارکولیپین، FNDC5 و PGC1α نسبت به پروتئین بتااکتین در گروه‌های تمرین استقامتی و کنترل در عضله بازکننده طویل انگشتان.

بحث و نتیجه گیری

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که تمرین تداومی فزاینده با توجه به فراخوانی واحدهای حرکتی مرتبط با تارهای عضلانی کند انقباض باعث تغییرات معنی‌داری در بیان پروتئین‌های موثر در فرایند تبادلات کلسیم (SLN)، تولید و رهاسازی ATP توسط میتوکندری‌ها (PGC1α) و همچنین تغییرات متابولیکی در منابع ذخیره انرژی مرتبط با بافت چربی (FNDC5) شد. و از طرفی به دلیل اصل فراخوانی ترتیبی و درگیری تارهای FT نیز برخی از این پروتئین‌های تنظیمی، دچار تغییرات افزایشی شدند. مطالعات نشان داده‌اند که بخش مهمی از افزایش متابولیسم پایه توسط تمرینات ورزشی، به چرخه کلسیم در فرایند انقباض عضله در شرایط فعالیت و استراحت، مربوط می‌باشد که این فرایند مستلزم هزینه انرژی است و از این رو در مطالعه‌ای گزارش شده است که مقادیر مصرفی انرژی در شرایط فعالیت ورزشی با توجه به اینکه درصد تارهای FT و ST در عضله SOL به ترتیب ۳۰ درصد و ۷۰ درصد برای هر نوع تار است و در تارهای عضله EDL به صورت ۹۰ درصد FT و ۱۰ درصد ST ، برابر با ۵۰ درصد کل انرژی مصرفی هستند و همچنین به طور کلی گزارش شده است که بین ۱۷ تا ۲۲ درصد از کل انرژی متابولیسم پایه به چرخه کلسیم اختصاص دارد (Norris et al., 2020). در همین راستا بال و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که مهار پروتئین سارکولیپین باعث کاهش متابولیسم پایه از طریق کاهش فرایند گرمازایی بدون لرزش (NST) تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای توسط کاهش پروتئین‌های UCP1 شد و همچنین در این مطالعه گزارش شد که سارکولیپین از طریق فعالسازی مسیر کالمودولین کیناز نقش موثری در شروع سیگنالینگ مرتبط با بایوژنز میتوکندریایی (PGC1α) خواهد داشت (Bal et al., 2020). علاوه بر آن گزارش شده است تمرینات استقامتی می‌توانند باعث افزایش بیان پروتئین سارکولیپین در هر دو نوع فنوتیپ تارهای عضلانی، شوند که با کاهش میل ترکیبی بین کلسیم و پمپ SERCA، باعث هدر رفت انرژی و تولید گرما می‌شود و به این دلیل باعث بهبود فرایند اکسایشی و رها سازی انرژی خواهد شد که در نهایت به بهبود ظرفیت استقامتی کمک خواهد کرد (Sopariwala et al., 2014). در پژوهشی دیگر همسو با یافته‌های فوق گزارش شده است که بیان بیش از حد سارکولیپین موجب افزایش در توده میتوکندریایی در عضلات تند انقباض و علاوه بر این افزایش در CaMK و CaN همسو با افزایش در PGC-1α بود که نتایج این تحقیق نشان داد سارکولیپین به خودی خود می‌تواند از طریق مسیرهای سیگنالینگ وابسته به کلسیم و نسبت ATP به ADP ظرفیت اکسیداتیو را کنترل کند و افزایش در میزان سارکولیپین را می‌توان اثر گذار بر محتوی میتوکندریایی از طریق مسیرهای سیگنالینگ AMPK و CaMK و فعال‌سازی PGC-1α دانست (Maurya et al., 2015).

