دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی
سال هفتم، جلد هفتم، شماره ۱

بررسی اثر شدت های مختلف تمرین استقامتی بر بیان پروتئین اینفلامازوم NLRP-3 بافت چربی احشایی، سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوسین

ابوذر عباسی[۱]، محمد فرامرزی [*۲]، مهدی قطره سامانی[۳]، ابراهیم بنی طالبی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳

چکیده

هدف: فعال سازی اینفلامازوم NLRP-3 از مشخصه های التهاب مزمن در دیابت نوع-۲ است که موجب رهایش IL-1β از سلول های ایمنی بافت چربی می شود. با توجه به اینکه به تازگی به نقش اینفلامازوم NLRP-3 در پاتوژنز دیابت نوع ۲ توجه زیادی شده است، تاثیر احتمالی تمرینات ورزشی بر این عوامل مورد بررسی قرار نگرفته است.

روش شناسی: ۴۰ سر موش صحرایی دیابتی شده با تزریق STZ به پنج گروه هشت تایی دیابت و تمرین استقامتی کم شدت (DL)، دیابت و تمرین شدت متوسط (DM)، دیابت و تمرین با شدت زیاد (DH)، گروه کنترل دیابتی (D) و کنترل سالم (CON) تقسیم شدند. پروتکل تمرین استقامتی به مدت هشت هفته، چهار جلسه در هفته انجام شد. از روش وسترن بلات برای اندازه گیری بیان پروتئین اینفلامازوم NLRP-3 بافت چربی احشایی و از روش الایزا برای اندازه گیری سطوح سرمی گلوکز و انسولین استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد کاهش معنی داری در بیان پروتئین NLRP-3 در گروه های تمرین استقامتی DM و DH در مقایسه با گروه تمرین استقامتی DL مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیان کاسپاز-۱ به طور معنی داری در گروه‌های شدت پایین، شدت متوسط و شدت بالا در مقایسه با گروه کنترل دیابتی پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). با این وجود، تفاوت معنی داری بین گروه‌های تمرینی مشاهده نشد. سطوح انسولین سرمی در گروه تمرین استقامتی DH به طور معنی داری پایین تر از گروه تمرین استقامتی DL بود (P<۰/۰۵). در مقایسه با گروه دیابتی، تمرین استقامتی DL، DM و DH کاهش معنی داری در سطوح سرمی گلوکز مشاهده شد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد تمرین استقامتی با شدت بالا و متوسط موجب تعدیل مثبت بیان اینفلامازوم NLRP3 و بهبود سطوح عوامل گلایسمیک در افراد دیابتی شود.

واژگان کلیدی: اینفلامازوم NLRP3 ، تمرین استقامتی ، مقاومت به انسولین، دیابت نوع۲

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، ۲. دانشیار دانشگاه شهرکرد، ۳. استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ۴. استادیار دانشگاه شهرکرد

*نشانی الکترونیک نویسندهٔ مسئول: md.faramarzi@gmail.com

مقدمه

دیابت شایع ترین بیماری غددی در جهان است که مسئول ۴ میلیون مرگ در سال می باشد(۱). سازمان جهانی بهداشت[1] (WHO) با توجه به آمار و روند رو به افزایش بیماری دیابت در جهان، آن را به عنوان یک اپیدمی نهفته تعریف کرده است. شیوع جهانی دیابت در سال ۲۰۱۰، در میان بزرگسالان (سنین ۷۰-۲۹ سال) ۶/۴ درصد معادل ۲۸۵ میلیون نفر و در سال ۲۰۱۲ حدود ۳۷۱ میلیون نفر بود که تخمین زده می شود تا سال ۲۰۳۰ به حدود ۵۵۲ میلیون نفر برسد (۱-۳). پیش بینی شده است مبتلایان به دیابت بین سال های ۲۰۱۰ تا ۲۰۳۰ افزایشی برابر با ۶۹ درصد در کشورهای در حال توسعه و ۲۰ درصد در کشورهای توسعه یافته را داشته باشد (۱). در مطالعه ای در سال ۲۰۱۰ گزارش شد شیوع دیابت در منطقه خاورمیانه تا سال ۲۰۳۰ به طور قابل توجهی افزایش خواهد یافت و برآورد می شود نرخ رشد سالانه دیابت تا سال ۲۰۳۰ در ایران بعد از پاکستان به رتبه دوم منطقه برسد (۱). طبق گزارش WHO تعداد بیماران دیابتی در ایران تا سال ۲۰۳۰ به بیش از ۶ میلیون نفر خواهند رسید (۴).

دیابت عوارض عمده ای در اغلب ارگان ها و سیستم های بدنی ایجاد می کند و سبب بروز عوارض زود رس و یا دیر رس بیماری می شود و به دنبال آن ناتوانی، از کار افتادگی، هزینه های درمانی و مرگ و میر اتفاق خواهد افتاد. دیابت سبب بروز عوارضی از قبیل بیماری های قلبی عروقی، نفروپاتی، نروپاتی، رتینوپاتی و عوارض دیگر می شود (۵, ۶). مطالعات نشان داده اند بیماری دیابت و عوارض آن از جمله عوارض چشمی، قلبی عروقی و کلیوی توسط رژیم غذایی سالم و فعالیت بدنی قابل پیش گیری است (۷).

دیابت یک بیماری التهاب مزمن خفیف[2] است که بوسیله افزایش سطوح در گردش عوامل التهابی از قبیل TNF-α، اینترلوکین ها و پروتئین های شبه سایتوکاینی مترشحه از بافت چربی موسوم به آدیپوکین ها مشخص می شود (۸). التهاب بافت چربی یک مشخصه مهم اختلال بافت چربی در افراد چاق می باشد که در پاتوژنز بیماری های مرتبط از قبیل مقاومت به انسولین و دیابت نوع-۲ مشارکت دارد (۹). ملکول های پیش التهابی تولید شده در بافت چربی به فعالسازی مسیرهای سیگنالینگ درون سلولی منجر می شوند که متعاقباً حساسیت به انسولین را کاهش و هموستاز گلوکز را بر هم زده و منجر به ایجاد مقاومت به انسولین و دیابت نوع-۲ می شود (۱۰). سبک زندگی غیرفعال منجر به تجمع بافت چربی احشایی می شود که به تراوش سلول های ایمنی التهابی به درون بافت چربی و متعاقباً افزایش ترشح آدیپوکین ها و توسعه شرایط التهاب سیستمیک با درجه پایین منجر می شوند (۱۱).

مطالعات نشان داده اند که یک دسته پروتئینی در بافت چربی موسوم به اینفلامازوم[3] (Caspase-1، NLRP3 و ASC) ممکن است بر روی التهاب (۹, ۱۲-۱۵) و مقاومت به انسولین اثر گذار باشند (۱۲, ۱۴, ۱۵).

1. World Health Organezation

2. Low grade inflammation

3.Inflammasome

ماکروفاژها و سایر سلول های ایمنی می توانند با بکار گیری طیف گسترده ای از گیرنده های تشخیص الگو (PPRs[1]) از قبیل TLRs[2]، و NLRs[3] الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن[4] و مرتبط با خطر[5] (PAMPs و DAMPs) را شناسایی و به القاء پاسخ های التهابی منجر شوند. پس از فعال سازی NLR ها توسط PAMP ها و DAMP ها، اینفلامازوم NLRP-3 با پروتئین تعدیل کننده ASC[6] وارد تعامل می شود. سپس دامین فراخوانی کاسپاز (CARD) ASC به دامین CARD پرو کاسپاز-۱ متصل شده و اینفلامازوم NLRP-3 را تشکیل می هند (۱۶, ۱۷). این عمل به تکثیر پروکاسپاز-۱ و تولید کاسپاز-۱ فعال منجر می شود که متعاقباً باعث تبدیل شکل های نابالغ اینترلوکین-۱ بتا و اینترلوکین ۱۸ به شکل بالغ و ترشحی آنها می شود (۱۶, ۱۷).

