

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بر سطوح ویسفاتین پلاسما، فاکتور نکروز تومور آلفا و اینترلوکین ۶ در موش‌های ماده: گزارش کوتاه

چکیده

دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۱۰ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۱۵ آنلاین: ۱۳۹۲/۰۸/۱۰

زمینه و هدف: آدیپوکین‌ها پپتیدهایی هستند که بر متابولیسم انرژی کل بدن تأثیر می‌گذارند. دانش ما درباره تغییرات ویسفاتین، IL-6 و TNF- α به دنبال یک فعالیت ورزشی تناوبی شدید اندک است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۵ سر موش ماده نژاد اسپراگوداولی به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی پیش‌آزمون، کنترل و تمرینی تقسیم شدند. برنامه تمرینی تناوبی شامل دویدن بر روی تردمیل، به‌صورت سه جلسه در هفته به مدت هشت هفته انجام گرفت. نمونه‌های خونی گرفته شد و تست‌های الیزا و تحلیل واریانس صورت گرفت.

یافته‌ها: تمرینات تناوبی شدید باعث کاهش معناداری در سطوح پلاسمایی ویسفاتین ($P=0/036$)، IL-6 ($P=0/009$) و TNF- α ($P=0/022$) در بین گروه‌ها گردید. همبستگی معناداری بین تغییرات ویسفاتین و TNF- α ($P=0/062$)، ویسفاتین و IL-6 ($P=0/103$) و TNF- α و IL-6 ($P=0/385$) مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: احتمالاً تغییرات TNF- α و IL-6 با شدت و مدت فعالیت در ارتباط است و عواملی به‌جز کاهش وزن، در کاهش ویسفاتین پلاسما موثر هستند. از این رو کاهش این آدیپوکین‌ها می‌تواند باعث کاهش بیماری‌های متابولیکی شود.

کلمات کلیدی: اینترلوکین ۶، فاکتور نکروزدهنده آلفا، فعالیت ورزشی، آدیپوکین‌ها، بیماری‌های متابولیکی.

فرهاد دریانوش^۱، حسین جعفری^{۲*}
اسکندر رحیمی^۳، داوود مهربانی^۴
فیروز سلطانی^۲

۱- گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۳- گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی شیراز، شیراز، ایران

۴- دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

* نویسنده مسئول: شیراز، دانشگاه شیراز، گروه

فیزیولوژی ورزشی

تلفن: ۰۷۱۱-۶۱۳۶۳۴

E-mail: physio.shirazu@yahoo.com

مقدمه

شناخته می‌شود و ویژگی‌های بیولوژیکی آن مشابه ویژگی بعضی از سایتوکین‌ها است.^۱ مشخص شده است که ویسفاتین می‌تواند توسط ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولید شود و باعث القای تولید فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α) و اینترلوکین ۶ (IL-6) در مونوسیت‌های انسانی گردد.^۳ TNF- α ، یکی از سایتوکین‌های پیچیده در سیستم التهابی محسوب می‌شود که در واکنش‌های حاد و کنترل سلول‌های ایمنی که از بافت چربی ترشح می‌شوند، نقش مهمی را ایفا می‌کند و سایتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر IL-6 را افزایش می‌دهد. IL-6، سایتوکینی است که اثر پیش و ضد التهابی دارد و به‌میزان زیادی توسط بافت چربی تولید می‌شود.^۴ سایتوکین‌ها، نقش اصلی را در

آدیپوکین‌ها، پپتیدهایی هستند که از بافت چربی ترشح می‌شوند و بر متابولیسم انرژی کل بدن تأثیر می‌گذارند.^۱ با مطالعات بر بیولوژی آدیپوسیت، مشخص شده است که بافت چربی به‌عنوان یک ارگان اندوکرینی، توانایی تولید و رهایش عوامل مختلفی از جمله ویسفاتین، فاکتور نکروز تومور آلفا و اینترلوکین ۶ را دارا است.^۲ ویسفاتین، یک آدیپوکین می‌باشد که به‌عنوان عامل افزایش‌دهنده پیش‌سلول β (Pre-B cell colony-Enhancing Factor, PBEF) یا نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز (Nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt) ترانسفراز

در ابتدای پژوهش، موش‌های گروه پیش‌آزمون و ۲۴ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرینی، بقیه موش‌ها، با مخلوطی از زایلانین و کتامین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی‌گرم کتامین به زایلانین به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند و جهت اندازه‌گیری ویسفاتین، TNF- α و IL-6، از قلب آن‌ها نمونه خونی گرفته شد.

