

تأثیر دو نوع تمرین مقاومتی و استقامتی بر بیان ژن FNDC5 عضله دوقلو در رت‌های نر

محمد حسین زاده^۱، امیر رشیدلمیر^{۲*}، سید محمود حجازی^۳

۱. گروه تربیت‌بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳. گروه تربیت‌بدنی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۷

زمینه و هدف پروتئین تراغشایی فیبرونکتین نوع ۳ دامنه حاوی پروتئین ۵ (FNDC5) فاکتوری مهم برای تمایز سلولی عضله اسکلتی شناخته شده است. با توجه به اینکه آثار مثبت ورزش منظم، از طریق عضله اسکلتی منتقل می‌شود، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر دو برنامه تمرین مقاومتی و استقامتی فزاینده بر بیان ژن FNDC5 عضله دوقلو در رت‌های نر بود.

مواد و روش‌ها در این پژوهش ۱۵ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل (۵ سر)، تمرین استقامتی (۵ سر) و تمرین مقاومتی (۵ سر)، تقسیم شدند. گروه استقامتی تمرینات را به مدت ۸ هفته روی نوارگردان و گروه مقاومتی نیز تمرینات مقاومتی را به مدت هشت هفته روی نردبان یک متری با شیب ۸۵ درجه انجام دادند. ۷۲ ساعت پس از پایان تمرین حیوانات بی‌هوش شده، بافت عضله دوقلو جدا و اندازه‌گیری بیان ژن FNDC5 انجام شد. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده و معناداری در سطح $p \leq 0/05$ پذیرفته شد.

یافته‌ها اختلاف معناداری در بیان ژن FNDC5 در بین گروه‌ها مشاهده شد ($p = 0/001$ و $F = 31/791$). به‌کارگیری آزمون تعقیبی Tukey نشان داد، بیان ژن FNDC5 عضله دوقلو در گروه تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری (به ترتیب $p < 0/001$ و $p < 0/001$) افزایش داشته است. اما تفاوت معناداری بین گروه تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی در بیان ژن FNDC5 مشاهده نشد ($p = 0/999$).

نتیجه‌گیری نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرینات ورزشی مقاومتی و استقامتی فزاینده می‌تواند باعث تنظیم افزایشی بیان ژن FNDC5 عضله اسکلتی شود و به نظر می‌رسد عملکرد تمرینات مقاومتی و استقامتی در این زمینه مشابه است.

کلیدواژه‌ها:

FNDC5، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی.

مقدمه

سلامتی انسان بیانجامد. عوارضی مانند: بیماری‌های قلبی عروقی، مقاومت انسولینی، فشار خون و افزایش خطر سرطان [۱]. بافت چربی را می‌توان به دو نوع بافت چربی سفید

چاقی، بیماری مزمنی است که در نتیجه انباشت چربی اضافی در بدن ایجاد می‌شود و می‌تواند به افزایش عوارض جانبی بر

* نویسنده مسئول: امیر رشیدلمیر
نشانی:

دورنگار:

تلفن: ۰۹۱۵۱۵۱۴۱۷۴

رایانه: rashidlamir@um.ac.ir

شناسه ORCID: 0000-0001-6180-8554

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0003-0224-2989

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۵، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۷، ص
آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

