

## تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی بر بیان اینترلوکین-6 و RCAN-1 در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزوسین

مهديه ملانوری شمسی<sup>1\*</sup>، مهدی مهدوی<sup>2</sup>

### چکیده

**مقدمه:** مایوکاین‌های آزاد شده از عضله اسکلتی دارای نقش‌های متعدد متابولیکی و هایپرتروفیکی می‌باشند. از سویی دیگر یکی از مسیرهای پیشنهادی برای اعمال اثرات ورزش در بیماری‌های متابولیک مسیر سیگنالینگ کالسی‌نورین بوده است. با توجه به ارتباط مایوکاین اینترلوکین-6 (IL-6) و کالسی‌نورین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات تمرین مقاومتی بر میزان بیان mRNA مایوکاین IL-6 و تنظیم‌کننده کالسی‌نورین 1 (RCAN-1) به‌عنوان شاخص فعالیت کالسی‌نورین در عضله اسکلتی در موش‌های صحرایی دیابتی بود.

**روش‌ها:** 32 سر موش صحرایی به‌صورت تصادفی به گروه‌های کنترل سالم، تمرین سالم، دیابتی کنترل و دیابتی تمرین تقسیم شدند. دیابت از طریق تزریق استروپتوزوسین (STZ) القا شد. گروه‌های تمرین 17 جلسه تمرین مقاومتی فرآینده را اجرا کردند. میزان بیان IL-6 mRNA و RCAN-1 عضله نعلی با روش Real-time Pcr اندازه‌گیری شد. از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. سطح معناداری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** نتایج پژوهش نشان‌دهنده افزایش بیان RCAN-1 mRNA در اثر تمرین ورزشی در گروه‌های تمرینی بود ( $P < 0/05$ ). دیابت باعث کاهش بیان RCAN-1 در گروه‌های دیابتی گشته است ( $P < 0/001$ ). همچنین تمرین مقاومتی بیان مایوکاین IL-6 را در عضله اسکلتی افزایش داده است ( $P = 0/08$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج پژوهش به‌نظر می‌رسد می‌توان به اثرات تعدیلی تمرینات ورزشی مقاومتی در بیان و فعال‌سازی مسیر کالسی‌نورین در نمونه‌های دیابتی و افزایش هم‌زمان در بیان مایوکاین IL-6 اشاره کرد. به‌نظر می‌رسد فعال‌سازی این مسیر به‌دنبال تمرینات مقاومتی می‌تواند در حفظ توده عضلانی در دیابت موثر باشد.

**واژگان کلیدی:** دیابت نوع 1، اینترلوکین-6، کالسی‌نورین، تمرین مقاومتی، عضله اسکلتی

1- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

2- بخش ایمنولوژی پزشکی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

\***نشانی:** تهران، بزرگراه جلال آل احمد، دانشگاه تربیت مدرس، گروه تربیت بدنی، تلفن: 02182884683، نمابر 02182883617، پست

الکترونیک: molanouri@modares.ac.ir

تاریخ پذیرش: 1395/04/17

تاریخ درخواست اصلاح: 1395/03/29

تاریخ دریافت: 1395/02/10

## مقدمه

عضله اسکلتی ظرفیت بیان چندین سایتوکاین شامل IL-6، IL-8 و IL-15 را دارد که روی هم رفته مایوکاین نامیده می‌شوند [1]. Pedersen و همکاران (2003) مایوکاین‌ها را سایتوکاین‌های تولید و ترشح شده به‌وسیله سلول‌های عضلانی می‌دانند که ارتباط بین ورزش و التهاب را مشخص می‌کنند [2]. فعالیت انقباضی در تنظیم مقادیر این سایتوکاین‌ها در عضله اسکلتی نقش دارد [3]. مایوکاین‌ها باعث تسهیل چندین پاسخ سلولی به ورزش مانند سرکوب پروتئولیتیک، آنژیوژنز و تنظیم گلیکوژن عضلانی می‌شوند. در این میان IL-6 توجه زیادی را به خود جلب کرده است چون از یک سو در دوره پس از ورزش یعنی به هنگام افزایش عملکرد انسولین رها می‌شود و از سوی دیگر با چاقی و کاهش عملکرد انسولین رابطه دارد [4].

اثرات مثبت فعالیت‌های ورزشی منظم در برابر بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های متابولیک مشخص شده است. ممکن است فعالیت ضدالتهابی ایجاد شده به‌واسطه ورزش منظم واسطه اثرات مفید ورزش در بسیاری از بیماری‌ها باشد [5]. نشان داده شده تمرینات ورزشی مقاومتی می‌توانند با اثرات مثبت بر عضلات اسکلتی و افزایش بیان پروتئین GLUT4 باعث بهبود وضعیت بیماران دیابتی شود [6]. درک این نکته که ورزش منظم چگونه و با چه سازوکاری باعث بهبود و درمان نارسایی‌های متابولیکی می‌شود در مسائل داروشناسی مفید است.

