مقاله پژوهشی

پاسخ شاخص‌های التهابی و هایپرتروفیک به فعالیت مقاومتی در موش‌های صحرایی نر

مریم نورشاهی[۱]، سمانه کنشلو[۲]*، مهدی هدایتی[۳]، مصطفی بارانچی[۴]، نفیسه امین الاسلام[۵]، جواد نعمتی[۶]

[۱] دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۲] دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۳] دانشیار مرکز تحقیقات سلولی ملکولی غدد درون ریز، پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۴] کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

[۵] کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

[۶] استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

نشانی نویسنده مسؤول: تهران، اوین، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، سمانه کنشلو
E-mail: m.baranchi11@gmail.com

وصول: ۹۳/۴/۲۱ ، اصلاح: ۹۳/۵۶/۱۷ ، پذیرش: ۹۳/۶/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: کشش مکانیکی حاصل از فعّالیّت مقاومتی، می‌تواند موجب تحریک پروتئین‌های اسکلت سلولی حسّاس به کشش شود. همچنین فعّالیّت مقاومتی سبب تحریک فاکتورهای التهابی می‌شود. ازاین‌رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی تغییرات و ارتباط بین شاخص‌های التهابی و هایپرتروفیک به یک جلسه فعّالیّت مقاومتی در موش‌های صحرایی نر بود.

مواد و روش‌ها: دوازده سر موش نر نژاد ویستار سه ماهه به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی پروتکل فعّالیّت مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان ۱ متری، سه ست و در هر ست سه تکرار (با وزنه‌هایی معادل ۵۰٪، ۷۵٪ و ۱۰۰٪ وزن بدن خود موش) را اجرا کردند. گروه کنترل در آزمایشگاه بدون انجام ورزش نگهداری شدند. دوازده ساعت پس از پایان جلسه فعّالیّت، موش‌ها با ترکیبی از کتامین/زایلوزین بی‌هوش شدند. خون‌گیری به طور مستقیم از قلب انجام شد و همچنین عضله نعلی تشریح و خارج گردید. میزان وینکولین در نمونه بافت عضله پس از هوموژناسیون و میزان اینترلوکین-۱۷ در نمونه‌های سرم با روش الایزا سنجش شدند. کراتین کیناز سرمی با روش رنگ سنجی آنزیمی اندازه‌گیری شد. از آزمون تی مستقل و ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معنی‌داری α=۰/۰۵ درنظرگرفته شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تجربی در میزان وینکولین، IL-17 و کراتین کیناز دیده نشد (P>۰/۰۵). با این حال، همبستگی منفی معنی‌داری بین وینکولین و IL-17 مشاهده شد (r = -۰/۹۳ ، p=۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: یک جلسه فعّالیّت مقاومتی می‌تواند سبب تغییر در سطوح وینکولین، IL-17 و آنزیم کراتین کیناز شود. تعامل بین فاکتورهای التهابی و هایپرتروفیک (به‌طور ویژه وینکولین و IL-17) احتمالاً در سازگاری‌های حاصل از فعّالیّت مقاومتی نقش دارد.

واژه‌های کلیدی: *فعّالیّت مقاومتی، وینکولین، اینترلوکین ۱۷، کراتین کیناز، موش صحرایی.*

مقدمه

عضله اسکلتی بافتی بیولوژیک و تغییر پذیر می‌باشد. به همین دلیل خود را با شرایط مکانیکی– بیولوژیکی سازگار می‌کند (۱)؛ به طوری که می‌تواند نوع و میزان پروتئین خود را در پاسخ به تغییرات ایجاد شده در هموستاز سلولی تعیین نماید. روند پیچیده سازگاری در پاسخ به فعّالیّت، شامل سازوکارهای انتقال پیام ویژه‌ایی شده و منجر به بیان پاسخ در DNA می‌شود که می‌تواند با تشکیل پروتئین جدید همراه شود (۲). بنابراین، دوره‌های فعّالیّت ورزشی با تکرار بالا و متوالی به عنوان یک محرّک، منجر به افزایش در میزان نسخه‌برداری و ساخت پروتئین‌های عضله اسکلتی می‌شود (۳). یکی از این پروتئین‌ها وینکولین می‌باشد. وینکولین پروتئین اسکلت سلولی متصّل به اکتین است که ۱۱٦ کیلو دالتون وزن و ۱۰٦٦ اسید آمینه دارد (٤،٥). این پروتئین به دو صورت فعّال و غیرفعّال وجود دارد (٦). با توجّه به اتّصالات برجسته وینکولین با اکتین و سایر پروتئین‌های اسکلت سلولی، نقش این پروتئین به عنوان تنظیم کننده عمده در انتقال پیام و حفاظت از ساختار سلول دارای اهمیّت می‌باشد (۷).

