المپیک
فصلنامه
سال بیستم- شماره ۴ (پیاپی ۶۰) زمستان ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۲۳
تاریخ تصویب: ۹۱/۴/۲۹

تأثیر تمرین استقامتی بر محتوی پروتئینی هم‌انتقال‌دهندهٔ سدیم بی‌کربنات و مبادله‌گر سدیم- هیدروژن در عضلات اسکلتی رت

❖ **امیرعباس منظمی**؛ استادیار، دانشگاه رازی کرمانشاه*
❖❖ **حمید رجبی**؛ دانشیار، دانشگاه تربیت معلم تهران
❖❖❖ **رضا قراخانلو**؛ دانشیار، دانشگاه تربیت مدرس تهران

چکیده: هدف از مطالعهٔ حاضر عبارت است از تعیین اثر تمرین استقامتی بر میزان محتوی پروتئینی مبادله‌گر سدیم- هیدروژن و هم‌انتقال‌دهندهٔ سدیم بی‌کربنات در عضلات اسکلتی بازکنندهٔ طویل انگشت شست (تند) و نعلی (کند) رت. بیست رت نژاد ویستار نر در سن چهار هفتگی با میانگین وزن ۱۰/۸±۹۵/۷ گرم انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تمرینی تقسیم شدند. تمرین استقامتی (دویدن روی نوارگردان با سرعت m/min ۲۰ و به مدت ۲۰ دقیقه و تدریجاً رسیدن به سرعت m/min ۳۰ و به مدت ۳۵ دقیقه در هفتهٔ آخر) به مدت هفت هفته در گروه‌های تمرینی اعمال شد. ۴۸ ساعت پس از اتمام پروتکل تمرینی، رت‌ها تشریح و عضلهٔ نعلی (SOL) و بازکنندهٔ طویل انگشت شست (EDL) آن‌ها استخراج شد. میزان محتوی پروتئینی NHE۱ و NBC۱ با تکنیک وسترن بلاتینگ انجام گرفت و با استفاده از تکنیک Scanning Densitometric و نرم‌افزار image j چگالی باندهای NHE۱ و NBC۱ تعیین شد. به منظور تعیین همگنی واریانس گروه‌ها از آزمون لوین، و برای تعیین معنادار بودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های تحقیق از آزمون t مستقل استفاده شد. یافته‌های تحقیق نشان داد محتوی پروتئینی NHE۱ در عضلهٔ نعلی و EDL در گروه تمرینی به ترتیب ۳۲ و ۳۱درصد نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرد ($P<0/05$). همچنین، افزایش محتوی پروتئینی NBC۱ در عضلهٔ نعلی و EDL گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۲۰ و ۳۴درصد بود ($P<0/05$). در مجموع، نتایج تحقیق نشان داد تمرین استقامتی موجب افزایش محتوی پروتئینی NBC۱ و NHE۱ در گروه تمرینی سالم می‌شود. این الگوی بیان محتوی پروتئینی در عضلات اسکلتی مختص تار عضلانی است که از لحاظ سوخت‌وسازی با یکدیگر متفاوت‌اند و نوعی سازگاری به تمرین است که سلول عضلانی خود را با شرایط ویژهٔ تمرین جهت کنترل و تنظیم pHi منطبق می‌سازد.

واژگان کلیدی: اسیدوز، تمرین استقامتی، مبادله‌گر سدیم- هیدروژن، هم‌انتقال‌دهندهٔ سدیم بی‌کربنات.

* E. mail: monazzami.amirabbas@gmail.com

www.SID.ir
Archive of SID

مقدمه

بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند تمرینات هوازی و بی‌هوازی موجب تولید متابولیت‌های پروتون و لاکتات در عضلات اسکلتی می‌شوند و متعاقب افزایش این متابولیت‌ها، سازوکارهای تنظیم سوخت‌وساز انرژی و هموستاز یونی به مخاطره می‌افتند (۳۳،۳،۲،۱). در حقیقت، افزایش متابولیت‌های پروتون و لاکتات در حین این فعالیت‌ها هموستاز pHi[1] را با اختلال همراه می‌سازد و در بعضی شرایط مانند خستگی، افت عملکرد را به دنبال دارد (۲۳). کاهش pHi در شرایط تمرین، تغییرات ساختاری پروتئین‌ها و کانال‌های یونی و اختلال در عملکرد آن‌ها، همچنین اختلال در فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیر گلیکولیز و نهایتاً اختلال در سرعت سنتز ATP را به دنبال دارد (۳۳،۳،۲،۱). در نتیجه، جلوگیری از تجمع لاکتات و پروتون جهت جلوگیری از کاهش pHi در شرایط تمرین خصوصاً در سلول‌های عضلانی حیاتی به نظر می‌رسد (۳۵،۲۸).

مهم‌ترین سازوکارهای فعال‌کنندهٔ کنترل و/ یا تعدیل حالت اسیدوز (کاهش pHi)، سیستم تامپونی و تنظیم‌کنندهای درون‌سلولی‌اند (۳۸،۲۵). سیستم تامپونی از طریق حذف پروتون در سلول و تنظیم‌کننده‌های درون‌سلولی از طریق انتقال پروتون و لاکتات (انتقال‌دهنده‌ها) به کنترل و تعادل pHi کمک می‌کنند (۲۵،۸). از مهم‌ترین تامپون‌های بدن، سیستم تامپونی بی‌کربنات و سیستم تامپونی غیربی‌کربنات‌اند (شامل فسفات‌ها و پروتئین‌ها). سیستم تامپونی بی‌کربنات حدود ۷۵درصد کل سیستم بافر کردن پروتون را در کل بدن برعهده دارد، در حالی که نقش سیستم تامپونی غیربی‌کربنات (سلول و خون) جهت بافرکردن پروتون به ۲۵درصد می‌رسد (۲۱،۱۵،۱۳).