کلسیم به‌عنوان پیامبر ثانویه در عضله اسکلتی طی ورزش عمل می‌کند و واسطه انتقال فعالیت عصبی عضلانی به ژن‌های هدف از طریق مسیرهای تنظیمی وابسته به کلسیم شامل سیگنالینگ کالسی‌نورین می‌شوند [7]. یکی از مسیرهای پیشنهادی برای اعمال اثرات ورزش در بیماری متابولیک مسیر کالسی‌نورین بوده است. فعال‌سازی مسیر کالسی‌نورین باعث پاسخ‌های سازگاری می‌شود که باعث افزایش عملکرد انسولین در عضله اسکلتی می‌گردند. کالسی‌نورین فعال شده منجر به القای چندین ژن می‌شود که در تنظیم انتقال گلوکز در عضله اسکلتی درگیر هستند. این تغییرات با افزایش انتقال گلوکز در عضله اسکلتی مرتبط می‌باشند [8]. فعال‌سازی کالسی‌نورین همچنین

باعث افزایش مصرف آمینو اسید و اکسایش اسیدچرب می‌شود. این سازگاری‌های متابولیک با تنظیم مثبت بیان پروتئین PGC-1 همراه بوده است [9، 10]. همچنین در موش‌های مبتلا به دیابت به‌وسیله STZ، کاهش بیان و فعالیت کالسی‌نورین مشاهده شده است [11]. شواهد نشان دهنده آن است که کالسی‌نورین یکی از اهداف محتمل در بهبود عملکرد انسولین در عضله اسکلتی است.

سایتوکاین IL-6 به‌عنوان یک مایوکاین در کنترل مسیرهای متابولیکی طی ورزش نقش دارد. اثرات مفید IL-6 آزاد شده به‌دنبال فعالیت‌های ورزشی در بهبود حساسیت انسولینی مشاهده شده است [12]. به‌دلیل آنکه نسبت نسخه برداری IL-6 به‌عنوان یکی از مایوکاین‌های اصلی در اوایل انقباض عضلانی افزایش می‌یابد [13]، این فرضیه وجود دارد که فعال‌سازی مسیرهای تنظیمی وابسته به کلسیم در نسخه‌برداری ژن IL-6 و آزاد شدن آن در عضله‌های ایزوله شده موش‌های صحرایی نقش دارد [14].

Banzet و همکاران (2007) نشان دادند مهار فعالیت کالسی‌نورین باعث کاهش بیان IL-6 به‌دنبال فعالیت‌های ورزشی می‌شود [15]. با توجه به اثرات هم‌زمان فعال‌سازی کالسی‌نورین و بیان IL-6 در بهبود حساسیت انسولینی یکی از سازوکارهای پیشنهادی در مورد اثرات مایوکاین IL-6 در بهبود حساسیت انسولینی در عضله اسکلتی مسیر کالسی‌نورین خواهد بود. کاهش فعال‌سازی مسیر کالسی‌نورین به‌دنبال دیابت در عضلات اسکلتی دچار آتروفی شده مشاهده شده است [16]. به‌نظر می‌رسد فعال‌سازی این مسیر در کنار مایوکاین IL-6 با توجه به اثرات هایپرترتروفیک تمرینات مقاومتی می‌تواند ضمن حفظ توده عضلانی در کنترل دیابت موثر باشد. با توجه به اینکه اثرات تمرینات ورزشی بر فعال‌سازی مسیر کالسی‌نورین و بررسی هم‌زمان تغییرات مایوکاین IL-6 در نمونه‌های دیابتی تاکنون بررسی نشده است، هدف از این پژوهش بررسی بیان mRNA مایوکاین IL-6 و RCAN-1<sup>1</sup> به‌عنوان شاخص فعالیت کالسی‌نورین در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی دیابتی به‌دنبال تمرینات ورزشی مقاومتی بوده است.

<sup>1</sup> Regulator of calcineurin 1

## روش‌ها

### حیوانات مورد آزمایش و گروه‌های تجربی

مطالعه حاضر از نوع تجربی-کاربردی بوده و از تعداد 32 سر موش صحرایی نر 8 هفته‌ای بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی  $250 \pm 30$  گرم تولید شده در انستیتو پاستور ایران استفاده گردید. حیوانات در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی با درجه حرارت  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کلیه آزمایش‌ها و تجربیات صورت گرفته براساس دستورالعمل کمیته کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تربیت مدرس طراحی شد. دیابت با تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین (STZ)<sup>1</sup> حل شده در نرمال سالین (55 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) ایجاد گردید. 4 روز بعد از تزریق میزان قند خون ناشتا با استفاده از دستگاه گلوکومتر مدل GT-1921 ساخت کشور ژاپن جهت تایید دیابت اندازه‌گیری شد. سطوح گلوکز  $250 \text{ mg/dl}$  به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. حیوانات به‌صورت 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 مطالعه نداشتند و نشانه‌های دیابت نوع 1 مثل تکرر ادرار و کاهش وزن را نشان دادند.