بهبود تعادل انرژی، کاهش چاقی و التهاب است که به طور بالقوه از طریق پروتئین‌های رها شده از عضله اسکلتی (مایوکاین‌ها) هدایت می‌شود که در این زمینه آیریزین به عنوان مایوکاین پاسخگو به ورزش پیشنهاد شده است [۱۰]. مطالعات مختلف انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که بیان آیریزین/FNDC5 با شدت، مدت و نوع ورزش مرتبط است [۴، ۱۱-۱۴]. از جمله، بستروم و همکاران (۲۰۱۲)، در پژوهشی نشان دادند که انجام سه هفته تمرینات استقامتی دویدن روی تردمیل با شدت متوسط، به افزایش دوبرابری در بیان mRNA UCP1 در بافت چربی احشایی و افزایش ۲۵ برابری در بافت چربی زیر جلدی شکمی در موش‌های صحرائی منجر می‌شود، در بخش دیگری از یافته‌های این پژوهش، سه هفته تمرین شنا به افزایش ۶۵ برابری در بیان UCP1 mRNA چربی شکمی انجامید. همچنین این پژوهشگران نشان دادند که انجام ۱۰ هفته تمرین استقامتی باعث افزایش دو برابری mRNA FNDC5 و UCP1 mRNA در آزمودنی‌های انسانی می‌شود [۱۱]. به طور کلی فعالیت بدنی فنوتیپ اکسیداتیوی عضله اسکلتی را که به وسیله افزایش بیان ژن PGC-1 α تعیین می‌شود ارتقا می‌دهد. این کوآکتیواتور رونویسی، بیوزنز میتوکندریایی را در عضله اسکلتی افزایش می‌دهد که تعیین کننده تغییرات فنوتیپی و فیزیولوژیکی است [۱۳]. از این رو می‌توان چنین استنباط کرد که تمرین، یکی از مهم ترین عوامل اثرگذار بر بیان این ژن‌ها و دیگر اعمال آن بر متابولیسم انرژی است [۱۵]. در رابطه با انواع تمرینات ورزشی، گزارش شده است که بیشتر، سازگاری‌های متابولیکی ناشی از تمرینات هوازی کانون توجه قرار گرفته است، اما امروزه ارزش بالقوه تمرین مقاومتی در زمینه توسعه سلامت و آمادگی نیز درک شده و اهمیت برجسته این تمرینات در این است که تمرین مقاومتی ضمن افزایش یا حفظ توده عضلانی، سازگاری‌های متابولیک با این نوع فعالیت ورزشی می‌تواند با وساطت مسیر مشابه سلولی، به سازگاری‌های مشابه با سازگاری به تمرینات استقامتی منجر شود [۶]. با این حال، در حوزه ورزش نتایج راجع به آیریزین و بیان ژن FNDC5 کمتر مورد توجه بوده است و پژوهش‌های موجود در این خصوص نتایج متفاوتی در پی داشته است. به ویژه اینکه تاکنون مقایسه بین تمرینات مختلف و میزان اثرگذاری آن‌ها بر بیان ژن FNDC5 بافت عضله اسکلتی انجام نشده است و از این رو، پژوهش حاضر درصدد است اثر دو نوع پروتکل تمرین مقاومتی و استقامتی فزاینده را بر تغییرات بیان ژن FNDC5 عضله دوقلوی رت‌های نر بررسی کند.

و بافت چربی قهوه‌ای تقسیم کرد. بافت چربی سفید نمایانگر بخش عمده بافت چربی در انسان‌ها و ناحیه فیزیولوژی ذخیره تری‌گلیسرید است. از طرفی بافت چربی قهوه‌ای منبع اختصاصی است که در گرمزایی بدون لرزیدن و هزینه انرژی، به ویژه در پستانداران کوچک و نوزاد انسان نقش دارد [۲]. اخیراً محققان دریافته‌اند که عضله اسکلتی نقش فعالی را در تنظیم هموستاز متابولیکی از طریق توانایی خود در ارتباط با بافت چربی، با غدد درون ریز ایفا می‌کند [۳]. عضله اسکلتی یک بافت متابولیکی فعال است که انقباض آن باعث افزایش آزاد شدن چندین مایوکاین مانند اینترلوکین (Interlukin) ۶، اینترلوکین ۸، اینترلوکین ۱۰ و ۱۵، فاکتور مهارکننده لوسمی (Leukemia inhibitory factor)، فاکتور رشد فیبروبلاست (Fibroblast growth factor)، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain-derived neurotrophic factor) و مایوکاینی به نام آیریزین (Irisin) می‌شود که قادر به تعامل با بافت چربی است [۱، ۳]. آیریزین پروتئین ۱۱۲ آمینو اسیدی است [۴] که بلافاصله پس از ورزش از عضله اسکلتی ترشح می‌شود [۱]. نخست، ورزش می‌تواند بیان ژن PGC-1 α (-proliferator coactivator-1 α activated receptor-gamma) را در عضله اسکلتی القا کند [۴]. PGC-1 α فعال کننده گیرنده هسته‌ای است که بیان پروتئین‌های جفت نشده نوع یک (Uncoupling protein1) میتوکندریایی را تنظیم می‌کند و بنابراین نقش مهمی در گرمزایی عضله اسکلتی و بافت چربی قهوه‌ای دارد [۵، ۶]. PGC-1 α همچنین باعث تحریک بیان ژن فیبرونکتین نوع III دامنه حاوی پروتئین ۵ (FNDC5) در بافت عضله می‌شود [۴، ۷]. بیان ژن FNDC5 در چندین بافت از جمله، قلب، مغز، تخمدان، بیضه، کلیه و کبد و عضله اسکلتی شناسایی شده و اخیراً توجه فراوانی به آن شده است [۸، ۹]. در عضله اسکلتی، پس از تحریک بیان ژن FNDC5 توسط PGC-1 α ، این پروتئین در غشای عضله اسکلتی جاسازی شده و می‌تواند پس از تجزیه شدن به عنوان هورمونی جدید به نام آیریزین وارد گردش خون شود [۲، ۴].