در مجموعهٔ این انتقال‌دهنده‌ها، MCTها یا انتقال‌دهنده‌های لاکتات و پروتون تنظیم‌کننده‌های وابسته به لاکتات و NBCها (انتقال‌دهندهٔ سدیم و بی‌کربنات، دارای چهار ایزوفرم وابسته به بافت) و NHEها (مبادله‌گر سدیم و هیدروژن با ده ایزوفرم وابسته به بافت) تنظیم‌کننده‌های غیر وابسته به لاکتات شناسایی شده‌اند (۲۵). بنابراین، به نظر می‌رسد در شرایط استراحتی و تمرین زیربیشینه (هوازی یا استقامتی) که تجمع لاکتات پایین است بخش اصلی دفع پروتون با سازوکارهای غیر وابسته به لاکتات (NBCها و NHEها) تعدیل می‌گردد ولی طی تمرین با شدت زیاد نقش سیستم وابسته به لاکتات (MCTها) برجسته‌تر است، به گونه‌ای که در این شرایط سیستم دفعی غیروابسته به لاکتات تنها حدود دو برابر شرایط استراحتی افزایش می‌یابد، در حالی که سیستم دفعی وابسته به لاکتات تا حدود پنج برابر حالت استراحتی افزایش پیدا می‌کند (۲۵). بنابراین، در شرایط استراحت و تمرین زیربیشینه (استقامت هوازی) NHEها (به‌ویژه ایزوفرم ۱ و ۳) و NBCها (به‌ویژه ایزوفرم ۱ و ۴) مهم‌ترین انتقال‌دهنده‌های پروتون سلول‌های عضلانی به شمار می‌روند، در حالی که در شرایط تمرین بیشینه (استقامت بی‌هوازی) نقش اصلی به MCT ها واگذار می‌شود (۲۵،۱۱). بنابراین، به نظر می‌رسد فعالیت‌های زیربیشینه نیز بتواند ظرفیت تامپونی عضله

1. Intracellular pH

www.SID.ir

را افزایش دهد.

از آنجـا که عضـلات مهم‌ترین جایـگاه تولید لاکتات و پروتون هنگام فعالیـت بدنی‌اند، همچنین تنوع شـدت‌های تمرینی زیربیشـینه و بیشینه موجب بـه کارگیری واحدهای حرکتی کند و تند می‌شـود (۲۸،۱۴)، لذا تصور می‌شـود تمرین زیربیشینه بتواند محتوی این انتقال‌دهنده‌ها را در عضلات کند و تند، همچنین ظرفیـت تامپونی بی‌کربنات خون سیسـتم اصلی بافـر پروتون و در نهایـت pH خون را تغییر دهد (۲۵،۱۴،۷).

در همین راستا، تحقیقات زیادی به‌ویژه در مورد محتوی و فعالیت MCTها در شـرایط سازگاری به تمرین صورت گرفته اسـت (۳۸،۲۷،۸). برای مثال، کلایر و همکارانش (۹) اثر تمرینات اینتروال شـدید بر محتوی پروتئینی MCT۱ و MCT۴ و NBC را ارزیابی کردند و افزایش محتوی پروتئینی MCT۱ و NBC در تارهای کند نسبت به تند را نشان دادند. همچنیـن، نیکویـی و همکارانش (۶) اثـر تمرینات اسـتقامتی بر بیان ژن‌ها و محتوی پروتئینی MCT۱ و MCT۴ در عضـلات اسـکلتی رت‌های دیابتی و سـالم را ارزیابی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد تمرین اسـتقامتی بیان ژن‌ها و محتوی پروتئینی MCT۱ و MCT۴ را در گروه تمرینی دیابتی و سالم افزایش داده است.

با وجـود ایـن، تحقیقـات در مـورد فعالیت و محتـوی پروتئینی NBCها و NHEها درشـرایط تمرین اسـتقامتی خصوصاً در بافت عضلانی محدود اسـت (۲۶). در یکـی از این تحقیقـات جول (۲۹) اثر تمرینات با شـدت زیاد و تمرینات اسـتقامتی بر محتوی NHE۱ در عضلات رت‌ها را بررسـی کرد و نشـان داد محتوی NHE۱ بعد از تمرین با شدت زیـاد افزایش می‌یابد اما تمرین اسـتقامتی تأثیری بر محتوی آن نداشته است.

جول و همکارانـش (۲۷) در تحقیق دیگری اثر تمرین با شـدت زیاد بر محتـوی NHE۱ عضلات کنـد و تند رت‌ها را بررسـی کردند و نشـان دادند ایزوفرم NHE۱ در عضلات بیان می‌شود. همچنین، تمرین با شـدت زیـاد موجب افزایـش محتوی این انتقال‌دهنده بـه میزان ۳۶ و ۲۹درصـد به ترتیب در تارهای گلیکولیزی و اکسایشی می‌شود.

در این زمینه، معدود تحقیقاتی نیز بر روی انسان انجـام گرفته اسـت. برای مثـال، در تحقیقی تمرین مقاومتـی محتـوی NHE۱ در عضلات چهارسـر رانی افراد سـالم افزایش یافـت (۷). از طرف دیگر، در تحقیـق دیگری، اثر تمرینـات قدرتی بر محتوی NHE سـلول‌های عضلانی در افـراد دیابتی نوع ۲ نشـان داد تمرین مقاومتی اثر مثبتی بر بیان این انتقال در عضلات این بیماران نداشت (۱۴).

از سوی دیگر، در تحقیقی اثر تمرین کوتاه‌مدت شـدید بـر ظرفیـت تامپونـی بی‌کربنات خـون در شـرایط تمرین و اسـتراحت بررسی شـد و افزایش ظرفیـت تامپونی بی‌کربنات در حالت اسـتراحت بر اثر سـازگاری به تمرین آشکار شـد. در این تحقیق تجمـع پروتون بـه منظور برآورد غیر مسـتقیم pH بررسـی شـد و نشـان داد تجمع پروتـون در حالت اسـتراحت بعـد از دورهٔ تمرینی کاهش داشـت. در مجموع، به نظر می‌رسد در این گونه تحقیقات بیشتر به انتقال‌دهنده‌هایی توجه شـده اسـت که در شرایط تمرینات بیشینه فعال می‌شـوند و توزیع بیان محتوی پروتئینی این انتقال‌دهنده‌ها در عضلات کند و تند به

www.SID.ir
Archive of SID

خوبی مشخص نشده است (۱۰).

