Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 35, No. 4, Oct. – Nov. 2013, Pages: 88-95

The Effect of a Single Bout of Eccentric Exercise on β_1 Integrin and Vinculin Proteins in Type I and II Skeletal Muscle in Male Wistar Rats

Maryam Nourshahi[1*], Tohid Hemmatzade Bedovli[1], Reza Gharakanlou[2], Mohammad Reza Bigdeli[3], Samane Koneshlou[1]

[1]Department of Sports Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Beheshti University,Tehran, Iran
[2]Department of Sports Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3]Department of Physiology, School of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 24 Jan, 2013 Accepted: 11 Apr, 2013

Abstract

Background and Objectives: β_1 integrin acts as mechanical receptors and vinculin is major protein in the focal adhesion site that transfers mechanical signals. The purpose of this study was to investigate the effects of eccentric exercise on β_1 integrin and vinculin proteins in fast and slow-twitch muscle of male Wistar rats.

Materials and Methods: Eighteen Rats (286.44±29.7) following appropriate acclimatization with the environment and treadmill machine, were divided randomly in to three groups (Exp1, 2 and Controls).They ran 40 min downhill running on a 16 degree down sloped treadmill with the speed of 20m/min. After 48 h, animals were anesthetized and Soleus and EDL muscles were excised to measure $\beta_1$integrin and Vinculin proteins using ELISA method. After 24 and 48 h, animal serum was also taken to measure Creatine Kinase activity. Data were analyzed using T-test and one way ANOVA. The level of significant was set at $p<0.05$.

Results: Result showed that Creatin Kinase increased but not significantly. After 48 h following eccentric exercise, $\beta_1$integrin and Vinculin significantly decreased (22 and 21% respectively) in the slow-twitch muscle.And also in the fast-twitch muscle β_1 integrin was decreased (17%), but Vinculin was increased (7%) significantly.

Conclusion: Because of increasing the Creatin kinase, about of eccentric exercise could cause injury, and protein degradation is continuing in the slow-twitch muscle even 48 h after the exercise. Hypertrophy and constriction induced injury will be continued in a longer period. However more researches are needed.

Keywords: Costameric, β_1 integrin, Vinculin, Eccentric exercise, EDL and Soleus

*Corresponding author:
E-mail: m-nourshahi@sbu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

تأثیر یک جلسه فعالیت برونگرا بر میزان پروتئین‌های اینتگرین β_1و وینکولین در عضله کند انقباض و تند انقباض موش‌های نر ویستار

مریم نورشاهی: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران، نویسنده رابط:
E-mail: m-nourshahi@sbu.ac.ir
توحید همت زاده بدولی: گروه فیزیولوژی ورزش ، دانشکده علوم ورزشی و تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
رضا قراخانلو: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
محمدرضا بیگدلی: گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی ، تهران، ایران
سمانه کنشلو: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

دریافت: ۹۱/۱۱/۵ پذیرش: ۹۲/۱/۲۲

چکیده

زمینه و اهداف: اینتگرین β_1 به عنوان گیرنده مکانیکی و وینکولین پروتئین عمده ناحیه چسبنده شناسایی شده که سیگنال‌های مکانیکی را بین خارج غشاء سلول و درون آن انتقال می‌دهند. هدف از این تحقیق مطالعه اثر یک جلسه فعالیت برونگرا بر میزان پروتئین‌های اینتگرین β_1 و وینکولین در عضلات تند انقباض و کند انقباض در موش‌های نر ویستار بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۸ سر موش صحرایی (۲۹/۷۸ ± ۲۸۶/۴۴ گرم) بعد از آشناسازی با محیط و تریدمیل به طور تصادفی به سه گروه (تجربی ۱، ۲ و کنترل) تقسیم شدند. حیوانات بعد از آشنایی با محیط و نوارگردان ،برای انجام فعالیت برونگرا بر روی نوار گردان با شیب ۱۶ (درجه منفی) و سرعت ۲۰ (متر در دقیقه) به مدت ۴۰ دقیقه دویدند. ۴۸ ساعت بعد از فعالیت پس از بیهوش کردن حیوانات از طریق تزریق صفاقی، عضلات نعلی و باز کننده انگشتان پا تحت شرایط استریل خارج گردید. برای سنجش پروتئین‌های اینتگرین β_1 و وینکولین از روش الایزا استفاده گردید. سرم حیوانات برای اندازه‌گیری کراتین کیناز (۲۴ و۴۸ ساعت بعد از تشریح) استفاده شد. داده‌ها با آزمون آماری T-test و تحلیل واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سطح معناداری ۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که کراتین کیناز افزایش داشته ولی معنادار نبود. همچنین در تارهای کند انقباض اینتگرین (۲۱ درصد) و وینکولین (۲۲ درصد) پس از فعالیت برون‌گرا به طور معناداری کاهش یافت. در تارهای تند اینتگرین (۱۷ درصد) کاهش و وینکولین (۷ درصد) به طور معناداری افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق نشان می‌دهد که با توجه به تغییرات کراتین کیناز و کاهش پروتئین‌های ساختاری بعد از فعالیت، احتمالاً فعالیت آسیب‌زا بوده است و تجزیه پروتئین‌ها به ویژه در تارهای کند انقباض حتی ۴۸ ساعت بعد از فعالیت ادامه داشته است. بنابراین احتمالاً بازسازی و هایپرتروفی ناشی از جبران آسیب در زمان طولانی‌تری انجام می‌گردد. هر چند به تحقیقات بیشتری در این زمینه نیاز است.

