

تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵ و CTRP15 در موش های صحرایی نر

الهام وسدی^{۱*}، حامد برزگر^۲

(۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه صنعتی شاهرود، سمنان، ایران

(۲) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۲

چکیده

مقدمه: تأثیر فعالیت ورزشی مناسب بر عوامل مشتق شده از عضلات اسکلتی و اثرشان در تنظیم متابولیسم بدن به تازگی مورد توجه محققین قرار گرفته است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵ و پروتئین پانزدهم مرتبط با C1q/TNF عضلانی در موش های صحرایی نر بالغ است.

مواد و روش ها: در این پژوهش تجربی، ۱۶ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (با سن ۸ هفته و میانگین وزن 213 ± 15 گرم)، در دو گروه ۸ تایی کنترل و تمرین تقسیم بندی شدند. موش های صحرایی گروه تمرین، ۴ هفته و در هر هفته ۵ جلسه تمرین استقامتی که شامل دویدن بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان بود را به مدت ۴۵ دقیقه در راس ساعت مشخصی در طول روز انجام دادند و در همین زمان، گروه کنترل هیچ گونه تمرینی نداشت. ابتدا عضله نعلی هموژن شده و میزان بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵ و CTRP15 با روش Real-time PCR سنجیده شد. سپس از نمونه های خونی جمع آوری شده، سطوح سرمی آیریزین و انسولین به روش الایزا و سطوح گلوکز به روش گلوکز اکسیداز اندازه گیری شدند. داده ها با استفاده از روش آماری t مستقل با $P < 0.05$ تحلیل شدند.

یافته های پژوهش: نتایج پژوهش حاضر نشان داد، مقادیر بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵ و CTRP15 عضلانی پس از تمرین استقامتی، در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری داشت ($P=0.034$, $P=0.048$). همین طور، سطوح آیریزین در گروه تمرین، در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی داری بیشتر بود ($P=0.029$). در حالی که، مقاومت به انسولین پس از ۴ هفته تمرین استقامتی، تفاوت ۲۵ درصدی را به همراه داشت اما این تفاوت معنی دار نبود ($P=0.500$).

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می رسد تمرین استقامتی میان مدت می تواند از طریق افزایش سطوح برخی مایوکاین ها موجب بهبود متابولیسم بدن شود.

واژه های کلیدی: فیبرونکتین III-دامنه ۵، CTRP15، تمرین استقامتی، رت، مقاومت به انسولین

* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه صنعتی شاهرود، سمنان، ایران

Email: e.vosadi@shahroodut.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

به تازگی دانش نوظهوری در زمینه عضلات اسکلتی به عنوان یک ارگان ترشحی در نظر گرفته شده است. انقباض تارهای عضلانی منجر به ترشح انواع مختلف گروه‌های مایوکاین ها می شود؛ که سوخت و ساز بدن، التهاب و فرآیندهای دیگر را تعدیل کنند (۱). فعالیت ورزشی استقامتی، یک ابزار موثر برای بازسازی ذخایر انرژی عضلات اسکلتی، جذب چربی و سوخت و ساز بدن می باشد. با این حال، علاوه بر اثرات مستقیم عضلات اسکلتی بر گلوکز و چربی، محققین درصدد بررسی توانایی عضلات اسکلتی در هماهنگی فعالیت متابولیک، از طریق مایوکاین های جدید هستند (۲). بیان مایوکاین های پروتئین پانزدهم مرتبط با C1q/TNF (CTR15) و فیبرونکتین III-دامنه ۵ به ترتیب با افزایش برداشت اسیدهای چرب از طریق انتقال دهنده های آن ها و از طریق تبدیل سلول های بافت چربی سفید به سلول های چربی قهوه ای بر متابولیسم بدن تاثیر می گذارند و نقش غیرمستقیمی را بر مقاومت به انسولین دارند (۳).

پروتئین پانزدهم مرتبط با C1q/TNF (CTR15) یک مایوکاین جدید، متعلق به خانواده پروتئینی CTRP است (۴). ترشح CTRP15 از میوسیت است و با نام مایونکتین هم نامیده می شود (۵). نقش مایونکتین تا حد زیادی ناشناخته است و عملکرد مایونکتین مرتبط با سوخت و ساز چربی است، و نقش آن کاهش سطح اسیدهای چرب آزاد پلاسما از طریق تحریک برداشت اسید چرب سلول های چربی بالغ و کبدی گزارش شده است. به نظر می رسد، این اثرات با افزایش پروتئین های ناقل، مانند CD36، پروتئین ناقلا اسید چرب (FATP1) و پروتئین متصل به اسید چرب (FABP4) صورت می گیرد (۶). تحریکات انقباضی موجب افزایش این پروتئین های انتقال دهنده در عضلات اسکلتی می شود و تنظیم بیان ژن های (FABP4، FATP1، CD36)، برداشت چربی را افزایش می دهد (۷).

فعالیت ورزشی عاملی تاثیرگذار بر بیان مایونکتین است. سلدین و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهش خود به بررسی تاثیر دو هفته فعالیت ورزشی داوطلبانه بر بیان ژن مایونکتین در رت های ۸ هفته ای نر بالغ پرداختند.

نتایج تحقیق افزایش بیان مایونکتین و سطوح در گردش را به همراه داشت (۲). در حالی که کامینسکی و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تاثیر فعالیت ورزشی کوتاه مدت بر سطوح سرمی مایونکتین پرداختند که نتایج تغییر معنی داری در سطوح سرمی مایونکتین نشان نداد (۸). پیترسون و همکاران (۲۰۱۴) نیز در زمینه تاثیر تمرین بر بیان ژن مایونکتین عضله دیافراگم موش های چاق و لاغر، به این نتیجه دست یافتند که ۹ هفته فعالیت ورزشی هوازی روی ترند میل بیان ژن مایونکتین را در هر دو مدل موش کاهش، اما سطح CTRP15 عضلانی را افزایش می دهد (۲).

