

بررسی اثر شدت‌های مختلف تمرین و بی‌تمرینی متعاقب آن بر سطوح سارکولپیین و فسفولمبان در تارهای عضلانی تندانقباض و کندانقباض رت‌های نر نژاد ویستار

فهیمة اسفراجانی^۱، همت‌اله مرادی^۲، سیدمحمد مرندي^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۴/۱۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۷/۰۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: کلسیم نقش اساسی در عملکردهای سلولی همچون انتقال، ترشح، فعالیت آنزیم‌های سوخت‌وسازی، چسبندگی سلولی، و انقباض عضلانی دارد و اختلال در سطوح سیتوزولی آن با ناهنجاری‌های سلولی و آپوپتوز همراه است. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر شدت‌های مختلف تمرین، و بی‌تمرینی متعاقب آن بر تغییرات فسفولمبان و سارکولپیین، پروتئین‌های مهاری درگیر در انتقال کلسیم است.

مواد و روش کار: تحقیق حاضر از نظر هدف کاربردی و توسعه‌ای، و با توجه به روش اجرا تحقیق تجربی است. ۳۶ رت نر سه ماهه نژاد ویستار، با وزن ۳۲۵/۶۶±۳۵/۹۲ در سه گروه تمرین اینتروال کم‌شدت (LIT)، تمرین اینتروال شدید (HIIT)، و کنترل (CO) قرار گرفتند. گروه LIT و HIIT به‌ترتیب با سرعت‌های ۱۲ تا ۱۵، و ۲۵ تا ۳۰ متر بر دقیقه، به مدت ۸ هفته، ۴۰ جلسه بر روی تردمیل دویدند. در پایان هشت هفته تمرین و چهار هفته بی‌تمرینی، از هر گروه ۶ نمونه آسان‌کشی و عضلات بازکننده طویل انگشتان (EDL) و نعلی (Sol) آنان خارج، هموئیزه، و سانتریفیوژ گردید. آزمون الایزا برای بررسی محتوی پروتئین‌های PLN، و SLN استفاده شد. ANOVA، t استودنت مستقل، و آزمون آنالیز واریانس دوره‌ای ($\alpha \leq 0.05$) برای تحلیل آماری استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد که بین شدت‌تمرین و نوع تار عضلانی بر میزان پروتئین‌های مهاری فسفولمبان ($P=0.008$)، و سارکولپیین ($P=0.001$) اثر تعاملی معنی‌داری وجود دارد. به‌علاوه، پس از چهار هفته بی‌تمرینی، اثر تعاملی معنی‌داری بین نوع تار عضلانی و سابقه تمرین قبلی بر تراکم فسفولمبان ($p=0.002$) مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرینات LIT در عضلات تندانقباض موجب کاهش بیشتر سطوح پروتئین‌های مهاری و بهبود انتقال کلسیم می‌گردد. همچنین، بی‌تمرینی موجب افزایش پروتئین‌های مهاری بویژه در عضله تندانقباض و کاهش سرعت و غلظت انتقال کلسیم می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: پروتئین فسفولمبان، سارکولپیین، تمرین اینتروال شدت بالا، تمرین اینتروال کم شدت

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره هشتم، ص ۶۲۰-۶۰۹، آبان ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، ۰۹۱۶۷۰۴۲۴۱۶

Email: f.esfarjani@yahoo.com

مقدمه

میکرومولار افزایش می‌یابد؛ اصلی‌ترین انتقال دهنده کلسیم به درون شبکه سارکوپلاسمی، پمپ ATPase شبکه سارکوپلاسمی sarco(endo)plasmic reticulum calcium (SERCA) است که عملکرد ایزوفورم‌های متفاوت آن میزان کلسیم سلول‌های عضلانی و غیرعضلانی را به‌دقت تنظیم می‌نماید (۱). عملکرد SERCA تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله هورمون‌های تیروئیدی، ادیپونکتین، تعدیلات پس‌ترجمه‌ای، پروتئین‌های شوک گرمایی (HSP) (Heat shock protein) افزایش می‌یابد. به‌علاوه،

کلسیم به‌عنوان یک پیامبر ثانویه درون سلولی نقش اساسی در عملکردهای سلولی همچون انتقال، ترشح، فعالیت آنزیم‌های سوخت‌وسازی، چسبندگی سلولی و انقباض عضلانی برعهده دارد و اختلال در تنظیم آن موجب آپوپتوز و ناهنجاری‌های سلولی می‌گردد. در سلول‌های عضلانی، در حین استراحت کلسیم درون شبکه سارکوپلاسمی ذخیره و غلظت سیتوزولی آن در سطوح نانومولار حفظ می‌گردد، در حالی که در طی انقباض تا سطوح

^۱ دانشجوی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، اصفهان، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ دانشجوی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، اصفهان، ایران

^۳ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، اصفهان، ایران

دو پروتئین مهارى فسفولمبان Phospholamban (PLN) و سارکولپین Sarcolipin (SLN) موجب کاهش عملکرد آن می‌گردند (۲).

فسفولمبان، در غلظت‌های پایین و سارکولپین (SLN) در غلظت‌های بالای کلسیم سیتوزولی به SERCA اتصال و حساسیت آن را به کلسیم کاهش می‌دهند (۲). که موجب کاهش سرعت بازجذب کلسیم و کاهش سرعت ریلکسیشن عضلانی در عضلات اسکلتی تندانقباض و کندانقباض موش، به میزان بیش از ۲۰ برابر می‌گردد (۳). گامو و همکاران (۲۰۱۴)، نشان دادند که حضور همزمان هر دو پروتئین مهارى فسفولمبان و سارکولپین در فیبرهای عضلانی حاوی ایزوفورم‌های SERCA1a و SERCA2a موجب مهار فوق بیشینه SERCA می‌شود (۴).

علی‌رغم تفاوت‌های موجود در سلول‌های عضلانی، کلسیم ماده اصلی تنظیمی و سیگنالینگ همه آنهاست و پروتئین‌های مرتبط با انتقال کلسیم نقش عمده‌ای در تعیین ویژگی‌های انقباضی تارهای عضلانی دارند (۵). انقباض عضلانی با رهاسازی کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی به سیتوزول و اتصال آن به تروپونین آغاز و با خروج کلسیم از سیتوپلاسم پایان می‌یابد (۶)، انقباضات عضلانی در فعالیت‌های ورزشی در دامنه‌ای از انقباضات کوتاه‌مدت و انفجاری تا فعالیت‌های بلندمدت استقامتی صورت می‌گیرند. رهاسازی و بازجذب سریع کلسیم در فعالیت‌های توانی و سرعتی به‌منظور انقباض توانمند ضروریست. از طرفی، حفظ کلسیم درون سیتوزول به مدت بیشتر به عملکرد ورزشی در فعالیت‌های ورزشی استقامتی بالاتری منجر می‌گردد (۷). عضلات با توجه به نوع تارعضلانی در پاسخ به محرک‌های محیطی فعالیت شدید و کم شدتو همچنین بی‌تمرینی، دستخوش تغییر قرار می‌گیرند، این تغییرپذیری (plasticity) موجب تغییر ویژگی‌های فیبرهای عضلانی می‌گردد (۸).

تمرینات استقامتی موجب تغییر پروتئین‌های انقباضی از نوع تندانقباض به نوع کندانقباض به‌ترتیب از IIb به IIX به IIA و نهایتاً I می‌گردد و تمرینات شدت بالا موجب شکل‌گیری تارهای نوع IIA از هر دو نوع IIb و نوع I می‌گردد (۹) البته، پت و همکاران (۱۹۹۷)، بیان نمودند که شدت و مدت دوره‌ها و زمان ریکاوری بین تکرارها، وضعیت شروع تمرین، و اینکه عضله در وضعیت طبیعی، هایپرتروفی و یا آتروفی شده قرار داشته باشد، بر پاسخ عضله به فعالیت مؤثر است (۱۰).