مطالعات بسیاری نقش فعالیت بدنی را در دستگاه‌های مختلف بدن مانند کبد، مغز، بافت چربی و قلب مشخص کرده‌اند و نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی از بین اندام‌های دیگر بدن، عضلات اسکلتی را به طور مستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱]. به طور کلی فعالیت بدنی در برابر چندین نوع بیماری از جمله بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت نوع دو، انواعی از سرطان‌ها، افسردگی، پوکی استخوان و سارکوپنیا محافظت می‌کند. این آثار مفید فعالیت بدنی احتمالاً به دلیل ترکیبی از

مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها: پژوهش حاضر از نوع تجربی بوده و به منظور انجام آن، در فصل پاییز سال ۱۳۹۵، ۱۵ سر موش صحرایی نر، ۱۰ تا ۱۲ هفته‌ای نژاد ویستار، (با میانگین وزن $331/8 \pm 63/09$ گرم) از مرکز پرورش موش دانشکده علوم پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد خریداری شد و برای اجرای پژوهش به آزمایشگاه حیوانی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد. پس از اندازه‌گیری وزن اولیه، حیوانات به‌طور تصادفی در سه گروه کنترل (۵ سر)، تمرین هوازی (۵ سر) و تمرین مقاومتی (۵ سر) قرار گرفتند. موش‌ها تحت شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما (22 ± 1 درجه سانتی‌گراد) و رطوبت ۵۰ درصدی در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس پلی‌کربنات شفاف با درپوش فلزی نگهداری شدند به‌طوری‌که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

پروتکل تمرینی: پیش از اجرای پروتکل تمرینی، آزمودنی‌ها به مدت یک هفته با نحوه انجام فعالیت آشنا شدند. برنامه آشنایی برای گروه تمرین هوازی شامل ۵ جلسه راه رفتن روی نوارگردان با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و شیب صفر درجه و به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه بود و نحوه آشنایی گروه تمرین مقاومتی نیز شامل ۵ جلسه صعود از نردبان یک متری و با شیب ۶۰ تا ۸۰ درجه بود که این کار پس از بستن گیره و وزنه متصل به آن، به دم حیوان، انجام شد.

در ادامه، گروه تمرین استقامتی، تمرین هوازی فزاینده را که شامل ۸ هفته (۵ روز در هفته) دویدن روی نوارگردان با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه بود انجام دادند. به‌طوری‌که در ۴ هفته نخست، تمرین با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه اجرا شد و سپس براساس اصل اضافه‌بار از هفته چهارم تا ششم به تدریج به شدت ۲۰ متر در دقیقه، به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه رسید و در ۲ هفته پایانی با شدت ۲۰ متر در دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه اجرا شد. همچنین ۱۰ دقیقه ابتدای تمرین به گرم کردن و ۱۰ دقیقه انتهایی تمرین به سرد کردن با سرعت ۱۵ متر در دقیقه اختصاص داشت [۱۶].

تمرین مقاومتی نیز به مدت ۸ هفته و هفته‌ای ۳ جلسه انجام شد. در هفته نخست، میزان وزنه‌های بسته‌شده به دم موش‌ها ۵۰ درصد از وزن بدن آن‌ها بود که با افزایش ۱۰ درصدی در هر هفته ادامه یافت. تمرینات روی یک نردبان به طول ۱ متر انجام شد. بدین‌صورت که وزنه‌ای از طریق یک

گیره به دم آن‌ها متصل شده و در این حالت، حیوان از نردبان بالا می‌رفت. این کار در ۳ نوبت ۵ تکراری انجام شد که فاصله بین نوبت‌ها ۳ دقیقه و بین تکرارها ۱ دقیقه بود. این شیوه تمرینی با اندکی تغییرات از منابع معتبر گرفته شد [۶، ۱۷]. در این مدت گروه کنترل هیچ‌گونه تمرینی انجام نمی‌دادند.

نحوه نمونه‌گیری و اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی: ۷۲

ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، نخست حیوانات در فضای ویژه نمونه‌برداری (محیط استریل) با ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) [۶] بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی با عقب‌نکشیدن پا توسط لمس، در قسمت پوست ناحیه عضله دوقلو ایجاد شد و با ظاهر شدن عضله دوقلو، بافت‌برداری انجام و بلافاصله با سرم فیزیولوژی سردشده، تمیز و داخل میکروتیوپ قرار داده و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد. سپس، نمونه‌های کبد به فریزر با دمای -80 درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

به‌منظور استخراج mRNA، بافت دو بار با PBS گرم شستشو داده شد و به داخل میکروتیوپ‌های ۱/۵ میکرولیتر انتقال داده شد. به هر تیوب ۱ ml Tripure اضافه شد. چندین بار بافت پیپت شده تا سلول‌ها به‌طور کامل لیز شوند. نمونه‌های هموژن شده به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر کلروفورم به هر تیوب و ۱۵ ثانیه شیک شدید، تیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شدند. سپس تیوب‌ها در سانتریفیوژ با دور 12000 g و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فاز رویی به آرامی به میکروتیوب استریل جدید منتقل شد و 500 میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه و چندین بار معکوس شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. نمونه‌ها در 12000 g به مدت ۱۰ دقیقه در 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. محلول رویی دور ریخته و به هر تیوب ۱ ml اتانول ۷۵ درصد اضافه شد. پس از شستشوی پلت RNA در اتانول توسط ورتکس کردن، نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور 7500 g و به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. محلول رویی دور ریخته و اجازه داده شد تا رسوب RNA در دمای اتاق نیمه‌خشک شود. رسوب RNA در 20 میکرولیتر آب DEPC حل شد. محلول به دست‌آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 55 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و بلافاصله در فریزر منفی 80 قرار گرفت. سپس، از RNA استخراج‌شده به‌وسیله کیت سنتز cDNA (BIONEER، کوره)، cDNA سنتز شد. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای ژن FNDC5 [۶] و ژن رفرنس [۱۸]