بر خلاف نتایج گزارش شده، اخیرا برای مشخص شدن نقش پروتئین‌های تنظیمی مانند سارکولیپین، از مهار کننده‌ها و افزایش دهنده‌های فعالیت این پروتئین‌ها استفاده می‌شود، به عنوان مثال: در مطالعه‌ای گزارش شده است که مهار پروتئین سارکولیپین باعث افزایش آنزیم‌های میتوکندریایی مانند سوکسینات دهیدروژناز، سیترات سنتاز پس از هشت هفته تمرین ورزشی می‌شود (Trinh et al., 2013). همچنین گامو و همکاران در پژوهشی گزارش کردند که تغییرات مقادیر پروتئین سارکولیپین، وابسته به مقادیر بایوژنز میتوکندریایی در اثر تمرینات ورزشی و رژیم‌های غذایی نخواهد بود (Gamu et al., 2017). برای مشخص شدن تاثیر تغییرات پروتئین سارکولیپین، بال و همکاران در یک مطالعه‌ای مروری به بررسی نتایج متناقض تحقیقات در زمینه نقش چرخه کلسیم در فرایند متابولیسم، پرداخته‌اند که در این مطالعه مشخص شده است که افزایش نسبت پروتئین‌های SLN/SERCA

باعث افزایش سیگنالینگ پروتئین‌های وابسته به تبادلات کلسیم، بایوژنز میتوکندریایی و متابولیسم اکسایشی می‌شوند که در نهایت باعث افزایش انرژی مصرفی توسط عضلات خواهد شد (Bal et al., 2021). در همین راستا در یک پژوهشی گزارش کرده‌اند که در اثر مداخلاتی نظیر قرار گیری در معرض سرما، مصرف غذای پر چرب (HFD) ، بیماری و تمرینات ورزشی، مقادیر پروتئین‌های مرتبط با گرمازایی افزایش خواهد یافت که در این بین پروتئین‌های SLN، PGC1α و همچنین پروتئین‌های موثر در تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای نظیر UCP1 و FNDC5 نیز افزایش می‌یابند که در نهایت این تغییرات باعث افزایش متابولیسم پایه خواهد شد (Maurya et al., 2018). علاوه بر آن مشخص شده است که تمرینات ورزشی به عنوان یکی از عوامل مهم جهت افزایش بیان پروتئین SLN، می‌باشند که در نهایت پس از سازگاری به تمرینات ورزشی، بخشی از تاثیر افزایشی متابولیسم در اثر تمرینات ورزشی را به پروتئین سارکولیپین اختصاص داده‌اند (Bombardier et al., 2010) علاوه بر آن نشان داده شد که متعاقب تمرینات ورزشی وامانده ساز در عضلات تند انقباض و کند انقباض در گروهی که مقادیر SLN افزایش یافته بود، آنزیم‌های گلیکولیتیک در عضله EDL و آنزیم‌های اکسایشی و همچنین بایوژنز میتوکندریایی در عضله SOL، افزایش معنی‌داری داشتند و علاوه بر آن در گروهی که **پروتئین** SLN افزایش یافته بود، مقاومت به خستگی حین فعالیت ورزشی به شدت افزایش یافت (Sopariwala et al., 2015).

به طور کلی مطالعات به اهمیت نقش پروتئین‌های تنظیمی از قبیل پروتئین سارکولیپین، PGC1α و عوامل مرتبط با آن در مهار اپیدمی چاقی و کاهش متابولیسم، تاکید دارند با این حال با توجه به مطالعات انجام شده در این رابطه، به نظر می‌رسد با توجه به اهمیت تاثیرات متفاوت پروتئین‌های تنظیمی و نحوه سازگاری این نوع پروتئین‌ها متعاقب تمرینات ورزشی، به مطالعات بیشتری نیاز است. در مطالعه حاضر بیان ژن پروتئین‌های موجود در مطالعه و همچنین استفاده از روش مهارکننده و افزایش دهنده‌های پروتئین سارکولیپین، انجام نشده است که از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌باشد. در نهایت با توجه به نتایج تحقیق حاضر، پیشنهاد می‌شود که در تحقیقی مشابه تاثیر مهار کنندها و تحریک کننده‌های بیان ژن و پروتئین SLN و پروتئین‌های متابولیکی نظیر UCP1، نیز مورد بررسی قرار گیرد. همچنین با توجه به درگیری بیشتر تارهای عضلانی کند انقباض در تمرینات استقامتی، پیشنهاد می‌گردد از تمرینات با شدت بالا برای ارزیابی این سیگنالینگ پروتئینی استفاده شود.