کلید واژه‌ها: پروتئین‌های کاستامریک، اینتگرین β_1، وینکولین، فعالیت برونگرا، عضله بازکننده انگشتان پا و عضله نعلی

مقدمه

اسکلتی بافتی نرم و نمودارپذیر می‌باشد که در پاسخ به تغییر هموستاز سلولی، قابلیت تغییر نوع و مقدار پروتئین را دارد. فعالیت ورزشی عاملی است که می‌تواند هموستاز بدن را تغییر دهد. تمرینات مقاومتی، طی فرآیندهای سیگنالی آبشاری سنتز

Archive of SID

www.SID.ir

پروتئین‌های انقباضی را تحریک می‌کنند (۱). سنتز پروتئین در پاسخ به فعالیت‌های مقاومتی به وسیله پیامبرهای اولیه: ریزش کلسیم، شرایط ردوکس، شرایط فسفوریلاسیون و کشش‌های مکانیکی از طریق فرایندهای آبشاری آغاز می‌شود. احتمال دارد سیگنال‌های کشش مکانیکی فرآیند آبشاری را شروع کرده و منجر به فعال‌سازی یا توقف بیان ژن پروتئین ویژه‌ای شوند (۲). سلول‌ها به این فشارهای مکانیکی خارج سلول (کشش، نیروی کششی یا فشار برشی) و یا درون سلول (انقباضات اکتو-میوزین)، از طریق اتصالات لیگاندی اینتگرین (سیستم سایتواسکلتون) پاسخ می‌دهند که منجر به فعال شدن پروتئین-های وینکولین، تالین و پاگزیلین در منطقه چسبنده شده و منطقه چسبنده را توسعه می‌دهند (۳).