در جدول ۱ آمده است. انجام شد (جدول ۲)، و بدین منظور در آزمایش از رنگ سنجش میزان بیان ژن‌ها نیز به روش Real Time PCR SYBR Green استفاده شد. جدول ۱. توالی نوکلئوتیدی پرایمرها

ژن	توالی پرایمر رفت و برگشت	نوع پرایمر	دمای اتصال پرایمر
FNDC5	5'-GTCTCCCACCACCATCTT-3	رفت	۶۳
FNDC5	5'-TCTGTCTCTGAGTGTAGCCTTAGC-3	برگشت	۶۳
GAP.DH	5'-GTGCCAGCCTCGTCTCATAG	رفت	۶۰
GAP.DH	5'-GACTGTGCCGTTGAACTTGC	برگشت	۶۰

جدول ۲. برنامه زمانی دمایی Real-time PCR

گام‌ها	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان	تعداد چرخه
واسرشت اول	۹۵	۱۵ دقیقه	۱
واسرشت دوم	۹۵	۱۵ ثانیه	
اتصال پرایمر	۶۰	۳۰ ثانیه	۴۰
مرحله رونویسی	۷۲	۳۰ ثانیه	

$$E = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

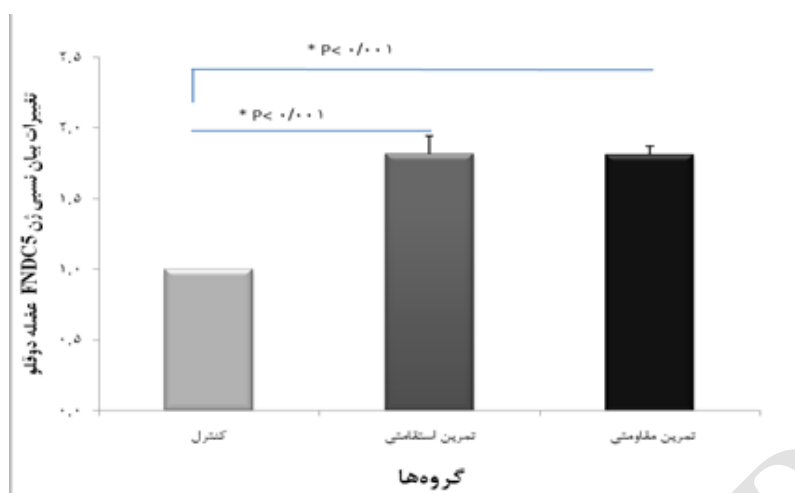
($\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ Target} - \Delta Ct \text{ Reference}$)

تجزیه و تحلیل آماری: پس از تعیین توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلیک، برای مقایسه تفاوت میانگین گروه‌ها، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن از آزمون Tukey استفاده شد. اختلاف معناداری آماری در سطح $p \leq 0.05$ تعیین شد. همچنین از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

نتایج آزمون شاپیروویلیک نشان داد که توزیع داده‌ها طبیعی است و تحلیل واریانس یک‌طرفه، اختلاف معنادار بیان ژن FNDC5 را در بین گروه‌ها آشکار ساخت ($p = 0.001$ و $F = 31/791$).

پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه به دست آمد. از نسبت سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن خانه‌گردان، میزان بیان ژن مورد نظر با روش 2- $\Delta\Delta Ct$ از طریق معادله زیر به دست آمد [۱۹]. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه سیکل آستانه Ct هر نمونه مشخص شد. از نسبت سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن خانه‌گردان می‌توان میزان بیان ژن مورد نظر را با استفاده از روش 2- $\Delta\Delta Ct$ به طریق زیر به دست آورد. به این صورت که نخست سیکل آستانه ژن مورد نظر هر نمونه را از سیکل آستانه ژن خانه‌گردان همان نمونه کم می‌کنیم. ($\Delta Ct = Ct \text{ Target} - Ct \text{ Housekeeping}$) در مرحله بعد، ΔCt هر نمونه را از نمونه‌ای که نسبت به آن می‌خواهیم مقایسه کنیم کم کرده، منفی عدد به دست آمده را می‌توان به توان دو رساند و بیان نسبی آن ژن را به دست آورد.



