

تغییرات بیان ژن NLRP3 بافت پانکراس به دنبال تمرین تناوبی با شدت متوسط و شدید به همراه مکمل آلفالپوئیک اسید لیپوزومال در موش‌های دیابتی

سید عبدالله فاطمی^۱، امین فرزانه حصاری^{۲*}، مینو دادبان شهامت^۳

مقاله پژوهشی

مقدمه: فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP-3 از مشخصه‌های التهاب مزمن در دیابت نوع دو است. انجام تمرینات ورزشی در کنار مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی قادر به کنترل التهاب می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر شدت‌های مختلف تمرین همراه با آلفالپوئیک اسید بر بیان ژن NLRP-3 بافت پانکراس موش‌ها دیابتی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۵ موش ویستار به صورت تصادفی به ۷ گروه: کنترل، دیابتی، دیابتی مکمل، دیابتی تمرین تناوبی شدید، دیابتی تمرین تناوبی متوسط، دیابتی تمرین تناوبی شدید+مکمل، دیابتی تمرین تناوبی متوسط+مکمل تقسیم شدند. پروتکل تمرین تناوبی متوسط و شدید به مدت ۶ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا شد. تمرین تناوبی شدید شامل ۱۰ و هله ۴ دقیقه‌ای دویدن (با شدت ۹۰-۸۵٪ سرعت بیشینه) و تمرین تناوبی متوسط شامل ۱۳ و هله ۴ دقیقه‌ای دویدن (با شدت ۶۵-۷۰٪ سرعت بیشینه) بود. آلفالپوئیک اسید به مقدار ۲۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن در روز به صورت گاوژ به موش‌ها داده شد. بافت‌برداری و خونگیری ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. بیان ژن NLRP-3 از روش real-time PCR اندازه‌گیری گردید.

نتایج: بیان ژن NLRP-3 بافت پانکراس در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری داشت ($P=0/0001$). آلفالپوئیک اسید ($P=0/021$)، تمرین متوسط ($P=0/009$)، تمرین شدید ($P=0/001$)، تمرین متوسط+مکمل ($P=0/003$) و تمرین تناوبی شدید+مکمل ($P=0/0001$) سطح NLRP-3 بافت پانکراس را به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابت کاهش دادند.

نتیجه‌گیری: بیماری دیابت نوع دو با افزایش بیان ژن NLRP-3 در پانکراس همراه است و تمرین تناوبی شدید به همراه مکمل آلفالپوئیک اسید یک مداخله موثرتر در کاهش NLRP-3 پانکراس در دیابت در نظر گرفته می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی، آلفالپوئیک اسید، NLRP3، دیابت

ارجاع: فاطمی سید عبدالله، فرزانه حصاری امین، دادبان شهامت مینو. تغییرات بیان ژن NLRP3 بافت پانکراس به دنبال تمرین تناوبی با شدت متوسط و شدید به همراه مکمل آلفالپوئیک اسید لیپوزومال در موش‌های دیابتی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۲): ۴۶۰۶-۴۵۹۳.

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

۳- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۱۳۷۰۷۴۹۲، پست الکترونیکی: af.hessari@gmail.com صندوق پستی: ۴۸۱۶۴-۱۹۴

مقدمه

التهاب مزمن یک عامل کلیدی در ایجاد دیابت است به طوری که سطح بالاتری از پروتئین‌های التهابی مانند اینترلوکین یک بتا ($IL-1\beta$) و اینترلوکین شش ($IL-6$) و پروتئین واکنش پذیر C پیش‌بینی کننده دیابت هستند (۱). مطالعات نشان از آن دارند که سلول‌های ایمنی می‌توانند با به‌کارگیری گیرنده‌های NLRs (نوعی از گیرنده‌های تشخیص الگو) الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن و مرتبط با خطر را شناسایی و به القا پاسخ‌های التهابی منجر شوند. فعال‌سازی NLRs منجر به تعامل اینفلامازوم NLRP3 با پروتئین تعدیل‌کننده ASC می‌شود. این عمل منجر به فعال‌سازی پروکاسپاز-۱ و تولید کاسپاز-۱ می‌شود که تولید و ترشح $IL-1\beta$ و $IL-18$ را به دنبال دارد (۲). مطالعات نشان داده‌اند فعال شدن NLRP3 یکی از مکانیسم‌های کلیدی در مقاومت به انسولین است (۳). یکی از مکانیسم‌های احتمالی نقش اینفلامازوم در روند دیابت نوع دو این گونه است که اینفلامازوم NLRP3 سیگنال‌های خطر ایجاد شده در دیابت نوع ۲ از جمله پلی‌پتیدآمیلولئید جزیره‌ای، ATP (adenosine triphosphate) خارج سلولی و گونه‌های فعال اکسیژن را شناسایی کند (۴). در افراد دیابتی افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش آنتی اکسیدان‌ها باعث استرس اکسایشی می‌شود که این موضوع منجر به اثرات مخرب متعددی در دیابت می‌گردد. لذا مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند نقش بسزایی داشته باشد. مکمل آلفالیپوئیک اسید (ALA) یک آنتی‌اکسیدان قوی است و به عنوان کوفاکتور در کمپلکس آنزیمی دهیدروژناز میتوکندریایی در متابولیسم فعالیت دارد (۵). این ماده از یک طرف می‌تواند به‌طور مستقیم رادیکال‌های پروکسیل تولید شده را از بین برده، از طرف دیگر با احیای آسکوربیل و کروماتوکسیل موجب افزایش قدرت سایر آنتی‌اکسیدان‌ها گردد (۵). تحقیقات نشان می‌دهد ALA با افزایش فسفریلاسیون تیروزین در سوبسترای ۱ گیرنده انسولین و به دنبال آن، فعال‌سازی فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز، سرعت جابجایی انتقال دهنده‌های گلوکز به غشای پلاسمایی را رهبری می‌کند (۶). از طرف دیگر، در یک مطالعه مشخص گردید ALA می‌تواند باعث بهبود متابولیسم گلوکز در عضلات اسکلتی در