بوستروم و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعه خود، پرده از مکانیسم مولکولی جدید Browning (تبدیل چربی سفید به قهوه ای) بر می دارد که بر مبنای آن، سلول های پیش ساز چربی سفید به چربی قهوه ای تبدیل می شوند (۹). تئوری این گروه از دانشمندان، حاکی از شناسایی مایوکاین جدیدی به نام آیریزین است. این مایوکاین سوخت و ساز سیستمیک بدن را با افزایش مصرف انرژی، بهبود می بخشد. یکی از عوامل تاثیرگذار بر سطح آیریزین، فعالیت ورزشی است که باعث تشدید متابولیسم سیستمیک می شود (۱۰). محققین نشان دادند که فعالیت ورزشی، منجر به افزایش بیان PGC-1 α می شود؛ که موجب تحریک ترشح پروتئین غشایی، شاخه فیبرونکتین نوع ۳ حاوی پروتئین ۵ (FNDC5) می شود؛ این پروتئین پس از شکستن در خون ترشح می شود که هورمون آیریزین نام گذاری شده است (۹).

لیفانگ و همکاران (۲۰۱۹)، نشان دادند که ۱۲ هفته فعالیت ورزشی با شدت متوسط، بیان ژن FNDC5 را به شکل معنی داری افزایش داده است (۱۱). نورهیمو همکاران (۲۰۱۴) در پژوهش خود به بررسی آثار ۱۲ هفته فعالیت ورزشی استقامتی (۷۰ درصد اکسیژن مصرفی و به مدت ۴۵ دقیقه در هر جلسه تمرینی) در ۲۶ مرد غیرفعال بر بیان ژن FNDC5 میوسیت پرداختند. نتایج حاکی از، افزایش سطوح FNDC5 mRNA و PGC-1 α و سطوح در گردش آیریزین بود (۱۲). در حالی که پانگ و همکاران (۲۰۱۸)، به بررسی تاثیر دودیدن بر تردمیل مخصوص جوندگان بر سطوح سرمی آیریزین، PGC-1 α و FNDC5 در موش های صحرایی پرداختند

که افزایش معنی داری را در سطوح ایریزین به همراه داشت ولی سطوح FNDC5 افزایش معنی داری نداشت (۱۳).

پژوهش هایی نیز به ارتباط تغییرات سطوح مایونکتین و تاثیر بر مقاومت به انسولین اشاره کرده اند (۲۰۱۴). انسولین با تنظیم ذخیره و مصرف مولکول های سوختی عضلات اسکلتی، کبد و بافت چربی، نقش بسیار مهمی در حفظ تعادل سوخت و ساز انرژی ایفا می کند. فعالیت ورزشی استقامتی می تواند در بهبود تحمل گلوکز، حساسیت انسولین کل بدن و عملکرد انسولین در انتقال گلوکز عضله اسکلتی، نقش داشته باشد (۱۵).

در این زمینه گاماز و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند، که بیان و ترشح مایونکتین احتمالاً متاثر از مقاومت انسولینی است و مایونکتین با تنظیم متابولیسم گلوکز و لیپید می تواند موجب پیشگیری از توسعه مقاومت انسولینی شود (۱۴). در مطالعه ای که پوررنجبر و همکاران (۲۰۱۸) بر زنان با اضافه وزن انجام دادند به بررسی تاثیر هشت هفته فعالیت ورزشی استقامتی بر بیان ژن مایونکتین پرداختند که نتایج حاکی از افزایش معنادار این مایوکاین و کاهش مقاومت به انسولین بود (۱۶).

مطالعات اندکی به بررسی هم زمان تاثیر فعالیت ورزشی بر مقادیر پروتئین پانزدهم مرتبط با C1q/TNF، ایریزین و ژن پیش ساز آن، فیبرونکتین III-دامنه ۵ و ارتباط آن با شاخص مقاومت به انسولین پرداخته اند؛ و ارائه گزارش مناسب در زمینه فعالیت ورزشی بر عوامل موثر بر متابولیسم، ضروری به نظر می رسد. از این رو در این پژوهش، به بررسی تاثیر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن مایونکتین و ایریزین عضلانی و ژن پیش ساز آن، FNDC5 و مقاومت به انسولین، پرداختیم.

مواد و روش ها

این پژوهش با در نظر گرفتن کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت، که طی نامه ای به شماره ۱۴۱/۳۷۰۲۹۹ در جلسه کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه تهران مطرح گردید. در مطالعه تجربی حاضر، ۱۶ سر رت نر نژاد ویستار (با سن ۸ هفته و میانگین وزن 15 ± 213 گرم)، در دو گروه ۸ تایی کنترل و تمرین به

شکل تصادفی تقسیم شدند. رت ها تحت شرایط کنترل شده در دمای 22 ± 3 درجه سانتی گراد و تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد، بدون محدودیت مصرف غذا و آب نگهداری شدند (۱۷).

