فیزیولوژی ورزشی دوره۱۱، شماره ۴۳، پاییز ۱۳۹۸. صص ۵۴-۳۹

مقاله پژوهشی

تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن ATF3 و TLR4 عضلهٔ قلبی رت‌های دیابتی نر

شهاب‌الدین سفال‌منش[۱]، ندا خالدی[۲]، حسین عسکری[۳]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه خوارزمی
۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه خوارزمی (نویسنده مسئول)
۳. استادیار علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۳

چکیده

در بیماران دیابتی، آسیب عضلهٔ قلب باعث توسعهٔ حجیم‌شدن عضلانی بطن چپ و افزایش حساسیت‌پذیری قلب به آسیب نرسیدن اکسیژن می‌شود. درپی بروز التهاب‌های ناشی از دیابت، گیرندهٔ شبه‌تول چهار فعال می‌شود. عوامل محافظتی در پاسخ به این‌گونه التهاب‌ها توسط قلب فعال می‌شوند که عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه ازجملهٔ آن‌ها است. فعالیت‌های ورزشی با کاهش عوامل التهابی، اثرهای آسیب عضلهٔ قلب دیابتی را کاهش می‌دهند. هدف از انجام این پژوهش، تعیین اثر تمرین تناوبی شدید بربیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول چهار و عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سهٔ عضله قلبی رت‌های دیابتی نر بود. تعداد ۴۸ سر رت شش‌هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۵۰ گرم، به‌صورت تصادفی به چهار گروه ۱۲ تایی گروه کنترل ،گروه دیابت، گروه دیابت- تمرین تناوبی شدید و گروه تمرین تناوبی شدید تقسیم شدند. شش هفته تمرین تناوبی شدید شامل ۱۰ تکرار یک‌دقیقه‌ای دویدن روی نوار گردان با دو دقیقه استراحت بین نوبت‌ها، سه روز در هفته انجام شدند. بیان ژن با تکنیک Real-Time PCR و محاسبهٔ تغییرات با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های فیشر و مانوا درسطح معناداری $P \leq 0.01$ تجزیه‌وتحلیل شدند. یافته‌ها افزایش معنادار بیان ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه و کاهش معنادار گیرندهٔ شبه‌تول چهار را نشان داد؛ درنتیجه، تمرین تناوبی شدید ازطریق فعال‌کردن مسیر و سازوکارهای سلولی و مولکولی، موجب کاهش اثرهای منفی ناشی از بیماری آسیب عضلهٔ قلب دیابتی می‌شود.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی شدید، عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه، بافت قلب، دیابت، گیرندهٔ شبه‌تول چهار.

1. Email: sofalmanesh@gmail.com
2. Email: n.khaledi@khu.ac.ir
3. Email: askarihossein@yahoo.com

مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سوخت‌وساز[1] شناخته‌شده در جهان و علت اصلی مرگ‌ومیر در بسیاری از کشورها است که هرساله تعداد زیادی از افراد را درگیر می‌کند. ازبین دو نوع مختلف این بیماری (دیابت نوع یک و نوع دو)، دیابت نوع دو شیوع بیشتری دارد و شامل بیش از ۹۰ درصد از موارد می‌شود. دیابت نوع دو می‌تواند آثار مخرب زیادی بر دستگاه قلبی و عروقی افراد مبتلا داشته باشد و قلب را در شرایط افزایش فشار[2] قرار دهد. اثرهای دیابت بر دستگاه قلبی و عروقی و مشکلات ایجادشدهٔ ناشی از آن در قلب، «بیماری آسیب عضلهٔ قلب دیابتی[3]» نامیده می‌شود. تغییرات سوخت‌وساز که دیابت در عضلهٔ قلبی ایجاد می‌کند، باعث آسیب و کاهش انقباض‌پذیری بافت قلب، تغییرات ساختاری و عملکردی قلب، ایجاد التهاب در الیاف عضلانی قلب[4] و در موارد شدید، سکتهٔ قلبی و مرگ می‌شود (۲, ۱). مقاومت انسولینی ایجادشده در بدن درنتیجهٔ دیابت، موجب افزایش غلظت اسیدهای چرب آزاد در خون، دریافت و استفادهٔ بیش‌ازحد از اسیدچرب توسط سلول‌های قلبی می‌شود. در این شرایط، آثار مخرب غلظت زیاد و اکسایش بیش‌ازحد اسید چرب نظیر افزایش بنیان‌های آزاد (که موجب آسیب دئوکسی ریبونوکلئیک اسید[5] و اختلال عملکرد میتوکندری‌ها می‌شود)، افزایش سایتوکاین‌های[6] التهابی در گردش (اینترلوکین ۶ و ۱۸، اینترلوکین یک بتا و عامل رشد دگرگون‌ساز آلفا)، افزایش فعالیت کاسپازها[7] و فعال‌شدن مسیرهای مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلول[8] در سلول‌های قلبی نمایان می‌شوند. قلب نیز در پاسخ به این شرایط، مکانسیم‌ها، مسیرهای سیگنالی و عوامل رونویسی فراوانی را فعال می‌کند. یکی از این عوامل، عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه[9] است (۴, ۳). عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه، عضوی از سوپرخانوادهٔ بی‌زیپ‌ها[10] است که در شرایط افزایش فشار و در پاسخ به اختلالات متابولیک، به‌سرعت بیان آن افزایش می‌یابد. این عامل باعث حفاظت قلب دربرابر اختلالات عملکردی، فشارهای اکسایشی و متابولیک و همچنین، التهاب ایجادشده توسط دیابت می‌شود. در مطالعه‌ای روی رت‌های دیابتی‌شده با رژیم غذایی پرچرب، کاهش بیان عامل

1. Metabolic
2. Stress
3. Diabetic Cardiomyopathy
4. Myocyte
5. DNA (Deoxyribonucleic Acid)
6. Cytokine
7. Caspas
8. Apoptosis
9. Activated Transcription Factor-3
10. Basic Leucine Zipper