شکل ۱. بیان نسبی ژن FNDC5 عضله دوقلو در گروه‌های کنترل، تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی

*: نشان‌دهنده تفاوت بین گروهی معنادار

پیری را تحت تأثیر قرار دهد [۲۱]. پروتئین γ -PPAR، گیرنده‌های هسته‌ای هستند که برای تعدیل بیان ژن‌های هدف درگیر در متابولیسم لیپید و گلوکز فعالیت می‌کنند و به‌عنوان بازدارنده فرایند آترواسکلروزیس شناخته شده‌اند [۹]. از طرفی، مطالعات اخیر حیوانی (موش) نشان داده‌اند که کواکتیواتور رونویسی PGC-1 α که بیوزن میتوکندریایی را افزایش می‌دهد، بیان ژن FNDC5 را تحریک می‌کند که به افزایش بافت چربی قهوه‌ای، افزایش اکسیژن مصرفی، حساسیت انسولینی، و تحمل گلوکز منجر می‌شود [۱۳].

با توجه به شناسایی FNDC5 و آیریزین، به‌عنوان پروتئین‌های تنظیم‌شونده به‌واسطه ورزش، در انسان و موش، بیان ژن FNDC5 عضله اسکلتی در چند گروه ورزشی در مدل انسانی تجزیه و تحلیل شده است. که در این زمینه بستروم و همکاران افزایش برجسته (حدود دو برابر) بیان FNDC5 mRNA را پس از ورزش گزارش کردند [۲۳]. در حقیقت، بیان اینکه آیریزین یک مایوکاین پاسخگو به ورزش و وابسته به PGC-1 α است بر اساس نتایج تحقیقی بود که نشان داد سطوح FNDC5 mRNA عضله اسکلتی موش بعد از ۳ هفته تمرین اختیاری روی چرخ گردان در مقایسه با موش‌های بی‌تحرک حدود ۲/۸ برابر افزایش داشت. علاوه‌براین بیان FNDC5 با افزایش PGC-1 α mRNA همراه بود. [۲۳]

با وجود آزمایش‌های گسترده درباره عملکردهای متابولیکی این پروتئین جدید، مطالعات اندکی مکانیسم‌های افزایش بیان ژن FNDC5 را تحت تأثیر تمرینات مختلف ورزشی بررسی کرده‌اند [۲۴]. در مطالعه حاضر مقایسه هشت هفته تمرین استقامتی و مقاومتی بر FNDC5 mRNA عضله دوقلو، نشان داد که هر دو تمرین استقامتی و مقاومتی تقریباً

به‌کارگیری آزمون تعقیبی Tukey نشان داد، بیان ژن FNDC5 عضله دوقلو در گروه تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری (به ترتیب $p < 0.001$ و $p < 0.001$) بالاتر بوده است. اما تفاوت معناداری بین گروه تمرین هوازی و تمرین مقاومتی در بیان ژن FNDC5 مشاهده نشد ($p = 0.999$).

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر پیرامون میزان بیان ژن FNDC5 عضله دوقلو، بیانگر افزایش معنادار این ژن در پاسخ به تمرینات مقاومتی و استقامتی بود.

اخیراً، از عضله اسکلتی به‌عنوان بافت درون‌ریز نام‌برده می‌شود که نه تنها دربرگیرنده مولکول‌های متابولیکی مهم بوده و بیان هر کدام از این مولکول‌ها متابولیسم را تغییر می‌دهد، بلکه از طریق ترشح هورمون‌هایی با دیگر بافت‌ها در ارتباط است [۶]. از آنجایی که این ترشحات از عضله اسکلتی رها می‌شوند و در قالب مکانیسم‌های اندوکراینی، اتوکراینی و پاراکراینی عمل می‌کنند مایوکاین نامیده شده‌اند و ممکن است در آثار مفید ورزش دخالت داشته باشند [۱]. آیریزین یک آدیپومایوکاین جدید است که بلافاصله پس از ورزش، از FNDC5 جدا شده و به جریان خون ترشح می‌شود و به‌طور طبیعی نقش ضد چاقی ایفا کرده و در برابر بیماری‌های مرتبط با چاقی محافظت می‌کند [۱۹] و بر اساس مطالعات، تقریباً ۷۲ درصد از *fnDC5/irisin* از بافت عضله و احتمالاً حدود ۲۸ درصد باقیمانده از طریق بافت چربی ترشح می‌شود [۲۰]. FNDC5 که یکی از پروتئین‌های هدف γ -PPAR و PGC-1 α است [۱] می‌تواند خطر بیماری‌های قلبی و همچنین روند

ویژه عضله، سطوح بیان ژن FNDC5 را کاهش می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد ارتباط جدیدی بین AMPK عضله اسکلتی و حفظ سطوح پایه بیان ژن FNDC5 وجود دارد و همان طور که ذکر شد، این ارتباط ممکن است به صورت محور تنظیمی FNDC5-1a-PGC-1α-AMK باشد، به طوری که نشان داده شده است AMPK بالادست PGC-1α عمل می‌کند [۲۴] و به نظر می‌رسد دلایل افزایش بیان ژن FNDC5 را باید در سیگنال‌های فعال کننده PGC-1α جستجو کرد [۲].