فعالیت به‌واسطه افزایش فسفریلاسیون PLN در سرین از طریق PKA و یا در تیروزین از طریق CaMKII موجب کاهش نسبت PLN به SERCA و کاهش مهار SERCA گردد که این امر موجب افزایش ۲ تا ۳ برابری عملکرد SERCA در انتقال

کلسیم می‌گردد (۱۱). اگان و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که فسفریلاسیون CaMKII تنها با تمرینات شدت بالا صورت می‌گیرد (۱۲). اما، رز و همکاران (۲۰۰۷) با فعالیت‌های کم‌شدت نیز افزایش را گزارش نمودند (۱۳). کمی و همکاران (۲۰۰۸)، در موش‌های ۲ ماهه پس از یک دوره تمرین افزایش جذب کلسیم ناشی از فسفریلاسیون فسفولمبان و کاهش نسبت فسفولمبان به SERCA2a در سلول‌های عضلانی قلبی را گزارش دادند (۱۴). همچنین، موریست و همکاران (۲۰۱۴) بیش از ۱۵۸ درصد افزایش در محتوی PLN فسفریله عضلات دوقلوی موش‌های تمرین‌کرده نسبت به موش‌های بی‌تمرین را گزارش نمودند (۱۵). رز و همکاران (۲۰۰۷)، هم‌زمان با افزایش شدت تمرین از ۳۵ به ۸۵ درصد، افزایش فسفریلاسیون فسفولمبان را مشاهده نمودند. البته آنان عنوان نمودند که افزایش محتوی PLN فسفریله در عضلات چهارسرران انسان پاسخ کوتاه‌مدت به فعالیت است و پس از ۳ هفته سازگاری بلندمدت مشاهده نمی‌شود (۱۳). سوارز و همکاران (۲۰۱۵) بر نقش تمرین هوازی با شدت متوسط بر نرمال سازی و بهبود پروتئین‌های تنظیمی کلسیم در رت‌های دارای بیماری PAH و RVH (Right ventricle hypertrophy) تاکید نمودند (۱۶). به‌علاوه، گرامولینی (۲۰۰۶) اثر فعالیت بر فسفریلاسیون سارکولپین را از طریق پروتئینی به نام STK16، در تیروئین ۵ (SLN^{Thr5}) و کاهش نقش مهارى آن بر عملکرد SERCA را مشاهده نمود (۱۷). شانومگام و همکاران (۲۰۱۱) سطوح پایین‌تری SLN قلبی را در بیماران فیبریلیاسیون مزمن دهلیز قلبی، در مقایسه با افراد سالم، نشان دادند (۱۸). همچنین ژانگ (۲۰۱۴) افزایش ۱۲ و ۶ برابری سطوح mRNA و پروتئین SLN در بطن چپ بیماران پرولاپس دریچه میترا را گزارش نمودند (۱۹).

به‌علاوه، شواهد نشان می‌دهند که SLN موجب تنظیم دمایی بدن نیز می‌گردد (۲۰). بومباردیه و همکاران (۲۰۱۳)، نشان دادند که موش‌های فاقد SLN در مقایسه با موش‌های وحشی میزان $\dot{V}O_2$ کم‌تری در وضعیت خواب و استراحت دارند و با اختلال در وضعیت گرمایی عضلانی مستعد چاقی ناشی از رژیم غذایی می‌گردند (۲۱). سپاریلاوا (۲۰۱۴)، با بررسی موش‌های بیش بیان شده با SLN و ناک اوت SLN بیان نمود موش‌های فاقد SLN نسبت به محیط سرمایی حساس‌تر بوده و نسبت به موش‌های نرمال با تغذیه چربی در معرض چاقی بیشتری قرار دارند که با اضافه کردن SLN وضعیت آنان طبیعی گردید. از طرفی موش‌های در معرض بیش‌بیانی SLN نسبت به موش‌های وحشی، میزان سوخت و ساز، ظرفیت استقامتی، مصرف اکسیژن و توان هوازی و مقاومت در مقابل خستگی بالاتری را نشان دادند (۷) که با نتایج

گوموا (۲۰۱۴) هماهنگ بود (۴). با این وجود، تینن (۲۰۱۳) بیان نمود که حذف SLN نه تنها موجب کاهش محتوی میتوکندریایی در پاسخ به تمرین نمی شود، بلکه شواهد حاکی از افزایش حساسیت عضلات اسکلتی به فعالیت ورزشی و افزایش فعالیت آنزیم های میتوکندریایی است و موش های فاقد SLN، میزان Vo2max و زمان تمرین بالاتری را نسبت به موش های وحشی نشان دادند (۲۲).

به علاوه نشان داده شده است که بی تمرینی، ناشی از قطع محرک های تمرینی و یا تمرین ناکافی موجب معکوس شدن روند سازگاری می شود (۲۳). سارجنت و همکاران (۱۹۷۷) دریافتند که پس از دوره بی تمرینی تعداد انواع فیبرهای نوع I و نوع II تغییر نکرد، اما فیبرهای نوع I درجه بیشتری از آتروفی نشان دادند و موجب کاهش درصد ۴۲ در سطح مقطع عضله گردید (۲۴). اما، مک دوگال (۱۹۸۶) پس از شش هفته بی تحرکی، آتروفی بیشتری در تارهای نوع II نسبت به نوع I، در عضله سه سر بازویی پلاستر مشاهده و بیان نمود که عضلات فوقانی و تحتانی بدن احتمالاً با الگوی متفاوتی نسبت به بی تمرینی پاسخ می دهند (۲۵). تغییر نوع تار عضلانی از I به II عموماً پس از ضایعه نخاعی، کاهش ورودی نرون حرکتی به عضله، تحت شرایط بدون جاذبه، و یا به طور ساده در اثر بی تمرینی صورت می گیرد (۸). ماجیکا (۲۰۰۱) بیان نمود که با کاهش محرک تمرینی، تراکم مویرگی در حدود ۲ تا ۳ هفته کاهش می یابد و قطع تمرین بیش از ۳ تا ۸ هفته موجب کاهش سریع و پیش رونده در فعالیت های آنزیمی اکسیداتیو و کاهش تولید ATP میتوکندریایی می گردد (۲۶). همچنین اندرسن و همکاران (۲۰۰۵) عنوان نمودند که پس از ۳ ماه بی تمرینی، ایزوفورم MHC تارهای نوع II افزایش و تارهای نوع I کاهش یافته است. تغییر ایزوفورم MHC از نوع I به IIA و سپس IIX به فراخوانی الکتریکی سریعتر منجر می گردد (۲۷).

اثر بی تمرینی بر سطوح پروتئین های چرخه کلسیم به ندرت مورد بررسی قرار گرفته شده است. استامرز (۲۰۱۵) بیشتر بودن میزان پروتئین مهاری PLN در موش های غیرفعال را به عنوان یکی از عواقب کاهش فعالیت و بی تمرینی عنوان نمود (۲). پرمیسی (۲۰۰۷) افزایش SERCA1 mRNA به میزان ۳، ۲ تا ۷ برابر پس از ۲، ۴ و ۱۰ روز بی تمرینی را نشان داد (۲۸). همچنین اسچالت و همکاران (۱۹۹۳) نیز با ۲۸ روز آویزان کردن رت از ناحیه دم، افزایش ۳۰ درصدی در میزان SERCA1 عضله نعلی رت را گزارش کردند (۲۹). وندبروگ و کلارک نشان دادند که آویزان کردن و عدم استفاده از اندام تحتانی نیز موجب پاسخی متفاوت در تارهای عضلانی می گردد. ضمن آنکه تارهای کندانقباض کاهش بیان SERCA2a mRNA ولی همزمان تارهای تندانبض افزایش

SERCA2a mRNA را نشان می دهد (۳۰). با توجه به محتوی متفاوت SERCA و پروتئین های مهاری در عضلات اسکلتی کندانقباض و تندانبض، انتظار می رود که تارهای عضلانی با شدت های مختلف تمرین و همچنین بی تمرینی به طریق متفاوتی سازگار گردند. کسب و حفظ سازگاری های به دست آمده از تمرینات منظم در طی دوره های تمرین از دغدغه های اساسی مربیان و ورزشکاران رشته های مختلف ورزشی و ورزشکاران آسیب دیده است.

