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

**محمد حسین‌زاده[۱]، امیر رشیدلمیر[۲]*، سید محمود حجازی[۳]**

۱. گروه تربیت‌بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.
۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکدهٔ علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳. گروه تربیت‌بدنی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۷

## چکیده

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

**مواد و روش‌ها** در این پژوهش ۱۵سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل (۵ سر)، تمرین استقامتی (۵ سر) و تمرین مقاومتی (۵ سر)، تقسیم شدند.گروه استقامتی تمرینات را به مدت ۸ هفته روی نوارگردان و گروه مقاومتی نیز تمرینات مقاومتی را به مدت هشت هفته روی نردبان یک متری با شیب ۸۵ درجه انجام دادند.۷۲ ساعت پس از پایان تمرین حیوانات بی‌هوش شده، بافت عضله دوقلو جدا و اندازه‌گیری بیان ژن FNDC5 انجام شد. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده و معناداری در سطح $p\leq ۰/۰۵$ پذیرفته شد.

**یافته‌ها** اختلاف معناداری در بیان ژن FNDC5 در بین گروه‌ها مشاهده شد ($p= ۰/۰۰۱$ و $F= ۳۱/۷۹۱$). به‌کارگیری آزمون تعقیبی Tukey نشان داد، بیان ژن FNDC5 عضلهٔ دوقلو در گروه تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری (به ترتیب $p<۰/۰۰۱$ و $p<۰/۰۰۱$) افزایش داشته است. اما تفاوت معناداری بین گروه تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی در بیان ژن FNDC5 مشاهده نشد ($p= ۰/۹۹۹$).

**نتیجه‌گیری** نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرینات ورزشی مقاومتی و استقامتی فزاینده می‌تواند باعث تنظیم افزایشی بیان ژنFNDC5 عضلهٔ اسکلتی شود و به نظر می‌رسد عملکرد تمرینات مقاومتی و استقامتی در این زمینه مشابه است.

**کلیدواژه‌ها:**
FNDC5، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی.

## مقدمه

چاقی، بیماری مزمنی است که در نتیجهٔ انباشت چربی اضافی در بدن ایجاد می‌شود و می‌تواند به افزایش عوارض جانبی بر سلامتی انسان بیانجامد. عوارضی مانند: بیماری‌های قلبی عروقی، مقاومت انسولینی، فشار خون و افزایش خطر سرطان[۱]. بافت چربی را می‌توان به دو نوع بافت چربی سفید

* نویسندهٔ مسئول: امیر رشیدلمیر
نشانی:

تلفن: ۰۹۱۵۱۵۱۴۱۷۴ دورنگار:
رایانه: rashidlamir@um.ac. ir
شناسه ORCID: 0000-0001-6180-8554
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0003-0224-2989