در این راستا، واو و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند با افزایش سن، توده عضلانی و قدرت کاهش می‌یابد. بنابراین، عملکرد و ساختار عضله تحت تأثیر قرار می‌گیرد؛ به‌طوری که بیان زیر واحدهای اینتگرین، دیستروفین و سایر پروتئین‌های مرتبط با آن نظیر وینکولین و تالین دچار تغییر می‌شوند (۸). کورزی و همکاران (۲۰۱۲) نیز بیان کردند ناحیه اتّصال تاندونی که میزان پروتئین‌های اسکلت سلولی همچون وینکولین در آن بالا می‌باشد، به راحتی می‌تواند در اثر محرّک‌هایی همچون ورزش و اضافه بار دچار آسیب عضلانی شود. سازگاری ایجاد شده به آسیب عضلانی، احتمالاً یک مقاومت سلولی در مقابل استرس مکانیکی ایجاد می‌کند (۹). همچنین نورشاهی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند یک جلسه فعّالیّت اکسنتریک منجر به کاهش در پروتئین وینکولین در عضله کند می‌شود که با افزایش سطح کراتین کیناز و آسیب عضلانی همراه بود. محقّقان بیان کردند احتمالاً تغییر در وینکولین وابسته به آسیب عضلانی می‌باشد (۱۰). آسیب عضلانی و التهاب متعاقب فعّالیّت‌های شدید ورزشی اتّفاق می‌افتد. این امر به نوع، شدّت و مدّت زمان فعّالیّت بستگی دارد (۱۳–۱۱). تحقیقات نشان داده است التهاب ایجاد شده در نتیجه فعّالیّت ورزشی با افزایش در سطوح کراتین کیناز، به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های آسیب عضلانی (۱٤،۱٥) و افزایش در سایتوکاین‌های ضدّالتهابی و پیش التهابی مانند اینترلوکین ۱۷ (IL-17) همراه است (۱٦).

IL-17 متشکّل از یک سیگنال پپتیدی ۲۳ اسید آمینه‌ای و به دنبال آن یک زنجیر مشخصه ۱۲۳ اسید آمینه‌ای از خانواده Th17 است (۱۷). عمده‌ترین و برجسته‌ترین عملکرد بیولوژیکی IL-17 درگیری در القا و میانجی‌گری پاسخ‌های پیش التهابی می‌باشد (۱۸). IL-17 تولید بسیاری از سایتوکاین‌ها (از قبیل G-CSF, IL-6 , GM-CSF, IL-1β, TGF-β, TNF-α,)، کموکاین‌ها (شامل GRO-α, MCP-1IL-8) و پروستاگلاندین‌ها (مثل PGE2) را از انواع گوناگون سلولی (فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های اپیتلیال، کراتینوسیت‌ها و ماکروفاژها) القا می‌کند (۱٤،۱۸،۱۹). بنابراین، با توجّه به اهمیّت این سایتوکاین، محقّقان سطوح پلاسمایی IL-17 را به عنوان شاخص بیوشیمیایی مفیدی برای تعیین التهاب در عضله اسکلتی می‌دانند (۲۰). اندرسون و همکاران (۲۰۱۰) تغییرات IL-17 را پس از دو نوبت بازی فوتبال در ورزشکاران نخبه بررسی کردند، که تنها در بازی اوّل مقادیر IL-17 افزایش معنی‌دار داشت. نتایج این پژوهش نشان داد ورزش در اوّلین جلسه فعّالیّت، به‌عنوان یک محرّک جهت تولید فاکتورهای التهابی می‌باشد (۲۱). آقاعلی نژاد و همکاران (۲۰۱٤) نیز تغییرات این سایتوکاین را در پاسخ به سه نوع فعّالیّت مقاومتی،

استقامتی و موازی در مردان جوان بررسی کردند. پاسخ IL-17 به سه نوع فعّالیّت متفاوت بود و یافته‌ها افزایش معنی‌دار IL-17 و نوتروفیل‌ها را بلافاصله پس از فعّالیّت مقاومتی نشان داد (۲۲).