جداسازی پلاسما از نمونه‌های خونی توسط دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در محل انجام آزمون، صورت گرفت و سپس نمونه‌ها در دمای 70°C - نگه‌داری شدند. جهت جداسازی سرم از دستگاه سانتریفیوژ (Hitachi)، برای اندازه‌گیری ویسفاتین از کیت (CSB-EO 8941r, Rat Visfatin, ELISA, CUSABIO BIOTECH, Wuhan)، برای اندازه‌گیری TNF- α از کیت (Gen-Probe Inc., San Diego, CA, USA 865000096) و IL-6 از کیت (Gen-Probe Inc., San Diego, CA, USA 670010096) ساخت شرکت ژن فرانسه استفاده و سنجش این متغیرها از طریق روش آزمایشگاهی سنجش ایمنی آنزیم‌دار (ELISA) انجام شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها، برای بررسی معنادار بودن اختلاف موجود بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس تعاملی (ANOVA) و در صورت معناداری به‌دلیل مساوی بودن تعداد موش‌ها در هر گروه، از آزمون تعقیبی توکی و جهت تعیین رابطه از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معناداری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ انجام شد.

یافته‌ها

نتایج تحقیق حاضر نشان داد میانگین ویسفاتین در بین گروه‌ها، تفاوت معناداری با یکدیگر داشتند ($P=0.036$). با استفاده از آزمون تعقیبی مشخص شد که این تفاوت در بین گروه تمرینی و پیش‌آزمون معنادار ($P=0.001$) و بین گروه تمرینی و کنترل غیرمعنادار ($P=0.972$) بود (شکل ۱-الف).

میانگین IL-6 بین گروه‌ها تفاوت معناداری داشت ($P=0.009$)، که آزمون تعقیبی نشان داد این تفاوت در بین گروه تمرینی و پیش‌آزمون ($P=0.035$) و گروه تمرینی و کنترل ($P=0.012$) معنادار بود (شکل ۱-ب). علاوه‌براین تغییرات TNF- α نیز در بین گروه‌ها،

پاسخ‌های التهابی به محرک‌های پاتولوژی مانند التهاب و آسیب بافتی ایفا می‌کنند و تولید آن‌ها به‌وسیله دامنه‌ای از محرک‌های فیزیولوژیک مانند ورزش تنظیم می‌شود.^۴ تاثیر فعالیت ورزشی بر سطوح این سایتوکین‌ها، دارای نتایج متناقض است.^{۵-۸} برخی مطالعات کاهش سطوح سایتوکین‌های پیش‌التهابی از جمله TNF- α ، IL-6 را نشان دادند^۷ و برخی افزایش TNF- α ^۶ و غلظت‌های سرمی IL-6^۸ را گزارش کردند.

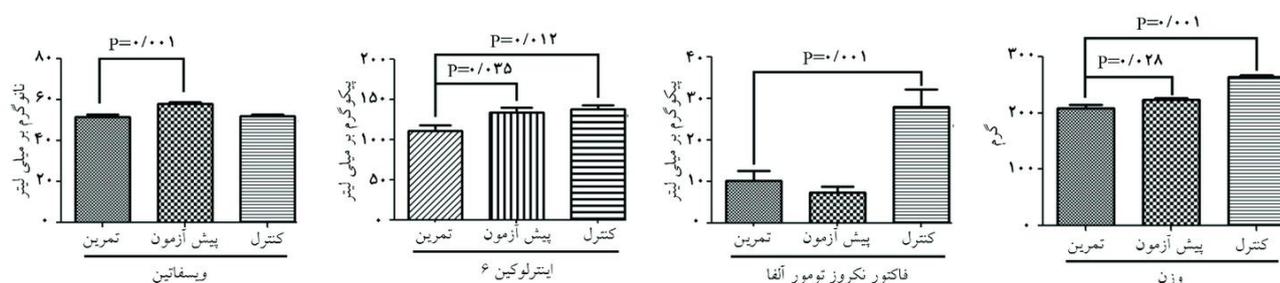
لذا با توجه به نتایج ناهم‌سو و اثرات تمرینات ورزشی شدید بر بافت چربی احشایی به‌عنوان یک بافت اندوکروینی و هم‌چنین بروز پاسخ‌های التهابی به‌دنبال تمرینات ورزشی، محققان به‌دنبال پاسخی برای این سوالات هستند که آیا این نوع تمرینات می‌تواند موجب کاهش سطوح ویسفاتین پلاسما گردد؟ آیا این تمرینات می‌تواند آستانه تحریکی برای سایتوکین‌های التهابی باشد و میزان آن را تغییر دهد؟ و این‌که آیا ارتباطی بین تغییرات احتمالی در سطوح ویسفاتین پلاسما و تغییرات در سطوح این سایتوکین‌ها وجود دارد؟ از این رو هدف از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بر سطوح ویسفاتین پلاسما و برخی سایتوکین‌ها در موش‌های ماده‌ی نژاد اسپراگوداولی بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی است که در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه شیراز انجام گرفت. در این مطالعه به‌روش تصادفی، ۴۵ سر موش ماده بالغ دو ماهه نژاد اسپراگوداولی با وزن 220 ± 20 از آزمایشگاه حیوانات علوم پزشکی انتخاب شدند. موش‌ها در قفس‌های مجزا با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی و بر اساس اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH-Publication) نگه‌داری می‌شدند. موش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی پیش‌آزمون، کنترل و تمرینی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشت. گروه تمرینی جهت آشنایی با نوارگردان طی سه جلسه در یک هفته، با سرعت ۲۰ متر در دقیقه، مدت زمان ۱۵ ثانیه و شیب صفر درجه (چهار تکرار) روی نوارگردان به تمرین پرداختند. سپس مطابق برنامه تمرینی خود (جدول ۱)، طی هشت هفته، فعالیت خود را انجام دادند.^۹

جدول ۱: برنامه تمرینی در طول هشت هفته تمرین تناوبی شدید

جلسات تمرین	تعداد ست	سرعت (متر بر دقیقه)	شیب (درجه)	مدت هر ست (ثانیه)	استراحت بین هر ست (دقیقه)
۱-۶	۳	۲۴	۵	۳۰	۱
۷-۸	۴	۲۴	۵	۳۰	۱
۹-۱۲	۴	۲۷	۱۰	۳۰	۱
۱۳-۱۶	۵	۲۷	۱۰	۳۰	۱
۱۷-۱۸	۵	۳۰	۱۵	۳۰	۱
۱۹-۲۴	۶	۳۰	۱۵	۳۰	۱



شکل ۱: تغییرات وزن، TNF-α، IL-6 و ویسفاتین در بین گروه‌ها

به‌خوبی مشخص نشده است اما ویسفاتین با اثر اتوکرینی/ پاراکرینی باعث تسهیل جداسازی چربی از بافت چربی می‌شود و با اثر اندوکراینی خود، تعدیل حساسیت انسولینی را در بافت‌های محیطی فراهم می‌کند.^{۱۱} نتایج تحقیقات اولیه نشان می‌دهد که سطوح ویسفاتین ارتباط قوی با میزان بافت چربی دارد.^{۱۱} همچنین Frydelund-Larsen گزارش کرد بیان ژن ویسفاتین بعد از تمرینات تکراری، بلافاصله پس از تمرین افزایش می‌یابد، اما مساله جالب این بود که این افزایش جهت بیان ژن ویسفاتین با افزایش ویسفاتین پلاسمایی همراه نبود که نشان از یک تاثیر موضعی یا پاراکراینی در دوره برگشت به حالت اولیه دارد.^{۱۲} در تحقیق حاضر نیز سطوح ویسفاتین پلاسما پس از تمرین، دارای تغییرات هم‌سویی بود به‌طوری که می‌توان گفت با توجه به کاهش میانگین وزنی و بافت چربی در گروه تمرینی نسبت به گروه پیش‌آزمون (شکل ۱- الف)،

معنادار بود ($P=0/022$). آزمون تعقیبی مشخص کرد که این تفاوت در بین گروه تمرینی و پیش‌آزمون غیرمعنادار ($P=0/778$) و در بین گروه تمرینی و کنترل معنادار ($P=0/001$) بود (شکل ۱- ج). در نهایت نتایج نشان داد که همبستگی معناداری بین تغییرات ویسفاتین و $TNF-\alpha$ ($P=0/062$)، ویسفاتین و IL-6 ($P=0/103$) و $TNF-\alpha$ و IL-6 ($P=0/385$) وجود ندارد.

بحث

در پژوهش حاضر کاهش سطوح برخی آدیپوکین‌ها نشان داده شد و همچنین ارتباط معناداری بین تغییرات آن‌ها مشاهده نگردید، هر چند که همبستگی بین ویسفاتین و $TNF-\alpha$ به سطوح معناداری نزدیک بود ($P=0/062$). اگرچه هنوز نقش ویسفاتین/Nampt/PBEF/

باعث افزایش معنادار این سایتوکین شود. از طرف دیگر از آنجایی که اطلاعات متفاوتی وجود دارد که چه نوع تار عضلانی، IL-6 را بیان می‌کند، به نظر می‌رسد IL-6 تنها به وسیله‌ی نوعی از تارهای عضلانی بیان می‌شود که در فعالیت مورد نظر فعال می‌شوند.^{۱۵} بنابراین احتمال دارد فراخوانی این نوع تارهای عضلانی به دنبال برنامه تمرینی این پژوهش، کم‌تر انجام شده باشد. از سوی دیگر بین تغییرات این آدیپوکین‌ها ارتباط معناداری مشاهده نشد، هرچند که ارتباط بین تغییرات ویسفاتین و TNF- α ($P=0/062$) به سطح معناداری نزدیک بود.

در نهایت می‌توان گفت که با توجه به تاثیر لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و دیگر سلول‌های ایمنی بر رها شدن IL-6 و TNF- α ، در تحقیقات آینده می‌توان سطوح این سلول‌ها را به منظور تعیین تاثیرات فعالیت ورزشی بر بافت‌ها و سلول‌های رهاکننده این سایتوکین‌ها مورد بررسی قرار داد. علاوه بر این، با توجه به این‌که IL-6 و TNF- α ، نقش کمک‌کننده در سندرم‌های متابولیک، مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو دارند، می‌توان گفت کاهش این عوامل در طی پژوهش حاضر، ممکن است در جلوگیری از ابتلا به این بیماری‌های متابولیکی سودمند باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "تاثیر هشت هفته تمرین بی‌هوای شدید بر سطوح ویسفاتین پلاسما و برخی از فاکتورهای التهابی در رت‌های ماده نژاد اسپراگوداولی" در مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد که در سال ۱۳۹۲ با حمایت دانشگاه شیراز اجرا شده است. هم‌چنین بدین وسیله از مرکز آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

شاید کاهش سطوح ویسفاتین در ابتدا تحت تاثیر کاهش توده چربی و یا تاثیرات پاراکرائینی پس از تمرین قرار گرفته است اما با وجود کاهش بیش‌تر میانگین وزنی به دنبال تمرین، احتمال دارد تغییرات ویسفاتین در گردش با عوامل دیگری از جمله: نوع تمرین، شدت و مدت تمرین، سازگاری‌های تمرینی و غیره در ارتباط می‌باشد. در خصوص تغییرات سایتوکین‌ها، برخی از محققین علوم ورزشی معتقدند به دنبال فعالیت ورزشی، سلول‌هایی که منشا ایمنی ندارند، می‌توانند سایتوکین‌های ویژه‌ای را تولید و رها کنند. چراکه آسیب بافتی ناشی از فعالیت و یا افزایش تولید رادیکال‌های آزاد به دنبال تغییرات انرژی و مکانیکی عضله، تولید سایتوکین‌ها از عضله‌ی اسکلتی را افزایش می‌دهد که این مساله باعث تشدید آبشار التهابی می‌شود و در ابتدا TNF- α و IL-1 β آزاد می‌شوند که با ایجاد پاسخ التهابی، آزادسازی IL-6 تحریک می‌شود.^{۱۳}

اما در پژوهش حاضر، با بررسی میزان تغییرات TNF- α و IL-6 مشخص می‌شود که مقدار این سایتوکین پس از فعالیت، نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری پیدا می‌کند. این نتیجه با برخی مطالعات هم‌سو است؛ Pervaiz کاهش میزان TNF- α به دنبال تمرین شدید بر روی نوارگردان را در موش‌های ماده مشاهده کرد.^۸ در مقابل Martín-Cordero با به‌کارگیری دو نوع برنامه تمرینی در موش‌ها (برنامه تمرینی شدید در مقابل برنامه تمرینی عادی) دریافت که هر دو برنامه باعث افزایش TNF- α می‌شود.^{۱۴} از این رو می‌توان گفت، ویژگی‌های برنامه تمرینی از جمله مدت زمان فعالیت می‌تواند در تغییرات TNF- α بسیار موثر باشد. هنگامی که از تمرینات هوایی استفاده شود، مدت زمان دوره تحقیق بایستی بالاتر از هشت هفته باشد و زمانی که فعالیت شدید باشد، یک جلسه فعالیت می‌تواند

References

1. Sethi JK. Is PBEF/visfatin/Nampt an authentic adipokine relevant to the metabolic syndrome? *Curr Hypertens Rep* 2007;9(1):33-8.
2. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, et al. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 2006;49(4):744-7.
3. McGlothlin JR, Gao L, Lavoie T, Simon BA, Easley RB, Ma SF, et al. Molecular cloning and characterization of canine pre-B-cell colony-enhancing factor. *Biochem Genet* 2005;43(3-4):127-41.
4. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev* 2008;88(4):1379-406.
5. Seo DI, So WY, Ha S, Yoo EJ, Kim D, Singh H, et al. Effects of 12 weeks of combined exercise training on visfatin and metabolic syndrome. *J Sports Sci Med* 2011;10:222-6.
6. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 2005;98(4):1154-62.
7. Batista ML Jr, Rosa JC, Lopes RD, Lira FS, Martins E Jr, Yamashita AS, et al. Exercise training changes IL-10/TNF-alpha ratio in the skeletal muscle of post-MI rats. *Cytokine* 2010;49(1): 102-8

8. Pervaiz N, Hoffman-Goetz L. Immune cell inflammatory cytokine responses differ between central and systemic compartments in response to acute exercise in mice. *Exerc Immunol Rev* 2012;18:142-57.
9. Cunningham P, Geary M, Harper R, Pendleton A, Stover S. High intensity sprint training reduces lipid peroxidation in fast-twitch skeletal muscle. *JEPonline* 2005 8(6):18-25.
10. Sethi JK, Vidal-Puig A. Visfatin: the missing link between intra-abdominal obesity and diabetes? *Trends Mol Med* 2005;11(8):344-7.
11. Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;64(4):355-65.
12. Frydelund-Larsen L, Akerstrom T, Nielsen S, Keller P, Keller C, Pedersen BK. Visfatin mRNA expression in human subcutaneous adipose tissue is regulated by exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292(1):E24-31
13. Chang CH, Chung CH, Hsu CC, Huang TY, Huang TF. A novel mechanism of cytokine release in phagocytes induced by aggretin, a snake venom C-type lectin protein, through CLEC-2 ligation. *J Thromb Haemost* 2010;8(11):2563-70
14. Martín-Cordero L, García JJ, Hinchado MD, Bote E, Manso R, Ortega E. Habitual physical exercise improves macrophage IL-6 and TNF- α deregulated release in the obese Zucker rat model of the metabolic syndrome. *Neuroimmunomodulation* 2011;18(2):123-30.
15. Plomgaard P, Penkowa M, Pedersen BK. Fiber type specific expression of TNF- α , IL-6 and IL-18 in human skeletal muscles. *Exerc Immunol Rev* 2005;11:53-63.

The effect of eight week interval acute training on plasma visfatin, TNF- α and IL-6 in rats: a brief report

Farhad Daryanoosh Ph.D.¹
Hossein Jafari M.D.^{2*}
Eskandar Rahimi Ph.D.³
Davood Mehrbani Ph.D.⁴
Firouz Soltani M.D.²

1- Department of Physical Education, Faculty of Education and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

3- Department of Physical Education, Islamic Azad University of Shiraz, Shiraz, Iran.

4- Shiraz University of Medical Science, Shiraz, Iran.

Abstract

Received: 30 Apr. 2013 Accepted: 06 July 2013 Available online: 01 Nov. 2013

Background: Adipokines are peptides secreted by adipose tissue that affect whole-body energy metabolism. Exercise training exerts beneficial effects on adipose tissue. However, less is known regarding visfatin's, IL-6 & TNF- α response to an interval acute training. Therefore, we investigated the effects of acute interval exercise on plasma visfatin, TNF- α and IL-6 levels, in healthy female rats. Furthermore, correlate between changes probably these factors were also assessed.

Methods: This study was conducted experimentally. Forty five female sprague dawley rat were randomly divided into three groups: pre test (n= 15), treadmill exercise (n= 15) and sedentary controls (n= 15). The acute alternative exercise consisted of treadmill running: 3 session/ week for 8 week. The changes of plasma IL-6, TNF- α and Visfatin levels were measured by ELISA analysis. Data were analyzed using analysis of variance with measures (ANOVA) and post hoc Tukey test.

Results: Acute interval treadmill exercise led to significant decreases in visfatin (P= 0/036), IL-6 (P= 0/009) and TNF- α (P= 0/022) plasma levels between the groups. Also, this study no significant correlations between the changes in adipokines were observed.

Conclusion: Decreased levels of TNF- α and IL-6 correlated with intensity and duration exercise. Furthermore, probably there were some factors except weight decreasing that affects on visfatin decrease. Therefore, the reduction of this factor may cause in preventing metabolic disease.

Keywords: adipokines, exercise, interleukin-6, metabolic disease, tumor necrosis factor-alpha.

* Corresponding author: Department of Exercise Physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran.
Tel: +98-711-6134634
E-mail: physio.shirazu@yahoo.com