Physiology and Pharmacology, 17 (2), 185-193

Summer 2013 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of progressive resistance exercise on β1 integrin and vinculin protein levels in slow-and fast-twitch skeletal muscles of male rats

Maryam Nourshahi[1*], Samane Koneshlou[1], Reza Gharakhanlou[2], Mehdi Hedayati[3], Tohid Hemmatzade[1]

1. Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
2. Dept. of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Cellular & Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 27 Nov 2012 **Accepted: 20 Apr 2013**

Abstract

Introduction: Skeletal muscle is a flexible and ever changing tissue and the role of costameric proteins in its response to different stimuli is not well defined. The aim of this study was to investigate the effect of progressive resistance exercise on β1 integrin and vinculin proteins in fast and slow twitch skeletal muscles of male rats.

Methods: Twelve male Wistar rats (weight: 298±5.2 gr; age: 3 months) were randomly assigned into trained (n=6) and control (n=6) groups after a period of two weeks of inhabitation. In the beginning of the third week, progressive-resistance exercise protocol (to climb up of one meter ladder, 3 sets, 10 repetitions in each set, at 50%, 75%, and 100% of their own body weight) was performed. The control group did not perform any exercise activity. Twelve hours after the last session of acute exercise, rats (control and trained) were sacrificed and their slow-and fast-twitch muscles) Soleus and Flexor hallucis longus) were collected. An ELISA assay was used to determine alterations occurred in the levels of β1 integrin and vinculin proteins. Statistical analyses were made with independent t tests.

Results: The results showed that there was no significant change in β1 integrin levels of fast-twitch muscle and vinculin levels of slow-and fast-twitch muscles ($p \geq 0.05$). However, a significant change was detected in β1 integrin level in the slow-twitch muscle ($p \leq 0.05$).

Conclusion: Since that costameric proteins contribute to the maintenance of the structure and stability of muscles and also have a role in the cell signaling, therefore, resistance exercise can be an effective stimulus in improving slow-twitch muscles for stabilization of the muscle structure.

Key words: β1Integrin, Vinculin, Resistance Exercise, Rat, Fiber Types

[*] Corresponding author e-mail: m-nourshahi@sbu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۷ (۲)، ۱۸۵ - ۱۹۳
تابستان ۱۳۹۲

فیزیولوژی و فارماکولوژی

تأثیر فعالیت مقاومتی فزاینده بر میزان پروتئین اینتگرین β1 و وینکولین در عضله کند و تند تنش موش‌های صحرایی نر

مریم نورشاهی[1*]، سمانه کنشلو[1]، رضا قراخانلو[2]، مهدی هدایتی[3]، توحید همت زاده بدولی[1]
۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۳. مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

دریافت: ۷ آذر ۹۱ پذیرش: ۳۱ فروردین ۹۲

چکیده

مقدمه: عضله اسکلتی بافت تغییرپذیر می‌باشد که نقش پروتئین‌های کاستامریک در پاسخ‌های مختلف عضله اسکلتی به خوبی مشخص نشده است. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر فعالیت مقاومتی فزاینده بر میزان پروتئین اینتگرین β1 و وینکولین در عضله کند و تند تنش موش‌های صحرایی نر بود.

روش ها: ۱۲ سر موش نر صحرایی پس از دوره آشناسازی، به صورت تصادفی به دو گروه کنترل (n=۶) و فعالیت (n=۶) تقسیم شدند. گروه فعالیت، پروتکل مقاومتی، بالارفتن از نردبان ۱ متری با وزنه‌هایی (۵۰٪، ۷۵٪ و ۱۰۰٪ وزن بدن خود موش) که به دم آن‌ها آویزان بود، را اجرا کردند. گروه کنترل در آزمایشگاه و در مجاورت گروه فعالیت، بدون انجام ورزش نگهداری شدند. ۱۲ساعت پس از برنامه تمرینی، موش‌های گروه تمرین به همراه گروه کنترل تشریح شدند و عضله کند و تند تنش به ترتیب نعلی (Soleus) و خم کننده بلند شست (Flexor hallucis longus)، خارج گردیدند. به منظور سنجش تغییرات پروتئین اینتگرین β1 و وینکولین از روش الایزا و جهت تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از آزمون T مستقل، استفاده شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که بین گروه کنترل و فعالیت در میزان اینتگرین β1 در بافت عضله تند تنش، و میزان وینکولین در عضله تند و کند تنش، تفاوت معناداری ($P \geq ۰/۰۵$) وجود ندارد. اما این تفاوت در میزان اینتگرین β1 عضله کند تنش معنادار ($P \leq ۰/۰۵$) گزارش شد.

نتیجه گیری: از آن جایی که پروتئین‌های کاستامریک در حفظ ساختار و ثبات عضله درگیر هستند و همچنین در انتقال پیام نقش دارند، احتمالاً فعالیت مقاومتی می‌تواند محرک خوبی جهت تقویت عضلات کند تنش، به منظور تثبیت ساختار عضله باشد.

واژه‌های کلیدی: اینتگرین، وینکولین، فعالیت مقاومتی، موش صحرایی، نوع تار عضلانی

مقدمه

عضله اسکلتی بافتی سازگار و تغییرپذیر [۱۸] با قابلیت ارتجاعی بالا است. تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در این بافت متناسب با نوع محرک به کار گرفته شده ایجاد می‌شوند [۲۰]. یکی از این محرک‌ها تمرینات مقاومتی می‌باشد [۱۵].