رونویسی فعال‌شدهٔ سه موجب توسعهٔ حجیم‌شدن عضلانی[۱]، فیبروز[۲]، اختلال عملکرد قلب و کاهش طول عمر رت‌ها دربرابر سکتهٔ قلبی شد (۷-۵). از دیگر عواملی که موجب کاهش اثرهای منفی دیابت بر دستگاه قلبی و عروقی می‌شوند، فعالیت بدنی است. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که ایجاد تغییرات در سبک زندگی مانند ترک سیگار، تغذیهٔ مناسب و ورزش منظم می‌توانند موجب کاهش اثرهای آسیب عضلهٔ قلب دیابتی و کاهش مرگ ناگهانی ناشی از مشکلات قلبی شود. فعالیت بدنی موجب تغییر سوبسترای[۳،۴] مصرفی از اسید چرب به گلوکز، گلیکوژن عضله، چربی و به مقدار کمتر، اسیدهای آمینه می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که افزایش نشانگرهای زیست‌زایی[۵] میتوکندری در سلول‌های قلب ازجمله رگ‌زایی[۶]، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین نشانگرها با تمرین تناوبی شدید[۷] تنظیم مثبت می‌شود که این سازوکار احتمالی برای افزایش استفاده از اکسیژن روی می‌دهد؛ حال‌آنکه باید اکسیژن دردسترس باشد تا بتوان شاهد عملکرد مثبت در این فرایند بود. این امر می‌تواند بهبود ارتباط بین زیست‌زایی میتوکندریایی و رگ‌زایی را نشان دهد که بر کنترل آسیب عضلهٔ قلب اثرگذار است. ازسوی‌دیگر، کاهش عوامل التهابی، مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلول و افزایش ظرفیت ضداکسایشی، به‌طورکلی موجب کاهش اثرهای آسیب عضلهٔ قلب دیابتی می‌شوند (۹, ۸). سازوکارهای مولکولی مختلفی در ارتباط با دیابت و التهاب عضلهٔ قلب وجود دارند؛ برای مثال، بافت چربی احشایی افراد مبتلابه بیماری سندروم متابولیک و دیابت نوع دو، سایتوکاین‌ها و کموکاین‌هایی[۸] را ترشح می‌کند که به توسعهٔ وضعیت التهابی سیستمی درجهٔ کم منجر می‌شود و پیام‌رسان مسیر التهابی عامل هسته‌ای تقویت‌کنندهٔ زنجیرهٔ سبک کاپا از لنفوسیت‌هایِ بیِ فعال‌شده (NFkB)[۹] را فعال می‌کند که درنتیجهٔ آن، گیرنده‌های شبه‌تول چهار[۱۰] فعال می‌شوند. سایتوکاین‌های در گردش در بدترشدن مقاومت انسولینی نقش دارند و آثار مضری بر قلب می‌گذارند که باعث التهاب عضلهٔ قلب می‌شوند (۱۰). گیرندهٔ شبه‌تول چهار، مسئول آغاز پاسخ ایمنی ذاتی است. این گیرنده توسط لیپوپلی ساکارید

1. Hypertrophy
2. Fibrosis
3. Substrate
4. Substrate
5. Biogenesis
6. Angiogenesis
7. High Intensity Interval Training (HIIT)
8. Chemokine
9. Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells
10. Toll Like Reseptor-4

باکتریایی[1] فعال می‌شود و ازاین‌رو، به‌عنوان گیرندۀ لیپو پلی‌ساکارید شناخته شده است (۱۲, ۱۱). این گیرنده الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن‌ها[2]را شناسایی می‌کند و نقشی حیاتی در اختلال عضلۀ قلب و حجیم‌شدن عضلانی قلبی ناشی از اضافه‌بار فشاری ایفا می‌کند (۱۳). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که سطح بیان ژن گیرندۀ شبه‌تول چهار در بیماری‌های نارسایی قلبی و دیابت با افزایش مسیرهای التهابی وابسته به این گیرنده توسط اسیدهای چرب آزاد، عامل تولید گونه‌های واکنش اکسیژن است که به‌نوبۀخود موجب القای فشار کینازها می‌شود (۱۴، ۱۳). در افراد دیابتی، بیان ژن عامل تومور نکروزی آلفا و پروتئین آن در بافت چربی افزایش می‌یابد و باعث افزایش سطوح اسیدهای چرب آزاد می‌شود (۱۴). این اسیدهای چرب آزاد نیز ازطریق تحریک مسیر TLRs/NFkB در فرایند التهاب قلب دیابتی و ایجاد آسیب عضلۀ قلب شرکت می‌کنند. درمورد گیرندۀ شبه‌تول چهار، رت‌هایی که نقص در این گیرنده داشتند، به‌طور قابل‌توجهی از دخالت انتشار دستگاه لیپید در پیام‌رسان انسولین در عضلۀ اسکلتی و کاهش جذب گلوکز ناشی از انسولین، محافظت شده بودند (۱۵) و کاهش سطوح سایتوکاین‌های التهابی مانند عامل تومور نکروزی آلفا و اینترلوکین ۶ را نشان دادند (۱۶). این داده‌ها بیان می‌کنند که این گیرنده نقش مولکول رابط بین لیپید خارج سلولی، التهاب و مقاومت انسولین را ایفا می‌کند. در عضلۀ اسکلتی افراد چاق و مبتلابه دیابت نوع دو، بیان گیرندۀ شبه‌تول چهار افزایش می‌یابد و مسیرهای پیام‌رسان مشتق‌شده از آن مانند IkB/NFkB بسیار فعال است (۱۷). این نتایج نشان می‌دهد که تنظیم کاهشی بیان گیرنده‌های شبه‌تول می‌تواند راهکاری مؤثر در محدودکردن نتایج مضر سطوح بالا در گردش اسیدهای چرب آزاد اشباع‌نشده در دیابت باشد. فعالیت ورزشی منظم به‌عنوان روشی محافظتی و درمانی مناسب و مفید برای بیماری‌های مزمن در ارتباط با التهاب درجۀ کم بیان شده است. به‌علاوه، تمرین، آغازگر سازگاری مهم در دستگاه التهابی است که به نوع و مدت تمرین بستگی دارد (۱۸). در تعامل با سی‌دی ۱۴[3] گیرندۀ شبه‌تول چهار فرایندهای متعددی را در آبشار التهابی تنظیم می‌کند و مسیرهای پیام‌رسان متفاوتی را فعال می‌کند. ازجمله عواملی که تااندازه‌ای توسط مسیرهای پیام‌رسان گیرندۀ شبه‌تول چهار کنترل می‌شوند، می‌توان به NF κB، فعال‌کنندۀ پروتئین یک و IRF3[4] اشاره کرد (۲۰, ۱۹).