موش‌های چاق و مبتلا به مقاومت انسولین نژاد زوکر شود (۷). علاوه بر مداخلات تغذیه‌ای، تمرین ورزشی تأثیرات بارزی بر کنترل و درمان دیابت دارد. با این حال، شدت بهینه تمرین در کاهش مسیرهای التهابی و بهبود عملکرد سلول‌های بتا در دیابت به روشنی مشخص نیست. در این راستا، بعضی مطالعات گزارش کرده‌اند که شدت متوسط تمرین عملکرد سلول‌های بتا را بیشتر از شدت بالای تمرین بهبود می‌بخشد (۸) در حالی که بعضی مطالعات تفاوتی بین دو شدت تمرینی گزارش نکردند (۹،۱۰). علاوه بر این، بعضی مطالعات کاهش (۱۱-۱۳) و بعضی مطالعات عدم تغییر (۱۴،۱۵) NLRP3 را در نتیجه تمرینات ورزشی گزارش کردند. بنابراین، شناسایی مکانیسم‌های مولکولی حاکم بر سازگاری‌های تحریک‌شده توسط شدت‌های مختلف تمرین در بافت پانکراس می‌تواند برای کنترل و درمان دیابت مفید باشد. از آنجا که شواهدی زیادی مبنی بر بررسی پاسخ NLRP3 بافت پانکراس به شدت‌های مختلف تمرین در دسترس نیست و با وجود نتایج متناقض در رابطه با اثر تمرین بر NLRP3، و همچنین، با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی ALA، بررسی این موضوع که آیا مصرف ALA همراه تمرین ورزشی دارای اثر هم‌افزایی بر کنترل برخی مسیرهای التهابی سلول‌های بتا در دیابت است، حایز اهمیت می‌باشد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تأثیر شدت تمرین ورزشی به همراه مصرف مکمل آلفالیپوئیک اسید بر بیان ژن NLRP3 پانکراس موش‌های دیابتی بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی ۳۵ سر موش نر نژاد ویستار با سن هشت هفته در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هیستونوتک تهران انجام شد. معیار ورود به مطالعه شامل وزن ۱۹۰ تا ۲۲۰ گرم و سطح گلوکز پلاسمای بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در گروه دیابت بوده و معیارهای خروج از مطالعه شامل مرگ در اواسط مطالعه و یا بیمار شدن حیوان و اجرا نکردن دو جلسه پیاپی تمرین هر موش در گروه‌های تمرینی بود. موش‌های مورد مطالعه به تعداد پنج عدد در هر قفس از جنس پلی‌کربنات (۳۰ × ۱۵ × ۱۵ سانتی‌متر) در یک شرایط آب و هوایی کنترل شده (دمای

۲۲±۲ سانتی گراد، رطوبت ۵±۵ درصد، یک سیکل شب و روز (۱۲:۱۲) و با رژیم غذایی استاندارد و آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. پس از آشنایی موش‌ها با پروتکل تمرینی، ۵ موش به صورت تصادفی به عنوان گروه سالم جدا شد و ۳۰ موش باقیمانده دیابتی شدند و به صورت تصادفی در شش گروه: کنترل دیابت، تمرین تناوبی شدید، تمرین تناوبی متوسط، مکمل، مکمل+ تمرین تناوبی شدید، مکمل+ تمرین تناوبی متوسط قرار گرفتند. در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در دسترس آن‌ها بود. در این مطالعه برای دیابتی نمودن موش‌ها از روش استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) استفاده شد. به این صورت که با تزریق ۵۰ ml/kg استرپتوزوتوسین به صورت داخل صفاقی، القای دیابت صورت گرفت. به منظور اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها، ۴۸ ساعت پس از تزریق قند خون اندازه گیری شد و موش‌های با قند خون بالای ۲۵۰ mg/dl به عنوان موش‌های دیابت در نظر گرفته شدند (۱۰). دو هفته بعد از القا دیابت، برنامه تمرینی و مکمل‌دهی انجام شد. گروه‌های تمرینی پنج جلسه در هفته، به مدت شش هفته تمرین تناوبی انجام دادند. قبل از شروع پروتکل تمرینی، آزمودنی‌های گروه‌های تمرین به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط نوارگردان (مخصوص فعالیت بدنی حیوانات آزمایشگاهی، ساخت ایران)، در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج دقیقه با سرعت هشت تا ده متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. سپس، سرعت بیشینه دویدن هنگام حداکثر اکسیژن مصرفی برای هر رت و به منظور کنترل شدت تمرین تعیین شد. برای این منظور، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، رت‌ها شروع به دویدن کردند و سرعت نوارگردان هر دو دقیقه یک بار دو متر بر دقیقه افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند و به واماندگی برسند. سرعت نهایی رت به عنوان سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی جهت محاسبه شدت‌های تمرینی استفاده گردید. از حیوانات هر دو هفته یک بار آزمون وامانده‌ساز گرفته و شدت تمرین با توجه به مقادیر

جدید آزمون تعیین می‌شد. برنامه تمرینی تناوبی با شدت بالا و تمرین تناوبی با شدت متوسط به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته اجرا شد. در هر دو پروتکل تمرینی، موش‌ها ابتدا ۵ دقیقه با سرعت کم (۳۰-۴۰ درصد سرعت بیشینه) و با هدف گرم کردن دویدند. هر جلسه تمرینی تناوبی با شدت بالا شامل ۱۰ ست دویدن چهار دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد سرعت بیشینه و دو دقیقه استراحت فعال (۵۰-۴۰ درصد سرعت بیشینه) بین هر مرحله تمرین بود. پروتکل تمرین تناوبی با شدت متوسط شامل ۱۳ ست دویدن چهار دقیقه‌ای با شدت ۶۵-۷۰ درصد سرعت بیشینه و ۲ دقیقه استراحت فعال (۵۰-۴۰ درصد سرعت بیشینه) بین ست‌ها بود (۱۶). به منظور مکمل‌دهی به گروه‌های مکمل، روزانه میزان ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها مکمل آلفالپوئیک اسید لیپوزومال (مکمل آلفالپوئیک اسید ساخت شرکت Sigma-Aldrich کشور آمریکا) در متیل سلولز حل شده و یک ساعت بعد از تمرین به صورت گاوژ و یک وعده در روز به موش‌ها داده شد (۱۷). برای لیپوزوم کردن از روش آب‌پوشانی لایه نازک استفاده شد، بدین صورت که ابتدا لسیستین فسفولیپید (L-a-a-phosphatidylcholine) در کلروفرم حل شد و محلول اول به دست آمد. سپس کلسترول در کلروفرم حل شد و محلول دوم به دست آمد. در مرحله بعد، دو محلول به ترتیب با نسبت چهار به یک با هم ترکیب شدند. سپس این ترکیب در دستگاه روتاری، در دمای ۵۰ درجه و سرعت ۱۵۰ rpm و تحت خلا تبخیر شد و با تشکیل فیلم نازک لیپیدی، تبخیر حداقل به مدت دو ساعت ادامه یافت. سپس آلفالپوئیک اسید را در آب مقطر حل کرده و به محلول اضافه کردیم. برای هموژنایز کردن سوسپانسیون و تولید نانو وزیکول‌ها، نمونه‌های به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با همگن ساز اولتراسوند، همگن شدند. سپس سوسپانسیون هموژن شده در مجاورت نیتروژن قرار گرفت و به مدت یک ساعت تحت حرارت انتقال چربی قرار گرفت. سپس محصول تولید شده سانتریفیوژ شد و در نهایت یک سوسپانسیون شفاف از نانولیپوزوم‌ها تولید شد و تا زمان استفاده در دمای ۴درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۸). ۴۸ ساعت پس از

