

تأثیر تمرین مقاومتی فزاینده و تناوبی شدید بر بیان ژن عامل هسته‌ای کاپا B عضله قلبی و عامل نکروز دهنده تومور آلفا سرمی، در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲

افسانه الهی^۱، ندا خالدی^۲، پژمان معتمدی^۳، حسین عسکری^۴، حمید رجبی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: شایع‌ترین علل مرگ و میر بیماران مبتلا به دیابت، اختلالات قلبی-عروقی است که یکی از دلایل آن، عوامل التهابی می‌باشد. با توجه به این که فعالیت بدنی قادر به کاهش التهاب است، مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی تأثیر دو نوع تمرین مقاومتی فزاینده و تمرین تناوبی شدید (High-intensity interval training یا HIIT) بر بیان ژن Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) عضله قلبی و Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) سرمی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت انجام شد.

روش‌ها: در این تحقیق تجربی، ۷۲ سر Rat نر نژاد Wistar ۶ هفته‌ای به ۶ گروه ۱۲ تایی شامل موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت (n = ۱۲)، شاهد (n = ۱۲)، تمرین تناوبی شدید (High-intensity interval training یا HIIT) (n = ۱۲)، مبتلا به دیابت با تمرین تناوبی شدید (Diabetic + intensity interval training یا DIIT) (n = ۱۲)، مبتلا به دیابت با تمرین مقاومتی شدید (Diabetic + resistance training یا DRT) (n = ۱۲) و تمرین مقاومتی (Resistance training یا RT) (n = ۱۲) تقسیم شدند. تمرین RT در ۶ هفته‌ی ۳ جلسه‌ای بالا رفتن از نردبان عمودی، همراه با وزنه‌های ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد وزن بدن حیوان، انجام شد. سپس، ۳۰ گرم به وزنه‌ها اضافه می‌شد، تا جایی که Rat‌ها نتوانند نردبان را طی کنند. HIIT نیز در ۶ هفته‌ی ۳ جلسه‌ای، با شدت ۵۰-۱۱۰ درصد بیشینه‌ی اکسیژن مصرفی صورت گرفت. ۲۴ ساعت بعد از اتمام تمرین آزمون عملکردی، قدرت مچ دست و زمان رسیدن به درماندگی سنجش شد و ۴۸ ساعت بعد از آزمون، حیوانات تشریح شدند. در نهایت، بیان ژن NF-κB با استفاده از روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR)، مقدار سطوح TNF-α سرمی با استفاده از روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و آزمون ANOVA مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان بیان ژن NF-κB در گروه HIIT نسبت به گروه RT افزایش بیشتری داشت (P = ۰/۰۰۰۷) و میزان سرمی TNF-α پس از هر دو نوع تمرین کاهش معنی‌داری داشت که در گروه HIIT (۶/۱۳) بارتر بود.

نتیجه‌گیری: ۶ هفته تمرین HIIT و RT، می‌تواند نقش مهمی در کاهش معنی‌دار التهاب و سازگاری‌های مربوط به قدرت و استقامت داشته باشد.

واژگان کلیدی: عامل هسته‌ای کاپا B؛ عامل نکروز دهنده تومور آلفا؛ تمرین مقاومتی؛ قلب

ارجاع: الهی افسانه، خالدی ندا، معتمدی پژمان، عسکری حسین، رجبی حمید. تأثیر تمرین مقاومتی فزاینده و تناوبی شدید بر بیان ژن عامل هسته‌ای کاپا B عضله قلبی و عامل نکروز دهنده تومور آلفا سرمی، در Rat‌های مبتلا به دیابت نوع ۲. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۷۵): ۳۱۷-۳۲۴.

که کنترل رونویسی DNA، تولید سیتوکین و بقای سلولی را کنترل می‌کند و در پاسخ‌های سلولی به محرک‌هایی نظیر استرس، سیتوکین‌ها، رادیکال‌های آزاد، فلزات سنگین، اشعه‌ی ماورای بنفش،

مقدمه

عامل هسته‌ای کاپا B (Nuclear factor kappa-light-chain-) enhancer of activated B cells یا NF-κB، یک پروتئین است

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه علوم گیاهی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی و منابع طبیعی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

نویسنده مسؤول: ندا خالدی؛ استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

Email: n.khaledi@khu.ac.ir

ریز مولکولی، التهاب عضله‌ی قلبی، تغییر شکل و فیروز می‌باشند. غلظت بالای گلوکز و چربی به طور مستقیم باعث ترشح سیتوکین‌ها و چسبندگی مولکولی در سلول‌های قلب می‌شود که با تعدیل مسیرهای مختلف سیگنالینگ مانند NF-κB همراه است (۹).

مسیر NF-κB که یکی از مهم‌ترین واسطه‌های فرایند التهابی است، با افزایش آزادسازی سیتوکین‌هایی نظیر TNF-α همراه است که اغلب در آسیب‌های قلبی دخالت دارد و باعث افزایش اختلالات فیزیولوژیکی قلبی شامل هیپرتروفی و فیروز می‌شود (۹). در یک مدل حیوانی، از T2DM، تمرین هوازی منظم Rat، نه تنها توانست قند خون را کنترل کند و دیس‌لیپیدی را کاهش دهد، بلکه به ارتقای اثر ضد التهابی کمک کرد که در کاهش سیتوکین‌های التهابی TNF-α و افزایش سطح آدیپونکتین مشاهده شد (۷).

التهاب در کاردیومیوپاتی دیابتی ایجاد می‌شود و ورزش هوازی، موجب بهبود NF-κB در بیماران کاردیومیوپاتی دیابتی می‌شود (۱۰). این پژوهش، برای پیش‌گیری از ابتلا به این بیماری و کاهش هزینه‌های درمانی آن‌ها در افراد جامعه حایز اهمیت می‌باشد. این پژوهش، با هدف بررسی اثر دو مدل تمرین RT و تناوبی شدید بر بیان ژن NF-κB در Rat‌های نر مبتلا به دیابت و پاسخ به این سؤال که «آیا فعالیت ورزشی RT و تناوبی شدید می‌تواند با تغییر بیان ژن مسیر کاردیومیوپاتی دیابتی بر روند کاهش این بیماری تأثیر بگذارد؟»، انجام شد.

روش‌ها

برای کار با حیوان از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا استفاده شد و در تمامی مراحل کار، همواره این موارد مد نظر پژوهشگران بود. ضمن این که طرح مطالعه‌ی حاضر در کمیته‌ی اخلاق پژوهش‌کننده‌ی تربیت بدنی با شماره‌ی IR.SSRI.REC.1397.305 ثبت گردید.

جامعه‌ی آماری پژوهش حاضر، شامل کلیه‌ی Rat‌های مرکز تحقیقاتی انیستیتو پاستور ایران بود که از بین آن‌ها، ۷۲ سر Rat نر ۶ هفته‌ای با وزن 10 ± 150 گرم خریداری شدند. تمام Rat‌ها در شرایط کنترل شده‌ی محیطی با دمای 1 ± 24 درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 3 ± 58 درصد و چرخه‌ی شبانه‌روزی ۱۲:۱۲ (ساعت روشنایی و تاریکی) نگهداری شدند. Rat‌ها بعد از دو هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه، به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۲‌تایی شامل موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت (n = ۱۲)، شاهد (n = ۱۲)، تمرین تناوبی شدید (High-intensity interval training یا HIIT) (n = ۱۲)، مبتلا به دیابت با تمرین تناوبی شدید (Diabetic + intensity interval training یا DIIT) (n = ۱۲)، مبتلا به دیابت با تمرین مقاومتی شدید (Diabetic + resistance training یا DRT) (n = ۱۲) و تمرین

اکسید می‌شود و در آنتی‌ژن‌های باکتری یا ویروسی دخالت دارد و در کاردیومیوپاتی دیابتی، در سلول‌های قلبی تولید می‌شود (۱). در بسیاری از بیماری‌های قلبی، افزایش فعالیت NF-κB وجود دارد. به طور خاص، در نارسایی قلب، هیپرتروفی قلب، کاردیومیوپاتی دیابتی و بیماری‌های عروق کرونر NF-κB فعال می‌شود (۲). فعال شدن NF-κB، ممکن است در کاردیومیوپاتی دیابتی از طریق مسیرهایی با کنترل مجموعه‌های مختلف ژن‌ها و درگیر شدن در فرایندهای مرتبط مانند استرس اکسیداتیو، التهاب، اختلال عملکرد اندوتلیال، فیروز، هیپرتروفیک و آپوتوز انجام شود (۲). در کاردیومیوپاتی دیابتی، غلظت‌های بالای گلوکز و لیپوپروتئین‌ها باعث تحریک فعال شدن NF-κB می‌شوند (۳).

همچنین، عامل نکروز تومور (Tumor necrosis factor-α) یا TNF-α بیان مولکول‌های چسبنده‌ی اندوتلیال را بالا می‌برد و بیان نیتریک اکساید و سیکلو‌اکسیژنازهای اندوتلیال را کم می‌کند که منجر به تضعیف اتساع قلبی وابسته به اندوتلیال می‌گردد (۴). در قلب Rat مبتلا به دیابت، بیان نشانگرهای التهابی و پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی شامل TNF-α، Interleukin-6 (IL-6) و NF-κB افزایش می‌یابد (۵).

به عنوان اولین پاسخ به آسیب میوکارد قلب، سیگنال‌های التهابی فعال می‌شوند. گام‌های بعدی، شامل افزایش فعال‌سازی NF-κB و بیان سیتوکین‌های مربوط به آن شامل TNF-α، اینترلوکین‌ها و کموکاین‌ها و مولکول‌های چسبنده می‌باشد (۶). پیشرفت مزمن هیپرتروفی، فیروز و اختلال عملکرد بطنی با افزایش موضعی در سیتوکین‌ها و فعال شدن NF-κB ادامه می‌یابد (۷). TNF-α، یک مولکول کلیدی در مقاومت انسولین است و در پاتوژنز آترواسکلروزیس و حمله‌ی قلبی نقش دارد. افزایش سطوح TNF-α، می‌تواند پیش‌بینی کننده‌ی اختلال عملکرد اندوتلیال و آترواسکلروزیس به دنبال آن باشد (۴). فعال‌سازی NF-κB، سبب رشد کاردیومیوسیت‌ها و بالا بردن ژن‌های سارکومری جنین می‌شود؛ در حالی که مهار آن، باعث کاهش رشد قلب در *In vivo* می‌گردد (۸). فعال شدن NF-κB، با افزایش آزادسازی سیتوکین‌ها مانند TNF-α و IL-6 همراه است که اغلب در آسیب قلبی (هیپرتروفی و فیروز) و اختلال عملکرد بطن چپ دخیل هستند (۷). به نظر می‌رسد که شدت ورزشی، یکی از عوامل درگیر در بهبود مقاومت به انسولین باشد که باید در تجویز برنامه‌ی ورزشی مد نظر قرار گیرد. از سوی دیگر، ماهیت فعالیت (تناوبی یا تداومی) نیز می‌تواند به عنوان عامل اثرگذار محسوب شود. فرایند اختلال فیزیولوژیکی کاردیومیوپاتی با آپوتوز، هیپرتروفی و فیروز قلبی در ارتباط است. عوامل متعدد سبب ایجاد و پیشرفت کاردیومیوپاتی می‌شوند که عبارت از هایپرگلیسمی، مقاومت انسولینی، افزایش متابولیسم چربی، اختلال سمپاتیک، تغییرات

آزمون عملکردی زمان رسیدن به واماندگی: پس از آخرین جلسه ی تمرینی، ابتدا موش های صحرایی به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲ متر/دقیقه بر روی نوار گردان شروع به گرم کردن کردند. سپس، آزمون با سرعت ۱۰ متر/دقیقه شروع و هر ۲ دقیقه، ۲ متر/دقیقه به سرعت نوار گردان اضافه شد و این روند، تا جایی ادامه پیدا کرد که موش ها دیگر قادر به دویدن نباشند. سرعت به دست آمده برای هر موش، ثبت و به عنوان رکورد در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است در ابتدای پژوهش، پس از آشنایی موش های صحرایی با نوار گردان و شیوه نامه ی فعالیت ورزشی نیز یک آزمون عملکردی برای ثبت میزان توانایی هر موش برای دویدن، از آن گرفته شد. در آزمون عملکردی، بیشینه ی زمان دویدن و مسافت پیموده شده ی موش ها مد نظر می باشد (۱۵).

تمرین مقاومتی فزاینده: در برنامه ی تمرین RT (جدول ۲)، Rat ها برای آشناسازی با نردبان، ۳ جلسه بدون وزنه و با کیسه ی خالی ۸ گرمی تمرین داده شدند. برنامه ی تمرینی شامل ۶ هفته ی ۳ جلسه ای بود. هر جلسه، وزنه هایی به ترتیب ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد وزن بدن حیوان، به دم آن ها بسته شد و تمرین شامل بالا رفتن از نردبان عمودی به طول ۱۱۰ سانتی متر با فاصله ی پله های ۲ سانتی متر و زاویه ی ۸۵ درجه بود. پس از اتمام موفقیت آمیز تمرین، ۳۰ گرم به وزنه ها اضافه می شد تا جایی که Rat ها نتوانند به طور کامل نردبان را طی کنند (۱۶).

آزمون عملکردی قدرت مچ دست Rat (Hand grip test): آزمون قدرت سنج مچ دست به عنوان آزمون عملکردی در Rat ها برای تعیین میزان کسب قدرت استفاده شد. میانگین سه مرتبه تکرار استفاده شد. قدرت مچ دست یا قدرت چنگ زدن ساعد با استفاده از یک قدرت سنج اندازه گیری شد. از ابتدای دم Rat ها برای بلند کردن آن ها استفاده شد و به آن ها اجازه داده شد تا با قسمت جلویی دست خود به دوزنقه چنگ بزنند. در طول آزمون، Rat ها از سمت قدرت سنج به عقب کشیده می شدند و حرکت آن ها در حالی که بدن آن ها به طور موازی با زمین قرار دارد، ثابت می شد. میانگین های قدرت دست برای هر Rat از ۱۰ بار امتحان مشتق شد (۱۷).

مقاومتی (Resistance training یا RT) ($n = 12$) تقسیم شدند و به صورت ۴ تایی در قفس های نوع ۳ مخصوص جوندگان نگهداری شدند. برای رعایت نظافت قفس حیوانات، از پوشال استریل که از مؤسسه ی تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی تهیه شده بود، استفاده گردید. تحقیق حاضر، از نوع تجربی توسعه ای بود.

موش های صحرایی گروه مبتلا به دیابت، جهت اعمال چاقی ۴ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب شامل ۲۲ درصد چربی، ۴۸ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین قرار گرفتند تا چاق شوند (۱۱). جهت القای دیابت نیز یک هفته قبل از شروع تمرین، از تک دوز استرپتوزوتوسین به میزان ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن و به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد (۱۲). ۴۸ ساعت بعد از تزریق، جهت اطمینان از ایجاد دیابت در Rat ها، از ورید دمی خون گرفته شد و میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر تعیین شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی گرم/دسی لیتر به عنوان شاخص مبتلا شدن به دیابت در نظر گرفته شد (۱۳). در پژوهش حاضر، به صورت دو هفته یک بار برای اطمینان، مقدار قند خون کنترل می شد.

تمرین تناوبی شدید: برنامه ی تمرینی تناوبی شدید (جدول ۱) با استفاده از نوار گردان اجرا شد. جهت آشناسازی با روش تمرینی، Rat ها با شدت ۵۰-۳۰ درصد بیشینه ی اکسیژن مصرفی (روز اول ۳۰، روز دوم ۴۰ و روز سوم ۵۰ درصد) و تعداد ۸-۶ تکرار ۱ دقیقه ای (روز اول ۶، روز دوم ۷ و روز سوم ۸ تکرار) به همراه ۲ دقیقه استراحت غیر فعال، برای ۳ روز تمرین کردند و بلافاصله پس از آن وارد برنامه ی تمرینی شدند. بر اساس پژوهش Songstad و همکاران، میزان برآورد دقیق بیشینه ی اکسیژن مصرفی با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم نظیر دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی انجام شد. برای گرم کردن، قبل از شروع تمرین در هر روز Rat ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر/دقیقه بر روی نوار گردان می دویدند. برنامه ی HIIT، در ۶ هفته ی ۳ جلسه ای، با ۱۰ تناوب ۱ دقیقه ای و ۲ دقیقه استراحت صورت گرفت. سرعت نوار گردان در طول دوره از ۱۸ به ۳۱ و شیب نوار گردان به صورت فزاینده از ۲ تا ۱۰ افزایش می یافت (۱۴).

جدول ۱. برنامه ی High-intensity interval training (HIIT)

هفته	سرعت (متر/دقیقه)	مدت (دقیقه)	استراحت (دقیقه)	ست	جلسه (در هفته)	شیب	شدت (vO_2max)
۱	۱۸-۲۰	۱	۲	۱۰	۳	۲	۵۰-۶۰ درصد
۲	۲۲-۲۴	۱	۲	۱۰	۳	۴	۶۵-۷۵ درصد
۳	۲۴-۲۶	۱	۲	۱۰	۳	۶	۷۵-۸۵ درصد
۴	۲۶-۲۷	۱	۲	۱۰	۳	۸	۸۵-۹۰ درصد
۵	۲۷-۲۹	۱	۲	۱۰	۳	۱۰	۹۰-۱۰۰ درصد
۶	۲۹-۳۱	۱	۲	۱۰	۳	۱۰	۱۰۰-۱۱۰ درصد

قطعه‌ی قابل تکثیر بین ۱۵۰-۶۰ نوکلئوتید در نظر گرفته شد. توالی آغازگرهای طراحی شده، جهت ساخت به شرکت سیناکلون ارجاع داده شدند. کمی‌سنجی بیان ژن به روش Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (QRT-PCR) به صورت Relative انجام گرفت. پس از اندازه‌گیری میزان Ct برای ژن‌های مورد مطالعه، کارایی PCR با استفاده از نرم‌افزار LinRegPCR (Ruijter et al. 2009) تعیین شد. مقدار سطحی TNF-α سرمی با استفاده از روش ELISA و کیت تخصصی (ZellBio, GmbH, and Veltlinerweg, Germany) با حساسیت ۱۵ پیکوگرم/میلی‌لیتر و محدوده‌ی استاندارد ۶/۱ درصد اندازه‌گیری شد. پرایمر NFκB با کد دسترسی NM_001107754 و توالی Forward (رفت) CGCCAAAATGGAAACGCAGA و توالی برگشت (Reverse) TGCTTCCATCTCGGCAACT مورد استفاده قرار گرفت.

برای دسته‌بندی داده‌های خام و تنظیم جدول‌ها، آمار توصیفی؛ برای تنظیم شکل‌ها و انجام محاسبات، داده‌های بیان ژن NF-κB و بررسی TNF-α، نرم‌افزار Excel؛ برای کارهای آزمایشگاهی و تحلیل بیان ژن، MSTATC نسخه‌ی ۱۹ برای آزمون‌های آماری، نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (IBM Corporation, Armonk, NY) و برای ترسیم اشکال، Graph pad prism نسخه‌ی ۶ استفاده گردید. پس از به دست آمدن نسبت بیان ژن‌های مورد مطالعه، جهت بررسی صحت فرض‌های تجزیه و واریانس، آزمون طبیعی بودن توزیع خطاهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و آزمون Bartlett انجام شد. از روش $2^{-CT_{\Delta\Delta}}$ برای محاسبه‌ی میزان افزایش یا کاهش بیان ژن هدف در گروه‌های تمرین نسبت به گروه شاهد استفاده گردید. از آزمون Fisher's exact و MANOVA با سطح معنی‌داری $P < 0/010$ برای تعیین معنی‌داری فرض صفر استفاده شد. همچنین، از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید.

نمونه‌گیری: متغیرهای وابسته‌ی پژوهش NF-κB از بافت قلب و TNF-α از سرم خونی هستند. در پایان هفته‌ی ششم، خون‌گیری انجام شد و بیهوشی توسط تزریق ۱/۰ میلی‌گرم از مخلوط کتامین-زایلوزین به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن (۱۰ میلی‌گرم کتامین + ۱/۵ میلی‌گرم زایلوزین) انجام گردید. سپس، به سرعت خون با یک سرنگ از داخل قلب گرفته و قلب بیرون آورده شد تا Ratها معدوم گردند. بطن راست و چپ، بعد از جداسازی، در ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن‌کشی و بلافاصله به درون مایع ازت وارد شد. آن گاه، در فریزر با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس، NF-κB بافت عضلانی قلب در آزمایشگاه دانشگاه شهید بهشتی مورد بررسی قرار گرفت و سرم خون برای بررسی TNF-α به آزمایشگاه پاتولوژی منتقل شد.

سنجش متغیرها

اندازه‌گیری TNF-α سرم: مقدار سطح TNF-α سرمی با استفاده از روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و کیت تخصصی (ZellBio, GmbH, and Veltlinerweg, Germany) با حساسیت ۱۵ پیکوگرم/میلی‌لیتر و محدوده‌ی استاندارد ۶/۱ درصد اندازه‌گیری شد. کد کیت مورد استفاده عبارت از 1x96 tests: 865.000.096، 1x48 tests: 865.000.048 و 2x96 tests: 865.000.192 بود.

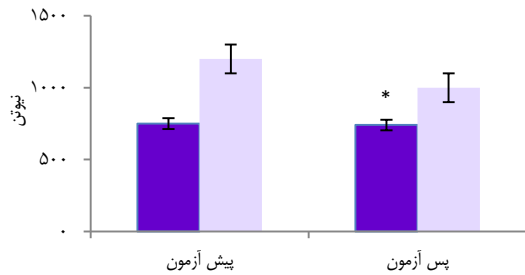
اندازه‌گیری ژن NF-κB RNA: کل با استفاده از کیت ترایزول (Trizol) استخراج گردید. نمونه‌های ذخیره شده در فریزر در هاون سرد ریخته و به کمک نیتروژن مایع کوبیده شد تا به حالت پودری درآید. آغازگرهای انتخابی برای ژن‌های آغازگر رفت و برگشتی، به کمک نرم‌افزار Primer3 و بر اساس توالی کدکننده‌ی ژن‌ها (Certificate of deposit یا CDS) طراحی شدند (جدول ۲). بر اساس طول آغازگر، شاخص‌های طراحی آن، تعداد ۲۵-۲۰ نوکلئوتید، نقطه‌ی ذوب ۶۵-۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد، درصد GC ۶۰-۴۰ و طول

جدول ۲. برنامه‌ی تمرین مقاومتی

آشناسازی با نردبان مقاومتی و محیط آزمایشگاه	آزمون عملکردی و Pre-test	هفته					آغاز شیوه‌نامه و آزمون IRM
		اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم ششم	
		چهار صعود به ازای ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد به عنوان ظرفیت حمل بیشینه (در هر جلسه تمرین)، اضافه نمودن ۳۰ گرم در صورت صعود موفقیت‌آمیز (۱۰۰ درصد + ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ گرم)، بیشترین بار حمل شده در هر جلسه ملاک حمل بیشینه در آن جلسه‌ی تمرینی بود.					
		نردبان با شیب ۸۵ درجه به طول ۱۱۰ سانتی‌متر ۹-۴ صعود، ۱ دقیقه استراحت بالای نردبان و ۳ جلسه در هفته شیوه‌نامه‌ی تمرین مقاومتی فزاینده طراحی شد.					

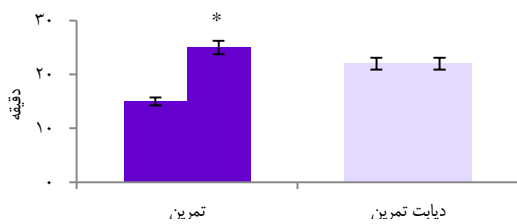
IRM: One-repetition maximum

بر اساس نتایج آزمون ANOVA، قدرت مچ دست با تمرینات RT در هر دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به دیابت افزایش معنی داری نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳. نتایج آزمون عملکردی قدرت مچ دست در گروه‌های تمرین مقاومتی^{*} سطح معنی داری بین پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه مبتلا به دیابت با تمرین مقاومتی ($P < 0/001$) و تمرین مقاومتی ($P = 0/001$) مشاهده می‌شود.

همچنین، نتایج آزمون ANOVA نشان داد زمان رسیدن به درماندگی نیز با HIIT در گروه غیر مبتلا به دیابت افزایش معنی داری یافت، اما در گروه مبتلا به دیابت، تفاوت خاصی مشاهده نشد.



شکل ۴. نتایج آزمون عملکردی زمان رسیدن به درماندگی در گروه‌های تمرینی تناوبی

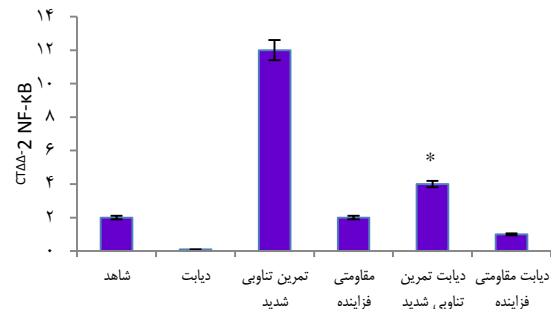
^{*} بین دو گروه تمرین تناوبی شدید و مبتلا به دیابت با تمرین تناوبی شدید ($P = 0/014$) تفاوت معنی داری مشاهده می‌شود.

بحث

در پژوهش حاضر، به تأثیر دو شیوه‌ی HIIT و RT بر میزان بیان ژن NF-κB در بافت قلب و میزان سرمی TNF-α در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت پرداخته و مشاهده شد که بیان ژن NF-κB در گروه‌های مبتلا به دیابت، کاهش معنی داری یافته و در گروه HIIT افزایش بیشتری نسبت به گروه RT داشته است. همچنین، تمرینات HIIT و RT موجب کاهش TNF-α شده و این کاهش، در گروه HIIT، بیشتر از گروه RT بوده است. قدرت مچ دست با تمرینات RT، در هر دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به دیابت، افزایش معنی داری یافته است. زمان رسیدن به درماندگی با HIIT نیز در گروه غیر مبتلا به دیابت، افزایش معنی داری پیدا کرد، اما در گروه مبتلا به دیابت، تفاوت خاصی مشاهده نشد.

یافته‌ها

نتایج آزمون 2^{-CTAA} مشاهدات این پژوهش نشان می‌دهد بیان NF-κB پس از هر دو نوع تمرین RT و HIIT (شکل ۱)، به ویژه در گروه HIIT، افزایش می‌یابد.

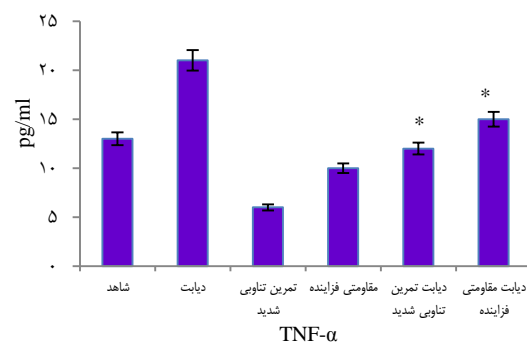


شکل ۱. نتایج حاصل از 2^{-CTAA} بیان ژن

Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) در گروه‌ها

^{*} سطح معنی داری بین گروه مبتلا به دیابت و مبتلا به دیابت با تمرین تناوبی شدید ($P = 0/00112$) و گروه مبتلا به دیابت و مبتلا به دیابت با تمرین مقاومتی ($P = 0/00021$) مشاهده شد.

نتایج آزمون ANOVA در مورد مقادیر سرمی TNF-α نشان داد گروه مبتلا به دیابت، بیشترین مقدار و گروه شاهد نیز میزان به نسبت بالایی از آن را داشتند، اما در تمام گروه‌های تمرینی این میزان به طور معنی داری کاهش یافت. این کاهش در گروه غیر مبتلا به دیابت، محسوس‌تر از گروه مبتلا به دیابت بود (شکل ۲). HIIT ($P < 0/001$) و RT ($P < 0/002$) بر تغییرات TNF-α عضله قلبی در موش‌های نر مبتلا به دیابت تأثیر معنی داری داشت.



شکل ۲. نتایج Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) در گروه‌های

پژوهش

^{*} سطح معنی داری بین دو گروه تمرین تناوبی شدید و مبتلا به دیابت با تمرین تناوبی شدید ($P = 0/003$) و دو گروه تمرین مقاومتی و مبتلا به دیابت با تمرین مقاومتی شدید ($P < 0/001$) مشاهده می‌شود.

در مطالعه‌ی پیشین، تقی‌بیگی حسین‌آبادی و همکاران، در بررسی ۸ هفته تمرین هوازی بر میزان بیان ژن‌های Toll-like receptor 4 (TLR4) و NF-κB در بافت قلبی موش‌های صحرایی صحرائی نر دچار هایپرگلیسمی، کاهش NF-κB در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه شاهد را گزارش کرد (۱۰) که با یافته‌های پژوهش حاضر مغایرت دارد. این تفاوت می‌تواند به دلیل شدت و مدت زمان تمرین باشد. Lorenzo و همکاران، نقش مهم NF-κB را در کاردیومیوپاتی دیابتی بررسی و عنوان کردند فعال‌سازی NF-κB در نارسایی احتقانی قلب دخالت دارد و موجب فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی پاتوژن قلبی نظیر پروتئین کیناز C، میتوژن فعال‌کننده‌ی پروتئین کیناز، فسفوتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز و ... می‌شود که با عوارض قلبی همراه است. مسیرهای پاتوژن قلبی هر یک به طور جداگانه می‌توانند منجر به فعال شدن عامل NF-κB شوند که در نهایت، با افزایش بیان

ژن‌هایی نظیر Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1) و Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM1) و Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE)، همراه است (۱۸). بررسی‌ها نشان داده است، مسیرهای ۳ عامل رونویسی مهم NF-κB، Activator protein 1 (AP-1) و Interferon regulatory factor 3 (IRF3)، حداقل در بخشی توسط TLR4 کنترل می‌شوند. TLR4 که به تازگی به عنوان عامل کلیدی درگیر در پاسخ‌های التهابی به ورزش مورد توجه قرار گرفته است، مرحله‌ی از فعال‌سازی NF-κB را به واسطه‌ی Tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factor 6 (TRAF6) انجام می‌دهد (۱۹) و همچنین، تمرین با شدت فزاینده قادر است بیان ژن NF-κB را در عضله‌ی قلب افزایش دهد.

طبق نتایج پژوهش Balan و Locke که همسو با یافته‌های پژوهش حاضر است، احتمال می‌رود ورزش از طریق P50 و P65، فعالیت NF-κB را در بافت قلب افزایش دهد (۲۰). پژوهش Perkins همسو با پژوهش حاضر، بیان می‌کند که احتمال دارد که افزایش NF-κB ناشی از ورزش، نشان‌دهنده‌ی یک پاسخ اولیه به آشفستگی هموستاز سلولی باشد. با این حال، با توجه به طیف گسترده‌ای از فرایندهای واسطه‌ی NF-κB، پاسخ به مفید بودن یا نبودن فعال‌سازی NF-κB در فرایندهای سازگاری میوکارد دشوار است (۲۱).

هر دو نوع تمرین HIIT و RT، میزان TNF-α را کاهش داد. این کاهش، در گروه HIIT بیشتر بود. نتایج مطالعات در این مورد، اغلب مشابه است. Cavalcante و همکاران، در یک مقاله‌ی مروری، با بررسی ۳۹ مقاله دریافتند که با تمرین حاد مقاومتی، به طور کلی

سیتوکین‌های پیش‌التهابی کاهش یافته است (۲۲). این یافته، نشان می‌دهد رژیم غذایی پر چرب، باعث افزایش سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود (۲۳). پژوهش حاضر، نشان می‌دهد که هر دو تمرین، تأثیر معنی‌داری در کاهش میزان TNF-α سرمی در Rat‌های مبتلا به دیابت دارد که در گروه تناوبی شدید مشهودتر است. تمرین ورزشی، اثرات ضد التهابی دارد و موجب سرکوب التهاب سیستمی می‌گردد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد ویژگی‌های برنامه‌ی تمرینی نظیر شدت و مدت فعالیت، نوع برنامه و طول دوره‌ی تمرینی، می‌توانند در تغییرات TNF-α مؤثر باشند.

نتیجه‌گیری

هر دو نوع تمرین، باعث کاهش عامل التهابی TNF-α می‌شوند و HIIT موجب کاهش بیشتری در آن می‌شود. بنابراین، HIIT و نیز RT می‌توانند نقش مهمی در کاهش این عامل التهابی، در شرایط استرس متابولیک، اکسیداتیو و التهابی دیابت، به ویژه در قلب Rat مبتلا به دیابت داشته باشند.

هر دو تمرین باعث افزایش NF-κB شد که این افزایش، در گروه تمرینی بدون دیابت بیشتر بود. با توجه به نتایج مقالات دیگر، انتظار می‌رفت با تمرین، واسطه‌ی التهابی NF-κB کاهش یابد. به نظر می‌رسد ۶ هفته تمرین برای کاهش بیان ژن NF-κB کافی نباشد و به زمان بیشتری برای سازگاری و کاهش نیاز است. همچنین، شدت تمرین مورد پژوهش، می‌تواند عامل مهمی برای بیان ژن باشد. بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر و بررسی دو روش تمرینی انجام شده، می‌توان به این نتیجه رسید که شدت و روش تمرین بسیار مهم است و باید برای کمک به حال بیمار، به تمام عوامل تمرین توجه کرد.

تشکر و قدردانی

از زحمات کارشناسان آزمایشگاه سلولی و مولکولی دانشگاه شهید بهشتی و آزمایشگاه حیوان دانشگاه خوارزمی، سپاسگزاری می‌شود. این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری در رشته‌ی فیزیولوژی ورزشی گرایش قلب و عروق دانشگاه خوارزمی است. این طرح در کمیته‌ی اخلاق پژوهش‌کده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی به شماره‌ی IR.SSRI.REC.1397.305 ثبت گردیده است. تألیف این مقاله هیچ گونه منافع متقابل برای نویسندگان ندارد و بدون حمایت مالی بوده است.