با توجه به ویژگی محافظتی عامل رونویسی فعال‌شدۀ سه و التهابی‌بودن گیرندۀ شبه‌تول چهار و نیز تأثیرات مثبت بیان‌شدۀ ناشی از فعالیت ورزشی بر مقادیر گیرندۀ شبه‌تول چهار و ارتباط با عامل

1. Lipopolysaccharides (Lps)
2. Pathogen
3. CD14
4. Interferon Regulatory Factor 3

رونویسی فعال‌شدهٔ سه، ضرورت مطالعهٔ تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید بر مقادیر گیرندهٔ شبه‌تول چهار و عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه در رت‌های نر دیابتی احساس می‌شود.

روش پژوهش

آزمودنی های پژوهش شامل تعداد ۴۸ سر رت نر شش‌هفته‌ای با وزن ۱۶۰-۱۴۰ گرم خریداری شده از مرکز پاستور ایران،بود. رت‌ها به چهار گروه ۱۲ تایی شامل گروه یک: کنترل(C)، گروه دو: رت‌های دیابتی(D)، گروه سه: دیابتی- تمرین تناوبی شدید (DIT) و گروه چهار: تمرین تناوبی شدید(HIT) تقسیم شدند. همهٔ رت‌ها از شرایط محیطی (درجهٔ هوا ۲۵-۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی (۵۵ تا ۶۰ درصد) و چرخهٔ شبانه‌روزی ۱۲- ۱۲ (ساعت روشنایی و تاریکی) یکسان، برخوردار بودند. رت‌های گروه دیابتی برای اعمال چاقی به‌مدت چهار هفته تحت رژیم غذایی پرچرب که شامل ۲۲ درصد چربی، ۴۸ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین بود، قرار گرفتند؛ بدین‌ترتیب، بعد از دو هفته رت‌هایی با اضافه وزن (چاق) داشتیم. برای ایجاد دیابت در هر دو گروه، از استرپتوزوتوسین به‌صورت تک‌دوز و به میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به روش تزریق داخل صفاقی استفاده شد. ۴۸ ساعت بعد از تزریق، برای اطمینان از ایجاد دیابت در رت‌ها، قطره‌های خون از ورید دمی گرفته شدند و میزان قندخون با دستگاه گلوکومتر تعیین شد. قندخون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، به‌عنوان شاخص دیابتی‌شدن درنظر گرفته شد.

در پژوهش حاضر برای کار با رت‌های آزمایشگاهی، از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا استفاده شد. در تمامی مراحل کار، پژوهشگر همواره این موارد را مدنظر داشت. شایان ذکر است که این طرح در کمیتهٔ اخلاق پژوهشگاه تربیت‌بدنی به شمارهٔ IR.SSRI.REC.1397.305 ثبت شده است.

پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل آشناسازی رت‌ها با نوار گردان بود که به‌مدت سه روز طول کشید. برنامهٔ انجام‌شده برای گروه دیابت- تناوبی شدید در هر روز بدین‌صورت بود: روز اول، چهار نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۱۲ تا ۱۸ متر در دقیقه و شیب صفر درجه که بین هر نوبت دو دقیقه زمان برای استراحت بود؛ روز دوم، هفت نوبت یک‌دقیقه‌ای با سرعت ۱۲ تا ۱۸ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه؛ روز سوم، هشت نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۱۲ تا ۱۸ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه. برنامهٔ انجام‌شده برای گروه تناوبی شدید نیز به‌همین‌صورت انجام شد؛ با این تفاوت که این گروه در روز اول، شش نوبت، روز دوم هفت نوبت و روز سوم هشت نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت را انجام

دادند. پژوهشگر، رت‌هایی را که به هر دلیلی از دویدن امتناع می‌کردند، جایگزین می‌کرد. برای تحریک رت‌ها به دویدن روی نوار گردان، از شوک الکتریکی تعبیه‌شده روی دستگاه استفاده شد. برای گرم‌کردن، رت‌ها به‌مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه روی نوار گردان دویدند و سپس، وارد برنامهٔ تمرینی اصلی شدند. برنامهٔ اصلی شش‌هفته‌ای تمرین (هر هفته سه روز) بدین‌صورت انجام گرفت: هفتهٔ اول، ۱۰ نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۱۸ تا ۲۰ متر بر دقیقه (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و شیب دو درجه که بین هر نوبت دو دقیقه استراحت بود؛ هفتهٔ دوم، ۱۰ نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۲۲ تا ۲۴ متر بر دقیقه (۶۵ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و شیب چهار درجه؛ هفتهٔ سوم، ۱۰ نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۲۴ تا ۲۶ متر بر دقیقه (۷۵ تا ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و شیب شش درجه؛ هفتهٔ چهارم، ۱۰ نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۲۶ تا ۲۷ متر بر دقیقه (۸۵ تا۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و شیب هشت درجه؛ هفته پنجم، ۱۰ نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۲۷ تا ۲۹ متر بر دقیقه (۹۰ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و شیب ۱۰ درجه؛ هفتهٔ ششم، ۱۰ نوبت یک‌دقیقه‌ای فعالیت با سرعت ۲۹ تا ۳۱ متر بر دقیقه (۱۰۰ تا ۱۱۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و شیب ۱۰ درجه (۲۱). (جدول شمارهٔ یک).

جدول ۱- برنامهٔ تمرین تناوبی شدید

هفته	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)	استراحت (دقیقه)	نوبت	جلسه (در هفته)	شیب	شدت (درصدی از حداکثر اکسیژن مصرفی)
۱	۲۰-۱۸	۱	۲	۱۰	۳	۲	۶۰-۵۰٪
۲	۲۴-۲۲	۱	۲	۱۰	۳	۴	۷۵-۶۵٪
۳	۲۶-۲۴	۱	۲	۱۰	۳	۶	۸۵-۷۵٪
۴	۲۷-۲۶	۱	۲	۱۰	۳	۸	۹۰-۸۵٪
۵	۲۹-۲۷	۱	۲	۱۰	۳	۱۰	۱۰۰-۹۰٪
۶	۳۱-۲۹	۱	۲	۱۰	۳	۱۰	۱۱۰-۱۰۰٪

نمونه گیری ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، ابتدا رت‌های گروه تمرین تناوبی شدید انجام شد و ۲۴ ساعت بعد از آن، رت‌های گروه کنترل، گروه دیابت و گروه دیابت- تمرین تناوبی شدید نمونه‌گیری شدند. ابتدا، به رت‌ها به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدنشان، ۱/۰ میلی‌گرم از مخلوط کتامین- زایلوزین (۱۰ میلی‌گرم کتامین + ۱/۵ میلی‌گرم زایلوزین) تزریق شد تا بی‌هوش شوند. سپس، با

بازکردن قفسهٔ سینه و شکم، برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، به‌سرعت خون‌گیری با یک سرنگ از داخل قلب انجام شد و قلب آنان جدا شد تا معدوم شوند.