تمرینات مقاومتی دارای پاسخ‌های فیزیولوژیکی و عملکردی متعدد و متنوعی می‌باشند [۱۷]. پاسخ به این تمرین‌ها حاصل تأثیرات جمع شونده‌ی هر جلسه فعالیت کوتاه مدت می‌باشد. به طوری که نشان داده شده است یک جلسه فعالیت کوتاه مدت شدید می‌تواند منجر به تغییر در سطح پایه پروتئین‌های ویژه و ایجاد آستانه‌ی عملکردی جدید گردد [۹]، که میزان این تغییرات به شدت، مدت و حجم تمرین [۱۴] و

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: m-nourshahi@sbu.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

در نهایت نوع تار بـه کـار گرفتـه شـده بسـتگی دارد [۱۵]. در همین راستا نشان داده شده است که تارهای عضلانی مختلف در پاسخ به یک محرک یکسان، پاسخ‌های کـاملاً متفـاوتی را نشان می‌دهند [۱۴]. یکی از این تفاوت‌ها، در پاسخ بـه سـنتز پروتئین می‌باشد [۲۷]. سنتز پروتئین در پی فرآینـدهای پیـام-رسانی مختلفی رخ می‌دهد. بـا انقبـاض عضـلانی، پیـام‌هـای مکانیکی، منجر بـه یـک سلسـله وقـایع مولکـولی در سـلول عضلانی می‌گردند که شامل تنظیم افزایشی پیـام‌رسـان‌هـای اولیه و ثانویه است [۵]. مهم‌ترین پیام‌رسان‌های اولیـه شـامل: جریان کلسیم[1]، پتانسیل ردوکس[2]، پتانسیل فسفوریلاسـیون[3] و اینتگرین[4] می‌باشند [۲، ۹].

اینتگرین نوعی گیرنده کاستامری گلیکوپروتئینی است کـه در عرض غشاء سلولی قرار دارد و ماتریکس خارج سلولی را به اسکلت داخل سـلولی متصـل و مهـاجرت سـلول را وسـاطت می‌کنـد [۱۳، ۱۹]. خـانواده‌ی اینتگـرین از حـداقل ۲۵ عضـو تشکیل شـده اسـت کـه مشـتقات اینتگـرین β1 بـزرگ‌تـرین زیرمجموعه‌ی اینتگرین را تشکیل مـی‌دهنـد [۱۳، ۲۵]. اکثـر مشتقات اینتگـرین β1 در عضـله اسـکلتی بـه دسـته‌هـایی از فیلامان‌های اکتین متصل می‌گردند [۱]. بنابراین پاسخ حاصل از فعالیت مقاومتی به عنوان یک محرک از طریق اینتگرین به داخل عضله انتقال می‌یابـد [۹، ۱۵، ۲۶]، و در نهایـت موجـب سنتز پروتئین می‌شود [۹]. لذا نقش اینتگرین به عنـوان نقطـه شروع یک واسطه پیام‌رسانی [۲۳] و نقش سایر پـروتئین‌هـای منطقه چسبنده مانند وینکولین[5] به عنوان انتقال دهنـده پیـام-های مکانیکی حیاتی است [۳۰].

وینکولین از پروتئین‌هـای اسـکلت سـلولی مـی‌باشـد کـه متصل به اکتین است. این پـروتئین ۱۱۶ کیلـو دالتـون وزن و ۱۰۶۶ اسید آمینـه دارد کـه بـر روی سـطح سیتوپلاسـمی بـه واسطه‌ی اینتگرین به ماتریکس خارج سـلولی و بـه واسـطه‌ی کادهرین با اتصالات سـلول–سـلول ارتبـاط دارد [۱۰، ۶، ۳۱]. وینکولین از یک طرف به f اکتین و به شکل طولی به تالین و اکتین متصل می‌گردد [۳۱]. این پروتئین احتمالاً بخـش‌هـای چسبان ماتریکس را از طریق انتقال فشار مکانیکی کـه سـبب تغییر اسکلت سلولی می‌شود، تثبیت می‌کند [۳۰].

در همین راستا، گالانت[6] و همکـاران (۲۰۰۵) در تحقیقـی فراخوانی وینکولین در تقویت چسبندگی سلول را مورد مطالعـه قرار دادند [۱۶]. واو[7] و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند با افزایش سن، توده عضلانی و قدرت کاهش می‌یابد، بنابراین عملکرد و ساختار عضله تحت تأثیر قرار می‌گیرد، به طوری که بیان زیـر واحدهای اینتگرین، دیستروفین و سایر پروتئین‌های مرتبط بـا آن نظیر وینکولین و تالین دچار تغییر می‌شوند [۲۸]. همچنـین بوپارت[8] و همکاران (۲۰۰۸) به مطالعه اثر تمرینات اکسنتریک بر میزان اینتگرین α7β1 پرداختند، که نتـایج آنـان نشـان داد میزان اینتگرین α7β1 پس از دویـدن در سـرازیری، افـزایش یافت [۳].

