

## بررسی تاثیر تمرينات ورزش هوازی بر افراد دارای اضافه وزن نوجوان با مطالعه‌ی شبکه‌ی پروتئین - پروتئین

پوران مروتی<sup>۱</sup>، وحید منصوری<sup>۲</sup>، اسماء محمدی<sup>۳</sup>، دکتر مصطفی رضایی طاویرانی<sup>۴</sup>، اکرم صفائی<sup>۵</sup>،

سعید حسامی تکلو<sup>۶</sup>، مونا زمانیان عضدی<sup>۷</sup>

(۱) کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران، (۲) مرکز تحقیقات فیزیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، (۳) دانشکده علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران، (۴) مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، (۵) دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، خیابان دربند، دانشکده پرایزشکی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دکتر مصطفی رضایی طاویرانی؛ e-mail:tavirany@yahoo.com

### چکیده

مقدمه: با افزایش وزن احتمال ابتلا به بیماری‌های قلبی مختلف افزایش می‌یابد. ورزش در مهار چاقی موثر است، اما مکانیسم مولکولی این اثر به خوبی شناخته نشده است. در این مطالعه، تغییر بیان پروتئین‌های کلیدی در افراد دارای اضافه وزن بعد از انجام تمرينات ورزشی هوازی، شناسایی و رتبه‌بندی و تحلیل شد. مواد و روش‌ها: پروتئین‌های تغییر بیان یافته در عضله اسکلتی نوجوانان دارای اضافه وزن (گزارش شده در سال ۲۰۱۴)، در شبکه‌ی برهمنکش پروتئینی با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape تحلیل شدند. عناصر کلیدی معرفی و فرایندهای زیستی مرتبط با خواص‌های پروتئینی شناسایی و تحلیل شدند. یافته‌ها: بیان هفت ژن کلیدی پس از انجام تمرينات ورزشی تغییر یافت. دو خواصی ژنی مهم و فرایند زیستی NAD Metabolic process وابسته به این دو خواص معرفی شدند. عناصر خواصی اول به ۳۰ فرایند مهم زیستی مرتبط هستند که متابولیسم قندها و نوکلئوتیدها را کنترل می‌کنند. نتیجه‌گیری: تعداد هفت ژن کلیدی با ضریب تاثیر متفاوت، در نوجوان مبتلا به چاقی تغییر بیان می‌یابند. ژن PKM به عنوان کلیدی‌ترین ژن نقش مهمی در فعال‌سازی پیرووات ایفا می‌کند. PGK1 از طریق تحلیل شبکه شناسایی و معرفی شد. با توجه به این که اهمیت هر کدام از این ژن‌ها مشخص و رتبه معینی دریافت کرده‌اند و فرایندهای مرتبط نیز شناسایی شده‌اند، امکان انجام مطالعات دارویی به منظور معرفی اهداف دارویی احتمالی در معالجه‌ی چاقی فراهم آمده است.

### واژگان کلیدی: اضافه وزن، فعالیت ورزشی، شبکه تعامل پروتئینی

دریافت مقاله: ۹۶/۶/۶ - دریافت اصلاحیه: ۹۶/۵/۳۱ - پذیرش مقاله: ۹۶/۶/۶

رژیم غذایی نامناسب سرشار از مواد قندی و چربی، کم تحرکی و عوامل ژنتیکی هستند.<sup>۷,۸</sup> با انجام تمرينات ورزشی، مواد قندی و چربی در میتوکندری سلول‌های ماهیچه‌های اسکلتی مصرف می‌شوند. انجام تمرينات ورزشی، روی تنظیم متابولیسم بدن و کاهش وزن موثر است و در نتیجه می‌تواند موجب بهبودی در بیماران مبتلا به دیابت، افراد دچار چاقی مفرط<sup>۹</sup> و کودکان با مقاومت به انسولین<sup>۱۰</sup> شود. نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که تغییرات بیوشیمیایی در این دسته از افراد اتفاق می‌افتد.<sup>۱۱,۱۲</sup> انجام پژوهش‌های تکمیلی، از طریق شناخت مسیرهای زیستی و

### مقدمه

شیوه‌ی زندگی و کاهش فعالیت بدنی منجر به افزایش وزن می‌شود. ماهیچه‌های اسکلتی افراد چاق انعطاف‌پذیری کمی دارند و با افزایش توده‌ی چربی در بدن، احتمال مقاومت به انسولین بالا می‌رود.<sup>۱</sup> غنی کردن مواد غذایی با عوامل چاق‌کننده از عوامل اصلی شیوع بالای چاقی است.<sup>۲</sup> این اختلال تغذیه‌ای، زمینه‌ساز بیماری‌های قلبی و عروقی،<sup>۳</sup> دیابت نوع دوم<sup>۴</sup> و انواع مشخصی از سرطان‌ها<sup>۵,۶</sup> است. عواملی که می‌توانند سبب بروز این عارضه شوند، شامل

تاکنون وزشی منطبق بر توانمندی افراد چاق در انجام فعالیتهای وزشی ارائه نشده و استقبال افراد چاق از وزش جایگاه خود را پیدا نکرده است. رفع این نقصه، مستلزم درک مکانیسم‌های مولکولی فرایند جهت تبیین پروتکل‌های مناسب وزشی است. در این مطالعه، تعدادی پروتئین پیشنهاد شده‌اند که مرتبط با فعالیت وزشی در افراد دارای اضافه وزن نوجوان هستند. با استفاده از شبکه‌ی تعامل پروتئینی، ارتباطات پروتئین‌های تغییر یافته در افراد دارای اضافه وزن نوجوان بعد از وزش، ارزشیابی و به ترتیب اهمیت نقش، غربالگری شدند تا مهم‌ترین آن‌ها تعیین و برای بررسی‌های بیشتر معرفی شوند.