مراحل سنجش میزان بیان ژن اسید ریبونوکلئیک کل با استفاده از کیت ترایزول[1] ساخت کشور آلمان استخراج شد. نمونه‌های ذخیره‌شده در فریزر منفی ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد در هاون سرد ریخته شدند و به کمک نیتروژن مایع کوبیده شدند تا به حالت پودری درآمدند. در مرحلهٔ بعد، به ویال‌های حاوی پودر نمونه‌های موردبررسی، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول کیت ترایزول اضافه شد. سپس، ویال‌ها ۳۰ ثانیه با استفاده از دستگاه ورتکس و ۳۰ ثانیه با دستگاه هموژنایز، با ۲۵۰۰ دور در دقیقه یکنواخت شدند. نمونه‌های استخراج‌شده، برای استفادهٔ بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه قرار داده شدند.

برای تعیین کمی و کیفی مقدار اسید ریبونوکلئیک استخراج‌شده از دو روش UV اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد. اسید ریبونوکلئیک استخراج‌شده با استفاده از دستگاه NanoDrop 2000 UV-Vis Spectrophotometer شرکت Thermo Scientific ساخت کشور آمریکا غلظت‌سنجی شد.

قبل از ساخت cDNA، برای حذف آلودگی احتمالی اسید ریبونوکلئیک با دئوکسی‌ریبونوکلئیک اسید ژنومی، اسید ریبونوکلئیک استخراج‌شده، توسط آنزیم DNase1 شرکت فرمنتاز ساخت کشور آمریکا تیمار شد. براساس برنامهٔ شرکت، مواد، مقادیر و زمان هرکدام از مراحل در جدول شمارهٔ دو آمده‌اند.

جدول ۲- برنامهٔ حذف آلودگی ژنومی از RNA کل توسط آنزیم DNase1

مقدار (حجم کل ۱۱ میکرولیتر)	به‌ازای
RNA (اسید ریبونوکلئیک)	یک میکروگرم
10X reaction buffer with $MgCL_2$	یک میکرولیتر
DNase1	یک میکرولیتر
Diethyl Pyro carbonate (DEPC) in Water	To 10 µl
به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد (دمای موردنیاز برای فعالیت آنزیم DNase1)	
EDTA 50 Mm	یک میکرولیتر
به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد (دمای بالا برای غیرفعال‌کردن آنزیم)	

برای تأیید خردنشدن اسید ریبونوکلئیک پس از تیمار با DNase1، مقدار ۴۰۰ نانوگرم از اسید ریبونوکلئیک‌های تیمارداده‌شده با آنزیم، روی ژل آگارز دو درصد جداسازی شد. همچنین، برای

1. Trisol

کمیت‌سنجی با روش UV اسپکتروفتومتری، نمونه‌ها توسط دستگاه Epoch micro-volume Spectrophotometer System شرکت بایوتک آمریکا و همچنین، اسپکتروفتومتر نانودراپ طیف‌سنجی شدند.

برای ساخت cDNA، برای هر دو ژن موردنظر یکسان‌سازی شد و نمونه‌ها براساس کم‌غلظت‌ترین RNA ها رقیق‌سازی شدند؛ به‌طوری‌که مقدار نهایی RNA در واکنش تقریباً ۸۸۰ نانوگرم بود. ساخت cDNA تک‌رشته‌ای، با استفاده از کیتFirst Strand cDNA Synthesis (ساخت شرکت MXcell) بود و بدین‌شرح انجام شد:الف- مخلوط‌کردن RNA (۸۸۰ نانوگرم) با یک میکرولیتر آغازگر Oilgo (dT) (مخلوط A) و حرارت‌دادن به‌مدت پنج دقیقه در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد. ب-افزودن بافر واکنش (حاوی ۱۰ میلی‌مولار مخلوط dNTP) چهار مایکرولیتر، DTT (هشت میلی‌مولار) یک مایکرولیتر و آنزیم DiaStar RTase یک مایکرولیتر به مخلوط A ج-درنهایت، تنظیم حجم با آب عاری از RNase تا به‌دست‌آمدن ۲۰ مایکرولیتر حجم نهایی محلول . مخلوط حاصل به‌مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد و سپس، به دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت پنج دقیقه برای غیرفعال‌کردن آنزیم منتقل شد. پس از اتمام واکنش، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

براساس طول آغازگر، شاخص‌های طراحی آغازگر بین ۲۰ تا ۲۵ نوکلئوتید، نقطهٔ ذوب آغازگر بین ۵۸ تا ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد، درصد جایگاه سیتوزین به گوانین بین ۴۰ تا ۶۰ و طول قطعه قابل‌تکثیر بین ۶۰ تا ۱۵۰ نوکلئوتید درنظر گرفته شد. با رعایت شرایط زیر برای ژن‌ها، آغازگرهای رفت‌وبرگشت به‌کمک نرم‌افزار (پرایمر۳) و براساس توالی کدکنندهٔ ژن‌ها، آغازگرهای انتخابی طراحی و برای ساخت به شرکت سیناکلون ارجاع داده شدند (جدول شمارهٔ سه).