فعّالیّت مقاومتی به عنوان یک محرّک با قابلیّت ایجاد کشش مکانیکی، از یک سو باعث تحریک پروتئین‌های اسکلت سلولی حسّاس به کشش همچون وینکولین می‌شود (۱۰) و از سوی دیگر با تحریک فاکتورهای التهابی، همچون IL-17 همراه است (۲۲). با توجّه به شدّت بالای فعّالیّت در این پژوهش، احتمالاً تخریب سلولی و تغییرات پروتئین وینکولین اتّفاق می‌افتد. به‌نظر می‌رسد که به دنبال آن التهاب و در نتیجه پاسخ سایتوکاین‌های التهابی صورت گیرد. پژوهشی که تاکنون ارتباط بین سایتوکاین‌های التهابی و تخریب پروتئین‌های اسکلت سلولی را بررسی کند، مشاهده نشد. از طرفی اهمیّت ویژه وینکولین در پیام رسانی و حفظ ساختار عضله از یک سو و نقش IL-17 به عنوان یک سایتوکاین جدید از سوی دیگر، یکی از دلایل مهم انجام این پژوهش بود. با توجّه به این که تحقیقات ورزشی صورت گرفته در این زمینه محدود می‌باشد و بیشتر پژوهش‌ها در زمینه پروتئین‌های اسکلت سلولی جنبه پاتولوژی (۲۳،۲٤) و پزشکی (۲۵) داشته است. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی تغییرات و ارتباط بین شاخص‌های التهابی و هایپرتروفیک در پاسخ به یک جلسه فعّالیّت مقاومتی حاد در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۲ سر موش نر نژاد ویستار سه ماهه با میانگین وزنی ۵/۲ ±۲۹۸ گرم از موسسه پاستور خریداری و به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. برای آماده‌سازی شرایط محیطی مناسب، موش‌های صحرایی به صورت گروهی و ٤ سر موش در هر قفس از جنس پلی کربنات شفاف و در محیطی با دمای استاندارد (۲٦-۱۸ درجه سانتیگراد) و رطوبت بین ۳۰ تا ۷۰ ٪ نگهداری شدند. از چرخه معکوس تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت استفاده و جهت تصفیه هوا از دستگاه تصفیه به صورت مداوم استفاده شد. موش‌ها در هفته اوّل با شرایط زندگی در آزمایشگاه سازگار شده و آشناسازی حیوانات با نردبان عمودی در هفته دوم و سه جلسه در هفته انجام شد. نردبان عمودی به ارتفاع ۱ متر، دارای ۲٦ پله و زاویه ۸۵ درجه بود که در قسمت فوقانی، محفظه‌ای جهت استراحت حیوان قرار داشت. در جلسه اوّل بدون اتّصال کیسه وزنه و در دو جلسه دیگر با وصل کیسه مراحل آشناسازی انجام شد. برای حمل وزنه تمرینی ابتدا نقطه مورد نظر اتّصال کیسه حمل وزنه توسّط چسب لکوپلاست پوشیده شده و سپس کیسه به وسیله پارچه‌ای به دم حیوان چسبانده می‌شد، تا حیوان کم ترین آزردگی را هنگام حمل وزنه تحمّل کند. اتّصال کیسه به دم حیوان در ۲/۳ انتهای فوقانی دم حیوان انجام شد. در آغاز هفته سوم موش‌ها وزن شدند، و وزنه‌هایی معادل با ۵۰٪، ۷۵٪ و ۱۰۰٪ وزن بدن موش‌ها تهیه شد. پروتکل فعّالیّت مقاومتی شامل سه ست، و در هر ست سه تکرار بود. همچنین، استراحت بین ست‌ها ۳ دقیقه و استراحت بین تکرارها ۱ دقیقه درنظر گرفته شد. آزمودنی‌های گروه تجربی و کنترل، ۱۲ ساعت پس از پایان جلسه فعّالیّت، با ترکیبی از داروی بی‌هوشی کتامین (۷۵ میلی‌گرم) و زایلوزین (۱۰ میلی‌گرم) به نسبت وزن بدن حیوان بی-هوش شدند. سپس از قلب حیوان مستقیم خون‌گیری به عمل آمد و نمونه خونی سانتریفیوژ و سرم آن جدا گشت و در فریز ۷۰- نگهداری شد. برای استخراج عضله نعلی، تحت شرایط استریل از طریق شکاف بر روی ناحیه پشتی جانبی، اندام تحتانی جدا شد. بافت مورد نظر بلافاصله در مایع نیتروژن منجمد و ضمن انتقال به آزمایشگاه تا زمان اندازه‌گیری در فریز ۷۰- درجه نگهداری شد.

نمونه بافت‌ها نیز پس از سونیکه کردن توسّط دستگاه سونیکاتور و سپس سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه، ۱۰۰۰۰دور در دقیقه)، با استفاده از دستورالعمل کیت وینکولین (ساخت کمپانی کاسابیو چین با حسّاسیت ۳/۷ پیکوگرم در میلی لیتر) سنجش شد. درخصوص وینکولین ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های مجهول و محلول‌های استاندارد به چاهک‌های مربوط اضافه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر کونژوکه آنتی‌بادی بیوتین به همه چاهک‌ها اضافه شد و یک ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. در ادامه، ابتدا سه مرحله تمامی چاهک‌ها با ۲۰۰ میکرو لیتر محلول شست و شو، شسته شد و پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر کنژوکه آویدین آنزیم نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید. مجدداً سه مرتبه شست و شو و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا به تمامی چاهک‌ها افزوده و پس از انکوباسیون ۱۵ دقیقه‌ایی، به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر محلول متوقّف کننده افزوده شد و جذب نوری در طول موج ٤٥٠ نانومتر خوانده شد.

مقادیر IL-17 در نمونه های سرمی به وسیله کیت اختصاصی این سایتوکاین (ساخت شرکت پرسینجن بیومدیسین چین با حسّاسیت ۲ پیکوگرم در میلی لیتر) سنجش شد.میزان کراتین کیناز سرمی نیز با کیت رنگ سنجی آنزیمی مورد سنجش قرار گرفت (شرکت پارس آزمون تهران، ایران، با حسّاسیت ۱ واحد در لیتر). اندازه-گیری مذکور به وسیله دستگاه اتوآنالایزر سلکترا =۲ (کمپانی مرک، آلمان) انجام شد.

پس از بررسی نرمال بودن داده‌های به‌دست آمده با استفاده از آزمون کلموگروف– اسمیرنوف، از آزمون تی مستقل جهت تحلیل میانگین داده‌ها در هر گروه و از ضریب همبستگی پیرسون به‌منظور ارتباط سنجی بین فاکتورهای پژوهش استفاده شد. سطح معنی‌داری α=۰/۰۵ در نظر گرفته شد. آزمون آماری با استفاده از نسخه ۱۹ نرم افزار SPSS محاسبه شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین وینکولین، IL-17 و کراتین کیناز در گروه‌های کنترل و تجربی در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج تفاوت معنی‌داری در هر یک از مقادیر وینکولین (p=۰/۰٦)، IL-17 (p=۰/۰۵۲) و آنزیم کراتین کیناز (p=۰/٤۷) بین گروه کنترل و تجربی نشان نداد. هرچند این تفاوت در پروتئین وینکولین و IL-17 نزدیک به معنی‌داری بود. نمودار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب تفاوت بین مقادیر وینکولین، IL-17 و آنزیم کراتین کیناز را در گروه-های تجربی و کنترل نشان می‌دهد.