همچنین محققان نشان دادند، اینتگـرین و وینکـولین، بـا همکاری یکدیگر انواع بسیاری از پاسخ‌های سلولی را تحریک می‌کنند و به عنوان تثبیت‌گر ساختمان عضله، نقش مهمـی را ایفا می‌کنند [۱۱، ۱۲]. از طرفی اینتگرین به عنوان پیام رسان اولیه و وینکولین جهت انتقال پیام، به کشش مکانیکی حساس می‌باشند [۳۲]. با توجه به این ویژگی فرضیه پژوهش بـر ایـن است که به‌دنبال تمـرین مقـاومتی بـه‌عنـوان محرکـی بـرای کشش مکانیکی، میزان این پروتئین‌ها تغییر یابد. همچنین بـه دلیل ویژگی متفاوت عضلات تنـد و کنـد تـنش در پاسـخ بـه تمرینات مختلف [۲۹]، به نظـر مـی‌رسـد میـزان تغییـرات در پروتئین‌های اینتگرین و وینکولین در پاسخ به فعالیت مقاومتی با توجه به نـوع عضـله، متفـاوت باشـند. از آن‌جـا کـه بیشـتر تحقیقات انجام شده در زمینه اینتگرین جنبه و پزشکی داشته و در رابطه با پاسـخ پـروتئین‌هـای اینتگـرین β1 و وینکـولین نسبت به فعالیت مقاومتی در عضلات نـوع کنـد و تنـد تـنش تحقیقی انجام نشده است، بنـابراین هـدف از پـژوهش حاضـر بررسی تأثیر فعالیت مقاومتی فزاینده بر میـزان پـروتئین‌هـای اینتگرین β1 و وینکولین در عضله تند و کند تنش مـوش‌هـای

1. Calcium Flux
2. Redox potential
3. Phosphorylation potential
4. Integrin
5. Vinculin
6. Gallant
7. Wu
8. Boppart

صحرایی نر می‌باشد. نتایج این تحقیق نه تنها از لحاظ نظری اطلاعات با ارزشی را در اختیار پژوهشگران قرار می‌دهد، بلکه از جنبه کاربردی نیز یکی دیگر از تاثیرات فعالیت مقاومتی را در سطح سلولی نشان می‌دهد.

مواد و روش ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی- بنیادی بود. بدین منظور ۱۲ موش صحرایی نر سالم از نژاد ویستار (خریداری شده از مرکز انستیتو پاستور ایران) با میانگین وزنی ۵/۲ ±۲۹۸ (گرم) تهیه شدند. موش‌های صحرایی در قفس‌های ویژه از جنس پلی- کربنات شفاف و در محیطی با میانگین دما ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت بین ۳۰ تا ۷۰ ٪ و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش صحرایی، نگهداری شدند. تمام آزمایش‌های صورت گرفته بر اساس دستورالعمل کمیته‌ی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید بهشتی طراحی گردید. پس از یک هفته قرار گرفتن موش‌های صحرایی در محیط، در هفته دوم با نردبان مقاومتی آشنا شدند. دوره آشناسازی با دستگاه، سه جلسه در هفته و در هر جلسه، به مدت ۴۵ دقیقه انجام گرفت. سپس موش‌های صحرایی در پایان دوره آشناسازی، به صورت تصادفی در دو گروه فعالیت (۶=تعداد) و کنترل (۶=تعداد) تقسیم بندی شدند. وزنه‌هایی معادل با ۵۰٪، ۷۵٪ و ۱۰۰٪ وزن بدن هر کدام از موش‌های صحرایی تهیه شد. به منظور حذف تأثیر دوره آشناسازی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه، حیوانات فعالیت مقاومتی فزاینده، شامل بالارفتن از نردبان مقاومتی (به ارتفاع ۱ متر، دارای ۲۶ پله و زاویه ۸۵ درجه که در قسمت فوقانی، محفظه ای جهت استراحت قرار داده شده بود) را آغاز کردند. در مطالعات قبلی بالا رفتن از نردبان به عنوان شیوه‌ی کارمدی از تمرینات مقاومتی معرفی شده است که منجر به سنتز پروتئین می‌شود [۲۳]. پروتکل فعالیت مقاومتی فزاینده شامل سه ست، در هر ست، سه تکرار بود. به‌صورتی که، استراحت بین ست‌ها ۳ دقیقه و استراحت بین تکرارها ۱ دقیقه تنظیم شده بود. همچنین حیوانات در ست اول، دوم و سوم به ترتیب وزنه‌هایی معادل ۵۰٪، ۷۵٪ و ۱۰۰٪ وزن بدن خود را حمل می‌کردند. حمل وزنه‌ها به وسیله اتصال یک کیسه پارچه‌ای با چسب لکوپلاست به دو سوم انتهای فوقانی دم موش‌های صحرایی انجام می‌گرفت. به منظور تحریک آزمودنی‌ها در صورت نیاز از لمس دم آن‌ها استفاده می‌شد. آزمودنی‌ها ۱۲ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی فعالیت با ترکیبی از کتامین (۵۰-۳۰ میلی گرم در کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی گرم در کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. سپس برای اطمینان از کمترین آزار به حیوان، بلافاصله از قلب موش‌ها به‌طور مستقیم خون‌گیری به عمل آمد. برای استخراج عضلات نعلی (Soleus) و خم کننده بلند شست (FHL[1])، تحت شرایط استریل از طریق شکاف بر روی ناحیه پشتی جانبی، اندام تحتانی جدا شد. بافت‌های مورد نظر، بلافاصله در مایع نیتروژن (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) منجمد و ضمن انتقال به آزمایشگاه تا زمان اجرای اندازه گیری در دمای ۷۰- نگهداری شدند.