تحقیقات انجام شده در زمینه پروتئین های مهاری فسفولمبان و سارکولیین نقش آنان بر گرمایابی عضلانی و یا میزان تراکم آنان در عضلات تندانبض و کندانقباض، و یا پاسخ کوتاه مدت به تمرین صورت گرفته است. با این وجود، اثر شدت های مختلف تمرین، و سازگاری ناشی از تمرینات بلندمدت تحقیقی مشاهده نگردید. ضمن آنکه اثر بی تمرینی بر سطوح پروتئین های مؤثر بر انتقال کلسیم مشخص نیست. لذا تحقیق حاضر در نظر داشت تا اثر تمرین با شدت های مختلف را با توجه به سازگاری ویژه عضلات تندانبض و کندانقباض مورد آزمایش قرار دهد و بررسی نماید که آیا تمرین با شدت های متفاوت و بی تمرین متعاقب آن در عضلات تندانبض و کندانقباض سازگاری متفاوتی بر تراکم پروتئین های مهاری SLN و PLN ایجاد می کند یا خیر؟

مواد و روش کار

تحقیق حاضر از نظر هدف کاربردی و توسعه ای، و با توجه به ماهیئت و روش اجرای آن یک تحقیق آزمایشگاهی است، نمونه های این پژوهش را رت های بالغ نژاد ویستار (مرکز جندی شاپور، اهواز، ایران) با سن ۱۲ هفته تشکیل دادند. ۳۶ سر رت به صورت تصادفی در سه گروه تمرینی شدید (HIT)، گروه تمرینی سبک (LIT)، و گروه کنترل (n=۱۲) قرار گرفتند. مسائل اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان انجام گردید (شناسه) (کد اخلاقی IR.UI.REC.1396.43). نمونه ها در محیطی با دمای 22±2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۳۰ تا ۷۰ درصد و چرخه ی تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. محل نگهداری نمونه های آزمایشگاهی در دانشگاه آزاد آبادان و با رعایت دستورالعمل مرتبط با کار با حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت. نمونه های هر گروه در سه قفس به تعداد ۴ سر رت قرار گرفتند و به مدت یک هفته، پنج جلسه، تمرین سبک با شدت ۱۰ متر بر دقیقه، با محیط و وسایل تمرینی آشنا گردیدند. در تمامی مراحل تحقیق دسترسی به غذا (غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی، رت، شرکت بهپرور، کرج، استان البرز) و آب آزادانه صورت می گرفت.

تمرین به مدت ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته (۴۰ جلسه) اجرا گردید و پس از آن به مدت ۴ هفته دوره بی‌تمرینی انجام شد. شدت تمرین مورد استفاده، بر اساس سرعت دویدن، برای گروه LIT، ۱۲ تا ۱۵ متر بر دقیقه، با استراحت فعال ۱۰ متر بر دقیقه، و برای گروه HIT ۲۵ تا ۳۰ متر بر دقیقه، با استراحت فعال ۱۰ متر بر دقیقه بود (۳۱). اضافه بار از طریق افزایش تکرار تناوب تمرین در هر دو جلسه بود به گونه‌ای که در جلسه اول گروه تمرین HIT به مدت ۲۰ دقیقه و مسافت ۳۶۰ متر را طی نمود که پس از ۸ هفته زمان تمرین به ۵۶ دقیقه و مسافت ۱۱۲۰ متر در دقیقه و برای گروه تمرین LIT از زمان ۲۸ دقیقه در جلسه اول به ۸۱ دقیقه تمرین در جلسه آخر رسید، لازم به ذکر است که مسافت طی شده در هر دو گروه در هر جلسه، و در پایان دوره یکسان بود. در ابتدای هر جلسه تمرین گروه‌های تمرینی ۴ دقیقه گرم کردن با شدت ۱۰ متر دویدن بر روی تردمیل را اجرا می‌کردند که در مسافت نهایی طی شده مورد محاسبه قرار گرفته شده است. گروه کنترل روزانه به مدت ۱۵ دقیقه بر روی تردمیل قرار داده می‌شد. پروتکل تمرینی حاضر محقق ساخته بر اساس تحقیق هایدل و همکاران بود (۳۱).

پس از پایان هشت هفته تمرین، ۶ سر رت از نمونه‌های هر گروه به صورت تصادفی انتخاب گردیدند و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی آبادان تشریح شدند. بدین منظور، پس از بیهوشی با استفاده از دی‌اتیل‌تر، از ناحیه شکم پوست شکافته و پس از برش دیافراگم، از ناحیه قلب به روش تهاجمی مورد خونگیری قرار گرفتند. سپس قلب از محل خود خارج گردید و عضله باز کننده طویل انگشتان (EDL) به عنوان عضله تندانقباض و عضله نعلی (SOL) به عنوان عضله کندانقباض جدا گردید و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک و جداسازی خون و مواد زاید آنان جهت انجماد سریع بلافاصله درون تانک نیتروژن مایع قرار گرفته شد و به فریزر دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. ۲۴ ساعت بعد از نمونه‌گیری، وزن نمونه‌های بافت عضلانی به وسیله ترازوی SARTORIUS مارک CPA224S با دقت هزارم میلی‌گرم محاسبه شد و از هر عضله به میزان ۱۰۰ mg جدا گردید و پس از اضافه نمودن بافر PBS حاوی آنتی پروتئاز سیگما، به وسیله دستگاه همزنایزر خرد شدند و با استفاده از سانتریفیوژ Eppendorf مارک 5417R با دور ۴۰۰۰ تا ۶۰۰۰ سرم آنان جدا گردید. سرم به دست آمده جهت تشخیص میزان تراکم پروتئین‌های SLN و PLN استفاده شد. که با استفاده از کیت‌های الایزا شرکت zellbio آلمان و با استفاده از دستگاه الایزا مارک Biotek مورد سنجش و تحلیل قرار گرفتند.

در طی چهار هفته دوره بی‌تمرینی تمام شرایط دمایی و محیطی، دسترسی و دریافت آزادانه غذا و آب، و همچنین تاریکی و روشنایی همانند دوره ۸ هفته تمرین بود. البته، در طی این دوره گروه‌های LIT و HIIT هیچ‌گونه تمرینی را انجام ندادند و همانند گروه کنترل درون قفس نگهداری شدند. مجدداً تمام اعمال مربوط به نمونه‌برداری و تجزیه و تحلیل، مطابق پایان دوره تمرینی، جهت ارزیابی اثرات چهار هفته بی‌تمرینی صورت گرفت. تمام مراحل نمونه‌برداری و تحلیل بافتی توسط متخصصین یکسان و در دانشگاه علوم پزشکی آبادان صورت گرفت.

به منظور تجزیه و تحلیل اکتشافی داده‌ها از آزمون‌های توصیفی میانگین، انحراف استاندارد، نمودارها، استفاده گردید. به علاوه برای بررسی فرضیه‌های تحقیق از آزمون‌های استنباطی استفاده گردید. بر این اساس جهت بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون یکطرفه ANOVA و همچنین آزمون تعقیبی شفه، به منظور بررسی اثر تعاملی متغیرها تحلیل واریانس دوراهه، و به منظور بررسی تفاوت بین عضلات تندانقباض و کندانقباض آزمون t استودنت مستقل، در سطح $p < 0.05$ استفاده شد. از نسخه ۲۲ نرم‌افزار آماری SPSS جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها

نمودار ۱ و ۲ آمار توصیفی مربوط به تراکم پروتئین‌های مهارتی فسفولمبان و سارکولینین را پس از دوره تمرین، و دوره بی‌تمرینی در گروه‌های کنترل، تمرین کم‌شدت، و تمرین شدت بالا را نشان می‌دهد.

نمودار ۳ بیانگر سطح کم‌تر فسفولمبان عضله EDL و همزمان سطح بالاتر آن در عضله SOL گروه LIT نسبت به سایر گروه‌ها، پس از ۸ هفته تمرین، EDL است. آزمون تحلیل عاملی بیانگر اثر تعاملی بین نوع عضله درگیر و شدت فعالیت است و عضله EDL با تمرین کم شدت سطح پایین‌تری از تراکم فسفولمبان را نشان می‌دهد (جدول ۱).