برای کاهش استرس و آشنایی حیوانات با محیط جدید، رت ها به مدت یک هفته بر روی نوارگردان با سرعت ۸ متر در دقیقه و ۱۰ دقیقه در طول هر روز فعالیت کردند. به دنبال آن گروه تمرین ۴ هفته و در هر هفته ۵ جلسه، تمرین استقامتی که شامل دویدن بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان می باشد را به مدت ۴۵ دقیقه، در راس ساعت مشخصی در طول روز انجام دادند و در همین زمان، گروه کنترل هیچ گونه تمرینی نداشت. پروتکل تمرینی به این شکل بود که در ابتدا اجرا با سرعت ۱۵ متر/دقیقه به مدت ۵ دقیقه/روز صورت گرفت. سپس مدت زمان و سرعت به تدریج با ۲-۳ دقیقه/روز و ۱-۲ متر/دقیقه در هر هفته افزایش یافته، به طوری که در هفته چهارم، حیوانات با سرعت ۲۰ متر/دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه/روز فعالیت کردند (۱۸).

اندازه گیری بیان ژن مایونکتین عضلانی

استخراج RNA و سنتز cDNA پروتکل تمرینی ۴۸ ساعت پیش از نمونه برداری رت ها پایان یافت. عملیات جراحی و آسان کشی در این تحقیق بدین شکل بود که ابتدا حیوانات در دستگاه دسیکاتور حاوی اتر، قرار می گرفتند و بعد از مدت ۲ تا ۳ دقیقه حیوانات بی هوش می شدند و پس از آن عضله نعلی از اندام تحتانی حیوان برداشته و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد. استخراج RNA کل از عضله نعلی با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent به روش دستی و طبق دستور العمل شرکت سازنده انجام شد. بدین صورت که حدود ۵۰ میلی گرم بافت عضله نعلی به صورت جداگانه، جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent به روش هاون کوبی هموژن گردید سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به مخلوط هموژن شده افزوده و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۵ min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۵/۰ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت

۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰ min، ۱۲۰۰۰ g سانتریفوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰۰ μL آب RNase-Free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از Thermo fisher Reverse Transcription و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

Real time-PCR جهت اندازه گیری سطوح بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵ و CTRP15 بافت عضله نعلی از روش کمی *Real time-PCR* با استفاده از Syber green انجام شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ μL (شامل ۱ μL cDNA، ۱ μL پرایمر Forward، ۱ μL پرایمر Reverse، ۷ μL آب Depc و ۱۰ μL

Syber green) و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات بانک ژنی NCBI و توسط شرکت پیشگام انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ گزارش شده است، ضمن این که از Gapdh به عنوان ژن مرجع استفاده گردید.

برنامه دمایی مورد استفاده در *Real time-PCR* شامل: ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه- ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. نمودار Melt جهت بررسی صحت داده ها و نمودار استاندارد به منظور بهینه سازی شرایط آزمایش رسم گردید و بیان داده ها توسط نسبت بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵ و CTRP15 به ژن مرجع محاسبه گردید. میزان بیان ژن های مورد نظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه گیری شد.

جدول شماره ۱. توالی، طول محصول و دمای ذوب پرایمرهای استفاده شده

نام ژن	کد ژن	توالی پرایمر (5'-3')	طول محصول (bp)	دمای ذوب (°C)
Myonectin	XM_001060107.5	Forward: 5'- GGCAAGCTCTGGAAGCAAGG-3' Reverse: 5'- AGAGCAACCCAGGAGTCATTCAG-3'	۱۵۹	۸۰/۳۰
FND5	NM_001270981.1	Forward: 5'- CAGCCATTGTCACTACTGGCCTG-3' Reverse: 5'- GGGAGAGAGAGAGGGAGAAGGAG-3'	۱۷۷	۸۰/۹۵
Gapdh	NM017008.4	Forward: 5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3' Reverse: 5'- AGCCAGGATGCCCTTTAGT-3'	۹۲	۷۹/۹۱

اندازه گیری سطوح آیریزین سرم: خون گیری ۴۸ ساعت پس از آخرین پروتکل تمرینی در حالی که حیوانات یک شب کامل ناشتا بودند، انجام شد. پس از بی هوشی و شکافتن سینه حیوان، با استفاده از سرنگ ۵ سی سی استریل، به طور مستقیم از قلب خون گرفته شد. سپس نمونه ها به داخل لوله های دارای مواد ضدانعقاد منقل و سرم ها با استفاده از ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه جدا و به داخل میکروتیوپ ریخته شد. نمونه ها سریعاً در تانک ازت و بعد از آن، برای سنجش سطح سرمی آیریزین در یخچال ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره گردیدند. سنجش سطح سرمی آیریزین، به روش الایزا (ELISA) و با استفاده از کیت شرکت ZellBioGmbH ساخت کشور آلمان، انجام گرفت.

بررسی مقاومت به انسولین: غلظت گلوکز سرمی به روش گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه اتوآنالیز Hitachi 704 (ساخت ژاپن-آلمان) اندازه گیری شد و سنجش سطح سرمی انسولین، از طریق روش الایزا و کیت پارس آزمون انجام گرفت. شاخص مقاومت انسولین با استفاده از معادله HOMA-IR محاسبه گردید؛ که بر اساس حاصل ضرب غلظت گلوکز ناشتا (میلی مول بر لیتر) در غلظت انسولین ناشتا (میکرو واحد بر میلی لیتر) تقسیم بر ثابت ۲۲/۵ به دست آمد.

در این پژوهش از آمار توصیفی به منظور توصیف و تشریح یافته ها و برای تجزیه و تحلیل داده ها از آمار استنباطی استفاده گردید. داده ها با نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل شدند و برای تشخیص طبیعی

یافته های پژوهش

در مطالعه حاضر، وزن رت ها، در طول چهار هفته ثبت گـردید؛ که در جـدول ذیـل داده های مربوط به هفته های اول و چـهارم آمده است(جدول شماره ۲).

بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و برای تعیین اختلاف بین گروه ها از آزمون آماری t مستقل استفاده شد. داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شدند و سطح معنی داری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

جدول شماره ۲. نتایج وزن حیوانات در هفته اول و هفته چهارم

گروه ها	وزن هفته اول(گرم)	وزن هفته چهارم(گرم)
گروه کنترل	$207/10 \pm 5/62$	$284/4 \pm 4/9$
گروه تمرین	$210/17 \pm 875/82$	$268/62 \pm 3/34$

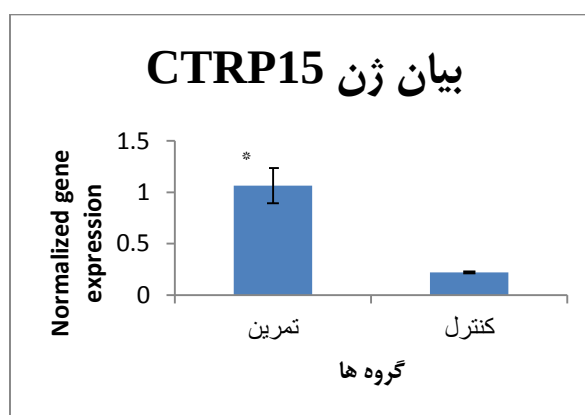
داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده اند.

از $(P=0.048, P=0.034)$ (نمودار شماره ۱، ۲ و ۳). از سوی دیگر، در پایان هفته چهارم، مقاومت به انسولین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت ۲۵ درصدی را به همراه داشت، که این تفاوت معنی دار نبود ($P=0.500$).

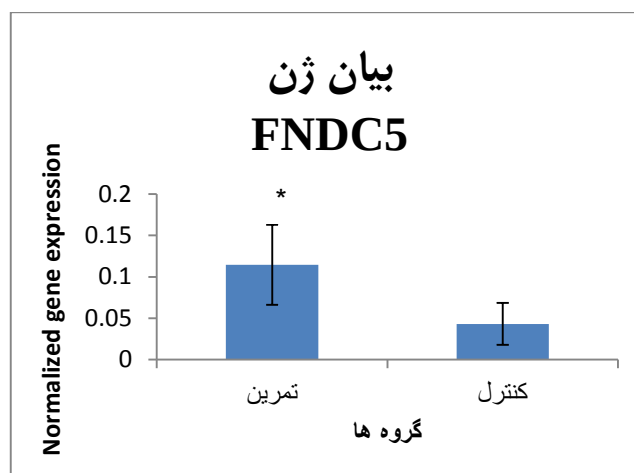
یافته های مربوط به متغیرهای بیوشیمیایی و بیان ژن (جدول شماره ۳) حاکی از این است که مقادیر بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵، مایونکتین عضله نعلی و سطوح آیریزین سرمی در گروه تمـرین به طـور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود ($P=0.029$).

جدول شماره ۳. مقادیر متغیرها در گروه های مورد مطالعه

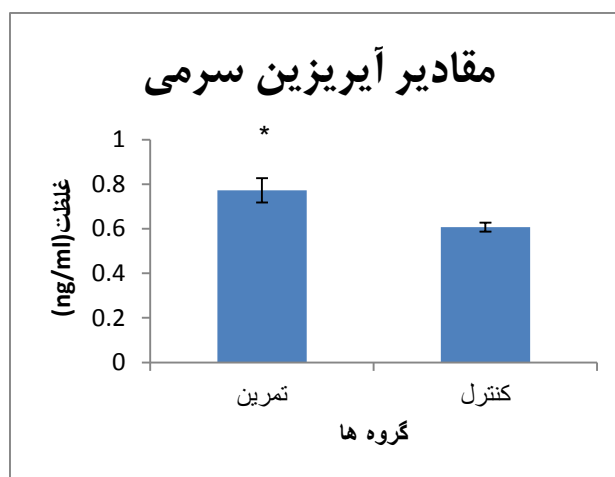
متغیرها	گروه ها	میانگین	انحراف معیار	t	اختلاف میانگین ها	ارزش P
مایونکتین	گروه کنترل	۰/۲۲۰	۰/۰۱	-۱۷/۲۴۸	-۱/۰۴۲۲	۰/۰۴۸*
	گروه تمرین	۱/۰۶۴	۰/۱۷			
FNDC5	گروه کنترل	۰/۷۱	۰/۰۴۳	-۱/۳۵۲	-۱/۱۷۳۱	۰/۰۳۴*
	گروه تمرین	۰/۳۱	۰/۲۱۶			
آیریزین سرمی	گروه کنترل	۰/۶۰۷	۰/۵۷	-۲/۸۱۲	-۱/۱۶۵۴	۰/۰۲۹*
	گروه تمرین	۰/۷۷۲	۰/۱۵			
مقاومت انسولینی	گروه کنترل	۱/۲۳۵	۰/۳۰	۱/۷۵۴	۰/۳	۰/۵
	گروه تمرین	۰/۹۳۶	۰/۳۷			



نمودار شماره ۱. میزان تغییرات بیان ژن CTRP15 در گروه تمرین و کنترل پس از ۴ هفته تمرین استقامتی
* معنی داری در سطح $P < 0.05$



نمودار شماره ۲. میزان تغییرات بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵ در گروه تمرین و کنترل پس از ۴ هفته تمرین استقامتی
* معنی داری در سطح $P<0.05$



نمودار شماره ۳. میزان تغییرات مقادیر آیریزین سرمی در گروه تمرین و کنترل پس از ۴ هفته تمرین استقامتی
* معنی داری در سطح $P<0.05$

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر به بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن فیبرونکتین III-دامنه ۵، مایونکتین عضلانی، آیریزین سرمی و مقاومت به انسولینی رت‌های نر بالغ پرداخته شد. که نتایج مطالعه حاضر نشان داد، مقادیر بیان ژن مایونکتین، فیبرونکتین III-دامنه ۵ و سطوح آیریزین پس از یک دوره تمرین استقامتی، در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به صورت معنی داری بیشتر بود. اما مقاومت به انسولین پس از این دوره در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تغییر ۲۵ درصدی داشت که تفاوت معنی دار نبود.