با وجود این، در برخی مطالعات با توجه به عدم ارتباط بین تغییرات FNDC5 و PGC-1α، پیشنهاد شده است که عامل یا عوامل دیگری ممکن است در تنظیم بیان ژن FNDC5 درگیر باشند. و PGC-1α تنها یکی از تنظیم کننده‌های مهم متابولیسم انرژی است. بنابراین، مکانیسم‌های بالادستی مختلفی، از جمله مکانیسم‌هایی که توسط ورزش القا می‌شوند، ممکن است بیان هر دو ژن را تحت تأثیر قرار دهند. بر این اساس، تیمونز و همکاران ۲۰۱۲، هیچ ارتباطی بین FNDC5 و PGC-1α یافت نکردند و بنابراین نتیجه می‌شود که از ژن‌های تنظیم شونده توسط ورزش، احتمالاً حدود ۱۰۰۰ ژن دیگر توسط انواع مختلف ورزش تنظیم می‌شوند که ممکن است در تنظیم FNDC5 درگیر باشند [۲۴]؛ از جمله خانواده PPARs که تحت تأثیر تمرینات ورزشی بیان ژن آن‌ها، افزایش می‌یابد [۲۶] و از آنجایی که FNDC5 هدف PPAR γ به شمار می‌رود [۱]، به نظر می‌رسد بیان این ژن، تحت تأثیر این مسیر نیز تنظیم شود.

نشان داده شده است که تمرین مقاومتی با تعداد تکرار زیاد در گروه عضلانی می‌تواند به افزایش استقامت عضله و گروه عضلانی منجر شود. به نظر می‌رسد که احتمالاً آثار متابولیکی (رشد عضله) تمرین مقاومتی، همراه با افزایش بیان FNDC5 باشد، چون نشان داده شده است که آیریزین اغلب با توده عضلانی مرتبط است [۲۵]. و با توجه به مطالعات قبلی که افزایش قدرت عضله، سیگنالینگ mTOR و افزایش سایز تار عضله (هایپرتروفی) را در پاسخ به تمرین مقاومتی [۲۵] نشان داده‌اند، به نظر می‌رسد بیان FNDC5 از این طریق نیز ممکن است تحت تأثیر قرار گیرد. در رابطه با سازوکار احتمالی دیگر تأثیر تمرین مقاومتی طولانی مدت بر بهبود ترکیب بدن نیز به نظر می‌رسد. در اثر این تمرینات سیگنال‌های متفاوتی باعث فعال سازی PGC-1α در عضله اسکلتی شده که متعاقباً می‌تواند تحریک بیان FNDC5 را به دنبال داشته باشد. و با ترشح آیریزین ناشی از FNDC5 به گردش خون، در طولانی مدت بر بافت چربی سفید عمل کند و

به طور مشابه می‌توانند باعث افزایش بیان این پروتئین شوند که با نتایج برخی مطالعات پیشین همسو است [۶، ۱۰، ۱۳، ۲۵]. اما با نتایج پژوهش فاین و همکاران (۲۰۱۳)، متناقض بود که گزارش کردند ۱۶ تا ۲۰ هفته تمرینات ورزشی اثر معناداری بر بیان ژن FNDC5 چربی زیرپوستی، عضله دالی، عضله سه سر بازویی و عضله قلب خوک نداشت [۱۱]. همچنین نتایج مطالعه ما، با مشاهدات پکالا و همکاران (۲۰۱۳) متفاوت بود. این محققان گزارش کردند که FNDC5 و سطوح آیریزین سرم بعد از تمرینات هوازی حاد و طولانی مدت و تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی مردان جوان و مسن تغییری نداشت که با نتایج تحقیق حاضر متناقض بود و فقط یک جلسه تمرین مقاومتی، افزایش بیان FNDC5 را در مردان جوان به دنبال داشت. همچنین آن‌ها نشان دادند که تغییرات PGC-1α یا سطوح سرمی آیریزین با تغییرات در FNDC5 همراه نبود. بر این اساس آن‌ها گزارش کردند که تأثیرات ورزش بر FNDC5 و آیریزین مرتبط نیست و نقش آن‌ها در سلامتی همچنان مورد سؤال است و در مطالعات آینده مکانیسم‌های تنظیمی باید بررسی شوند [۲۵].

به طور کلی، نتایج ضدونقیض ارتباط عملکرد آیریزین و ژن پیش ساز آن، FNDC5 عضله اسکلتی، را در هموستاز انرژی و سلامت متابولیکی همراه با نقش تنظیمی ورزش و PGC-1α گزارش کرده‌اند.