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

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

مطالعات بسیاری نقش فعالیت بدنی را در دستگاه‌های مختلف بدن مانند کبد، مغز، بافت چربی و قلب مشخص کرده‌اند و نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی از بین اندام‌های دیگر بدن، عضلات اسکلتی را به‌طور مستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱]. به‌طورکلی فعالیت بدنی در برابر چندین نوع بیماری ازجمله بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت نوع دو، انواعی از سرطان‌ها، افسردگی، پوکی استخوان و سارکوپنیا محافظت می‌کند. این آثار مفید فعالیت بدنی احتمالاً به دلیل ترکیبی از بهبود تعادل انرژی، کاهش چاقی و التهاب است که به‌طور بالقوه از طریق پروتئین‌های رهاشده از عضلهٔ اسکلتی (مایوکاین‌ها) هدایت می‌شود که در این زمینه آیریزین به‌عنوان مایوکاین پاسخگو به ورزش پیشنهاد شده است [۱۰]. مطالعات مختلف انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که بیان آیریزین/FNDC5 با شدت، مدت و نوع ورزش مرتبط است [۴، ۱۱-۱۴]. ازجمله، بستروم و همکاران (۲۰۱۲)، در پژوهشی نشان دادند که انجام سه هفته تمرینات استقامتی دویدن روی تردمیل با شدت متوسط، به افزایش دوبرابری در بیان mRNA UCP1 در بافت چربی احشایی و افزایش ۲۵ برابری در بافت چربی زیر جلدی شکمی در موش‌های صحرایی منجر می‌شود، در بخش دیگری از یافته‌های این پژوهش، سه هفته تمرین شنا به افزایش ۶۵ برابری در بیان UCP1 mRNA چربی شکمی انجامید. همچنین این پژوهشگران نشان دادند که انجام ۱۰ هفته تمرین استقامتی باعث افزایش دو برابری FNDC5 mRNA و UCP1 mRNA در آزمودنی‌های انسانی می‌شود [۱۱]. به‌طورکلی فعالیت بدنی فنوتیپ اکسیداتیوی عضلهٔ اسکلتی را که به‌وسیلهٔ افزایش بیان ژن PGC-1α تعیین می‌شود ارتقا می‌دهد. این کواکتیواتور رونویسی، بیوژنز میتوکندریایی را در عضلهٔ اسکلتی افزایش می‌دهد که تعیین‌کنندهٔ تغییرات فنوتیپی و فیزیولوژیکی است [۱۳]. ازاین‌رو می‌توان چنین استنباط کرد که تمرین، یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر بیان این ژن‌ها و دیگر اعمال آن بر متابولیسم انرژی است [۱۵]. در رابطه با انواع تمرینات ورزشی، گزارش‌شده است که بیشتر، سازگاری‌های متابولیکی ناشی از تمرینات هوازی کانون توجه قرار گرفته است، اما امروزه ارزش بالقوهٔ تمرین مقاومتی درزمینهٔ توسعهٔ سلامت و آمادگی نیز درک شده و اهمیت برجسته این تمرینات در این است که تمرین مقاومتی ضمن افزایش یا حفظ تودهٔ عضلانی، سازگاری‌های متابولیک با این نوع فعالیت ورزشی می‌تواند با وساطت مسیر مشابه سلولی، به سازگاری‌های مشابه با سازگاری به تمرینات استقامتی منجر شود [۶]. بااین‌حال، در حوزهٔ ورزش نتایج راجع به آیریزین و بیان ژن FNDC5 کمتر مورد توجه بوده است و پژوهش‌های موجود در این خصوص نتایج متفاوتی در پی داشته است. به‌ویژه اینکه تاکنون مقایسهٔ بین تمرینات مختلف و میزان اثرگذاری آن‌ها بر بیان ژن FNDC5 بافت عضلهٔ اسکلتی انجام نشده است و ازاین‌رو، پژوهش حاضر درصدد است اثر دو نوع پروتکل تمرین مقاومتی و استقامتی فزاینده را بر تغییرات بیان ژن FNDC5 عضلهٔ دوقلوی رت‌های نر بررسی کند.

## مواد و روش‌ها

**آزمودنی‌ها:** پژوهش حاضر از نوع تجربی بوده و به منظورانجام آن، در فصل پاییز سال۱۳۹۵، ۱۵ سر موش صحرایی نر، ۱۰ تا ۱۲ هفته‌ای نژاد ویستار، (با میانگین وزن ۶۳/۰۹ ± ۳۳۱/۸ گرم) از مرکز پرورش موش دانشکدهٔ علوم پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد خریداری شد و برای اجرای پژوهش به آزمایشگاه حیوانی دانشکدهٔ علوم ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد. پس از اندازه‌گیری وزن اولیه، حیوانات به‌طور تصادفی در سه گروه کنترل (۵ سر)، تمرین هوازی (۵ سر) و تمرین مقاومتی (۵ سر) قرار گرفتند. موش‌ها تحت شرایط کنترل شدهٔ نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما (۱ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد) و رطوبت ۵۰ درصدی در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس پلی‌کربنات شفاف با درپوش فلزی نگه‌داری شدند به‌طوری‌که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

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

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

تمرین مقاومتی نیز به مدت ۸ هفته و هفته‌ای ۳ جلسه انجام شد. در هفتهٔ نخست، میزان وزنه‌های بسته‌شده به دم موش‌ها ۵۰ درصد از وزن بدن آن‌ها بود که با افزایش ۱۰ درصدی در هر هفته ادامه یافت. تمرینات روی یک نردبان به طول ۱ متر انجام شد. بدین‌صورت که وزنه‌ای از طریق یک گیره به دم آن‌ها متصل شده و در این حالت، حیوان از نردبان بالا می‌رفت. این کار در ۳ نوبت ۵ تکراری انجام شد که فاصلهٔ بین نوبت‌ها ۳ دقیقه و بین تکرارها ۱ دقیقه بود. این شیوهٔ تمرینی با اندکی تغییرات از منابع معتبر گرفته شد [۶، ۱۷]. در این مدت گروه کنترل هیچ‌گونه تمرینی انجام نمی‌دادند.