مطالعات نشان داده اند فعال شدن اینفلامازوم NLRP-3 یکی از مکانیسم های کلیدی در مقاومت به انسولین است. از طرفی غیر فعال کردن این اینفلامازوم در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، سبب کاهش وزن آنها می شود (۱۸). یکی دیگر از مکانیسم های احتمالی نقش اینفلامازوم در روند دیابت نوع ۲ این گونه است که اینفلامازوم NLRP-3 سیگنال های خطر ایجاد شده در دیابت نوع ۲ از جمله پلی پپتید آمیلوئید جزیره ای[7] ، اورات ، ATP خارج سلولی، اسیدهای چرب ROS [8] را شناسایی کند. سپس با ASC باعث فعال شدن کاسپاز-۱ و این نیز به نوبه ی خود سبب تولید IL-1β و IL-18 می شود. این دو سایتوکین پیش التهابی به طور احتمالی در ایجاد مقاومت به انسولین و مرگ سلول های بتای پانکراس و بنابراین تکوین بیماری دیابت نقش دارند (۱۹).

تا آنجا که ما بررسی کردیم، مطالعات محدودی تاثیر تمرینات ورزشی بر فعالسازی مسیر های اینفلامازوم NLRP-3 در وضعیت های چاقی و دیابت را مورد بررسی قرار داده اند. در یک مطالعه جدید، مارداره[9] و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند هم تمرینات استقامتی و هم تمرینات مقاومتی در موش های چاق سطوح mRNA NLRP-3 را در بافت چربی کاهش داده است که نشان می دهد تمرینات ورزشی بطور مستقیم فعالسازی اینفلامازوم NLRP-3 القاء شده بر اثر چاقی را مهار می کنند (۲۰). مجیاس پناه[10] و همکاران (۲۰۱۷) نیز در مطالعه ای به بررسی اثر تمرینات مقاومتی بر عوامل التهابی در افراد سالمند پرداختند. این محققین به این نتیجه رسیدند که ۸ هفته تمرینات مقاومتی منجر به کاهش بیان اینفلامازوم NLRP-3 و همچنین نسبت پروکاسپاز-۱ به کاسپاز-۱ گردید (۲۱). همچنین، پائلو مارتینز و همکاران (۲۰۱۶) هم گزارش کردند فعالیت های ورزشی بواسطه اثرات تعدیلی بر بیومارکرهای نئوپترین منجر به کاهش التهاب عصبی[11] و مهار مجموعه اینفلامازوم NLRP-3 در بیماران مبتلا به

1. Pattern-recognition receptors
2. Toll-like receptors
3. NOD-like receptprs
4. Pathogen-associated molecular patterns(PAMPs)
5. Damage-associated molecular patterns(DAMPs)
6. Apoptosis-associated speck-like protein
7. Islet amyloid polypeptide
8. reactive oxygen species
9. Mardare
10. Mejías-Peña
11. neuroinflammation

افسردگی می شود (۲۲). وانگ[1] و همکاران (۲۰۱۶) هم در مطالعه ای دیگر به بررسی اثر فعالیت های ورزشی بر رفتارهای شبه افسردگی در هیپوکمپ موش ها پرداختند و به این نتیجه رسیدند که ۴ هفته فعالیت هوازی با شدت متوسط به کاهش اینفلامازوم NLRP-3 در هیپوکامپ موش ها منجر گردید (۲۳). رینجسیس[2] و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند ۱۰ هفته تمرینات استقامتی و مقاومتی (۵ جلسه در هفته) منجر به کاهش بیان اینفلامازوم NLRP-3 در موش های چاق گردید (۲۴). از طرف دیگر ، با توجه به نتایج پژوهشات قبلی در خصوص تاثیر تمرینات استقامتی و هوازی در بهبود شاخص های متابولیکی و التهابی در افراد دیابتی، هنوز مکانیسم های سلولی مرتبط با این بهبود ها به طور کامل مشخص نشده است . همچنین، پژوهشی تاثیر تمرینات استقامتی بر اینفلامازوم NLRP-3 افراد دیابتی را مورد بررسی قرار نداده است.

پژوهش های متا آنالیز نشان داده اند مداخلات سبک زندگی از قبیل فعالیت های ورزشی و رژیم غذایی می تواند در مدیریت بیماری دیابت مفید باشد(۲۵). علاوه بر این، مشخص شده است شیوه های مختلف تمرینات ورزشی تاثیرات متفاوتی بر کنترل گلایسمیک بیماران دیابتی دارند (۲۶). تحقیقات نشان دادند تمرینات اینتروال با شدت بالا نسبت به تمرینات هوازی با شدت پایین اثر بخشی بیشتری در تنظیم گلوکز داشته اند (۲۷). آموت[3] و همکاران(۲۰۱۶)، در پژوهشی نشان دادند تمرینات اینتروال با شدت و حجم بالا در مقایسه با تمرینات اینتروال با شدت بالا و حجم کم و تمرینات با شدت متوسط، منجر به بهبود بیشتری در کیفیت عملکرد انسولین در بیماران مبتلا به سندروم متابولیک داشت (۲۸).کادر[4] و همکاران(۲۰۱۳)، در پژوهشی به بررسی اثر تمرینات هوازی با شدت پایین و متوسط بر سایتوکین های التهابی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداختند. نتایج نشان داد تمرینات هوازی با شدت متوسط نسبت به تمرینات هوازی با شدت پایین موجب بهبود بهتری در سایتوکین های التهابی این بیماران شد(۲۹). نشان داده شده که حتی تمرینات با شدت پایین، در صورتی که برای مدت زمان طولانی انجام شوند، می توانند موجب بهبود حساسیت به انسولین گردند (۲۹). بالدوک[5] و همکاران(۲۰۱۰)، نشان دادند تمرینات ورزشی بلند مدت با شدت بالا نسبت به تمرینات با شدت پایین منجر به بهبود معنی داری در پاسخ های ضد التهابی ناشی از تمرین شد (۳۰). کیم[6] و همکاران(۲۰۱۴)، به بررسی اثر شدت های بالا و پایین تمرینات ورزشی بر عوامل ضد التهابی موش های دیابتی شده با استرپتوزوسین پرداختند. نتایج تحقیق نشان دادپاسخ های التهابی از قبیل سطوح IL-1β و TNF-α در هر دو گروه تجربی به طور معنی داری کاهش پیدا کرد (۳۱). تونوریو[7] و همکاران(۲۰۱۷)، در پژوهشی به بررسی اثر شدت های مختلف تمرین بر بیومارکرهای التهابی نوجوانان چاق پرداختند.

1. Wang
2. Ringseis
3. Aamot
4. Kader
5. Balducci
6. Kim
7. Tenorio

نتایج این مطالعه نشان داد که هر دوی تمرینات با شدت پایین و بالا منجر به بهبود پروفایل لیپیدی شدند. با این حال، اندازه تغییرات بیوماکرهای شیمیایی در گروه تمرینات با شدت بالا بیشتر بود (۳۲). مارینهو[1] و همکاران(۲۰۱۳)، در پژوهشی به بررسی شدت های مختلف فعالیت بدنی حاد بر حساسیت انسولینی و فعالیت مسیر های سیگنالینگ عضلات اسکلتی موش های چاق پرداختند. نتایج نشان داد یک جلسه تمرین منجر به مهار مقاومت به انسولین القاء شده بر اثر رژیم غذایی پر چرب ، بهبود سیگنالینگ انسولین، کاهش گلوکز ناشتا و افزایش فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B/AKT در هر دو گروه شد. به هر حال، تفاوتی بین گروه ها مشاهده نشد. بنابراین، گزارش کردند که صرف نظر از شدت تمرین، تمرینات هوازی قادر به بهبود حساسیت انسولینی و افزایش فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B/AKT هستند و بهترین راهبرد درمانی در بیماران دیابتی محسوب می‌شوند (۳۳). دا سیلوا[2] و همکاران(۲۰۱۰)، در پژوهشی به بررسی اثر شدت های مختلف تمرین حاد بر سیگنالینگ التهابی و مقاومت به انسولین موش های چاق پرداختند. پروتکل تمرین شامل دو پروتکل تمرینی شنا با شدت پایین و حجم بالا و یا شنا با شدت متوسط و حجم پایین بود. نتایج نشان داد هر دو پروتکل تمرینی منجر به افزایش حساسیت انسولینی و بهبود سیگنالینگ انسولینی شدند. این پژوهشگران پیشنهاد کردند هر دو نوع تمرین از طریق استراتژی های متفاوتی منجر به افزایش حساسیت به انسولین می شوند (۳۴).