به علاوه، از نظر تراکم فسفولمبان در عضله EDL پس از ۸ هفته تمرین بین گروه‌های کنترل، HIIT و LIT، آزمون ANOVA (جدول ۲) اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p = 0.006$). آزمون تعقیبی شفه (جدول ۳) نشان داد که محتوی فسفولمبان عضله EDL گروه HIIT ($p = 0.007$) و کنترل ($p = 0.054$) به طور معنی‌داری بالاتر از گروه LIT بود. اما گروه HIIT با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p = 0.563$). ضمن آنکه، در عضله SOL اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p = 0.541$). همچنین، آزمون t - استودنت مستقل تراکم فسفولمبان کم‌تر و معنی‌داری را در در گروه LIT عضله EDL نسبت به عضله SOL ($p = 0.007$)

نشان داد. اما در گروه‌های کنترل ($p=0/901$) و HIIT ($p=0/224$) اختلاف معنی‌داری بین عضلات EDL و SOL مشاهده نگردید. به‌علاوه، پس از دو ماه تمرین عضله EDL با تمرین کم‌شدت کاهش، و با تمرین شدت بالا، افزایش تراکم سارکولوپین را نسبت به گروه کنترل نشان داد، در حالی که در عضله SOL در گروه LIT اندکی افزایش و در گروه HIIT مقداری کاهش نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد (نمودار ۴). آزمون تحلیل عاملی بیانگر اثر تعاملی بین نوع عضله درگیر و شدت فعالیت بود ($P=0/001$) و عضله تندانقباض EDL با تمرین کم‌شدت سطح پایین‌تری از سارکولوپین را نشان می‌دهد.

همچنین، بعد از مداخله تمرینی، آزمون ANOVA (جدول ۲) اختلاف معنی‌داری در تراکم SLN عضله EDL بین گروه‌های کنترل، HIIT و LIT را نشان داد ($p=0/001$). آزمون تعقیبی شفه (جدول ۳) نشان داد که تراکم SLN عضله EDL گروه HIIT نسبت به گروه LIT ($p=0/001$) و همچنین گروه کنترل نسبت به گروه LIT ($p=0/015$) به‌طور معنی‌داری بالاتر بوده است. با این‌وجود، گروه HIIT با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($p=0/189$). ضمن آنکه آزمون ANOVA اختلاف معنی‌داری در محتوی SLN عضله SOL بین گروه‌های کنترل، HIIT و LIT را نشان نداد ($p=0/210$).

همچنین، آزمون t - استودنت مستقل نشان داد که در گروه LIT محتوی SLN عضله EDL نسبت به عضله SOL به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود ($p=0/007$). به‌علاوه، در گروه HIIT تراکم SLN عضله EDL نسبت به عضله SOL به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p=0/006$). با این‌وجود، بین تراکم SLN عضله EDL و SOL گروه کنترل تفاوتی مشاهده نگردید ($p=0/492$).

به‌علاوه، چهار هفته بی‌تمرینی نشان داد که تراکم فسفولمبان گروه با سابقه تمرین کم‌شدت به گونه‌ای متفاوت نسبت به بی‌تمرینی سازگار می‌گردد. به‌طوری که عضله کندانقباض گروه با سابقه تمرین کم‌شدت تراکم پایین‌تری را نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین شدت بالا دارد. اما گروه با سابقه تمرین شدید مشابه گروه کنترل بوده، و تراکم بالاتری را نسبت به گروه تمرین کم‌شدت نشان می‌دهد (نمودار ۵). آزمون تحلیل عاملی نشان داد که بین نوع عضله درگیر و سابقه فعالیت پس از چهار هفته بی‌تمرینی اثر تعاملی وجود دارد ($P=0/002$) و عضله تند انقباض EDL با سابقه تمرین کم‌شدت کاهش بیشتری در تراکم فسفولمبان را نشان می‌دهد (جدول ۱).

به‌علاوه، اختلاف معنی‌داری در تراکم فسفولمبان عضله EDL بین گروه‌های کنترل، HIIT و LIT با استفاده از آزمون ANOVA را نشان نداد ($p=0/093$) (جدول ۲). اما، تراکم فسفولمبان عضله

SOL بین گروه‌های کنترل، HIIT و LIT تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p=0/012$). آزمون تعقیبی شفه نشان داد که تراکم فسفولمبان عضله SOL گروه HIIT نسبت به گروه LIT ($p=0/018$) و عضله SOL گروه کنترل نسبت به گروه LIT ($p=0/050$) به‌طور معنی‌داری بالاتر بوده است. اما تراکم فسفولمبان عضله SOL در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($p=0/869$) (جدول ۳). همچنین آزمون t - استودنت مستقل تراکم فسفولمبان پایین‌تر گروه کنترل ($p=0/002$)، گروه LIT ($p=0/018$) و همچنین گروه HIIT ($p=0/001$) عضله EDL نسبت به عضله SOL را نشان داد.

همچنین بررسی چهار هفته بی‌تمرینی نشان داد که تراکم عضلانی سارکولوپین عضله SOL در گروه با سابقه تمرین LIT نسبت به گروه کنترل پایین‌تر است، با این وجود، تفاوتی در تراکم عضلانی گروه با سابقه تمرین HIIT نسبت به گروه کنترل بدون سابقه تمرین مشاهده نگردید (نمودار ۶). همچنین، تراکم سارکولوپین عضله EDL در هیچ یک از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل تغییری را نشان نداد. آزمون تحلیل عاملی بیانگر عدم اثر تعاملی بین نوع عضله درگیر و سابقه فعالیت پس از چهار هفته بی‌تمرینی بود ($P=0/249$) (جدول ۱).

ضمن آنکه، آزمون ANOVA مشخص نمود که اختلاف معنی‌داری بین تراکم سارکولوپین عضله EDL ($p=0/472$) و همچنین عضله SOL ($p=0/279$) بین گروه‌های کنترل، HIIT و LIT پس از دوره بی‌تمرینی وجود ندارد (جدول ۲). همچنین، با استفاده از آزمون t - استودنت مستقل مشخص شد که تراکم پروتئین سارکولوپین در عضله EDL گروه کنترل به‌طور معنی‌داری از عضله SOL پایین‌تر است ($p=0/025$). همچنین تراکم پروتئین سارکولوپین عضله EDL در گروه LIT کم‌تر از عضله SOL بود اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/115$). و تراکم سارکولوپین عضله EDL گروه HIIT به‌طور معنی‌داری کم‌تر از عضله SOL بود ($p=0/004$).

به‌طور کلی مجموع پروتئین‌های مهاری PLN و SLN با در نظر گرفتن نوع تار عضلانی در عضله SOL گروه LIT کاهش ۱۵ درصدی و گروه HIIT افزایش ۵ درصدی را نسبت به گروه کنترل نشان داد. اما عضله EDL با تمرین کم‌شدت کاهش ۴۳ درصدی و با تمرین شدید افزایش ۲۰ درصدی را نشان داد. به‌علاوه، مجموع پروتئین‌های مهاری PLN و SLN بدون در نظر گرفتن نوع عضله، پس از دوره بی‌تمرینی گروه با سابقه LIT ۲۰ درصد کاهش یافت، اما گروه با سابقه HIIT تغییری را نشان نداد. بررسی نوع تار عضلانی مشخص نمود که عضله SOL در گروه با سابقه LIT کاهش ۳۵ درصدی را نسبت به گروه کنترل پس از دوره بی‌تمرینی

داشته است در حالی که گروه دارای سابقه HIIT تغییری را نشان نداد. همچنین عضله EDL در گروه با سابقه تمرین LIT نسبت به گروه کنترل نشان داد.