اینتگرین‌ها جزء گلیکوپروتئین‌های هترودایمریک در غشای سلولی هستند که نقش کاستامری دارند و شامل ۱۶ زیر مجموعه α و ۸ زیر مجموعه β می‌باشند (۴) هر دو زیر مجموعه α و β اینتگرین‌ها، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی را به ساختارهای پروتئینی داخل سلولی متصل کرده و هر گونه کشیدگی در این ساختار موجب فعال شدن سیگنال‌های آبشاری داخل سلولی می‌شوند (۵). بخش سیتوپلاسمیک زیر مجموعه β نسبت به α در واکنش با سایتواسکلتون بیشتر درگیر است (۶). زیر واحد اینتگرین β_1D به طور ویژه در عضله اسکلتی و قلب قرار دارد و تغییر در اتصال سیتوپلاسمیک زیر واحد اینتگرین β_1را به وجود می‌آورد (۷). تغییر ایزوفرم اینتگرین در ایزوفرم β_1D برای تفکیک مایوبلاست‌ها در طول تکامل ضروری است (۸). بیشترین پروتئین منطقه چسبنده وینکولین است. وینکولین پروتئینی ۱۱۷ کیلو دالتونی است که از طریق اینتگرین در اتصال به ماتریکس خارج سلول و از طریق کادهرین در اتصالات سلول به سلول نقش دارد منطقه چسبنده با فعالیت وینکولین در سلول‌ها تحریک شده که موجب رشد و توسعه این منطقه می-شود. اختلال و کمبود وینکولین منجر به کم شدن فعالیت عضله و یا از بین رفتن عضله در دوران جنینی شده و همچنین منجر به کم شدن منطقه چسبنده می‌شود. از طرفی این پروتئین در برابر سیگنال‌های آپوپتوز مقاوم بوده، بقا و تکثیر سلولی را تنظیم می‌کند (۹). همچنین این پروتئین‌ها به عنوان پل ارتباطی بین ماتریکس خارج سلولی و اسکلت داخل سلولی عمل کرده و یکی از اجزای مهم فرایند سیگنالی هستند که سیگنال‌های مکانیکی ناشی از محیط پیرامونی را دریافت، تقویت و به پروتئین‌های در گیر در فرآیند آبشاری انتقال می‌دهند (۱۰) و موجب تغییرات سازشی در سلول عضلانی می‌شوند. تغییرات سازشی در عضلات درگیر با انجام هر جلسه فعالیت ورزشی ایجاد می‌شود که نهایتاً با تکرار جلسات تمرین منجر به افزایش مزمن در فعالیت نسخه برداری و متعاقباً پروتئین سازی می‌شود. این تغییرات در انقباضات مختلف یکسان اتفاق نمی‌افتد. عضلات اسکلتی به روش‌های گوناگونی منقبض می‌شوند که شامل انقباضات هم‌طول، هم‌جنبش و هم‌تنش می‌باشند. انقباض هم‌تنش خود شامل دو نوع انقباض می‌باشد. زمانی که طول عضله کوتاه شود انقباض درونگرا نامیده می‌شود و هنگامی که در جریان انقباض، طول عضله افزایش یابد انقباض برونگرا می-نامند. انقباض برونگرا نسبت به انقباضات درونگرا و هم طول بیشترین فشار مکانیکی را بر عضله وارد کرده و منجر به آسیب عضلانی می‌شود. در این راستا در تحقیقاتی که پاسخ مولکولی به تمرینات برونگرا در انسان را بررسی کردند، نشان دادند که انقباضات برونگرا منجر به تکثیر ژن و سنتز پروتئین می‌شود (۱۱). هنگام اجرای فعالیتی که مستلزم انقباض‌های برونگراست، به ویژه هنگامی که مدت زمان یا شدت آن به طور غیر معمول طولانی است، وقوع آسیب‌های میکروسکوپی ریز عضلانی اجتناب ناپذیر است. این آسیب‌ها، افزایش فعالیت کراتین کیناز سرم، تورم، کوفتگی، درد و محدودیت دامنه حرکتی در ۴۸ ساعت بعدی به همراه دارند. این وضعیت را کوفتگی عضلانی تأخیری یا آسیب عضلانی ناشی از فعالیت ورزشی می‌نامند. از آنجایی که عوامل همراه با کوفتگی عضلانی تأخیری به طور بالقوه در هایپرتروفی عضله اهمیت دارند، کوفتگی عضلانی تأخیری احتمالاً برای به حداکثر رساندن پاسخ تمرین ضروری است (۱۲). تمام تارهای عضلانی به هم شبیه نیستند. یک عضله اسکلتی شامل تارهایی است که دارای سرعت کوتاه شدن و قدرت متفاوتی هستند، که به تارهای کند انقباض و تند انقباض معروفند. تارهای تند انقباض نسبت به تارهای کندانقباض با سرعت و قدرت بیشتری منقبض می‌شوند در عوض تارهای کندانقباض نسبت به تارهای تندانقباض استقامتی‌تر هستند (۱۰). با وجود این، میزان پروتئین‌های سایتواسکلتون بین عضلات تند انقباض و کند انقباض متفاوت می‌باشد و با تغییر نیازهای عملکردی متفاوت در هر دو نوع تار تغییر می‌کند (۹). Boppart و همکاران نشان دادند که افزایش اینتگرین$\alpha_7\beta_1$ یک عامل بازدارنده آسیب عضلانی بوده و از فعال شدن MAPK (شاخص آسیب عضلانی) جلوگیری می‌کند. فعال سازی MAPK فرایند آبشاری هایپرتروفی را شروع و نقش جبرانی بعد از آسیب عضلانی را دارد. بنابراین فعالیت برونگرا موجب آسیب عضلانی شده که MAPK را فعال و متعاقب آن اینتگرین افزایش می‌یابد (۱۳). همچنین Lueders و همکاران در موش‌های ترانسژنیک (α_7 Tg) نشان دادند که هفت روز بعد از یک جلسه فعالیت برونگرا میانگین مقطع عرضی عضله در موش‌های سالم تغییر نکرد، در حالی که در موش‌های ترانسژنیک ۴۰ درصد افزایش یافت. علاوه بر این، به ترتیب یک و دو روز بعد از فعالیت برونگرا بیان mTOR، سلول‌های ماهواره‌ای و زنجیره سنگین

Archive of SID

www.SID.ir

میوزین تارها در موش‌های ترانس ژنیک ۵ برابر افزایش یافت، ولی هفت روز بعد از فعالیت تعداد هسته‌های هر تارچه عضلانی تغییری نکرد (۱۴). با توجه به تحقیقات انجام شده اینتگرین در افزایش هایپرتروفی و سنتز تارهای جدید (هایپرپلازی) در زمان‌های متوالی بعد از فعالیت برونگرا نقش مهمی داشته و به عنوان گیرنده مکانیکی می‌باشد که در پاسخ به آسیب مکانیکی رشد سلولی را آغاز می‌کند. همچنین Frenette و همکاران در سال ۲۰۰۰ محتوی تالین و وینکولین را بعد از فعالیت برونگرا مورد ارزیابی قرار دادند، نشان دادند که پس از فعالیت برونگرا، آسیب بافت در اتصالات میوتاندونی متمرکز در منطقه تالین و وینکولین مشاهده شد. در هفت روز بعد از پروتکل محتوی تالین در تارهای نوع I عضله نعلی، در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت، ولی معنی‌دار نبود. انقباض برونگرا در تارهای نوع II (عضله پلانتاریس) سبب افزایش محتوی تالین و وینکولین شد که ۲ تا ۳ برابر بیشتر از عضله نعلی بود. این تغییرات معنی‌دار حتی ۲۸ روز بعد از پروتکل تمرینی ادامه داشت. این نتایج نشان می‌دهد که انقباض برونگرا می‌تواند آغازگر سنتز پروتئینی در اتصالات تاندونی باشد (۱۵).