در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح مایونکتین، نتایج متفاوتی به دست آمده است. به طوری که در برخی

تحقیقات، فعالیت ورزشی منجر به افزایش معنی دار مقادیر مایونکتین شده است. پوررنجبر و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه ای که روی زنان با اضافه وزن انجام دادند به بررسی تأثیر هشت هفته فعالیت ورزشی استقامتی بر بیان ژن مایونکتین پرداختند. نتایج نشان از افزایش معنادار این مایوکاین و کاهش مقاومت به انسولین بود (۱۶). در همین راستا سلدین و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی تأثیر ۲ هفته فعالیت اختیاری روی چرخ گردان بر سطوح مایونکتین پرداختند، که نتایج حاکی از افزایش معنی دار بیان ژن مایونکتین عضلانی بوده است (۴). در حالی که، برخی مطالعات دیگر هم چون پیترسون و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح مایونکتین پرداختند؛ و نتایج حاکی

از عدم تفاوت معنی دار مایونکتین در مدل حیوانی زوکر پس از ۹ هفته فعالیت ورزشی هوازی بوده است، که محققین این عدم معنی داری را به مقاومت به لپتین در موش های زوکر نسبت داده اند (۲) و از آن جا که سطوح لپتین، کلسیم و cAMP سلولی از عوامل موثر احتمالی بر بیان مایونکتین است؛ این مقاومت به لپتین می تواند بر سطوح مایونکتین اثرگذار باشد (۴) و این تفاوت در نتیجه را می توان به تفاوت در نژاد رت ها نسبت داد. پتانسیل درون ریز عضلات اسکلتی در ترشح مایونکتین، مرتبط با متابولیسم چربی است و به نظر می رسد، این اثرات با افزایش تراکم پروتئین های FATCD 36، FATP1 و FABP4 در آدیپوسیت ها صورت پذیرد (۱۴). نتایج پژوهش های حاضر نشان می دهد، مایونکتین موجب ارتباط میان عضله با هموستاز لیپید در کبد و بافت چربی در پاسخ به نوسانات انرژی (گرسنگی، تغذیه، فعالیت ورزشی و...) می شود (۴،۹).

در زمینه تاثیر فعالیت ورزشی بر سطوح fndc5 و آیریزین، نتایج مطالعات برخی از پژوهشگران با نتایج مطالعه حاضر موافق و افزایش معنی دار سطوح آیریزین و fndc5 را گزارش کرده اند (۱۹، ۹) و نتایج برخی دیگر از محققین مخالف با نتیجه مطالعه حاضر و کاهش معنی دار سطوح آیریزین و fndc5 را نشان داده اند (۲۰، ۱۲).

بوستروم و همکاران (۲۰۱۲) که برای اولین بار به وجود آیریزین پی بردند با اعمال دو شیوه تمرینی مختلف بر موش ها که شامل چهارده روز شنای استقامتی یا دویدن آزادانه روی چرخ گردان بود، دریافتند که این دو نوع تمرین سبب افزایش سطوح آیریزین می شود (۹). لیفانگ و همکاران (۲۰۱۹)، نشان دادند که ۱۲ هفته فعالیت ورزشی با شدت متوسط، بیان ژن فیبرونکتین نوع ۳ حاوی پروتئین ۵ را به شکل معنی داری افزایش داده است (۱۱). در حالی که تیمونز و همکاران (۲۰۱۲)، درصدد راستی آزمایی نتایج آزمایش بوستروم و همکاران برآمدند و تاثیر ۶ هفته تمرین استقامتی با شدتی در حدود ۷۵ درصد $VO_2\text{peak}$ روی دوجرخه کارسنج در جوانان و ۲۶ هفته تمرین مقاومتی در جوانان و سالمندان را بررسی کرده و بیان داشتند که این دو نوع تمرین تاثیر معناداری بر آیریزین نداشته است هر چند میزان افزایش آن در

نمونه های سالمند بیش از جوانان بوده است (۲۱). همین طورپانگ و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تاثیر ۳۰ دقیقه دویدن بر تردمیل مخصوص جوندگان بر سطوح سرمی آیریزین، PGC-1 α و FNDC5 در موش های صحرایی پرداختند که افزایش معنی داری را در سطوح آیریزین به همراه داشت ولی سطوح فیبرونکتین نوع ۳ حاوی پروتئین ۵ افزایش معنی داری نداشت (۱۳).