## مواد و روش‌ها

طی مطالعه‌ی پروتئومیکی ماسیاس سروانته<sup>۱</sup> که روی نمونه (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم) بافت عضلانی افراد دارای اضافه وزن نوجوان بعد از تمرینات وزشی هوازی انجام شد، پروتئین‌های تغییر یافته مشخص شدند (جدول ۱).<sup>۲۱</sup> با استفاده از نرم‌افزار سایتواسکیپ<sup>ii</sup>، شبکه برهم کنش پروتئین-پروتئین برای این پروتئین‌ها رسم شد.<sup>۲۲</sup>

جدول ۱- پروتئین‌های تغییر یافته در بافت ماهیچه‌ی افراد دارای اضافه وزن، بعد از انجام تمرینات وزشی براساس مطالعه‌ی ماسیاس سروانته<sup>۲۳</sup>

ردیف	نام پروتئین
۱	Adenylate kinase isoenzyme 1
۲	Triosephosphate isomerase 1
۳	Carbonic anhydrase 3
۴	L-lactate dehydrogenase A chain
۵	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
۶	Fructose-biphosphate aldolase A
۷	Creatine kinase M-type
۸	Beta-enolase
۹	Pyruvate kinase muscle isozyme
۱۰	ATP synthase subunit beta, mitochondrial

بررسی قرار گرفتند. دو شاخص مرکزی مهم که در این مطالعه برای شناسایی عناصر کلیدی شبکه مورد استفاده قرار گرفتند، درجه و بینایی (betweenness) (betweenness) بودند. توزیع درجه و بینایی برای گرههای مختلف شبکه، امکان تشخیص عناصر کلیدی شبکه را فراهم کرد.<sup>۲۳</sup> MCODE یکی دیگر از الگوریتم‌های سایتواسکیپ است که روش مفیدی برای شناسایی مناطق پرترکم و متعامل شبکه (موسوم به خوش)<sup>۲۴</sup> است.<sup>۲۴</sup> با استفاده از این الگوریتم، خوش‌های معتبر شبکه

بیوماکرهای مرتبه برای درک بهتر مکانیسم تغییرات سیستماتیک بیماری ضروری است.<sup>۱۳-۱۶</sup> بررسی تعاملات ژنی منجر به شناخت بهتری از رفتار و تعامل مولکول‌های درگیر در فرایندهای مختلف و سلسله مراتب تاثیرگذاری ژن‌ها می‌شود. ژن‌های مرتبط در ساختار یک شبکه سازماندهی و با بررسی اهمیت هرکدام از ژن‌ها در تشکیل و حفظ شبکه، ژن‌ها رتبه‌بندی می‌شوند. شاخص‌های مورد نیاز برای این رتبه‌بندی می‌توانند شاخص‌های مرکزی شبکه باشند.<sup>۱۴-۱۹</sup> اخیراً تجزیه و تحلیل شبکه‌ی حاصل از مجموعه‌ی داده‌های ژنومیک، ترانسکرپتومیک و پروتئومیک به عنوان روش قدرتمندی در بررسی بیماری‌های مختلف، توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است.<sup>۲۰</sup> مولکول‌هایی که از نظر خصوصیات مرکزی شبکه، رتبه بالاتری نسبت به سایر مولکول‌ها دارا هستند، می‌توانند اهمیت بیشتری در تغییر فنوتیپ انواع شرایط خاص و انواع بیماری‌ها داشته باشند. همان‌طور که اشاره شد، چاقی منشا بسیاری از بیماری‌ها، مانند دیابت، بیماری‌های قلبی و عروقی و سرطان شناخته شده است و وزش در درمان چاقی می‌تواند موثر باشد؛ به هر حال، علی‌رغم مطالعات گسترده

جدول ۱- پروتئین‌های تغییر یافته در بافت ماهیچه‌ی افراد دارای اضافه وزن، بعد از انجام تمرینات وزشی براساس مطالعه‌ی ماسیاس سروانته<sup>۲۳</sup>

پروتئین مورد نظر وارد نرم‌افزار سایتواسکیپ شد و با انتخاب بانک‌های اطلاعاتی از قبیل راکتوم<sup>iii</sup> و مینت ژن‌های مرتبه با این ژن‌ها جستجو و شبکه‌ی نهایی رسم شد. این نرم‌افزار، اطلاعات برهم کنش مرتبه با پروتئین‌های مورد پژوهش را استخراج می‌کند و در قالب یک شبکه‌ی برهم کنش پروتئینی معرفی می‌کند. توسط نتورک آنالیزر که یکی از زیر مجموعه‌های نرم‌افزار سایتواسکیپ است توپولوژی شبکه تحلیل شد و گره‌ها براساس شاخص‌های مرکزی مورد

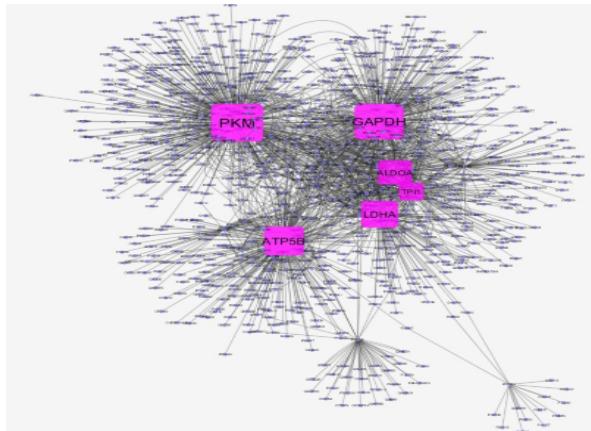
i- Macías Cervante

ii- Cytoscape(<http://cytoscape.org>)

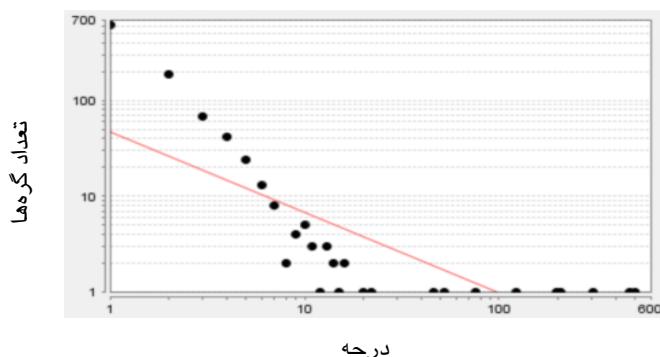
iii- Reactome

iv- MINT

v. Network Analyzer



شکل ۱- شبکه‌ی برهmeknsh پروتئین-پروتئین برای پروتئین‌های تغییر بیان یافته در بافت ماهیچه نوجوانان دارای اضافه وزن بعد از انجام تمرینات ورزشی نشان داده شده است. این شبکه شامل ۹۹۹ گره و ۱۹۳۵ یال است. در تصویر، PKM, GAPDH, ATP5B, LDHA, ALDOA, TPI1 که به دنبال تجزیه و تحلیل‌های بعدی به عنوان پروتئین‌های کلیدی شبکه معرفی شدند، با رنگ بنفش نشان داده شده‌اند. پروتئین‌هایی که درجه بالاتری دارند، با مربع بزرگتری مشخص شده‌اند.



شکل ۲- توزیع درجه برای گره‌های شبکه برهmeknsh پروتئین-پروتئین نمایش داده شده در شکل ۱.

در یک نمودار  $C_B(v)$ , با  $n$  رأس، بینابینی  $(v)$  رأس  $v$  به شکل زیر تعریف می‌شود:

$$C_B(v) = \sum_{s \neq v \neq t \in V} \frac{\sigma_{st}(v)}{\sigma_{st}}$$

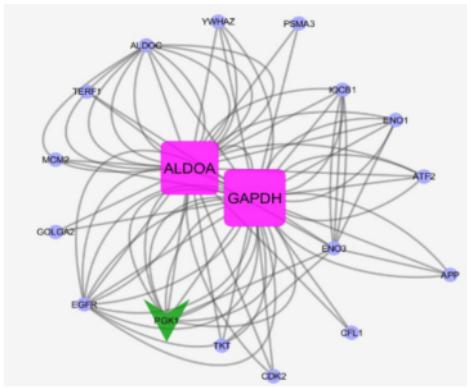
که  $\sigma_{st}$  تعداد کوتاهترین مسیرها از  $s$  تا  $t$  است و  $\sigma_{st}$  تعداد کوتاهترین مسیرها از  $s$  تا  $t$  است که از رأس  $v$  می‌گذرند. گره‌های دارای بینابینی بالاتر، روی کوتاهترین مسیرهای داخل شبکه قرار می‌گیرند. در شکل ۲ توزیع بینابینی برای گره‌های شبکه برهmeknsh پروتئین-پروتئین در شکل ۱ نمایش داده شده است.

شناسایی شدند. پارامترهای در نظر گرفته برای MCODE شامل Degree Cutoff: 2, Node Score Cutoff: 0.2 و Max Depth: 100 بودند. برای شناسایی فرایندهای زیستی مرتبط با پروتئین‌های مورد نظر (هستی‌شناسی ژنی)،<sup>۱</sup> از الگوریتم CLUGO استفاده شد.<sup>۲</sup> با لحاظ  $P < 0.05$  حضور حداقل شش ژن در فرایند مورد نظر و نیز حداقل ۳ درصد مشارکت این ژن‌ها در فرایند مورد نظر، فرایندهای زیستی انتخاب شدند. در یکی از موارد که فرایندهای محدودی معرفی شدند، حضور حداقل سه ژن در یک فرایند اعمال شد. از آزمون بنفوذی برای تصحیح P-Value استفاده شد.

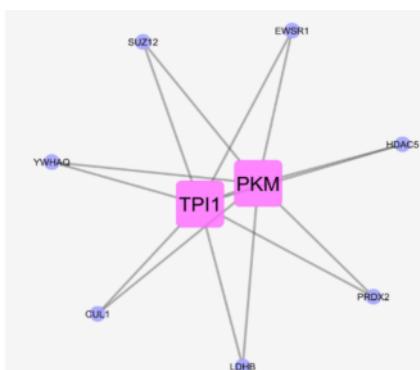
## یافته‌ها

شبکه‌ی برهmeknsh پروتئین-پروتئین برای پروتئین‌های تغییر بیان یافته در بافت ماهیچه نوجوانان دارای اضافه وزن بعد از انجام تمرینات ورزشی در شکل ۱ نشان داده شده است. این شبکه شامل ۹۹۹ گره و ۱۹۳۵ یال است که توسط نرم‌افزار سیتواسکیپ برای تجسم شبکه‌های تعامل مولکولی رسم شد. این ابزار در ارتباط با پایگاه‌های داده‌ی بزرگ داده‌های ظاهر ژن و تعاملات پروتئین-پروتئین، پروتئین-DNA و تعاملات ژنتیکی که به شکل فزاینده برای انسان و ارگانیسم‌های مدل در دسترس هستند، بیشترین کاربرد را دارد. سیتواسکیپ از چندین الگوریتم برای طرح‌های شبکه، پشتیبانی می‌کند. چندین پلاگین (plug-in) برای سیتواسکیپ جهت گسترش قابلیت‌های آن وجود دارد. مثال برجسته آن، پلاگین نتورک آنالایزر است که از آن می‌توان برای محاسبه‌ی پارامترهای مختلف شبکه استفاده کرد. توزیع درجه و بینابینی، پارامترهای مهمی است که توسط نتورک آنالایزر برای هر پروتئین در این مطالعه محاسبه شدند. توزیع درجه و بینابینی برای گره‌های شبکه به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. با توجه به خطوط ترسیم شده در این شکل‌ها شش گره دارای بیشترین مقدار درجه و بینابینی، به عنوان عناصر کلیدی شبکه معرفی شدند (جدول ۲ و شکل ۱).

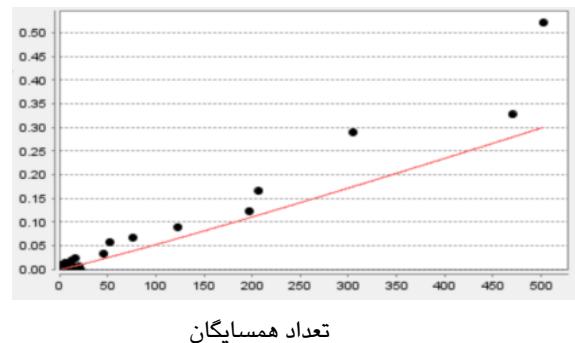
شده‌اند. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی (GO) برای ژن‌های خوشه ۱ و ۲، براساس فرایندهای زیستی با لحاظ  $P < 0.05$  انجام شد. حضور حداقل شش ژن در فرایند مورد نظر و نیز حداقل ۳ درصد مشارکت این ژن‌ها در فرایند مربوط، فرایندهای زیستی انتخاب شدند. از آزمون بنفرونوی برای تصحیح P-Value استفاده شد.



شکل ۴- خوشه ۱، پروتئین‌های کلیدی در این خوشه با مریع بنقش نشان داده شده‌اند. پروتئین فسفوگلیسرات کیناز-۱ که شده توسط PGK1 که در خوشه ۱، seed است، با رنگ سبز نمایش داده شده است.



شکل ۵- خوشه ۲، پروتئین‌های کلیدی در این خوشه با مریع بنقش نشان داده شده‌اند. این خوشه فاقد seed است.



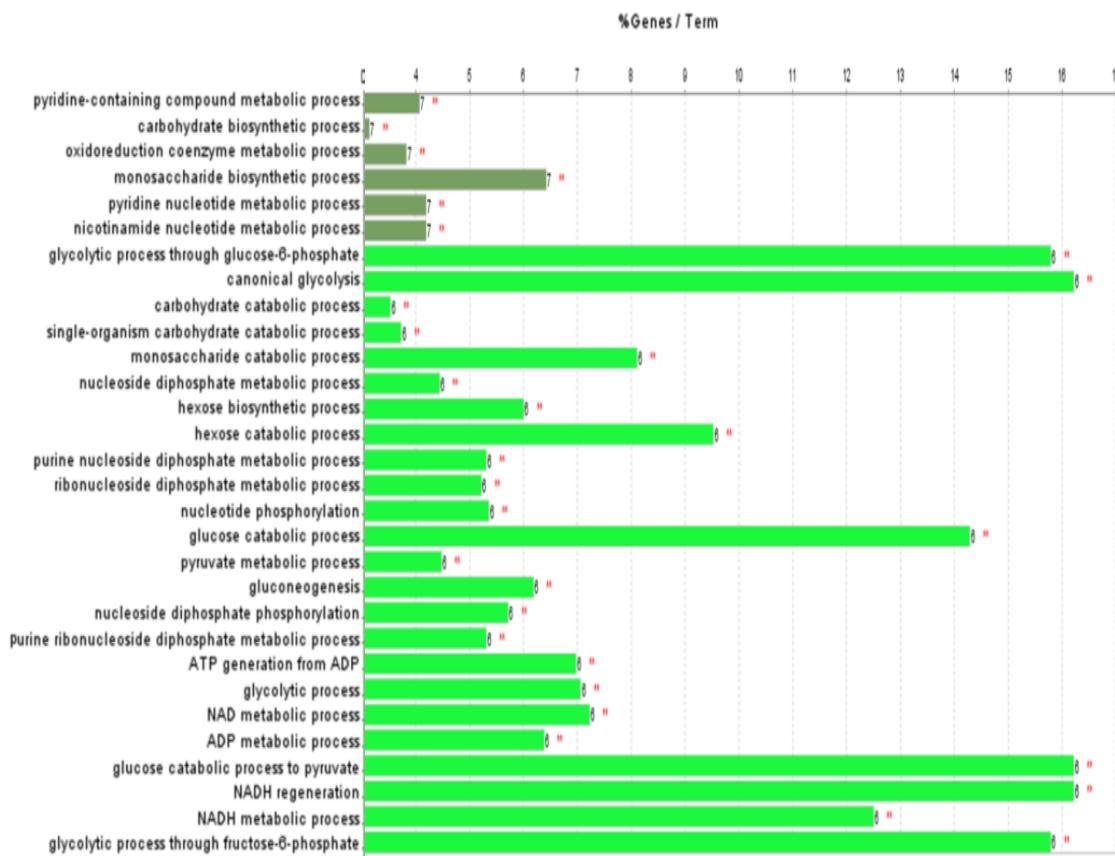
شکل ۳- توزیع بینابینی برای گره‌های شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین نمایش داده شده در شکل ۱.

PKM, GAPDH, ATP5B, LDHA, ALDOA TPI1 به عنوان پروتئین‌های کلیدی در شبکه‌ی پروتئین‌های تغییر بیان یافته در بافت ماهیچه نوجوانان دارای اضافه وزن بعد از انجام تمرینات ورزشی، معرفی شدند (جدول ۲).

جدول ۲- پروتئین‌های کلیدی برای شبکه‌ی برهمکنش پروتئین-پروتئین

نام ژن	درجه	بینابینی
PKM	۵۰۲	۰/۵۲۱۲۳۹
GAPDH	۴۷۰	۰/۳۲۷۶۹۳
ATP5B	۳۰۵	۰/۲۹۰۳۴۰
LDHA	۲۰۷	۰/۱۶۵۸۱۸
ALDOA	۱۹۷	۰/۱۲۳۹۵۷
TPI1	۱۲۳	۰/۰۹۲۳۱۴

برای شناسایی مناطق پرتراکم شبکه (موسوم به خوشه) از MCODE از استفاده شد. دو خوشه module 2 و module 1 (برای شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین شناسایی شدند (شکل‌های ۴ و ۵). پروتئین seed پروتئینی است که بیشترین امتیاز تعاملی را در هر خوشه دارد که با مثلث سبز رنگ نشان داده شده است. پروتئین فسفوگلیسرات کیناز-۱ در خوشه ۱ به عنوان seed معرفی شده است. خوشه ۲ فاقد seed است. فرایندهای زیستی برای خوشه‌های ۱ و ۲ به ترتیب در شکل‌های ۶ تا ۷ نشان داده



شکل ۶- تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی (GO) برای ژن‌های خوشه ۱، براساس فرایندهای زیستی. با لحاظ  $P<0.05$  حضور حداقل شش ژن در فرایند مورد نظر و نیز حداقل ۳ درصد مشارکت این ژن‌ها در فرایند مربوط، فرایندهای زیستی انتخاب شدند. از آزمون بنفرونوی برای تصحیح P-Value برای گروه‌بندی فرایندها استفاده شد.



شکل ۷- تجزیه و تحلیل آنالیز هستی‌شناسی (GO) برای ژن‌های خوشه ۲، براساس فرایندهای زیستی. با لحاظ  $P<0.05$  حضور حداقل سه ژن در فرایند مورد نظر و نیز حداقل ۳ درصد مشارکت این ژن‌ها در فرایند مورد نظر.

و مصرفی مرتبط است.<sup>۲۷</sup> اگر همه عوامل مرتبط با چاقی در جهت تنظیم تعادل انرژی مورد بررسی قرار گیرند، مدیریت بیماری آسان‌تر می‌شود.<sup>۲۸</sup> بررسی شبکه‌ی پروتئینی و الگوریتم‌های کاربردی تجزیه و تحلیل شبکه می‌تواند بینش نوینی را در ارتباط با مبانی مولکولی بیماری‌های پیچیده‌ای نظیر اختلالات اضافه وزن مطرح کند.<sup>۲۹</sup> بررسی پروتئومیکی اطلاعات مفیدی را در ارتباط با تغییرات ژنوم در سطح بیان پروتئینی فراهم می‌کند. پروتئین‌هایی که در شرایط خاص، تغییر بیان محسوسی پیدا می‌کنند، می‌توانند از نظر الگری تعامل در یک سیستم ارتباطی مولکولی مورد بررسی قرار گیرند.<sup>۱۰</sup> در این راستا، بررسی وضعیت پروتئین‌های تغییر

## بحث

چاقی به عنوان یکی از اختلالات شایع در دنیا در قرن ۲۱ مطرح شده است و در حال حاضر روند رو به پیشرفت آن در شرایط هشدار قرار دارد.<sup>۲۷</sup> چاقی احتمال ابتلاء به بیماری‌های گوناگون، به خصوص بیماری‌های قلبی،<sup>۳</sup> دیابت نوع دوم<sup>۴</sup> و انواع مشخصی از سرطان‌ها<sup>۵-۶</sup> را افزایش می‌دهد؛ در نتیجه یافتن مسیرهایی در جهت مهار و درمان این سندرم می‌تواند خطر ابتلاء به بسیاری از بیماری‌ها را کاهش دهد. چاقی بیماری پیچیده‌ای است که با افزایش توده‌ی چربی بدن ناشی از عدم تعادل بین انرژی دریافتی

ورزشی افزایش یافته است.<sup>۳۱</sup> تغییر بیان این ژن و ژن‌های دیگر دخیل در گلیکولیز، نشان‌دهنده‌ی مصرف بالای کربوهیدرات‌ها طی گلیکولیز در اثر انجام تمرينات ورزشی است. دیگر ژن تغییر بیان یافته و شاخص در شبکه بر هم کنش پروتئینی (حائز رتبه سوم در جدول ۲، ATP5B، ATP5A) است که زیر واحد بتای ATP سنتاز را کد می‌کند. این آنزیم در واقع یک آنزیم میتوکندریایی است و در ساخت ATP و تامین انرژی سلول در حضور یک شبکه پروتون در سراسر غشاء توسط انتقال الکترون از زنجیره تنفسی نقش دارد.<sup>۳۷-۳۸</sup>

ارتباط افزایش بیان این پروتئین در موش‌های تحت ورزش استقامتی در جهت تامین انرژی بیشتر سلول‌های ماهیچه‌ای اثبات شده است.<sup>۳۹</sup> LDHA چهارمین ژن حائز اهمیت در شبکه پروتئینی افراد چاق بعد از ورزش است که کدکننده لاكتات دهیدروژناز A است. این آنزیم در تبدیل پپروات به لاكتات نقش دارد. در اثر افزایش بیان LDHA، ترشح انسولین و جذب گلوکز افزایش می‌یابد<sup>۴۰</sup> و از آنجایی که ورزش باعث مصرف بیشتر گلوکز در عضلات بدن می‌شود،<sup>۴۱</sup> ارتباط این ژن با تغییرات اعمال شده بعد از ورزش در بدن دور از انتظار نیست. یکی از ژن‌های مهم، آدولاز A است که در رتبه‌ی پنجم است. این ژن در گلیکولیز دخالت دارد و کدکننده فروکتوز-بیس فسفات آدولاز است. این آنزیم، تبدیل ۱ و ۶ فروکتوز بیس فسفات را به گلیسر آلهید ۳-فسفات و دی هیدروکسی استون فسفات را بر عهده دارد. به علاوه، این پروتئین در تنظیم شکل سلول و تنظیم تقسیم سلولی دخیل است.<sup>۴۲-۴۴</sup> لازم به ذکر است که تاثیر ورزش استقامتی بر گلیکولیز در سلول‌های ماهیچه‌ای نیز اثبات شده است.<sup>۴۵</sup> دیگر ژن مهم شبکه، TPII است که کدکننده تریوز فسفات ایزومراز است. این پروتئین علاوه بر گلیکولیز در گلوكوتئوز-نیز نقش دارد.<sup>۴۶</sup> خوش‌های پروتئینی مهم شبکه در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده‌اند.

چهار پروتئین از مجموع شش پروتئین کلیدی شبکه، در این دو خوش‌ه سازماندهی شده‌اند. در خوش‌ه ۱، ژن PGK1 به عنوان seed (پروتئینی که بیشترین امتیاز تعاملی را در یک خوش‌ه دارد) معرفی شده است. این ژن کدکننده فسفوگلیسرات کیناز ۱ است که آنزیم گلیکولیتیکی است که در ساخت پپروات از گلیسر آلهید ۳ فسفات فعالیت دارد. این پروتئین، در کنار آنزیم ژن‌هایی همچون GAPDH و PKM (که در این مطالعه به عنوان پروتئین‌های کلیدی معرفی شدند)، در گلیکولیز و تجزیه‌ی کربوهیدرات‌ها نقش

بیان یافته در شرایط بعد از ورزش در افراد دارای اضافه وزن، جهت شناخت بهتر مسیرهای زیستی مرتبط، حائز اهمیت است. از طرفی، مسیرهای شناخته شده بیوشیمیایی می‌توانند تحت تاثیر عوامل مختلف تنظیم شوند؛ بنابراین درک عناصر مهم و کلیدی در این چرخه‌ها حائز اهمیت است. در مطالعات مشابهی، برای بررسی تغییر بیان ژنی در بیماری‌هایی مانند دیابت، مالتیپل اسکلروزیس، سرطان‌های دستگاه گوارش و بیماری‌های دهان و دندان از تحلیل شبکه تعاملی ژنی استفاده شده است. در این تحقیقات، پانل‌های بیومارکری متنوعی برای این بیماری‌ها پیشنهاد شده‌اند.<sup>۳۰-۳۵</sup>

در این مطالعه، شبکه تعاملی پروتئین‌های تغییر بیان یافته عضله‌ی افراد دارای اضافه وزن نوجوان که تمرينات ورزشی انجام داده‌اند و از طریق پروتئومیکس تعیین شده‌اند،<sup>۳۱</sup> تجزیه و تحلیل شده است. با توجه به جدول ۱، تعداد ۱۰ پروتئین در این افراد تغییر بیان داشتند. تعیین پروتئین‌هایی که نقش برجسته‌تری در کنترل فرایندهای مرتبه دارند، دشوار است. بدین‌منظور این پروتئین‌ها در شبکه تعاملی (شکل ۱) قرار گرفتند. یکی از محدودیت‌های انجام این تحقیق تعداد پروتئین‌های معرفی شده بود. در بسیاری از تحقیقات پروتئومیکی، تعداد بیشتری پروتئین معرفی می‌شوند که امکان انتخاب از بین آن‌ها را فراهم می‌کند. با این وجود، چون تغییر بیان این پروتئین‌ها معنی‌دار است، انتخاب آن‌ها برای انجام آنالیز بلامانع است. با توجه به شکل‌های ۱ تا ۳ و جداول ۱ و ۲، شش مورد از این پروتئین‌ها به عنوان پروتئین‌های کلیدی معرفی شدند. با استناد به جدول ۲، رتبه‌ی درجه و بینایی‌ی برای پروتئین‌های PKM کلیدی یکسان است. به طور مثال، در این جدول، رتبه PKM برای هر دو شاخص مرکزی درجه و بینایی‌ی یک بود؛ بنابراین، بالاترین نمره‌ی ژن‌های کلیدی، متعلق به PKM است که کد کننده ایزوفرم پپروات کیناز (آخرین آنزیم درگیر در گلیکولیز) است. طی این فرایند، گلوکز به دو مولکول ATP و پپروات تبدیل می‌شود. استنتسبی<sup>۱</sup> و همکارانش نشان دادند که ورزش شدید باعث افزایش قابل توجهی در فعالیت پپروات کیناز پلاسمما می‌شود.<sup>۳۶</sup> از دیگر ژن‌های کلیدی که در مسیر گلیکولیز نقش دارد، GAPDH است. رتبه‌ی این ژن در جدول ۲، دوم است. بیان این ژن در بافت ماهیچه‌ی افراد دارای اضافه وزن بعد از انجام تمرينات

ارتباط هستند، زیرا هر کدام از این فرایندها خود به نحوی تعداد بیشتری آنزیم و مسیر بیوشیمیابی دیگر را متاثر می‌سازند. پاسخ رد به یک رژیم غذایی خاص، اطلاعات ارزشمندی در رابطه با عملکرد مسیرهای متابولیکی فراهم می‌کند. به عنوان مثال، افزایش در تری‌گلیسیرید پس از صرف غذا، عامل خطری برای بیماری‌های قلبی عروقی در نظر گرفته می‌شود، در حالی‌که سطح بالای غیرمعارف گلوکز و انسولین بعد از غذا، خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را نشان می‌دهد.<sup>۴۸</sup> بنابراین، ارزیابی پاسخ‌های متابولیک پس از ورزش، در کنار عده‌غذایی استاندارد، می‌تواند درک بهتری از ارتباط بین ورزش و سوخت و ساز بدن فراهم آورد. این مطالعه نشان داد که انجام تمرینات ورزشی در افراد با اضافه وزن می‌تواند موجب تنظیم مجموعه‌ای از مسیرهای زیستی مرتبط با متابولیسم از جمله گلیکولیز بشود.

اهمیت یافته‌های این مطالعه از این جهت است که در این مطالعه، عناصر کلیدی کنترل‌کننده تغییرات ارتباطات پروتئینی بعد از ورزش در نوجوانان چاق رتبه‌بندی شدند. در این تحقیق، یک مورد ژن جدید و موثر نیز شناسایی و ارائه شد. طیف گستره‌های از مسیرهای زیستی مرتبط شناسایی و معرفی شده‌اند. از نقاط قوت این تحقیق می‌توان به اعطای رتبه یا ضریب تاثیر به عناصر کلیدی دخیل در فرایند و نیز معرفی یک ژن جدید دیگر به مجموعه‌ی ژنی معرفی شده، اشاره کرد. پیشنهاد می‌شود با لحاظ این عناصر کلیدی، تحقیقات جدیدی در حوزه داروشناسی انجام شود تا شاید با بررسی اهداف دارویی احتمالی بتوان در جهت مهار چاقی اقدامات موثری را انجام داد.

**سپاسگزاری:** این مقاله برگرفته از طرح مصوب دانشکده علوم پزشکی آبادان (کمیته تحقیقات دانشجویی) با کد اخلاق IR.ABADANUMS.REC.1395-145 است.

i- Metabolic process

دارد.<sup>۴۷</sup> با توجه به اهمیت seedها در تمامیت خوش‌های این پروتئین نیز به مجموع پروتئین‌های کلیدی افزوده می‌شود که پروتئین جدید معرفی شده در فرایند تاثیر ورزش بر عضله‌ی افراد چاق نوجوان در این مطالعه است. فرایندهای زیستی مرتبه با خوش‌های ۱ و ۲ در شکل‌های ۶ تا ۷ نشان داده شده‌اند. همان‌طور که نتایج مطالعه‌ی مسیرهای زیستی نشان می‌دهد، NAD<sup>+</sup> مسیر زیستی مشترک بین دو خوش‌های ۱ و ۲ است. این موضوع اهمیت تنظیم مسیرهای متابولیکی و به خصوص گلیکولیز را در ایجاد تعادل انرژی در افراد دارای اضافه وزن بعد از انجام تمرینات ورزشی نشان می‌دهد. نتایج حاصل از هستی شناسی ژنی نشان می‌دهد که خوش‌های ۱ در فرایندهای زیستی متنوعی دخیل است (شکل ۶). این خوش‌های با شرط مشارکت حداقل شش ژن در فرایند مرتبه، با ۳۰ فرایند زیستی مختلف ارتباط دارد. دسته‌بندی این فرایندهای نشان می‌دهد که دو دسته شش و ۲۴ تایی از فرایندها به این خوش‌های مرتبط هستند. در دسته‌ی شش تایی، متابولیسم و ساخت قندها و نوکلئوتیدها مشاهده می‌شود. نکته‌ی بارز این دسته از فرایندها، حضور هفت ژن از خوش‌های ۱ در هر فرایند است. با توجه به تعداد ۱۸ ژن تشکیل‌دهنده این خوش‌های، حدود ۴۰ درصد از اعضای این خوش‌های در هر فرایند دخیل هستند که مشارکت بالایی محسوب می‌شود. در دسته‌ی ۲۴ تایی، تنوع فرایندهای زیستی بیشتر است. با توجه به حضور شش ژن در هر فرایند، ۳۳ درصد از عناصر این خوش‌های در هر فرایند زیستی مداخله داشته‌اند. در هفت فرایند، میزان مشارکت ژن‌های خوش‌های ۱، بیش از ۱۰ درصد است و کلیه‌ی این مسیرها به متابولیسم قند مربوط می‌شوند. فسفریلایسیون نوکلئوتیدها و دی‌فسفونوکلئوتیدها از فرایندهای زیستی مهمی هستند که با ژن‌های دسته ۲۴ تایی در خوش‌های ۱ مرتبط هستند. به نظر می‌رسد، عده‌ی فعالیت‌های متابولیکی به نحوی با ژن‌های مورد بحث در

- ## References
1. Civitarese AE, Ravussin E. Minireview: mitochondrial energetics and insulin resistance. *Endocrinology* 2008; 149: 950-4.
  2. Winder W, Hardie D. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol* 1999; 277: E1-E10.
  3. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 968-76.

4. Maggio CA, Pi-Sunyer FX. Obesity and type 2 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32: 805-22.
5. Nimptsch K, Pisched T. Obesity Biomarkers, Metabolism and Risk of Cancer: An Epidemiological Perspective. *Recent Results Cancer Res* 2016; 208: 199-217.
6. Fader AN, Arriba LN, Frasure HE, von Gruenigen VE. Endometrial cancer and obesity: epidemiology, biomarkers, prevention and survivorship. *Gynecol Oncol* 2009; 114: 121-7.
7. Arner P. Obesity a genetic disease of adipose tissue? *Brit J Nutr* 2000; 83: S9-S16.
8. Lee JS. The effects of gender, obesity rate, nutrition knowledge and dietary attitude on the dietary self-efficacy

- of adolescents. *Korean J Community Nutr* 2003; 8: 652-7.
9. Ferguson M, Gutin B, Le N, Karp W, Litaker M, Humphries M, et al. Effects of exercise training and its cessation on components of the insulin resistance syndrome in obese children. *Inter J Obes* 1999; 23: 889-95.
  10. Macias-Cervantes MH, Malacara JM, Garay-Sevilla ME, Diaz-Cisneros FJ. Effect of recreational physical activity on insulin levels in Mexican/Hispanic children. *Eur J Pediatr* 2009; 168: 1195-202.
  11. LeBlanc PJ, Peters SJ, Tunstall RJ, Cameron-Smith D, Heigenhauser GJ. Effects of aerobic training on pyruvate dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase kinase in human skeletal muscle. *J Physiol* 2004; 557: 559-70.
  12. Green H, Bombardier EB, Duhamel T, Holloway GP, Tupling AR, Ouyang J. Acute responses in muscle mitochondrial and cytosolic enzyme activities during heavy intermittent exercise. *J Appl Physiol* 2008; 104: 931-7.
  13. Safari-Alighiarloo N, Taghizadeh M, Rezaei-Tavirani M, Goliae B, Peyvandi AA. Protein-protein interaction networks (PPI) and complex diseases. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2014; 7: 17-31.
  14. Safaei A, Tavirani MR, Oskouei AA, Azodi MZ, Mohammadi SR, Nikzamir AR. Protein-protein interaction network analysis of cirrhosis liver disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2016; 9: 114-21.
  15. Zamanian-Azodi M, Rezaei-Tavirani M, Rahmati-Rad S, Hasanzadeh H, Tavirani MR, Seyyedi SS. Protein-Protein Interaction Network could reveal the relationship between the breast and colon cancer. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2015; 8: 215-24.
  16. Rezaei-Tavirani M, Zamanian-Azodi M, Rajabi S, Massoudi-Nejad A, Rostami-Nejad M, Rahmati-Rad S. Protein Clustering and Interactome Analysis in Parkinson and Alzheimer's Diseases. *Arch Iran Med* 2016; 19: 21-31.
  17. Re M, Mesiti M, Valentini G. A fast ranking algorithm for predicting gene functions in biomolecular networks. *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform* 2012; 9: 1812-8.
  18. Mostafavi S, Ray D, Warde-Farley D, Grouios C, Morris Q. GeneMANIA: a real-time multiple association network integration algorithm for predicting gene function. *Genome Biol* 2008; 9: S4.
  19. Tavirani MR. Meningioma protein-protein interaction network. *Arch Iran Med* 2014; 17: 262-7.
  20. Song J, Singh M. How and when should interactome-derived clusters be used to predict functional modules and protein function? *Bioinformatics* 2009; 25: 3143-50.
  21. Macías-Cervantes MH, Guzmán-Flores JM, Vargas-Ortiz K, Díaz-Cisneros FJ, Ramírez-Emiliano J, Pérez-Vázquez V. Effect of aerobic exercise on protein expression in muscle of obese mexican adolescents: A proteomic and bioinformatic analysis. *Nat Sci* 2014; 6: 641-9.
  22. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res* 2003; 13: 2498-504.
  23. Barabasi A-L, Oltvai ZN. Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 101-13.
  24. Bader GD, Hogue CW. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics* 2003; 4: 2.
  25. Liu H, Hu Z-Z, Wu CH. DynGO: a tool for visualizing and mining of Gene Ontology and its associations. *BMC Bioinformatics* 2005; 6: 201-10.
  26. Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, Charoentong P, Tosolini M, Kirillovsky A, et al. ClueGO: a Cytoscapeplug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics* 2009; 25: 1091-3.
  27. Barceló-Batlleur S, Gomis R. Proteomics in obesity research. *Proteomics Clin Appl* 2009; 3: 263-78.
  28. Zamanian-Azodi M, Vafaee R, Azodi T, Omidi R, Gilanchi S, Azizi-Jalilian F, et al. Molecular approaches in obesity studies. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2013; 6: 23-31.
  29. Safari-Alighiarloo N, Taghizadeh M, Rezaei-Tavirani M, Goliae B, Peyvandi AA. Protein-protein interaction networks (PPI) and complex diseases. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2014; 7: 17-31.
  30. Safari-Alighiarloo N, Taghizadeh M, Tabatabaei SM, Shahsavari S, Namaki S, Khodakarim S, et al. Identification of new keygenes for type 1 diabetes through construction and analysis of protein-protein interaction networks based on blood and pancreatic islet transcriptomes. *J Diabetes* 2017; 9: 764-77.
  31. Safari-Alighiarloo N, Rezaei-Tavirani M, Taghizadeh M, Tabatabaei SM, Namaki S. Network-based analysis of differentially expressed genes in cerebrospinal fluid (CSF) and blood reveals new candidate genes for multiple sclerosis. *Peer J* 2016; 4: e2775.
  32. Abbaszadeh H-A, Peyvandi AA, Sadeghi Y, Safaei A, Zamanian-Azodi M, Khoramgah MS, et al. Er: YAG Laser and Cyclosporin A Effect on Cell Cycle Regulation of Human Gingival Fibroblast Cells. *J Lasers Med Sci* 2017; 8: 143-9.
  33. Khayyer N, Azodi MZ, Mansouri V, Ghssemi-Broumand M, Rezaei-Tavirani M, Heidari MH, et al. Oral Squamous Cell Cancer protein-protein interaction network interpretation in comparison to esophagus adenocarcinoma. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2017; 10: 118-24.
  34. Asadzadeh-Aghdaee H, Shahrokh S, Norouzinia M, Hosseini M, Keramatinia A, Jamalan M, et al. Introduction of inflammatory bowel disease biomarkers panel using protein-protein interaction (PPI) network analysis. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2016; 9: S8-13.
  35. Asadzadeh-Aghdaee H, Mansouri V, Peyvandi AA, Moztarzadeh F, Okhovatian F, Lahmi F, et al. Topological and functional analysis of nonalcoholic steatohepatitis through protein interaction mapping. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2016; 9: S23-8.
  36. Stansbie D, Aston JP, Dallimore NS, Williams HM, Willis N. Effect of exercise on plasma pyruvate kinase and creatine kinase activity. *Clin Chim Acta* 1983; 132: 127-32.
  37. Wallace DC, Ye J, Neckermann SN, Singh G, Webster KA, Greenberg BD. Sequence analysis of cDNAs for the human and bovine ATP synthase β subunit: mitochondrial DNA genes sustain seventeen times more mutations. *Curr Genet* 1987; 12: 81-90.
  38. Kataoka H, Chitra B. Nucleotide sequence of a cDNA for the α subunit of human mitochondrial ATP synthase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1991; 1089: 393-5.
  39. González B, Hernando R, Manso R. Stress proteinsof 70 kDa in chronically exercised skeletal muscle. *Pflügers Arch* 2000; 440: 42-9.
  40. Hellman B, Idahl L-Å, Sehlin J, Täljedal I-B. Influence of anoxia on glucose metabolism in pancreatic islets: lack of correlation between fructose-1, 6-diphosphate- and apparent glycolytic flux. *Diabetologia* 1975; 11: 495-500.
  41. Björntorp P. The effects of exercise on plasma insulin. *Int J Sports Med* 1981; 2: 125-9.

42. Du S, Guan Z, Hao L, Song Y, Wang L, Gong L, et al. Fructose-bisphosphate aldolase a is a potential metastasis-associated marker of lung squamous cell carcinoma and promotes lung cell tumorigenesis and migration. *PloS One* 2014; 9: e85804.
43. Mamczur P, Gamian A, Kolodziej J, Dziegiej P, Rakus D. Nuclear localization of aldolase A correlates with cell proliferation. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833: 2812-22.
44. Merkulova M, Hurtado-Lorenzo A, Hosokawa H, Zhuang Z, Brown D, Ausiello DA, et al. Aldolase directly interacts with ARNO and modulates cell morphology and acidic vesicle distribution. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 300: C1442-C55.
45. Duan C, Winder W. Effect of endurance training on activators of glycolysis in muscle during exercise. *J Appl Physiol* 1994; 76: 846-52.
46. Davenport RC, Bash PA, Seaton BA, Karplus M, Petsko GA, Ringe D. Structure of the triosephosphate isomerase-phosphoglycolohydroxamate complex: an analogue of the intermediate on the reaction pathway. *Biochemistry* 1991; 30: 5821-6.
47. Jindal HK, Vishwanatha JK. Functional identity of a primer recognition protein as phosphoglycerate kinase. *J Biol Chem* 1990; 265: 6540-3.
48. Badoud F, Lam KP, Perreault M, Zulyniak MA, Britz-McKibbin P, Mutch DM. Metabolomics reveals metabolically healthy and unhealthy obese individuals differ in their response to a caloric challenge. *PLoS One* 2015; 10: e0134613.

**Original Article**

# **Investigation of Effect of Exercises on Overweight Adolescents via Protein-protein Interaction Network Study**

Morovati P<sup>1</sup>, Mansouri V<sup>2</sup>, Mohammadi A<sup>3</sup>, Rezaei Tavirani M<sup>4</sup>, Safaei A<sup>4</sup>, Hesami Takalou S<sup>5</sup>, Zamanian Azodi M<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Student Research Committee, Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran, <sup>2</sup>Physiotherapy Research Center, Department of Anatomy and Cell Biology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, <sup>3</sup>Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran, <sup>4</sup>Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, <sup>5</sup>Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, I.R. Iran

e-mail: tavirany@yahoo.com

Received: 23/04/2017 Accepted: 28/08/2017

**Abstract**

**Introduction:** With increasing weight, the risk of developing various heart diseases increases. Although exercise is effective in controlling obesity, and the molecular mechanism of this effect is not well known. This study aims to identify, rank and analyse changes in the expression of key proteins in overweight individuals after aerobic exercise training. **Materials and Methods:** Transformed proteins expressed in skeletal muscle of overweight adolescents were analyzed in a protein-protein interaction network, using Cytoscape software. Key elements of the interactome and the biological processes associated with protein clusters were identified and analyzed. **Results:** Seven key genes and two important gene clusters related to the network were introduced. The elements of the first cluster were related to 30 important biological processes that control sugar and nucleotide metabolism. The NAD metabolic process was introduced as the most important biological process. **Conclusion:** Expression of seven key genes with various impacts is altered in overweight adolescents. The PKM gene, as the key gene, plays an important role in the activation of pyruvate. PGK1 was identified and introduced via the network analysis. Considering the importance of each of the seven genes identified and the related processes, the feasibility and ground work for possible drug treatment can be facilitated.

**Keywords:** Overweight, Exercises, Protein- protein interaction