جدول (۱): آزمون اثر تعاملی شدت تمرین و نوع تار عضلانی بر محتوی پروتئین PLN و SLN

متغیر	منبع واریانس	مجموع	درجه	میانگین	نسبت F	P
(ng/ml)		مجذورات	آزادی	مجذورات		
PLN1	اثر تعاملی شدت×نوع عضله	۰/۶۱۱	۲	۰/۳۰۵	۵/۷۳۵	*۰/۰۰۸
PLN2	اثر تعاملی سابقه تمرین×نوع عضله	۱/۶۴۴	۲	۰/۸۲۲	۷/۸۸۷	*۰/۰۰۲
SLN1	اثر تقابلی شدت×نوع عضله	۰/۸۶۵	۲	۰/۴۳۲	۱۰/۷۹۶	*۰/۰۰۱
SLN2	اثر تعاملی سابقه تمرین×نوع عضله	۰/۲۶۴	۲	۰/۱۳۲	۱/۴۵۷	۰/۲۴۹

×معنی‌داری در سطح ۰/۰۵

جدول (۲): اثر شدت تمرین بر تراکم پروتئین‌های مهاری PLN و SLN

متغیر	منبع واریانس	مجموع	درجه آزادی	میانگین مجذورات	نسبت F	Sig.
		مجذورات				
PLN1	EDL	۰/۶۸۷	۲	۰/۳۴۳	۷/۴۹۶	*۰/۰۰۶
	SOL	۰/۰۷۸	۲	۰/۰۳۹	۰/۶۴۰	۰/۵۴۱
PLN2	EDL	۰/۱۲۲	۲	۰/۰۶۱	۲/۸۰۰	۰/۰۹۳
	SOL	۲/۲۶۹	۲	۱/۱۳۴	۶/۰۷۶	*۰/۰۱۲
SLN1	EDL	۰/۸۰۷	۲	۰/۴۰۴	۱۴/۲۷۶	*۰/۰۰۱
	SOL	۰/۱۸۰	۲	۰/۰۹۰	۱/۷۳۳	۰/۲۱۰
SLN2	EDL	۰/۰۶۳	۲	۰/۰۳۲	۰/۷۹۰	۰/۴۷۲
	SOL	۰/۳۹۳	۲	۰/۱۹۷	۱/۳۹۰	۰/۲۷۹

×معنی‌داری در سطح ۰/۰۵

جدول (۳): آزمون تعقیبی شفه اثر شدت تمرین بر تراکم پروتئین‌های مهاری

متغیر	گروه	گروه	تفاوت میانگین‌ها	P
PLN1(EDL)	کنترل	کم شدت	۰/۳۳۰	۰/۵۶۳
		شدت بالا	-۰/۱۳۵	۰/۱۸۹
	کم شدت	شدت بالا	-۰/۴۶۵	*۰/۰۰۷
PLN2(SOL)	کنترل	کم شدت	۰/۶۷۸	*۰/۰۵۰
		شدت بالا	-۰/۱۳۲	۰/۸۶۹
	کم شدت	شدت بالا	-۰/۸۱۰	*۰/۰۱۸
SLN1(EDL)	کنترل	کم شدت	۰/۳۲۵	*۰/۰۱۵
		شدت بالا	-۰/۱۸۷	۰/۱۸۹
	کم شدت	شدت بالا	-۰/۵۱۲	*۰/۰۰۱

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی هشت هفته اثر تمرین بر پروتئین‌های فسفولمبان و سارکولپین نشان داد که برخلاف پیش‌فرض‌های مورد انتظار تراکم

پروتئین‌های مهاری عضله EDL گروه کنترل نسبت به عضله نعلی اندکی بالاتر بود، از نکات قابل توجه آنکه تمرین کم‌شدت موجب کاهش تراکم پروتئین‌های مهاری در عضله تندانقباض EDL و همزمان افزایش تراکم پروتئین‌های مهاری عضله کندانقباض نعلی نسبت به گروه کنترل گردیده بود. به علاوه، تمرین شدت بالا موجب افزایش تراکم پروتئین‌های مهاری در عضله تندانقباض EDL و همزمان مقداری کاهش در عضله کندانقباض نعلی نسبت به گروه کنترل گردیده بود (نمودار ۱). ضمن آنکه، تمرین با شدت‌های مختلف در تارهای عضلانی کندانقباض و تندانقباض بر تراکم پروتئین PLN اثر متفاوتی دارد.

PLN به مقدار فراوانی در عضله اسکلتی کندانقباض و به مقدار کم‌تر در عضلات اسکلتی تندانقباض انسان مشاهده شده است (۱). نشان داده شده است که افزایش پروتئین‌های مهاری و یا افزایش نسبت آنان به تراکم SERCA موجب تأخیر در خروج کلسیم از سیتوزول و تأخیر در برگشت به وضعیت ریلکسیشن عضلانی می‌گردد (۳۲). این امر در فعالیت‌های استقامتی موجب صرفه‌جویی انرژی و خستگی کم‌تر می‌گردد. همچنین، فسفریله شدن PLN نیز موجب غیرفعال شدن آن در مهار SERCA می‌گردد و عملکرد SERCA در انتقال کلسیم افزایش یابد (۲).

استامرز و همکاران (۲۰۱۵)، نشان دادند که فعالیت موجب افزایش فسفریلاسیون PLN می‌گردد و همچنین میزان PLN فسفریله در عضلات اسکلتی موش‌های تمرین‌کرده نسبت به موش‌های کم‌تحرك بالاتر است (۲). به علاوه موریست و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که عضلات دوقلوی موش‌های تمرین‌کرده نسبت به موش‌های بی‌تمرین بیش از ۱۵۸ درصد افزایش محتوی PLN فسفریله در حین تمرین را دارند (۱۵). البته رز و همکاران (۲۰۰۷)، عنوان نمودند که افزایش سطوح فسفریله PLN در عضلات چهارسرران انسان پاسخی کوتاه‌مدت به ورزش است و پس از چند جلسه تمرین (۳ هفته)، این سازگاری از بین می‌رود (۱۳). از نظر آنان پاسخ فسفریله شدن PLN به ورزش وضعیتی موقتی و گذرا است و به سازگاری بلندمدت بافتی منجر نشده است. کمی و همکاران (۲۰۰۷)، با استفاده از فعالیت تناوبی، فسفریله شدن PLN را مشاهده کردند (۳۳) و دامهل و همکاران (۲۰۰۷)، تراکم پایین‌تر پروتئین PLN غیرفسفریله موش‌های تمرین‌کرده نسبت به موش‌های بی‌تمرین را نشان دادند که می‌تواند حاکی از اثر بلند مدت فعالیت بر کاهش PLN در بافت عضلانی آنان باشد (۳۴).

فسفریلاسیون PLN به ترتیب از طریق تحریک آدرنرژیک و فعالسازی پروتئین کیناز A (PKA) و یا CaMK در باقیمانده سرین ۱۶ (PLNSer) و تیرونین ۱۷ (PLNThr) صورت می‌گیرد و

از این طریق فعالیت SERCA و سرعت انقباض و ریلکسیشن را ۲ تا ۳ برابر افزایش می‌یابد (۳۵). کمی و همکاران (۲۰۰۷)، بیان کردند که شدت بالای تمرین برای فسفریلاسیون PLN و افزایش عملکرد SERCA ضروری است (۳۳). از طرفی، موریست (۲۰۱۴)، بیان نمود که AMPK α 2 نقش مهمی در پاسخ PLN به ورزش دارد. نتایج آنان نشان داد که در نمونه‌های حیوانی (موش) که آنزیم AMPK α 2 آنان مهار شده بود، PLN فسفریله نگرددید (۱۵). اثر تمرین بر تراکم پروتئین فسفولمبان به ندرت مورد بررسی قرار گرفته و اکثر تحقیقات تغییرات آنزیم فسفریله کننده فسفولمبان، CaMKII، را مورد بررسی قرار داده‌اند. آدام و رز، افزایش کوتاه مدت CaMKII عضلات اسکلتی پس از تمرین را گزارش نمودند (۳۶). کمی و همکاران (۳۳) با بلاک نمودن CaMKII کاهش تراکم فسفولمبان فسفریله را پس از تمرین نشان دادند. آدام و رز (۲۰۰۶)، نقش زمان و شدت تمرین بر فسفریلاسیون پروتئین کیناز CaMKII، آنزیم فسفریله‌کننده PLN، را مورد بررسی قرار دادند. در حین تمرین افزایش سریع و خودبخودی در فعالیت CaMKII و فسفریلاسیون در Thr²⁸⁷ در عضله اسکلتی مشاهده شد. به علاوه، فسفریلاسیون PLN، در تیروزین-۱۷، کم‌تر از ۱ دقیقه پس از شروع تمرین، بالا رفت و افزایش ۵ برابری فسفریلاسیون تا ۹۰ دقیقه تمرین ادامه یافت. همزمان با افزایش شدت تمرین از ۳۵ به ۸۵ درصد، فسفریلاسیون فسفولمبان نیز افزایش یافت (۳۶).