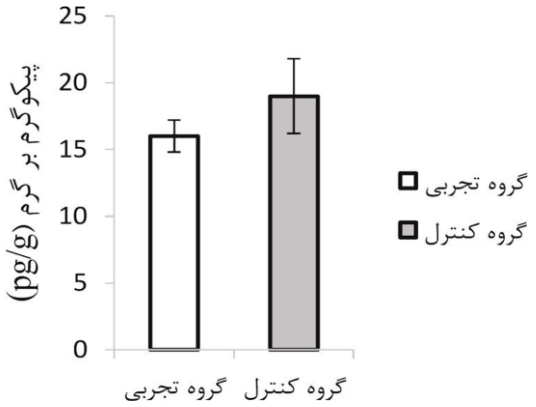
همچنین همبستگی منفی معنی‌داری (p=۰/۰۱ ، r=۰/۹۳) بین کاهش وینکولین و افزایش IL-17 دیده شد (نمودار ٤).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تغییرات پروتئین وینکولین در عضله نعلی، اینترلوکین ۱۷ و کراتین کیناز سرمی گروه‌های تجربی و کنترل

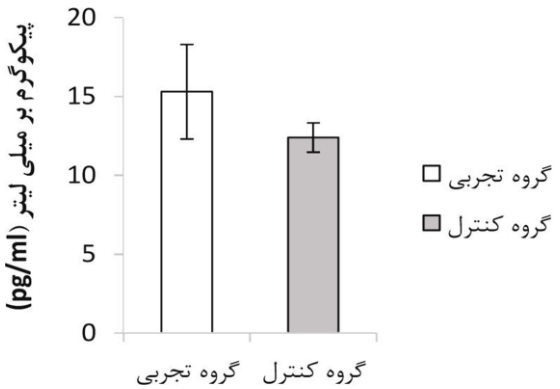
متغیر	گروه کنترل	گروه تجربی	P
وینکولین (Pg/g)	۱۹±۲/۸	۱۶±۱/۲	۰/۰۶
اینترلوکین ۱۷ (Pg/ml)	۱۲/۲±۰/۸۲	۱۵/۳±۳	۰/۰۵۲
کراتین کیناز (u/l)	۷۹۸±۱۶۶/٤	۸۹۶±۲٤۳	۰/٤۷

بحث

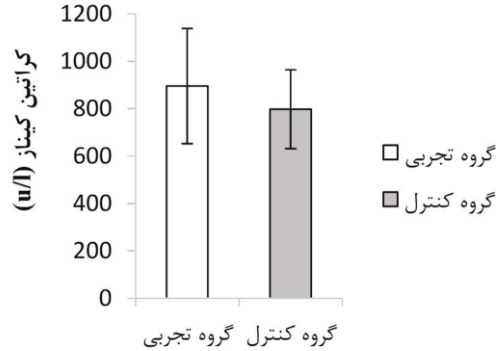
یافته‌های پژوهش حاضر، کاهش ۱٦ درصدی مقادیر پروتئین وینکولین را ۱۲ ساعت پس از فعّالیّت مقاومتی، در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل نشان داد. با توجّه به این‌که وینکولین عمده‌ترین پروتئین ناحیه چسبنده می‌باشد و از طرفی در اتّصالات سلول–سلول (از طریق کادهرین) جهت تحکیم ساختار آن نقش دارد، هر گونه آسیب به ساختمان سلول می‌تواند التهاب و تخریب پروتئین‌های اسکلت سلولی را ایجاد کند (۱۰،۲٦،۲۷). نورشاهی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند یک جلسه فعّالیّت اکسنتریک با کاهش ۲۲ درصدی وینکولین در



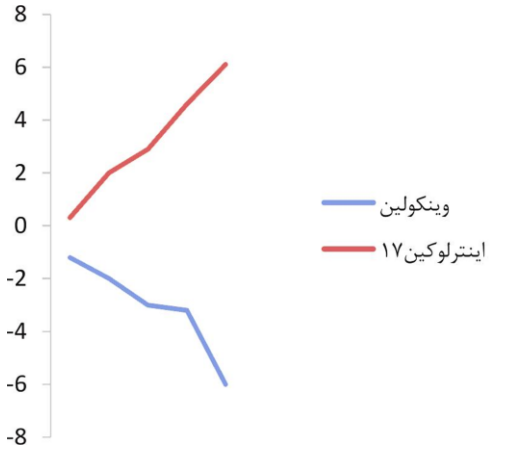
نمودار ۱: تغییرات وینکولین در عضله نعلی در گروه کنترل و تجربی