آخرین جلسه تمرین، در شرایط استراحت و ناشتا موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلازین (۳-۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. نمونه خونی مستقیماً از قلب گرفته شد و سپس، قفسه سینه حیوان شکافته شده و بافت پانکراس موش‌ها نمونه‌برداری و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، در نیتروژن مایع نگهداری شد. جهت سنجش بیان ژن *NLRP3* مراحل مختلف انجام شد. ابتدا استخراج RNA صورت گرفت. بدین منظور سلول‌ها و بافت‌های آماده شده در شرایط کاملاً استریل و روی یخ آماده شدند. میکروتیوب‌های حاوی رسوب سلولی و یا بافت لیز شده را روی یخ قرار داده و به ازای هر ۱ میلیون سلول و ۵۰ میلی گرم بافت، ۳۰۰ میکرولیتر تریزول اضافه شد. ۵ تا ۱۰ ثانیه ورتکس کرده و آن را ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه و ۱۵ ثانیه به خوبی مخلوط گردید. میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه بر روی یخ یا دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس در ۱۲۰۰ RPM در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. به میکروتیوب‌های حاوی مایع شفاف به اندازه برابر با آن ایزوپروپانول اضافه شده و این ترکیب را به آرامی مخلوط کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ا گردید. مخلوط در ۱۲۰۰ RPM در ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. فاز روئی را به آرامی و با استفاده از سمپلر زرد دور ریخته باید دقت شود که رسوب به همراه مخلوط روئی دور ریخته نشود. ۱ ml اتانول ۷۵ درصد به رسوب اضافه و خیلی کوتاه ورتکس گردید. محلول در ۷۵۰۰ RPM در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ شد. فاز روئی را دور ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه اجازه می‌دهیم که رسوب نیمه خشک شود. پس از نیمه خشک شدن رسوب، ۲۰ μl تا ۳۰ μl آب DEPC و یا TE به آن اضافه می‌کنیم. برای حل شدن رسوب می‌توان میکروتیوب‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داد. در ادامه به بررسی کمی استخراج RNA پرداخته شد. غلظت و خلوص RNA استخراج شده توسط اسپکتروفوتومتر نانو دراپ بررسی شد. جذب نوری نمونه‌ها در

طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت آن براساس ضریب رقت برحسب ng/μl به دست آمد. بعد از این مرحله سنتز Cdna انجام شد. برای ساخت cDNA بعد از اندازه‌گیری OD نمونه‌ها، با استفاده فرمول $N1V1=N2V2$ آن‌ها را به غلظت ۱ ng/μl رسانده و برای سنتز cDNA آماده شدند. ۱۰ μl از RNA تیمار شده با Dnase (غلظت ۱ ng/μl) را درون میکروتیوب ۰/۲ ریخته و ۱۰ μl از محلول کیت سنتز cDNA به آن اضافه شد، سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۶۰ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد درون ترموسایکلر قرار داده شد. میکروتیوب‌ها روی یخ خنک شده و به منظور انجام qPCR در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. برای طراحی پرایمرها در تکنیک Real-Time PCR به روش SYBER Green I در این مطالعه، پرایمرها پس از طراحی در نرم‌افزار آنلاین Primer3، در صفحه Primer BLAST بررسی شدند. جدول ۱ توالی پرایمرها را نشان می‌دهد. برای اندازه‌گیری گلوکز و انسولین پلاسما، بعد از بیهوش کردن موش‌ها، نمونه خونی مستقیماً از قلب جمع‌آوری و به لوله آزمایش حاوی EDTA منتقل شد. نمونه‌های به‌دست آمده به سرعت به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و پلاسمای به‌دست آمده در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری شد. سنجش گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز و به‌وسیله کیت تشخیص کمی گلوکز پلاسما شرکت پارس آزمون با حساسیت ۵ میلی گرم در دسی‌لیتر انجام شد. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری (ELIZA Diagnostic insulin Demeditec) ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس گروه‌ها از آزمون لون استفاده شد. به منظور بررسی تفاوت‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی عملیات آماری با نرم‌افزار version 16 SPSS انجام گرفت.

ملاحظات اخلاقی

دانشکده تایید و کد اخلاق
(IR.IAU.SARI.REC.1399.157) برای آن صادر گردید.

این مطالعه کلیه قوانین و مقررات بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی را رعایت و توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده

ژن‌ها	توالی پرایمرها
GAPDH-f	GGATAGTGAGAGCAAGAGAGAGG
GAPDH-r	ATGGTATTGGAGAGAAGGGAGGG
NLRP3-F	GGAGTGGATAGGTTTGCTGG
NLRP3-R	GGGTAGGGTCTGTTGAGGT

نتایج

در میزان بیان ژن نسبی *NLRP3* تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که در گروه دیابت ($P=0/0001$)، دیابتی مکمل ($P=0/001$) و دیابتی تمرین متوسط ($P=0/006$) نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معناداری در میزان بیان ژن نسبی *NLRP3* مشاهده شد. این درحالی است که در گروه‌های مکمل ($P=0/021$)، تمرین شدید ($P=0/001$)، تمرین متوسط ($P=0/009$)، تمرین متوسط+مکمل ($P=0/003$) و تمرین شدید+مکمل ($P=0/0001$) نسبت به گروه دیابت کاهش معناداری در میزان بیان ژن نسبی *NLRP3* مشاهده شد. نکته جالب توجه در نتایج مشاهده این بود که بین تمرین شدید+مکمل ($P=0/103$) و تمرین متوسط+مکمل ($P=0/089$) نسبت به گروه سالم تفاوت معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۱).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گلوکز پلاسما در تمام گروه‌ها به جز گروه دیابت+تمرین شدید+مکمل افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم داشت ($P=0/148$). در مقایسه با گروه دیابت، تمرین متوسط ($P=0/023$) و هم‌چنین ترکیب تمرین متوسط+مکمل ($P=0/013$) و تمرین شدید+مکمل ($P=0/001$) منجر به کاهش معنادار گلوکز شد. میزان انسولین در تمام گروه‌ها به جز گروه دیابت+تمرین شدید+مکمل کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم داشت ($P=0/089$). در مقایسه با گروه دیابت، تمرین متوسط ($P=0/021$) و تمرین متوسط+مکمل ($P=0/018$) و تمرین شدید+مکمل ($P=0/001$) منجر به افزایش معنادار انسولین شد (جدول ۲). نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه برای بیان ژن *NLRP3* در جدول ۳ نشان می‌دهد که بین گروه‌های مختلف

جدول ۲: مقایسه (انحراف معیار $\pm$ میانگین) گلوکز و انسولین پلاسما در گروه سالم و گروه‌های دیابتی تحت تاثیر تمرین و مکمل