### پروتکل تمرین مقاومتی

موش‌های صحرایی در گروه‌های تمرین سالم و تمرین دیابتی به‌مدت 5 هفته و در مجموع 17 جلسه تمرین مقاومتی را اجرا کردند. استراحت بین جلسات تمرینی 48 ساعت در نظر گرفته شد. تمرین به‌وسیله یک نردبان با ارتفاع 1 متر و با 26 پله انجام می‌شد. یک تکرار در این روش مستلزم 26 بار بالا رفتن از نردبان توسط موش (در مجموع 13 حمل وزنه به بالا یا Lift) بود. دوره آشنایی موش‌های صحرایی با این نوع تمرین 3 روز بود که 48 ساعت قبل از تزریق STZ صورت گرفت.

هر جلسه تمرین شامل 5 ست با 4 تکرار در هر ست با 60 ثانیه استراحت بین تکرارها و 3 دقیقه استراحت بین ست‌ها بود. شدت تمرین برای گروه تمرین سالم در سه جلسه اول 50٪ وزن بدن موش‌های صحرایی، در جلسات 4 تا 6 وزنه 80٪ وزن بدن، در جلسات 7 تا 9 وزنه 100٪ وزن بدن، در جلسات 10 تا 12 وزنه 120٪ وزن بدن بود. موش‌های صحرایی در جلسات 13 و 14 یک دوره کاهش بار تمرینی با وزنه 120٪ وزن بدن با 3 ست و 5 تکرار داشتند. در جلسات 15 تا 17 موش‌ها وزنه 150٪ وزن بدن را به بالای نردبان حمل کردند. موش‌های صحرایی در گروه تمرین دیابتی در جلسات تمرینی مشابه وزنه‌های 30٪، 50٪، 80٪، 100٪ و 120٪ وزن بدن را به بالای نردبان حمل کردند. همچنین کاهش بار تمرینی برای این گروه 100٪ وزن بدن در 3 ست و 5 تکرار اجرا شد. در طی برنامه تمرینی از هیچ نوع شوک الکتریکی استفاده نشد. در صورت بالا نرفتن موش‌های صحرایی فشار اندک دم باعث تحریک آن‌ها به بالا رفتن می‌شد [17، 18].

### تهیه نمونه‌های خون و بافت عضلانی

موش‌های صحرایی 24 ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با ترکیبی از کتامین ( $30-50 \text{ mg/kg im}$ ) و زایلازین ( $3-5 \text{ mg/kg im}$ ) بیهوش شدند. بلافاصله پس از بیهوشی، خون موش‌ها به‌طور مستقیم توسط سرنگ از قلب کشیده شده و بافت عضله نعلی به سرعت جدا شده، وزن شد و در نیتروژن مایع منجمد شد. نمونه‌های خونی در سانتریفیوژ با دور  $1000 \times \text{g}$  به‌مدت 20 دقیقه برای جدا کردن سرم قرار گرفت. نمونه‌های سرمی و بافتی تا زمان اندازه‌گیری در فریزر در  $-80$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### استخراج RNA کل (Total RNA) از بافت عضلات و

#### سنتز cDNA

استخراج RNA با استفاده از محلول TRIzol (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. نسبت جذبی 260/280 نانومتر برای تمام استخراج‌ها بین 1/8-2 بود و ایتتگریتی

<sup>1</sup> Streptozotocin

### اندازه‌گیری سطح سرمی انسولین و گلوکز

به‌منظور بررسی سطح سرمی هورمون انسولین از روش الایزا و با استفاده از کیت الایزای انسولین شرکت (ALPCO Diagnostics, Windham, ALPCO NH) استفاده گردید. کلیه مراحل الایزا براساس پروتکل کیت بود. حساسیت کیت 0/107 نانو گرم در هر میلی‌لیتر بود و ضریب تغییرات درون سنجی و برون سنجی کمتر از 10% بود. همچنین غلظت گلوکز با روش گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد.

### روش‌های آماری

کلیه اطلاعات به‌صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  ارائه شده است. برای بررسی نرمال بودن توزیع متغیرها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. از آزمون آماری آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون پیگیری آماری توکی برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. همه آنالیزها در نرم افزار SPSS V16.0 انجام گرفت. سطح معناداری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

#### ویژگی‌های حیوانات

وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه‌های دیابت کنترل و دیابت تمرین در طول پژوهش کاهش یافته است ( $P < 0/05$ ). در شروع مطالعه تفاوت مشخصی بین گروه‌های مطالعه مشاهده نشده است. وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف، میزان گلوکز و انسولین سرمی در جدول 1 آورده شده است (جدول 1).