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، تمرینات استقامتی می‌توانند مقادیر برخی از پروتئین‌های تاثیرگذار بر هزینه انرژی بدن و متابولیسم پایه را در فنوتیپ تارهای عضلانی مختلف، افزایش دهند که به نظر می‌رسد از این طریق می‌توانند با افزایش هدر رفت انرژی، باعث افزایش متابولیسم پایه و کاهش اختلالات مرتبط با چاقی شوند. بنابراین با بررسی و شناخت عوامل فیزیولوژیکی، از لحاظ تغییرات سلولی–مولکولی، به نظر می‌رسد که تمرینات استقامتی، از طریق اثرگذاری بر چرخه کلسیم (SLN)، فرایند تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای (FNDC5) و بایوژنز میتوکندریایی (PGC1α)، می‌توانند باعث افزایش متابولیسم پایه شوند و به عنوان یک عامل غیر تهاجمی در پیشگیری و درمان بیماری‌های مرتبط با عوامل متابولیکی، مورد استفاده قرار گیرند.

قدردانی: این تحقیق بر گرفته از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه شهید بهشتی تهران، با همکاری آزمایشگاه مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، انجام شد.

بدینوسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه شهید بهشتی و پرسنل مرکز علوم اعصاب و علوم ورزشی دانشگاه شهید بهشتی، اعلام می‌دارند.

منابع

Bal NC, Gupta SC, Pant M, Sopariwala DH, Gonzalez-Escobedo G, Turner J, et al. Is Upregulation of Sarcolipin Beneficial or Detrimental to Muscle Function? Frontiers in physiology. 2021;12:99.

Bal NC, Periasamy M. Uncoupling of sarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase pump activity by sarcolipin as the basis for muscle non-shivering thermogenesis. Philosophical Transactions of the Royal Society B. 2020;375(1793):20190135.

Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. Journal of Applied Physiology. 1979;47(6):1278-83.

Bombardier E. The role of sarcolipin in calcium handling and obesity. 2010

Gamu D, Trinh A, Fajardo VA, Bombardier E, Tupling AR. Sarcolipin expression is not required for the mitochondrial enzymatic response to physical activity or diet. Journal of Applied Physiology. 2017;122(5):1276-83.

Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovascular research. 2009;81(4):723-32.

Hoppeler H, Howald H, Conley K, Lindstedt SL, Claassen H, Vock P, et al. Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. Journal of applied physiology. 1985;59(2):320-7.

Kahan LG, Mehrzad R. Environmental factors related to the obesity epidemic. Obesity: Elsevier; 2020. p. 117-39.

Lizamore CA, Hamlin MJ. The use of simulated altitude techniques for beneficial cardiovascular health outcomes in nonathletic, sedentary, and clinical populations: a literature review. High altitude medicine & biology. 2017;18(4):305-21.

Loellgen H, Zupet P, Bachl N, Debruyne A. Physical activity, exercise prescription for health and home-based rehabilitation. Sustainability. 2020;12(24):10230.

Maliszewska K, Kretowski A. Brown Adipose Tissue and Its Role in Insulin and Glucose Homeostasis. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(4):1530.

Maurya SK, Bal NC, Sopariwala DH, Pant M, Rowland LA, Shaikh SA, et al. Sarcolipin is a key determinant of the basal metabolic rate, and its overexpression enhances energy expenditure and resistance against diet-induced obesity. Journal of Biological Chemistry. 2015;290(17):10840-9.

Morales- Alamo D, Martinez- Canton M, Gelabert- Rebato M, Martin- Rincon M, de Pablos- Velasco P, Holmberg HC, et al. Sarcolipin expression in human

skeletal muscle: Influence of energy balance and exercise. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 2020;30(3):408-20.