با توجه به ادبیات پیشینه ذکر شده در بالا، مشخص شده است که تمرینات ورزشی موجب بهبود چشمگیر سیگنالینگ انسولین در عضلات اسکلتی و همچنین مقاومت به انسولین در افراد مبتلا به دیابت می شوند. (۳۳). از آنجا که مسیر التهابی سیگنالینگ NLRP3 یکی از مسیر های التهابی درگیر در پاتوژنز بیماری دیابت می باسد، تاکنون تحقیقی اثر همزمان شدت های مختلف تمرینات استقامتی بر مسیر التهابی اینفلامازوم NLRP3 را مورد بررسی قرار نداده است. بنا براین، شناسایی مکانیسم‌های مولکولی حاکم بر سازگاری‌های تحریک شده توسط شدت های مختلف تمرینات استقامتی در بافت آدیپوز و مکانیسمهای تنظیمی که متابولیسم بافت چربی را بهبود می‌بخشند می‌تواند از نظر درمانی برای حفظ سلامتی یا درمان بیماری مفید باشد. با توجه به کمبود مطالعات انجام شده در این زمینه، این مطالعه به بررسی اثر شدت های مختلف تمرین استقامتی بر اینفلامازوم NLRP3 بافت چربی احشایی و همچنین گلوکز و انسولین سرمی موش های دیابتی شده با استرپتوزوسین پرداخته است.

روش پژوهش

جامعه و نمونه آماری: تعداد ۴۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار در سن هشت هفتگی با محدوده وزنی ۱۸۰-۱۷۰ گرم از مرکز تحقیقات تهران (پاستور) تهیه و در شرایط دمایی ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲: ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری و با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تغذیه شدند. آزمودنی های

1. Marinho
2. Da Silva

پژوهش شامل۴۰ سر موش صحرایی دیابتی بودند که به پنج گروه هشت تایی دیابت و تمرین استقامتی کم شدت(DL)، دیابت و تمرین شدت متوسط(DM)، دیابت و تمرین با شدت زیاد(DH)،گروه کنترل دیابتی(D) و کنترل سالم(CON) تقسیم شدند. بعد از گذشت یک هفته و آشنایی با محیط آزمایشگاه، در ابتدا برای آشنایی موش‌های صحرایی با دویدن روی تردمیل، به مدت یک هفته با سرعتی معادل ۵-۳ متر بر دقیقه به مدت پانزده تا بیست دقیقه تمرین در نظر گرفته شد.شدت تمرین در گروه تمرین استقامتی کم شدت معادل سرعت ۸-۵ متر بر دقیقه (معادل ۵۵-۶۵ درصد Vo_{2max})، شدت تمرین در گروه تمرین استقامتی با شدت متوسط معادل سرعت ۱۶-۱۴ متر بر دقیقه (معادل ۸۵ درصد Vo_{2max}) و در گروه تمرین استقامتی با شدت بالا معادل سرعت ۲۵-۲۲ متر بر دقیقه (معادل ۸۰ درصد Vo_{2max})بود(۳۵). گروه کنترل دیابتی و کنترل سالم هیچ مداخله‌ای را در این مدت دریافت نکردند. همچنین، کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) بر اساس AAALAC[1] رعایت گردید. طرح تحقیق توسط کمیته تحصیلات تکمیلی دانشکده ادبیات و علوم انسانی به تصویب رسید.

القاء دیابت: برای دیابتی کردن هر موش صحرایی، استرپتوزوسین با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از راه صفاقی تزریق شد. گلوکز خون ناشتا پس از ۱۲ ساعت بی‌غذایی هر حیوان، قبل از تزریق استرپتوزوسین و نیز به ترتیب در فاصله زمانی ۱، ۳ و ۵ هفته پس از تزریق استرپتوزوسین به‌وسیله گلوکومتر اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که دارای قند خون ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر بودند به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند(۳۶). **مواد و روش های اندازه گیری:** برای تهیه و تحلیل نمونه خونی، پس از ۸ هفته تمرین، موش‌های تمامی گروه‌ها به مدت ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی با ترکیبی از کتامین(۷۵ mg/kg) و زایلازین (۲۵ mg/kg)بیهوش شدند و خونگیری مستقیماً از قلب موش به عمل آمد و خون سریعاً در لوله‌های آزمایشگاهی(۵ سی سی) ریخته شد و برای جداکردن سرم خون، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سطوح گلوکز به وسیله گلوکومتر ساخت کشور آلمان، از طریق ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست روی ورید دم موش ها اندازه گیری شد. سطوح سرمی انسولین با کیت الایزا ویژه موش صحرایی (بیوسپس، چین) با حساسیت کمتر از ۵ میکرویونیت بر میلیلیتر و ضریب تغییرات ۳۶/. درصد اندازه‌گیری شد.

پس از ۸ هفته تمرینات استقامتی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بافت چربی احشایی استخراج و در نیتروژن مایع جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شد و سپس با روش‌هاون‌کوبی در نیتروژن مایع پودر و به نسبت ۱ به ۵ در بافر RIPA لیز و به‌طور کامل با دستگاه هموژنایزر(۳۰۰۰ دور در دقیقه بر روی یخ) هموژنیزه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد

1. Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International

سپس به مدت پانزده دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و غلظت پروتئینی محلول با روش Bradford و با استفاده از BSA (Bovin serum albumin) به‌عنوان استاندارد تعیین و در دمای ۸۰- درجه برای مراحل بعدی نگهداری شد. مقدار بافتی پروتئین اینفلامازوم NLRP3 طبق دستورالعمل روش وسترن‌بلات اندازه‌گیری شد. برای انجام این روش آزمایشگاهی مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی آکریل آمید SDS-PAGE ۱۲ درصد جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس کاغذ به مدت ۱۲ ساعت در آنتی‌بادی اولیه (Cryopyrin Antibody) شرکت Santa cruze در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در روز دوم ۳ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد. بعد از این مرحله بلاتها را با کیت ECL پوشانده و استخراج داده ها با استفاده از دستگاه اسکنر LI-COR ساخت امریکا انجام شد.

روش های آماری: با رعایت پیش فرض آزمون های پارامتریک، برای مقایسه بین گروهی از آزمون آنوای یک طرفه (one way ANOVA) استفاده گردید و در ادامه برای مقایسه تفاوت بین گروه ها از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) استفاده شد. در متغیرهای که پیش فرض های آزمون پارامتریک برقرار نبود از آزمون های غیر پارامتریک استفاده شد. در این روش برای مقایسه بین گروهی از آزمون کروسکال- والیس (Kruskal-Wallis) استفاده شد و در ادامه برای مقایسه جفتی گروه ها از آزمون من ویتنی (Mann-Whitney) استفاده شد. کلیه محاسبات آماری از طریق نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۴ انجام شد و نمودار ها نیز با کمک نرم افزار EXCEL ویرایش ۲۰۱۰ طراحی شد. سطح معنی داری ۰/۰۵ برای رد یا قبول فرضیات در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش

در جدول ۱ میانگین و خطای انحراف استاندارد وزن بدن موش های صحرایی در هر گروه ارائه شده است.

نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری در بیان ژن NLRP-3 بین گروه ها وجود دارد. در مقایسه دو به دو گروه ها با استفاده از آزمون Mann-Whitney مشخص شد که در مقایسه با گروه کنترل، دیابت باعث افزایش معنی دار بیان ژن NLRP-3 شده است (P =۰/۰۰۱). در مقابل، فعالیت ورزشی در موش های دیابتی باعث کاهش بیان این ژن شده است. به بیان دقیق تر، با افزایش شدت تمرین، میزان کاهش نیز بیشتر شده است، به طوری که در موش های دیابتی با تمرین شدید، میزان بیان ژن به سطح پایه بازگشته است (P =۰/۲۷۹). علاوه بر این، در مقایسه با گروه دیابتی، میزان ژن NLRP-3 در گروه های فعالیت ورزشی استقامتی با شدت پایین (P =۰/۳۲۸) کاهش معنی داری نداشته است، اما تمرین استقامتی با شدت متوسط (P =۰/۰۰۱) و با شدت بالا (P =۰/۰۰۱) باعث کاهش معنی دار این ژن شده است. همچنین، تمرین استقامتی با شدت متوسط (P =۰/۰۰۲) و شدت بالا (P =۰/۰۰۱) نسبت به تمرین استقامتی با شدت پایین باعث کاهش معنی دار ژن NLRP-3 شده اند. همچنین تمرین استقامتی با شدت بالا موثرتر از تمرین استقامتی با شدت متوسط بوده

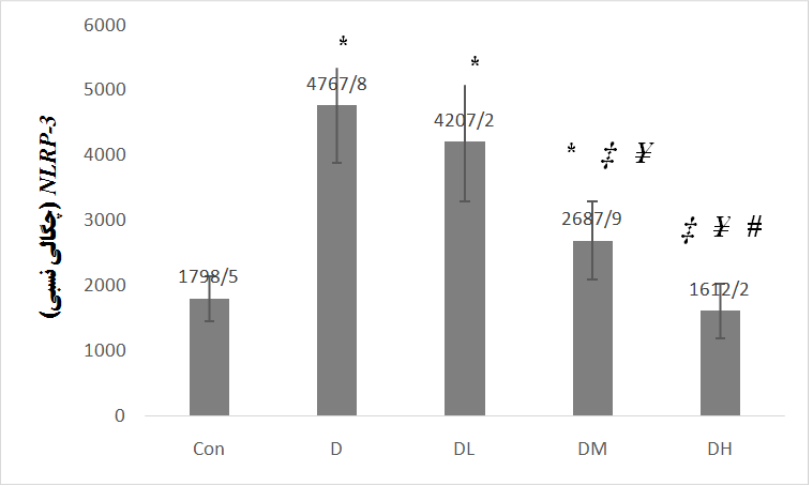
است (P =۰/۰۰۲). تفاوت هر پنج گروه به صورت میانگین و انحراف استاندارد نشان داده شده است (شکل ۱).

شکل ۲ تغییرات چگالی نسبی پروتئین NLRP-3 را در در پنج گروه نشان می دهد. همانطور که مشاهده می‌شود دیابت باعث افزایش بیان پروتئین NLRP-3 شده است، اما بیان این پروتئین در گروه‌های دیابت و تمرین استقامتی با افزایش شدت تمرین کاهش داشته است.

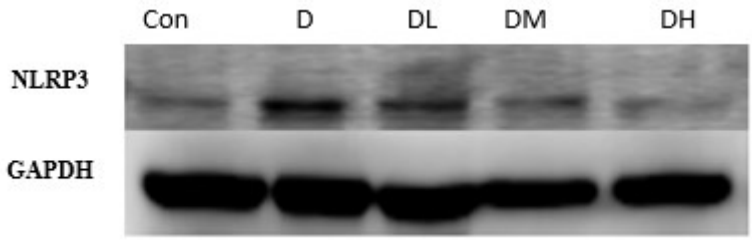
جدول ۱. وزن بدن موش های صحرایی

متغیر / گروه	CON	D	DH	DM	DL
وزن پیش از مداخلات	۲۱۶/۴۰±۲۶/۲۶	۱۸۲/۹۰±۱۷/۰۲	۲۰۱/۱۰±۱۴/۷۰	۲۰۵/۶۰±۱۸/۴۴	۱۸۷/۸۰±۱۸/۶۶
وزن پس از مداخلات	۲۷۱/۶۳±۲۴/۰۱	۱۷۲/۸۸±۱۵/۳۶	۱۹۱/۵۰±۱۵/۴۶	۱۸۱/۵۰±۲۲/۱۵	۱۸۶/۵۰±۴۲/۵۷

Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا.
مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

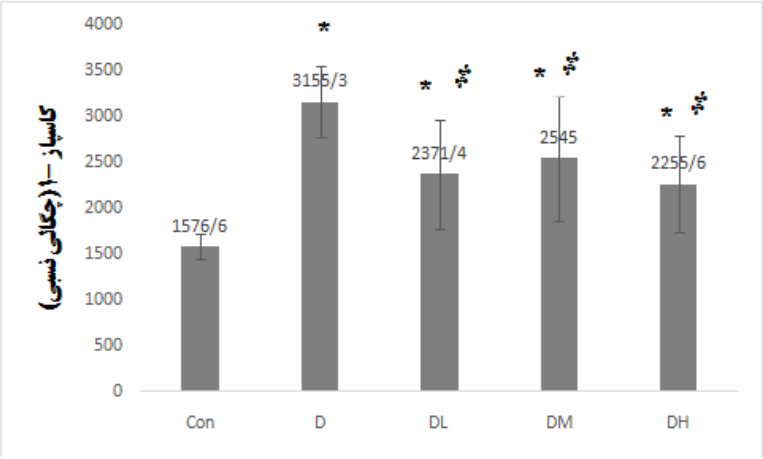


شکل ۱. تغییرات NLRP-3 در گروه ها (P≤۰/۰۵).* تفاوت در مقایسه با گروه کنترل. ‡ تفاوت با گروه دیابت. ¥ تفاوت معنی دار با گروه تمرین با شدت پایین. # تفاوت معنی دار با شدت متوسط. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.



شکل ۲. چگالی باند پروتئین NLRP-3 در گروه ها. Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا.

در رابطه با ژن کاسپاز-۱ نتایج نشان می دهد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد (P =۰/۰۰۱). در مقایسه بین گروهی، در مقایسه با گروه کنترل، بیان ژن کاسپاز-۱ در گروه‌های دیابت (P =۰/۰۰۱)، ورزش با شدت پایین (P =۰/۰۰۱)، ورزش با شدت متوسط (P =۰/۰۱۰) و ورزش با شدت بالا (P =۰/۰۰۷) افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. اما در مقایسه با گروه دیابتی، میزان ژن کاسپاز-۱ در گروه‌های ورزش با شدت پایین (P =۰/۰۱۰)، ورزش با شدت متوسط (P =۰/۰۵۰) و ورزش با شدت بالا (P =۰/۰۰۲) به طور معنی‌داری کاهش یافته است. با این حال، تفاوت معنی داری بین سه گروه تمرینی مشاهده نشد.

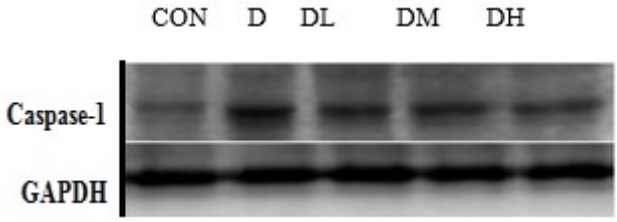


شکل ۳. تغییرات کاسپاز- ۱ در گروه ها

* تفاوت در مقایسه با گروه کنترل (P≤۰/۰۵)

‡ تفاوت با گروه دیابت (P≤۰/۰۵)

شکل ۴ تغییرات چگالی نسبی پروتئین کاسپاز-۱ را در در پنج گروه نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود دیابت باعث افزایش بیان این پروتئین شده است، اما بیان آن در گروه‌های فعالیت ورزشی کاهش یافته است، هرچند بین گروه‌ها تمرینی تفاوت معناداری مشاهده نشد.



شکل ۴. چگالی باند پروتئین کاسپاز-۱ در گروه ها. Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا.

علاوه بر این، تمرین استقامتی با شدت متوسط (P =۰/۰۲۱) و شدت بالا (P =۰/۰۰۱) نسبت به تمرین استقامتی با شدت پایین باعث کاهش چشمگیرتری در میزان گلوکز شده اند. در مقایسه با گروه دیابتی، تمرین استقامتی با شدت پایین (P =۰/۰۰۷)، شدت متوسط (P =۰/۰۰۱) و شدت بالا (P =۰/۰۰۱) باعث کاهش معنی دار گلوکز شده است.