نمودار ۲: تغییرات اینترلوکین ۱۷ سرمی در گروه کنترل و تجربی



نمودار ۳: تغییرات کراتین کیناز سرمی در گروه کنترل و تجربی



نمودار ٤: همبستگی منفی بین مقادیر اینترلوکین ۱۷ و وینکولین

عضله کند انقباض موش‌های صحرایی همراه بود. به‌طوری که این کاهش تا ٤٨ ساعت پس از فعّالیّت نیز وجود داشت (۱۰). تحقیقات نشان داده است مقدار وینکولین در عضله کند تنش بیشتر از عضله تند تنش می‌باشد (۱۰،۲۸). بنابراین، احتمالاً به دلیل محتویات بیشتر وینکولین در عضله کند تنش، فراخوانی آن و بازسازی ناشی از کشش با تأخیر انجام می‌شود. از طرفی سطوح کراتین کیناز در سرم افزایش پیدا کرده که شاخص آسیب عضلانی و تخریب ساختمان سلولی است (۱۰).

لی و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی ۹ هفته تمرین مقاومتی در مقابل بی‌تحرّکی نشان دادند: محتویات FRNK کاهش یافت و مقادیر متا و گاما وینکولین، پروتئین‌های ناحیه چسبنده (FAK) و P70S6K، در عضله کند تنش، پس از سه هفته تمرین مقاومتی افزایش یافت و تا هفته نهم ادامه داشت. در گروه بی‌تحرّک تغییری مشاهده نشد (۲۹). افزایش P70S6K که فاکتور پیش بینی کننده قوی در هایپرتروفی عضلانی می‌باشد از یک سو و همبستگی مثبت معنی‌دار وینکولین با این پروتئین از سوی دیگر نشان داد: بین ساختار عضله و محتویات پروتئین‌های اسکلت سلولی، با آتروفی یا هایپرتروفی ارتباط معنی‌داری وجود دارد. به‌طوری که افزایش در سطح مقطع عضله با افزایش در مقادیر وینکولین، پروتئین‌های ناحیه چسبنده و P70S6K همراه است (۲۹). افزایش وینکولین در پژوهش مذکور، علاوه بر سایر متغیّرهای احتمالی، سازگاری ناشی از تمرین مقاومتی به شمار می‌آید. درحالی‌که، پژوهش حاضر به بررسی پاسخ حاد وینکولین پرداخت که کاهش اندک غیرمعنی‌دار این پروتئین مشاهده شد و احتمالاً به دلیل آسیب ناشی از شدّت بالای تمرین است؛ که با تأخیر در بازسازی پروتئین همراه می‌باشد. در این راستا، فرنت و کوته

(۲۰۰۰) نشان دادند در پی انقباض اکسنتریک محتوی وینکولین پس از ۰، ۳ و ۷ روز کاهش پیدا می‌کند و پس از ۸ روز شروع به افزایش می‌کند و حتّی تا ۲۸ روز بعد نیز این تغییرات معنی‌دار می باشد. بنابراین، افزایش وینکولین احتمالاً پس از تمرینات اکسنتریک که با آسیب همراه است، با تأخیر صورت می‌گیرد. در تحقیق فرنت و کوته، محرّک اصلی برای حرکت موش‌ها، شوک الکتریکی بود. به نظر می‌رسد تحریک الکتریکی با آسیب زیادی در عضله اسکلتی همراه بوده و ممکن است تأخیر در سنتز پروتئین وینکولین به این دلیل ایجاد شده باشد (۳۰).

تجزیه و سنتز پروتئین–هر دو– به دنبال اضافه بار مقاومتی در عضله افزایش می یابد. این تغییرات ناشی از دوره کوتاه مدّت و همراه با محرّک انقباضی است و برای چند روز دوام می‌یابند (۲۵،۳۱). با توجّه به تحقیقات صورت گرفته به‌نظر می‌رسد، تغییرات وینکولین به شدّت وابسته به آسیب عضلانی می‌باشد. بیان وینکولین با فشار مکانیکی تحمیل شده بر عضلات در ارتباط است (۳۲). از طرفی یکی از واکنش‌های بدن در زمان تخریب ساختمان سلول و آسیب عضلانی، ترشّح سایتوکاین‌های التهابی همچون IL-17 می‌باشد (۱۶). IL-17 سبب فراخوانی نوتروفیل‌ها می‌شود و تولید بسیاری از سایتوکاین‌ها را القا می‌کند (۳۳). در پژوهش حاضر ۲۳ درصد افزایش غیرمعنی‌دار در IL-17 سرمی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

دزووا و همکاران (۲۰۰۹)، پاسخ یک جلسه ورزش دویدن به صورت شدید (۶۰ دقیقه) و متوسّط (۳۰ دقیقه) را بر تولید IL-17، IL-6 و IL-1ra در موش‌های پیر تمرین کرده، مقایسه کردند. نتایج افزایش معنی‌دار سطح IL-17 را در گروه ورزش شدید نسبت به کنترل، نشان داد. ایشان اظهار کردند، احتمالاً اینترلوکین ۱۷ در فرآیندهای التهابی عضله اسکلتی درگیر می‌باشد و این سایتوکاین می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی برای مشخص شدن التهاب ناشی از فعّالیّت ورزشی در عضلات اسکلتی استفاده شود (۲۰). در پژوهش حاضر نیز، افزایش سطوح IL-17 بلافاصله پس از فعّالیّت مقاومتی، می‌تواند به دلیل شدّت و فشار فیزیولوژیکی بالاتر این فعّالیّت باشد. آقاعلی نژاد و همکاران (۲۰۱۴) تغییرات IL-17 و لوکوسیت‌ها را در پاسخ به سه نوع فعّالیّت مقاومتی، استقامتی و موازی در مردان جوان فعّال بررسی کردند. پاسخ IL-17 به سه نوع فعّالیّت متفاوت بود و یافته‌ها افزایش معنی‌دار IL-17 و نوتروفیل‌ها را بلافاصله پس از فعّالیّت مقاومتی نشان داد (۲۲).