برای آماده سازی نمونه‌ها جهت سنجش پروتئین، ابتدا بافت‌های فریز شده به برش‌های کوچک به وزن ۱۰میلی گرم تقسیم شدند. قسمت تاندون عضله به جهت اینکه قابلیت لیز شدن را نداشت از بافت جدا شد. سپس متناسب با وزن نمونه، محلول آنتی پروتئاز با آن ترکیب شد. جهت لیز کردن بافت‌ها از دستگاه سونیکاتور، ابتدا با دور کند و سپس با دور تند استفاده شد. پس از سونیکه و هوموژن شدن بافت، از سوپرناتات حاصل از سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه ۱۰،۰۰۰ دور در دقیقه) به منظور سنجش پروتئین‌های اینتگرین β1 و وینکولین به روش الآیزا استفاده شد. کیت‌های الآیزا مربوط به اینتگرین β1 و وینکولین مخصوص موش صحرایی، ساخت کمپانی کاسابیو ژاپن با حساسیت‌های به ترتیب ۰/۸ و ۳/۷ پیکوگرم در میلی لیتر بودند. روش سنجش پروتئین‌های مذکور بر اساس دستورالعمل کمپانی سازنده بود. به‌طور خلاصه در مورد وینکولین ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های مجهول و محلول-های استاندارد به چاهک‌های مربوطه اضافه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر کنژوگه آنتی‌بادی بیوتین به همه چاهک‌ها افزوده و یک ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شد. در مرحله بعد ابتدا ۳ مرتبه تمامی چاهک‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر محلول شستشو، شسته شد و پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر کنژوگه آویدین آنزیم نیم

1. Flexor Hallucis Longus

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) تغییرات پروتئین اینتگرین (پیکوگرم بر گرم) و وینکولین (پیکوگرم بر گرم) در عضلات خم کننده بلند شست و نعلی، در گروه‌های فعالیت و کنترل

Interaction	variable	FHL	Soleus
Exercise	Integrin	77.6±11.1	43±18.8 *
	Vinculin	17.6±0.5	16±1.2
Control	Integrin	68.3±13.2	81.1±7.9
	Vinculin	17±1.3	19±2.8

* تفاوت معنی دار (P≤۰/۰۵) با گروه کنترل

ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید. مجدداً ۳ مرتبه شستشو و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا به تمامی چاهک‌ها افزوده و پس از انکوباسیون ۱۵ دقیقه به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده افزوده شد و جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد.

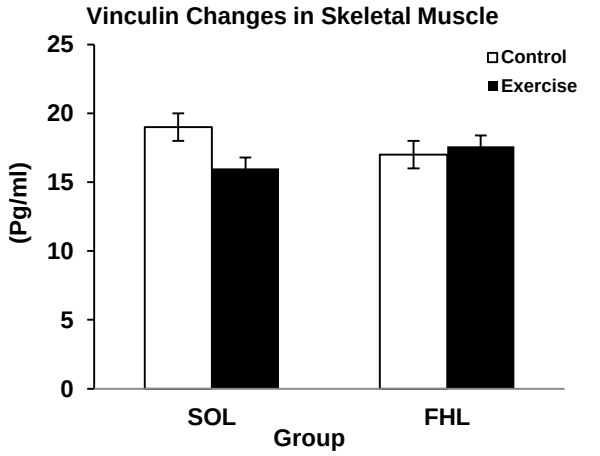
در خصوص سنجش اینتگرین β1، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های مجهول و محلول‌های استاندارد به چاهک‌های مربوطه اضافه و ۲ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس بدون شستشو ۱۰۰ میکرولیتر کنژوگه آنتی‌بادی بیوتین به همه چاهک‌ها افزوده و یک ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شد. در مرحله بعد ابتدا ۳ مرتبه تمامی چاهک‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر محلول شستشو، شسته شد و پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر کنژوگه آویدین آنزیم یک ساعت در دمای ۳۷ انکوبه گردید. مجدداً ۳ مرتبه شستشو و بعد ۹۰ میکرولیتر محلول سوبسترا به تمامی چاهک‌ها افزوده و پس از انکوباسیون ۱۵ دقیقه به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده افزوده شد و جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد.

سپس با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (K-S)، نرمال بودن توزیع داده‌ها نشان داده شد. سپس داده‌های حاصل از این مطالعه بر اساس میانگین و انحراف استاندارد دسته بندی و توصیف شدند. به منظور بررسی میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده، از آزمون T مستقل استفاده شد. آزمون آماری با استفاده از نسخه ۱۶ نرم افزار SPSS اجرا شد.

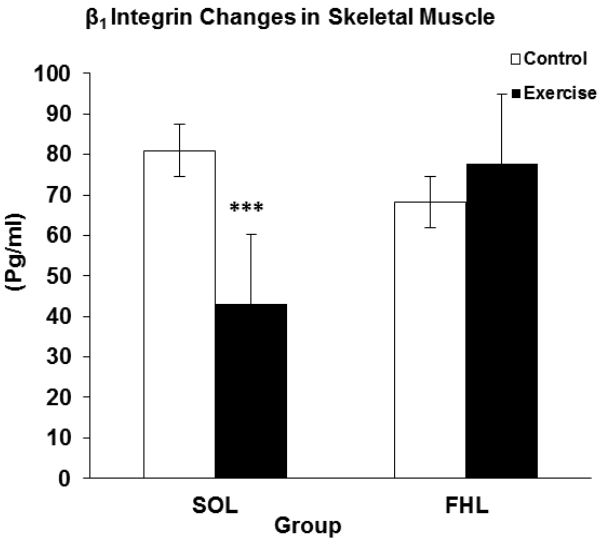
یافته ها

میانگین و انحراف معیار وزن بدن گروه‌های کنترل (۲۹۸±۴/۷ گرم) و فعالیت (۲۹۸±۶/۲ گرم) بود. در جدول (۱) میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین اینتگرین و وینکولین، در عضلات FHL و نعلی، در گروه‌های فعالیت و کنترل دیده می‌شود.

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد، بین میزان اینتگرین (P=۰/۰۰۹ و t= -۳/۷) و وینکولین (P=۰/۰۳ و t= -۲/۵) در



شکل ۱- تغییرات وینکولین در عضله تند (FHL) و کند (SOL)



شکل ۲- تغییرات وینکولین در عضله تند (FHL) و کند (SOL) *** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

عضله تند و کند تفاوت معنی داری وجود دارد. میزان اینتگرین و وینکولین در عضله کند بیش‌تر از عضله تند است.

همچنین نتایج تحقیق نشان داد یک جلسه فعالیت مقاومتی فزاینده تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین وینکولین در عضله تند (P=۰/۱۸ و t= −۱/۳۰۴) و کند تنش (P=۰/۰۶ و t= −۲/۰۳۶) نداشت. تغییرات وینکولین در عضلات تند تنش (FHL) و کند تنش (SOL) در نمودار (۱) نشان داده شده است. میزان وینکولین در عضله تند، افزایش و در عضله کند، کاهش یافت، که این کاهش بسیار نزدیک به معنی‌داری بود.

نمودار (۲) میزان تغییرات پروتئین اینتگرین را در گروه فعالیت و کنترل نشان می‌دهد. نتایج نشان داد در عضله تند (FHL) میزان پروتئین اینتگرین افزایش پیدا کرد ولی این افزایش معنی‌دار نبود (P=۰/۲۲ و t= −۱/۳۰۴). میزان پروتئین اینتگرین در عضله کند (SOL) کاهش معنی‌داری را نشان داد (p=۰/۰۰۱ و t= −۴/۵۵).

بحث

در مطالعه حاضر، تأثیر مقاومتی بر میزان پروتئین‌های اینتگرین و وینکولین در بافت عضله کند و تند تنش در موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت. یافته‌های تحقیق افزایش ۱۳/۶٪ پروتئین اینتگرین β1 و افزایش ۳/۵٪ پروتئین وینکولین را در عضله تند (FHL) گروه فعالیت مقاومتی فزاینده نسبت به گروه کنترل نشان دادند، اما این افزایش معنی‌دار نبود. پژوهش‌های متعددی بر ساختار و عملکرد پروتئین‌های اینتگرین و وینکولین صورت گرفته است [۱، ۲۳، ۲۵، ۲۶]. اما تحقیقاتی که تغییر این پروتئین‌ها را در اثر فعالیت مقاومتی نشان داده باشند، مشاهده نمی‌شود. این پروتئین‌ها بیشتر نقش حفاظت از عضله را به عهده دارند، بنابراین در زمانی که عضله تحت فشار و یا آسیب قرار گیرد، میزان این پروتئین‌ها افزایش می‌یابد [۷]. در این راستا، فلاک[1] و همکاران (۲۰۰۲) افزایش معنی‌داری در بیان پروتئین‌های اسکلت سلولی مانند اینتگرین، در اثر آسیب ناشی از ورزش یا انقباض عضلانی گزارش کردند و به نقش این مولکول‌ها در تثبیت تارچه‌ها و استحکام سلول اشاره نمودند [۱۵]. چوپارد[2] و همکاران (۲۰۰۲) نیز در پژوهشی به منظور بررسی تغییرات میزان پروتئین وینکولین در دو عضله کند تنش (نعلی) و تند تنش (EDL[3]) در اثر تعلیق اندام خلفی، موش‌ها را به دو گروه تجربی (گروه سه هفته و گروه شش هفته معلق) و یک گروه کنترل تقسیم نمودند. نتایج کاهش معناداری در حجم هر دو عضله، و عدم تغییر در مجموع غلظت پروتئین‌ها در هر دو گروه تجربی نسبت به گروه کنترل نشان داد. با این حال میزان نسبی وینکولین در عضله تند تنش (EDL) پس از سه هفته بی‌حرکتی افزایش معناداری یافت و پس از سه هفته دیگر، در مقایسه با هفته سوم افزایش بیشتری را نشان داد. در عضله نعلی پس از ۳ هفته تغییرات نسبتاً کم بوده ولی در هفته ششم افزایش معناداری مشاهده شد. محققان نتیجه گرفتند بیان وینکولین با فشار مکانیکی تحمیل شده بر عضلات در ارتباط است [۹]. نتیجه پژوهش چوپارد برخلاف پژوهش حاضر می‌باشد. در پژوهش چوپارد زمان اندازه‌گیری سنتز پروتئین متفاوت از پژوهش حاضر است، همچنین در پژوهش ایشان، به منظور سنجش تغییرات این پروتئین‌ها از تعلیق اندام استفاده شد، درحالی‌که الگوی فعالیت مقاومتی در تحقیق حاضر، به عنوان یک محرک می‌تواند اثر متفاوتی بر ساختمان عضله و سنتز پروتئین،بسته به میزان پروتئین در هر یک از عضلات داشته باشد [۲۳]. انجام هر نوع فعالیت ورزشی، منجر به پاسخ‌های مختلفی در درون سلول و ساختمان عضله می‌شود [۶] که این پاسخ‌ها با توجه به الگوی تمرین در هر یک از عضلات نوع تند و کند، متفاوت می‌باشد [۹]. پژوهش‌ها نشان داده‌اند، بین پروتئین‌های اسکلت سلولی در عضله تند و کند تفاوت وجود دارد [۷، ۹، ۲۰]، که این تفاوت ناشی از اختلاف در فشار مکانیکی وارد بر هر یک از انواع عضلات در حالت استراحت یا فعالیت ورزشی و در واقع به دلیل عملکرد مختلف این عضلات می‌باشد [۷، ۳۶]. از این رو، تحقیقات نشان داده‌اند حجم پروتئین‌های اسکلت سلولی در عضله کند تنش بیشتر از عضله تند تنش می‌باشد. در این

1. Flück
2. Chopard
3. Extensor Digitorum Longus

راستا گومرسون[1] و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند، بیان ژنی اینتگرین β1 در عضله کند (نعلی) بیشتر از عضله تند (باز کننده انگشتان پا و دوقلو) بوده است، که احتمالاً نقش مهمی را در انقباضات آسیب زا دارد [۲۰]. چوپارد و همکاران (۲۰۰۲) نیز میزان وینکولین را در عضله کند تنش، چهار برابر بیشتر از محتوای آن در عضله تند عنوان کردند [۹]. بنابراین به نظر می‌رسد عدم تغییر معنی‌دار در عضلات تند به دلیل حجم کمتر این پروتئین‌ها و فراخوانی کمتر عضلات تند نسبت به عضلات کند با توجه به الگوی تمرین مقاومتی در این پژوهش می‌باشد.

یافته‌های دیگر پژوهش حاضر نشان داد، در عضله کند تنش (نعلی) پروتئین وینکولین در گروه فعالیت کاهش ۱۶٪ را نسبت به گروه کنترل دارد که این کاهش بسیار نزدیک به سطح معناداری (p=۰/۰۶) بود. در پروتئین اینتگرین نیز کاهش معنی‌دار ۴۷٪ بین گروه فعالیت و کنترل مشاهده شد. در این راستا، فرنت[2] (۲۰۰۰) نشان داد در پی انقباض اکسنتریک محتوی وینکولین در عضله کند تنش بعد از ۰، ۳ و ۷ روز کاهش پیدا می‌کند، سپس بعد از ۸ روز شروع به افزایش می‌کند و در عضله تند نیز این افزایش وجود دارد و حتی تا ۲۸ روز بعد این تغییرات معنی‌دار می‌باشد. ارزیابی‌های هیستولوژیک نشان دادند، به دلیل انجام تمرینات اکسنتریک، آسیب بافت در اتصالات میوتاندونی (جایی که وینکولین در آن متمرکز می‌باشد) در هر دو عضله صورت گرفته بود [۱۷]. نتایج فرنت بر خلاف پژوهش حاضر است. فرنت در تحقیق خود از تحریک الکتریکی استفاده کرده است و تاکید می‌کند علت افزایش سنتز در عضله تند به دلیل آسیب بیشتری می‌باشد که به واسطه تحریک الکتریکی بر آن وارد شده است. همچنین بوپارت و همکاران (۲۰۰۸) به مطالعه اثر فعالیت اکسنتریک بر میزان بیان ژن اینتگرین α7β1 پرداختند. در این پژوهش، پاسخ‌های متفاوت اینتگرین در ۳ و ۲۴ ساعت تا یک هفته بعد از یک جلسه تمرین اکسنتریک بررسی شد. یافته‌ها افزایش در بیان ژن اینتگرین، تنها پس از سه ساعت فعالیت، در تار کند را معنی‌دار نشان داد. پژوهشگران عنوان کردند افزایش اینتگرین پس از دویدن در سرازیری، از فسفوریلاسیون مولکول‌هایی که باعث تخریب عضلانی و همچنین فعال شدن AMPK[3] می‌شود، جلوگیری می‌نماید [۳]. لوئدرز[4] و همکاران (۲۰۱۱) نیز در یک جلسه فعالیت اکسنتریک نشان دادند که اینتگرین به عنوان گیرنده مکانیکی در پاسخ به آسیب عضله، رشد سلولی را آغاز می‌کند [۲۷].

سنتز و تجزیه پروتئین به دنبال اضافه‌بار مقاومتی در عضله افزایش می‌یابد و برای چند روز تداوم می‌یابند [۲۹] [۲۲]. پروتئین‌های کاستامریک، همچون اینتگرین و وینکولین به فشارهای مکانیکی خارج و داخل سلولی، نظیر کشش و انقباض پاسخ می‌دهند [۳۰]. پاسخ این پروتئین‌ها با فعال شدن ناحیه چسبنده همراه بوده که برای تثبیت ساختار سلولی و انتقال سیگنال‌ها در این ناحیه ضروری می‌باشد. ناحیه چسبنده بخشی از سیتوپلاسم سلول است که با تحریک اینتگرین‌ها تشکیل و منجر به سنتز پروتئین‌های موجود در این ناحیه به ویژه اینتگرین و وینکولین می‌گردد [۴۰]. از طرفی پاسخ به سنتز پروتئین پس از فعالیت مقاومتی از سه ساعت پس از تمرین شروع می‌شود و تا ۲۴ بعد از آن هم مشاهده می‌شود [۲۲، ۲۹]. به نظر می‌رسد به‌دلیل حجم بیشتر این پروتئین‌ها در عضلات کند و احتمالاً آسیب وارد شده به آن به واسطه فشار مکانیکی وابسته به فعالیت مقاومتی، بازسازی ناشی از کشش با تأخیر بیشتری انجام می‌شود.

با توجه به نقش اینتگرین در حفظ ساختار عضله، به‌طور کلی یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد، در عضله (FHL) تفاوت معنی‌داری بین گروه فعالیت و کنترل مشاهده نشد. که این یافته در راستای فرض پژوهش نمی‌باشد و احتمالاً به دلیل فراخوانی و حجم کمتر پروتئین‌های اینتگرین و وینکولین در آن می‌باشد.

اما به نظر می‌رسد، در عضله نعلی فعالیت مقاومتی با این الگو می‌تواند محرک خوبی جهت حفظ ساختار در عضلات کند تنش باشد، زیرا در این عضله بعد از کاهش پروتئین اینتگرین به دلیل آسیب، احتمالاً افزایش در آن مشاهده خواهد شد، که این تغییر در راستای فرض پژوهش است. با این حال،

1. Gumerson
2. Frenette
3. Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase
4. Lueders

به‌دلیل محدودیت در زمان اندازه‌گیری احتیاج به تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌باشد. البته مکانیسم تحریک این پروتئین‌ها بیشتر در اثر تمرینات اکسنتریک یا در اثر آسیب عضلانی می‌باشد. بنابراین سنتز این پروتئین‌ها بیش‌تر نقش محافظتی و جبرانی دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از جناب آقای دکتر جواد نعمتی، سرکار خانم دکتر ملانوری و جناب آقای مصطفی بارانچی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی را ابراز می‌داریم.

References

[1] Albert's B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, ***Molecular Biology of cell***. Fifth edition, New York: garland science, Taylor & Francis Group, 2008.

[2] Alenghat FJ, Ingber DE, Mechanotransduction: all signals point to cytoskeleton, matrix, and integrins. ***Sci STKE*** 2002 (2002) 6.

[3] Boppart MD, Volker SE, Alexander N, Burkin DJ, Kaufman SJ, Exercise promotes alpha7 integrin gene transcription and protection of skeletal muscle. ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*** 295 (2008) R1623-30.

[4] Burkin DJ, Wallace GQ, Nicol KJ, Kaufman DJ, Kaufman SJ, Enhanced expression of the alpha 7 beta 1 integrin reduces muscular dystrophy and restores viability in dystrophic mice. ***J Cell Biol*** 152 (2001) 1207-18.

[5] Campos GE, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF, Ragg KE, Ratamess NA, Kraemer WJ, Staron RS, Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. ***Eur J Appl Physiol*** 88 (2002) 50-60.

[6] Carisey A, Ballestrem C, Vinculin, an adapter protein in control of cell adhesion signalling. ***Eur J Cell Biol*** 90 (2011) 157-63.

[7] Chopard A, Arrighi N, Carnino A, Marini JF, Changes in dysferlin, proteins from dystrophin glycoprotein complex, costameres, and cytoskeleton in human soleus and vastus lateralis muscles after a long-term bedrest with or without exercise. ***FASEB J*** 90 (2005) 1722-4.

[8] Chopard A, Pons F, Charpiot P, Marini JF, Quantitative analysis of relative protein contents by Western blotting: comparison of three members of the dystrophin-glycoprotein complex in slow and fast rat skeletal muscle. ***Electrophoresis*** 21 (2000) 517-22.

[9] Chopard A, Pons F, Marini JF, Vinculin and meta-vinculin in fast and slow rat skeletal muscle before and after hindlimb suspension. ***Pflugers Arch*** 444 (2002) 627-33.

[10] Coffey VG, Hawley JA, The molecular bases of training adaptation. ***Sports Med*** 37 (2007) 737-63.

[11] Critchley DR, Focal adhesions-the cytoskeletal connection. ***Curr Opin Cell Biol*** 12 (2000) 133-9.

[12] Damsky C, Sutherland A, Fisher S, Extracellular matrix 5: adhesive interactions in early mammalian embryogenesis, implantation, and placentation. ***FASEB J*** 7 (1993) 1320-9.

[13] Ervasti JM, Costameres: the Achilles' heel of Herculean muscle. ***J Biol Chem*** 278 (2003) 13591-4.

[14] Etzioni A, Integrins: the molecular glue of life. ***Hosp Pract (Minneap)*** 35 (2000) 102-8, 111.

[15] Flück M, Ziemiecki A, Billeter R, Müntener M, Fibre-type specific concentration of focal adhesion kinase at the sarcolemma: influence of fibre innervation and regeneration. ***J Exp Biol*** 205 (2002) 2337-48.