جدول ۳- طراحی پرایمرهای ژن موردنظر

Gene	F. primer	R. Primer	Size
TLR4	ACCTGATACTTATTGCTGGCTGTAA	ATTCTGGCTCGAGTAGATCACAAAT	83

Gene name	Accesseion. NO	Primers	Sequence from 5، to 3	TM (C^0)	Amplicon size(bp)
ATF3	NM-012912	Forward	AAAGAAGGAACATTGCAGAGCTAAG	82.59	77
		Revers	TGGAAAAGGAGGATTCAGTAAGGAC	28.60	

کمیت‌سنجی بیان ژن در آزمون واکنش زنجیره پلیمراز نسخه برداری کیفی[1]به‌صورت نسبی انجام گرفت. پس از اندازه‌گیری میزان Ct، برای ژن‌های موردمطالعه در نمونه‌های موردبررسی، کارایی واکنش تکثیر بیان ژنی با استفاده از نرم‌افزار Ruijter et al LinRegPCR 2009 تعیین شد. سپس، با استفاده از برنامهٔ اکسل، میزان نسبت بیان (FC) و برطبق فرمول فافل[2] محاسبه شد.

$$FC = Ratio = \frac{(E_{ref})^{Ct_{Sample}}}{(E_{target})^{Ct_{Sample}}} \div \frac{(E_{ref})^{Ct_{calibrator}}}{(E_{target})^{Ct_{calibrator}}}$$

از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و تنظیم جدول‌ها و از برنامه‌های مایکروسافت اکسل ویرایش ۲۰۱۰، MSTATC ویرایش ۲۰۱۸، اس.پی.اس.اس.[3] نسخهٔ ۲۴ و نرم‌افزار پریزم نسخه هشت[4] برای تنظیم نمودارها و انجام محاسبات استفاده شد. پس از به‌دست‌آمدن میزان بیان ژن‌های موردمطالعه، برای بررسی درستی فرض‌های تجزیه و واریانس، آزمون طبیعی بودن توزیع خطاهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و آزمون بارتلت برای بررسی فرض یکنواختی واریانس‌ها انجام شدند. از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ برای محاسبهٔ میزان افزایش یا کاهش بیان ژن هدف در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل استفاده شد. از آزمون فیشر[5] (F-test) و M-ANOVA با سطح معناداری $P \leq 0.01$ برای تعیین معناداری استفاده شد. این آزمون برای ارزیابی یکسان‌بودن یا یکسان‌نبودن دو جامعه یا چند جامعه به‌کار برده می‌شود.

نتایج

برای تعیین میزان قند خون در سه گروه دیابت، تناوبی شدید و دیابت- تناوبی شدید طی ۱۰ هفتهٔ پژوهش که شامل هفتهٔ اول، آشناسازی با محیط نگهداری، هفتهٔ دوم، القای دیابت، هفتهٔ سوم، آشناسازی با برنامهٔ تمرینی و شش هفته تمرین اصلی بود، شاهد افزایش قندخون در هفته‌های پنجم

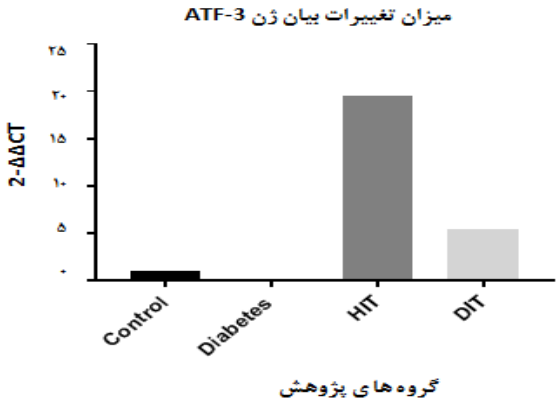
1. Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction
2. Pfaffl
3. SPSS
4. Graph Prism 8
5. Fisher Test

و هفتم بودیم که نشان‌دهندهٔ القای دیابت در گروه‌های دیابت و دیابت- تناوبی شدید است. با بررسی این تغییرات، شاهد کاهش قندخون در گروه دیابت- تناوبی شدید در هفتهٔ پایانی تمرین بودیم که نشان‌دهندهٔ اثر تمرین بر کاهش قندخون در این گروه بود. احتمالاً این کاهش برای گروه دیابت در هفتهٔ آخر را می‌توان ناشی از سازگاری نمونه‌ها به دیابت القاشده و عوامل مداخله‌گر نظیر استرس‌های محیطی، آزمایشگاهی تغییرات وزن بدن و عوامل دیگر پیش‌بینی‌نشدنی و اثرگذار دانست.

جدول ۴- میزان تغییرات قندخون در سه گروه پژوهش

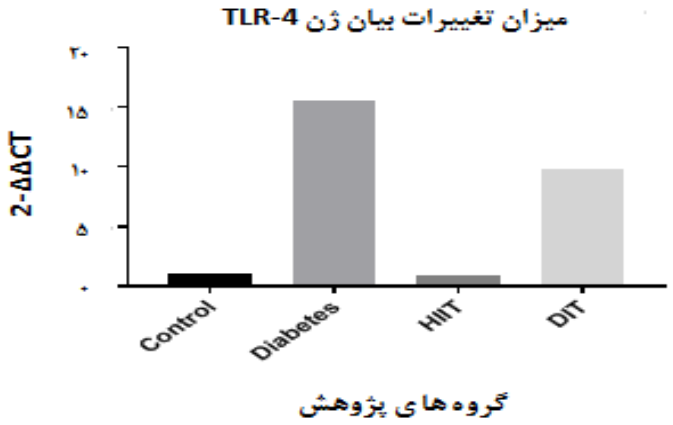
گروه	هفتهٔ اول	هفتهٔ سوم	هفتهٔ پنجم	هفتهٔ هفتم	هفتهٔ نهم
دیابت	۱۰۴/۶۰±۴/۹۴	۴۴۲/۹۰±۴۴۲/۹	۴۷۶/۳±۷۲/۶۷	۵۰۹/۶±۹۶/۶۳	۴۴۴/۵±۶۶/۰۱
دیابت- تناوبی شدید	۱۰۳/۵±۹/۵۲	۳۳۹/۶±۱۲۵/۵۹	۴۱۴/۲۵±۹۳/۵۱	۴۴۸/۵±۱۴۰/۸۳	۳۷۷/۹۲±۱۳۱/۵۵
تناوبی شدید	۱۱۱/۰۹±۱۷/۱۹	۱۱۹/۰۹±۱۲/۹۷	۱۲۸±۳۲/۴۶	۱۲۰/۲۷±۱۷/۷۱	۱۰۱/۹۱±۴۱/۰۸

میزان بیان ژن عامل رونویسی‌شدهٔ سه در گروه دیابت- تناوبی شدید نسبت به گروه دیابت و کنترل افزایش چشمگیر و معنادار داشته است ($P = 0.000$). میزان بیان ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه در گروه تمرین تناوبی شدید افزایش بیشتری نسبت به گروه دیابت- تناوبی شدید داشته است ($P = 0.004$) (شکل شمارهٔ یک).