RNA توسط الکتروفورز با استفاده از آگارز-ایتدیوم برماید (1درصد) مورد سنجش قرار گرفت. برای رونویسی RNA به cDNA از کیت Prime Script RT reagent تهیه شده از شرکت Takara, Japan استفاده شد. پروتکل استفاده شده براساس پروتکل کیت به‌صورت، 15 دقیقه نسخه‌برداری معکوس در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و سپس در دمای 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 ثانیه و و نهایتاً 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. cDNA به‌دست آمده در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

### Real Time PCR

PCR با استفاده از دستگاه Real time (Rotrogen, 6000, Corbet) و براساس SYBR-Green از کیت Perfect Real Time, Takara Code RR041A, Japan و مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. پرایمرهای استفاده شده در این پژوهش برای ژن‌های GAPDH، RPL-26 و IL-6 و RCAN-1 از شرکت Qiagen خریداری شد.  $^1\text{GAPDH}$  (QT00199633،  $^2\text{RPL-26-QT01828771}$  and IL-6، RCAN-1 (QT00181293 و در مورد QT00182896) می‌باشد. پروفایل دمایی PCR در مخلوطی نهایی به حجم 20 میکرولیتر به‌صورت یک چرخه با 95 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه و به دنبال آن 40 چرخه با 95 درجه سانتی‌گراد برای 5 ثانیه و 60 درجه سانتی‌گراد برای 30 ثانیه انجام شد. رونوشت‌های اختصاصی ازدیاد یافته توسط پروفایل منحنی Melting که در انتهای هر PCR انجام می‌گرفت، تصدیق شد. برای کنترل بیشتر اندازه محصول و اختصاصیت PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز 2% رویت با اتدیوم بروماید صورت پذیرفت. میزان بیان نسبی IL-6 و RCAN-1 به‌وسیله تفریق میانگین  $\Delta\text{CT}$  ژن‌های GAPDH و RPL-26 به‌عنوان housekeeping در نظر گرفته شده بودند، به‌دست آمد. میزان تغییرات بیان براساس گروه کنترل سالم با استفاده از فرمول  $^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  2 محاسبه شد.

<sup>1</sup> Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)

<sup>2</sup> Ribosomal Protein L26 (RPL-26)

جدول 1- شاخص‌های وزن، گلوکز و انسولین در موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف پژوهش

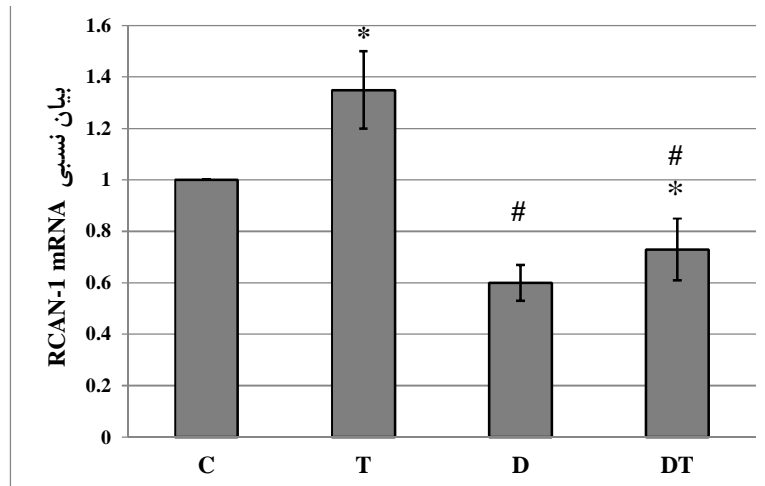
دیابت کنترل	دیابت تمرین			
261/75±9/37	262/5±4/86	260/38±5/34	266/9±7/09	وزن اولیه (گرم)
≠* 248/3±4/33	≠*232/51±10/18	317/38±8/66	320/3±7/57	وزن نهایی (گرم)
≠*499/68±25/38	≠*546/66±21/78	78/12±2/16	81/36±2/23	گلوکز (mg/dl)
≠*0/21±0/035	≠*0/14±0/035	0/72±0/036	0/61±0/041	انسولین (ng/ml)

\*معنادار نسبت به گروه C، ≠ معنادار نسبت به گروه T

میزان بیان RCAN-1 mRNA در عضله نعلی

نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده تاثیر تمرین بر بیان RCAN-1 بوده است ( $P=0/02$ ). تمرین مقاومتی باعث افزایش بیان این شاخص در گروه‌های تمرینی در مقایسه با غیرتمرینی شده است. همچنین تاثیر دیابت نیز بر بیان این فاکتور در عضله نعلی معنادار بوده است ( $P=0/00$ ). گروه‌های دیابتی کاهش بیان این فاکتور را در مقایسه با گروه‌های غیردیابتی نشان داده‌اند. اما اثر متقابل بین تمرین و دیابت معنادار نمی‌باشد ( $P>0/05$ ). در نمودار 1 نتایج مربوط به بیان RCAN-1 در عضله نعلی نشان داده شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان دهنده تاثیر معنادار دیابت بر شاخص‌های وزن نهایی، گلوکز و انسولین است ( $P<0/001$ ). این شاخص‌ها در گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه‌های سالم تغییر نشان داده است. گروه‌های دیابتی دارای وزن کمتر، گلوکز بالاتر و انسولین پایین‌تری در مقایسه با گروه‌های سالم هستند. تاثیر تمرین و اثر متقابل تمرین و دیابت در مورد این شاخص‌ها معنادار نبوده است ( $P>0/05$ ). تمرین مقاومتی نتوانسته است تغییری در سطوح این فاکتورها ایجاد کند.