در نتیجه، با توجه به تحقیقات محدود در زمینهٔ اثر تمرین استقامتی بر محتوی این انتقال‌دهنده‌ها خصوصاً انتقال NBC۱ در عضلات تند و کند، همچنین اثر تمرین استقامتی بر سیستم تامپونی بی‌کربنات و pH خون، در این تحقیق به بررسی موارد زیر پرداخته‌ایم تا از این طریق برخی سازوکارهای احتمالی و مسئول تنظیم و کنترل pH در شرایط تمرین معین گردد:

۱. آیا تمرین استقامتی محتوی پروتئینی این انتقال‌دهنده‌ها را در سطح غشای عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد؟
۲. آیا تمرین استقامتی موجب بیان پروتئینی متفاوت این انتقال‌ها در غشای تارهای کند و تند عضلات می‌گردد؟
۳. آیا تمرین استقامتی موجب تغییر سطوح بی‌کربنات و احیاناً pH خون در حالت استراحتی می‌شود؟

روش شناسی

بیست رت نر نژاد ویستار در سن چهار هفتگی با میانگین وزنی ۹/۸±۹۳/۷ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و تحت چرخهٔ ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی- روشنایی در محیط آزمایشگاهی با درجه حرارت ۴±۲۲ و رطوبت ۴۹ تا ۵۱ درصد به صورت ده تایی در قفس‌های مخصوص جوندگان نگهداری شدند. وزن بدن به طور روزانه ثبت و رت‌ها با غذای مخصوص رت (ساخت شرکت‌های کانی دام و سرم‌سازی رازی) و آب تغذیه شدند. بعد از گذشت دو هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه)، رت‌ها با میانگین وزن ۱۱/۴±۱۸۳/۴۷ گرم به طور تصادفی ضمن همسان‌سازی بر اساس وزن به دو گروه کنترل (n=۱۰) و تمرین (n=۱۰) تقسیم شدند. لازم به یادآوری است تعدادی از نمونه‌های حیوانی در جریان پروتکل تحقیق از جمله بی‌هوشی و نمونه‌گیری خون (چهار سر رت) و استخراج نمونه (چهار سر رت) از تحقیق خارج شدند. لذا، تعداد نمونه‌های تحقیق (n) در مراحل اندازه‌گیری متفاوت در نظر گرفته شد (۲۸،۲۶).

پروتکل تمرین

تمرین استقامتی به مدت هفت هفته بر روی نوارگردان مجهز به سیستم تحریک الکتریکی (سرعت ۲۰m/min و زمان ۲۰min در هفتهٔ اول و به تدریج سرعت ۳۰ m/min و زمان ۳۵min در هفتهٔ آخر) هر روز بر گروه تمرین اعمال شد که خلاصهٔ آن در جدول ۱ گزارش شده است. جول و همکارانش (۲۶) نشان دادند مدت تمرین شش تا هشت هفته محرک مناسبی برای ایجاد تغییرات قابل توجه در محتوی انتقال‌دهنده‌های غشایی خصوصاً سلول عضلانی است.

برای اطمینان از عدم تولید لاکتات زیاد در این

جدول ۱. مشخصات پروتکل تمرینی

زمان	آشناسازی پنج روزه	هفتهٔ ۱	هفتهٔ ۲	هفتهٔ۳	هفتهٔ۴	هفتهٔ۵	هفتهٔ ۶	هفتهٔ۷
سرعت [m/min]	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۰
مدت [min]	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵

www.SID.ir

شـدت‌های تمرینی، میـزان لاکتات بـا لاکتومتر از نمونه‌های جمع‌آوری شـدهٔ چشـم حیوان در شدت تمرینی ۳۰min/m (۷۰-۶۰درصد Vo_{2max})برابر با ۴ mmol/lit بود. دو هفتهٔ آخر نیز تمامی متغیرهای تمرینی ثابت نگه داشته شـد تا سازگاری‌های انجام شده در زمان تشریح به حالت یکنواخت خود برسند (۳۷،۹).

استخراج نمونه

۴۸ سـاعت بعد از آخرین جلسـهٔ تمرین، رت‌ها با تزریـق درون صفاقـی کتامیـن (۹۰mg/kg) و زایلازیـن (۱۰mg/kg) بی‌هوش و عضلات نعلی و EDL بلافاصله اسـتخراج و در نیتروژن ۸۰- منجمد و بـرای تجزیـه و تحلیـل بعـدی نگهداری شـدند (۲۸،۲۶). در حیـن تشـریح بافت‌هـا ۲ML خون به طور مستقیم از قلب جمع‌آوری شد. سپس، با دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی (ABG) مقادیر pH و HCO۳ خون تمامی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

تهیه و آماده‌سازی بافت

حـدود ۱۵۰-۲۰۰ میلی‌گـرم از عضلات جهت اسـتخراج غشـای سـلولی بـا روش هـاون کوبی پودر شـد. سـپس، بافـت در بافـر A متشـکل از ۴۰mM NaCl ،۳۰mM Hepes ۲mM Hepesphenylmethylsulphonyl fluoride [PMSF] و ۲۵۰mM sucrose mM و۷/۴=pH در دمای ۴ درجهٔ سـانتی‌گراد هموژن و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه در ۱۰۰۰ g سانتریفیوژ شد تا مواد RBC از بافت جدا شـود. سوپرناتانت برداشته شـد و به مدت سه ساعت با سـرعت ۲۳۰۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتریفیوژ شد تا پروتئین‌های انقباضی جدا شوند و pellet جمع‌آوری شود (در ۲۰۰ لاندا از بافـر B متشـکل از ۱۰ mMTris، ۴٪ SDS، ۲ mMEDTA، ۲ mM PMSF، ۷/۴=pH). محصول نهایی برای برداشـت اجـزای نامحلول در دمـای اتاق ۱۱۰۰g سـانتریفیوژ شـد. سـوپرناتانت برداشت و در دمای ۸۰- نگهداری شد. جهت تعیین غلظت پروتئین، نمونه‌ها به روش استاندارد برادفورد و bovineserumalbumin (BSA) اسـتفاده شدند (۲۸،۲۶).