شکل ۱- تغییرات بیان ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه بین گروه‌های کنترل، دیابت، تمرین تناوبی شدید و دیابت- تمرین تناوبی شدید

میزان بیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول چهار در گروه دیابت-تناوبی شدید نسبت به گروه دیابت کاهش معنادار داشته است (P = 0.007). میزان بیان ژن عامل گیرندهٔ شبه‌تول چهار در گروه تمرین تناوبی شدید کاهش معناداری نسبت به گروه دیابت- تناوبی شدید داشته است (P = 0.000). میزان بیان ژن عامل گیرندهٔ شبه‌تول چهار در گروه دیابت افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل سالم داشته است (P = 0.000) (شکل شمارهٔ دو).



شکل ۲- تغییرات بیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول چهار بین گروه‌های کنترل، دیابت، تمرین تناوبی شدید و دیابت-تمرین تناوبی شدید

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر با هدف تعیین تغییرات در بیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول چهار و عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سهٔ عضلهٔ قلبی رت‌های دیابتی نر، متعاقب تمرین تناوبی شدید انجام شد. این پژوهش نشان داد که یک دوره تمرین تناوبی شدید افزایش معناداری در میزان بیان ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه و کاهش معنادار گیرندهٔ شبه‌تول چهار متعاقب تمرین تناوبی شدید در عضلهٔ قلبی رت‌های نر داشته است. با توجه به داده‌های به‌دست‌آمده، گروه دیابت- تناوبی شدید نسبت به گروه‌های دیابت و کنترل افزایش چشمگیر و معناداری در بیان ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه داشته است که این یافته می‌تواند تأثیر انجام تمرین تناوبی شدید بر گروه دیابت- تناوبی شدید را نشان دهد. همچنین، این پژوهش پس از بررسی و مقایسهٔ گروه‌های آزمودنی برای بررسی تغییرات بیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول

چهار اثبات کرد که بین گروه دیابت- تناوبی شدید نسبت به گروه دیابت، کاهش معناداری در میزان بیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول چهار وجود دارد. با بررسی میانگین تغییرات قندخون در سه گروه دیابت، تناوبی شدید و دیابت- تناوبی شدید طی ۱۰ هفته، شاهد کاهش قندخون در گروه دیابت- تناوبی شدید نسبت به گروه دیابت بودیم که نشان‌دهندهٔ اثر ورزش بر کاهش قندخون و بیانگر اهمیت نقش آن، تأثیرات و سازگاری بیان ژن‌های مرتبط با مرگ برنامه‌ریزی سلول و آسیب عضلهٔ قلب است. کالفون[1] و همکاران (۲۳) در سال ۲۰۱۶ تأثیر یک دورهٔ ۱۵ هفته‌ای رژیم غذایی پرچرب را بر بیان ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سهٔ رت‌های دیابتی‌شده نشان دادند. در این پژوهش، رت‌هایی که رژیم غذایی پرچرب داشتند و میزان عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه در بدن آن‌ها کاهش داده شده بود، عوامل التهابی و مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلول (نظیر اینترلوکین ۶) بیشتری در سرم آن‌ها یافت شد. نتیجهٔ پژوهش آن‌ها تنها از منظر اثرهای رژیم غذایی پرچرب بر تحریک پرقندی خون[2] و مقاومت انسولین، افزایش سایتوکاین‌های التهابی و متعاقب آن، کاهش عوامل محافظتی قلب با نتایج مطالعهٔ حاضر همسو است. هنگ لین[3] و همکاران (۶) در سال ۲۰۱۴ نیز با القای سکتهٔ قلبی و حذف ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه در گروهی از رت‌ها به بررسی تغییرات به‌وجودآمده پرداختند. در رت‌های سکته‌ای که عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه حذف شده بود، میزان فعالیت آنزیم کاسپاز سه و درنتیجهٔ آن، میزان مرگ برنامه‌ریزی سلول بیشتری در آن‌ها مشاهده شدند. عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه به‌عنوان یک عامل حساس به فشار سوخت‌وسازی مرتبط با دیابت نوع دوم در سلول‌های قلبی، و وجود آن برای محافظت قلب دربرابر تغییر شکل ناشی از دیابت نوع دوم و اختلال آن ضروری است؛ چراکه، حساسیت انسولین محیطی را کنترل می‌کند (۲۲). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه سازگاری قلبی با انواع مختلف فشار را تنظیم می‌کند و عملکردهای سازگارانه و ناسازگارانه را اعمال می‌کند. کمبود عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه، حجیم‌شدن عضلانی قلب، فیبروزیس و اختلال قلبی در پاسخ به گره‌های آئورتی را توسعه می‌دهد (۲۳). به‌علاوه، مطالعات روی رت‌ها نشان داده‌اند که فعالیت طولانی‌مدت عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه اثرهای مضری را ایجاد می‌کند. بیان بیش از حد عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه، حجیم‌شدن عضلانی قلب، فیبروز، اختلال قلبی و هدایت غیرطبیعی را توسعه می‌دهد. پاسخ های مثبت یا منفی واسطه‌شده توسط عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه به شرایط فشار بستگی دارند (۲۴). عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه در پاسخ به سندروم متابولیک فعال می‌شود (۶) و می‌تواند به‌طور موقت پیام‌رسانی مسیر اسیدهای چرب اشباع‌نشده NFKB/TLR4

