المپیک
فصلنامه
سال نوزدهم- شماره ۴ (پیاپی ۵۶) زمستان ۱۳۹۰

پاسخ پروتئین‌های سارکومر عضلهٔ اسکلتی به یک دوره تمرین قدرتی فزاینده در موش‌های صحرایی

۱۲۵
تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۳
تاریخ تصویب: ۹۰/۶/۱۹

❖ **دکتر عباسعلی گائینی**؛ استاد دانشگاه تهران
❖❖ **ندا خالدی**؛ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه تهران*
❖❖❖ **دکترعلی‌اصغر رواسی**؛ دانشیار دانشگاه تهران
❖❖❖❖ **دکترعباس صاحبقدم لطفی**؛ استاد پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری
❖❖❖❖❖ **دکترمهدی هدایتی**؛ دانشیار دانشگاه شهید بهشتی
❖❖❖❖❖❖ **وحید عربکری**؛ دانشجوی کارشناسی‌ارشد خون‌شناسی پزشکی سازمان انتقال خون ایران
❖❖❖❖❖❖❖ **سارا صدرالاشرافی**؛ کارشناس‌ارشد تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد واحد مرکز

چکیده: آلفا-اکتینین‌ها در خط z عضلهٔ اسکلتی حضور دارند و بین فیلامان‌های اکتین ارتباط برقرار می‌کنند و به خانوادهٔ بزرگ پروتئین‌های پیوندی اکتین یعنی دیستروفین و اسپکترین تعلق دارند. عضلهٔ اسکلتی پستانداران، دارای آلفا-اکتینین۲و۳ است. با این حال تحقیقات اندکی دربارهٔ تأثیر تمرین بر پروتئین‌های آلفا-اکتینین انجام شده است. این پژوهش تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی فزاینده بر وزن عضلهٔ تاکنندهٔ دراز انگشت شست پا (FHL) و میزان بیان پروتئین‌های آلفا-اکتینین۲و۳ را بررسی می‌کند. بدین منظور چهل سرموش صحرایی ماده و سه‌ماههٔ نژاد اسپراگ از مؤسسهٔ رازی تهیه و به گروه‌های کنترل (۱۸ موش) و تمرین (۲۲ موش) تقسیم شدند. تمرین مقاومتی شامل بالارفتن از نردبان (بر اساس یک تکرار بیشینه تا رسیدن به درماندگی) همراه با وزنه‌های متصل به دم موش بود. وزنه‌های حمل شده طی هشت هفته تمرین به تدریج افزایش می‌یافت. وزن عضلهٔ FHL افزایش معناداری بین گروه تمرینی و کنترل داشت (P=۰/۰۱). میانگین بیان پروتئین آلفا-اکتینین۲، ۱۳% کاهش و آلفا-اکتینین۳، ۱۵% افزایش را بین گروه‌های تمرین و کنترل نشان داد که این تغییرات از نظر آماری معنادار نبود (به ترتیب P=۰/۶۱ و P=۰/۱۹). نتایج پژوهش نشان داد تمرین مقاومتی فزاینده تغییر معناداری بر سطح پروتئین‌های آلفا-اکتینین۲و۳ عضلهٔ اسکلتی ایجاد نمی‌کند و احتمالاً پژوهش‌های بیش‌تری لازم است تا پاسخ پروتئین‌های سارکومر عضلهٔ اسکلتی بررسی شود.

واژگان کلیدی: آلفا-اکتینین، تاکنندهٔ دراز انگشت شست پا، تمرین مقاومتی، خط z، نردبان عمودی

* **E.mail: Neda@ut.ac.ir**

www.SID.ir
Archive of SID

مقدمه

یکی از نواحی مهم عضلهٔ اسکلتی که فراوان تحت تأثیر محرک‌های مکانیکی قرار می‌گیرد سارکومر عضلهٔ اسکلتی است. سارکومر واحد انقباضی عضلهٔ اسکلتی است که مسئول تولید نیرو در عضله و ایجاد حرکت است (۶). سارکومر متشکل از ساختاری هماهنگ از پروتئین‌هایی است که هر کدام نقش مؤثری در تولید نیرو دارند. خطوط عرضی یک سارکومر را صفحات z می‌سازند. این صفحات تعامل کلیدی اعضای انقباضی و سایتواسکلتی عضله را نشان می‌دهند (۵، ۶).

پژوهش‌های چند دههٔ گذشته نشان داده‌اند نقش غیرفعال صفحات z که ناقل نیرو در سارکومرند، به نقش فعالی تبدیل شده است. با افزایش تعداد پروتئین‌های صفحات z، به وضوح معلوم شده که بسیاری از ترکیبات جدید این صفحات نقش مهمی در مسیرهای سیگنالی دارند. صفحهٔ z (که خط z هم نامیده می‌شود)، مقادیر همودایمرهای سازماندهی شدهٔ پروتئین آلفا-اکتینین زیادی دارد که در آرایشی غیرموازی کنار هم قرار می‌گیرند. این ساختار همانند چارچوبی برای فیلامان‌های ضخیم اکتین، همچنین تیتین و نبولین عمل می‌کند (۶، ۱۲). آلفا-اکتینین‌ها پروتئین‌هایی حفاظتی‌اند. این پروتئین‌ها بین فیلامان‌های اکتین ارتباط برقرار می‌کنند و به خانوادهٔ بزرگ پروتئین‌های پیوندی اکتین یعنی دیستروفین و اسپکترین تعلق دارند (۱۲، ۲۵).

در سلول‌های غیر عضلانی، در میان دستجات فیلامان‌ها، ایزوفرم‌های آلفا-اکتینین ۱و۴ از طریق اتصال کلسیم، چسبندگی غشا را کنترل می‌کنند (۱۰، ۱۳، ۲۵). در عضلهٔ اسکلتی، آلفا-اکتینین ۲و۳، پروتئین‌های اصلی خط z سارکومر را تشکیل می‌دهند (۱۲). پروتئین آلفا-اکتینین از راه ارتباط با پروتئین‌های ساختاری و پیام‌رسانی وابسته به خط z، به ویژه آلفا-اکتین (α-actin) اسکلتی، در عملکرد ایستای عضلهٔ اسکلتی برای حفظ آرایش ویژهٔ میوفیبریلی نقش دارد و در هماهنگی انقباض میوفیبریلی عامل تنظیمی است (۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۶، ۲۵).