بنابراین نقش اینتگرین و وینکولین به عنوان پروتئین‌های کاستامری که ماتریکس خارج سلولی را به اکتین متصل، ساختار سلولی را تثبیت و در پاسخ به کشش مکانیکی و انقباض عضلانی سیگنال‌های متنوع داخل سلولی را شروع می‌کنند تا حدودی مشخص شده است، از طرفی ماهیت فعالیت برونگرا درگیری عضله در حالت کشیدگی آن است، که هر دو محرک کشش و انقباض عضلانی را داشته و در سنتز پروتئین و هایپرتروفی عضلانی نقش اساسی دارد. به احتمال زیاد درگیری پروتئین‌های اینتگرین و وینکولین در این فعالیت وجود داشته باشد، از آنجایی که تحقیقات کمی در رابطه با تغییرات این پروتئین‌ها و فعالیت برونگرا در عضلات تند انقباض و کند انقباض انجام شده است به طوری که تحقیقات اندک در این زمینه مراحل پایانی سیگنال اینتگرین و فرایندهای آبشاری بعد از اینتگرین را مورد مطالعه قرار داده‌اند، بنابراین هدف تحقیق حاضر این بود که تأثیر یک جلسه فعالیت برونگرا بر پروتئین-های اینتگرینβ_1 و وینکولین در عضلات تند انقباض و کند انقباض را نشان دهد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد ۱۸ سر موش نر صحرایی با وزن (۲۹.۷۸ ± ۲۸۶.۴۴ گرم)، که هیچ نوع تحقیقی روی آن‌ها انجام نشده بود خریداری و به محیط آزمایشگاه حیوانات انتقال داده شدند. حیوانات در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتیگراد) و چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترس بودن آب و غذا، نگهداری و کنترل شدند.

حیوانات یک هفته با محیط آزمایشگاه آشنا شدند. بعد از یک هفته آشناسازی با محیط، حیوانات بر روی نوارگردانی که مخصوص جوندگان (ساخت شرکت پیشرو اندیشه صنعت) طراحی شده و سرعت و شیب این دستگاه قابل تغییر بود، دویدند. مدت آشنا سازی با دستگاه ۱۰ روز بدون شیب و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۸-۱۲ متر در دقیقه بود. سپس حیوانات به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه تجربی یک (۲۴ ساعت)، که ۲۴ ساعت بعد از انجام یک جلسه فعالیت برونگرا تشریح شدند، گروه تجربی دو (۴۸ ساعت)، که ۴۸ ساعت بعد از انجام یک جلسه فعالیت برونگرا و گروه کنترل که هیچ گونه فعالیتی انجام نداده بودند، تشریح شدند. مدت زمان فعالیت برونگرا ۴۰ دقیقه به طور مداوم بود که با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و شیب ۱۶ درجه منفی تنظیم شده بود (۱۶). مدت، سرعت و شیب نوارگردان به طور دیجیتالی و با تعیین برنامه فعالیت تنظیم می‌شد. همچنین ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن، غیر از مدت تعیین شده، بدون شیب (شیب صفر درجه) اختصاص داده شد. حیوانات از طریق تزریق صفاقی ترکیب Ketamine (۹۰ درصد) و Xylazine (۱۰ درصد) بی‌هوش شدند (۱۶). تشریح حیوان از قسمت قفسه سینه شروع شد. خون حیوانات مستقیماً از قلب استخراج شد. سرم خون از طریق سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا شد. پاهای عقبی حیوان شکافته شد و سپس عضلات بازکننده دراز انگشتان (EDL) و نعلی (seleus) آن‌ها تحت شرایط استریل خارج گردید. بافت‌های مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع (دمای ۱۹۶ درجه) منجمد شده و تا زمان انجام کار آزمایشگاهی سنجش میزان پروتئین‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. با این توضیح که سرم هر سه گروه برای اندازه‌گیری کراتین کیناز استفاده شد و فقط بافت عضلانی گروه کنترل و گروه تجربی دو (۴۸ ساعت) برای اندازه‌گیری پروتئین‌ها، مورد استفاده قرار گرفت. بافت‌ها بعد از وزن کشی و آماده سازی، با استفاده از بافر PBS (phosphate buffer saline) با ترکیب آپروتینین به عنوان آنتی پروتئآز هموژن شدند. بافت-های هموژن شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ بخش فوقانی محلول جدا و با استفاده از کیت‌های مخصوص پروتئین‌های اینتگرینβ_1 و وینکولین (محصول شرکت کوسابو ساخت کشور ژاپن) و روش سنجش ایمنی آنزیم‌دار ELISA مقدار پروتئین مربوطه سنجش شد. تجزیه و تحلیل داده‌های تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری spss16 انجام شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنوف نشان داد که داده‌ها نرمال هستند، بنابراین آمار پارامتریک مورد