سوگاما و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی تغییرات IL-17، فعّال شدن نوتروفیل‌ها، پاسخ‌های التهابی و آسیب عضلانی پس از فعّالیّت طولانی مدّت استقامتی پرداختند. چهارده مرد ورزشکار سه‌گانه کار (هفت ورزشکار حرفه‌ای و هفت ورزشکار آماتور) در فعّالیّتی شامل ۵ کیلومتر دویدن، ۴۰ کیلومتر دوچرخه‌سواری و ۵ کیلومتر دویدن شرکت کردند. نمونه‌های خون و ادرار، کاهش معنی‌دار غلظت IL-17 را بلافاصله پس از فعّالیّت نشان دادند؛ امّا، در ۱/۵ و ۳ ساعت پس از فعّالیّت، نسبت به بلافاصله پس از مسابقه افزایش معنی‌داری در غلظت سرمی IL-17 دیده شد (۱۶) که با توجّه به زمان نمونه-گیری پژوهش حاضر، با آن همسو می‌باشد.

به‌نظر می‌رسد هنگام یک جلسه فعّالیّت اینترلوکین‌های التهابی همچون IL-17 به سرعت پاسخ می‌دهند. این پاسخ با افزایش کراتین کیناز سرم همراه است. امّا، در صورتی که جلسات تمرین ادامه یابد مقادیر اینترلوکین‌های التهابی تغییرات کم‌تری را نشان می‌دهند.این روند احتمال دارد به دلیل سرکوب کردن اثر آنها با سایتوکاین‌های ضدّالتهابی می‌باشد (۲۱،۳۴،۳۵). یکی دیگر از دلایل احتمالی افزایش این سایتوکاین پس از فعّالیّت ورزشی، ممکن است به دلیل کاهش حجم پلاسما بر اثر تعریق یا ورود پلاسما به داخل فیبرهای فعّال جهت تعدیل PH و کاهش غلظت فرآورده‌های ناشی از انقباض عضلانی باشد (۳۶).

همچنین همبستگی منفی معنی‌داری بین IL-17 و وینکولین مشاهده شد. با توجّه به موارد گفته شده، افزایش IL-17 نشان دهنده درگیری این سایتوکاین در فرآیند التهابی ناشی از فعّالیّت مقاومتی می‌باشد که احتمالا می‌تواند یکی از دلایل کاهش مشاهده شده در وینکولین باشد. از طرفی، ممکن است آسیب ایجاد شده در اسکلت سلولی و پروتئین وینکولین موجب افزایش سطوح IL-17 شده باشد. فعّالیّت بدنی شدید با افزایش کاتکولامین‌ها و کورتیزول، همراه با تغییر در فعّالیّت سوخت و ساز بدن و بروز اختلال در غشای سلول های ماهیچه‌ای (۳۹-۳۷)، می‌تواند موجب فعّالیّت سیستم ایمنی از قبیل آزاد شدن سایتوکاین‌های التهابی شود. بنابراین، آسیب غشای سلول یکی از عوامل تحریک ترشح سایتوکاین‌های التهابی همچون IL-17 می‌باشد (۳۷،۳۸،٤۰). با توجّه به این که در این پژوهش سطوح کراتین کیناز نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی‌دار داشت، احتمال دارد این الگوی تمرینی با آسیب همراه بوده است. کاهش پروتئین وینکولین که نقش مهمّی در حفظ ساختار سلولی دارد، تأکید بر این فرضیه می‌باشد. سازگاری‌های طولانی مدّت ناشی از تمرین، احتمالاً به دلیل تأثیرات جمع شونده هر جلسه فعّالیّت کوتاه مدّت است که منتهی به تغییر در سطح پایه پروتئین‌های ویژه و آستانه عملکردی جدید می‌شود (٤۱).

نتایج این پژوهش نشان داد یک جلسه فعّالیّت مقاومتی می‌تواند سبب تغییر در سطوح پروتئین‌های وینکولین، IL-17 و آنزیم کراتین کیناز شود. همچنین بین تغییرات وینکولین با IL-17 ارتباط وجود دارد که می‌تواند نشان دهنده فرآیندهای التهابی درگیر در هایپرتروفی عضلانی باشد. به عبارتی تعامل بین فاکتورهای التهابی و هایپرتروفیک (به‌طور ویژه متغیّرهای اندازه‌گیری شده) در سازگاری حاصل از فعّالیّت مقاومتی نقش دارد. احتمالا سازگاری بدن با این تمرینات، در جهت بهبود ساختار و حفظ ایمنی سلول حائز اهمیّت است. با این وجود جهت درک بهتر ارتباط بین آسیب و تغییرات در پروتئین‌های ساختاری، بررسی مکانیسم‌ها و سیگنالینگ‌های مربوط، در پژوهش‌های آتی پیشنهاد می‌شود.