**نحوهٔ نمونه‌گیری و اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی:** ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، نخست حیوانات در فضای ویژه نمونه‌برداری (محیط استریل) با ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و زایلازین ( ۳ تا ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)[۶] بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی با عقب‌نکشیدن پا توسط لمس، در قسمت پوست ناحیهٔ عضلهٔ دوقلو ایجاد شد و با ظاهر شدن عضلهٔ دوقلو، بافت‌برداری انجام و بلافاصله با سرم فیزیولوژی سردشده، تمیز و داخل میکروتیوپ قرار داده و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد. سپس، نمونه‌های کبد به فریزر با دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شد.

به‌منظور استخراج mRNA، بافت حاصل دو بار با PBS گرم شستشو داده شد و به داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میکرولیتر انتقال داده شد. به هر تیوب Tripure ۱ ml اضافه شد. چندین بار بافت پیپت شده تا سلول‌ها به‌طور کامل لیز شوند. نمونه‌های هموژن شده به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر کلروفورم به هر تیوب و ۱۵ ثانیه شیک شدید، تیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شدند. سپس تیوب‌ها در سانتریفیوژ با دور g ۱۲۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. فاز رویی به‌آرامی به میکروتیوب استریل جدید منتقل شد و ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه و چندین بار معکوس شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. نمونه‌ها در g ۱۲۰۰۰به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. محلول رویی دور ریخته و به هر تیوب ۱ ml اتانول ۷۵ درصد اضافه شد. پس از شستشوی پلت RNA در اتانول توسط ورتکس کردن، نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور g ۷۵۰۰و به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. محلول رویی دور ریخته و اجازه داده شد تا رسوب RNA در دمای اتاق نیمه‌خشک شود. رسوب RNA در ۲۰ میکرولیتر آب DEPC حل شد. محلول به‌دست‌آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد و بلافاصله در فریزر منفی ۸۰ قرار گرفت. سپس، از RNA استخراج‌شده به‌وسیلهٔ کیت سنتز cDNA (BIONEER، کره)، cDNA سنتز شد. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای ژن FNDC5 [۶] و ژن رفرنس [۱۸]

در جدول ۱ آمده است.

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

**جدول ۱. توالی نوکلئوتیدی پرایمرها**

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

**جدول ۲. برنامه زمانی دمایی Real- time PCR**

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

پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه به‌دست آمد. از نسبت سیکل آستانهٔ ژن مورد نظر با ژن خانه‌گردان، میزان بیان ژن مورد نظر با روش 2-ΔΔCt از طریق معادلهٔ زیر به دست آمد [۱۹]. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه سیکل آستانه Ct هر نمونه مشخص شد. از نسبت سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن خانه‌گردان می‌توان میزان بیان ژن مورد نظر را با استفاده از روش 2-ΔΔCt به طریق زیر به دست آورد. به این صورت که نخست سیکل آستانه ژن مورد نظر هر نمونه را از سیکل آستانهٔ ژن خانه‌گردان همان نمونه کم می‌کنیم.

(ΔCt= Ct Target- Ct Housekeeping)

در مرحلهٔ بعد، ΔCt هر نمونه را از نمونه‌ای که نسبت به آن می‌خواهیم مقایسه کنیم کم کرده، منفی عدد به‌دست‌آمده را می‌توان به توان دو رساند و بیان نسبی آن ژن را به دست آورد.

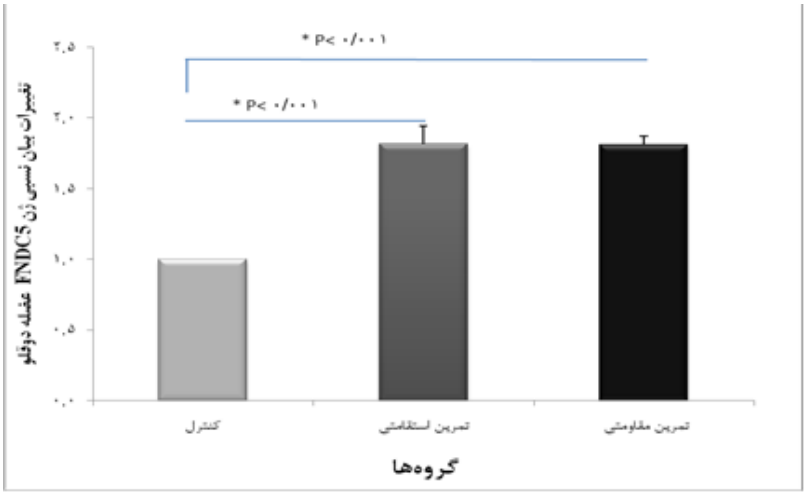
(ΔΔCt= ΔCt Target - ΔCt Reference)

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

**تجزیه‌وتحلیل آماری:** پس از تعیین توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک، برای مقایسهٔ تفاوت میانگین گروه‌ها، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن از آزمون Tukey استفاده شد. اختلاف معناداری آماری در سطح $p\leq$ ۰/۰۵ تعیین شد. همچنین از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۶ برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شد.