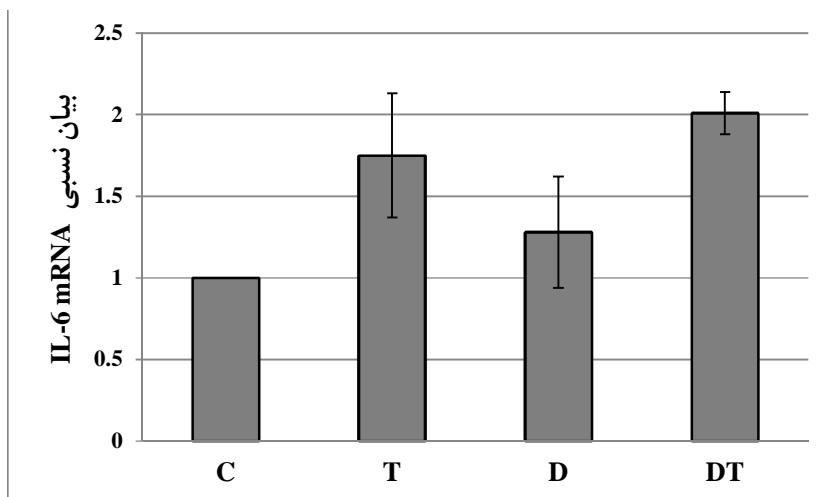
نمودار 1- بیان نسبی RCAN-1 در عضله نعلی گروه C: کنترل سالم، گروه T: تمرین سالم، گروه D: دیابت کنترل، گروه DT: دیابت تمرین.

آنالیز واریانس دوطرفه نشان دهنده تفاوت‌های گروه‌های تمرینی با غیرتمرینی (نشان‌گر \*) و گروه‌های دیابتی با غیردیابتی (نشان‌گر #) بر میزان بیان RCAN-1 mRNA در عضله نعلی می‌باشد.

## میزان بیان mRNA مایوکاین IL-6 در عضله نعلی

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده عدم تاثیر دیابت بر بیان IL-6 بوده است ( $P=0/51$ ) اما تاثیر تمرین بر بیان این مایوکاین نزدیک به معناداری بوده است ( $P=0/08$ ). تمرین مقاومتی توانسته است باعث افزایش بیان مایوکاین IL-6 در

گروه‌های تمرینی در مقایسه با غیر تمرینی شود. همچنین اثر متقابل بین تمرین و دیابت معنادار نمی‌باشد ( $P>0/05$ ). در نمودار 2 نتایج مربوط به بیان IL-6 در عضله نعلی نشان داده شده است.



نمودار 2- بیان نسبی IL-6 در عضله نعلی گروه C: کنترل سالم، گروه T: تمرین سالم، گروه D: دیابت کنترل، گروه DT: دیابت تمرین.

آنالیز واریانس دوطرفه نشان دهنده عدم تاثیر تمرین و دیابت بر میزان بیان IL-6 mRNA در عضله نعلی می‌باشد هر چند در مورد تمرین نتایج نزدیک به معناداری می‌باشند.

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده تاثیر تمرین و دیابت بر بیان RCAN-1 mRNA به‌عنوان شاخص فعالیت کالسی‌نورین است. به‌نظر می‌رسد تمرین باعث افزایش فعال‌سازی کالسی‌نورین و دیابت باعث کاهش فعال‌سازی آن در عضله اسکلتی شده است. همچنین تاثیر تمرین مقاومتی بر بیان IL-6 mRNA در عضله اسکلتی نعلی در موش‌های صحرایی دیابتی نزدیک به معناداری بوده است. تمرین مقاومتی توانسته است بیان IL-6 در عضله کندنش را افزایش دهد. تمرینات مقاومتی افزایش هم‌زمان در بیان RCAN-1 به‌عنوان شاخص فعال‌سازی کالسی‌نورین و مایوکاین IL-6 در عضله کندنش را نشان داده‌اند. تخریب سلول‌های  $\beta$  پانکراس ترشح کننده انسولین متعاقب تزریق STZ، موجب کاهش شدید سطوح انسولین

و بنابراین هایپرگلیسمی می‌شود. از بین رفتن توده عضلانی در مدل‌های کاهش انسولینی شدید (دیابت ایجاد شده با استفاده از STZ) مشاهده شده است [19]. از بین رفتن توده عضلانی با کاهش سنتز پروتئین و افزایش تجزیه پروتئین در عضله اسکلتی ارتباط دارد. پیشنهاد شده است که سطوح بیش از حد بالای گلوکز پلاسما می‌تواند در حضور سطوح انسولین پایین یا مقاومت انسولین منجر به آتروفی عضلانی شود [20]. تمرین مقاومتی آشکارا داری یک اثر تحریکی قوی بر سنتز پروتئین عضله است که به میزانی بیش از تخریب آن می‌رسد، بنابراین منجر به تعادل مثبت پروتئین می‌شود [21 و 22]. از آنجایی که آتروفی عضلانی یکی از پیامدهای دیابت ناشی از STZ است، به نظر می‌رسد که برنامه تمرین مقاومتی می‌تواند تا حدی از این پیامد پیشگیری کند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که