آنتی‌بادی‌ها

هر دو آنتی‌بادی از شرکت abcam خریداری شد که مشخصات آن در جدول ۲ درج شده است.

وسترن بلاتینگ

۳۰ میکروگـرم پروتئیـن در هـر چاهک ریخته شد. جداسازی پروتئین با استفاده از تکنیک SDS-PAGE با ژل ۱۲ درصد انجام گرفت. پروتئین‌های جدا شده به غشای PVDF انتقال یافت. سپس، مرحلهٔ بلاک کردن غشـا با محلول محتوی ۱ m NaCL، ۱۰ m M TRIS-BASE، ۰/۱٪ Tween-۲۰،

جدول ۲. مشخصات آنتی‌بادی‌های مورد استفاده در تحقیق

کاربرد	واکنش	کد شناسایی	آنتی‌بادی اولیه
وسترن بلاتینگ	انسان، رت	ab ۳۰۳۲۲	NBC۱
وسترن بلاتینگ	انسان، رت	ab ۶۷۳۱۳	NHE۱

www.SID.ir
Archive of SID

pH= ۷/۴ به مدت دو ساعت خوابانده شد. سپس، غشا در طول شب در محلول محتوی آنتی‌بادی اولیه با غلظت ۲ mg/mL قرار گرفت که در بافر محتوی ۱٪ BSA، ۰/۵٪ low fat dry milk رقیق شد. پس از شستشوی غشا، جهت رفع آنتی‌بادی‌های غیر متصل، غشا در معرض آنتی‌بادی ثانویهٔ HRP شده قرار گرفت و مجدداً با آب مقطر، ۱ m NaCL، ۰/۵٪ Tween-۲۰ شسته شد. سپس، بیان پروتئین با استفاده از روش ECL (آمرشام) اندازه‌گیری شد. غشا در معرض فیلم رادیوگرافی قرار گرفت و ظهور باندها بر روی فیلم در تاریکخانه به انجام رسید. با تکنیک Dens itometric Scanning (نرم‌افزار image j) چگالی باندهای NHE۱ و NBC۱ تعیین شد و جهت نیمه کمّی کردن پروتئین‌های NHE۱ و NBC۱ از میزان پروتئین erythrocyte ghosts برای NHE۱ و یکی از نمونه‌های NBC۱ استفاده شد (۲۸،۲۶).

تجزیه و تحلیل آماری

بعد از تأیید نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Leven، جهت تعیین معنادار بودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های تحقیق از آزمون آماری t مستقل استفاده شد. مقدار α در تمامی مراحل برابر با P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

محتوی پروتئین‌ها

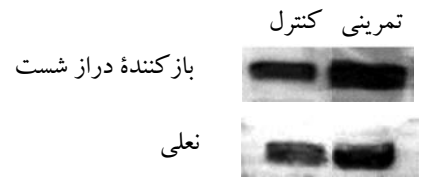
تمامی تغییرات محتوی پروتئینی NHE۱ و NBC۱ در گروه تمرینی مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل استاندارد شد. آنتی‌بادی NHE۱ یک باند را در عضلات رت هموژن شده به وزن KDA ۹۲ شناسایی کرد. همچنین، این باند در NBC۱، KDA ۱۲۰ با آنتی‌بادی مربوط شناسایی شد. میزان افزایش محتوی NHE۱ در گروه تمرینی در عضلهٔ نعلی و EDL به ترتیب ۳۲ و ۳۱ درصد بود (شکل ۱)، در حالی که افزایش محتوی پروتئینی NBC۱ در گروه تمرینی در عضلهٔ نعلی و EDL به ترتیب ۲۰ و ۳۴ درصد بود (شکل ۲). اختلاف معنادار بین محتوی پروتئینی NHE۱ گروه تمرینی و کنترل در هر دو عضلهٔ نعلی و EDL یافت شد (شکل ۱) (P<۰/۰۵). همچنین، علی‌رغم افزایش محتوی پروتئینی NBC۱ گروه تمرینی نسبت به کنترل، این اختلاف در هر دو عضلهٔ نعلی و EDL معنادار نبود (شکل ۲) (P>۰/۰۵). از طرف دیگر، تمرین استقامتی موجب افزایش ظرفیت تامپونی بی‌کربنات در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل شد، اما این افزایش معنادار نبود (شکل۳) (P>۰/۰۵). در نهایت، افزایش pH در گروه تمرینی موجب اختلاف معنادار با گروه کنترل نشد (شکل۴) (P>۰/۰۵).

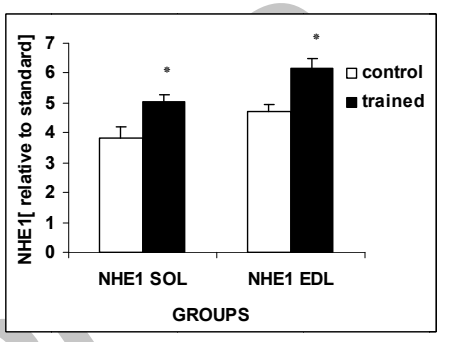
بحث

توانایی تنظیم درون‌سلولی عضله بستگی به مجموع همهٔ سیستم‌های تنظیم کننده دارد، شامل NHE، NBC، MCT و AE[1] (۳۸). در مطالعهٔ حاضر، مدل تمرین استقامتی استفاده شد تا عملکرد انتقال‌دهنده‌های NBC۱ و NHE۱ را در شرایط اسیدوز بررسی کند. تحقیق حاضر اولین تحقیقی است که آثار بلندمدت تمرین استقامتی را بر محتوی