## نتایج

نتایج آزمون شاپیروویلک نشان داد که توزیع داده‌ها طبیعی است و تحلیل واریانس یک‌طرفه، اختلاف معنادار بیان ژن FNDC5 را در بین گروه‌ها آشکار ساخت (p= ۰/۰۰۱ و F= ۳۱/۷۹۱).




**شکل۱. بیان نسبی ژن FNDC5 عضلهٔ دوقلو در گروه‌های کنترل، تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی**

*: نشان‌دهندهٔ تفاوت بین‌گروهی معنادار

به‌کارگیری آزمون تعقیبی Tukey نشان داد، بیان ژن FNDC5 عضلهٔ دوقلو در گروه تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری (به ترتیب p<۰/۰۰۱ و p<۰/۰۰۱) بالاتر بوده است. اما تفاوت معناداری بین گروه تمرین هوازی و تمرین مقاومتی در بیان ژن FNDC5 مشاهده نشد (p= ۰/۹۹۹ ).

## بحث

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

اخیراً، از عضلهٔ اسکلتی به‌عنوان بافت درون‌ریز نام‌برده می‌شود که نه‌تنها دربرگیرندهٔ مولکول‌های متابولیکی مهم بوده و بیان هرکدام از این مولکول‌ها متابولیسم را تغییر می‌دهد، بلکه از طریق ترشح هورمون‌هایی با دیگر بافت‌ها در ارتباط است [۶]. ازآنجایی‌که این ترشحات از عضلهٔ اسکلتی رها می‌شوند و در قالب مکانیسم‌های اندوکراینی، اتوکراینی و پاراکراینی عمل می‌کنند مایوکاین نامیده شده‌اند و ممکن است در آثار مفید ورزش دخالت داشته باشند [۱]. آیریزین یک آدیپومایوکاین جدید است که بلافاصله پس از ورزش، از FNDC5 جدا شده و به جریان خون ترشح می‌شود و به‌طور طبیعی نقش ضد چاقی ایفا کرده و در برابر بیماری‌های مرتبط با چاقی محافظت می‌کند [۱۹] و بر اساس مطالعات، تقریباً ۷۲ درصد fndc5/irisin از بافت عضله و احتمالاً حدود ۲۸ درصد باقیمانده از طریق بافت چربی ترشح می‌شود [۲۰]. FNDC5که یکی از پروتئین‌های هدف PPARγ و PGC-1α است [۱] می‌تواند خطر بیماری‌های قلبی و همچنین روند پیری را تحت تأثیر قرار دهد [۲۱]. پروتئین PPAR-γ، گیرنده‌های هسته‌ای هستند که برای تعدیل بیان ژن‌های هدف درگیر در متابولیسم لیپید و گلوکز فعالیت می‌کنند و به‌عنوان بازدارنده فرایند آترواسکلروزیس شناخته‌شده‌اند [۹]. از طرفی، مطالعات اخیر حیوانی (موش) نشان داده‌اند که کواکتیواتور رونویسی PGC-1α که بیوژنز میتوکندریایی را افزایش می‌دهد، بیان ژن FNDC5 را تحریک می‌کند که به افزایش بافت چربی قهوه‌ای، افزایش اکسیژن مصرفی، حساسیت انسولینی، و تحمل گلوکز منجر می‌شود[۱۳].

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

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

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

به‌طورکلی، نتایج ضدونقیض ارتباط عملکرد آیریزین و ژن پیش‌ساز آن، FNDC5 عضله اسکلتی، را در هموستاز انرژی و سلامت متابولیکی همراه با نقش تنظیمی ورزش و PGC1-α گزارش کرده‌اند.