بیشترین اثر فعالیت‌های قدرتی بر روی تارهای تند، الگوهای عصب‌رسانی و پیوندگاه‌های عصبی عضلانی این تارها می‌باشد و ساختار و فنوتیپ تارهای تند را بیشتر از تارهای کند دستکاری می‌کند. از سوی دیگر دیگر آرسترانگ و همکاران (1975) و همکاران (1975) کاهش فیبرهای تند تنش گلیکولیتیک و عدم تغییر در فیبرهای کند تنش یا فیبرهای ترکیبی تند و کند در عضله دوقلوی موش‌های دیابتی را مشاهده کردند [23]. مطالعات مشابه که از شیوه تمرینی مشابه با شیوه تمرین به‌کاربرده شده در مطالعه حاضر استفاده کردند، نشان داده‌اند عضله نعلی کمتر تحت تاثیر این نوع تمرین مقاومتی قرار می‌گیرد [18]، [17]. با این وجود، کاهش بیان RCAN-1 در اثر دیابت نشان دهنده اثرات آتروفیک دیابت بر این عضله بوده است. روبرت ویلسون و همکاران (2010) نشان دادند آتروفی عضلانی ایجاد شده در اثر دیابت هم‌زمان با کاهش فعال‌سازی مسیر کالسی‌نورین بوده است [16]. کاهش سطوح انسولین عامل اثرگذار در مسیر کالسی‌نورین می‌باشد. تمرین مقاومتی استفاده شده در مطالعه حاضر توانسته است باعث فعال‌سازی مجدد این مسیر گردد. با افزایش بیان این فاکتور در عضله اسکلتی در اثر تمرینات مقاومتی این فرضیه تایید می‌گردد که تمرینات مقاومتی می‌تواند با فعال‌سازی مسیر کالسی‌نورین در جهت بهبود و حفظ وضعیت عضله اسکلتی در هنگام آتروفی عضلانی درگیر باشد. از سوی دیگر، اثرات تنظیمی مسیر کالسی‌نورین در مسیر گلوکز مشاهده شده است [11]. نشان داده شده در موش‌های ترانس ژنیک که بیان بالای شکل فعال کالسی‌نورین را دارند مصرف گلوکز در عضله اسکلتی افزایش می‌یابد که پیشنهاد می‌کند این فسفاتاز تنظیم کننده منفی مقاومت انسولین محیطی است [23]. همچنین در موش‌های دیابتی ایجاد شده به‌وسیله STZ کاهش بیان و فعالیت کالسی‌نورین مشاهده شده است [24]. به‌نظر می‌رسد در مورد اثرات فعالیت‌های ورزشی در بیماری دیابت سازوکار فعال‌سازی از طریق کالسی‌نورین می‌تواند یکی از مسیرهای درگیر در بهبود وضعیت این بیماری به‌ویژه در عضله اسکلتی باشد.

بیان مایوکاین IL-6 در گروه‌های تمرین در مقایسه با کنترل‌ها افزایش یافته است. با وجود اینکه این افزایش معنادار نبوده است اما افزایش قابل ملاحظه‌ای مشاهده می‌شود، این افزایش در مورد گروه تمرین دیابتی بالاتر است. مطالعات انجام شده در مورد اثرات مایوکاین IL-6 در پاسخ به ورزش بسیار گسترده می‌باشند. بر این نکته اتفاق نظر وجود دارد که فعالیت‌های ورزشی باعث آزاد شدن مقادیر بالایی از مایوکاین‌ها به‌ویژه IL-6 می‌گردد که در ایجاد سازگاری‌ها به‌دنبال تمرینات ورزشی نقش دارند. این نکته مشخص شده است که آزاد شدن IL-6 به‌صورت موضعی از عضلات اسکلتی با فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای ارتباط داشته است [25]. این احتمال وجود دارد که آزاد شدن این مایوکاین در اثر تمرین واسطه‌ای برای تحریک سلول‌های عضلانی در جهت حفظ و یا حتی افزایش توده عضلانی باشد. از سوی دیگر پیشنهاد شده است که IL-6 آزاد شده از عضله اسکلتی به‌عنوان یک سنسور انرژی عمل می‌کند [26، 27]. افزایش در دسترس بودن گلوکز جریان خون و استفاده از مکمل‌های کربوهیدراتی باعث کاهش آزاد شدن IL-6 به‌دنبال ورزش شده است. این نکته مشخص شده است که ذخایر گلیکوژنی عضلات اسکلتی به‌دنبال آتروفی عضلانی و دیابت نوع 1 کاهش می‌یابند [28]. افزایش بیان این مایوکاین به‌دنبال تمرینات ورزشی مقاومتی می‌تواند در جهت حفظ این ذخایر و در نتیجه حفظ توده عضلانی باشد. نکته دیگری که در مورد مایوکاین IL-6 وجود دارد آن است که همواره این مایوکاین و بیان mRNA آن به‌عنوان شاخص فعال‌سازی انتقال گلوکز و افزایش حساسیت انسولینی شناخته شده است [1، 3]. احتمال دیگر مطرح در مورد افزایش بیان این مایوکاین در گروه تمرین دیابتی اثرات مثبت تمرین در افزایش حساسیت انسولینی بوده است.