Norris SM, Bombardier E, Smith IC, Vigna C, Tupling AR. ATP consumption by sarcoplasmic reticulum Ca2+ pumps accounts for 50% of resting metabolic rate in mouse fast and slow twitch skeletal muscle. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2010;298(3):C521-C9.

Park JH, Moon JH, Kim HJ, Kong MH, Oh YH. Sedentary lifestyle: Overview of updated evidence of potential health risks. Korean journal of family medicine. 2020;41(6):365.

Reguero M, Gómez de Cedrón M, Wagner S, Reglero G, Quintela JC, Ramírez de Molina A. Precision Nutrition to Activate Thermogenesis as a Complementary Approach to Target Obesity and Associated-Metabolic-Disorders. Cancers. 2021;13(4):866.

Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen M-C, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. Cardiovascular diabetology. 2007;6(1):1-7.

Sopariwala D, Shaikh S, Pant M, Rowland L, Periasamy M. Sarcolipin overexpression in mice increases their endurance exercise capacity (1162.2). The FASEB Journal. 2014;28:1162.2.

Trinh A. Effects of Sarcolipin Ablation on Mitochondrial Enzyme Adaptations to Exercise Training: University of Waterloo; 2013.

Vogt ÉL, Von Dentz MC, Rocha DS, Argenta Model JF, Kowalewski LS, de Souza SK, et al. Metabolic and Molecular Subacute Effects of a Single Moderate-Intensity Exercise Bout, Performed in the Fasted State, in Obese Male Rats. International journal of environmental research and public health. 2021;18(14):7543.

Maurya SK, Herrera JL, Sahoo SK, Reis FC, Vega RB, Kelly DP, et al. Sarcolipin signaling promotes mitochondrial biogenesis and oxidative metabolism in skeletal muscle. Cell reports. 2018;24(11):2919-31.

Sopariwala DH, Pant M, Shaikh SA, Goonasekera SA, Molkentin JD, Weisleder N, et al. Sarcolipin overexpression improves muscle energetics and reduces fatigue. Journal of Applied Physiology. 2015;118(8):1050-8.

The effect of four weeks of incremental endurance training on sarcolipin, FNDC5 and PGC1α proteins in Soleus and extensor digitorum longus of male Wistar rats

Moein Fasihiyan[1], Fariba Khodagholi[2], Maryam Nourshahi[1]*

1 Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2 Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

***Corresponding author**: m_nourshahi@yahoo.com

Abstract

Background & Purpose: The aim of this study was to determine the effect of four weeks of incremental endurance training on Sarcolipin (SLN), FNDC5, and PGC1α protein levels in the soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) muscle of adult male Wistar rats.

Methodology: In this experimental study, 14 adult male Wistar rats were divided into two groups of control (n=7) and training (n=7). The training group performed endurance exercises for 4 weeks and 5 sessions per week, which included running at the intensity of 75 to 80% of the Vo2max. In rat surgery, SOL and EDL muscles were extracted, followed by changes in SLN proteins, and intramuscular FNDC5 and PGC1α were measured by Western blotting technic. Data were statistically analyzed by independent t-test ($P \leq 0.05$).

Results: The results of statistical analysis showed that four weeks of incremental endurance training caused significant changes in the amounts of SLN (P= 0.035), FNDC5 (P= 0.02), and PGC1α (P = 0.012) proteins. In the soleus muscle, compared to the control group. Also, in EDL muscle, significant changes were observed in the amounts of SLN (P= 0.01) and FNDC5 (P = 0.043) proteins in comparison with the control group, but in the changes of PGC1α protein in EDL muscle compared to the control group, no significant difference was observed (P= 0.17).

Conclusion: According to the parameters of the study, it seems that endurance exercise can increase the amount of proteins related to thermogenesis and metabolism.

Key Words: Basal Metabolism, Incremental Endurance Training, Sarcolipin, Thermogenesis, Mitochondria.