ازآنجایی‌که، نقش متابولیکی آیریزین، به‌وسیلهٔ افزایش انرژی هزینه کرد و هموستاز گلوکز شناسایی شده است. ازاین‌رو، منطقی است که آیریزین و FNDC5 در پاسخ به تمرین استقامتی و هوازی افزایش یابند که به‌طورکلی از طریق افزایش ظرفیت اکسایشی و عملکرد میتوکندریایی شناخته می‌شود[۲۵].

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

AMPK عضلهٔ اسکلتی در پاسخ به استرس انرژتیکی مانند تمرین استقامتی که شارژ آدنیلات سلول را مختل می‌کند، فعال می‌شود و گزارش شده است که حذف فعالیت AMPK ویژه عضله، سطوح بیان ژن FNDC5 را کاهش می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد ارتباط جدیدی بین AMPK عضلهٔ اسکلتی و حفظ سطوح پایه بیان ژن FNDC وجود دارد و همان‌طور که ذکر شد، این ارتباط ممکن است به‌صورت محور تنظیمی AMK-PGC-1α- FNDC5 باشد، به‌طوری‌که نشان داده شده است AMPK بالادست PGC-1α عمل می‌کند[۲۴] و به نظر می‌رسد دلایل افزایش بیان ژن FNDC5 را باید در سیگنال‌های فعال‌کننده PGC-1α جستجو کرد[۲].

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

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

باعث افزایش UCP1 شود که این امر نشان‌دهندهٔ افزایش گرمازایی و هزینهٔ انرژی از طریق تبدیل آن به گرما است [۶].

## نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرینات ورزشی با شدت متوسط می‌توانند باعث تنظیم افزایشی بیان ژن FNDC5 عضله اسکلتی شوند و به نظر می‌رسد تأثیرات تمرینات مقاومتی و استقامتی فزاینده در این زمینه مشابه است. باتوجه به پژوهش‌های گسترده دربارهٔ عملکردهای متابولیکی هورمون آیریزین، مطالعات اندکی مکانیسم‌های افزایش بیان ژن FNDC5 را تحت تأثیر تمرینات مختلف ورزشی بررسی کرده‌اند و اینکه چه نوع پروتکل ورزشی، و با چه شدت و مدتی، می‌تواند افزایش سطوح آیریزین را در عموم جمعیت افزایش دهد هنوز مبهم است و به نظر می‌رسد در مطالعات آینده مکانیسم‌های تنظیمی آن باید بیشتر بررسی شود.