اثرات هم‌زمان افزایشی بیان RCAN-1 به‌عنوان شاخص فعال‌سازی کالسی‌نورین و بیان مایوکاین IL-6 در مطالعه حاضر مشاهده شد. به این نکته تاکید شده است که مسیر کالسی‌نورین یکی از مسیرهای درگیر در بیان مایوکاین IL-6 در عضله اسکلتی به‌دنبال فعالیت‌های ورزشی است [15].

می‌تواند نتایج قابل توجهی را در زمینه فعال‌سازی مسیر کالسی‌نورین در ارتباطات احتمالی با مایوکاین‌ها آزاد شده از عضله اسکلتی ارائه کند.

### سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت و پشتیبانی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. بدین‌وسیله مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی آن دانشگاه اعلام می‌داریم.

اما تغییرات هم‌زمان این دو فاکتور در نمونه‌های دیابتی به‌دنبال تمرینات ورزشی تاکنون در پژوهشی بررسی نشده است. یکی از سازوکارهای درگیر در مسیر کالسی‌نورین، فعال‌سازی مسیر PGC-1 $\alpha$  می‌باشد [16]. پیشنهاد شده است مسیر کالسی‌نورین با فعال کردن این پروتئین در حفظ توده عضلانی درگیر است. استفاده از مهارکننده‌های مسیر کالسی‌نورین مانند سیکلوسپورین A می‌تواند در تایید نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر موثر باشد. از سویی دیگر استفاده از تمرینات ورزشی استقامتی با توجه به اثرات متابولیکی مشاهده شده در مورد این نوع تمرینات

### مآخذ

- Pedersen BK, Akerstrom TC, Nielsen, A.R, Fischer, C.P. Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl Physiol* 2007; 103: 1093–1098.
- Pedersen BK, Steensberg A, Keller P, Keller C, Fischer C, Hiscock N, Van Hall G, et al. Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *Pflugers Arch* 2003; 446:9–16.
- Pedersen BK, Febbraio, MA. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008; 88: 1379–1406.
- Kim TH, Choi SE, Ha ES, Jung JG, Han SJ, Kim HJ, et al. IL-6 induction of TLR-4 gene expression via STAT3 has an effect on insulin resistance in human skeletal muscle. *Acta Diabetol* 2013; 50(2):189-200.
- Carey AL, Bruce CR, Sacchetti M, Anderson MJ, Olson D, Saltin B, et al. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha are not increased in patients with type 2 diabetes: evidence that plasma IL-6 is related to fat mass and not insulin responsiveness. *Diabetologia* 2004; 47: 1029–1037.
- Hall KE, McDonald MW, Gris  KN, Campos OA, Noble EG, Melling CW. The role of resistance and aerobic exercise training on insulin sensitivity measures in STZ-induced Type 1 diabetic rodents. *Metabolism* 2013; 62(10):1485-94.
- Koulmann N, Bigard AX. Interaction between signalling pathways involved in skeletal muscle responses to endurance exercise. *Pflug Arch* :2006; 452:125–139.
- Ryder JW, Bassel-Duby R, Olson EN, Zierath JR. Skeletal muscle reprogramming by activation of calcineurin improves insulin action on metabolic pathways. *J Biol Chem* 2003; 278(45):44298-304.
- Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1 $\alpha$  in inflammation and chronic disease. *Nature* 2008; 454. 463–469.
- Roberts-Wilson TK, Reddy RN, Bailey JL, Zheng B, Ordas R, Gooch JL, et al. Calcineurin signaling and PGC-1 $\alpha$  expression are suppressed during muscle atrophy due to diabetes. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803(8):960-7.
- Li H, Wei Q. Conformation changes in brain calcineurin in diabetic rats with or without treatment with vanadyl sulfate. *UBMB Life* 2001; 51(6):373-6.
- Carey AL, Febbraio, MA. Interleukin-6 and insulin sensitivity: friend or foe? *Diabetologia* 2004; 47: 1135–1142.
- Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK et al. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J* 2001; 15(14):2748-50.
- Holmes AG, Watt MJ, Carey AL, Febbraio MA. Ionomycin, but not physiologic doses of epinephrine, stimulates skeletal muscle interleukin-6 mRNA expression and protein release. *Metabolism* 2004; 53: 1492–1495.
- Banzet S, Koulmann N, Sanchez H, Serrurier B, Peinnequin A, Alonso A, et al. Contraction-induced interleukin-6 transcription in rat slow-type muscle is partly dependent on calcineurin activation. *J Cell Physiol* 2007; 210(3):596-601.
- Roberts-Wilson TK, Reddy RN, Bailey JL, Zheng B, Ordas R, Gooch JL, et al. Calcineurin signaling and PGC-1 $\alpha$  expression are suppressed during muscle atrophy due to diabetes. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803(8):960-7.
- Molanouri Shamsi M, Hassan ZH, Gharakhanlou R, Quinn LS, Azadmanesh K, Baghersad L, et al. Expression of interleukin-15 and inflammatory cytokines in skeletal muscles of STZ-induced diabetic rats: effect of