ضمن آنکه، سپاریلاوا و همکاران (۲۰۱۵)، با بررسی اثر بیش‌یبانی دیگر پروتئین مهاری، سارکولپین، بر خستگی پذیری، ویژگی‌های انقباضی، و ظرفیت تمرین موش دریافتند که مقاومت بالاتری نسبت به خستگی دارند، و به‌طور معنی‌داری زمان دوییدن طولانی‌تری را نسبت به موش‌های وحشی دارند (۳۷). نشان داده شده که پروتئینی به نام STK16، که بر اثر آبشار سیگنالینگ cAMP راه‌اندازی می‌گردد، در سلول‌های HEK-293 با فسفریله نمودن SLN در تیرونین ۵ (SLN^{Thr5})، اثر مهاری سارکولپین را بر SERCA کاهش می‌دهد (۱۷). به نظر می‌رسد فسفریلاسیون SLN در اسید آمینه سرین/تیروزین STK16 (serine/threonine kinase 16) بر اثرات ریلکس‌کنندگی ناشی از تحریکات آدرنرژیک صورت گیرد (۳۸). بومباردیه و همکاران (۲۰۱۳)، نشان دادند که عضله نعلی موش‌هایی که SLN آنان مهار شده بود نسبت به موش‌های وحشی میزان اتصال SERCA بالاتری به کلسیم داشتند. به علاوه، در وضعیت خواب و استراحت میزان VO₂ کم‌تری دارند. آنان ضمن تأیید اهمیت نقش SERCA در روند گرمایی، عنوان نمودند که اهمیت حذف SLN در مهار عملکرد SERCA تنها در صورتی است که میزان آن به

مقدار زیادی کاهش یابد و تراکم SLN به تراکم SERCA نسبت به وضعیت طبیعی باید به حد مشخصی کاهش یابد تا بر کارایی عملکردی SERCA اثرگذار باشد (۲۱). همچنین، سپارلاوا و همکاران (۲۰۱۴)، با مقایسه موش‌های ترنسژنیک با بیش بیانی SLN و حذف SLN بر عملکردهای گرمزایی عضلانی و خستگی‌پذیری دریافتند که موش‌های SLN ناکاوت شده، به میزان بسیار بالاتری نسبت به محیط سرمایی حساس‌تر بوده و با رژیم غذایی چربی، نسبت به موش‌های نرمال در معرض چاقی بیشتری قرار دارند و با افزودن SLN به آنان نجات پیدا کردند، این امر بیانگر نقش حیاتی SLN برای گرمزایی و افزایش میزان سوخت و ساز آنان بود. از طرفی موش‌هایی که در معرض بیش‌بیانی SLN قرار گرفته بودند، نسبت به موش‌های وحشی، میزان سوخت و ساز بالاتری داشتند و به‌طور معنی‌داری ظرفیت استقامتی، مصرف اکسیژن و توان هوازی بالاتری داشتند و در نسبت به خستگی مقاومت بالاتری نشان می‌دهند (۷).

اما، ترینه (۲۰۱۳)، نشان داد که حذف SLN نه‌تنها موجب کاهش محتوی میتوکندریایی در پاسخ به تمرین نمی‌شود، بلکه شواهد بیانگر افزایش حساسیت عضلات اسکلتی به فعالیت و افزایش فعالیت آنزیم‌های میتوکندریایی بود. موش‌های فاقد SLN، بدون در نظر گرفتن سطح تمرین، میزان Vo2max بالاتری را نسبت به موش‌های وحشی نشان دادند، همچنین زمان بیشتری (۴۰ در مقابل ۳۳ دقیقه دویدن بر روی تردمیل) تمرین نمودند (۲۲). تحقیق تین و همکاران با تحقیقات قبلی که اثر حذف و یا بیش بیانی SLN را بررسی نمودند هم‌خوانی ندارد. زیرا در اکثر تحقیقات موش‌های فاقد SLN با افزایش وزن و کاهش تولید گرمزایی عضلانی مواجه گردیدند. با توجه به مشکلات تکنیکی در سنجش و ارزیابی پروتئین SLN تحقیقات زیادی در زمینه اثر فعالیت بر آن صورت نگرفته است و اکثر تحقیقات انجام گرفته، به بررسی بیش‌بیانی سارکولپین، که عاملی در جهت مهار SERCA است و یا سارکولپین را ناکاوت نموده و کاهش مهار SERCA و افزایش عملکرد آن در انتقال کلسیم را مورد بررسی قرار داده‌اند (۳۷). تحقیقات انجام شده قبلی مربوط به سارکولپین، ازجمله بمباردیه و همکاران (۲۱)، تین و همکاران (۲۲)، سپارلاوا و همکاران (۳۷) و گومو و همکاران (۴) به بررسی ناکاوت سارکولپین پرداختند. با این‌وجود، تحقیقی که اثر فعالیت‌بدنی با شدت‌های مختلف بر تغییرات تراکم سارکولپین را مورد بررسی قرار دهد، مشاهده نگردید.

اثر بی‌تمرینی بر فسفولمبان و سارکولپین:

پس از چهار هفته بی‌تمرینی در هر سه گروه تمرینی تراکم پروتئین‌های مهار PLN و SLN عضله SOL نسبت به عضله

EDL بالاتر بود. با این وجود، تراکم پروتئین‌های مهار عضله SOL در گروه تمرین کم‌شدت نسبت به گروه کنترل پایین‌تر و در گروه تمرین شدت‌بالا نسبت به گروه کنترل اندکی بالاتر بود. اما در عضله EDL گروه تمرین کم‌شدت مقداری بالاتر و گروه تمرین شدت‌بالا اندکی پایین‌تر بود.

بی‌تمرینی، ناشی از قطع محرک‌های تمرینی و یا تمرین ناکافی به صورت کوتاه مدت (کم‌تر از چهار هفته) و یا بلند مدت (بیشتر از ۴ هفته) موجب معکوس شدن روند سازگاری می‌شود (۲۳). با وجود آنکه اثر بی‌تمرینی به ندرت بر پروتئین‌های مهار SERCA مورد بررسی قرار گرفته است اما انتظار می‌رفت که با توجه به تغییرات به وجود آمده در ویژگی‌های تارهای عضلانی در طی ورزش، پروتئین‌های مهار SERCA نیز متناسب با آن تغییر یابند. پت و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند که فاکتورهایی که موجب افزایش فعالیت عصبی عضلانی می‌گردند منجر به انتقال ایزوفورم پروتئین تندانقباض به کندانقباض و تغییر ویژگی‌های تار عضلانی می‌گردند، درحالی‌که، عواملی که فعالیت عصبی-عضلانی را کاهش می‌دهند موجب انتقال از تار عضلانی کندانقباض به تندانقباض می‌گردند. ازجمله عوامل کاهش فعالیت عصبی-عضلانی؛ قطع عصب، آسیب نخاعی، بی‌تمرینی و عوامل کاهش بار مانند بی‌حرکتی در یک وضعیت کوتاه شده، آویزان کردن اندام تحتانی، و تعلیق در فضا نام برد که موجب انتقال از فیبر نوع کندانقباض به نوع تندانقباض می‌گردند (۱۰). لذا انتظار می‌رفت که پس از دوره بی‌تمرینی میزان PLN و SLN در جهت کسب ویژگی‌های تارهای تند انقباض کاهش یابد.