1. Kalfon
2. Hyperglycemia
3. Hang Leen

در آزمودنی‌های چاق را سرکوب کند و از فعال‌شدن سایتوکاین‌های التهابی جلوگیری کند (۲۴). کالفون و همکاران (۲۷) دریافتند که عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه علاوه‌بر اثرهای مفیدش بر محافظت از قلب، در کنترل حساسیت انسولینی یا ارگان‌های محیطی نیز نقش دارد. به‌علاوه، عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه بر حجیم‌شدن عضلانی قلب ازطریق محدودکردن مسیر ERK1/2[1]و JNK[2] اثرگذار است. درنهایت، عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه با دخالت در مسیر پیام‌رسانی، NFKB را سرکوب می‌کند. فعالیت‌نداشتن ژنتیکی NFKB یکی از عوامل جلوگیری‌کننده از آسیب عضلهٔ قلب دیابتی است (۲۳). احتمالاً یکی از دلایل کاهش معنادار بیان گیرنده به تول چهار در گروه دیابتی، افزایش تولیدات سوپراکسید است. ازسوی‌دیگر، پس از پایان برنامهٔ تمرینی، تمرین تناوبی شدید باعث کاهش معنادار بیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول چهار در هر دو گروه دیابتی و غیردیابتی شده است. بیشتر مطالعات به بررسی اثر تمرین حاد پرداخته‌اند؛ اما آنچه قابل‌توجه است، نشان می‌دهد که استفاده از برنامه‌های تمرینی طولانی‌مدت بالای ۹۰ دقیقه پاسخ بهتری داشته است (۵۲، ۴۱، ۳۳، ۱۹، ۵). علاوه‌بر کاهش بیان گیرنده‌های شبه‌تول سطحی سلول، شواهد اخیر به تنظیم ژن‌های بالادستی درگیر در تنظیم منفی پیام‌رسان گیرنده‌های شبه‌تول در خون، به‌دنبال یک جلسه تلاش تمرینی نیز اشاره کرده‌اند (۲۵). احتمالاً بخشی از کاهش بیان و پیام‌رسان گیرندهٔ شبه‌تول چهار ناشی از تمرین می‌تواند به التهاب ایجادشده متعاقب دیابت نوع دو ربط داشته باشد. پرقندی خون بیان گیرندهٔ شبه‌تول چهار را در بافت قلب و مونوسیت ها افزایش می‌دهد و هر دو باعث افزایش مقاومت انسولینی می‌شوند. دریافتیم که مقدار گلوکز خون و مقاومت به انسولین در پایان تمرین در گروه دیابتی با تمرین تناوبی شدید ،کاهش معناداری یافته است که احتمالاً کاهش پرقندی خون و مقاومت به انسولین از محرک‌های کاهش بیان گیرندهٔ شبه‌تول چهار دراثر تمرین تناوبی شدید هستند (۲۶). براساس نتایج پژوهش، تمرین تناوبی شدید به‌نوعی ازطریق فعال‌کردن مسیر و سازوکارهای سلولی و مولکولی مختلف موجب کاهش چشمگیر اثرهای منفی ناشی از بیماری دیابت بر دستگاه قلبی-عروق می‌شود. ازجملهٔ این سازوکارها افزایش معنادار بیان ژن عامل رونویسی‌شدهٔ سه و متعاقب آن، کاهش معنادار گیرندهٔ شبه‌تول چهار به‌عنوان یک سازوکار حفاظتی است که موجب کاهش بیان عوامل التهابی و آپوپتوزی ایجادشده دراثر پرقندی خون ناشی از دیابت می‌شود.

1. Extracellular Signal–Regulated Kinases
2. C-Jun N-Terminal Kinases

پیام مقاله: پیام مقالهٔ حاضر این است که ازیک‌سو، کاهش بیان ژن گیرندهٔ شبه‌تول چهار به‌عنوان یک عامل التهابی و ازسوی‌دیگر، افزایش بیان ژن عامل رونویسی فعال‌شدهٔ سه به‌عنوان یک عامل محافظتی، متعاقب تمرین تناوبی شدید در شرایط فشار سوخت‌وسازی، اکسایشی و التهابی دیابت می‌تواند موجب کاهش اثرهای تخریبی این بیماری و جلوگیری از کاهش عملکرد ساختاری و سلولی عضلهٔ قلب شود.

تشکر وقدردانی

پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند از معاونت علمی- پژوهشی دانشگاه خوارزمی به‌دلیل حمایت‌های مالی، از آزمایشگاه سلولی- مولکولی دانشگاه خوارزمی، از آزمایشگاه سلولی- مولکولی دانشکدهٔ گیاه‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی و از همهٔ عزیزانی که در این طرح پژوهشی شرکت کردند، قدردانی و سپاس‌گزاری کنند.

منابع

1. Demmer RT, Allison MA, Cai J, Kaplan RC, Desai AA, Hurwitz BE, et al. Association of Impaired Glucose Regulation and Insulin Resistance With Cardiac Structure and FunctionCLINICAL PERSPECTIVE. Circulation: CardiovasImag. 2016;9(10):e005032.
2. Brownrigg JR, Hughes CO, Burleigh D, Karthikesalingam A, Patterson BO, Holt PJ, et al. Microvascular disease and risk of cardiovascular events among individuals with type 2 diabetes: a population-level cohort study. The Lancet Diabetes Endo. 2016; 4(7):588-97.
3. Bugger H, Abel ED. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. Diabetologia. 2014;57(4):660-71.
4. Hölscher ME, Bode C, Bugger H. Diabetic Cardiomyopathy: Does the Type of Diabetes Matter? Int J Mol Sci. 2016;17(12):2136.
5. Ghigo A, Frati G, Sciarretta S. A novel protective role for activating transcription factor 3 in the cardiac response to metabolic stress. The OUP; 2017.
6. Lin H, Li H-F, Chen H-H, Lai P-F, Juan S-H, Chen J-J ,et al. ATF3 Protects Against Pressure Overload Heart Failure Via Autophagy Molecule Beclin-1 Pathway. Mol pharmacol. 2014:mol. 113.090092.
7. Zmuda EJ, Qi L, Zhu MX, Mirmira RG, Montminy MR, Hai T. The roles of ATF3, an adaptive-response gene, in high-fat-diet-induced diabetes and pancreatic β-cell dysfunction. J.Mol.Endocrinol. 2010;24(7):1423-33.
8. Veeranki S, Givvimani S, Kundu S, Metreveli N, Pushpakumar S, Tyagi SC. Moderate intensity exercise prevents diabetic cardiomyopathy associated contractile dysfunction through restoration of mitochondrial function and connexin 43 levels in db/db mice. J mol cell cardio. 2016;92:163-73.