Archive of SID

www.SID.ir

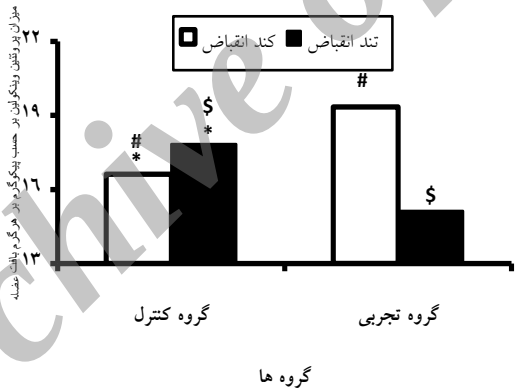
استفاده قرار گرفت. برای بررسی اختلاف بین سطوح پروتئین-های اینتگرینβ_1 و وینکولین در دو گروه کنترل و تجربی دو و همچنین بین عضلات تند انقباض و کند انقباض از t-test مستقل و برای کراتین کیناز در سه گروه کنترل، تجربی یک و تجربی دو از آنوای یک طرفه استفاده شد. $P <$ ۰/۰۵ نیز برای نشان دادن معنادار بودن مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

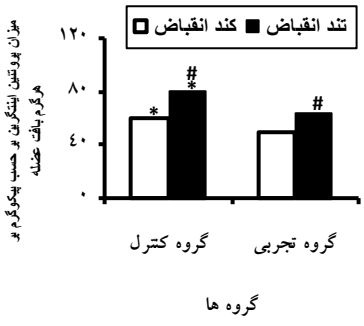
میزان پروتئین اینتگرین β_1 در گروه کنترل در عضله کند انقباض نسبت به عضله تند انقباض به طور معناداری بیشتر بود ($t_{(6)} =$-۳/۷۸۲ , $P <$ ۰/۰۵). میزان پروتئین اینتگرینβ_1 در عضله تند انقباض (EDL) گروه تجربی دو (۴۸ ساعت) در پاسخ به فعالیت برونگرا کاهش یافت، اما این اختلاف معنادار نبود ($t_{(8)} =$ ۱/۹۳۱ , $P <$ ۰/۰۹۰). همچنین میزان پروتئین اینتگرینβ_1در عضله کند (seleus) گروه تجربی دو به طور معناداری در پاسخ به فعالیت برونگرا کاهش یافت ($t_{(8)} =$ ۳/۲۰۱ , $P <$ ۰/۰۵) (نمودار۱).

میزان پروتئین وینکولین در عضله کند انقباض (seleus) بیشتر از عضله تند انقباض (EDL) است، این اختلاف با استفاده از روش آماری t-test مستقل معنادار بود ($t_{(8)} =$ -۲/۵۵۵ , $P <$ ۰/۰۵). میزان پروتئین وینکولین در عضله تند انقباض (EDL باز کننده انگشتان پا) گروه تجربی دو (۴۸ساعت) که فعالیت برونگرا داشتند از گروه کنترل بیشتر بود. این اختلاف با استفاده از روش آماری t-test مستقل معنادار بود ($t_{(8)} =$-۳/۱۳۱ , $P <$ ۰/۰۵). وینکولین در عضله کند انقباض (seleus) گروه تجربی دو که فعالیت برونگرا داشتند از گروه کنترل کمتر است. با استفاده از روش آماری t-test مستقل این اختلاف معنادار بود ($t_{(۴/۳۰۱)} =$-۳/۴۲۳ , $P <$ ۰/۰۵) (نمودار ۲).

کراتین کیناز در گروه کنترل کمتر از گروه تجربی یک (۲۴ساعت) و در گروه تجربی دو (۴۸ساعت) کمتر از گروه تجربی یک نشان داده شده است. به این معنی که بعد از ۲۴ ساعت فعالیت برونگرا سطح کراتین کیناز افزایش داشته و از ۲۴ ساعت تا ۴۸ ساعت بعد از فعالیت برونگرا کاهش یافت ولی به سطوح اولیه نرسیده است. روش آماری ANOVA یک طرفه نشان داد که این اختلافات بین گروه‌ها معنادار نمی‌باشد. بنابراین اگر چه میانگین گروه‌ها با هم اختلاف داشتند ولی تفاوت معناداری بین گروه‌ها مشاهده نشد ($F_{(۲/۱۳)} =$۰/۲۰۰, $P =$۰/۸۲۱) (نمودار۳).