References

- Zimring M. Recent advances in the pathogenesis, prevention and management of type 2 diabetes and its complications. IntechOpen [Online]. [cited 2011 Aug 29]; Available from: URL: <https://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-the-pathogenesis-prevention-and-management-of-type-2-diabetes-and-its-complications>
- Trachanas K, Sideris S, Aggeli C, Poulidakis E, Gatzoulis K, Tousoulis D, et al. Diabetic cardiomyopathy: from pathophysiology to treatment. *Hellenic J Cardiol* 2014; 55(5): 411-21.
- Matsukura S, Kokubu F, Kurokawa M, Kawaguchi M, Ieki K, Kuga H, et al. Synthetic double-stranded RNA induces multiple genes related to inflammation through Toll-like receptor 3 depending on NF-kappaB and/or IRF-3 in airway epithelial cells. *Clin Exp Allergy* 2006; 36(8): 1049-62.
- Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: Role in diabetes and cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest* 2017; 47(8): 600-11.
- Feng B, Chen S, Gordon AD, Chakrabarti S. miR-146a mediates inflammatory changes and fibrosis in the heart in diabetes. *J Mol Cell Cardiol* 2017; 105: 70-6.
- Fuentes-Antras J, Ioan AM, Tunon J, Egido J, Lorenzo O. Activation of toll-like receptors and inflammasome complexes in the diabetic cardiomyopathy-associated inflammation. *Int J Endocrinol* 2014; 2014: 847827.
- Nunes S, Rolo AP, Palmeira CM, Reis F. Diabetic cardiomyopathy: Focus on oxidative stress, mitochondrial dysfunction and inflammation, cardiomyopathies - types and treatments. IntechOpen [Online]. [cite 2017 Apr 12]; Available from: URL: <https://www.intechopen.com/books/cardiomyopathies-types-and-treatments/diabetic-cardiomyopathy-focus-on-oxidative-stress-mitochondrial-dysfunction-and-inflammation>
- Frati G, Schirone L, Chimenti I, Yee D, Biondi-Zoccai G, Volpe M, et al. An overview of the inflammatory signalling mechanisms in the myocardium underlying the development of diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2017; 113(4): 378-88.
- Soltanian Z, Vanaky B, Ramezani Fard N, Shakeri N, Shams Z, Fakhari Rad F. Effect of eight weeks resistance training on gene expression of TNF-α and IL10 in the heart of type ii diabetic male rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2019; 27(6): 1656-67. [In Persian].
- Taghibeigi Hoseinabadi H, Esfarjani F, Marandi M, Karami H. Effects of eight weeks of aerobic training on expression levels of the HMGB1-RAGE/TLR4-NF-kB proinflammatory pathway in cardiac tissue of male rats with hyperglycemia. *Iran J Endocrinol Metab* 2019; 20(5): 246-52. [In Persian].
- Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res* 2008; 2008: 704045.
- Rajasekar R, Manokaran K, Rajasekaran N, Duraisamy G, Kanakasabapathi D. Effect of Alpinia calcarata on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. *J Diabetes Metab Disord* 2014; 13(1): 33.
- Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Methods Mol Med* 2004; 99: 55-65.
- Songstad NT, Kaspersen KH, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143095.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)). *Methods* 2001; 25(4): 402-8.
- Gaeini AA, Khaledi N, Fayazmilani R, Ravasi A, Sedghroohi G, Arabkari V. Changes in ACTN3 gene expression and fiber type composition in flexor hallucis longus muscle after eight weeks progressive resistance training in Sprague-Dawley rats. *Tehran Univ Med J* 2013; 71(1): 37-45. [In Persian].
- Roemers P, Mazzola PN, De Deyn PP, Bossers WJ, van Heuvelen MJG, van der Zee EA. Burrowing as a novel voluntary strength training method for mice: A comparison of various voluntary strength or resistance exercise methods. *J Neurosci Methods* 2018; 300: 112-26.
- Lorenzo O, Picatoste B, Ares-Carrasco S, Ramirez E, Egido J, Tunon J. Potential role of nuclear factor kappaB in diabetic cardiomyopathy. *Mediators Inflamm* 2011; 2011: 652097.
- Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguel P, Cuevas MJ, Gonzalez-Gallego J. TLR4-mediated blunting of inflammatory responses to eccentric exercise in young women. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 479395.
- Balan M, Locke M. Acute exercise activates myocardial nuclear factor kappa B. *Cell Stress Chaperones* 2011; 16(1): 105-11.
- Perkins ND. Post-translational modifications regulating the activity and function of the nuclear factor kappa B pathway. *Oncogene* 2006; 25(51): 6717-30.
- Cavalcante PAM, Gregnani MF, Henrique JS, Ornellas FH, Araujo RC. Aerobic but not resistance exercise can induce inflammatory pathways via toll-like 2 and 4: A systematic review. *Sports Med Open* 2017; 3(1): 42.
- Lee S, Park Y, Zhang C. Exercise training prevents coronary endothelial dysfunction in type 2 diabetic mice. *Am J Biomed Sci* 2011; 3(4): 241-52.

The Effect of Progressive Resistance Training and High-Intensity Interval Training on Cardiac Nuclear Factor-Kappa B Gene Expression and Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) in Male Diabetic Rats

Afsaneh Elahi¹, Neda Khaledi², Pejhman Motamedi², Hossein Askari³, Hamid Rajabi⁴

Original Article

Abstract

Background: The most common causes of mortality in patients with diabetes mellitus are cardiovascular disorders; and one of their reasons is inflammatory factors. Given that physical activity can reduce inflammation, the present study aimed to investigate the effects of two types of progressive resistance training (RT) and high-intensity interval training (HIIT) on the expression of nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) gene and serum levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in male diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 72 male rats were divided into 6 groups of 12 diabetic rats, control, diabetic + intensity interval training (DIIT), HIIT, diabetic + resistance training (DRT), and RT. Progressive resistance training was performed in 6 week, 3 sessions per week, as climbing a vertical ladder with additional weights of 50%, 75%, 90%, and 100% the body weight of the animals. After successful completion, 30 grams were added to the weights, to the extent that the rats could not carry the ladder. HIIT were also performed at in 6 week, 3 sessions per week, with an intensity of 50% to 110% of the VO_{2max} . 24 hours after the completion of the training, the hand grip and time to exhaustion functional test was taken, and the animals were autopsied 48 hours after the test. Finally, the expression of NF- κ B gene was evaluated using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) technique and ANOVA statistical test.

Findings: The expression of NF- κ B gene in HIIT group increased more than RT group ($P = 0.0007$), and serum TNF- α decreased significantly after both types of exercise in HIIT group (6/13) which was more obvious.

Conclusion: 6 weeks of HIIT and RT training can play an important role in significantly reducing inflammation, and adapting to strength and endurance.

Keywords: NF-kappa B; TNF-alpha; Resistance training; High-intensity interval training; Heart

Citation: Elahi A, Khaledi N, Motamedi P, Askari H, Rajabi H. The Effect of Progressive Resistance Training and High-Intensity Interval Training on Cardiac Nuclear Factor-Kappa B Gene Expression and Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α) in Male Diabetic Rats. J Isfahan Med Sch 2020; 38(575): 317-24.

1- PhD Student, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Plant Sciences and Biotechnology, School of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

4- Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Neda Khaledi, Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran; Email: n.khaledi@khu.ac.ir