1. Anion Exchanger

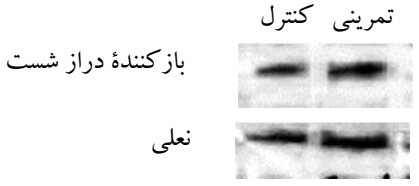
www.SID.ir
Archive of SID

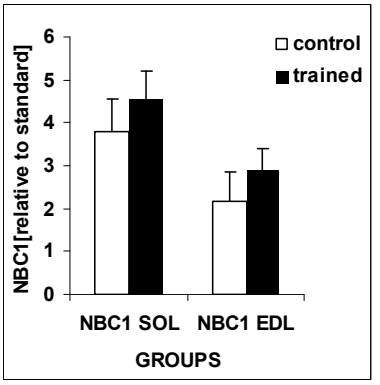




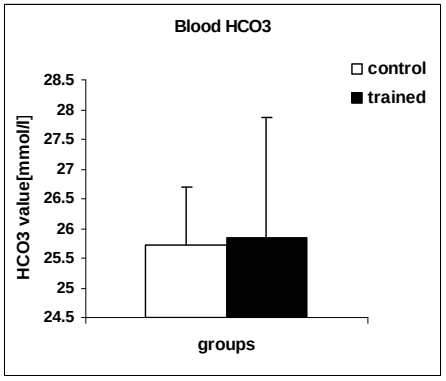
شکل ۱. میزان بیان پروتئین مبادله‌گر سدیم- هیدروژن NHE۱ در عضلات اسکلتی گروه‌های تحقیق (P<۰/۰۵): کنترل (N=٦) و تمرینی (N=٦)

* اختلاف معنادار با گروه کنترل (P <۰/۰۵)

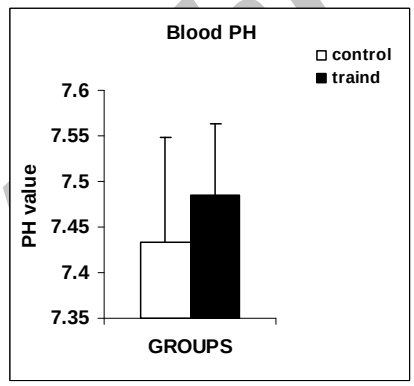




شکل ۲. بیان میزان پروتئین هم‌انتقال‌دهندهٔ سدیم بی‌کربنات NBC۱ در عضلات اسکلتی گروه‌های تحقیق (P<۰/۰۵): کنترل (N=٦) و تمرینی (N=٦)



شکل ۳. تغییرات HCO۳ استراحتی خون در گروه‌های تحقیق: کنترل (N=۸)، تمرینی (N=۸)



شکل ٤. تغییرات pH استراحتی خون در گروه‌های تحقیق: کنترل (N=۸)، تمرینی (N=۸)

www.SID.ir

پروتئینی NBC۱ و NHE ۱در عضلات اسکلتی رت، همچنین سیستم تامپونی بی‌کربنات و pH خون مطالعه کرده است. در مجموع، نتایج تحقیق نشان داد محتوی پروتئینی انتقال‌دهنده‌های NBC۱ و NHE۱، همچنین سیستم تامپونی بی‌کربنات خون و pH خون بر اثر تمرین استقامتی افزایش پیدا می‌کند اما این افزایش فقط در محتوی پروتئینی NHE۱ معنادار بود (P<۰/۰۵). میزان افزایش محتوی پروتئینی NHE۱ در عضلات نعلی و EDL به ترتیب ۳۲ و ۳۱ درصد بود که دلالت بر این دارد که محتوی پروتئینی NHE۱ تحت تأثیر تغییرات سوخت‌وسازی قرار گرفته است (P<۰/۰۵).

همچنین، نتایج تحقیق نشان داد الگوی افزایش تغییرات در بین تارهای کند و تند متفاوت است، به گونه‌ای که افزایش محتوی پروتئینی NHE۱ در عضلهٔ EDL نسبت به نعلی بیشتر بود، هر چند درصدهای به‌دست آمده به صورت نسبی نسبت به استاندارد نشان داده شده است (شکل ۱).

نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق جول و همکارانش (۲۷) که اثر تمرینات شدید تناوبی بر میزان محتوی پروتئینی NHE۱ عضلات اسکلتی رت را بررسی کردند همسوست. آن‌ها نشان دادند بر اثر این گونه تمرینات محتوی پروتئینی NHE۱ در تارهای گلیکولیزی نسبت به تارهای اکسایشی بیشتر بیان می‌گردد. اما همین محققان در تحقیق دیگر نشان دادند تمرین استقامتی اثری بر محتوی پروتئینی این انتقال‌دهنده نداشته است (۲۹).

علت افزایش محتوی این انتقال‌دهنده را می‌توان به ویژگی‌های ساختاری آن و نوع تمرین نسبت داد. در حقیقت NHE۱ به تغییرات pHi به شدت حساس است و تمرین با شدت بالا موجب تجمع بیش از حد پروتون و کاهش pHi می‌گردد و از آنجا که عضلات گلیکولیزی نسبت به عضلات اکسایشی اسید لاکتیک بیشتری تولید می‌کنند، این پروتئین در این عضلات بیشتر بیان شده است تا بتواند پروتون بیشتری را از سلول خارج سازد و به تنظیم و کنترل pHi کمک نماید (۲۷).

در تحقیق دیگری دلا و همکارانش (۱۴) به بررسی اثر تمرینات قدرتی بر محتوی پروتئینی NHE۱ پرداختند. آن‌ها نشان دادند در تمرین قدرتی به علت داشتن وهله‌های استراحتی، پروتون سلول افزایش نمی‌یابد، در نتیجه عدم تغییر محتوی پروتئینی NHE۱ را به نوع تمرین نسبت دادند. بنابراین، به نظر می‌رسد حساسیت به پروتون و تغییر pHi مهم‌ترین محرک NHE۱ است.

بروکس و همکارانش (۹) نشان دادند دویدن بر روی نوارگردان با شدت ۶۰ تا ۷۰درصد Vo_{2max} موجب تغییر قابل ملاحظه‌ای در سطوح لاکتات (۴mmol/l) می‌گردد. بدین منظور تمرین دویدن بر روی نوارگردان در تحقیق حاضر با این شدت انتخاب شد. همچنین، نتایج تحقیق نشان داد علی‌رغم افزایش محتوی پروتئینی NBC۱ در گروه تمرینی، این افزایش معنادار نبود (P>۰/۰۵).