References

1. Toigo M, Boutellier U. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. Eur J Appl Physiol. 2006;97(6):643–63.
2. Yang Y, Creer A, Jemiolo B, Trappe S. Time course of myogenic and metabolic gene expression in response to acute exercise in human skeletal muscle. J Appl Physiol. 2005;98(5):1745–52.
3. Mahoney DJ, Parise G, Melov S, Safdar A, Tarnopolsky MA. Analysis of global mRNA expression in human skeletal muscle during recovery from endurance exercise. FASEB J. 2005;19(11):1498–500.
4. Ziegler WH, Liddington RC, Critchley DR. The structure and regulation of vinculin. Trends Cell Biol. 2006;16(9):453–60.
5. Critchley DR. Focal adhesions - the cytoskeletal connection. Curr Opin Cell Biol. 2000;12(1):133–9.
6. Bakolitsa C, Cohen DM, Bankston LA, Bobkov AA, Cadwell GW, Jennings L,Critchley DR, Craig SW, Liddington RC. Structural basis for vinculin activation at sites of cell adhesion. Nature. 2004;430(6999):583–6.
7. Ezzell RM, Goldmann WH, Wang N, Parashurama N, Parasharama N, Ingber DE. Vinculin promotes cell spreading by mechanically coupling integrins to the cytoskeleton. Exp Cell Res. 1997;231(1):14–26.
8. Wu M, Fannin J, Rice KM, Wang B, Blough ER. Effect of aging on cellular mechanotransduction. Ageing Res Rev. 2011;10(1):1–15.
9. Curzi D, Salucci S, Marini M, Esposito F, Agnello L, Veicsteinas A, Burattini S, Falcieri E. How physical exercise changes rat myotendinous junctions: an ultrastructural study. Eur J Histochem. 2012;56(2):e19.
10. Nourshahi M, Hemmatzade Bedovli T, Gharakhanlou R, Bigdeli MR, Koneshlou S. The Effect of a Single Bout of Eccentric Exercise on β1 Integrin and Vinculin Proteins in Type I and II Skeletal Muscle in Male Wistar Rats. Med J Tabriz Univ Med Sci Health Serv. 2013;35(4):88–95. [Persian]
11. Schwane JA, Johnson SR, Vandenakker CB, Armstrong RB. Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running. Med Sci Sports Exerc. 1983;15(1):51–6.
12. Willoughby DS, McFarlin B, Bois C. Interleukin-6 expression after repeated bouts of eccentric exercise. Int