در مطالعات حیوانی نشان داده شده است که برداشتن بار از روی عضله موجب آتروفی ترجیحی فیبرهای نوع I و افزایش فیبرهای نوع II می‌گردد، سارجنت و همکاران (۱۹۷۷) نشان دادند که با وجود عدم تغییر در تعداد انواع فیبرهای نوع I و نوع II، فیبرهای نوع I به میزان بیشتری آتروفی را نسبت به نوع II نشان داده‌اند. به‌طور کلی ۴۲ درصد کاهش میانگین سطح مقطع عضله مشاهده‌گردید (۲۴). با این وجود، مک دوگال (۱۹۸۶) آتروفی بیشتری در تارهای نوع II نسبت به نوع I، پس از شش هفته بی‌حرکتی (عضله سه سر بازویی گچ گرفته شده) مشاهده نمود و دلیل احتمالی آن را پاسخ متفاوت عضلات فوقانی و تحتانی بدن با الگوی متفاوت بی‌حرکتی دانست (۲۵).

اندرسون (۲۰۰۵) بیان نمود که احتمالاً وظایف حرکتی شامل حرکات توانی و سرعتی مانند اسمش بدمیتون، ضربات و کارهای توانی متعاقب دوره بی‌تمرینی و افزایش ویژگی‌های عضلانی تندانقباض، بهبود یابند (۲۷). تغییر نوع تار عضلانی از I به II عموماً پس از ضایعه نخاعی، کاهش ورودی نرون حرکتی به عضله،

تحت شرایط بدون جاذبه، و یا به طور ساده در اثر بی‌تمرینی صورت می‌گیرد (۸). بی‌تمرین متعاقب تمرین استقامتی ممکن است منجر به بهبود پروتئین‌های درگیر در چرخه کلسیم گردد. با این وجود، مزیت عملکردی تغییر نوع تار کندانقباض به نوع تندانقباض با تحلیل حجم عضلانی، کاهش قدرت عضلانی، و کاهش عصب رسانی، از بین رود. البته، احتمال دارد که وظایف حرکتی شامل حرکات توانی و سرعتی مانند اسمش بدمینتون، ضربات و کارهای توانی متعاقب دوره بی‌تمرینی و افزایش ویژگی‌های عضلانی تندانقباض، بهبود یابد (۲۷).

به طور کلی، بدون توجه به نوع عضله، تمرین کم شدت موجب کاهش تراکم مجموع پروتئین‌های مهار (SLN و PLN) گردیده و احتمالاً موجب بهبود عملکرد SERCA با تمرینات هوازی کم‌شدت می‌گردد. به نظر می‌رسد که تمرین هوازی کم‌شدت نسبت به تمرین شدید عملکرد بالاتر SERCA در انتقال کلسیم را موجب گردد. گامو و همکاران (۲۰۱۴)، نشان دادند که حضور همزمان هر دو پروتئین مهار فسفولمبان و سارکولپین مهار فوق بیشینه SERCA را در پی دارد. آنان بیان کردند که توانایی سارکولپین در تخریب پنتامر PLN به شکل مونومری و افزایش تعداد مونومرهای PLN یکی از دلایل احتمالی افزایش قابلیت مهار SERCA در حضور همزمان SLN و PLN است (۴).

همچنین، نشان داده شد که بی‌تمرینی احتمالاً به کاهش عملکرد SERCA به‌ویژه در عضلات تندانقباض (EDL) منجر می‌شود. به‌طوری که با افزایش پروتئین‌های مهار PLN و SLN

انتقال کلسیم و سرعت ریلکسیشن عضلانی کاهش می‌یابد که بهبود فعالیت‌های استقامتی و کاهش عملکردهای توانی را در پی دارد. با این وجود، به دلیل متعدد مؤثر بر عملکرد چرخه کلسیم موجب می‌شود که ابهامات زیادی در زمینه انتقال کلسیم باقی ماند. محدودیت‌های تحقیق حاضر از جمله تعداد کم نمونه، هزینه‌های بالای کیت‌های آزمایشگاهی و نمونه‌برداری، کنترل دقیق میزان اکسیژن مصرفی و کالری مصرفی در حین خواب و بیداری، و همچنین بررسی تغییرات ایزوفورم MHC بود. تحقیق حاضر با این زمینه صورت گرفت تا به بسط دانش پایه در زمینه تأثیر ورزش بر فسفولمبان و سارکولپین بپردازد. به نظر می‌رسد که بررسی انواع SERCA و تغییرات بافت عضلانی و عصبی و توجه به نقش عوامل مهار در عملکرد قلبی و عضلانی بتوان در درمان بیماری‌های قلبی، بیماری‌های مرتبط با چاقی و همچنین برای بهبود عملکرد ورزشکاران مورد استفاده کاربردی کلینیکی و قهرمانی قرار گیرد. ضمن آنکه تحقیقات بیشتر با رفع محدودیت‌های تحقیق در زمینه تأثیر این عوامل بر بهبود بیماران قلبی، کاهش یا افزایش عملکرد ورزشکاران و همچنین نقش این عوامل در کاهش وزن ضروری می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه دکترای فیزیولوژی ورزشی با تأیید کمیته اخلاق با شناسه (کد) اخلاقی IR.UI.REC.1396.43 بدون هیچ‌گونه کمک هزینه مالی انجام گردیده است.

Reference:

1. Shaikh SA. Regulation of the Sarco-endoplasmic Reticulum Calcium ATPase by Sarcolipin: The Ohio State University; 2015.
2. Stammers AN, Susser SE, Hamm NC, Hlynsky MW, Kimber DE, Kehler DS, et al. The regulation of sarco (endo) plasmic reticulum calcium-ATPases (SERCA). Canadian J Physiol Pharmacol 2015;93(10): 843-54.
3. Tupling AR, Bombardier E, Gupta SC, Hussain D, Vigna C, Bloemberg D, et al. Enhanced Ca²⁺ transport and muscle relaxation in skeletal muscle from sarcolipin-null mice. Am J Physiology-Cell Physiol 2011;301(4): C841-C9.
4. Gamu D, Bombardier E, Smith IC, Fajardo VA, Tupling AR. Sarcolipin provides a novel muscle-based mechanism for adaptive thermogenesis. Exercise Sport Sci Rev 2014;42(3): 136-42.
5. Berchtold MW, Brinkmeier H, Müntener M. Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. Physiol Rev 2000;80(3): 1215-65.
6. Mustroph J, Wagemann O, Lebek S, Tarnowski D, Ackermann J, Drzymalski M, et al. SR Ca²⁺-leak and disordered excitation-contraction coupling as the basis for arrhythmogenic and negative inotropic effects of acute ethanol exposure. J Mol Cell Cardiol 2018;116: 81-90.
7. Sopariwala D, Shaikh S, Pant M, Rowland L, Periasamy M. Sarcolipin overexpression in mice increases their endurance exercise capacity