به نظر می‌رسد، آلفا-اکتینین با پیوند به دیستروفین از راه سیستم پیوندی یکپارچه‌ای، انسجام سلول عضله را حفظ می‌کند. در مطالعات انجام شده در محیط کشت آزمایشگاهی معلوم شد انتهای کربوکسیلی پروتئین آلفا-اکتینین سارکومری، که نقش مهمی در حفظ یکپارچگی خط z و سازماندهی میوفیبریل‌ها به عهده دارد، جایگاه پیوند تعدادی از پروتئین‌های مهم ارتباطی به ویژه پروتئین‌های خط z مانند میوتیلین است (۹، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰). فرضیه‌های گوناگونی دربارهٔ نقش‌های آلفا-اکتینین در سارکومر طرح شده‌اند. نقش‌هایی که به آلفا-اکتینین نسبت داده‌اند عبارت‌اند از (۱۲):

۱. تغییر ویژگی‌های انقباضی سارکومر در تارهای عضلانی تندانقباض
۲. تأثیر بر تمایزگذاری و هایپرتروفی تار عضلانی از طریق ارتباط غیر مستقیم آلفا- اکتینین و پروتئین‌های سیگنالی مانند کلسی‌نورین
۳. تغییر توانایی مقاومت و تحمل و بازیافت پس از فعالیت ورزشی آسیب‌زا
۴. تغییر ویژگی‌های متابولیکی تارهای عضلانی از راه آنزیم‌های متابولیکی فروکتوز ۶-۱ دی

www.SID.ir
Archive of SID

فسفاتاز و گلیکوژن فسفوریلاز.

عضلهٔ اسکلتی یکی از منعطف‌ترین بافت‌هاست که در پاسخ به تحریکات، دچار تغییرات فیزیولوژیایی و بیوشیمیایی می‌شود. قویاً تأیید شده است که تکرار وهله‌های تمرین مقاومتی/ انقباض‌های نیرومند سبب رشد مضاعف عضلهٔ اسکلتی می‌شود (۱۴، ۲۶). افزایش وزن عضلهٔ اسکلتی نتیجهٔ افزایش سنتز پروتئین فراتر از تغییرات تجزیهٔ پروتئین است که پیامد آن تجمع پروتئین و افزایش سطح مقطع تار عضله است. افزایش وزن عضله یا هایپرتروفی مهم‌ترین سازگاری عضله در پاسخ به تحریکات مکانیکی است (۲۶). پژوهش‌های بسیاری به بررسی تأثیر انواع تمرین قدرتی بر میزان تغییرات هورمونی، عملکرد ورزشی، و رشد عضلهٔ اسکلتی پرداخته‌اند (۱، ۲، ۳، ۲۶).

پژوهش‌هایی که به مطالعهٔ تأثیر فعالیت‌ها و تمرین‌های ورزشی بر پروتئین‌های آلفا-اکتینین پرداخته‌اند اندک‌اند. یو و همکارانش (۳۰) نشان دادند آلفا-اکتینین‌ها بلافاصله بعد از فعالیت ورزشی برون‌گرا کاهش می‌یابند و پس از گذشت چند روز به مقادیر اوج می‌رسند. از طرفی، در هفت تا هشت روز بازیافت، به تدریج به مقادیر پایه نزدیک می‌شوند.

تنها مطالعه‌ای که به تأثیر تمرین طولانی‌مدت بر مقادیر پروتئین آلفا-اکتینین پرداخته است، پژوهش اوگارا و همکارانش (۲۱) است. آنان نشان دادند نه هفته تمرین سرعتی روی نوارگردان سبب افزایش مقادیر آلفا-اکتینین۲ در همهٔ عضلات می‌شود، اما آلفا-اکتینین۳ در گروه کنترل و تمرین هیچ تفاوتی نشان ندادند.

در سال‌های گذشته، تمرکز بیش‌تر پژوهش‌ها در زمینهٔ آلفا-اکتینین عضلهٔ اسکلتی به تأثیر پلی‌مورفیسم‌های گوناگون ژن این پروتئین بر عملکرد ورزشی معطوف بوده است. به منظور نشان دادن تأثیر ژنوتیپ بر عملکرد ورزشی، مک آرتور و همکارانش (۱۱) با غیر فعال کردن ژن آلفا-اکتینین۳ در موش‌های KO[1] شده نشان دادند عضلات دارای کمبود آلفا-اکتینین۳ (ژنوتیپ XX)، بازیافت پس از خستگی و زمان رسیدن به درماندگی بهتری داشته‌اند. این یافته‌ها نشان می‌دهند تغییر مسیر سوخت‌وسازی اکسیداتیو در موش‌های KO، ظرفیت استقامتی ذاتی را افزایش می‌دهد. از طرفی، تغییرات متأثر از ژنوتیپ با تغییر نوع تار و کاهش ویژگی‌های انقباضی همراه است و این تغییرات با همبستگی بین ژنوتیپ جهش یافته و تضعیف عملکرد سرعتی در فرد ورزشکار و غیرورزشکار سازگاری دارد (۱۰، ۱۱).

از این‌رو، تعیین ویژگی و تغییرات آلفا-اکتینین۲و۳ از موضوعات مورد علاقهٔ محققان بوده و هست. از آنجا که در دو دههٔ گذشته نقش تمرین‌های ورزشی بر ژنوتیپ افراد و ورزشکاران اهمیت داشته است، پژوهش حاضر به طور خاص به تأثیر هشت هفته تمرین قدرتی فزاینده بر بیان پروتئین‌های عملکردی عضلهٔ اسکلتی، آلفا-اکتینین۲و۳ پرداخته است تا نشان دهد آیا این پروتئین‌های مهم عضلهٔ اسکلتی تحت تأثیر تمرین قدرتی و هایپرتروفی قرار می‌گیرند؟

روش‌شناسی

این پژوهش از نوع تجربی و آزمایشگاهی

1. knockout

www.SID.ir

است. در این پژوهش تغییرات حاصل از اجرای یک دوره تمرین قدرتی فزاینده در گروه تمرینی (۲۲n=) و گروه کنترل (۱۸n=) موش‌های صحرایی ماده در پروتئین‌های سارکومری عضلهٔ اسکلتی پس از گذشت ۲۰ جلسه تمرین قدرتی مطالعه شد. نمونه‌های پژوهش عبارت بودند از چهل سرموش صحرایی ماده و سه‌ماهه از نژاد اسپراگ با دامنهٔ وزنی ۱۸۵ تا ۲۰۰ گرم که از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو رازی ایران تهیه شدند و به آزمایشگاه حیوانات دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران انتقال یافتند. گروه آزمایشی بیست روز زودتر وارد محیط آزمایشگاه شدند و تحت آزمایش‌های گوناگون قرار گرفتند. حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه و قرار گرفتن در محیط پژوهش و آشنایی با فعالیت ورزشی نردبان عمودی ویژهٔ جوندگان، بر اساس یک تکرار بیشینهٔ موش‌ها به دو گروه کنترل و تمرین تقسیم شدند. گروه پیش‌آزمون یک هفته پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه برای سنجش مقادیر پایه معدوم شد.

برای آماده کردن شرایط محیطی مناسب موش‌ها از آخرین توصیه‌های علمی و اصولی در کدهای اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در تحقیقات که در کشور استرالیا به چاپ رسیده است استفاده شد (۴). بر این اساس، موش‌های صحرایی در این پژوهش به صورت گروهی (چهار سرموش) در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف و در محیطی با دمای استاندارد تعریف شده برای رت‌ها ۱۸-۲۶ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت ۳۰ تا ۷۰% نگهداری شدند. به منظور اجرای اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و ارتقای کیفیت زندگی و تعدیل استرس ناشی از محیط، از لوله‌های پلاستیکی به طول ۲۰ سانتی‌متر در داخل قفس به منظور سرگرمی استفاده شد.

با توجه به تحقیقات انجام شده (۴، ۲۳) در زمینهٔ بهترین زمان فعالیت موش‌های آزمایشگاهی در تاریکی، از چرخهٔ معکوس تاریکی به روشنایی هر ۱۲ ساعت از ساعت ۸ صبح تا ۲۰ بعدازظهر استفاده شد، به شکلی که همهٔ حیوانات در تاریکی تمرین می‌کردند و حیوانات آزمایشی نیز در همین شرایط آماده شدند. وضعیت آلاینده‌های هوا با توجه به شاخص استاندارد آلاینده‌ها (PSI) در بخش اعظم دورهٔ پژوهش (دست کم یک هفته قبل از اتمام مراحل نمونه‌گیری) در وضعیت سالم قرار داشت. با این حال، برای حفظ دما، رطوبت هوا، و تهویهٔ مناسب (به منظور تعدیل سطح آلودگی موجود در مکان آزمایشگاه و کاهش بوی محیط ناشی از تجمع آمونیاک حاصل از ادرار و کاهش بروز بیماری‌های تنفسی در آزمودنی‌ها و همکاران تحقیق) از دستگاه تصفیهٔ هوا، دماسنج، و رطوبت‌سنج دیجیتال با قابلیت ثبت تغییرات طی ۲۴ ساعت، دستگاه تهویهٔ هوا، چیلر گرمایی، و دستگاه بخور سرد استفاده شد. برای جمع‌آوری ادرار و مدفوع آزمودنی‌ها نیز از تراشه‌های استریل مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو سرم‌سازی رازی ایران استفاده شد.

پروتکل تمرین قدرتی پیش‌رونده

آشناسازی حیوانات با نردبان عمودی در سه جلسهٔ تمرینی در یک هفته انجام شد. نردبان عمودی

www.SID.ir

به ارتفاع ۱/۵۰ سانتی‌متر و قطر پله‌های ۲ سانتی‌متر و زاویـهٔ ۸۵ درجه در قسـمت فوقانی محفظه‌ای کاملاً مجزا برای اسـتراحت حیوان قـرار گرفت. به منظور حمل وزنهٔ تمرینی، ابتدا نقطهٔ مورد نظر اتصال کیسهٔ حمل وزنه با چسـب لکوپلاست پوشیده شد. سپس، کیسه با پارچه‌ای به دم چسبانده شد تا حیوان کمترین آزردگی را هنگام حمل وزنه تحمل کند. وزنه‌هایی که به داخل کیسـه گذاشته می‌شد وزنه‌های سربی با وزن مشـخص بود که به دلیل کوچـک بودن و در عین حال وزن‌دار بودن از آن‌ها استفاده شد. کیسه در ۲/۳ انتهای فوقانی دم حیوان متصل می‌شد.

موش‌ها در پایین نربان گذاشـته شدند و با تکان انتهای دم، بالا رفتن از نردبان تحریک می‌شـد. پس از مدت مذکور، موش‌های گروه آزمایشـی ابتدا به مدت یک هفته (سه جلسهٔ تمرینی) پروتکل تمرینی را در اتـاق تمرین و در چرخـهٔ تاریکی انجام دادند. در ایـن پروتکل ابتدا یک تکرار بیشـینهٔ آزمودنی‌ها اندازه‌گیری شـد که نحوهٔ محاسـبهٔ آن در جدول ۱ آمده اسـت. حداکثر وزنهٔ حمل شدهٔ موش‌ها پس از امتناع از بالارفتن بدین شـکل قابل تشخیص بود که اگر حیوان پس از ممانعت از بالارفتن با سه تحریک پیاپی (ایجاد صـدای بلند و یا تکان دادن دم) باز هم بالا نرود، به منزلهٔ اتمام فعالیت حیوان در آن جلسه و رسیدن به درماندگی در نظر گرفته می‌شد (۷).

در پروتکل تمرینی هر جلسه تمرین چهار تکرار اول با ۵۰% و ۷۵%، ۹۰% و ۱۰۰% وزن بدن حیوان آغاز می‌شد و در تکرارهای بعدی هر بار ۳۰ گرم به وزنه‌ها اضافه می‌شـد تا حیوان به درماندگی برسـد. آخریـن وزنهٔ حمل شـده در هر جلسـه یک تکرار بیشینهٔ جلسهٔ بعدی در نظر گرفته می‌شد که بر اساس آن وزنه‌های آن جلسهٔ تمرینی تعیین می‌گردید.

این دورهٔ تمرینی شـامل بیست جلسه بود که هر سـه روز در میان انجام می‌شـد. در این دورهٔ تمرینی از هیـچ شـوک الکتریکی اسـتفاده نشـد. نمونه‌ای از پروتـکل تمرینـی در جدول ۱ آمده اسـت. وزن موش‌ها در آغاز هر جلسهٔ تمرینی اندازه‌گیری می‌شد تا نسبت افزایش وزن بدن به افزایش وزنهٔ حمل شده اندازه‌گیری شود (۸).

جدول ۱. محاسبهٔ 1 RM و پروتکل تمرینی تا رسیدن به درماندگی

محاسبهٔ یک تکرار بیشینه					پروتکل تمرینی جلسهٔ اول			
۷۵% وزن بدن	۷۵% وزن بدن +۳۰ گرم	۷۵% وزن بدن +۶۰ گرم	۷۵% وزن بدن +۹۰ گرم	۷۵% وزن بدن +۱۲۰گرم	۵۰% ۱RM محاسبه شده	۷۵% ۱RM	۹۰% ۱RM	۱۰۰% ۱RM
۷۵% وزن بدن +۱۶۰ گرم					۱۰۰% ۱RM + ۳۰ گرم	۱۰۰% ۱RM + ۶۰ گرم	۱۰۰% ۱RM + ۹۰ گرم	۱۰۰% ۱RM + ۱۲۰ گرم
تا رسیدن به درماندگی					تا رسیدن به درماندگی			

www.SID.ir

استخراج و سنجش بیان پروتئین

جمع‌آوری نمونه‌های عضلانی

برای بیرون آوردن عضلهٔ مورد سنجش، عضلهٔ تاکنندهٔ دراز انگشت شست پا (FHL) در دو گروه کنترل و تمرین، ابتدا موش‌ها با ترکیبی از داروی بیهوشی کتامین (۷۵ میلی گرم/ کیلو گرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/ کیلو گرم) به نسبت وزن بدن و جنسیت بیهوش شدند. سپس، برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، ابتدا فوراً از قلب حیوان مستقیماً خون‌گیری به عمل آمد. عضلهٔ استخراج شده از اندام تحتانی بلافاصله با ترازوی ۰/۰۰۰۱ وزن کشی و با چسب OCT آماده‌سازی شد. سپس، با استفاده از پروتکل ایزوپنتان و ازت مایع فریز و به فریزر ۸۰- منتقل شدند.

سنجش پروتئین‌های عضله

به منظور آماده‌سازی نمونه برای سنجش پروتئین ابتدا از بافت‌های فریز شده برش‌هایی به قطر ۸ میکرون و از هر نمونه ده برش با دستگاه کرایوست تهیه شد. سپس، به تکه‌های برش بافر مخصوص عضله با ترکیبی از مهارکننده‌های پروتئازی و فسفاتازی اضافه شد تا استخراج پروتئین‌ها صورت گیرد. با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰rpm و به مدت ۱۵ ثانیه ابتدا نمونه‌ها تفکیک و با استفاده از سونوکیتور همگون‌سازی شدند. پس از این مرحله، نمونه‌ها در ۹۵ درجهٔ سانتی گراد برای مدت ۱۰ دقیقه حرارت دیدند تا تمامی پیوندهای پروتئینی شکسته شوند و بتوان مقادیر خالص پروتئین را اندازه‌گیری کرد (۲۴).

به منظور سنجش و تعیین میزان پروتئین‌های موجود در هر نمونه از روش وسترن‌بلات و دستگاه SDS-PAGE یک‌بعدی (BIO-RAD) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا با هدف یکسان‌سازی نسبت پروتئین‌های موجود در هر نمونه با استفاده از روش رنگ‌آمیزی بلوکوماسین (منبع کاترین)، نسبت پروتئین‌ها یکسان شدند. با استفاده از ژل‌های ۱۰% اکریلامیدی در دستگاه SDS-PAGE پروتئین‌ها به روش غیراختصاصی رنگ‌آمیزی شدند. سپس، به منظور استخراج اختصاصی پروتئین‌های آلفا-اکتینین ۲ و ۳ ساندویچ‌های وسترن بلات به روش انتقال پروتئین از ژل به غشای نیتروسلولزی یا PVDF انجام شد. در این مرحله پروتئین‌ها از ژل تهیه شده در مرحلهٔ SDS-PAGE به غشا منتقل شدند. سپس، مراحل رنگ‌آمیزی اختصاصی انجام شد. در این مرحله با اضافه کردن آنتی‌بادی‌های اختصاصی آلفا-اکتینین ۲ و آلفا-اکتینین ۳ (هدیه از بیمارستان وست‌مد پروفسور کاترین نورت) به نسبت‌های ۱:۱۵۰۰۰۰۰ و ۱:۱۲۰۰۰ میکرولیتر به غشای مورد نظر به مدت دو ساعت در دمای محیط و سپس رنگ‌آمیزی اختصاصی با آنتی‌بادی‌های ثانویه Anti-IgG (rabbit(Nordic company Holland به نسبت ۱:۵۰۰۰ به مدت یک ساعت در دمای محیط صورت گرفت. سپس، به منظور ثبت تصویر این پروتئین‌ها بر روی غشای PVDF، محلول ECL برای رنگ‌آمیزی آنتی‌بادی ثانویهٔ متصل به پروتئین مورد نظر اضافه شد و در تاریکخانه بر روی فیلم X-RAY ظهور انجام گرفت. با استفاده از نرم‌افزار IMAGE J میزان چگالی پروتئینی سنجیده شد. تصویر به‌دست آمده از این پروتئین‌ها در شکل‌های ۱و ۲ آمده است.

تجزیه و تحلیل آماری

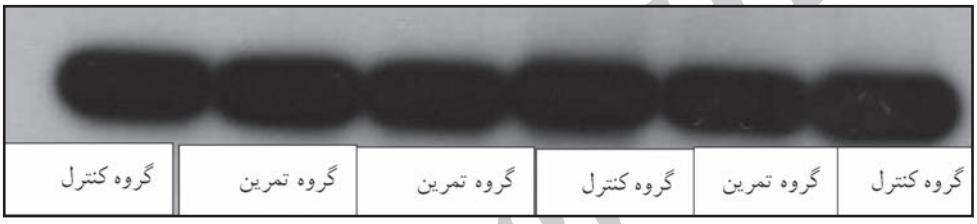
از آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها استفاده

www.SID.ir
Archive of SID

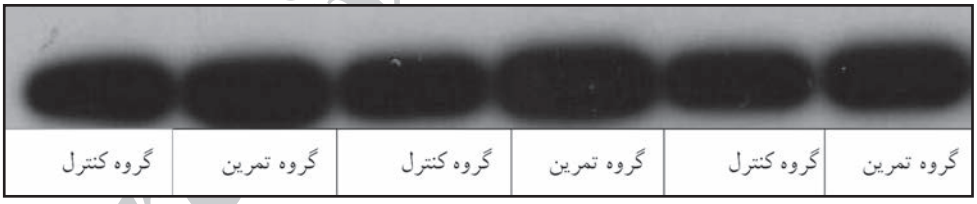
شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنف تعیین کنندهٔ نحـوهٔ توزیع داده به شـکل طبیعی بود. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌هـا، برای تجزیه و تحلیل یافته‌هـا در بیـن دو گـروه از آزمون t مسـتقل استفاده شـد. اختلاف معناداری آماری در سطح P≤۰/۰۵ بود.

نتایج

تفاوت معنـاداری در وزن بدن حیوانات بین دو گروه کنترل و تمرین مشـاهده نشد (۱۱±۲۰۴/۳۱). تمرین مقاومتی تأثیر معناداری بر افزایش وزن عضلهٔ FHL در گـروه تمرینی در مقایسـه با گروه کنترل داشت (P=۰/۰۱) (جدول ۲ و شکل‌های ۳ و۴).



شکل ۱. تصویر وسترن بلات پروتئین‌های آلفا-اکتینین ۲ در عضلهٔ FHL گروه‌های کنترل و تمرینی. اختلاف قابل مشاهده در بین همهٔ گروها از نظر آماری معنادار نبود (P= ۰/٦١).

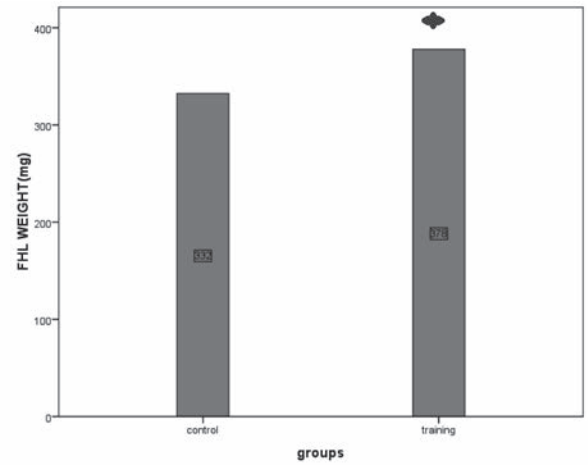


شکل ۲. تصویر وسترن بلات پروتئین‌های آلفا-اکتینین ۳ در عضلهٔ FHL گروه‌های کنترل و تمرینی. اختلاف قابل مشاهده در بین همهٔ گروه‌ها از نظر آماری معنادار نبود (P/۱۹=۰).

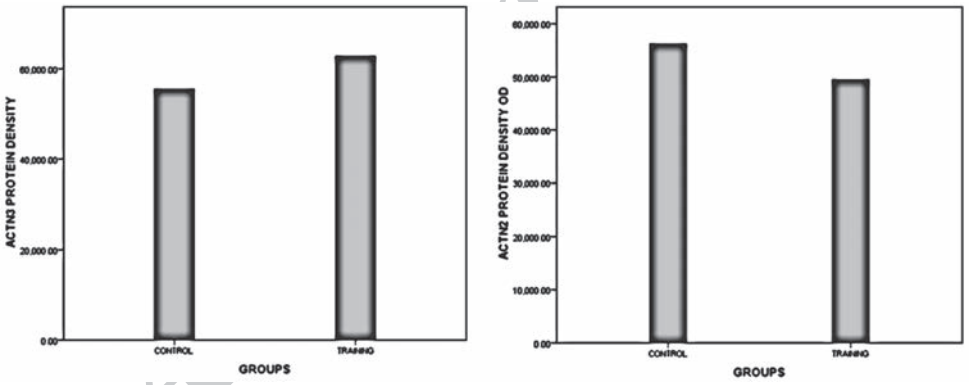
جدول ۲. تفاوت معنادار در وزن عضلهٔ FHL بین گروه کنترل و تمرین (P ≤۰/۰۵)

متغیرها	گروه تمرین	گروه کنترل
وزن بدن (گرم)	۱۱±۲۰۴/۳۱	۹±۲۰۲/۹۶
FHL (میلی‌گرم)	۱۱±۳۷۷/۹۲*	۳۶±۳۳۲/۳۰

www.SID.ir



شکل ۳. تفاوت معنادار بین وزن FHL در گروه‌های کنترل و تمرین



شکل ٤. تفاوت میزان آلفا-اکتینین ۳ در گروه‌های تمرین و کنترل، نشان‌دهندهٔ ۱۳% افزایش

شکل ۴ نشان‌دهندهٔ تفاوت ۱۳% آلفا-اکتینین ۳ در عضلهٔ FHL بین گروه‌های کنترل و تمرین است. اما، این تفاوت معنادار نیست (P=۰/۱۹). از طرفی، در مقایسهٔ پروتئین آلفا-اکتینین ۲ عضلهٔ FHL بین گروه‌های کنترل و تمرین کاهش ۱۵% گروه تمرین نیز معنادار نبود (P=۰/۶۱).

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد آلفا-اکتینین ۳ در عضلهٔ تندانقباض FHL افزایش ۱۳% داشت، اما این افزایش معنادار نبود (P =۰/۱۹). از طرفی، نتایج بررسی میزان پروتئین آلفا-اکتینین ۲، کاهش ۱۲% نشان داد که آن نیز معنادار نبود (P=۰/۶۱).

با توجه به تحقیقات صورت گرفته در زمینهٔ آلفا-اکتینین‌ها، چندین موضوع با افزایش یا کاهش این پروتئین‌ها اهمیت می‌یابد. یکی از پیش‌فرض‌های مورد نظر، پاسخ‌پذیری این پروتئین‌ها به تمرین ورزشی است. قبلاً اوگارا و همکارانش (۲۳) نشان دادند ایزوفرم‌های پروتئین آلفا-اکتینین به ویژه آلفا-اکتینین ۲ به تمرین ورزشی سرعتی پاسخ می‌دهند. آن‌ها این افزایش را با افزایش درصد تارهای کندانقباض ارتباط دادند. درصد بیان آلفا-اکتینین‌ها و ارتباط آن‌ها با نوع تار پیش از این در پژوهش‌های بسیاری آزمایش و تأیید شده که بیان آلفا-اکتینین ۳ ویژهٔ تارهای نوع II و IIb است. اما درصد بیان آلفا-اکتینین ۲ در تارهای نوع ۱ بیش‌تر است (۲۸). نتایج پژوهش نشان می‌دهد، گرچه افزایش یا کاهش این پروتئین‌ها معنادار نبود، تا حدودی می‌توان پاسخ‌پذیری به تمرین در آن‌ها را با توجه به درصدهای تغییر تخمین زد.

نورت و همکارانش (۱۷) نشان دادند حضور آلفا-اکتینین ۳ با افزایش قدرت، سرعت، نیرو، و گشتاور تولیدی ارتباط تنگاتنگی دارد. مطالعهٔ یانگ و همکارانش (۲۹) نیز نشان می‌دهد فرم طبیعی ژن آلفا-اکتینین ۳ در تولید نیروی بیشینه (MVC)[1] مفید است. آنان معتقدند هنگام انقباض‌های سریع، پروتئین آلفا-اکتینین ۳، احتمالاً مسئول ظرفیت بیش‌تر جذب و انتقال نیرو در خط Z سارکومر است.

در تحقیق نورمن و همکارانش (۱۵)، ارتباط بین ژنوتیپ‌های آلفا-اکتینین ۳ و قدرت، توان، نوع تار عضله، همچنین مقدار بیان ژن آلفا-اکتینین ۳ در ۱۲۰ مرد تمرین کرده پس از یک وهله فعالیت ورزشی (۳۰ ثانیه دوچرخهٔ وینگیت) مطالعه شد. نتایج نشان داد تکرار وهله‌های فعالیت ورزشی در ژنوتیپ‌های آلفا-اکتینین ۳ سبب افزایش اوج گشتاور در ژنوتیپ طبیعی یعنی افرادی که به میزان طبیعی آلفا-اکتینین تولید می‌کنند شد و در ژنوتیپ جهش‌یافته تغییری ایجاد نکرد.

به وضوح مشخص است که حضور آلفا-اکتینین ۳ در تولید نیروی بیش‌تر نقش دارد. از طرفی، آلفا-اکتینین ۳ در تارهای تندانقباض نوع II حضور بیش‌تری دارد. اوگارا و همکارانش (۲۱) نیز از جهات دیگری به بررسی تغییرات بیان ژن آلفا-اکتینین ۳ پرداختند. آن‌ها با توجه به رابطهٔ کشف شده بین حضور آلفا-اکتینین ۳ و تغییر نوع تار، به بررسی پاسخ سازگاری آلفا-اکتینین ۳ به تغییر نوع تار پرداختند. آن‌ها دریافتند پس از یک دوره بی‌باری عضله، و تغییر نوع تار از کندانقباض به تندانقباض در موش‌ها، میزان بیان آلفا-اکتینین ۳ افزایش داشت، اما تغییری در بیان آلفا-اکتینین ۲ مشاهده نشد. نتیجهٔ به‌دست آمده از پژوهش حاضر با توجه به پژوهش‌های انجام شده با تأثیر مداخله‌های دیگر دور از انتظار نبود. گرچه نمی‌توان انتظار داشت با توجه به تغییرات صورت گرفته در انواع تار و کاهش درصد تارهای تندانقباض به واسطهٔ تمرین قدرتی، میزان آلفا-اکتینین ۳ عضله افزایش یابد. اما افزایش

1. maximal voluntary contraction

www.SID.ir

۱۳ درصدی در میـزان آلفا-اکتینین۳ با اینکه از نظر آماری معنادار نبود، بیانگر نقش عوامل دیگری مانند آنزیم‌های گلیکولیزی و توان بی‌هوازی سلول عضله در مواجه با تمرین قدرتی است. علت معنادار نبودن تفاوت میزان آلفا-اکتینین۳ گروه کنترل و تمرین را می‌توان به کافی نبودن طول دورهٔ تمرینی نیز نسبت داد. با اینکه داده‌های به‌دست آمده از تغییرات وزن عضلات و بدن آزمودنی‌ها گویای شکل‌گیری هایپرتروفی است، اما شاید این میزان تمرین و شدت آن در تحریک پاسخ‌های فیزیولوژیایی آلفا-اکتینین۳ کافی نباشد.