## تشکر و قدردانی

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

## References

[1]. Panati K, Suneetha Y, Narala V.R. Irisin/FNDC5 – An updated review. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2016; 20: 689-97.
[2]. Khodadadi H, Rajabi H, Attarzadeh SR, Abbasian S. The Effect of High Intensity Interval Training (HIIT) and Pilates on Levels of Irisin and Insulin Resistance in Overweight Women. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2014; 16 (3): 190-6. [in Persian]
[3]. Aghamohammadi M, Habibi A, Ranjbar R. The effect of selective aerobic training on serum irisin levels and insulin resistance index in women with type 2 diabetes. Arak Medical University Journal (AMUJ). 2016; 18 (04): 1-9. [in Persian]
[4]. Lui J, Cui X.Y, Yang Y.Q, Gao W, Sun L, Dong Y.C et al. Effects of high-intensity treadmill training on timeliness and plasticity expression of irisin in mice. EuropeanReviewforMedical andPharmacological Sciences. 2015; 19: 2168-273.
[5]. Malekyian-Fini E, Kaviani-Nia A, Mahmoudi F. The interactive effect of aerobic training and resveratrol supplementation on C-reactive protein and metabolic profiles in women with type 2 diabetes. Journal of Kashan University of Medical Sciences. 2015; 19 (5): 372-81. [in Persian]
[6]. Reisi J, Rajabi H, Ghaedi K, Marandi M, Asady samani Z, kazemi nasab F. Effect of eight weeks' resistance training on plasma irisin protein level and muscle FNDC5 and adipose tissue UCP1 genes expression in male rats. Exercise physiology. 2015; (28): 118- 30. [in Persian]
[7]. G. Swick A. Irisin, a novel myokine: potential role in obesity and diabetes. Heart Metab 2013; 61: 39-40.
[8]. Barja-Fernández S, Folgueir C, Castelao C, Al-Massadi O, Bravo S.B, Garcia-Caballero T et al. FNDC5 is produced in the stomach and associated to body composition. Scientificreports. 2016; 6:23067: 1-12.
[9]. Schumacher M, Chinnam N, Ohashi T, Sanjay Shah R, P. Erickson H. The Structure of Irisin Reveals a Novel Intersubunit-Sheet Fibronectin Type III (FNIII) Dimer. Journal of Biologycal Chemisty. 288 (47): 33738-44.
[10]. Norheim F, Mikal Langleite T, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Kristian Stadheim H et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1a, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans 2014; 281: 739-49.
[11]. Fain J,M. Company J,W. Booth C, Harold Laughlin M, Padilla J,T. Jenkins N et al. Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. Metabolism. 2013; 62 (10): 1503- 11.
[12]. Tsuchiya Y, Ando D, Goto K, Kiuchi M, Yamakita4 M, Koyama K. High-Intensity Exercise Causes Greater Irisin Response Compared with Low-Intensity Exercise under Similar Energy Consumption. Tohoku J. Exp. Med 2014; 233 (2): 135-40.
[13]. Lecker S, Zavin A, Cao P, Arena R, Allsup K, M. Daniels K et al. Expression of the Irisin Precursor FNDC5 in Skeletal Muscle Correlates With Aerobic Exercise Performance in Patients With Heart Failure. Circ Heart Fail 2012; 812- 18.
[14]. Miyamoto-Mikami E, Sato K, Kurihara T, Hasegawa N, Fujie S, Fujita S et al. Endurance Training-Induced Increase in Circulating Irisin Levels Is Associated with Reduction of Abdominal Visceral Fat in Middle-Aged and Older Adults. PLOS ONE 2015; 1-12.
[15]. Boström P, Wu J,P. Jedrychowsk M, Korde A, Ye Li, C. Lo J et al. A PGC1α-dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. Nature 2012; 481(7382): 463–8.
[16]. Disanzo B, You T. Effects of exercise training on indicators of adipose tissue angiogenesis and hypoxia in obese rats. Metabolism Clinical and Eeperimental 2014; 452-5.
[17]. Matinhomaee H, Ziaolhagh S J, Azarbayjani M A, Piri M. Effects of Boldenone consumption and resistance exercise on hepatocyte morphologic damages in male wistar rats. European Journal of Experimental Biology. 2014; 4(2):211-4.
[18]. Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Method. Methods. 2001; 25: 402-8.
[19]. Pukajło K, Kolackov K, Łaczmański Ł, Daroszewski J. Iryzyna – nowy mediator homeostazy energetycznej. Postepy Hig Med Dosw (online). 2015; 69: 233-42.
[20]. Roca-Rivada A, Castelao C, L. Senin l, O. Landrove M, Baltar j, Crujeiras A B et al. FNDC5/Irisin Is Not Only a Myokine but Also an Adipokine PLOS ONE. 2013; 8(4): 1-10.
[21]. Sanchis-Gomar F, Garatachea N, He Z, Pareja-Galeano H, Fuku N, Tian Y et al. FNDC5 (irisin) gene and exceptional longevity: a functional replication study with rs16835198 and rs726344 SNPs. Age. 2014; 36: 9733.
[22]. Elsen M, Raschke S, Eckel J. Browning of white fat: does irisin play a role in humans?. Journal of Endocrinology. 2014; 222: 25– 38.
[23]. Srivastava N. ATP binding cassette transporter A1 – key roles in cellular lipid transport and atherosclerosis. Molecular and Cellular Biochemistry. 2002; 237:155–64.
[24]. Lally J.S, Ford R.J, Johar J, Crane J.D, Kemp B.E, Steinberg G.R. Skeletal muscle AMPK is essential for the maintenance of FNDC5 expression. Physiological Reports. 2015; 3 (5): 12343-52.
[25]. Pekkala S, Wiklund P, Hulmi J, Ahtiainen J, Horttanainen M, Pollanen E, et al. Are skeletal muscleFNDC5gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health?. J Physiol. 2013; 591 (21): 5393-400.
[26]. Ghanbari-Niaki A, Ghanbari-Abarghooi S, Rahbarizadeh F, Zare-Kookandeh N, Gholizadeh M, Roudbari F et al. Heart ABCA1 and PPAR-α Genes Expression Responses in Male rats: Effects of High Intensity Treadmill Running Training and Aqueous Extraction of Black Crataegus-Pentaegyna. Research in Cardiovascular Medicine. 2013; 1 (5): 153-59.

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

**Mohammad Hosseinzadeh[1], Amir Rashidlamir[2*], Seyed Mahmud Hejazi[3]**

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

## Abstract

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

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

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

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

**Received:** 2017/10/22
**Accepted:** 2018/01/07

**Keywords:** endurance training, FNDC5, resistance training