بنا بر این اگر چه ممکن است پژوهش ها از برنامه های مختلف زمانی (حاد در مقابل مزمن)، شدت های متفاوت ورزش و نمونه های گوناگون (شامل افراد چاق، بیماران و از افراد مسن یا جوان که افرادی از یک گروه سنی خاص هستند) بهره گرفته باشند؛ اما به نظر می رسد، تمرین های ورزشی که موجب کاهش آدیپونکتین (یک بازخورد مثبت در آنزیم های متابولیکی برای مصرف بیشتر انرژی از سلول های چربی)، ATP عضله و متابولیت های مربوط به گلیکولیز و لیپولیز شده اند، واکنش جبرانی بیان FNDC5 عضلانی و آیریزین سرمی را به همراه دارد. احتمالاً سطح آدیپونکتین خون با سطح آیریزین ارتباط معکوس دارد. هم چنین میزان آیریزین با گلوکز و کلسترول تام رابطه معکوس دارد و با هورمون ها و پارامترهای نشان دهنده سوخت و ساز نامنظم بدن ارتباط مثبت دارد که ممکن است به دلیل نقش جبرانی آیریزین در متابولیسم چربی و گلوکز باشد. تمرین باعث فعال سازی مسیره های سیگنالی AMPK و کلسی نورین می شود. AMP با کنترل بیان ژنی به وسیله فاکتورهای نسخه برداری که از طریق فعال سازی PGC-1 α انجام می گیرد، بیان ژن FNDC5 را تحریک می کند و هم چنین باعث اکسایش اسیدهای چرب میتوکندریایی می شود (۲۲).

از طرفی دیگر شواهد حاکی از آن است که تولید آیریزین توسط ارگان های دیگری به جز بافت عضلانی، می تواند نقش تعیین کننده ای در میزان سطوح آیریزین سرم داشته باشد. هم چنین، فعالیت بدنی می تواند بر فاکتورهای دیگری همانند حساسیت انسولین، غلظت ATP در عضلات و چاقی که تنظیم کننده های سطوح آیریزین سرم مستقل از PGC1- α هستند، تاثیر داشته باشد. غلظت ATP عضلات اسکلتی، زمانی که سطوح آیریزین گردش خون افزایش پیدا می کند، کاهش

می یابد که محققان را به سمت و سوی این فرضیه که آیریزین دارای اثرات کوتاه مدت برای بازگرداندن هموستاز گلوکز است، سوق می دهد (۱۲).

هم چنین در مطالعه حاضر، مقاومت به انسولین پس از ۴ هفته فعالیت ورزشی استقامتی سنجیده شد، که در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت ۲۵ درصدی داشت؛ اما این تفاوت معنی دار نبود. نتایج مطالعه پیش رو با نتیجه برخی مطالعات موافق و مقاومت به انسولین را در ارتباط منفی با مایونکتین (۲۳) و با نتیجه برخی مطالعات دیگر مخالف و مقاومت به انسولین را در ارتباط مثبت با مایونکتین می داند (۲۴). نتایج مطالعه لیم و همکاران که با مطالعه حاضر همراستا نیست، همبستگی مثبت ضعیفی را بین سطوح مایونکتین و مقاومت به انسولین در گروه نمونه های جوان نشان دادند. اگر چه علت همبستگی ضعیف در گروه جوان کاملاً روشن نیست، اما ممکن است بتوان آن را به تفاوت در میزان مقاومت به انسولین و تراکم mtDNA بین گروه ها مربوط دانست. احتمالاً زنان جوان، مقاومت به انسولین پایه بالایی نداشته و ممکن است این افراد از نظر فیزیولوژیکی آمادگی بیشتری در شروع مطالعه داشتند. بنا بر این، اثرات مفید ورزش بر این مایوکاین و شاخص مقاومت به انسولین در گروه سنی جوان ممکن است کمتر از گروه مسن تر باشد (۲۴).

برخی از محققین، فعالیت بدنی را پتانسیل درمانی در معکوس کردن مقاومت به انسولین در عضلات اسکلتی می دانند و افزایش سطوح مایونکتین، را به افزایش فسفوریلاسیون AMPK نسبت می دهند، که می تواند موجب افزایش تراکم انتقال دهنده های گلوکز در سطح غشاء سلول و افزایش برداشت گلوکز شود (۲۵). در واقع مایونکتین عملی مشابه به انسولین را ایفا می کند؛ به طوری که افزایش انسولین بلافاصله پس از تغذیه رخ خواهد داد، در حالی که مقادیر در گردش مایونکتین دو ساعت پس از مصرف گلوکز یا لیپید افزایش می یابد و در واقع مایونکتین عمل تحریک برداشت اسیدهای چرب و گلوکز را با تاخیر بر عهده خواهد داشت (۳). مطالعه پیش رو نیز، تغییرات مقاومت به انسولین را، عاملی موثر در افزایش مقادیر بیان مایونکتین، تحت تأثیر فعالیت ورزشی استقامتی می داند؛

که افزایش این مایوکاین با کاهش مقاومت به انسولین همراه است و احتمالاً به این طریق در متابولیسم بدن مشارکت دارد.

در پژوهش هایی که به بررسی هم زمان آیریزین و مقاومت انسولینی پرداخته اند، در اغلب موارد از تأثیر متقابل این دو عامل بر هم صحبت کرده اند؛ ولی این پژوهش ها به تأثیر ورزش و فعالیت بدنی بر این دو شاخص نپرداخته و تأثیر متقابل این دو شاخص بر هم در حالت پایه یا در حین یک بیماری مورد ارزیابی قرار داده اند. پژوهش هایی که تأثیر این دو شاخص بر هم و ورزش را مورد ارزیابی قرار داده اند، هر چند اندک هستند ولی نتایج متفاوتی را نشان می دهند و در مطالعاتی که تأثیر فعالیت ورزشی بر این مایوکاین و مقاومت به انسولین سنجیده شده است؛ نتایج برخی مطالعات، کاهش معنی دار مقاومت به انسولین را نشان دادند (۲۶، ۲۷) و برخی دیگر عدم معنی داری مقاومت به انسولین را گزارش کردند (۲۴، ۲۸) که با مطالعه حاضر هم راستا بودند.

نتایج بوستروم و همکاران نشان داد که آیریزین سبب بهبود شاخص مقاومت انسولین می شود (۹) که این با نتایج پژوهش حاضر و برخی از مطالعات دیگر، که ارتباط معنی داری بین مقاومت انسولین با آیریزین نیافتند، متفاوت است. در واقع این محققین، بهبود این شاخص ها را در اثر تمرین دانسته اند (۳۰، ۲۹). پژوهش حاضر نیز کاهش مقاومت به انسولین را در پی فعالیت ورزشی نشان داد اما این کاهش معنی دار نبود و ارتباط معنی داری بین آیریزین و FNDC5 با HOMA-IR مشاهده نشد؛ که با نتایج به دست آمده از پژوهش تیمونزو همکاران (۲۱) همسو و مخالف با نتایج حاصل از پژوهش بوستروم و همکاران (۹) است که علت این امر را می توان به تفاوت در آزمودنی های مطالعه (بیماری، سن، چاقی و...)، شیوه های مختلف سنجش این شاخص ها در پژوهش، روش های مختلف تمرینی و هم چنین در نظر گرفتن سایر فاکتورهای موثر بر شاخص مقاومت انسولین (ناشتا بودن ۱۲ ساعته آزمودنی های این پژوهش قبل از خون گیری و عدم ابتلای آن ها به بیماری های متابولیکی) در پژوهش هایی که از تأثیر مثبت آیریزین بر مقاومت انسولین دفاع می کنند، دانست.

می رسد فعالیت ورزشی استقامتی می تواند منجر به افزایش بیان سطوح مایونکتین و آیریزین شود؛ که در نتیجه افزایش این مایوکاین ها می توان بهبود وضعیت متابولیکی از جمله مقاومت به انسولین و سایر اثرات مایوکاین ها که در مطالعات دیگر مورد بررسی قرار گرفته است را مشاهده کرد.

تنظیم رونویسی مایوکاین ها در نتیجه فعالیت ورزشی، با هدف کمک به درمان و پیشگیری بیماری های متابولیکی قابل تصور است. هم چنین عدم اندازه گیری سطوح پروتئینی متغیرها و غذای مصرفی روزانه هر یک از نمونه ها از محدودیت های پژوهش حاضر می باشد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، به نظر

References

1. Pedersen L, Hojman P. Muscle to organ cross talk mediated by myokines. *Adip J* 2012; 1:164-7. doi:10.4161/adip.20344
2. Peterson JM, Mart R, Bond CE. Effect of obesity and exercise on the expression of the novel myokines myonectin and fibronectin type III domain containing 5. *Peer J* 2014; 10:1-16. doi:10.7717/peerj.605
3. Bonen A, Chabowski A, Luiken JJFP, Glatz JFC. Mechanisms and regulation of protein-mediated cellular fatty acid uptake molecular biochemical and physiological evidence. *APS J* 2007; 22: 15-28. doi:10.190.032.243
4. Seldin MM, Peterson JM, Byerly MS, Wei Z, Wong GW. Myonectin CTRP15 a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis. *Biol Chem J* 2012; 287: 11968-80. doi:10.1074/jbc.M111.336834
5. Tomtang Y, Hu T, Arterburn M, Boyle B, Bright JM, Palencia S, et al. The complete complement of C1q domain containing proteins in homo sapiens. *Genom J* 2005; 86: 100-11. doi:10.1016/j.ygeno.2005.03.001).
6. Xu X, Ying Z, Cai M, Xu Z, Li Y, Jiang SY, et al. Exercise ameliorates high fat diet induced metabolic and vascular dysfunction and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *Am J Physiol Regul Int Comp* 2011; 300: 1115-25. doi:10.1152/ajpregu.00806.2010
7. Bonen A, Chabowski A, Luiken JJFP and Glatz JFC. Is membrane transport of FFA mediated by lipid, protein, or both? Mechanisms and regulation of protein-mediated cellular fatty acid uptake molecular, biochemical, and physiological evidence. *Physiol J* 2007; 22:15-29. doi:10.1152/physiologyonline.2007.22.1.15
8. Kaminski M, Kippen J, Gomulska A, Smyrak J, Karolewski M, Bielawska L, Wysocka E, Cymerys M. Myonectin serum concentration changes after short-term physical activity among young, healthy people. *Med Res J* 2019; 4: 41-5 (10.5603/MRJ.a2019.0002).
9. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1alpha dependent myokine that drives brown fat like development of white fat and thermogenesis. *Nature J* 2012; 481: 463-8. doi:10.1038/nature10777
10. Villarroja F. Irisin, turning up the heat. *Cell Metab J* 2012; 15: 277-8. doi:10.1016/j.cmet.2012.02.010
11. Lifang Si, Hongxi Liu, Mengyun Li, Guangxin Wang. Study on the relationship between FNDC5 protein expression and aerobic exercise test in Rats. *Arch Lat Am Nut* 2019; 69: 237-43.
12. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in Humans. *FEBS J* 2014; 281: 739-49. doi:10.1111/febs.12619
13. Pang M, Yang J, Rao J, Wang H, Zhang J, Wang S, et al. Time dependent changes in increased levels of plasma irisin and muscle PGC-1 α and FNDC5 after exercise in Mice. *Tohoku J Exp Med* 2018; 244: 93-103. doi:10.1620/tjem.244.93
14. Gamas L, Matafome P, and Seica R. Irisin and myonectin regulation in the insulin resistant muscle: implications to adipose tissue muscle crosstalk. *J Diabete Res* 2015; 2: 1-8. doi:10.1155/2015/359159
15. Nishida T, Tsuji S, Tsujii M, Arimitsu S, Haruna Y, Imano E. Oral glucose tolerance test predicts prognosis of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 70-5. doi:10.1111/j.1572-0241.2005.00307.x
16. Pourranjbar M, Arabnejad N, Naderipour KH, Rafie F. [Effects of aerobic exercises on serum levels of myonectin and insulin resistance in obese