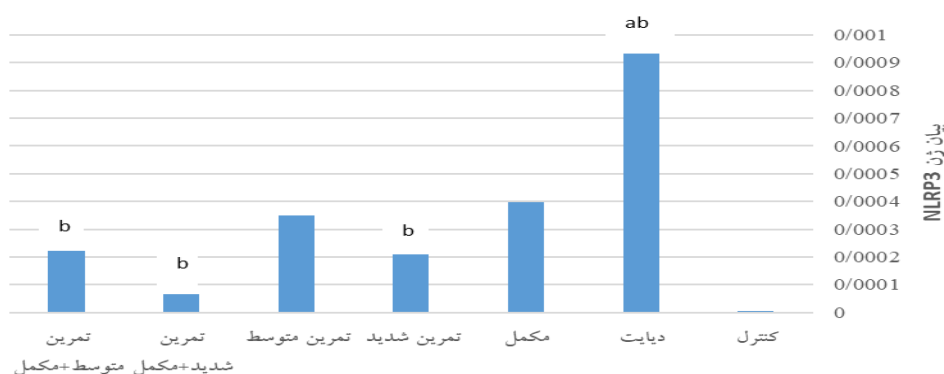
متغیر	کنترل	دیابت	مکمل	تمرین شدید	تمرین متوسط	تمرین شدید+مکمل	تمرین متوسط+مکمل	P
گلوکز (میکروگرم/دسی لیتر)	۱۰۰/۷	۲۶۶/۱ ^ε	۲۱۱/۷ ^ε	۲۰۰/۳ ^ε	*۱۸۷	*۱۴۶/۷	*۱۶۴/۳ ^ε	۰/۰۰۱
	۳/۱۴±	۹/۱۹±	۶/۳۰±	۶/۱۰±	۶/۲۲±	۸/۶±	۵/۱۵±	
انسولین (میکروگرم بر لیتر)	۹/۱۱	۴/۸۴ ^ε	۴/۵۷ ^ε	۶/۱۶ ^ε	*۵/۸۱	*۸/۰۶	*۷/۱۳ ^ε	۰/۰۱۳
	۰/۸۶±	۱/۰۲±	۰/۴۸±	۰/۷۵±	۱/۱±	۰/۶۳±	۰/۴۱±	

جهت مقایسه از آزمون تحلیل واریانس یکراهه استفاده شد.

* تفاوت معنی‌دار با دیابت، ^ε تفاوت معنی‌دار با سالم

جدول ۳: نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه برای بیان ژن NLRP3

منبع تغییرات/آماره	جمع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	عدد معنی داری
بین گروهی	۰/۰۰۰۰۱۶۹	۶	۰/۰۰۰۰۰۱۸۳	۱۸/۸۹	۰/۰۰۱
درون گروهی	۰/۰۰۰۰۴۰۲	۲۸	۰/۰۰۰۰۰۲۸۴		
کل	۰/۰۰۰۱۴۳	۳۵			

وجود تفاوت معنادار ($P < 0/05$) بین گروه های تحقیق

نمودار ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار با استفاده از آزمون توکی برای بیان ژن نسبی NLRP3 mRNA گروه‌های تحقیق.

a: تغییرات معنادار نسبت به گروه کنترل. b: تغییرات معنادار نسبت به گروه دیابت

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که دیابت نوع دو سبب افزایش قابل توجه گلوکز پلاسما شد که با افزایش بیان ژن NLRP3 بافت پانکراس نسبت به گروه کنترل سالم همراه بود. همسو با این پژوهش، Carlos و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند القای دیابت با استرپتوزوتوسین در موش‌ها سبب افزایش بیان ژن NLRP3 می‌گردد (۱۹). Kim و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که افزایش بیان ژن NLRP3 پیشرفت دیابت را تسهیل می‌کند (۲۰). مطالعات متعددی نشان دادند سرکوب ژن NLRP3 منجر به بهبود تحمل به گلوکز و حساسیت به انسولین و همچنین کاهش سطوح سایتوکین‌های التهابی سرم و بافت‌های متابولیکی و از طرفی افزایش فعالیت مسیر سیگنالینگ PI3K-AKT انسولین موش‌های چاق دیابتی می‌شود (۲۱). از طرفی، عباسی و همکاران (۲۰۱۸) ارتباط

مستقیمی بین اینفلامازوم NLRP3، التهاب مزمن و مقاومت به انسولین را نشان دادند (۱۲). فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 در دیابت نوع دو منجر به تولید IL-1 β و IL-18 می‌شود که باعث مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی در بافت‌هایی از قبیل پانکراس می‌شود (۱۲). مطابق با نتایج بدست آمده، هر دو نوع تمرین تناوبی با شدت متوسط و بالا باعث کاهش معنی‌دار بیان اینفلامازوم NLRP3 بافت پانکراس و همچنین کاهش گلوکز در مقایسه با گروه دیابتی شد به‌طوریکه تمرین با شدت بالا منجر به کاهش بیشتر این ژن شد. این نتایج با کاهش سطح گلوکز در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه دیابت همراه بود. مطالعات نشان داده‌اند که بلاک ژن‌های NLRP3 و کاسپاز-۱ منجر به بهبود تحمل به گلوکز و حساسیت به انسولین و همچنین کاهش سطوح سایتوکین‌های التهابی سرم و بافت‌های متابولیکی در موش‌های در معرض رژیم‌های پر چرب قرار گرفته می‌شود (۲۲). علاوه براین، عواملی از قبیل

هیپرگلیسمی، عدم تعادل ردوکس و عدم تعادل کلسیمی منجر به القاء استرس‌های شبکه آندوپلاسمی می‌شوند. استرس‌های شبکه سارکوپلاسمی از طریق مسیرهای سیگنالینگ *IRE-NF-kB*، *CHOP* و *IRE-TRF2-ASK1* منجر به القاء اثرات التهابی و آپوپتوزی می‌شود. تنظیم منفی بیان فاکتورهای ذکر شده به وسیله فعالیت ورزشی منجر به کاهش عوامل التهابی از قبیل اینفلامازوم *NLRP3*، β -IL، کاسپاز-۱، پروتئین‌های تعاملی تیورودوکسین، گونه‌های اکسیژنی فعال و دیگر عوامل القاء کننده التهاب می‌شود (۲۳). بنابراین ممکن است کاهش سطح گلوکز بعد از هشت هفته تمرین منجر به کاهش بیان *NLRP3* بافت پانکراس شده باشد. در تایید این نتایج، عباسی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که فعالیت ورزشی استقامتی با شدت متوسط و بالا باعث کاهش معنی‌دار بیان اینفلامازوم *NLRP3* بافت چربی احشایی و کاهش سطوح گلوکز سرمی در مقایسه با گروه دیابتی شده است. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات Kim و همکاران (۲۴)، Mardare و همکاران (۲۵) و Pea و همکاران (۲۶) همخوانی دارد. Kim و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که ۱۶ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط (دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۰ تا ۱۴ متر در دقیقه) و بالا (دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۴ تا ۱۸ متر در دقیقه) منجر به کاهش بیان ژن *NLRP3* بافت چربی موش‌های چاق شد (۲۴). Mardare و همکاران (۲۰۱۶) کاهش سطوح *NLRP3 mRNA* بافت چربی موش‌های چاق را به دنبال ۱۰ هفته تمرینات هوازی و مقاومتی گزارش کردند. در این مطالعه تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با شدت ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تمرین مقاومتی شامل سه ست سه دقیقه‌ای انقباض ایزومتریک بود (۲۵). کاهش بیان اینفلامازوم *NLRP3* در افراد سالمند به دنبال هشت هفته تمرینات مقاومتی فزاینده در مطالعه Peña و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شد (۲۶). عباسی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط (سرعت ۱۶-۱۴ متر در دقیقه) و بالا (سرعت ۲۲-۲۰ متر در دقیقه) منجر به کاهش سطوح *NLRP3 mRNA* بافت چربی موش‌های دیابتی شد ولی

تمرین با شدت پایین (سرعت ۵-۸ متر در دقیقه) اثری بر آن نداشت (۱۲). در مقابل، Zaidi و همکاران (۲۰۱۹) نتیجه گرفتند که ۱۲ هفته تمرین هوازی اثری بر بیان ژن *NLRP3* بافت چربی بیماران دیابتی نداشت (۱۴). زارع و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که هشت هفته تمرین استقامتی با شدت ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی اوج اثری بر *NLRP3* موش‌های چاق نداشت (۱۵). تفاوت در نتایج مطالعات ذکر شده ممکن است به دلیل تفاوت در نمونه تحقیق، پروتکل تمرینی، آزمودنی‌ها و بافت مورد هدف و روش اندازه‌گیری *NLRP3* باشد. در مطالعه Zaidi و همکاران (۱۴) آزمودنی‌ها بیماران مبتلا به بیماری شریان کرونری و دیابت بودند و بیان ژن *NLRP3* در بافت چربی و لکوسیت‌های در گردش اندازه‌گیری شد. پروتکل تمرینی سه جلسه در هفته و با شدت متوسط انجام شد که شامل دو جلسه فعالیت هوازی و یک جلسه فعالیت مقاومتی بود. دو سوم تمرینات به‌صورت گروهی و یک سوم تمرینات را هر آزمودنی در منزل اجرا کرد. با توجه به عدم تغییر وزن بدن بعد از تمرین، به نظر می‌رسد که شدت تمرین به اندازه کافی نبوده که بر سطوح *NLRP3* بافت چربی اثرگذار باشد. در مطالعه زارع و همکاران (۱۵)، موش‌ها چاق و غیردیابتی بودند و *NLRP3* به روش الیزا اندازه‌گیری شد. پروتکل تمرینی به مدت هشت هفته و با شدت ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی اوج به‌صورت دویدن روی تردمیل اجرا شد. با توجه به اینکه در این مطالعه تمرین منجر به کاهش IL-1 شد، اگر اندازه‌گیری *NLRP3* با بیان ژن یا پروتئین انجام می‌شد ممکن بود نتایج متفاوتی حاصل شود. تشکیل کمپلکس اینفلامازوم *NLRP3* سیتوزولیک در دو مرحله انجام می‌شود: گام اول القاء نسخه‌برداری اجزای اینفلامازوم از قبیل *NLRP3*، Pro IL-1 β و Pro IL-18 از طریق فعال‌سازی سیگنالینگ NFkB و واسطت شده به‌وسیله گیرنده‌های شبه گذرگاهی (TLRs) است. در گام دوم، الیگومریزاسیون هموتیپیک *NLRP3*ها افزایش پیدا می‌کند و موجب شکل‌گیری اینفلامازوم فعال می‌شود که قابلیت تبدیل شکل‌های نابالغ IL-1 β و IL-18 به شکل‌های بالغ آن را دارد (۲۷). مشخص نیست که اثرات

مهارى تمرينات ورزشى بر فعال سازى اينفلامازوم *NLRP3* در کدام يك از مراحل تشكيل اين كمپلكس انجام مى‌شود. نشان داده شده است تمرينات ورزشى از طريق كاهش فسفوريلاسيون $IKK\beta$ منجر به كاهش فعال سازى *TLRs* در بافت‌هاى مختلف مى‌شود (۲۸). بنابر اين، تمرين ممكن است مسير اينفلامازوم *NLRP3* را درگام اول مهار كند. هم‌چنين گزارش شده است، تمرين گام اوليه فعال سازى اينفلامازوم *NLRP3* در موش‌هاى چاق را از طريق كاهش استرس‌هاى شبكه آندوپلاسمى را مهار مى‌كند (۲۹). علاوه بر اين، محققين نشان دادند عملکرد و محتوای میتوکندريایی سلول‌های بتا در بیماران مبتلا به دیابت كاهش پيدا مى‌كند. گزارش شد تخریب میتوکندريایی یکی از علل فعال سازى اينفلامازوم *NLRP3* است. میتوفاژى از طريق حذف میتوکندرى‌هاى آسیب دیده موجب بهبود هموستاز سلول مى‌شود و به جلوگیری از افزایش التهاب ناشى از فعال سازى اينفلامازوم *NLRP3* منجر مى‌شود (۳۰). مطالعات نشان دادند فعاليت‌هاى ورزشى موجب افزایش چگالى و بهبود عملکرد میتوکندريایی سلول‌هاى بتا پانكراس در افراد دیابتى مى‌شود (۳۱). میتوکندرى نقش مهمی در تنظيم آپوپتوز سلول‌هاى بتا ایفا مى‌كند و استرس اكسایشى نیز به عنوان يك آغازگر مهم آپوپتوز در سلول‌هاى بتا مى‌باشد (۳۲). چندین سازوکار برای اثرات محافظتى تمرين‌هاى ورزشى روى آپوپتوز عضله مطرح شده است كه شامل تغيير مستقيم در بیان پروتئنى‌هاى مربوط به آپوپتوز، كاهش آزادسازى عوامل آپوپتوزنيك میتوکندرى و تغييرات توليد گونه‌هاى فعال اكسيژن و وضعيت ضداكسایشى مى‌باشد (۳۱). به نظر مى‌رسد در اثر تمرين ورزشى عملکرد میتوکندريه‌هاى سلول‌هاى بتا بهبود یافته و اين عامل منجر به افزایش مقادير عامل‌هاى مهارى و كاهش عوامل تحريكى آپوپتوز شده باشد. اين موضوع منجر به تحكيم ديواره میتوکندرى، جلوگیری از رهاسازى سيتوكروم *c*، تنظيم كلسيم رها شده از ساركوپلاسميك و كاهش اثرگونه‌هاى فعال اكسيژن ناشى از فعاليت ورزشى، ایمنى سلول بتا را بالا مى‌برد و از آپوپتوز ناشى از استرس جلوگیری مى‌كند. نتايج مطالعه حاضر نشان داد كه مكمل

ALA اثر هم‌افزایى بر تمرين دارد و مصرف آن به همراه تمرين منجر به كاهش بیشتر *NLRP3* بافت پانكراس و سطوح گلوکز پلاسما نسبت به مكمل يا تمرين به تنهائى شد. به نظر مى‌رسد تمرين هوازى با شدت متوسط و بالا توانسته از طريق مكانيسم‌هاى سلولى وابسته به فعاليت ورزشى باعث كاهش سطح گلوکز در گروه‌هاى تمرينى شده باشد. فعاليت ورزشى باعث مى‌شود *GLUT-4* از جاىگاه‌هاى ذخيره‌هاى درون سلولى خود به جاىگاه‌هاى غشاء پالسمایى و مجارى عرضى ساركولمايى نقل مكان كند (۳۳). انتقال گلوکز با سيگنال‌هاى تنظيم مى‌شود كه با دوگانه تحريك انقباض ارتباط دارند. مهمترين اين سيگنال‌ها افزایش كلسيم شبكه ساركوپلاسمى است. اين احتمال وجود دارد كه كلسيم رها شده در حين انقباض به‌طور مستقيم با پروتئين‌هاى *SNARE* كه در انتقال وزيكول‌هاى *GLUT-4* به ساركولما درگیرند وارد تعامل شوند. به علاوه، كلسيم از مسيرهاى پیام‌رسانى حساس به كلسيم از قبل ايزوفرم سنتى پروتئين كيناز *C* و كيناز وابسته به كلسيم يا كالمودولين عمل مى‌كنند (۳۴). در مجموع به نظر مى‌رسد اين نتايج، فعال شدن پروتئين كيناز *C* در انتقال گلوکز عضلانى ناشى از تحريك انقباضى را نشان مى‌دهند. با توجه به اينكه دیابت با افزایش فشار اكسایشى و آپوپتوز سلول‌هاى بتا همراه است (۳۵)، به نظر مى‌رسد كه *ALA* با ویژگی‌هاى آنتى‌اكسيدانى خود اثرات تمرين ورزشى را تقويت مى‌كند. در اين رابطه، مطالعه *Uchendu* و همكاران (۲۰۱۸) نشان داد كه *ALA* منجر به افزایش سوپراكسيد دسموتاز و كاتالاز و كاهش مالون‌دى‌آلدهيد بافت پانكراس موش‌هاى دیابتى شد، كه عملکرد آنتى‌اكسيدانى *ALA* و توانايى آن در مهار فعاليت راديكال‌هاى آزاد و بهبود حالت ردوكس را تأييد مى‌كند (۳۶). نشان داده است كه فعال سازى مسير سيگناليك آدنوزين منوفسفات حلقوى (*cAMP*) بوسيله *ALA* افزایش مى‌يابد كه اين موضوع منجر به افزایش بيان پروتئين‌هاى آنتى‌آپوپتوزى *BCL-2* و *BCL-X1* و مهار فعال سازى كاسپازها مى‌شود (۳۷). مطالعات نشان داده‌اند در افراد مبتلا به دیابت سطح *ALA* كاهش مى‌يابد (۳۸). چندین مطالعه هم خاصیت

دیابتی مطالعات محدودی انجام شده است. از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری فاکتورهای مرتبط با آپوپتوز در سلول‌های بتا اشاره کرد. همچنین، اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در تبیین و تفسیر بهتر نتایج کمک نماید که در مطالعه حاضر بررسی نشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد دیابت با افزایش بیان ژن *NLRP3* در بافت پانکراس همراه است و تمرین تناوبی شدید و متوسط به همراه مصرف مکمل آلفالیپوئیک اسید می‌تواند با کاهش سطوح گلوکز خون و ماموت به انسولین احتمالاً باعث کاهش میزان *NLRP3* بافت پانکراس و التهاب ناشی از مسیر سیگنالینگ *NLRP3* را کاهش و کنترل کند. با وجود این، با توجه به مطالعات اندک انجام شده در این رابطه، درک اثرات فعالیت ورزشی بر فاکتورهای درگیر در التهاب ناشی از بیماری دیابت نیاز به پژوهش‌های بیشتری دارد.

سپاس‌گزاری

این مقاله مستخرج از رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری است. بدین وسیله نویسندگان از کلیه کسانی که در انجام این پژوهش یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌نمایند.
حامی مالی: ندارد.
تعارض در منافع: وجود ندارند.

References:

- 1-Sproston NR, Ashworth JJ. **Role of C - reactive protein at Sites of Inflammation and Infection.** Front Immunol 2018; 9: 754.
- 2-Groslambert M, Py BF. **Spotlight on the NLRP3 Inflammasome Pathway.** Inflamm Res 2018; 11: 359-74.

آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و کاهش قند خون ALA را نشان داده است (۳۹،۴۰). یافته‌های مطالعات حاکی از آن هستند که ALA عمل انسولین را از طریق اثر بر مسیر سیگنالینگ انسولین تقلید می‌کند. این اثر تحریکی با فعال کردن فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3-K) و فعال‌سازی Akt/پروتئین کیناز B در ارتباط است (۴۱). هم‌چنین درمان طولانی مدت با ALA اکسیداسیون گلوکز و هم تولید گلیکوژن را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، تحریک فسفریلاسیون تیروزین در گیرنده انسولین از دیگر نقش‌های اسید لیپوئیک می‌باشد و می‌تواند به عنوان یک عامل موثر در بهبود متابولیسم گلوکز و کاهش سطح آن در بیماران دیابتی نوع ۲ عمل کند. در تایید این مطلب در مقالات دیگری نیز مطرح شده که استفاده از ALA چه در یک دوره کوتاه مدت و چه طولانی مدت، سبب بهبود مصرف گلوکز در بیماران دیابتی نوع ۲ گردیده است (۴۲). EL Midaoui و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که رژیم غذایی حاوی ALA در موش‌هایی که به آن‌ها گلوکز خورنده شده بود، باعث کاهش معنیدار سطح گلوکز و هم‌چنین جلوگیری از ایجاد مقاومت به انسولین از طریق فعال‌سازی روندهای آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۴۳). بر اساس نتایج مطالعه Peth و همکاران، لیپوئیک اسید می‌تواند باعث بهبود متابولیسم گلوکز در عضلات اسکلتی و کل بدن در موش‌های چاق Zucker مبتلا به مقاومت به شود (۴۴). در مجموع درباره اثر تمرین و مکمل ALA بر میزان *NLRP3* در آزمودنی‌های

- 3-Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, et al. **The NLRP3 Inflammasome Instigates Obesity-Induced Inflammation And Insulin Resistance.** Nat Med 2011; 17(2): 179-88.

- 4-Dixit VD. *Nlrp3 Inflammasome Activation in Type 2 Diabetes: Is it Clinically Relevant?* Diabetes 2013; 62(1): 22-4.
- 5- Golbidi S, Badran M, Laher I. *Diabetes and Alpha Lipoic Acid*. Front Pharmacol 2011; 2: 69.
- 6-Rochette L, Ghibu S, Muresan A, Vergely C. *Alpha-Lipoic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential in Diabetes*. Can J Physiol. Pharmacol 2015; 93(12): 1021-7.
- 7-Midaoui A, Fantus G, Boughrou A, Couture R. *Beneficial Effects of Alpha-Lipoic Acid on Hypertension, Visceral Obesity, UCP-1 Expression and Oxidative Stress in Zucker Diabetic Fatty Rats*. Antioxidants 2019; 8(12): 648.
- 8-Malin KS, Francois M, Eichner Z, Gilbertson N, Heston E, Fabris C. *Impact of Short-Term Exercise Training Intensity on -Cell Function in Older Obese Adults with Prediabetes*. J Appl Physiol 2018; 125(6): 1979-86.
- 9-Heiskanen MA, Motiani KK, Mari A, Saunavaara V, Eskelinen JJ, Virtanen KA, et al. *Exercise Training Decreases Pancreatic Fat Content and Improves Beta Cell Function Regardless of Baseline Glucose Tolerance: A Randomised Controlled Trial*. Diabetologia 2018; 61(8): 1817-28.
- 10- Holmes A, Coppey LJ, Davidson EP, Yorek MA. *Rat Models of Diet-Induced Obesity and High Fat/Low Dose Streptozotocin Type 2 Diabetes: Effect of Reversal of High Fat Diet Compared to Treatment with Enalapril or Menhaden Oil on Glucose Utilization and Neuropathic Endpoints*. J Diabetes Res 2015; 2015: 307285.
- 11- Lee J, Lee Y, LaVoy E, Umetani M, Hong J, Park Y. *Physical Activity Protects NLRP3 Inflammasome-Associated Coronary Vascular Dysfunction in Obese Mice*. Physiol Rep 2018; 6(12): 45-58.
- 12-Abbasi A, Faramarzi M, Ghatreh Samani M, Bbanitalebi E. *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*. Metabolism and Exercise, 2018; 7(1): 1-19. [Persian]
- 13-Khakroo Abkenar I, Rahmani-nia F, Lombardi G. *The Effect of Different Intensities of Acute and Chronic Aerobic Activity on the Signaling Pathway of the Inflammasome NLRP3 Complex and TLR4 and Some Inflammatory Cytokines in Young Men*. Practical Studies of Biosciences in Sport 2020; 8(16): 116-120. [Persian]
- 14-Zaidi H, Byrkjeland R, Njerve I, Akra A, Solheim S, Arnesen H, et al. *Effects of Exercise Training on Inflammasome-Related Mediators and Their Associations to Glucometabolic Variables in Patients with Combined Coronary Artery Disease and Type 2 Diabetes Mellitus: Sub-Study of A Randomized Control Trial*. Diab Vasc Dis Res 2019; 16(4): 360-8.
- 15-Zare Damirchi Z, Bashiri J, Narimani Rad MP, Hadi H. *The Effect of Eight Weeks of Endurance Training and Olive Oil Supplementation on IL-1B and NLRP3 Indices in Obese Male Rats*. Yafte 2020; 22(3): 95-107. [Persian]

- 16- Faridnia M, Mohebbi H, Khalafi M, Moghaddami K, Khalafi M. *The Effect of Interval and Continuous Training on the Content of Perilipin 1, ATGL and CGI -58 in Visceral Adipose Tissue of Obese Male Rats*. SJKU 2019; 24(1): 78-89. [Persian]
- 17- Dworacka M, Chukanova G, Iskakova S, Kurmambayev Y, Wesołowska A, Frycz B. *New Arguments for Beneficial Effects of Alpha-Lipoic Acid on the Cardiovascular System in the Course of Type 2 Diabetes*. Eur J Pharm Sci 2018; 117: 41-7.
- 18- Karimi N, Bohlooli S, Mazani M. *Nanoliposomal Formulation of Ecballium Elaterium Extract: Cytotoxic Evaluation Against Human Gastric Adenocarcinoma (AGS) Cell Line*. Nanomedicine Research Journal 2016; 1(1): 9-14.
- 19- Carlos D, Costa FRC, Pereira CA, Rocha FA, Yaochite JN, Oliveira GG, et al. *Mitochondrial DNA Activates the NLRP3 Inflammasome and Predisposes to Type 1 Diabetes in Murine Model*. Front Immunol 2017; 8: 164.
- 20- Kim Y, Wang W, Okla M, Kang I, Moreau R, Chung S. *Suppression of NLRP3 Inflammasome by Γ -Tocotrienol Ameliorates Type 2 Diabetes*. J Lipid Res 2016; 57(1): 66-76.
- 21- Stienstra R, van Diepen JA, Tack CJ, Zaki MH, van de Veerdonk FL, Perera D, et al. *Inflammasome Is a Central Player in the Induction of Obesity and Insulin Resistance*. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108(37): 15324-9.
- 22- Freigang S, Ampenberger F, Weiss A, Kanneganti T-D, Iwakura Y, Hersberger M, et al. *Fatty Acid-Induced Mitochondrial Uncoupling Elicits Inflammasome Independent IL-1 [Alpha] And Sterile Vascular Inflammation In Atherosclerosis*. Nat Immunol 2013; 14(10): 1045-53.
- 23- Hong J, Kim K, Kim J-H, Park Y. *The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Cardiovascular Disease and Exercise*. Int J Vasc Med 2017; 2017: 2049217.
- 24- Kim Y, Pitriani P, Park G, Lee W. *Moderate Intensity Exercise Has More Positive Effects on The Gene Expression of Inflammasome, M1, M2 Macrophage Infiltration and Brown Adipocyte Markers Compared to High Intensity Exercise in Subcutaneous Adipose of Obese Mice Induced by High Fat Diet*. Life Science 2019; 29 (3): 303-10.
- 25- Mardare C, Krüger K, Liebisch G, Seimetz M, Couturier A, Ringseis R, et al. *Endurance And Resistance Training Affect High Fat Diet-Induced Increase of Ceramides, Inflammasome Expression, and Systemic Inflammation in Mice*. J Diabetes Res 2016; 2016: 4536470.
- 26- Mejías-Peña Y, Estébanez B, Rodríguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M, de Paz JA, et al. *Impact of Resistance Training on the Autophagyinflammation-Apoptosis Crosstalk in Elderly Subjects*. Aging (Albany NY) 2017; 9(2): 408-18.
- 27- He Y, Franchi L, Núñez G. *TLR Agonists Stimulate Nlrp3-Dependent IL-1 β Production Independently of the Purinergic P2X7 Receptor in Dendritic Cells and in Vivo*. Immunology 2013; 190(1): 334-9.
- 28- Oliveira AG, Carvalho BM, Tobar N, Ropelle ER, Pauli JR, Bagarolli RA, et al. *Physical Exercise Reduces Circulating Lipopolysaccharide and TLR4*

- Activation and Improves Insulin Signaling in Tissues of DIO Rats*. Diabetes 2011; 60(3): 784-96.
- 29- Goossens GH, Blaak EE, Theunissen R, Duijvestijn AM, Clément K, Tervaert JWC, et al. *Expression of NLRP3 Inflammasome and T Cell Population Markers in Adipose Tissue are Associated with Insulin Resistance and Impaired Glucose Metabolism in Humans*. Mol Immunol 2012; 50(3): 142-9.
- 30- Rovira-Llopis S, Apostolova N, Ban-uls S, Muntane J, Rocha M, Victor V. *Mitochondria, the NLRP3 Inflammasome, and Sirtuins in Type 2 Diabetes: New Therapeutic Targets*. Antioxid & Redox Signal 2018; 29(8): 749-90.
- 31- Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. *Mitochondrial Apoptotic Signaling is Elevated in Cardiac But Not Skeletal Muscle in the Obese Zucker Rat and is Reduced with Aerobic Exercise*. J Appl Physiol 2008; 105(6): 1934-43.
- 32- Marin-Garcia J, Goldenthal MJ. *Mitochondrial Centrality in Heart Failure*. Heart Fail Rev 2008; 13(2): 137-50.
- 33- Pereira RM, Moura LP, Muñoz VR, Silva AS, Gaspar RS, Ropelle ER, et al. *Molecular Mechanisms of Glucose Uptake in Skeletal Muscle at Rest and In Response to Exercise*. Motriz- Revista De Educação Física 2017; 23: e101609.
- 34- Sylow L, Kleinert M, Richter EA, Jensen TE. *Exercise-Stimulated Glucose Uptake [Mdash] Regulation and Implications for Glycaemic Control*. Nat Rev Endocrinol 2017; 13(3): 133-48
- 35- EL-Sabbagh D, Dawood L, Abdallah AA, Hassan S. *Effect of Alpha Lipoic Acid on Apoptotic Mechanisms and Oxidative Stress in Pancreatic Cells of High Fat Diet Induced Type II Diabetes Mellitus in Rats*. Med J Cairo Univ 2019; 87(3): 1615-23.
- 36- Uchendu C. *Chronic Co-Exposure to Chlorpyrifos and Deltamethrin Pesticides Induces Alterations in Serum Lipids and Oxidative Stress in Wistar Rats: Mitigating Role of Alpha-Lipoic Acid*. Environ Sci Pollut Res 2018; 25(20):19605-11.
- 37- Kim SJ, Nian C, Widenmaier S, McIntosh CH. *Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide-Mediated Up-Regulation of B -Cell Antiapoptotic Bcl-2 Gene Expression is Coordinated by Cyclic AMP (Camp) Response Element Binding Protein (CREB) and Camp-Responsive CREB Coactivator 2*. Mol Cell Biol 2008; 28 (5): 1644-56.
- 38- Mendoza-Núñez VM, García-Martínez BI, Rosado-Pérez J, Santiago-Osorio E, Pedraza-Chaverri J, Hernández-Abad VJ. *The Effect of 600 Mg Alpha-Lipoic Acid Supplementation on Oxidative Stress, Inflammation, and RAGE in Older Adults with Type 2 Diabetes Mellitus*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2019; 3276958; 67-79.
- 39- Gorąca A, Huk-Kolega H, Piechota A, Kleniewska P, Ciejk E, Skibska B. *Lipoic Acid-Biological Activity and Therapeutic Potential*. Pharmacological Reports 2011; 63: 849-58.
- 40- Akbari M, Ostadmohammadi V, Tabrizi R, Mobini M, Lankarani KB, Moosazadeh M, et al. *The Effects of Alpha-Lipoic Acid Supplementation on Inflammatory Markers among Patients with Metabolic Syndrome and Related Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis of*

- Randomized Controlled Trials*. Nutr Metabol 2018; 15(1): 39.
- 41- Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y. **Omentin. A Novel Adipocytokine Inhibits Tnf-Induced Vascular Inflammation in Human Endothelial Cells**. Biochem Biophys Res Commun 2011; 408(2): 339-43.
- 42- Liu R, Wang X, Bu P. **Omentin-1 Is Associated With Carotid Atherosclerosis In Patients With Metabolic Syndrome**. Diabetes Res Clin Pract 2011; 93(1): 21-5.
- 43- El Midaoui A, de Champlain J. **Prevention of Hypertension, Insulin Resistance, and Oxidative Stress by Alpha-Lipoic Acid**. Hypertension 2002; 39(2): 303-7.
- 44- Peth JA, Kinnick TR, Youngblood EB, Tritschler HJ, Henriksen EJ. **Effects of a Unique Conjugate of Alpha-Lipoic Acid and Gamma-Linolenic Acid on Insulin Action in Obese Zucker Rats**. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2000; 278(2): 453-9.

NLRP-3 Expression in Pancreatic Tissue Following Moderate and High Intensity Interval Training with Liposomal Alpha-Lipoic Acid Supplement in Diabetic Rats

Seyed Abdollah Fatemi¹, Amin Frzane Hesari^{*2}, Mino Dadban Shahamat³

Original Article

Introduction: Activation of NLRP-3 Inflammasome is considered an indicator of chronic inflammation in type 2 diabetes. Regular exercise training along with antioxidants supplements can control inflammation. The aim of the present study was to investigate the effect of training with different intensity and alpha lipoic acid supplement on pancreatic NLRP-3 expression in diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 35 Wistar rats were randomly divided into seven groups: control, diabetic, diabetic+ supplement (S), diabetic+ high intensity training (HIT), diabetic+ moderate intensity training (MIT), diabetic+ high intensity training + supplementation (HIT+S), diabetic+ moderate intensity training + supplementation (MIT+S). The HIT and MIT protocols were performed five days a week for six weeks. HIT included 10 bouts of four minutes running (at 85–90% of VO₂max) and MIT, 13 bouts of four minutes running (at 65–70% of VO₂max). Alpha lipoic acid was administered orally at a dose of 20 mg/kg was given to rats once a day by gavage. Blood and tissue sample was taken 24 h after last exercise session. Real-time PCR method for the relative expression of NLRP-3 gene expression was used. **Results:** Expression of LRP-3 gene in pancreatic tissue was increased significantly in the diabetic group compared to control group (p=0.0001). In addition, S (P = 0.021), MIT (P = 0.009), HIT (P = 0.001), MIT+S (P = 0.003) and HIT+S (P = 0.0001), significantly reduced the NLRP-3 levels in pancreatic tissue compared to the diabetic group.

Conclusion: Type 2 diabetes is associated with increased mRNA NLRP-3 in pancreatic tissue. MIT and HIT plus alpha lipoic acid can be considered as an effective intervention in decreasing pancreatic mRNA NLRP-3 in diabetic rats.

Keywords: Interval training, Alpha lipoic acid, NLRP-3, Diabetes.

Citation: Fatemi A, Frzane Hesari A, Dadban Shahamat M. *Nlrp-3 Expression in Pancreatic Tissue Following Moderate and High Intensity Interval Training with Liposomal Alpha-Lipoic Acid Supplement in Diabetic Rats.* J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 30(2): 4593-4606.

^{1,2}Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

³Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09113707492, email: af.hessari@gmail.com