[16] Foley G, Muscles and their red and white fibres: effects of exercise and training. Available from: URL: http://www.geraldfoley.co.uk/

[17] Frenette J, Côté CH, Modulation of structural protein content of the myotendinous junction following eccentric contractions. ***Int J Sports Med*** 21 (2000) 313-20.

[18] Fry AC, The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. ***Sports Med*** 34 (2004) 663-79.

[19] Gallant ND, Michael KE, García AJ, Cell adhesion strengthening: contributions of adhesive area, integrin binding, and focal adhesion assembly. ***Mol Biol Cell*** 16 (2005) 4329-40.

[20] Gumerson JD, Kabaeva ZT, Davis CS, Faulkner JA,

Michele DE, Soleus muscle in glycosylation-deficient muscular dystrophy is protected from contraction-induced injury. ***Am J Physiol Cell Physiol***299 (2010) 1430-40.

[21] Hass CJ, Feigenbaum MS, Franklin BA, Prescription of resistance training for healthy populations. ***Sports Med*** 31 (2001) 953-64.

[22] Izquierdo M, Ibáñez J, Häkkinen K, Kraemer WJ, Ruesta M, Gorostiaga EM, Maximal strength and power, muscle mass, endurance and serum hormones in weight lifters and road cyclists. ***J Sports Sci*** 22 (2004) 465-78.

[23] Kayser BD, Godfrey JK, Cunningham RM, Pierce RA, Jaque SV, Sumida KD, Equal BMD after daily or triweekly exercise in growing rats.***Int J Sports Med*** 31 (2010) 44-50.

[24] Lampugnani MG, Bernasconi S, Neri P, Lozzi L, Gavazzi I, Marchisio PC, Dejana E, Role of manganese in MG-63 osteosarcoma cell attachment to fibrinogen and von Willebrand factor. ***Lab Invest*** 65 (1991) 96-103.

[25] Lee S, Farrar RP, Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. ***J Exercise Physiol online*** 6 (2003) 80-87.

[26] Liu J, Burkin DJ, Kaufman SJ, Increasing alpha 7 beta 1-integrin promotes muscle cell proliferation, adhesion, and resistance to apoptosis without changing gene expression. ***Am J Physiol Cell Physiol*** 294 (2008) C627-40.

[27] Lueders TN, Zou K, Huntsman HD, Meador B, Mahmassani Z, Abel M, Valero MC, Huey KA, Boppart MD, The α7β1-integrin accelerates fiber hypertrophy and myogenesis following a single bout of eccentric exercise. ***Am J Physiol Cell Physiol*** 301 (2011) 938-46.

[28] MacDougall JD, Tarnopolsky MA, Chesley A, Atkinson SA, Changes in muscle protein synthesis following heavy resistance exercise in humans: a pilot study. ***Acta Physiol Scand*** 146 (1992) 403-4.

[29] Parnow A, Gorginkaraji Z, Gharkhanlou R, Rjabi S, Effect of 10 week training on nicotinic acetycholine receptor rate in fast and slow skeletal muscles of rat. ***J Shahid Sadoughi Uni Med Sci*** 20 (2012) 201-10.

[30] Rottner K, Hall A, Small JV, Interplay between Rac and Rho in the control of substrate contact dynamics. ***Curr Biol*** 9 (1999) 640-8.

[31] Schmidt S, Friedl P, Interstitial cell migration: integrin-dependent and alternative adhesion mechanisms. ***Cell Tissue Res*** 339 (2010) 83-92.

[32] 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. ***Biochem Biophys Res Commun***59 (1999) 8-14.

[33] Shear CR, Bloch RJ, Vinculin in subsarcolemmal densities in chicken skeletal muscle: localization and relationship to intracellular and extracellular structures. ***J Cell Biol*** 101 (1985) 240-56.

[34] Takagi J, Springer TA, Integrin activation and structural rearrangement. ***Immunol Rev*** 186 (2002) 141-63.

[35] Tihanyi, J. Development of explosive strength according to muscle fibres types. ***Modern Athlete and Coach*** 37 (1999) 12-15.

[36] Wickiewicz TL, Roy RR, Powell PL, Edgerton VR, Muscle architecture of the human lower limb.***Clin Orthop Relat Res***179 (1983) 275-83.

[37] Wiesner S, Legate KR, Fässler R, Integrin-actin interactions. ***Cell Mol Life Sci*** 62 (2005) 1081-99.

[38] Wu M, Fannin J, Rice KM, Wang B, Blough ER, Effect of aging on cellular mechanotransduction. ***Ageing Res Rev*** 10 (2011) 1-15.

[39] Yang Y, Creer A, Jemiolo B, Trappe S, Time course of myogenic and metabolic gene expression in response to acute exercise in human skeletal muscle. ***J Appl Physiol*** 98 (2005) 1745-52.

[40] Zaidel-Bar R, Ballestrem C, Kam Z, Geiger B, Early molecular events in the assembly of matrix adhesions at the leading edge of migrating cells. ***J Cell Sci*** 116 (2003) 4605-13.

[41] Zemljic-Harpf A, Manso AM, Ross RS, Vinculin and talin: focus on the myocardium. ***J Investig Med*** 57 (2009) 849-55.

[42] Ziegler WH, Liddington RC, Critchley DR, The structure and regulation of vinculin. ***Trends Cell Biol*** 16 (2006) 453-60.