- and overweight Women]. *J Med Life* 2018; 11: 381-6. (Persian) doi.10.25122/jml-2018-0033
17. Bashar R. Method of blood sampling and anesthesia for rodent animals in physical education research. 2th ed. *Ins Phys Edu Sport Scie Publication*. 2006;P.123-9.
18. Jenkins NT, Padilla J, Esquivel AA, Bayless DS, Martin JS, Leidy HJ, Booth FW, Rector RS, Laughlin MH. Effects of endurance exercise training, metformin, and their combination on adipose tissue leptin and IL10 secretion in OLETF Rats. *J Appl Physiol* 2012; 113: 1873-83. doi.10.1152/japplphysiol.00936.2012
19. Bluhner S, Panagiotou G, Petroff D. Effects of a 1year exercise and lifestyle intervention on irisin, adipokines, and inflammatory markers in obese Children. *Obesity J* 2014; 22: 1701-8 doi.10.1002/oby.20739
20. Brenmoehl J, Albrecht E, Komolka K. Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *Int J Biol Sci* J2014;10:338-49 doi.10.7150/ijbs.7972
21. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature J* 2012; 488: 9-10 doi.10.1038/nature11364
22. Tiraby C, Tavernier G, Lefort C, Larrouy D, Bouillaud F, Ricquier D. Acquirement of brown fat cell features by human white adipocytes. *J Biol Chem* 2003; 278: 33370-6. doi.10.1074/jbc.M305235200
23. Seldin MM, Peterson JM, Byerly MS, Wei Z, Wong GW. Myonectin CTRP15 a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis. *Biol Chem J* 2012; 287: 11968-80. doi.10.1074/jbc.M111.336834
24. Lim S, Choi SH, Koo BK, Kang SM, Yoon JW, Jang HC, et al. Effects of aerobic exercise training on c1q tumor necrosis factor related protein isoform 5 myonectin association with insulin resistance and mitochondrial DNA density in Women. *Clin Endocrinol Metab J* 2012; 97: 88-93. doi.10.1210/jc.2011-1743
25. Park SY, Choi JH, Ryu HS, Pak YK, Park KS, Lee HK, et al. C1q tumor necrosis factor α -related protein isoform 5 is increased in mitochondrial DNA-depleted myocytes and activates AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 2009; 284:27780-9. doi.10.1074/jbc.M109.005611
26. Gamal MM, Tork OM, Eshra MA, Magdy S, Rashed LA. Role of endogenous irisin a novel myokine in cognitive functions and insulin sensitivity in exercised diabetic Rats. *MEDC J* 2016;22: 136-146. doi.10.4103/1687-4625.195886
27. Huth C, Marette A, Tremblay A. Plasma irisin is associated with insulin resistance in Men. *FASEB J* 2014; 28: 854.
28. Liu J, Wong M, Ching TW. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2013; 27:365-9 doi.10.1016/j.jdiacomp.2013.03.002
29. Han TS, Bijan FC. Separate associations of waist and hip circumference with life style factors. *Int J Epidemiol* 1999; 27:422-30. doi.10.1093/ije/27.3.422
30. Hejiden GV, Wang ZJ, Chu ZH. A 12-Week aerobic exercise program reduces hepatic fat accumulation and insulin resistance in obese hispanic adolescents. *Epidemiol J* 2010; 18: 384-91 doi.10.1038/oby.2009.274



Effect of Endurance Training on the Expression of the Muscle Fibronectin Type III Domain-Containing Protein 5 and CTRP15 Levels in the Male Rats

Vosadi E^{*1}, Barzegar H²

(Received: November 2, 2019

Accepted: January 12, 2020)

Abstract

Introduction: The effect of exercise on skeletal muscle-derived factors and their effects on the body's metabolism has recently been the focus of attention. This study aimed to investigate the effect of endurance training on the gene expression of the muscle Fibronectin type III domain-containing protein 5 and CTRP15 levels in the male rats.

Materials & Methods: This experimental study included 16 male adult Wistar rats with 8 weeks of age and mean weight of 213 ± 15 gr. The rats were divided into two groups of endurance training ($n=8$) and control ($n=8$). The rats in the training group had 4-week endurance training sessions (5 sessions per week) including running on a treadmill for rodents for 45 min at the head of a certain time during the day and at the same time. On the other hand, the control group had no exercise. Initially, the Soleus muscle was homogenized and the expression of Fibronectin type III domain-containing protein 5 and CTRP15 genes were measured by real-time polymerase chain reaction analysis. Subsequently, Irisin and insulin levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assay and glucose

levels were assessed by glucose oxidase. The data were analyzed by independent t-test and a p-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Findings: The results of this study showed a significant difference between the training and control groups regarding the expression of Fibronectin type III domain-containing protein 5 and CTRP15 gene in muscle after the endurance exercise ($P=0.034$ and $P=0.048$). In addition, the training group had higher Irisin serum level, compared to the control group ($P=0.029$). Although, insulin resistance obtained a 25% difference after four weeks of endurance training, it was not significant ($P=0.500$).

Discussion & Conclusions: According to the results of the present study, it seems that mid-term endurance training can improve metabolism by increasing the levels of myokines.

Keywords: CTRP15, Endurance training, Fibronectin type III domain-containing protein 5, Insulin resistance, Rat

1. Dept of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahrood University of Technology, Semnan, Iran

2. Dept of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

*Corresponding author Email: e.vosadi@shahroodut.ac.ir