نمودار ۱: میزان پروتئین اینتگرینβ_1 بر حسب پیکوگرم بر هرگرم بافت عضله (pg/g tissue) (علائم معناداری * و #)



نمودار ۲: میزان پروتئین وینکولین بر حسب پیکوگرم بر هرگرم بافت عضله (pg/g tissue) (علائم معناداری$، * و #)

Archive of SID

www.SID.ir

نمودار ۳: کراتین کیناز سرم در سه گروه کنترل، تجربی (۲۴ساعت) و تجربی دو (۴۸ساعت) (U/L)

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که میزان پروتئین اینتگرین β_1 در تارهای عضله کند انقباض گروه کنترل ۳۵ درصد به طور معناداری بیشتر از عضله تند انقباض بود. ۴۸ ساعت بعد از یک جلسه فعالیت برونگرا میزان این پروتئین در عضله تند انقباض ۱۷ درصد کاهش یافت، ولی این کاهش معنادار نبود. در حالی که در عضله کند انقباض کاهش (۲۱ درصد) معناداری داشت. تحقیق حاضر موافق یافته‌های Gomerson بود. این محققین نشان دادند که بیان ژنی اینتگرین β_1 در عضله نعلی (کند انقباض) بیشتر از عضله دوقلو و باز کننده انگشتان پا (تند انقباض) بود، که احتمالاً نقش مهمی را در انقباضات آسیب‌زا دارد (۱۷). احتمالاً تغییرات معناداری که در تارهای کند انقباض در تحقیق حاضر در پاسخ به فعالیت برونگرا مشاهده شده به تراکم بیشتر اینتگرین در تار-های کند انقباض ربط داشته باشد. همچنین زیاد بودن این پروتئین در تارهای کند انقباض، احتمالاً منجر به تجمع بیشتر پروتئین‌های ناحیه چسبنده در عضله کند انقباض نسبت به عضله تند انقباض می‌شود. متعاقب آن سیگنال‌های درون سلولی وابسته به اینتگرین در عضله کند انقباض نسبت به عضله تند انقباض فعالیت بیشتری خواهند داشت که ممکن است با انقباضات مکرر و طولانی مدت تارهای کند انقباض که نشان دهنده مقاومت به خستگی در این تارها باشد، ربط داشته باشد.

یافته‌های این تحقیق در رابطه با کاهش اینتگرین با یافته‌های Lueders و همکاران و Boppart و همکاران در تضاد بود. Lueders و همکاران با اعمال فعالیت برونگرا بر موش‌های ترانسژنیک و سالم، نشان دادند که اینتگرین $\alpha\beta_{1\ v}$ به عنوان گیرنده مکانیکی است و در پاسخ به آسیب مکانیکی رشد سلولی را آغاز می‌کند. هر چند در تحقیق آنان، مسیرهای انتهایی نظیر mTOR و فعالیت سلول‌های ماهواره‌ای اندازه‌گیری شده بود (۱۴). همچنین Boppart و همکاران با اعمال یک جلسه فعالیت برونگرا بر میزان اینتگرین $\alpha\beta_{1v}$ نشان دادند که افزایش اینتگرین $\alpha\beta_{1\ v}$ یک عامل باز دارنده آسیب عضلانی می‌باشد و موجب فعال شدن MAPK (شاخص آسیب عضلانی) می‌شود. از آنجایی که فعال‌سازی MAPK فرایند آبشاری هایپرتروفی (AKT,mTOR,$P_{70}S_6K$) را شروع می‌کند و نقش جبرانی بعد از آسیب عضلانی دارد (۱۳). به هر حال زمان اندازه‌گیری متغییرها (بلافاصله بعد از فعالیت، یک هفته بعد از فعالیت و...) (۱۵و۱۴)، شدت و مدت فعالیت برونگرا و نوع متغییر اندازه‌گیری شده (mTOR، MAPK، سلول‌های ماهواره‌ای و...) (۱۴و۱۳) در تفاوت بین نتایج تحقیق موثر هستند. اینتگرین‌ها به عنوان گیرنده‌های اولیه برای تقویت سیگنال‌های مکانیکی و فیزیکی ناشی از خارج سلول به داخل سلول فرض می‌شود که منجر به پاسخ مناسب سلولی می‌شود (۱۹). به دلیل این که اینتگرین‌ها پروتئین‌های متصل به غشای سلولی را که در حفظ فعالیت‌های سلولی درگیرند، به ماتریکس خارج سلولی و یا سلول‌های دیگر متصل می‌کنند، عمل دریافت سیگنال مکانیکی را کامل می‌کنند. اینتگرین‌ها دو وظیفه مهم در چسبندگی سلولی و انتقال سیگنال-های داخل سلولی را بر عهده دارند. بنابراین، اینتگرین‌ها به عنوان پل ارتباطی بین ماتریکس خارج سلولی و سایتواسکلتون به حساب می‌آیند و یکی از اجزای مهم فرایند سیگنالی می‌باشد که سیگنال‌های مکانیکی ناشی از خارج سلولی را کامل می‌کند (۹). در تحقیق حاضر میزان پروتئین وینکولین در عضله کند انقباض به طور معناداری ۳۴ درصد بیشتر از عضله تند انقباض بود و ۴۸ ساعت بعد از یک جلسه فعالیت برونگرا در عضله تند انقباض به طور معناداری ۷ درصد افزایش و در عضله کند انقباض به طور معنادار ۲۲ درصد کاهش یافت. تحقیقات معدودی در این زمینه انجام شده است. نتیجه حاضر با نتایج تحقیق Frenette و همکاران هم خوانی دارد. Frenette و همکاران نشان دادند که میزان پروتئین وینکولین بعد از فعالیت برونگرا، که آسیب عضلانی هم رخ داده بود، افزایش یافت و این افزایش مانند تحقیق حاضر در عضله تند انقباض بیشتر بود (۱۵). همچنین تحقیق حاضر نشان داد که وینکولین در عضله کند انقباض ۴۸ ساعت بعد از فعالیت برونگرا کاهش یافت که مخالف یافته‌های Frenette و همکاران بود. دلیل آن هم این است که فرنت جی و همکاران سه روز بعد از فعالیت برونگرا پروتئین وینکولین را اندازه‌گیری کرده بودند و نوع فعالیت آن‌ها تحریک الکتریکی