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معناداری در میزان انسولین سرمی گروه‌ها وجود دارد (P =۰/۰۰۱). به منظور مقایسه دو به دو گروه ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، مقدار انسولین در گروه های دیابت (P =۰/۰۰۱)، تمرین با شدت پایین (P =۰/۰۰۱)، تمرین با شدت متوسط (P =۰/۰۰۱) و تمرین با شدت بالا (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار یافته است. همچنین در مقایسه با گروه دیابت، مقدار انسولین در گروه تمرین با شدت پایین تفاوت معنی داری ندارد (P = ۰/۶۵۷)، اما در گروه های تمرین با شدت متوسط (P = ۰/۰۱۴) و تمرین با شدت بالا (P = ۰/۰۰۱) کاهش معنی داری مشاهده شده است. علاوه بر این، در مقایسه بین گروه های تمرینی مشاهده شد که تفاوتی بین دو گروه تمرین با شدت پایین و شدت متوسط وجود ندارد. اما بین تمرین با شدت پایین و شدت بالا کاهش معنی داری وجود دارد (P = ۰/۰۱۱). همچنین بین دو گروه تمرین با شدت متوسط و بالا تفاوت معنی داری وجود ندارد.

جدول۲. مقایسه بین گروهی گلوکز و انسولین

گروه / متغیر	Con	D	DH	DM	DL
گلوکز	۲۲/۹۵±۱۵۶/۲۵	۱۵۸/۸۵±۵۵۷/۷۵۰	۹۱/۹۰±۳۴۱/۵۰۰	۱۴۸/۱۹±۳۲۳/۱۳	۲۵/۴۴±۴۹۷
انسولین	۰/۰۳۲ ±۰/۴۹	۰/۰۴±۰/۱۹۲۵	۰/۰۱۰±۰/۱۲۱۳	۰/۰۳±۰/۱۴۲۵	۰/۰۳۱±۰/۱۷۲۵

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. معنی‌داری در سطح P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد. Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا.

بحث و نتیجه‌گیری

مطابق با نتایج بدست آمده، دو نوع فعالیت ورزشی استقامتی با شدت متوسط و بالا باعث کاهش معنی دار بیان اینفلامازوم NLRP-3 بافت چربی احشایی در مقایسه با گروه دیابتی شده است. بنابراین، در مقایسه بین گروه های تمرینی، هر چه شدت فعالیت ورزشی بیشتر شده است میزان کاهش این ژن چشمگیرتر بوده است.نتایج مطالعه حاضر نشان داد اینفلامازوم NLRP-3 متعاقب ۸ هفته تمرینات استقامتی کاهش می یابد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات مجیاس پنا و همکاران (۲۰۱۷)(۲۱)، مارداره و همکاران (۲۰۱۶)(۲۰)، و وانگ و همکاران (۲۰۱۶)(۲۳) همخوانی دارد. مارداره و همکاران(۲۰۱۶) نشان دادند ۱۰ هفته تمرینات استقامتی و مقاومتی در موش های چاق سطوح mRNA NLRP-3 را در بافت چربی کاهش داد (۲۰). مجیاس پناه و همکاران (۲۰۱۷) نیز در مطالعه ای نشان دادند در مورد ۸ هفته تمرینات مقاومتی فزاینده بر عوامل التهابی افراد سالمند به این نتیجه رسیدند ۸ هفته تمرینات مقاومتی به کاهش بیان اینفلامازوم NLRP-3 و همچنین نسبت پروکاسپاز-۱ به کاسپاز-۱ منجر گردید(۲۱). وانگ و همکاران(۲۰۱۶) هم در مطالعه ای به این نتیجه رسیدند که ۴ هفته فعالیت هوازی با شدت متوسط به کاهش اینفلامازوم NLRP-3 در هیپوکامپ موش ها منجر گردید(۲۳). رینجسیس و همکاران (۲۰۱۵) نیز بیان کردند ۱۰ هفته تمرینات استقامتی و تمرینات مقاومتی منجر به کاهش بیان اینفلامازوم NLRP-3 در موش های چاق گردید(۲۴).

همچنین، نتایج تحقیق نشان داد دیابت باعث افزایش بیان ژن کاسپاز-۱ شده است و همچنین در گروه های تمرین استقامتی مبتلا به دیابت نیز بیان این ژن نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. با این حال، هر سه نوع فعالیت ورزشی باعث کاهش بیان ژن کاسپاز -۱ شده است، هر چند تفاوت معنی داری بین گروه های ورزشی وجود ندارد. تا جایی که ما بررسی کردیم، تنها مطالعه ای که تاثیر تمرین را به طور مستقیم بر کاسپاز-۱ بررسی کرده بود، مجیاس پناه و همکاران(۲۰۱۷) بودند که نتایج تحقیق آنها با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر همخوانی دارد. این محققین به این نتیجه رسیدند که ۸ هفته تمرینات مقاومتی منجر به کاهش نسبت پروکاسپاز-۱ به کاسپاز-۱ گردید (۲۱).

مطالعات متعددی نشان دادند ناک اوت ژنهای NLRP3،ASC و کاسپاز-۱ منجر به بهبود تحمل به گلوکز و حساسیت به انسولین وهمچنین کاهش سطوح سایتوکین های التهابی سرم و بافت های متابولیکی از قبیل کبد و بافت چربی و از طرفی افزایش فعالیت مسیر سیگنالینگ PI3K-AKT- انسولین موش های در معرض رژیم های پر چرب قرار گرفته می شود (۳۷-۳۹). بنابراین، این مطالعات ارتباط مستقیمی بین اینفلامیزوم NLRP3، التهاب مزمن و مقاومت به انسولین را نشان دادند. فعال سازی اینفلامازوم NLRP3 در طول دیابت نوع-۲ منجر به تولید IL-1β و IL-18 می شود که باعث مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی در بافت هایی از قبیل پانکراس، بافت آدیپوز، کبد، عضلات اسکلتی و دستگاه گردش خون می شود. از طرفی، کاهش عوامل التهابی ذکر شده به بهبود ترشح انسولین، حساسیت انسولینی و متعاقبا کارکرد ارگان ها منجر می شود (۴۰).

تشکیل کمپلکس اینفلامازوم NLRP3 سیتوزولیک(NLRP3، ASC و کاسپاز-۱) در دو مرحله انجام می شود: گام اول القاء نسخه برداری اجزای اینفلامازوم از قبیل MLRP3 ، Pro IL-1β و Pro IL-18 از طریق فعال سازی سیگنالینگ NFkB وساطت شده بوسیله TLRs است. در گام دوم ، الیگومریزاسیون هموتیپیک NLRP ها افزایش پیدا می کند و موجب شکل گیری اینفلامازوم فعال می شود که قابلیت تبدیل شکل های نابالغ IL-1β و IL-18 به شکل های بالغ آن را دارد(۴۱, ۴۲). مشخص نیست که اثرات مهاری تمرینات ورزشی بر فعال سازی اینفلامازوم NLRP3 در کدام یک از مراحل تشکیل این کمپلکس انجام می شود. نشان داده شده است تمرینات ورزشی از طریق کاهش فسفوریلاسیون IKKβ منجر به کاهش فعال سازی TLRs در بافت هایی از قبیل بافت چربی، بافت عضلانی و کبدی می شود (۴۳). بنابراین، پیشنهاد می شود تمرین مسیر اینفلامازوم NLRP3 را درگام اول مهار می کند (۲۴). همچنین گزارش شده است، تمرین گام اولیه فعال سازی اینفلامازوم NLRP3 در موش های چاق را از طریق کاهش استرس های شبکه آندوپلاسمی را مهار می کند (۹).

عواملی از قبیل هیپرگلیسمی، هیپوکسی، اسیدوز متابولیکی، تغییرات دمایی، عفونت های ویروسی، هموسیستئین، هیپرلیپیدمی، عدم تعادل ردوکس و عدم تعادل کلسیمی منجر به القاء استرس های شبکه آندوپلاسمی می شوند. استرس های شبکه سارکوپلاسمی از طریق مسیر های سیگنالینگ CHOP، IRE-NF-kB و IRE-TRF2-ASK1 منجر به القاء اثرات التهابی و آپوپتوزی می شود. نشان داده شده است که فعالیت های ورزشی از طریق تنظیم منفی بیان فاکتور های اخیر منجر به کاهش عوامل التهابی از قبیل اینفلامازوم NLRP3، IL-1β ، کاسپاز-۱، پروتئین های تعاملی تیورودوکسین، گونه های اکسیژنی فعال و دیگر عوامل القاء کننده التهاب می شود (۴۴).

پژوهش ها نشان داده اند ناک اوت ژن های مرتبط با اتوفاژی از قبیل Atg7 منجر به القاء مقاومت به انسولین گردید (۴۵). اتوفاژی یکی از مکانیسم های تنظیمی اینفلامازوم NLRP3 به حساب می آید. اتوفاژی از طریق مکانیسم های وابسته به تجزیه اینفلامازوم NLRP3 موجب تنظیم منفی اجزای اینفلامازوم و سایتوکین های التهابی می شود (۴۶). به نظر می رسد، کاهش

اتوفاژی با التهاب سیستمیک با سطوح پایین در ارتباط است. در حقیقت، کاهش اتوفاژی موجب افزایش فنوتیپ های پیش التهابی بافتی و فعال سازی اینفلامازوم NLRP3 می شود (۴۷, ۴۸). پژوهشات نشان دادند فعالیت های ورزشی هوازی موجب افزایش بیان شاخص های اتوفاژی در سلول های تک هسته ای خون محیطی۱ (PBMCS) می شود (۴۹, ۵۰). مجیاس پناه و همکاران(۲۰۱۷) نشان دادند ۸ هفته تمرینات مقاومتی منجر به کاهش شاخص های اتوفاژی در سالمندان شد. این محققین پیشنهاد کردند تمرینات ورزشی از طریق القاء اتوفاژی به کاهش اینفلامازوم NLRP3 و کاسپاز-۱ منجر می شوند (۲۱). علاوه بر این، محققین نشان دادند عملکرد و محتوای میتوکندریایی در بیماران مبتلا به دیابت نوع-۲ کاهش پیدا می کند (۵۱). گزارش شد تخریب میتوکندریایی یکی از علل فعال سازی اینفلامازوم NLRP3 است. میتوفاژی از طریق حذف میتوکندری های آسیب دیده موجب بهبود هموستاز سلول می شود و به جلوگیری از افزایش التهاب ناشی از فعال سازی اینفلامازوم NLRP3 منجر می شود (۵۲). مطالعات نشان دادند فعالیت های ورزشی موجب افزایش چگالی و بهبود عملکرد میتوکندریایی در افراد دیابتی می شود(۵۳, ۵۴). محققین گزارش کردند ۱۲ هفته تمرینات استقامتی به افزایش بیان پروتئین های تنظیمی مرتبط با میتوفاژی و بنابراین افزایش میتوفاژی می شود (۵۱).

مشخص شده است سرامیدها موجب فعال سازی اینفلامازوم NLRP3 و در ادامه افزایش ترشح IL-1β و در نهایت القاء مقاومت به انسولین می شوند (۱۲). سرامیدها از طریق دفسفوریلاسیون سرین ترئونین کیناز AKT/PKB منجر به القاء مقاومت به انسولین می شوند و از اینرو منجر به ناتوانی در جابه جایی انتقال دهنده های گلوکز به سطح غشاء سلول و کاهش جذب گلوکز می شوند (۵۵, ۵۶). مطالعات نشان دادند فعالیت های هوازی سطوح و همچنین فعالیت سرامیدی را در عضلات اسکلتی موش کاهش می دهد (۵۷). همچنین پژوهش های دیگر نشان دادند سطوح در گردش اسید های چرب غیر اشباع و گونه های سرامیدی به دنبال فعالیت های ورزشی کاهش پیدا می کند. قابل توجه است که هر دوی فعالیت های استقامتی و مقاومتی منجر به کاهش سطوح پلاسمایی سرامید ها القاء شده بر اثر رژیم های غذایی پرچرب شدند (۲۴). به طور قابل توجهی، کاوانیشی و همکاران(۲۰۱۰) نشان دادند که هم تمرینات استقامتی و هم قدرتی بر فاکتورهای التهابی اثر گذار هستند. تمرینات استقامتی منجر به کاهش معنی داری در بیان IL-1β و IL-18 شد، ولی تمرینات قدرتی منجر به کاهش بیان NLRP3 شد (۵۸). این محققین گزارش کردند که کاهش بیان IL-1β متعاقب تمرینات ورزشی می تواند به دلیل کاهش فعال سازی ماکروفاژها و لنفوسیت ها باشد (۵۹).

یافته های پژوهش بیانگر وجود تفاوت معنی دار در گلوکز و انسولین سرمی گروه های تحقیق است. در مقایسه با گروه دیابتی، هر سه نوع تمرین استقامتی در رت های موش های صحرایی مبتلا به دیابت باعث کاهش معنی دار سطوح گلوکز سرمی شد.

1. Peripheral blood mononuclear cells

در مقایسه با گروه دیابت، تفاوت معنی داری در شدت پایین مشاهده نشد، اما در گروه های تمرین با شدت متوسط و تمرین با شدت بالاکاهش معنی داری مشاهده شد.

شهاب و همکاران نشان دادند مقاومت به انسولین به طور معنی داری متعاقب ۱۲ هفته تمرینات استقامتی ومقامتی کاهش یافت (۶۰). اورقی و همکاران(۲۰۱۶) به این نتیجه رسیدند مقاومت به انسولین پس از ۸ هفته تمرینات اینتروال با شدت بالا در مردان چاق و دارای اضافه وزنکاهش یافت(۶۱). اوررحمان و همکاران(۲۰۱۶) هم در مطالعه ای بر روی افراد مبتلا به دیابت نوع-۲ به این نتیجه رسیدند که تمرینات هوازی منجر به کاهش معنی دار سطوح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین شد(۶۲). افشون پور و همکاران(۲۰۱۶)، نشان دادند ۸ هفته تمرینات ترکیبی موجب کاهش معنی داری در سطوح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین شد (۶۳).

به نظرمی رسد تمرین استقامتی توانسته از طریق مکانیسم های سلولی وابسته به فعالیت ورزشی باعث کاهش سطح گلوکز در گروه های تجربی شده باشد. فعالیت ورزشی باعث می شود GLUT-4 از جایگاه های ذخیره ای درون سلولی خود به جایگاه های غشاء پلاسمایی و مجاری عرضی سارکولمایی نقل مکان کند(۶۴-۶۷). انتقال گلوکز با سیگنال هایی تنظیم می شود که با دو گانه تحریک انقباض ارتباط دارند. مهم ترین این سیگنال ها افزایش Ca^{++} شبکه سارکوپلاسمی است. این احتمال وجود دارد که Ca^{++} رها شده در حین انقباض به طور مستقیم با پروتئین های SNARE که در انتقال وزیکول های GLUT-4 به سارکولما درگیرند وارد تعامل شوند. به علاوه، Ca^{++} از مسیر های پیام رسانی حساس به Ca^{++} از قبیل ایزوفرم سنتی پروتئین کیناز C(PKC) آلفا، بتا و گاما) و کیناز وابسته به Ca^{++} یا کالمودولین(CaMK) عمل می کنند. (۶۷). در مجموع به نظر می رسد این نتایج، فعال شدن پروتئین PKC در انتقال گلوکز عضلانی ناشی از تحریک انقلاضی را نشان می دهند. کیناز فعال شده با AMP(AMPK) تنظیم کننده احتمالی گلوکز برداشتی عضلانی هنگام فعالیت ورزشی محسوب می شود. AMPK بر اثر کاهش نسبت های ATP به AMP و PCr به Cr فعال می شود که شاخص های استرس سوخت و سازی در شرایط هیپوکسی و فعالیت ورزشی متوسط تا شدید در عضله اسکلتی محسوب می شوند. (۶۶, ۶۷)پروتئین کیناز های فعال شده بر اثر میتوژن(MAPK)(۶۶, ۶۷) و نیتریک اکساید(NO)(۶۴, ۶۶) محرک های بالقوه دیگری هستند که هنگام فعالیت ورزشی انتقال گلوکز در عضله اسکلتی را افزایش می دهند. انقباض عضلانی فعالیت مسیر MAPK را افزایش می دهد. (۶۶, ۶۷).

نتیجه گیری:

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد تمرینات استقامتی با شدت های متوسط و بالا باعث کاهش معنی داری در بیان پروتئین NLRP-3 شد، با وجود این، کاهش در گروه تمرینات استقامتی با شدت پایین در مقایسه با گروه دیابت معنی دار نبود.علاوه بر این، تمرینات استقامتی با شدت های مورد استفاده در این تحقیق، باعث بهبود پاسخ گلایسمیکی(گلوکز و انسولین) شد.بنابراین، با توجه به تاثیرمثبت تمرین استقامتی با شدت های بالاتر بر مکانیسم

های سلولی و متابولیکی دیابت ، به نظر می رسد اجرای این تمرینات می تواند به بهبود وضعیت التهابی و وضعیت متابولیکی در اینگونه افرد منجر گردد.

تشکر و قدردانی:
بدینوسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده اند تقدیر و تشکر می نمایم

منابع

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Research and Clinical Practice, 87:4-14.
2. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. (2011). IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes research and clinical practice, 94:311-21.
3. Guariguata L. (2012). By the numbers: new estimates from the IDF Diabetes Atlas Update for 2012. Diabetes research and clinical practice, 98:524-5.
4. Noroozi A, Tahmasebi R, Shaybani B. (2014). Relationship between personality trait and self-management in diabetic patients referred to Bushehr medical centers in 2012-13. ISMJ, 16:436-46.
5. Ahmadi A, Hasanzadeh J, Rahimi MM, Lashkari L. (2011). Effective factors in the quality of life in patients with type 2 diabetes in chaharmahal & bakhteyari province.
6. Wang CCL, Hess CN, Hiatt WR, Goldfine AB. (2016). Clinical Update: Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus. Circulation, 133:2459-502.
7. Shi L, Shu X-O ,Li H, Cai H, Liu Q, Zheng W, et al. (2013). Physical activity, smoking, and alcohol consumption in association with incidence of type 2 diabetes among middle-aged and elderly Chinese men. PloS one, 8:77919.
8. Donath MY, Shoelson SE. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. Nature Reviews Immunology, 11:98-107.
9. Goossens GH, Blaak EE, Theunissen R, Duijvestijn AM, Clément K, Tervaert J-WC, et al. (2012). Expression of NLRP3 inflammasome and T cell population markers in adipose tissue are associated with insulin resistance and impaired glucose metabolism in humans. Molecular immunology, 50:142-9.
10. Melo LC, Dativo-Medeiros J, Menezes-Silva CE, Barbosa FT, Sousa-Rodrigues CFd, Rabelo LA. (2017). Physical exercise on inflammatory markers in type 2 diabetes patients: a systematic review of randomized controlled trials. Oxidative Medicine And Cellular Longevity.
11. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. Nature Reviews Immunology.11:85-97.
12. Vandanmagsar B, Youm Y-H, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, et al. (2011). The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. Nature medicine, 17:179-88.
13. Koenen TB, Stienstra R, Van Tits LJ ,De Graaf J, Stalenhoef AF, Joosten LA, et al. Hyperglycemia activates caspase-1 and TXNIP-mediated IL-1β transcription in human adipose tissue. Diabetes. 2011;60(2):517-24.

14. Zhang X, Dai J, Li L, Chen H, Chai Y. (2017). NLRP3 Inflammasome Expression and Signaling in Human Diabetic Wounds and in High Glucose Induced Macrophages. Journal of diabetes research.
15. Rheinheimer J, de Souza BM, Cardoso NS, Bauer AC, Crispim D.(2017). Current role of the NLRP3 inflammasome on obesity and insulin resistance: a systematic review. Metabolism.
16. Shao B-Z, Xu Z-Q, Han B-Z, Su D-F, Liu C. (2015). NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review. Frontiers in pharmacology. 6.
17. Davis BK, Wen H, Ting JP-Y. (2011) The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. Annual review of immunology, 29:707-35.
18. De Nardo D, Latz E. (2011). NLRP3 inflammasomes link inflammation and metabolic disease. Trends in immunology.32:373-9.
19. Dixit VD. (2013). Nlrp3 inflammasome activation in type 2 diabetes: is it clinically relevant? Diabetes, 62:22-4.
20. Mardare C, Krüger K, Liebisch G, Seimetz M, Couturier A, Ringseis R, et al. (2015). Endurance and resistance training affect high fat diet-induced increase of ceramides, inflammasome expression, and systemic inflammation in mice. Journal of diabetes research.
21. Mejías-Peña Y, Estébanez B, Rodriguez-Miguelez P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M, de Paz JA, et al. (2017). Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects. Aging (Albany NY), 9(2):408.
22. de Paula Martins R, Lim CK, Ghisoni K, Staats A, Dallagnol K, Solano A, et al. (2016). Treating depression with exercise: The inflammasome inhibition perspective.
23. Wang Y, Xu Y, Sheng H, Ni X, Lu J. (2016). Exercise amelioration of depression-like behavior in OVX mice is associated with suppression of NLRP3 inflammasome activation in hippocampus. Behavioural brain research, 307:18-24.
24. Ringseis R, Eder K, Mooren FC, Krüger K. (2015). Metabolic signals and innate immune activation in obesity and exercise. Exercise immunology review, 21.
25. Chen L, Pei J-H, Kuang J, Chen H-M, Chen Z, Li Z-W, et al. (2015). Effect of lifestyle intervention in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. Metabolism, 64(2):338-47.
26. Schwingshackl L, Missbach B, Dias S, König J, Hoffmann G. (2014). Impact of different training modalities on glycaemic control and blood lipids in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. Springer.
27. Jelleyman C ,Yates T, O'Donovan G, Gray LJ, King JA, Khunti K, et al. (2015). The effects of high-intensity interval training on glucose regulation and insulin resistance: a meta-analysis. Obesity reviews, 16(11):942-61.
28. Aamot IL, Karlsen T, Dalen H, Støylen A. (2016). Long-term Exercise Adherence After High-intensity Interval Training in Cardiac Rehabilitation: A Randomized Study. Physiotherapy Research International, 21:54-64.
29. El-Kader SA, Gari A, El-Den AS. (2013). Impact of moderate versus mild aerobic exercise training on inflammatory cytokines in obese type 2 diabetic patients: a randomized clinical trial. African health sciences, 13:857-63.
30. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. (2010). Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the

metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 20(8):608-17.
31. Kim JS, Lee YH, Kim JC, Ko YH, Yoon CS, Yi HK.(2014). Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced diabetic rats. Biology of sport, 31:73.
32. Tenório TR, Balagopal PB, Andersen LB, Ritti-Dias RM, Hill JO, Lofrano-Prado MC, et al. (2017). Effect of Low vs. High Intensity Exercise Training on Biomarkers of Inflammation and Endothelial Dysfunction in Adolescents With Obesity: A 6-Month Randomized Exercise Intervention Study. Pediatric Exercise Science, 1-26.
33. Marinho R, Moura LPd, Rodrigues BdA, Pauli LSS, Silva ASRd, Ropelle ECC, et al. (2014). Effects of different intensities of physical exercise on insulin sensitivity and protein kinase B/Akt activity in skeletal muscle of obese mice. Einstein (São Paulo), 12(1):82-9.
34. Da Silva A, Pauli JR, Ropelle ER, Oliveira AG, Cintra DE, De Souza CT, et al. (2010). Exercise intensity, inflammatory signaling, and insulin resistance in obese rats. Medicine and science in sports and exercise, 42(12):2180-8.
35. Kim D-H, Kim S-H, Kim W-H, Moon C-R. (2013). The effects of treadmill exercise on expression of UCP-2 of brown adipose tissue and TNF-α of soleus muscle in obese Zucker rats. Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry, 17(4):199.
36. Pushparaj P, Low H, Manikandan J, Tan B, Tan C. (2007). Anti-diabetic effects of Cichorium intybus in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 111(2):430-4.
37. Freigang S, Ampenberger F, Weiss A, Kanneganti T-D, Iwakura Y, Hersberger M, et al. (2013). Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling elicits inflammasome-independent IL-1 [alpha] and sterile vascular inflammation in atherosclerosis. Nature immunology, 14(10):1045-53.
38. Stienstra R, van Diepen JA, Tack CJ, Zaki MH, van de Veerdonk FL, Perera D, et al. (2011). Inflammasome is a central player in the induction of obesity and insulin resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108:15324-9.
39. Stienstra R, Tack CJ, Kanneganti T-D, Joosten LA, Netea MG. (2012). The inflammasome puts obesity in the danger zone. Cell metabolism, 15:8-10.
40. Grant RW, Dixit VD. (2013). Mechanisms of disease: inflammasome activation and the development of type 2 diabetes. Frontiers in immunology, 4.
41. He Y, Franchi L, Núñez G. (2013). TLR agonists stimulate Nlrp3-dependent IL-1β production independently of the purinergic P2X7 receptor in dendritic cells and in vivo. The Journal of Immunology, 190(1):334-9.
42. Snodgrass RG, Huang S, Choi I-W, Rutledge JC, Hwang DH. (2013). Inflammasome-mediated secretion of IL-1β in human monocytes through TLR2 activation; modulation by dietary fatty acids. The Journal of Immunology, 191(8):4337-47.
43. Oliveira AG, Carvalho BM, Tobar N, Ropelle ER, Pauli JR, Bagarolli RA, et al. (2011). Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. Diabetes, 60(3):784-96.
44. Hong J, Kim K, Kim J-H, Park Y. (2017). The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Cardiovascular Disease and Exercise. International Journal of Vascular Medicine.

45. Fujitani Y, Kawamori R, Watada H. (2009). The role of autophagy in pancreatic β-cell and diabetes. Autophagy, 5(2):280-2.
46. .Chen R-J, Lee Y-H, Yeh Y-L, Wang Y-J, Wang Jr B. (2016). The Roles of Autophagy and the Inflammasome during Environmental Stress-Triggered Skin Inflammation. International journal of molecular sciences, 17(12):2063.
47. .Xia S, Zhang X, Zheng S, Khanabdali R, Kalionis B, Wu J, et al. (2016). An update on inflamm-aging: mechanisms, prevention, and treatment. Journal of immunology research.
48. .Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. (2013). Beclin 1 interactome controls the crosstalk between apoptosis, autophagy and inflammasome activation: impact on the aging process. Ageing research reviews, 12(2):520-34.
49. Vainshtein A, Grumati P, Sandri M, Bonaldo P. (2014). Skeletal muscle, autophagy, and physical activity: the ménage à trois of metabolic regulation in health and disease. Journal of molecular medicine, 92(2):127-37.
50. .Mejías-Peña Y, Rodriguez-Miguelez P, Fernandez-Gonzalo R, Martínez-Flórez S, Almar M, de Paz JA, et al. (2016). Effects of aerobic training on markers of autophagy in the elderly. Age, 38(2):33.
51. Brinkmann C, Przyklenk A, Metten A, Schiffer T, Bloch W, Brixius K, et al. (2017). Influence of endurance training on skeletal muscle mitophagy regulatory proteins in type 2 diabetic men. Endocrine Research., 1-6.
52. .Kim M-J, Yoon J-H, Ryu J-H. (2016). Mitophagy: a balance regulator of NLRP3 inflammasome activation. BMB reports, 49(10):529.
53. .Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. (2011). Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. Journal of applied physiology, 111(6):1554-60.
54. .Phielix E, Meex R, Moonen-Kornips E, Hesselink M, Schrauwen P. (2010). Exercise training increases mitochondrial content and ex vivo mitochondrial function similarly in patients with type 2 diabetes and in control individuals. Diabetologia, 53(8):1714-21.
55. .Dube J, Amati F, Toledo F, Stefanovic-Racic M, Rossi A, Coen P, et al. (2011). Effects of weight loss and exercise on insulin resistance, and intramyocellular triacylglycerol, diacylglycerol and ceramide. Diabetologia, 54(5):1147-56.
56. .Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. (2006). Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. Nature reviews Molecular cell biology, 7(2):85-96.
57. Błachnio-Zabielska A, Zabielski P, Baranowski M, Gorski J. (2011). Aerobic training in rats increases skeletal muscle sphingomyelinase and serine palmitoyltransferase activity, while decreasing ceramidase activity. Lipids, 46(3):229-38.
58. .Kawanishi N, Yano H, Yokogawa Y, Suzuki K. (2010). Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. Exercise immunology review, 16.
59. .Mardare C, Krüger K, Liebisch G, Seimetz M, Couturier A, Ringseis R, et al. (2016). Endurance and resistance training affect high fat diet-induced increase of

ceramides, inflammasome expression, and systemic inflammation in mice. Journal of diabetes research.
60. .El-Kader SMA, Al-Shreef FM. (). Biomarkers of endothelial function and insulin resistance response to aerobic exercise versus resisted exercises in obese type 2 diabetic patients.
61. .Ouerghi N, Fradj MKB, Bezrati I, Feki M, Kaabachi N, Bouassida A. (2017). Effect of High-Intensity Interval Training on Plasma Omentin-1 Concentration in Overweight/Obese and Normal-Weight Youth. Obesity Facts, 10(4):323-31.
62. Shakil-ur-Rehman S, Karimi H, Gillani SA. (2017). Effects of supervised structured aerobic exercise training program on fasting blood glucose level, plasma insulin level, glycemic control, and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. Pakistan journal of medical sciences, 33(3):576.
63. .Afshounpour MT, Habibi A, Ranjbar R. (2016). Impact of combined exercise training on plasma concentration of Apelin, resistin and insulin resistance in patients with type 2 diabetics' male. Bimonthly Journal of Hormozgan University of Medical Sciences, 20(3):158-69.
64. .Pereira RM, Moura LPd, Muñoz VR, Silva ASRd, Gaspar RS, Ropelle ER, et al. (2017). Molecular mechanisms of glucose uptake in skeletal muscle at rest and in response to exercise. Motriz: Revista de Educação Física, 23.
65. .Sylow L, Kleinert M, Richter EA, Jensen TE. (2017). Exercise-stimulated glucose uptake [mdash] regulation and implications for glycaemic control. Nature Reviews Endocrinology, 3:133-148.
66. .Merry TL, McConell GK. (2009). Skeletal muscle glucose uptake during exercise: a focus on reactive oxygen species and nitric oxide signaling. IUBMB life, 61(5):479-84.
67. .Richter EA, Hargreaves M. (2013). Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. Physiological reviews, 93(3):993-101.

Metabolism and Exercise
A bioannual journal

Vol 7, Number 1, 2017

University Of Guilan

The effect of different intensities of endurance training on NLRP-3 Inflammasome protein expression in visceral adipose tissue, serum glucose levels and insulin in Streptozotocin-induced diabetic rats

Abbasi A[1], Faramarzi M[*2], Ghatreh Samani M[3] , Bbanitalebi E[4]

Received: 10/10/2017 Accepted: 13/1/2018

Abstract

Aim: NLRP-3 Inflammasome is considered an indicator of chronic diseases such as obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM) which can result in secretion of IL-1β from adipose tissue. Despite numerous investigations on the underlying activation mechanisms of NLRP-3 in pathogenesis of T2DM, less attention has been paid to the impact of exercise on NLRP-3.

Method: Male stereptpzosin-induces diabetic rats (n=40) were randomly assigned to five groups (n=8): diabetic+ low intensity endurance training (DL), diabetic+ moderate intensity endurance training (DM), diabetic+ high intensity endurance training (DH), non-diabetic with no training(CON), and diabetic with no training(D). Eight weeks of running (four sessions per week) with different intensities were completed. Western blotting method was used to measure NLRP3. ELISA technique was used to assess serum levels of insulin and glucose.

Results: Results showed that expression of NLRP-3 protein were significantly lower in endurance DM ($P<0.05$) and endurance DH ($P<0.05$) groups against DL group. Caspase-1 expression was significantly lower in DL ($P=0.001$), DM ($P<0.05$), and DH ($P<0.05$) compared with D group. However, no significant different was found between the training groups. Serum insulin level was significantly lower in endurance DH group compared with endurance DL group ($P<0.05$).In comparison with D group, significant reduction of serum glucose was observed in endurance DL group ($P<0.05$), endurance DM ($P<0.05$), and endurance DH ($P<0.05$).

Conclusion: It appears that training with high and moderate intensities induced positive modulation in NLRP-3 expression as well as improved glycemic factors levels.

Keywords: Training intensity, Type 2 diabetes, Insulin resistance

1. PhD student in Exercise Physiology, 2. Associate Professor, Shahrekord University, 3. Assistant professor, Shahrekord University of Medical Science, 4. Assistant professor, Shahrekord University

*Email: md.faramarzi@gmail.com