9. Chrysohoou C, Tsitsinakis G, Vogiatzis I, Cherouveim E, Antoniou C, Tsiantilas A, et al. High intensity, interval exercise improves quality of life of patients with chronic heart failure: a randomized controlled trial. QJM. 2014;107(1):25-32.
10. Grundy SM. Metabolic syndrome update. Trends cardiovas med. 2016;26(4):364-73.
11. Avlas O, Fallach R, Shainberg A, Porat E, Hochhauser E. Toll-like receptor 4 stimulation initiates an inflammatory response that decreases cardiomyocyte contractility. Antioxid.redox signal. 2011;15(7):1895-909.
12. Avlas O, Bragg A, Fuks A, Nicholson JD, Farkash A, Porat E, et al. TLR4 expression is associated with left ventricular dysfunction in patients undergoing coronary artery bypass surgery. PloS one. 2015;10(6):e0120175.
13. Zhang Y, Peng T, Zhu H, Zheng X, Zhang X, Jiang N, et al. Prevention of hyperglycemia-induced myocardial apoptosis by gene silencing of Toll-like receptor-4. J.transl. med. 2010;8(1):133.
14. Akash H, Sajid M, Rehman K, Liaqat A. Tumor necrosis factor-alpha: Role in development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. J.Cell.Biochem. 2017.
15. Francaux M. Toll-like receptor signalling induced by endurance exercise This paper is one of a selection of papers published in this Special Issue, entitled 14th International Biochemistry of Exercise Conference–Muscles as Molecular and Metabolic Machines, and has undergone the Journal's usual peer review process. Appl Physiol, Nutr, Me. 2009;34(3):454-8.
16. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid–induced insulin resistance. J Clin Invest. 2006;116(11):3015.
17. Reyna SM, Ghosh S, Tantiwong P, Meka CR, Eagan P, Jenkinson CP, et al. Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects. Diabetes. 2008;57(10):2595-602.
18. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. Int J Obes. 2008;32(4):684-91.
19. Arikawa AY, Thomas W, Schmitz KH, Kurzer MS. Sixteen weeks of exercise reduces C-reactive protein levels in young women. MSSE2011;43(6):1002-9.
20. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. Cell. 2006;124(4):783-801.
21. Songstad NT KK-H, 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.
22. Feng J, Sun Q, Wu T, Lu J, Qu L, Sun Y, et al. Upregulation of ATF-3 is correlated with prognosis and proliferation of laryngeal cancer by regulating Cyclin D1 expression. Int J Clin Exp Pathol. 2013;6(10):2064.
23. Ghigo A, Frati G, Sciarretta S. A novel protective role for activating transcription factor 3 in the cardiac response to metabolic stress. OUP; 2016.
24. Suganami T, Yuan X, Shimoda Y, Uchio-Yamada K, Nakagawa N, Shirakawa I, et al. Activating transcription factor 3 constitutes a negative feedback mechanism that

attenuates saturated Fatty acid/toll-like receptor 4 signaling and macrophage activation in obese adipose tissue .Circ.res. 2009;105(1):25-32.
25. Abbasi A, Hauth M, Walter M, Hudemann J, Wank V, Niess AM, et al. Exhaustive exercise modifies different gene expression profiles and pathways in LPS-stimulated and un-stimulated whole blood cultures. Brain, behav, immun. 2014;39:130-41.
26. Dasu MR, Devaraj S, Park S, Jialal I. Increased toll-like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects. Diabetes care. 2010;33(4):861-8.

ارجاع‌دهی

سفال‌منش شهاب‌الدین، خالدی ندا، عسگری حسین. تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن ATF3 وTLR4 عضلهٔ قلبی رت‌های دیابتی نر. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۳): ۵۴ـ۳۹. شناسهٔ دیجیتال: 10.22089/spj.2019.6497.1821

Sofalmanesh Sh, Khaledi N, Askari H. The Effect of High Intensity Interval Training on Activated Transcription Factor 3 and Toll-Like Receptor 4 Myocardia Gene Expression in Diabetic Rats. Sport Physiology. Fall 2019; 11(43): 39-54. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2019.6497.1821

The Effect of High Intensity Interval Training on Activated Transcription Factor 3 and Toll-Like Receptor 4 Myocardia Gene Expression in Diabetic Rats

Sh. Sofalmanesh[1], N. Khaledi[2], H. Askari[3]

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Kharazmi University
2. Assistant Professor of Exercise Physiology, Kharazmi University (Corresponding Author)
3. Assistant Professor of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University

Received: 2018/10/14 **Accepted: 2019/02/12**

Abstract

In diabetic patients, cardiomyopathy leads to the development of left ventricular hypertrophy, increased cardiac hypersensitivity to ischemic injury, and heart failure. Following the onset of diabetes-induced inflammation, Toll-Like Receptor4 (TLR4) is activated. Protective factors, including the Activated Transcription Factor 3(ATF3), are activated by heart in response to such inflammation. Exercise, especially High Intensity Interval Training, reduces the effects of diabetic cardiomyopathy through reducing inflammatory factors. This study aimed to determine the effect of High Intensity Interval Training on TLR4 and ATF3 gene expression in cardiac muscle of male diabetic rats. A total of 48 Rats (6 weeks old) weighing 150 g were randomly divided into four groups of 12 consist of: Control group(C), Diabetes group (D), Diabetes –High Intensity Interval Training (DIT) and High intensity Interval Training (HIIT) groups. Six weeks of High Intensity Interval Training included 10 repetitions of 1-minute running on a treadmill with 2 minutes of rest between sets, 3 days a week. Gene expression was performed using the Real-Time PCR technique and the calculation of the changes using the 2-ΔΔCT method. The data were analyzed by Fisher and M-ANOVA tests at a significant level of $P \leq 0.01$. The findings of the present study showed a significant increase in the expression of Activated Transcription Factor-3 gene and a significant decrease in the expression of Toll like Receptor-4 gene. As a result, High Intensity Interval training by activating the pathway and different molecular cell mechanisms dramatically reduced the negative effects of diabetic cardiomyopathy.

Keywords: Activated Transcription Factor 3, Diabetes, Apoptosis, High Intensity Interval Training, Toll-Like Receptor 4.

1. Email: sofalmanesh@gmail.com
2. Email: n.khaledi@khu.ac.ir
3. Email: askarihossein@yahoo.com