- resistance exercise training. *Endocrine* 2014; 46(1):60-9.
18. Molanouri Shamsi M, Hassan ZM, Quinn LS, Gharakhanlou R, Baghersad L, Mahdavi M. Time course of IL-15 expression after acute resistance exercise in trained rats: effect of diabetes and skeletal muscle phenotype. *Endocrine* 2015; 49(2):396-403.
  19. Dan M, Chantler JK. A novel pancreatic coxsackievirus vector expressing glucagon-like peptide 1 reduces hyperglycemia in streptozotocin-treated mice. *J Virol* 2011; 85(23):12759-68.
  20. Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, du Toit EF, Engelbrecht AM. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Exp Physiol* 2011; 96(2):179-93.
  21. Phillips SM, Tipton KD, Ferrando AA, Wolfe RR. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. *Am J Physiol* 1999; 276 (1 Pt 1):E118-24.
  22. Zanchi NE, Lira FS, Seelaender M, Lancha-Jr AH. Experimental chronic low-frequency resistance training produces skeletal muscle hypertrophy in the absence of muscle damage and metabolic stress markers. *Cell Biochem Funct* 2010; 28(3):232-8.
  23. Armstrong RB, Gollnick PD, Ianuzzo CD. Histochemical properties of skeletal muscle fibers in streptozotocin-diabetic rats. *Cell Tissue Res* 1975; 162(3):387-94.
  24. Ryder JW, Bassel-Duby R, Olson EN & Zierath JR. Skeletal muscle reprogramming by activation of calcineurin improves insulin action on metabolic pathways. *J Biol Chem* 2003; 278, 44298-44304.
  25. Costelli P, Almendro V, Figueras MT, Reffo P, Penna F, Aragno M, et al. Modulations of the calcineurin/NFAT pathway in skeletal muscle atrophy. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1770(7):1028-36.
  26. Serrano AL, Baeza-Raja B, Perdiguero E, Jardi M & Munoz-Canoves P. Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. *Cell Metab* 2008; 7, 33-44.
  27. Pedersen BK. Muscular interleukin-6 and its role as an energy sensor. *Med Sci Sports Exerc* 2012; 44, 392-396.
  28. Ruderman NB, Keller C, Richard AM, Saha AK, Luo Z, Xiang X et al. Interleukin-6 regulation of AMP-activated protein kinase. Potential role in the systemic response to exercise and prevention of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2006; 55(2), S48-S54.
  29. Chang CC, Yang MH, Tung HC, Chang CY, Tsai YL, Huang JP et al. Resveratrol exhibits differential protective effects on fast- and slow-twitch muscles in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Diabetes* 2014; 6(1):60-7.

## THE EFFECT OF RESISTANCE TRAINING ON EXPRESSION OF INTERLEUKIN-6 AND RCAN-1 IN SKELETAL MUSCLE OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Mahdieh Molanouri Shamsi<sup>1\*</sup>, Mahdi Mahdavi<sup>2</sup>

1. Department of Physical Education & Sport Sciences., Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Department of Immunology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran ; Immunology Department, Pasteur

### ABSTRACT

**Background:** Myokines released from skeletal muscle have multiple metabolic and hypertrophic effects. On the other hand, one of proposed pathways for effects of exercise training on *metabolic diseases* is calcineurin signaling pathway. With considering to relation between interleukin-6 (IL-6) and calcineurin, the purpose of this study was to investigate whether the resistance training has an effect on mRNA expression of IL-6 myokine and regulator of calcineurin 1(RCAN-1) in skeletal muscle of diabetic rats.

**Methods:** Thirty two Rats randomly were divided into the control, training, diabetic control and diabetic training groups. Diabetes induced by streptozotocin (STZ). Training groups performed the 17 sessions of resistance training. The IL-6 and RCAN-1 mRNA expression were measured in Soleus skeletal muscle using the Real-time PCR method. Two-way analysis variance was used for statistical analysis. Also, Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

**Results:** The results of this study showed that the mRNA expression of RCAN-1 was increased with resistance training in skeletal muscle of training groups ( $P < 0.05$ ). Also, diabetes was decreased expression of RCAN-1 in skeletal muscle of diabetic groups ( $P < 0.001$ ). Moreover, resistance training was increased mRNA expression of IL-6 in skeletal muscle ( $P = 0.08$ ).

**Conclusion:** With considering to our results, resistance training with direct effects on skeletal muscle could regulate calcineurin pathway in diabetes and concurrent increase in expression of IL-6 myokine. It seems that activation of this signaling pathway with resistance training could maintain skeletal muscle mass in diabetes.

**Keywords:** Type-1 diabetes, Interleukin-6, Calcineurin, Resistance training, Skeletal muscle

---

\* Jala Ale Ahmad Exp. Tehran, I.R. Iran; P.O.Box: 14117-13116; Tel.: +98-0913-2587207; Fax: +98-21-82883178; Mahdieh\_molanouri@yahoo.com