Archive of SID

www.SID.ir

بوده است. زیاد بودن وینکولین در عضله کند انقباض نسبت به عضله تند انقباض احتمالاً پروتئین بیشتری در ناحیه چسبنده تجمع می‌یابد که بیشتر بودن پروتئین‌های ناحیه چسبنده موجب می‌شود که عضله کند انقباض ساختار ثبات‌تری را داشته باشد. تثبیت ساختار تار عضلانی می‌تواند به استقامتی بودن تار عضلانی کند انقباض کمک کرده و ساختار عضلانی را در طول انقباض‌های مکرر و طولانی مدت تثبیت کند. بعد از فعالیت برون‌گرا و آسیب‌زا نه تنها ساختار سلول عضلانی تخریب می‌شود، بلکه احتمال دارد اتصالات سلول به سلول تارهای عضلانی نیز تخریب شود، وینکولین از طریق کادهرین در اتصالات سلول به سلول شرکت می‌کند. کاهش وینکوین به احتمال زیاد منجر به سست شدن اتصالات سلول به سلول در تارهای عضلانی می‌شود که به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است. وینکولین عمده‌ترین پروتئین ناحیه چسبنده، نقش مهمی را در انتقال نیروها و سیگنال‌ها از ماتریکس خارج سلول به طرف اکتین را دارد که می‌تواند انتقال پیام از اینتگرین‌ها به طرف اکتین را سازماندهی کند. بعد از فعالیت برونگرا و آسیب‌زا کاهش وینکولین انتقال نیرو و سیگنال از اینتگرین‌ها به طرف اکتین مختل شده که انقباض عضلانی و رشد سلولی را مختل می‌کند. تشکیل ناحیه چسبنده با حساسیت به نیروی مکانیکی ظاهر می‌شود. زیر واحد اینتگرینβ_1 با کشش ثابت عضله قلبی فعال شده و ناحیه چسبنده را تشکیل می‌دهد (۲۰). ناحیه چسبنده در کشش مزمن عضله اسکلتی افزایش می‌یابد. ناحیه چسبنده تشکیل شده و متعاقباً تیروزین پروتئین‌های انتقال دهنده سیگنال، فسفوریله می‌شود که یکی از مولفه‌های اولیه و عمده برای انتقال سیگنال مکانیکی می‌باشد. همچنین ناحیه چسبنده به عنوان یک محل تنظیم‌کننده کلیدی برای چندین سیگنال می‌باشد که در طی تحریک–اضافه بار برای هایپرتروفی عضله اسکلتی ظاهر می‌شود (۲۱).

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که پروتئین‌های اینتگرین β_1 و وینکولین درعضله کند انقباض به طور معناداری بیشتر از عضله تند انقباض بودند. که احتمالاً نشان دهنده استحکام تار کند انقباض هنگام انقباضات است و در انقباضات مداوم تار نقش دارد. فعالیت برون‌گرا موجب تأثیر متفاوتی هم بر دو نوع پروتئین و هم بر نوع تار عضله گذاشت. احتمالاً میزان متفاوت این دو پروتئین در هر تار عضلانی و به کارگیری متفاوت در فعالیت برون‌گرا از عوامل موثر بر این تفاوت‌ها بودند. با وجود کمتر بودن این پروتئین‌ها در تارهای تند انقباض، چون در فعالیت برون‌گرا، این نوع تارها بیشتر فراخوانی می‌شوند و احتمالاً پاسخ‌های بازسازی و رشد عضلانی سریع‌تر اتفاق افتاده است. به طور کلی با توجه به ، تغییرات کراتین کیناز و کاهش پروتئین‌های ساختاری بعد از فعالیت احتمالاً فعالیت از نوع آسیب‌زا بوده است و تجزیه پروتئین‌ها به ویژه در تارهای کند انقباض حتی ۴۸ ساعت بعد از فعالیت ادامه داشته است. بنابراین ممکن است بازسازی و هایپرتروفی ناشی از جبران آسیب در زمان طولانی‌تری انجام گردد. اما چون زمان‌های مختلف به علت محدودیت‌های موجود پس از فعالیت اندازه‌گیری نشده بود به درستی نمی‌توان گفت که این افزایش یا کاهش‌ها به علت آسیب ناشی از فعالیت به طور مقطعی است و پس از آن تغییرات متفاوتی خواهد داشت یا خیر. در هر صورت تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند پاسخگوی سئوالات در این زمینه باشد.