تحقیق حاضر نشان می‌دهد تغییرات در محتوی پروتئینی NBC۱ در عضلهٔ نعلی بیش از عضلهٔ EDL است (شکل۲). میزان افزایش محتوی پروتئینی NBC۱ در عضلات نعلی و EDL به ترتیب ۲۰ و ۳۴ درصد نسبت به استاندارد بود (P<۰/۰۵). این میزان افزایش بیشتر در عضلهٔ نعلی با تحقیق کلایر و همکارانش (۱۱) همسوست. آن‌ها نشان دادند بر

www.SID.ir

اثر تمرین تناوبی شدید محتوی پروتئینی NBC۱ در عضلهٔ نعلی افزایش معناداری می‌یابد ولی محتوی این پروتئین در عضلهٔ EDL تغییر پیدا نمی‌کند. این افزایش را به ویژگی تمرین نسبت دادند که موجب می‌شود NBC۱ به عضلات اکسایشی در تنظیم pHi کمک نماید.

هر چند کریستنسن و همکارانش (۳۰) نشان دادند NBC۱ توزیعی وابسته به تار نیست و در همهٔ تارها یکسان بیان می‌شود، اما نتایج تحقیق کلایر و همکارانش (۱۱) با توجه به شدت تمرین گمراه‌کننده است. یکی از علت‌هایی که می‌توان به عدم وجود اختلاف معنادار در افزایش NBC۱ در عضلات نعلی و EDL اشاره کرد حضور دیگر انتقال‌دهنده‌ها علاوه بر این انتقال‌دهنده، همچنین سیستم‌های دفاعی دیگر در تنظیم و کنترل pHi است. افزایش محتوی پروتئینی دیگر انتقال‌دهنده‌ها، همچنین ظرفیت تامپونی سلول نسبت به تنوع شدت‌های تمرین مؤید این موضوع است (۱۷،۱۱).

همچنین، مطالعهٔ حاضر نشان داد تمرین موجب افزایش سطوح بی‌کربنات استراحتی خون در گروه تمرینی سالم می‌شود (شکل۳)، اما این افزایش به گونه‌ای نبود که اختلاف معناداری بین گروه‌ها ایجاد کند (P>۰/۰۵). از دلایل عدم وجود اختلاف معنادار می‌توان به فرّار بودن این تامپون اشاره کرد. بر اثر سازگاری به تمرین استقامتی و کاهش تولید +H، معادلهٔ تولید بی‌کربنات به سمت راست تمایل می‌یابد و یون بی‌کربنات در سطح خون افزایش پیدا می‌کند (۱۲).

چارلز و همکارانش (۱۰) نشان دادند افزایش سطوح بی‌کربنات استراحتی خون به علت کاهش تولید +H از طریق سازگاری عضله به تمرین ایجاد شده است. این نتایج با تحقیق گرین (۲۰) و مک‌کنا (۳۴) و جونز (۲۲) که به کاهش تولید +H اشاره کرده‌اند همسوست.

نتایج تحقیق نشان داد تمرین استقامتی موجب افزایش سطوح استراحتی pH خون در گروه تمرینی گردید (شکل۴) اما این افزایش معنادار نبود (P>۰/۰۵). تغییرات pH خون برخلاف یون بی‌کربنات وابسته به چندین سیستم مستقل است، مانند سیستم SID [1]، پروتئین‌های پلاسما، سیستم تامپونی سلول عضلانی و انتقال‌های غشایی سلول (۱۷،۱۲).

همچنین، افزایش سطوح استراحتی pH خون در گروه تمرینی احتمالاً به علت افزایش پروتئین‌های پلاسماست، مانند آلبومین (۱۰)، افزایش ظرفیت تامپونی سلول عضلانی (۳۳)، تغییر سوخت‌وساز به سمت مصرف بیشتر اسیدهای چرب و کاهش تولید لاکتات (۱۸)، SID مثبت‌تر بر اثر کاهش تولید لاکتات (۱۲) و افزایش ظرفیت و محتوی انتقال‌دهنده‌های غشایی (۲۶). هر چند در تحقیق حاضر فقط انتقال‌دهنده‌های NHE۱ و NBC۱، از متغیرهای مستقلی که موجب تغییر pH می‌شوند بررسی شده است. در نتیجه، به آسانی نمی‌توان گفت تغییرات سطوح استراحتی pH خون بر اثر تغییرات محتوی پروتئینی این انتقال‌دهنده‌ها بوده است. تغییرات هم‌زمان نیز ممکن است بر اثر تمرین استقامتی در متغیرهای دیگری مانند پروتئین‌های پلاسما اتفاق افتاده باشد که در این تحقیق بررسی

1. Strong ion difference

Archive of SID
www.SID.ir

نشده‌اند.

سازوکارهایی که از طریق آن فعالیت ورزشی موجب افزایش محتوی پروتئین‌های غشای سلول عضلانی می‌گردد تاکنون به خوبی مشخص نشده است اما چندین فاکتور فعالیت ورزشی جهت ایجاد این تغییرات را محققان پیشنهاد کرده‌اند که شامل کلسیم، MAPK[1]، AMPK[2]، ۶-Interleukin می‌شود (۲۶).

تمرین استقامتی موجب آزادسازی کلسیم درون‌سلولی می‌شود و کلسیم از طریق فعال کردن چندین سازوکار به تغییرات پروتئین‌های غشایی کمک می‌کند (۲۶). از طرف دیگر، ساختار انتقال‌دهندهٔ NHE۱ دارای دو جایگاه اختصاصی کالمودلین Ca^{2+} است و پیشنهاد شده است که پیوند کلسیم به این جایگاه‌ها موجب فعال شدن این انتقال‌دهنده می‌شود و تمرین از طریق افزایش کلسیم درون‌سلولی طی انقباض‌های مکرر به فعال شدن آن پاسخ می‌دهد (۳۸،۶).

گوسمانو و همکارانش (۱۹، ۳۸) پیشنهاد کردند MAPK به عنوان دیگر فاکتور فعالیت ورزشی، بین تمرین و تغییرات در محتوی پروتئینی انتقال‌دهنده‌های غشایی عضلات اسکلتی ارتباط برقرار می‌کند (۳۸،۱۹). در همین راستا، ایزوفرم‌های گوناگونی از MAPK طی فعالیت انقباض عضلانی فعال می‌شوند (۳۸،۱۹). پیشنهاد شده است P_{38} طی انقباضات عضلانی و آزادسازی کلسیم فعال می‌شود و نقش مهمی در انتقال گلوکز از طریق افزایش بیان GLUT۴ بر عهده دارد (۳۸،۱۹).

از طرف دیگر، P_{44} نیز نقش مهمی در تنظیم و فعالیت انتقال‌دهندهٔ NHE۱ بر عهده دارد (۳۸). PKC دیگر فاکتور فعالیت ورزشی است که در تغییرات پروتئین‌های غشایی نقش دارد. پیشنهاد شده است که انتقال‌دهنده‌های NHE۱ و NBC۱ جایگاه‌هایی دارند که با PKC فعال می‌شوند. بر اثر فعالیت ورزشی و افزایش آزادسازی کلسیم این کیناز نیز فعال می‌شود و نقش مهمی در فعال‌سازی و سنتز پروتئینی‌های غشایی NHE۱ و NBC۱ ایفا می‌کند (۳۸). AMPK دیگر فاکتور فعالیت ورزشی است که در سنتز پروتئین NHE۱ و NBC۱ نقش دارد (۵).

نیلسن (۳۲) و لانگفورت (۳۶) پیشنهاد کردند AMPK طی تمرین مسیرهای سوخت‌وسازی را تنظیم می‌کند، همچنین بیان پروتئین‌هایی که در سوخت‌وساز و انتقال غشا نقش دارند افزایش می‌دهد. کورت کرازک و همکارانش (۳۱) نشان دادند AMPK طی تمرین افزایش پیدا می‌کند و موجب افزایش بیان GLUT ۴ می‌گردد.

از طرف دیگر، افزایش فعالیت AMPK طی تمرین موجب فعال شدن PKCنیز می‌شود و این کیناز نیز به نوبهٔ خود موجب فعال شدن انتقال‌دهنده‌های NHE۱ و NBC۱ می‌گردد و از این طریق AMPK نیز در مسیرهای سیگنالی نقش ایفا می‌کند که موجب افزایش سنتز پروتئین‌های غشایی می‌شود (۲۶).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتاج تحقیق نشان داد تمرین

1. Mitogen- activated protein kinases
2. Adenosin monophosphate kinases

www.SID.ir
Archive of SID

استقامتی موجب افزایش محتوی پروتئینی NBC۱ و NHE۱ در گروه تمرینی سالم می‌شود. این الگوی بیان محتوی پروتئینی در عضلات اسکلتی مختص تار عضلانی است که از لحاظ سوخت‌وسازی با یکدیگر متفاوت‌اند و نوعی سازگاری به تمرین است که سلول عضلانی خود را با شرایط ویژهٔ تمرین جهت کنترل و تنظیم pHi منطبق می‌سازد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

۱- محمدزاده، سلامت؛ خالدرجبی، حمید؛ نوروزیان، منیژه، بهرامی‌نژاد، بهرام ،۱۳۸۹، تأثیر چهار هفته تمرین هوازی همراه با محدود کردن حرکت قفسهٔ سینه بر توان هوازی و عملکرد قلبی- تنفسی افراد سالم، المپیک، (۵۰): ۷-۱۹.

۲- رجبی، حمید؛ رزمجو، سحر؛ جنتی، معصومه؛ ظریفی، آیدین ،۱۳۸۹، ارتباط پاسخ‌های عامل رشدی شبه‌انسولین و کراتین‌کیناز پس از یک جلسه و دورهٔ شش هفته‌ای تمرین مقاومتی هرمی و هرمی واژگون در دختران غیرورزشکار، المپیک، (۵۰): ۲۹-۴۲.

۳- گائینی، عباسعلی؛ خالدی، ندا؛ رواسی، علی‌اصغر؛ صاحب‌قدم لطفی، عباس؛ هدایتی، مهدی؛ عربکری، وحد؛ صدرالاشرافی، سارا ،۱۳۹۰، پاسخ پروتئین‌های سارکومر عضلهٔ اسکلتی به یک دورهٔ تمرین قدرتی فزاینده در موش‌های صحرایی، المپیک، (۵۶): ۱۲۵-۱۳۵.

۴- نیکویی، روح‌الله؛ رجبی، حمید؛ قراخانلو، رضا؛ منظمی، امیرعباس؛ امیدفر، کبری؛ لاریجانی، باقر و همکارانش ،۱۳۸۹، تعدیل کاهش بیان ژن MCT۱ و MCT۴ در عضلات اسکلتی رت‌های دیابتی نوع ۲ متعاقب تمرین استقامتی، مجلهٔ دیابت و لیپید ایران، (۳):۲۴۱-۲۵۱.

5. Akabayashi, S.; Bertrand, B.; Shigekawa, M.; Fafournoux, P.; Pouyssegur, J. (1994). "Growth factor activation and'H-sensing' of the Na_:H_ exchanger isoform 1 (NHE1). Evidence for an additional mechanism not requiring direct phosphorylation. J Biol Chem. 269: 5583–5588.

6. Bertrand, B.; Wakabayashi, S.; Ikeda, T.; Pouyssegur, J.; Shigekawa, M. (1994). "The Na_:H_ exchanger isoform 1(NHE1) is a novel member of the calmodulin-bindingproteins. Identification and characterization of calmodulin binding sites". J Biol Chem. 269: 13703–13709.

7. Bonen, A.; McCullagh, K.J.; Putman, C.T.; Hultman, E.; Jones, N.L.; Heigenhauser, G.J. (1998). "Short-term training increases humanmuscle MCT1 and femoral venous lactate in relation to muscle lactate". Am J Physiol. 274:E102–E107.

8. Boning, D.; klarhola, C. (2007). "Causes of differences in exercise-induced changes of base excess and blood lactate". Eur appl physiol. 99:163-171.

9. Brooks, G.A.; White, T.P. (1978). "Determination of metabolic and heart rat responses of rats to treadmill exercise". J Appl Physiol. 45:1009–1015.

10. Charles, T.P.; Norman, L.; George, N.; Heigenhauser, J.F .(2003). "Effects of short-term training on plasma acid–base balance during incremental exercise in man". Physiol. 55: 585–603.

11. Claire,T.; David, B. (2007). "Effect of High- Intensity Training on MCT1,MCT4 and NBC Expressions in Rat Skeletal Muscles:Influwnce of Chronic Metabolic Alkalosis". Am J Physiol Endocrinol Metabol. 293: E916-E922.

12. Coles, L.; Litt, J.; Hatta, H.; Bonen, A. (2004). "Exercise rapidly increases expression of the monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4 in rat muscle". J Physiol. 561:253–261.

13. David, B.; Edge, J.; Goodman, C. (2004). "Muscle buffer capacity and aerobic fitness are associated with

www.SID.ir

rpeated-sprint ability in women". Eur J Appl Physiol. 92: 540–547.

14. Dela, F.; Holten, M.; Juel, C. (2004). "Effect of Resistance Training on Na,K Pump and Na/H Exchanger Protein Densities in Muscle From Control and Patients With Type 2 Diabetes". Eur Physiol. 447:928-933.
15. Dieter, B.; Carola, K. (2007). "Extracellular Bicarbonate and Nonbicarbonate Buffering against lactic acid during and after exercise". Eur appl physiol. 99:163-171.
16. Dubouchaud, H.; Butterfield, G.E.; Wolfel, E.E.; Bergman, B.C.; Brooks, G.A. (2000). "Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle". Am J Physiol. 278:E571–E578.
17. Fabiato, A.; Fabiato, F. (1978). "Effect of PH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cell from cardiac and skeletal muscles". Journal of physiology. 276: 233–255.
18. Feuvray, D. (1997). "The regulation of intracellular pH in the diabetic". Cardio vascular Research. 34:48–54.
19. Gosmanow, A.R.; Nordtvedt, N.C.; Brown, R.; Thomason, D.B. (2002). "Exercise effects on muscle b-adrenergic signaling for MAPK dependent NKCC activity are rapid and persistent". J Appl Physiol Y. 93:1457–1465.
20. Green, H.J.; Hughson, R.L.; Thomson, J.A.; Sharratt, M.T. (1987). "Supramaximal exercise after training-induced hypervolemia. I. Gas exchange and acid-base balance". J Appl Physiol. 62:1944–1953.
21. Johann, E.; David, B.; Carmel, G. (2006). "The effects of training intensity on muscle buffer capacity in females". Eur J Appl Physiol. 96: 97–105.
22. Jones, N.L. (1990). "A quantitative physicochemical approach to acid–base physiology". Clin Biochem. 23: 189–195.
23. Jones, N.; McCartney, N. (1985). "Muscle performance and metabolism in maximal isokeinetic cycling at slow and fast speeds". Journal of applied physiology. 59:132-136.
24. Juel, C. (1998). "Muscle pH regulation: role of training". Acta Physiol Scand. 162: 359-366.
25. Juel, C. (2008). "Regulation of PH in Human Skeletal Muscle: Adaptaion to Physical Activity". Acta Physiol. 193:17-24.
26. Juel, C. (2006). "Training-induced changes in membrane transport proteins of humanskeletal muscle". Eur J Appl Physiol. 96: 627–635.
27. Juel, C. (2000). "Expression of The Na/H Exchanger Isoform NHE1 in Skeletal Muscle and Effect of Training". Acta Physiol Scand. 170:59-63.
28. Juel, C.; Mads, K.H.; Dela, F. (2004). "Effect of Strenght Training on Muscle Lactate Release and MCT1 and MCT4 Content in Healthy and Type 2 Diabetic Humans". J Physiol. 55:297-304.
29. Juel, C. (1998). "Skeletal muscle Na+/H+ exchange in rats: pH dependency and the effect of training". Acta Physiol Scand. 164:135–140.
30. Kristensen, J.M. Kristensen, M.; Juel, C. (2004). "Expression of Na+/HCO3) co-transporter proteins (NBCs) in rat and human skeletal muscle". Acta Physiol Scand. 182: 69–76.
31. Kurth-Kraczek, E.J.; Hirshman, M.F.; Goodyear, L.J.; Winder, W.W. (1999). "5¢AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocationin skeletal muscle". Diabetes. 48:1667–1671.
32. Langfort, J.; Viese, M.; Ploug, T.; Dela, F. (2003). "Time course of GLUT4 and AMPK protein expression in human skeletalmuscle during one month of physical training". Scand J MedSports. 13:169–174.
33. Mannion, A.F.; Mannion, A.F.; Jakeman, P.M.; Dunnett, M.; Harris, R.C.; Willan, P.L. (1992). "Carnosin and anersine concentration in the quadriceps femoris muscle of healthy humans". European journal of applied

www.SID.ir
Archive of SID

physiology. 64:47-50.

34. McKenna, M.J.; Harmer, A.R.; Fraser, S.F.; Li, J.L. (1996). "Effects oftraining on potassium, calcium and hydrogen ion regulation inskeletal muscle and blood during exercise". Acta Physiol Scand. 156:335–346.

35. Messonnier, L.; Kristensen, M.; Juel, C.; Denis, C. (2007). "Importance of pH regulation and lactate/H_ transport capacity for work production during supramaximal exercise in humans". J Appl Physiol. 102: 1936–1944.

36. Nielsen, J.N.; Mustard, K.J.; Graham, D.A.; Yu, H.; MacDonald, C.S.; Pilegaard, H.; Goodyear, L.J.; Hardie, D.G.; Richter, E.A.; Wojtaszewski, J.F. (2003). "5¢AMP-activated protein kinase activityand subunit expression in exercise-trained human skeletal muscle". J Appl Physiol. 94:631–641.

37. Pilegaard, H.; Domino, K.; Noland, T.; Juel, C.; Hellsten, Y.; Halestrap, A.P.; Bangsbo, J. (1999). "Effect of high intensity exercise training on lactate/H+ transport capacity in human skeletal muscle". Am J Physiol. 276: E225–E261.

38. Puceat, M.; Arnaud, D.V.; Montpellier, F. (1999). "PHi regulatory ion transporters: An Update on Structure , Regulation and Cell Function". Clms Cell Mol Lifesci. 55:1216-1229.

Archive of SID

www.SID.ir