J Sports Med. 2003;24(1):15–21.
13. Foley G. Muscles and their red and white fibres: effects of exercise and training [Internet]. Available from:http://www.geraldfoley.co.uk/MUSCLES%20April%202012.pdf
14. Miljkovic D, Cvetkovic I, Momcilovic M, Maksimovic-Ivanic D, Stosic-Grujicic S, Trajkovic V. Interleukin-17 stimulates inducible nitric oxide synthase-dependent toxicity in mouse beta cells. Cell Mol Life Sci CMLS. 2005;62(22):2658–68.
15. Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. Biomed Pharmacother. 2006;60(9):502–7.
16. Sugama K, Suzuki K, Yoshitani K, Shiraishi K, Kometani T. IL-17, neutrophil activation and muscle damage following endurance exercise. Exerc Immunol Rev. 2012;18:116–27.
17. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology.Philadelphia. 7th ed. 2012.
18. Arif S, Moore F, Marks K, Bouckenooghe T, Dayan CM, Planas R, Vives-Pi M, Powrie J, Tree T, Marchetti P,et al. Peripheral and islet interleukin-17 pathway activation characterizes human autoimmune diabetes and promotes cytokine-mediated β-cell death. Diabetes. 2011;60(8):2112–9.
19. Miljkovic D, Trajkovic V. Inducible nitric oxide synthase activation by interleukin-17. Cytokine Growth Factor Rev. 2004;15(1):21–32.
20. Duzova H, Karakoc Y, Emre MH, Dogan ZY, Kilinc E. Effects of acute moderate and strenuous exercise bouts on IL-17 production and inflammatory response in trained rats. J Sports Sci Med. 2009;8(2):219–24.
21. Andersson H, Bøhn SK, Raastad T, Paulsen G, Blomhoff R, Kadi F. Differences in the inflammatory plasma cytokine response following two elite female soccer games separated by a 72-h recovery. Scand J Med Sci Sports. 2010;20(5):740–7.
22. AghaAlinejad H, Gharakhanlou R, Baranchi M. Comparison of the Effects of Endurance, Resistance, and Concurrent Exercise on Serum Interleukin-17 Concentrations in Active Men. Sabzevar Univ Med Sci J. 2014; 21(5): 786-96.[Persian]
23. Wang H-V, Chang L-W, Brixius K, Wickström SA, Montanez E, Thievessen I,Schwander M, Müller U, Bloch W, Mayer U, et al. Integrin-linked kinase stabilizes myotendinous junctions and protects muscle from stress-induced damage. J Cell Biol. 2008;180(5):1037–49.
24. Melov S, Tarnopolsky MA, Beckman K, Felkey K, Hubbard A. Resistance exercise reverses aging in human skeletal muscle. PloS One. 2007;2(5):e465.
25. Alavi SA, Cheresh DA. Integrins in Angiogenesis. In: Figg WD, Folkman J, editors. Angiogenesis: an integrative approach from science to medicine. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2008:63–73.
26. Creekmore AL, Silkworth WT, Cimini D, Jensen RV, Roberts PC, Schmelz EM. Changes in gene expression and cellular architecture in an ovarian cancer progression model. PloS One. 2011;6(3):e17676.
27. Seko Y, Takahashi N, Tobe K, Kadowaki T, Yazaki Y. Pulsatile stretch activates mitogen-activated protein kinase (MAPK) family members and focal adhesion kinase (p125(FAK)) in cultured rat cardiac myocytes. Biochem Biophys Res Commun. 1999;259(1):8–14.
28. Carson JA, Wei L. Integrin signaling's potential for mediating gene expression in hypertrophying skeletal muscle. J Appl Physiol. 1985. 2000;88(1):337–43.
29. Li R, Narici MV, Erskine RM, Seynnes OR, Rittweger J, Pišot R, Šimunič B, Flück M. Costamere remodeling with muscle loading and unloading in healthy young men. J Anat. 2013;223(5):525–36.
30. Frenette J, Côté CH. Modulation of structural protein content of the myotendinous junction following eccentric contractions. Int J Sports Med. 2000;21(5):313–20.
31. Stupack DG, Cheresh DA. Integrins and angiogenesis. Curr Top Dev Biol. 2004;64:207–38.
32. Chopard A, Pons F, Marini J-F. Vinculin and meta-vinculin in fast and slow rat skeletal muscle before and after hindlimb suspension. Pflügers Arch Eur. 2002;444(5):627–33.
33. Yu JJ, Gaffen SL. Interleukin-17: a novel inflammatory cytokine that bridges innate and adaptive immunity. Front Biosci. 2008;13:170–7.
34. Zaldivar F, Wang-Rodriguez J, Nemet D, Schwindt C, Galassetti P, Mills PJ, Wilson LD, Cooper DM. Constitutive pro- and anti-inflammatory cytokine and growth factor response to exercise in leukocytes. J Appl Physiol. 2006;100(4):1124–33.
35. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. J Physiol. 1999;515 (Pt 1):287–91.
36. Nakhzaree Khodakheyr J, Mogharnasi M, Haghighi A. Investigating the Response and Adaptation of Interleukin-15 to Resistance Training of Untrained Young Men. Olympic. 2011;19(3):71–80. [Persian]
37. Nieman DC, Dumke CL, Henson DA, McAnulty SR, Gross SJ, Lind RH. Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160-km race. Brain Behav Immun. 2005;19(5):398–403.
38. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Umeda T, Sugawara K.Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. Med Sci Sports Exerc.

2003;35(2):348–55.
39. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2003;285(2):E433–437.
40. Kluth DC, Rees AJ. Inhibiting inflammatory cytokines. Semin Nephrol. 1996;16(6):576–82.
41. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. Sports Med. 2007;37(9):737–63.

The Response of inflammatory and hypertrophic markers to resistance exercise in male rats

Maryam Nourshahi, PhD
Associate Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Samaneh Koneshlou
PhD Candidate, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Mehdi Hedayati, PhD
Associate Professor, Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Mostafa Baranchi, MSc.
Department of Physical Education and Sports Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Nafise Amin-Aleslam, MSc.
Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Tehran University, Tehran, Iran

Javad Nemati, PhD
Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received:12/07/2014**, Revised:**08/08/2014**, Accepted:**13/09/2014

Corresponding Author:
Samaneh Koneshlou, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran
E-mail: s.koneshlou@yahoo.com

Abstract

Background and Purpose: Mechanical tension induced by resistance exercise can stimulate tension-sensitive cytoskeletal proteins. Also, resistance exercise can induce inflammatory factors. Therefore, the aim of this study was to investigate the changes of inflammatory and hypertrophic markers and their association with a single bout of resistance exercise in male rats.

Materials and Methods: Twelve male Wistar rats, three months of age, were randomly assigned into control and experimental groups. Resistance exercise protocol (to climb up a one-meter ladder, 3 sets, 10 repetitions in each set, at 50%, 75% and 100% of their own body weight) was performed. The control group did not perform any exercise activity. Twelve hours after the last session of exercise, rats (both control and experimental) were anesthetized with a mixture of ketamine/xylazine. Blood samples were taken directly from the heart; their Soleus muscles were extracted. Vinculin levels in muscle tissue after homogenation and IL-17 levels in sera were measured using ELISA method. Creatine kinase levels were measured by enzymatic colorimetric methods. Independent t-test and Pearson correlation coefficient were used. A significance level of $\alpha = 0.05$ was considered.

Results: There was no significant diferences between control and experimental groups in vinculin, IL-17 and creatine kinase levels ($p>0.05$). Nevertheless, there was a significant negative corrolation between vinculin and IL-17 ($r=-0.93$, $p=0.01$).

Conclusion: A single bout of resistance training can lead to a change in vinculin, IL-17 and creatine kinase levels. Interaction between inflammatory and hypertrophic markers (especially vinculin and IL-17) probably has a role in adaptations induced by resistance training.

Keywords: *Resistance Exercise, Vinculin, IL-17, Creatine kinase, Rat.*