- (1162.2). FASEB J 2014;28(1_supplement): 1162.2.
8. Pette D, Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem Cell Biol* 2001;115(5): 359-72.
9. Andersen JL, Klitgaard H, Saltin B. Myosin heavy chain isoforms in single fibres from m. vastus lateralis of sprinters: influence of training. *Acta Physiol Scand* 1994;151(2): 135-42.
10. Pette D, Staron RS. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev Cytol* 1997. 143-223.
11. Ferreira JC, Bacurau AV, Bueno CR, Cunha TC, Tanaka LY, Jardim MA, et al. Aerobic exercise training improves Ca²⁺ handling and redox status of skeletal muscle in mice. *Experiment Biol Med* 2010;235(4): 497-505.
12. Egan B, Carson BP, Garcia - Roves PM, Chibalin AV, Sarsfield FM, Barron N, et al. Exercise intensity - dependent regulation of peroxisome proliferator - activated receptor γ coactivator - 1 α mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *J Physiol* 2010;588(10): 1779-90.
13. Rose AJ, Frøsig C, Kiens B, Wojtaszewski JF, Richter EA. Effect of endurance exercise training on Ca²⁺-calmodulin - dependent protein kinase II expression and signalling in skeletal muscle of humans. *J Physiol* 2007;583(2): 785-95.
14. Kemi OJ, Ceci M, Condorelli G, Smith GL, Wisloff U. Myocardial sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase function is increased by aerobic interval training. *Eur J Cardiovasc Prevent Rehabil* 2008;15(2): 145-8.
15. Morissette MP, Susser SE, Stammers AN, O'Hara KA, Gardiner PF, Sheppard P, et al. Differential regulation of the fiber type-specific gene expression of the sarcoplasmic reticulum calcium-ATPase isoforms induced by exercise training. *J Appl Physiol* 2014;117(5): 544-55.
16. Soares L, Drummond F, Lavorato V, Carneiro-Junior M, Natali A. Exercise training and pulmonary arterial hypertension: A review of the cardiac benefits. *Science & Sports*; 2018.
17. Gramolini AO, Trivieri MG, Oudit GY, Kislinger T, Li W, Patel MM, et al. Cardiac-specific overexpression of sarcolipin in phospholamban null mice impairs myocyte function that is restored by phosphorylation. *Proceed National Academy Sci* 2006;103(7): 2446-51.
18. Shanmugam M, Molina CE, Gao S, Severac-Bastide R, Fischmeister R, Babu GJ. Decreased sarcolipin protein expression and enhanced sarco (endo) plasmic reticulum Ca²⁺ uptake in human atrial fibrillation. *Biochem Biophysical Res Commun* 2011;410(1): 97-101.
19. Zheng J, Yancey DM, Ahmed MI, Wei C-C, Powell PC, Shanmugam M, et al. Increased sarcolipin expression and adrenergic drive in humans with preserved left ventricular ejection fraction and chronic isolated mitral regurgitation. *Circulation: Heart Failure*. 2013; CIRCHEARTFAILURE. 113.000519.
20. Sahoo SK, Shaikh SA, Sopariwala DH, Bal NC, Periasamy M. Sarcolipin protein interaction with sarco (endo) plasmic reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA) is distinct from phospholamban protein, and only sarcolipin can promote uncoupling of the SERCA pump. *J Biol Chem* 2013;288(10): 6881-9.
21. Bombardier E, Smith IC, Vigna C, Fajardo VA, Tupling AR. Ablation of sarcolipin decreases the energy requirements for Ca²⁺ transport by sarco (endo) plasmic reticulum Ca²⁺ - ATPases in resting skeletal muscle. *FEBS Letters* 2013;587(11): 1687-92.
22. Trinh A. Effects of Sarcolipin Ablation on Mitochondrial Enzyme Adaptations to Exercise Training: University of Waterloo; 2013.

23. Mujika I, Padilla S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part I. *Sports Med* 2000;30(2): 79-87.
24. Sargeant A, Davies C, Edwards R, Maunder C, Young A. Functional and structural changes after disuse of human muscle. *Clin Sci* 1977;52(4): 337-42.
25. MacDougall D. Morphological changes in human skeletal muscle following strength training and immobilization. *Human Muscle and Power*. 1986.
26. Mujika I, Padilla S. Muscular characteristics of detraining in humans. *Med Sci Sport Exercise* 2001;33(8): 1297-303.
27. Andersen LL, Andersen JL, Magnusson SP, Suetta C, Madsen JL, Christensen LR, et al. Changes in the human muscle force-velocity relationship in response to resistance training and subsequent detraining. *J Appl Physiol* 2005;99(1): 87-94.
28. Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovasc Res* 2007;77(2): 265-73.
29. Schulte LM, Navarro J, Kandarian SC. Regulation of sarcoplasmic reticulum calcium pump gene expression by hindlimb unweighting. *Am J Physiology-Cell Physiol* 1993;264(5): C1308-C15.
30. Vanderburg CR, Clarke MS. Laser capture microdissection of metachromatically stained skeletal muscle allows quantification of fiber type specific gene expression. *Mol Cell Biochem* 2013;375(1-2): 159-70.
31. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Euro J Cardiovasc Prevent Rehabil* 2007;14(6): 753-60.
32. Treves S, Jungbluth H, Voermans N, Muntoni F, Zorzato F. Ca^{2+} handling abnormalities in early-onset muscle diseases: Novel concepts and perspectives. *Seminars in cell & developmental biology*; 2017.
33. Kemi OJ, Ellingsen Ø, Ceci M, Grimaldi S, Smith GL, Condorelli G, et al. Aerobic interval training enhances cardiomyocyte contractility and Ca^{2+} cycling by phosphorylation of CaMKII and Thr-17 of phospholamban. *J Mol Cell Cardiol* 2007;43(3): 354-61.
34. Duhamel T, Stewart R, Tupling AR, Ouyang J, Green H. Muscle sarcoplasmic reticulum calcium regulation in humans during consecutive days of exercise and recovery. *J Appl Physiol* 2007;103(4): 1212-20.
35. MacLennan DH, Kranias EG. Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2003;4(7): 566.
36. Rose AJ, Kiens B, Richter EA. Ca^{2+} -calmodulin - dependent protein kinase expression and signalling in skeletal muscle during exercise. *J Physiol* 2006;574(3): 889-903.
37. Sopariwala DH, Pant M, Shaikh SA, Goonasekera SA, Molkentin JD, Weisleder N, et al. Sarcolipin overexpression improves muscle energetics and reduces fatigue. *J Appl Physiol* 2015;118(8): 1050-8.
38. Bhupathy P, Babu GJ, Ito M, Periasamy M. Threonine-5 at the N-terminus can modulate sarcolipin function in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2009;47(5): 723-9.

THE EFFECT OF DIFFERENT TRAINING INTENSITIES AND CONSEQUENT DETRAINING ON LEVELS OF SARCOLIPIN AND PHOSPHOLAMBAN IN FAST-TWITCH AND SLOW-TWITCH MUSCLES OF MALE WISTAR RATS

*Fahime Esfarjani^{*1}, Seyed Mohamad Marandi², Hemmat Allah Moradi³*

Received: 01 Jul, 2019; Accepted: 01 Oct, 2019

Abstract

Background & Aims: Calcium plays a major role in cellular functions such as transmission, secretion, the activity of fuel enzymes, cell adhesion, and muscle contraction. Disturbance in its cytosolic levels is associated with cellular abnormalities and apoptosis. The purpose of this study was to investigate the effect of different training intensities, and consequent detraining on changes in phospholamban, and sarcolipin, inhibitory proteins involved in the transfer of calcium.

Materials & Methods: The present research is applied and developmental in terms of purpose and experimental in terms of the method. Thirty-six male Wistar rats (325.66 ± 35.92) were divided into three groups: aerobic training (AE), high intensity interval training (HIIT), and control (CO). The AE and HIIT groups ran on treadmills at speeds of 12 to 15 and 25 to 30 (m/min) for 8 weeks. At the end of eight weeks of training and four weeks of detraining, the samples were killed, and their extensor digitorum longus (EDL) and soleus (Sol) muscles were removed, homogenized, and centrifuged. ELISA test was used to evaluate the content of PLN and SLN proteins. ANOVA, independent t-test, and two-way analysis of variance test ($\alpha = 0.05$) were used for statistical analysis.

Results: The results of the study showed that there is a significant interactive effect between the exercise intensity and the type of muscle on the content of inhibitory proteins, phospholamban ($P = 0.008$), and sarcolipin ($P = 0.001$). In addition, after four weeks of detraining, interactive effect between muscle type and background of training on phospholamban density ($p = 0.002$) was observed.

Conclusion: It seems that AE exercises in slow-twitch muscles cause more reduction in inhibitory proteins. It also increases the level of inhibitory proteins, especially in the muscle, which reduces the calcium transfer rate.

Keywords: phospholamban protein, sarcolipin, high intensity interval training, aerobic training, detraining

Address: Faculty of physical education and sport sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Tel: +989167042416

Email: phy.edu2010@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2019; 30(8): 620 ISSN: 1027-3727

¹ Associate Professor of Sport physiology, Faculty of physical education and sport sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran (Corresponding Author)

² Associate Professor of Sport physiology, Faculty of physical education and sport sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

³ PhD student, Faculty of physical education and sport sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran