

تأثیر تمرین مقاومتی بر بیان mRNA و مقدار پروتئین IL-15 عضلات کند و تند تنش موش‌های صحرایی دیابتی

دکتر مهدیه ملانوری شمسی^۱، دکتر زهیر محمدحسن^۲، دکتر مهدی مهدوی^۳، دکتر رضا قراخانلو^۱، لایلا باقرصاد^۱، دکتر کیهان آزادمنش^۲، رزیتا عدالت^۳

۱) گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، ۲) گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، ۳) بخش ویروس شناسی، انستیتو پاستور ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده‌ی علوم پزشکی، گروه ایمونولوژی، دکتر زهیر محمدحسن؛ e-mail: Hassan_zm@modares.ac.ir

چکیده

مقدمه: تمرین‌های ورزشی مقاومتی سبب افزایش توده‌ی عضلانی، قدرت و عملکرد عضلات در دیابتی‌ها می‌شوند. سایتوکاین اینترلوکین-۱۵ (IL-15) به عنوان یک فاکتور آنابولیک برای عضله‌ی اسکلتی عمل می‌نماید. همچنین، IL-15 می‌تواند سوخت و ساز محیطی گلوکز را تنظیم کند. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین‌های مقاومتی مزمن بر بیان و پروتئین IL-15 عضلات اسکلتی در موش‌های صحرایی دیابتی بود. **مواد و روش‌ها:** موش‌های صحرایی به گروه‌های کنترل سالم، تمرین سالم و کنترل دیابتی ایجاد شده با استرپتوزوتوسین و تمرین دیابتی تقسیم شدند. گروه‌های تمرین برای انجام تمرین مقاومتی، بالا رفتن از یک نردبان ۱ متری با وزنه‌ای که به دم آن‌ها آویزان بود، را اجرا کردند. بیان ژن IL-15 عضلات نعلی و خم‌کننده‌ی بزرگ انگشتان پا به وسیله‌ی روش Real Time بررسی گردید. همچنین، مقدار پروتئین IL-15 عضلانی با روش الیزا اندازه‌گیری شد. **یافته‌ها:** یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد تمرین مقاومتی تحریک آنابولیکی لازم را برای حفظ توده‌ی عضلانی در گروه دیابتی تمرین در عضله‌ی خم‌کننده‌ی بزرگ انگشتان پا ایجاد نمود. میزان بیان mRNA IL-15 عضله‌ی نعلی در گروه دیابتی تمرین افزایش یافته بود. افزایش سطح پروتئین IL-15 در گروه‌های تمرین سالم و دیابتی در هر دو نوع عضله مشاهده گردید. نتیجه‌گیری: به دلیل داشتن محتوای میتوکندریایی بالاتر و قرار گرفتن در مسیر اکسیداتیو عضله‌ی نعلی بیشتر تحت تأثیر دیابت قرار می‌گیرد. عدم ارتباط بین بیان و پروتئین IL-15 به احتمال زیاد به دلیل مهارکننده‌های نسخه‌برداری و ترجمه‌ای است که در سکانس ژن IL-15 وجود دارد.

واژگان کلیدی: آتروفی، دیابت ایجاد شده با STZ، تمرین مقاومتی، IL-15، عضله اسکلتی

دریافت مقاله: ۹۰/۷/۲۳ - دریافت اصلاحیه: ۹۰/۱۰/۲۶ - پذیرش مقاله: ۹۰/۱۰/۲۷

مقدمه

آتروفی عضلانی یکی از شاخص‌های دیابت‌های کنترل نشده می‌باشد و در نتیجه‌ی افزایش پروتئولیز و عدم توانایی عضله‌ی اسکلتی آسیب دیده برای ترمیم خود از راه سنتز پروتئین ایجاد می‌شود. از بین رفتن عضله‌ی اسکلتی همراه با

افزایش تجزیه‌ی پروتئین در مدل‌های آزمایشگاهی دیابت^۱، و همچنین در بیماران دیابتی نوع ۱^۲ مشاهده شده است. نشان داده شده تمرین‌های ورزشی مقاومتی سبب افزایش توده‌ی عضلانی، و افزایش قدرت و عملکرد عضلات در افراد دیابتی می‌شوند^۳. همچنین، تمرین‌های ورزشی مقاومتی می‌توانند سبب افزایش عملکرد انسولین در عضله‌ی اسکلتی شوند^۴. برخی از پژوهش‌ها افزایش مصرف گلوکز

بعد از تمرین‌های مقاومتی را تنها به دلیل افزایش توده‌ی عضلانی دانسته‌اند.^۵ با این حال، پروتکل‌های ورزشی مناسب تمرین‌های مقاومتی برای دیابتی‌های نوع ۱ هنوز مشخص نشده‌اند. نشان داده شده شدت تمرین ورزشی مقاومتی مهم‌ترین عامل بهبود در حساسیت به انسولین می‌باشد.^۶

اینترلوکین-۱۵ (IL-15) سایتوکاینی است که به میزان زیادی در بافت عضله‌ی اسکلتی بیان می‌شود.^۷ سایتوکاین IL-15 می‌تواند به عنوان یک فاکتور آنابولیک سبب هایپرتروفی عضلانی در سلول‌های عضلانی در محیط کشت گردد.^۸ مشاهده گردیده استفاده از IL-15 به صورت *in vivo* در موش‌های صحرایی توموری شده تحلیل عضلانی ناشی از تومور را کاهش می‌دهد.^۹ همچنین، پیشنهاد گردیده IL-15 ممکن است سبب کاهش مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی فیبرهای عضلانی با اثر بر پیام‌رسانی فاکتور نکروز کننده‌ی تومور آلفا (TNF- α) شود.^{۱۰} اثرات مفید IL-15 در مدل‌های دیابت نوع ۱ نیز نشان داده شده است. مشخص گردیده نمونه‌های دیابتی بدون انسولین نیز هایپرتروفی عضلانی دارند.^{۱۱} سایتوکاین IL-15 می‌تواند نقش مهمی در تنظیم وزن بدن و وضعیت مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی ایفا کند.^{۱۲} باسکیواتس و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند تحریک سلول‌های عضلانی C2C12 در محیط کشت به وسیله‌ی IL-15 سبب افزایش مصرف گلوکز و بیان GLUT4^۱ mRNA می‌شود و پیشنهاد می‌نماید که IL-15 می‌تواند سوخت و ساز محیطی گلوکز را تنظیم کند.^{۱۳}

عضله‌ی اسکلتی مانند یک غده‌ی درون‌ریز مایوکاین‌ها را در پاسخ به انقباض تولید و آزاد می‌نماید که می‌تواند بر سوخت و ساز در دیگر بافت‌ها و اندام‌ها اثر بگذارد. نقش تنظیمی انقباض عضلانی در رابطه با IL-15 به عنوان یک مایوکاین به صورت کامل مشخص نشده است.^{۱۴} در مورد اثر تمرین‌های ورزشی بر بیان عضلانی IL-15 تنها دو پژوهش صورت گرفته که هیچ‌کدام تغییری در بیان mRNA IL-15 مشاهده نکرده‌اند.^{۱۵،۱۶} هیچ‌کدام از این دو پژوهش مقدار پروتئین IL-15 عضلانی را بررسی نکرده‌اند و از سوی دیگر نوع عضلات استفاده شده برای بررسی بیان IL-15 نیز مهم به نظر می‌رسد. نشان داده شده فیبرهای عضلانی نوع ۲ منبع اصلی بیان mRNA IL-15 عضله‌ی اسکلتی در پاسخ به ورزش هستند.^{۱۷} همچنین، پیشنهاد شده

بیشترین اثرات IL-15 ممکن است در شرایط استرس مانند پیری و بیماری مشاهده شود.^{۱۸} با توجه به بررسی‌های صورت گرفته در رابطه با تمرین‌های ورزشی و IL-15 به نظر می‌رسد استفاده از نمونه‌هایی مانند موش‌های دیابتی با توجه به اثرات دیابت بر عضله‌ی اسکلتی می‌تواند تا حدی به پرسش‌های مطرح شده در مورد ارتباط بین بیان و پروتئین IL-15، و تمرین‌های مقاومتی پاسخ دهد. همچنین، با توجه به نقش متابولیکی پیشنهادی برای IL-15 در افزایش مصرف گلوکز توسط عضلات، اثرات هایپرتروفیک این سایتوکاین می‌تواند یکی از سازوکارهای درگیر در بهبود حساسیت به انسولین در اثر تمرین‌های مقاومتی در عضله‌ی اسکلتی دیابتی‌ها باشد. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی بیان mRNA و مقدار پروتئین IL-15 در عضلات کند و تند تنش در موش‌های صحرایی دیابتی به دنبال یک دوره تمرین مقاومتی بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی - کاربردی بوده و از تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۵۰±۳۰ گرم (تولید شده در انستیتو پاستور ایران) استفاده گردید. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با درجه حرارت ۲۲±۳ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. تمام آزمایش‌های صورت گرفته براساس دستورالعمل کمیته‌ی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تربیت مدرس طراحی گردید. دیابت با تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین (STZ)ⁱⁱ حل شده در نرمال سالین (۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) ایجاد گردید. ۴ روز بعد از تزریق میزان قند خون ناشتا برای تایید دیابت اندازه‌گیری شد. سطح گلوکز ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. حیوانات به صورت تصادفی در چهار گروه کنترل سالم (C)، تمرین سالم (T)، کنترل دیابتی (D) و تمرین دیابتی (DT) قرار گرفتند. موش‌های دیابتی هیچ‌گونه درمانی با انسولین در طول پژوهش نداشتند و نشانه‌های دیابت نوع ۱ مانند تکرر ادرار و کاهش وزن را نشان دادند.

موش‌های صحرایی در گروه‌های T و DT به مدت ۵ هفته و در مجموع ۱۷ جلسه تمرین مقاومتی را اجرا کردند.

براساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام استخراج‌ها بین ۲-۱/۸ بود و اینتگریتی RNA توسط الکتروفورز با استفاده از آگارز-ایتدیوم برمایید (۱٪) مورد سنجش قرار گرفت. برای رونویسی RNA به cDNA از کیت Prime Script RT reagent تهیه شده از شرکت Takara (ژاپن) استفاده شد. برنامه‌ی استفاده شده براساس پروتکل کیت به صورت ۱۵ دقیقه نسخه‌برداری معکوس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سپس در دمای ۸۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه، و در نهایت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. cDNA به دست آمده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

PCR با استفاده از دستگاه Real time (Rotrogen, 6000, Corbet) براساس SYBR-Green از کیت Perfect (Real Time, Takara Code RR041A - ژاپن) و براساس دستورالعمل کیت انجام شد. پرایمرهای استفاده شده در این پژوهش برای ژن‌های GAPDH, RPL-26, و IL-15 از شرکت Qiagen خریداری شد. ⁱⁱGAPDH-QT00199633, ⁱⁱⁱRPL-26-QT01828771 and IL-15, (QT01813637)] پروفایل دمایی PCR در مخلوطی نهایی به حجم ۲۰ میکرولیتر به صورت یک چرخه با ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، و به دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ ثانیه و ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه انجام شد. رونوشت‌های اختصاصی از دیاد یافته توسط پروفایل منحنی Melting که در انتهای هر PCR انجام می‌گرفت، تایید شد. کنترل بیشتر اندازه‌ی محصول و ویژگی PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ رویت با اندیوم بروماید صورت پذیرفت. میزان بیان نسبی IL-15 به وسیله‌ی تفریق میانگین Δ CT ژن‌های GAPDH و RPL-26 به عنوان ژن خانه‌دار در نظر گرفته شده بودند، به دست آمد. میزان تغییرات بیان براساس گروه C با استفاده از فرمول $-\Delta\Delta$ CT محاسبه شد.

حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت‌های عضلانی نعلی و FHL در ۴۰۰ میکرولیتر بافر لیز سرد شامل (250 mM sucrose, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 2% SDS, 0.01% protease inhibitor cocktail, pH 6.5) با استفاده از هموژنایزر هموژن، ۳۰ ثانیه ورتکس و با دور $12000 \times g$

استراحت بین جلسه‌های تمرینی ۴۸ ساعت در نظر گرفته شد. تمرین به وسیله‌ی یک نردبان با ارتفاع ۱ متر و با ۲۶ پله انجام می‌شد. یک تکرار در این روش مستلزم ۲۶ بار بالا رفتن از نردبان توسط موش (در مجموع ۱۳ حمل وزنه به بالا یا Lift) بود. دوره‌ی آشنایی موش‌های صحرایی با این نوع تمرین ۳ روز بود که ۴۸ ساعت قبل از تزریق STZ صورت گرفت.

هر جلسه تمرین شامل ۵ ست با ۴ تکرار، در هر ست با ۶۰ ثانیه استراحت بین تکرارها و ۳ دقیقه استراحت بین ست‌ها بود. شدت تمرین برای گروه T در سه جلسه‌ی اول ۵۰٪ وزن بدن موش‌های صحرایی، در جلسات ۴ تا ۶ وزنه ۸۰٪ وزن بدن، در جلسات ۷ تا ۹ وزنه ۱۰۰٪ وزن بدن، در جلسه‌های ۱۰ تا ۱۲ وزنه ۱۲۰٪ وزن بدن بود. موش‌های صحرایی در جلسه‌های ۱۳ و ۱۴ یک دوره کاهش بار تمرینی با وزنه ۱۲۰٪ وزن بدن با ۳ ست و ۵ تکرار داشتند. در جلسه‌های ۱۵ تا ۱۷ موش‌ها وزنه ۱۵۰٪ وزن بدن خود را به بالای نردبان حمل کردند. موش‌های صحرایی در گروه DT در جلسه‌های تمرینی مشابه وزنه‌های ۳۰٪، ۵۰٪، ۸۰٪، ۱۰۰٪ و ۱۲۰٪ وزن بدن را به بالای نردبان حمل کردند. همچنین کاهش بار تمرین برای این گروه ۱۰۰٪ وزن بدن در ۳ ست و ۵ تکرار اجرا شد. در طی برنامه‌ی تمرینی از هیچ نوع شوک الکتریکی استفاده نشد. در صورت بالا نرفتن موش‌های صحرایی فشار اندک دم سبب تحریک آن‌ها به بالا رفتن می‌شد.

موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، با ترکیبی از کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت داخل عضلانی) و زایلازین (۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. بلافاصله پس از بیهوشی، خون موش‌ها به طور مستقیم توسط سرنگ از قلب کشیده شد و بافت عضلات نعلی و FHLⁱ به سرعت جدا و وزن آن اندازه‌گیری شد و در نیتروژن مایع منجمد گردید. نمونه‌های خون در سانتیفریوژ با دور $1000 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه برای جدا کردن سرم قرار گرفت. نمونه‌های سرمی و بافتی تا زمان اندازه‌گیری در فریزر در ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

استخراج RNA با استفاده از محلول TRIzol (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) و

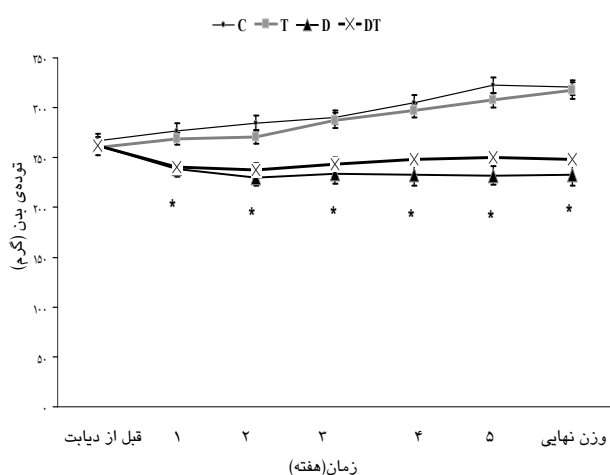
ii- Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)
iii- Ribosomal Protein L26 (RPL-26)

i- Flexor Hallucis Longus

تحلیل‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ انجام گرفت. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه‌های D و DT در طول پژوهش کاهش یافته است ($P < 0.05$). در شروع پژوهش تفاوت مشخصی بین گروه‌های مورد بررسی مشاهده نگردید (نمودار ۱).



نمودار ۱- وزن بدن موش‌های صحرایی در طول مطالعه * کاهش معنی‌دار وزن در گروه‌های D و DT نسبت به گروه‌های C و T

وزن عضلات، نسبت‌های وزن عضلانی به وزن بدن، گلوکز و انسولین سرمی در جدول ۱ آورده شده است.

سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت جمع‌آوری و محتوای کلی پروتئین هر سوپرناتانت به‌وسیله‌ی روش برادفورد تعیین گردید.^{۱۹} نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری در -80°C درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. سطح IL-15 عضلانی به‌وسیله‌ی روش الیزا و با استفاده از کیت الیزای USCN Life (USCN Science Inc, Catalog No.E90061Ra) اندازه‌گیری گردید. حساسیت کیت ۵/۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود و ضریب تغییرات درون سنجی و برون سنجی به ترتیب کمتر از ۳٪ و ۴/۵٪ بود. یافته‌ها براساس فمتوگرم (Fg) سایتوکاین در هر میلی‌گرم پروتئین عضله ارائه شد.

به منظور بررسی سطح هورمون انسولین در سرم از روش الیزا و با استفاده از کیت الیزای انسولین شرکت (ALPCO Diagnostics, Windham, ALPCO NH) استفاده گردید. تمام مراحل الیزا براساس برنامه‌ی کیت بود. حساسیت کیت ۰/۱۰۷ نانوگرم در هر میلی‌لیتر، و ضریب تغییرات درون سنجی و برون سنجی کمتر از ۱۰٪ به دست آمد.

تمام داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. برای بررسی نرمال بودن توزیع متغیرها از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف استفاده شد. همچنین آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (آنوا) و آزمون پیگیری آماری توکی برای آنالیز داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. تمام تجزیه و

جدول ۱- شاخص‌های وزن عضلات، نسبت وزن عضلات به وزن بدن، گلوکز و انسولین

DT	D	T	C	
$494/5 \pm 23/8$	$416/6 \pm 11/9$	$646/62 \pm 8/8$	$576/6 \pm 19/6$ *	وزن عضله‌ی FHL (میلی‌گرم)
$199/6 \pm 2/1$	$175/4 \pm 9/8$	$204/6 \pm 5/1$	$179/6 \pm 2/1$	نسبت وزن عضله FHL به وزن بدن (گرم/میلی‌گرم)
$123/1 \pm 4/3$	$110/4 \pm 3/0$	$164/7 \pm 4/0$	$160/4 \pm 14/3$	وزن عضله نعلی (میلی‌گرم)
$49/6 \pm 1/4$	$46/0 \pm 1/1$	$51/9 \pm 1/7$	$49/6 \pm 3/7$	نسبت وزن عضله نعلی به وزن بدن (گرم/میلی‌گرم)
$499/6 \pm 25/3$	$546/6 \pm 21/7$	$78/1 \pm 2/1$	$81/3 \pm 2/2$	گلوکز (دسی‌لیتر/میلی‌گرم)
$0/2 \pm 0/03$	$0/14 \pm 0/03$	$0/72 \pm 0/03$	$0/61 \pm 0/04$	انسولین (میلی‌لیتر/نانوگرم)

* اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند، † معنی‌دار نسبت به گروه C، ‡ معنی‌دار نسبت به گروه D

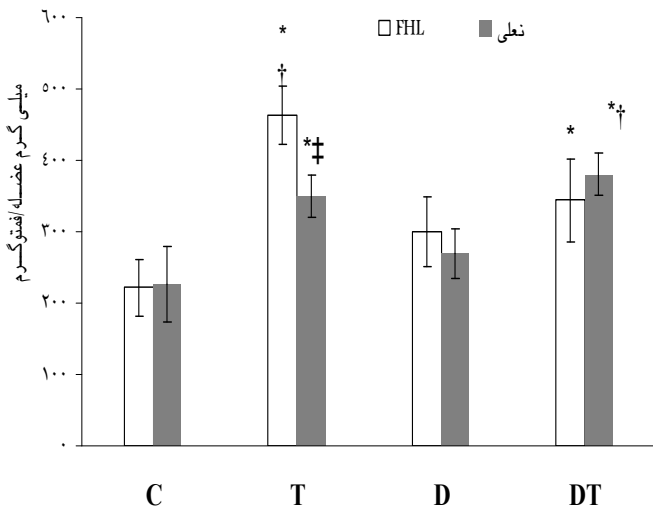
گروه‌های D و C و گروه‌های تمرینی مشاهده می‌شود ($P < 0.001$) (جدول ۱). در عضله‌ی نعلی کاهش مشخص در گروه‌های D و DT نسبت به گروه‌های سالم کنترل و تمرین

بررسی حاضر نشان داد ۵ هفته تمرین مقاومتی شدید سبب هایپرتروفی عضلانی در عضله‌ی FHL گردید. افزایش مشخص در نسبت وزن عضله به وزن بدن و وزن عضله بین

نمودار ۴ مقدار پروتئین IL-15 در گروه‌های مختلف را نشان داده است. افزایش معنی‌دار پروتئین در گروه‌های T و DT در مورد هر دو عضله در مقایسه با گروه کنترل سالم مشاهده گردید. بین مقدار پروتئین در دو عضله‌ی نعلی و FHL تفاوت معنی‌داری به دست آمد، به طوری‌که عضله‌ی FHL میزان IL-15 بالاتری در مقایسه با نعلی داشت. مقدار پروتئین در عضله‌ی نعلی گروه DT در مقایسه با D افزایش یافت و این افزایش نزدیک به معنی‌داری بود.

مشاهده گردید ($P < 0.05$)، اما وقتی وزن عضله نسبت به وزن بدن تعدیل شد، تفاوتی بین گروه‌های مورد بررسی مشاهده نگردید (جدول ۱).

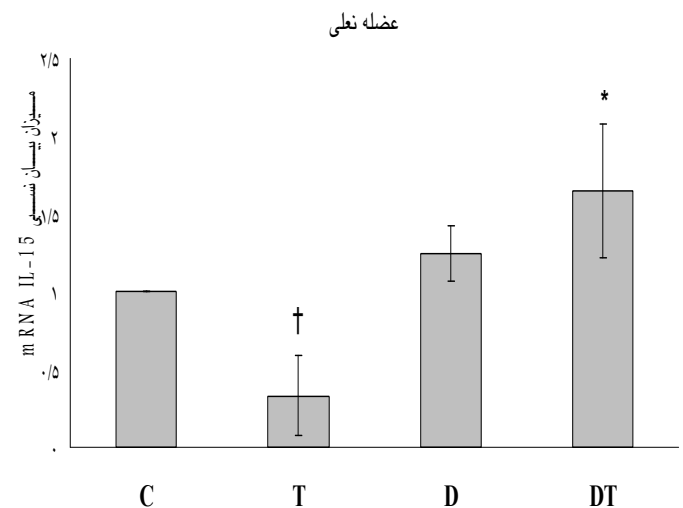
بیان نسبی IL-15 در عضلات نعلی و FHL در نمودار ۲ و ۳ نشان داده شده است. در عضله‌ی نعلی بیان IL-15 در گروه DT در مقایسه با C کاهش یافته، همچنین گروه T کاهش معنی‌داری را در مقایسه با D در این عضله نشان داده است. بیان بالاتری در گروه DT نسبت به گروه T مشاهده گردید، اما تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نبود. در گروه T نیز کاهش بیان مشاهده شد. در عضله‌ی FHL تفاوت آماری مشخصی بین گروه‌های مورد بررسی به دست نیامد، تنها کاهش بیان در گروه T در مقایسه با D نزدیک به معنی‌داری بود ($P = 0.07$). در این عضله کاهش بیان در گروه DT و T مشاهده گردید، اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت.



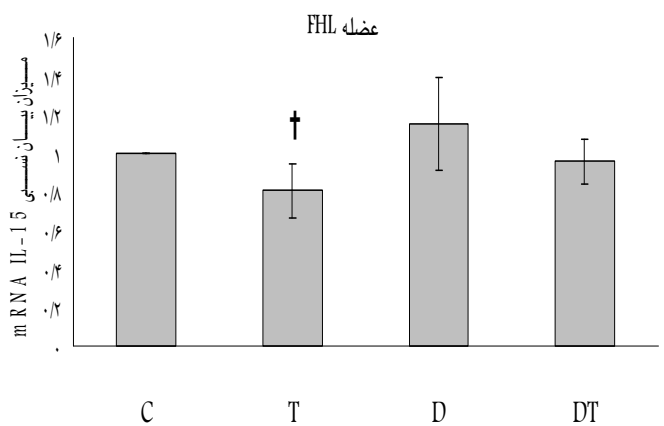
نمودار ۴- مقدار پروتئین IL-15 در گروه‌های مختلف * معنی‌دار نسبت به گروه C، † معنی‌دار نسبت به گروه D ‡ معنی‌دار بین دو عضله نعلی و FHL §

بحث

پژوهش‌های متعددی به منظور بررسی اثرات IL-15 روی عضلات اسکلتی انجام شده است. بیشتر پژوهش‌هایی که بیان و پروتئین IL-15 در عضله‌ی اسکلتی را بررسی کرده‌اند از نمونه‌های پیر استفاده نموده‌اند.^{۲۰،۲۱} پیری با آتروفی عضلانی و اختلالات عملکردی و ضعف عضلات (سارکوفنیا) همراه است.^{۲۲} تمرین‌های مقاومتی می‌تواند اختلالات عضلانی ایجاد شده در افراد مسن را کاهش دهد.^{۲۳} مارزتی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند در موش‌های صحرایی پیری تغییری در بیان mRNA IL-15 ایجاد نمی‌کند، اما مقدار پروتئین IL-15 در موش‌های صحرایی پیر lib-fed کاهش یافته است.^{۱۸} به نظر می‌رسد ارتباط اندکی بین پروتئین و میزان mRNA IL-15 وجود دارد. ارتباط اندک بین بیان و پروتئین IL-15 احتمال زیاد ناشی از مهارکننده-



نمودار ۲- میزان بیان نسبی در چهار گروه پژوهش در عضله نعلی * معنی‌دار نسبت به گروه C، † معنی‌دار نسبت به گروه D



نمودار ۳- میزان بیان نسبی IL-15 در عضله‌ی FHL † معنی‌دار نسبت به گروه D

های نسخه‌برداری و ترجمه‌ای موجود در توالی ژن IL-15 دانسته‌اند.^{۲۱،۲۴} در بررسی حاضر الگوی بیان و پروتئین در عضله‌ی FHL و نعلی موش‌های صحرایی تمرین کرده‌ی سالم ارتباط اندک بین بیان و پروتئین را تایید می‌نماید. کوپین و همکاران (۲۰۱۰) ارتباط مثبتی را بین کاهش سطح پلاسمایی IL-15 و بیان گیرنده‌های محلول IL-15 (sIL-15Ra) از عضله‌ی اسکلتی در موش‌های پیر مشاهده کردند.^{۲۱} این احتمال مطرح است که تغییرات بیان گیرنده‌های IL-15 یکی از سازگاری‌های احتمالی تمرین‌های ورزشی باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتر در بررسی‌های آینده دارد.

در پژوهش حاضر در مورد عضله‌ی نعلی تغییر قابل توجهی در توده‌ی عضلانی مشاهده نشده است. به نظر می‌رسد نوع برنامه‌ی تمرینی، شدت و مدت زمان دوره‌ی تمرین یکی از عوامل موثر در اثرگذاری این نوع تمرین ورزشی در عضلات مختلف می‌باشد. هارنبرگر و فارار (۲۰۰۴) افزایش توده‌ی عضلانی در FHL را مشاهده کردند، در حالی که عضلات دیگر کمتر مورد تاثیر این نوع تمرین قرار گرفته‌اند.^{۲۵} لی و همکاران (۲۰۰۴) افزایش ۲۳٪ توده‌ی عضلانی در FHL را در اثر این نوع برنامه‌ی تمرینی مشاهده نمودند، این گروه نوع درگیری عضله‌ی FHL در این نوع تمرین و اعمال هر دو نوع حرکات اکسنتریک و کانسنتریک توسط عضله‌ی یاد شده در نوع بالا رفتن موش‌ها را دلیلی بر افزایش توده‌ی عضلانی دانسته‌اند.^{۲۶،۲۷} نشان داده شده استراحت بین ست‌ها، تعداد تکرارها، وزنه‌ی مورد استفاده و جلسه‌های تمرینی در هفته عوامل اثرگذار در هایپرتروفی و افزایش قدرت عضلانی است.^{۲۸} اما در عضله‌ی نعلی در گروه سالم و تمرین دیابتی سازگاری عضلانی مشاهده نشده است. به نظر می‌رسد دوره‌های طولانی‌تر تمرینی با شدت پایین‌تر در تمرین‌های با نردبان بیشتر توانسته‌اند عضلات کند مانند عضله‌ی نعلی را تحت تاثیر قرار دهند.^{۲۹}

پیشنهاد شده مایوکاین‌های آزاد شده در پاسخ به ورزش ممکن است سازوکار ارتباطی بین عضلات با بافت چربی، کبد، مغز و عروق باشند.^{۳۰} در مدل موش‌هایی که ژن PGC-1 α جهش داده شده بود، مشاهده گردید کاهش PGC-1 α سبب ایجاد یک سازوکار ارتباطی بین عضلات اسکلتی و سلول‌های بتای پانکراس می‌شود.^{۳۱} از نظر این گروه این سازوکار احتمالی ناشی از IL-6 آزاد شده از عضله‌ی اسکلتی است که اثر آن روی حساسیت انسولین و ترشح انسولین نشان داده شده است.^{۳۲} همچنین، کاهش بیان

PGC-1 α در عضلات اسکلتی موش‌های دیابتی مشاهده گردیده^{۳۳} بیان پروتئین PGC-1 α در عضلات تارهای عضلانی نوع I و IIa بالاتر است.^{۳۴} در پژوهش حاضر عضله‌ی کند تنش نعلی به احتمال زیاد کاهش بیشتری را در سطح PGC-1 α با دیابت داشته، این احتمال مطرح است که بیان بیشتر مایوکاین‌ها از این عضله در پاسخ به ورزش به دلیل نقش آن‌ها در ارتباطات بین بافت‌ها در تمرین‌های ورزشی باشد.

آلوارز و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده‌اند TNF سبب افزایش محتوای IL-15 mRNA در میوبلاست‌های C2C12 موشی کشت داده شده می‌شود.^{۳۵} در حیوانات آزمایشگاهی در طول سرطان، TNF- α ممکن است یکی از واسطه‌های درگیر در مرگ سلولی و افزایش پروتئولیز در عضله‌ی اسکلتی باشد. استفاده از IL-15 در حیوانات توموری سبب کاهش مرگ سلولی عضلانی و در نهایت حفظ توده‌ی عضلانی گشته است. سازوکار درگیر در این نقش حمایتی در مرگ سلولی عضله به احتمال زیاد فعال‌سازی UCP3^۱ است. فسفوریلاسیون اکسیداتیو UCP3 غیرجفت در سطح میتوکندری، و در نتیجه کاهش تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به نظر می‌رسد با مهار مرگ سلولی ارتباط داشته است. به دلیل اتکای بیشتر عضلات کند تنش به سازوکار اکسیداتیو ذرات اکسیژن فعال بیشتری تشکیل می‌شود،^{۳۶} و تولید TNF- α بیشتر خواهد بود. در بررسی حاضر سطح TNF- α عضله‌ی نعلی در گروه تمرین دیابتی از عضله‌ی FHL بالاتر است (داده‌های منتشر نشده). با توجه به بررسی‌های صورت گرفته مهار TNF- α یکی از عملکردهای مهم IL-15 در عضله‌ی اسکلتی است. بیان بالاتر mRNA IL-15 می‌تواند به دلیل اثرات بیشتر TNF- α در عضله‌ی کند تنش باشد. با توجه به این اثر مهم به نظر می‌رسد تمرین‌های مقاومتی که بتوانند همزمان با افزایش توده‌ی عضلانی و تحریکات هایپرتروفیک، استرس اکسیداتیو را نیز کنترل کنند، بیشتر می‌توانند در حفظ توده‌ی عضلانی در بیماران دیابتی موثر باشند. به علاوه، این موضوع می‌تواند یکی از دلایل پاسخ‌های متفاوت بیان و پروتئین IL-15 در موش‌های دیابتی در مقایسه با سالم باشد.

به نظر می‌رسد با توجه به اثرات دیابت نوع ۱ تمرین‌های ورزشی مقاومتی خواهند توانست در حفظ توده‌ی عضلانی

صورت نگرفته است. به نظر می‌رسد تغییرات گیرنده‌های IL-۱۵ در اثر تمرین‌های ورزشی به برخی از پرسش‌های موجود در مورد این سایتوکاین و تمرین‌های ورزشی پاسخ خواهد داد.

این بیماران موثر باشند. در مورد IL-۱۵ و اثرات هایپرتروفیک آن در ورزش به نظر می‌رسد مقدار پروتئین این سایتوکاین سازوکار دقیق‌تری برای تعیین میزان فعالیت آن در اثر ورزش است. با این وجود در مورد تغییرات گیرنده‌های IL-۱۵ در اثر تمرین‌های ورزشی هنوز پژوهشی

References

- Chen GQ, Mou CY, Yang YQ, Wang S, Zhao ZW. Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes. *Life Sci* 2011; 89: 44-9.
- Halvatsiotis P, Short KR, Bigelow M, Nair KS. Synthesis rate of muscle proteins, muscle functions, and amino acid kinetics in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2395-404.
- Farrell PA, Fedele MJ, Hernandez J, Fluckey JD, Miller JL 3rd, Lang CH, et al. Hypertrophy of skeletal muscle in diabetic rats in response to chronic resistance exercise. *J Appl Physiol* 1999; 87: 1075-82.
- Derave W, Eijnde BO, Verbessem P, Ramaekers M, Van Leemputte M, Richter EA, et al. Combined creatine and protein supplementation in conjunction with resistance training promotes muscle GLUT-4 content and glucose tolerance in humans. *J Appl Physiol* 2003; 94: 1910-6.
- Yki-Järvinen H, Koivisto VA. Effects of body composition on insulin sensitivity. *Diabetes* 1983; 32: 965-9.
- Hayashi Y, Nagasaka S, Takahashi N, Kusaka I, Ishibashi S, Numao S, et al. A single bout of exercise at higher intensity enhances glucose effectiveness in sedentary men. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4035-40.
- Grabstein KH, Eisenman J, Shanebeck K, Rauch C, Srinivasan S, Fung V, et al. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science* 1994; 264: 965-8.
- Quinn LS, Anderson BG, Drivdahl RH, Alvarez B, Argilés JM. Overexpression of interleukin-15 induces skeletal muscle hypertrophy in vitro: implications for treatment of muscle wasting disorders. *Exp Cell Res* 2002; 280: 55-63.
- Carbó N, López-Soriano J, Costelli P, Busquets S, Alvarez B, Baccino FM, et al. Interleukin-15 antagonizes muscle protein waste in tumour-bearing rats. *Br J Cancer* 2000; 83: 526-31.
- Figueras M, Busquets S, Carbó N, Barreiro E, Almendro V, Argilés JM, et al. Interleukin-15 is able to suppress the increased DNA fragmentation associated with muscle wasting in tumour-bearing rats. *FEBS Lett* 2004; 569: 201-6.
- Xia J, Liu W, Hu B, Tian Z, Yang Y. IL-15 promotes regulatory T cell function and protects against diabetes development in NK-depleted NOD mice. *Clin Immunol* 2010; 134: 130-9.
- Argilés JM, López-Soriano J, Almendro V, Busquets S, López-Soriano FJ. Cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue: a link with obesity? *Med Res Rev* 2005; 25: 49-65.
- Busquets S, Figueras M, Almendro V, López-Soriano FJ, Argilés JM. Interleukin-15 increases glucose uptake in skeletal muscle. An antidiabetogenic effect of the cytokine. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760: 1613-7.
- Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev* 2008; 88: 1379-406.
- Christiansen T, Paulsen SK, Bruun JM, Pedersen SB, Richelsen B. Exercise training versus diet-induced weight-loss on metabolic risk factors and inflammatory markers in obese subjects: a 12-week randomized intervention study. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 298: E824-31.
- Zanchi NE, Lira FS, de Siqueira Filho MA, Rosa JC, de Oliveira Carvalho CR. Chronic low frequency/low volume resistance training reduces pro-inflammatory cytokine protein levels and TLR4 mRNA in rat skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2010; 109: 1095-102.
- Nielsen AR, Mounier R, Plomgaard P, Mortensen OH, Penkowa M, Speersneider T, et al. Expression of interleukin-15 in human skeletal muscle effect of exercise and muscle fibre type composition. *J Physiol* 2007; 584: 305-12.
- Marzetti E, Carter CS, Wohlgemuth SE, Lees HA, Giovannini S, Anderson B, et al. Changes in IL-15 expression and death-receptor apoptotic signaling in rat gastrocnemius muscle with aging and life-long calorie restriction. *Mech Ageing Dev* 2009; 130: 272-80.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-54.
- Quinn LS, Haugk KL, Damon SE. Interleukin-15 stimulates C2 skeletal myoblast differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 239: 6-10.
- Quinn LS, Anderson BG, Strait-Bodey L, Wolden-Hanson T. Serum and muscle interleukin-15 levels decrease in aging mice: correlation with declines in soluble interleukin-15 receptor alpha expression. *Exp Gerontol* 2010; 45: 106-12.
- Doherty TJ. Invited review: Aging and sarcopenia. *J Appl Physiol* 2003; 95: 1717-27.
- Melov S, Tamopolsky MA, Beckman K, Felkey K, Hubbard A. Resistance exercise reverses aging in human skeletal muscle. *PLoS One* 2007; 2: e465.
- Budagian V, Bulanova E, Paus R, Bulfone-Paus S. IL-15/IL-15 receptor biology: a guided tour through an expanding universe. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17: 259-80.
- Hornberger TA Jr, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol* 2004; 29: 16-31.
- Lee S, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1097-104.

27. Roy RR, Wilson R, Edgerton VR. Architectural and mechanical properties of the rat adductor longus: response to weight-lifting training. *Anat Rec* 1997; 247: 170-8.
28. Bird SP, Tarpenning KM, Marino FE. Designing resistance training programmes to enhance muscular fitness: a review of the acute programme variables. *Sports Med* 2005; 35: 841-51.
29. Klitgaard H. A model for quantitative strength training of hindlimb muscles of the rat. *J Appl Physiol* 1988; 64: 1740-5.
30. Pedersen BK, Febbraio M. Muscle-derived interleukin-6--a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver, and brain. *Brain Behav Immun* 2005; 19: 371-6.
31. Handschin C, Choi CS, Chin S, Kim S, Kawamori D, Kurpad AJ, et al. Abnormal glucose homeostasis in skeletal muscle-specific PGC-1alpha knockout mice reveals skeletal muscle-pancreatic beta cell crosstalk. *J Clin Invest* 2007; 117: 3463-74.
32. Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? *Diabetes* 2005; 54 Suppl 2: S114-24.
33. Roberts-Wilson TK, Reddy RN, Bailey JL, Zheng B, Ordas R, Gooch JL, et al. Calcineurin signaling and PGC-1alpha expression are suppressed during muscle atrophy due to diabetes. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803: 960-7.
34. Akimoto T, Ribar TJ, Williams RS, Yan Z. Skeletal muscle adaptation in response to voluntary running in Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase IV-deficient mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: C1311-9.
35. Alvarez B, Carbó N, López-Soriano J, Drivdahl RH, Busquets S, López-Soriano FJ, et al. Effects of interleukin-15 (IL-15) on adipose tissue mass in rodent obesity models: evidence for direct IL-15 action on adipose tissue. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1570: 33-7.
36. Bozkurt O, Severcan M, Severcan F. Diabetes induces compositional, structural and functional alterations on rat skeletal soleus muscle revealed by FTIR spectroscopy: a comparative study with EDL muscle. *Analyst* 2010; 135: 3110-9.

Original Article

Influence of Resistance Training on IL-15 mRNA Expression and the Protein Content in Slow and Fast Twitch Muscles of Diabetic Rats

Molanouri Shamsi M¹, Mohammad Hassan ZH², Mahdavi M³, Gharakhanlou R¹, Baghersad L¹, Azadmanesh K³, Edalat R³

¹Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, ² Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran ³Virology Department, Pasteur Institute of Iran, Tehran, I.R. Iran

e-mail: hassan_zm@modares.ac.ir

Received: 15/105/2011 Accepted: 16/01/2012

Abstract

Introduction: Resistance exercise training represents an effective interventional strategy to augment muscle mass, strength, and function in diabetes. It has been demonstrated that IL-15 (Interleukin-15) can act as an anabolic factor for skeletal muscle, influencing protein metabolism. It has also been suggested that IL-15 could regulate peripheral glucose metabolism. Our aim was to investigate whether resistance training has any effect on IL-15 expression and protein of skeletal muscles in rats with diabetes. **Materials and Methods:** Rats were divided into the control, the training, and the streptozotocin induced diabetic and diabetic training groups. Training groups performed resistance training exercise which consisted of climbing a 1 m ladder with weight added to the tail. IL-15 Gene expression of soleus and Flexor Hallucis Longus muscles was analyzed using real time. Skeletal muscle protein of IL-15 was measured by ELIZA method. **Results:** The results of this study indicate that resistance training provided an anabolic stimulus sufficient to maintain the Flexor Hallucis Longus muscle mass of the diabetic training group. IL-15 mRNA levels in soleus were increased in the diabetic training group. Protein levels of IL-15 increased in the training and diabetic training groups in both skeletal muscles. **Conclusion:** Having a high content of mitochondria and relying on an oxidative pathway, soleus muscle was found to be more affected by diabetes. The lack of correlation of IL-15 mRNA and protein levels is partly due to transcriptional and translational blocks, which are present in the IL-15 gene sequence.

Keywords: Atrophy, STZ induced Diabetes, Resistance Training, IL-15, Skeletal Muscle