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر جواد نعمتی به خاطر کمک و همکاری در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Mahoney D, Parise G, Melov S, Safdar A, Tarnopolsky M. Analysis of global mRNA expression in human skeletal muscle during recovery from endurance exercise. *The FASEB Journal* 2005; **19**(11): 1498-1500.
2. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. *Sports Medicine* 2007; **37**(9): 737-763.
3. Ziegler WH, Liddington RC, Critchley DR. The structure and regulation of vinculin. *Trends in cell biology* 2006; **16**(9): 453-460.
4. Bowen JA, Hunt JS. The role of integrins in reproduction. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 2000; **223**(4): 331-343.
5. Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. *Science* 1999; **285**(5430): 1028-1032.
6. McCarthy JJ, Vyas DR, Tsika GL, Tsika RW. Segregated regulatory elements direct β-myosin heavy chain expression in response to altered muscle activity. *Journal of Biological Chemistry* 1999; **274**(20): 14270-14279.
7. Van der Flier A, Kuikman I, Baudoin C, Van der Neut R, Sonnenberg A. A novel [beta] 1integrin isoform produced by alternative splicing: unique expression in cardiac and skeletal muscle. *FEBS letters* 1995; **369**(2-3): 340-369.
8. Seasholtz TM, Majumdar M, Brown JH. Rho as a mediator of G protein-coupled receptor signaling. *Molecular Pharmacology* 1999; **55**(6): 949-956.

Archive of SID
www.SID.ir

9. Carson JA, Wei L. Integrin signaling's potential for mediating gene expression in hypertrophying skeletal muscle. *Journal of applied physiology* 2000; **88**(1): 337.
10. Carisey A, Ballestrem C. Vinculin, an adapter protein in control of cell adhesion signalling. *European journal of cell biology* 2011; **90**(2-3): 43, 63-157.
11. Zaidel-Bar R. Early molecular events in the assembly of matrix adhesions at the leading edge of migrating cells. *Journal of cell science* 2003; **116**(22): 4605-4613.
12. Robergs R. Fitness, Performance and Healt. *Fundamental Principles of Exercise Physiology* 2000; **1072**: 964-978.
13. Boppart MD, Burkin DJ, Kaufman SJ. $\alpha^{7}\beta^{1}$-Integrin regulates mechanotransduction and prevents skeletal muscle injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2006; **290**(6): 1660-1665.
14. Lueders TN, Zou K, Huntsman HD, Meador B, Mahmassani Z, Abel M, et al. The $\alpha^{7}\beta^{1}$-integrin accelerates fiber hypertrophy and myogenesis following a single bout of eccentric exercise. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2011; **301**(4): 938-946.
15. Frenette J, Cote C. Modulation of structural protein content of the myotendinous junction following eccentric contractions. *International journal of sports medicine* 2000; **21**(5): 313-320.
16. Lomonosova YN, Zheleznyakova A, Bugrova A, Zhiryakova A, Kalamkarov G, Nemirovskaya T. Protective effect of nitric oxide on cytoskeletal proteins in rat soleus under eccentric exercise. *Biophysics* 2009; **54**(3): 361-364.
17. Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossaini-Kakhak SA, Rahbarizadeh F, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA 1 expression in rat liver. *Biochemical biophysical research commun* 2007; **361**(4): 841-846.
18. Gumerson JD, Kabaeva ZT, Davis CS, Faulkner JA, Michele DE. Soleus muscle in glycosylation-deficient muscular dystrophy is protected from contraction-induced injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2010; **299**(6): 1430-1436.
19. Ingber DE. Tensegrity: the architectural basis of cellular mechanotransduction. *Annual Review of Physiology* 1997; **59**(1): 575-599.
20. Seko Y, Takahashi N, Tobe K, Kadowaki T, Yazaki Y. Pulsatile stretch activates mitogen-activated protein kinase (MAPK) family members and focal adhesion kinase (p125 FAK) in cultured rat cardiac myocytes. *Biochemical and biophysical research communications* 1999; **259**(1): 8-14.
21. Flück M, Carson JA, Gordon SE, Ziemiecki A, Booth FW. Focal adhesion proteins FAK and paxillin increase in hypertrophied skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1999; **277**(1): 152-162.

Archive of SID

www.SID.ir