بررسی میزان تغییرات آلفا-اکتینین۲ در مقایسهٔ بین گروه‌های کنترل و تمرین نشان داد این پروتئین در پاسخ به تمرین قدرتی تغییر معناداری نداشت (P=۰/۶۱). به طور کلی، پژوهش‌های بسیار کمی به بررسی پاسخ این پروتئین به تمرین پرداخته‌اند. از میان آن‌ها می‌توان به تحقیق اوگارا و همکارانش (۲۱) اشاره کرد. آنان پس از نه هفته تمرین سرعتی دریافتند محتوی پروتئین آلفا-اکتینین۳ تغییری نکرد، اما بیان آلفا-اکتینین۲ افزایش یافت. نتیجهٔ این پژوهش با داده‌های به‌دست آمده از پژوهش حاضر ناهمسوست. با اینکه محتوی آلفا-اکتینین۲ در پژوهش حاضر تغییر معناداری نشان نداد، اما درصد کاهش آن بیانگر کاهش جزئی این پروتئین در پاسخ به تمرین قدرتی است.

علتی که شاید در تحقیق یو و همکارانش (۳۰) نیز به آن اشاره شد تا حدودی پاسخگوی کاهش اندک آلفا-اکتینین۲ است. آنان با مطالعهٔ آلفا-اکتینین‌ها در پاسخ به فعالیت ورزشی آسیب‌زا به این نتیجه رسیدند که آلفا-اکتینین‌ها نقش حفاظتی و بازشکل‌گیری در عضلهٔ اسکلتی دارند، گرچه هیچ تجزیه و تحلیل کیفی‌ای در این مطالعه صورت نگرفت. آن‌ها نشان دادند پس از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین جلسهٔ تمرینی، میزان آلفا-اکتینین‌ها به اوج می‌رسد و پس از ۷-۸ روز به میزان طبیعی برمی‌گردد. آنان معتقدند این تغییرات آلفا-اکتینین‌ها پس از فعالیت ورزشی آسیب‌زا به نقش محافظتی آن‌ها مرتبط است.

اما به طور کلی، با توجه به اینکه بیش‌تر پژوهش‌ها به بررسی تأثیر ژنوتیپ‌های گوناگون آلفا-اکتینین‌ها بر عملکرد ورزشی پرداخته‌اند، نتیجه‌گیری دربارهٔ پاسخ این پروتئین‌ها به تمرین ورزشی کار ساده‌ای نیست. بدون تغییر بودن آلفا-اکتینین۲ و آلفا-اکتینین۳ در پاسخ به تمرین قدرتی سؤال‌های زیادی را در زمینهٔ تغییرات سوخت‌وسازی عضلهٔ FHL مطرح می‌کنند، چرا که عضلهٔ FHL دارای الگوی فراخوانی ویژه‌ای است شامل فاز اولیهٔ انقباض برون‌گرا و سپس درون‌گرا (۸). لذا، عدم تغییر این پروتئین‌ها علی‌رغم هایپرتروفی ایجاد شده در عضلهٔ FHL احتمالاً متأثر از تغییراتی است که مربوط به الگوی فراخوانی تارهای آن نیز هست.

به طور خلاصه، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً این دو پروتئین سارکومری عضلهٔ اسکلتی که نقش بسیار مهمی در انتقال و تولید نیرو در عضله دارند، به میزان کافی تحت تأثیر تمرین قدرتی قرار نمی‌گیرند. انتظار می‌رفت تمرین قدرتی و هایپرتروفی با هدف کسب و افزایش قدرت بر این دو پروتئین مهم سارکومری تأثیر داشته باشند که نقش ویژهٔ آن‌ها بر افزایش تولید نیروی بیش‌تر بررسی شده است. اما نتیجهٔ پژوهش حاضر چنین نبود. نقش عواملی دیگر

www.SID.ir

همچون عوامل متابولیکی و سازگاری واحدهای حرکتی در جهت افزایش قدرت را نمی‌توان نادیده گرفت. پژوهش‌های بیش‌تری لازم است تا رفتارهای فیزیولوژیایی آلفا-اکتینین۲ و آلفا-اکتنیین ۳ مشخص‌تر شوند. تعیین روش‌های متفاوت تمرینی یا تغییر طول دورهٔ تمرین‌ها نقش این دو پروتئین را واضح‌تر می‌کند. از طرفی، پیشنهاد می‌شود با توجه به تأثیر بیان ژن بر محتوی پروتئینی، تغییرات ناشی از بیان ژن متأثر از تمرین‌های گوناگون نیز صورت گیرد تا مراحل تأثیر انواع تمرینات، همچنین بازه‌های زمانی مؤثر بر بیان ژن و پروتئین مشخص گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

۱. اراضی، حمید؛ دمیرچی، ارسلان؛ بابایی، پروین، ۱۳۸۶، پاسخ مرحلهٔ حاد به یک و دو جلسه تمرینات استقامتی و مقاومتی هم‌زمان، المپیک، ۱۵(۳(۳۹)): ۶۶-۸۰.

۲. بروجردی، سعید؛ رحیمی، رحمان، ۱۳۸۸، واکنش هورمونی نسبت به دو برنامهٔ مقاومتی شدید هم‌حجم با استراحت‌های متفاوت بین ست‌ها، المپیک، ۱۷(۱(۴۵)):۵۷-۶۸.

۳. دانشمندی، حسن؛ افشارنژاد، طاهر؛ حسینی، علی، ۱۳۸۵، اثر تمرین مقاومتی یک‌طرفه و بی‌تمرینی بر سازگاری‌های عصبی عضو تمرین نکرده، المپیک، ۱۴(۳(۳۵)): ۴۶-۶۰.