از آنجایی که، نقش متابولیکی آیریزین، به وسیله افزایش انرژی هزینه کرد و هموستاز گلوکز شناسایی شده است. از این رو، منطقی است که آیریزین و FNDC5 در پاسخ به تمرین استقامتی و هوازی افزایش یابند که به طور کلی از طریق افزایش ظرفیت اکسایشی و عملکرد میتوکندریایی شناخته می‌شود [۲۵].

یکی از مکانیسم‌های افزایش بیان ژن FNDC5 تحت تأثیر تمرینات استقامتی می‌تواند مربوط به محور تنظیمی AMPK- PGC-1α- FNDC5 باشد [۲۴]. پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK) یک کیناز چند سوسترایی است که در طول ورزش در عضله اسکلتی فعال می‌شود. فعالیت AMPK با عملکرد PGC-1α مرتبط است، به طوری که AMPK می‌تواند مستقیماً PGC-1α را فسفریله کند که این فرایند برای مکانیسم خود تنظیمی PGC-1α که بیان آن تداوم داشته باشد، مهم است [۲۴].

AMPK عضله اسکلتی در پاسخ به استرس انرژی مانند تمرین استقامتی که شارژ آدنیلات سلول را مختل می‌کند، فعال می‌شود و گزارش شده است که حذف فعالیت AMPK

FNDC5 را تحت تأثیر تمرینات مختلف ورزشی بررسی کرده‌اند و اینکه چه نوع پروتکل ورزشی، و با چه شدت و مدتی، می‌تواند افزایش سطوح آیریزین را در عموم جمعیت افزایش دهد هنوز مبهم است و به نظر می‌رسد در مطالعات آینده مکانیسم‌های تنظیمی آن باید بیشتر بررسی شود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با هزینه شخصی نویسندگان انجام شده است و در جلسه کمیته منطقه‌ای اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد IR.MUMS.REC.1396.182 تأیید شود.

References

- Panati K, Suneetha Y, Narala V.R. Irisin/FNDC5 - An updated review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2016; 20: 689-97.
- Khodadadi H, Rajabi H, Attarzadeh SR, Abbasian S. The Effect of High Intensity Interval Training (HIIT) and Pilates on Levels of Irisin and Insulin Resistance in Overweight Women. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2014; 16 (3): 190-6. [in Persian]
- Aghamohammadi M, Habibi A, Ranjbar R. The effect of selective aerobic training on serum irisin levels and insulin resistance index in women with type 2 diabetes. *Arak Medical University Journal (AMUJ)*. 2016; 18 (04): 1-9. [in Persian]
- Lui J, Cui X.Y, Yang Y.O, Gao W, Sun L, Dong Y.C et al. Effects of high-intensity treadmill training on timeliness and plasticity expression of irisin in mice. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015; 19: 2168-273.
- Malekyian-Fini E, Kaviani-Nia A, Mahmoudi F. The interactive effect of aerobic training and resveratrol supplementation on C-reactive protein and metabolic profiles in women with type 2 diabetes. *Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2015; 19 (5): 372-81. [in Persian]
- Reisi J, Rajabi H, Ghaedi K, Marandi M, Asady samani Z, kazemi nasab F. Effect of eight weeks' resistance training on plasma irisin protein level and muscle FNDC5 and adipose tissue UCP1 genes expression in male rats. *Exercise physiology*. 2015; (28): 118-30. [in Persian]
- G. Swick A. Irisin, a novel myokine: potential role in obesity and diabetes. *Heart Metab* 2013; 61: 39-40.
- Barja-Fernández S, Folgueir C, Castela C, Al-Massadi O, Bravo S.B, Garcia-Caballero T et al. FNDC5 is produced in the stomach and associated to body composition. *Scientificreports*. 2016; 6:23067: 1-12.
- Schumacher M, Chinnam N, Ohashi T, Sanjay Shah R, P. Erickson H. The Structure of Irisin Reveals a Novel Intersubunit-Sheet Fibronectin Type III (FNIII) Dimer. *Journal of Biological Chemistry*. 288 (47): 33738-44.
- Norheim F, Mikal Langleite T, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Kristian Stadheim H et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans 2014; 281: 739-49.
- Fain J.M, Company J.W, Booth C, Harold Laughlin M, Padilla J.T, Jenkins N et al. Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. *Metabolism*. 2013; 62 (10): 1503-11.
- Tsuchiya Y, Ando D, Goto K, Kiuchi M, Yamakita M, Kovama K. High-Intensity Exercise Causes Greater Irisin Response Compared with Low-Intensity Exercise under Similar Energy Consumption. *Tohoku J. Exp. Med* 2014; 233 (2): 135-40.
- Lecker S, Zavin A, Cao P, Arena R, Allsup K, M. Daniels K et al. Expression of the Irisin Precursor FNDC5 in Skeletal Muscle Correlates With Aerobic Exercise Performance in Patients With Heart Failure. *Circ Heart Fail* 2012; 812-18.
- Miyamoto-Mikami E, Sato K, Kurihara T, Hasegawa N, Fujie S, Fujita S et al. Endurance Training-Induced Increase in Circulating Irisin Levels Is Associated with Reduction of Abdominal Visceral Fat in Middle-Aged and Older Adults. *PLOS ONE* 2015; 1-12.
- Boström P, Wu J.P, Jedrychowski M, Korde A, Ye Li, C. Lo J et al. A PGC1 α -dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481(7382): 463-8.
- Disanzo B, You T. Effects of exercise training on indicators of adipose tissue angiogenesis and hypoxia in obese rats. *Metabolism Clinical and Experimental* 2014; 452-5.
- Maftinhomae H, Ziaolhagh S J, Azarbayjani M A, Piri M. Effects of Boldenone consumption and resistance exercise on hepatocyte morphologic damages in male wistar rats. *European Journal of Experimental Biology*. 2014; 4(2):211-4.
- Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2^{- $\Delta\Delta C_T$} Method. *Methods*. 2001; 25: 402-8.
- Pukajilo K, Kolackov K, Łaczmanski Ł, Daroszewski J. Irvyzna - nowy mediator homeostazy energetycznej. *Postępy Hig Med Dosw (online)*. 2015; 69: 233-42.
- Roca-Rivada A, Castela C, L. Senin I, O. Landrove M, Baltar j, Crujeiras A B et al. FNDC5/Irisin Is Not Only a Myokine but Also an Adipokine *PLOS ONE*. 2013; 8(4): 1-10.
- Sanchis-Gomar F, Garatachea N, He Z, Pareja-Galeano H, Fuku N, Tian Y et al. FNDC5 (irisin) gene and exceptional longevity: a functional replication study with rs16835198 and rs726344 SNPs. *Age*. 2014; 36: 9733.
- Elsen M, Raschke S, Eckel J. Browning of white fat: does irisin play a role in humans?. *Journal of Endocrinology*. 2014; 222: 25-38.
- Srivastava N. ATP binding cassette transporter A1 - key roles in cellular lipid transport and atherosclerosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2002; 237:155-64.
- Lally J.S, Ford R.J, Johar J, Crane J.D, Kemp B.E, Steinberg G.R. Skeletal muscle AMPK is essential for the maintenance of FNDC5 expression. *Physiological Reports*. 2015; 3 (5): 12343-52.
- Pekkala S, Wiklund P, Hulmi J, Ahtiainen J, Horttanainen M, Pollanen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health?. *J Physiol*. 2013; 591 (21): 5393-400.
- Ghanbari-Niaki A, Ghanbari-Abarghooi S, Rahbarizadeh F, Zare-Kookandeh N, Gholizadeh M, Roudbari F et al. Heart ABCA1 and PPAR- α Genes Expression Responses in Male rats: Effects of High Intensity Treadmill Running Training and Aqueous Extraction of Black Crataegus-Pentagyna. *Research in Cardiovascular Medicine*. 2013; 1 (5): 153-59.

Archive of SID

The Effect of Progressive Resistance and Endurance Training on Gastrocnemius Muscle's FNDC5 Gene Expression in Male Rats

Mohammad Hosseinzadeh¹, Amir Rashidlamir^{2*}, Seyed Mahmud Hejazi³

1. Department of Physical Education, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran
2. Department of Physical Education, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3. Department of Physical Education, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Abstract

Background and Objectives Fibronectin transmembrane type III domain-containing protein 5 (FNDC5) is a characteristic factor in distinguishing skeletal muscle cells. Since the productive effects of regular exercise are conveyed through the skeletal muscle, this study aims to compare the effects of progressive endurance and resistance training on FNDC5 gene expression in male rats' gastrocnemius muscles.

Materials & Methods Fifteen male rats were randomly assigned to three equal groups of control, endurance training and resistance training. The endurance group performed eight weeks of training on the treadmill. The resistance group did their exercises for eight weeks on a three-session-per-week basis on a one-meter-high ladder with 85° slope. All subjects were anesthetized 72 hours after the experiment finished and the gastrocnemius removed. The level of FNDC5 expression was measured through real-time PCR method and one-way ANOVA applied to analyze the data. Level of significance was set to $p \leq 0.05$.

Results One-way ANOVA showed a significant difference in FNDC5 expression among the groups ($p=0.001$, $F=31.791$). A subsequent Tukey test application showed FNDC5 gene expression of the gastrocnemius muscle was significantly higher in the resistance and endurance training groups than in the control group ($p<0.001$ and $p<0.001$, respectively). No significant difference was detected between the two groups in FNDC5 gene expression, though ($p=0.999$).

Conclusion The findings of the present study revealed that progressive endurance and resistance trainings can increase the level of FNDC5 gene expression in the skeletal muscle. Moreover, it seems plausible that resistance and endurance training has a similar effect in this regard.

Received: 2017/10/22

Accepted: 2018/01/07

Keywords: endurance training, FNDC5, resistance training