4. **American sp. resource book for the design of animal exercise protocols american physiological society (2006).**
5. **Bfab, V. (1996). Muscle plasticity: energy demand and supply processes, Handbook of Physiology Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems Am Physiol Soc, pp 1074–123.**
6. **Frank, D.; Kuhn, C.; Katus, H.A.; Frey, N. (2006). "The sarcomeric Z-disc: a nodal point in signalling and disease", J Mol Med. Jun, 84(6): 446-68.**
7. **Goettsch, B.M.; Smith, M.Z.; O'Brien, J.A.; Gomez, G.V.; Jaque, S.V.; Sumida, K.D. (2008). "Interrupted vs. uninterrupted training on BMD during growth", Int J Sports Med., Dec., 29(12):980-6.**
8. **Lee, S.; Barton, E.R.; Sweeney, H.L.; Farrar, R.P. (2004). "Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats", J Appl Physiol., Mar., 96(3):1097-104.**
9. **Lek, M.; Quinlan, K.G.; North, K.N. (2010). "The evolution of skeletal muscle performance: gene duplication and divergence of human sarcomeric alpha-actinins", Bioessays, Jan., 32(1): 17-25.**
10. **MacArthur, D.G.; Seto, J.T.; Chan, S.; Quinlan, K.G.; Raftery, J.M.; Turner, N., et al (2008). "An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between alpha-actinin-3 deficiency and human athletic performance", Hum Mol Genet, Apr. 15, 17(8): 1076-86.**
11. **MacArthur, D.G.; North, K.N. (2007). "ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance", Exerc Sport Sci Rev, Jan., 35(1):30-4.**
12. **MacArthur, D.G.; North, K.N. (2004). "A gene for speed? The evolution and function of alpha-actinin-3", Bioessays, Jul, 26(7): 786-95.**
13. **Mills, M.; Yang, N.; Weinberger, R.; Vander Woude, D.L.; Beggs, A.H.; Easteal, S., et al. (2001). "Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy", Hum Mol Genet, Jun 15, 10(13): 1335-46.**
14. **Miyazaki, M.; Esser, K.A. (2009). "Cellular mechanisms regulating protein synthesis and skeletal muscle hypertrophy in animals", J Appl Physiol, Apr., 106(4):1367-73.**
15. **Norman, B.; Esbjornsson, M.; Rundqvist, H.; Osterlund, T.; von Walden, F.; Tesch, P.A. (2009). "Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes", J Appl Physiol., Mar., 106(3):959-65.**
16. **North, K. (2008). "Why is alpha-actinin-3 deficiency so common in the general population? The evolution of athletic performance", Twin Res Hum Genet, Aug., 11(4):3, 84-94.**
17. **North, K.; Laing, N.G. (2008). "Skeletal muscle alpha-actin diseases", Adv Exp Med Biol., 642:15-27.**
18. **North, K.; Laing, N.G.; Wallgren-Pettersson, C. (1997). "Nemaline myopathy: current concepts: The ENMC International Consortium and Nemaline Myopathy", J Med Genet, Sep.; 34(9):705-13.**

Archive of SID
www.SID.ir

19. North, K.; Miller, G.; Lannaccone, S.T.; Clemens, P.R.; Chad, D.A.; Bella, L., et al. (1996). "Cognitive dysfunction as the major presenting feature of Becker's muscular dystrophy", Neurology, Feb.; 46(2):461-5.
20. North, K.; Specht, L.A.; Sethi, R.K.; Shapiro, F.; Beggs, A.H. (1996). "Congenital muscular dystrophy associated with merosin deficiency", J Child Neurol, Jul., 11(4):291-5.
21. Ogura, Y.; Naito, H.; Kakigi, R.; Akema, T.; Sugiura, T.; Katamoto, S., et al. (2009). "Different adaptations of alpha-actinin isoforms to exercise training in rat skeletal muscles", Acta Physiol, Jul., 196(3):341-9.
22. Ogura, Y.; Naito, H.; Kakigi, R.; Lchinoseki-Sekine, N.; Kurosaka, M.; Katamoto, S. (2008). "Alpha-actinin-3 levels increase concomitantly with fast fibers in rat soleus muscle", Biochem Biophys Res Commun, Aug., 8;372(4):584-8.
23. Perry, M. (1998). "Revised Australian Code of Practice for the care and use of animals for scientific purposes", Aust Vet J., Apr., 76(4):286.
24. Seto, J.T.; Chan, S.; Turner, N.; MacArthur, D.G.; Raftery, J.M.; Berman, Y.D., et al. (2011). "The effect of alpha-actinin-3 deficiency on muscle aging", Exp Gerontol, Apr., 46(4): 292-302.
25. Sjoblom, B.; Salmazo, A.; Djinovic-Carugo, K. (2008). "Alpha-actinin structure and regulation", Cell Mol Life Sci, Sep., 65(17): 2688-701.
26. Spangenburg, E.E. (2009). "Changes in muscle mass with mechanical load: possible cellular mechanisms", Appl Physiol Nutr Metab, Jun, 34(3):328-35.
27. Taylor, N.A.; Wilkinson, J.G. (1986). "Exercise-induced skeletal muscle growth. Hypertrophy or hyperplasia?", Sports Med., May-Jun, 3(3):190-200.
28. Vincent, B.; De Bock, K.; Ramaekers, M.; Van den Eede, E.; Van Leemputte, M.; Hespel, P. et al. (2007). "ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution", Physiol Genomics, Dec., 19, 32(1):58-63.
29. Yang, N.; MacArthur, D.G.; Gulbin, J.P.; Hahn, A.G.; Beggs, A.H.; Easteal, S., et al. (2003). "ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance", Am J Hum Genet, Sep., 73(3): 627-31.
30. Yu, J.G.; Furst, D.O.; Thornell, L.E. (2003). "The mode of myofibril remodelling in human skeletal muscle affected by DOMS induced by eccentric contractions", Histochem Cell Biol., May, 119(5):383-93.

Archive of SID

www.SID.ir