

# آثار تمرین هم زمان (مقاومتی-استقامتی) بر بیان ژن های اینترفرون گاما، اینترلوکین ۱۸ و فاکتور رشد تراریختی بتا در لکوسیت زنان سالم و دیابتی نوع ۲

مریم حیدریان<sup>۱</sup>، امیرعباس منظمی<sup>۱\*</sup>، ناصر بهپورا<sup>۱</sup>، علی مصطفایی<sup>۲</sup>

(۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

(۲) مرکز تحقیقات بیولوژیک، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۲۶

## چکیده

**مقدمه:** تمرینات استقامتی موجب افزایش بیان ژن سایتوکاین های ضد التهابی و کاهش بیان ژن سایتوکاین های پیش التهابی در افراد سالم می شوند با این وجود، تحقیقات در خصوص نقش تمرینات هم زمان بر بیان ژن این سایتوکاین ها در افراد دیابتی محدود است. بنا بر این هدف از تحقیق حاضر تعیین آثار تمرین هم زمان بر بیان ژن سایتوکاین های پیش التهابی و ضد التهابی در لکوسیت زنان سالم و دیابتی نوع ۲ بود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه، ۱۲ نفر از زنان دیابتی با محدوده سنی ۳۸-۳۰ سال به صورت تصادفی انتخاب و در سه گروه تمرین هم زمان (سالم ۶ نفر) تمرین هم زمان (دیابتی ۶ نفر) و کنترل دیابتی (۶ نفر) قرار گرفتند. پروتکل تمرینی هم زمان شامل اجرای تمرین مقاومتی به روش درونگرا سه ست ۸ تکراری با ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه ( $3 \frac{80}{8}$ ) و سپس تمرین استقامتی دویدن بر روی تردمیل به مدت سی دقیقه (سه ست ۱۰ دقیقه ای) با شدت ۷۰-۸۰ درصد حداکثر ضربان قلب بود. میزان بیان ژن mRNA (IFN- $\gamma$ , IL-18 and TGF- $\beta$ ) لکوسیت های خون از طریق تکنیک Real time-PCR و بیان کمی ژن ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه گردید. از آزمون آماری (permutation t-test) و آنوای یک راهه مستقل جهت تعیین تفاوت متغیرها استفاده گردید.

**یافته های پژوهشی:** یافته های مطالعه حاضر نشان داد که کاهش میزان بیان ژن اینترفرون گاما و عامل رشد تراریختی بتا در زنان سالم و دیابتی نوع ۲ بعد از فعالیت نسبت گروه کنترل معنادار نبود ( $P>0.05$ ). علاوه بر این، نتایج تحقیق نشان داد که ژن اینترلوکین ۱۸ در لکوسیت زنان سالم و دیابتی نوع ۲ بلافاصله بعد از تمرین بیان نشده است ( $P>0.05$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر آن است که تمرین هم زمان در یک وهله نمی تواند تغییر معناداری را در بیان ژن اینترفرون گاما، عامل رشد تراریختی بتا و اینترلوکین ۱۸ ایجاد کند. برای ایجاد تغییرات احتمالاً به مدت و شدت بالاتری از این نوع تمرین نیاز باشد.

**واژه های کلیدی:** دیابت نوع ۲، تمرینات هم زمان، اینترفرون گاما، عامل تغییر رشد بتا، اینترلوکین ۱۸

\* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

Email: monazzami.amirabbas@gmail.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

دیابت نوع ۲، نوعی اختلال در سوخت و ساز بدن است که با افزایش گلوکز خون در شرایط مقاومت به انسولین و یا کمبود نسبی انسولین شناسایی می شود (۱،۲). یکی از علل ایجاد دیابت نوع ۲، عدم تحرک و متعاقب آن چاقی است که با افزایش ذخایر بافت چربی همراه است. بسیاری از تحقیقات نشان داده اند که با افزایش سلول های چربی تولید آدیپوکاین ها در خون افزایش می یابد. آدیپوکاین ها به عنوان واسطه هایی در تنظیم فرآیندهای التهابی در نارسایی های ناشی از عدم تحرک و مقاومت به انسولین نقش اساسی دارند (۳). در شرایط التهاب، سطوح سایتوکاین های پیش التهابی در خون افزایش می یابد و از طرف دیگر سایتوکاین های ضد التهابی کاهش می یابند (۶).  $IL-10$  و  $IL-18$ ،  $IFN-\gamma$ ،  $TGF-\beta$  مهم ترین سایتوکاین هایی هستند که در فرآیند التهاب نقش دارند. برخی از این سایتوکاین ها پیش التهابی و برخی دیگر ضد التهابی هستند که با افزایش و کاهش سطوح خود موجب مقاومت به انسولین می گردند (۴).

یکی از سایتوکاین های پیش التهابی ویژه در دیابت نوع ۲، اینترفرون گاما است که عمدتاً توسط لنفوسیت های T و سلول های کشنده طبیعی NKI تولید و ترشح می شود (۵-۸). اینترفرون گاما با اتصال به گیرنده خود باعث فعال شدن مسیر  $STATE\ JAK$  در داخل سلول می شود و از طرف دیگر به HS در سطح سلول متصل می شود و در نتیجه باعث ارتقای فعالیت بیولوژیکی اینترفرون گاما در داخل سلول می گردد (۹). از طرف دیگر، اینترلوکین-۱۸ به عنوان عامل اصلی پیش بینی کننده دیابت نوع ۲ شناخته شده است و در مطالعات مختلف نشان داده شده است که غلظت پلاسمایی اینترلوکین ۱۸ به طور مستقیم با مقاومت به انسولین ارتباط دارد و با فعال کردن مسیر  $JAK/STAT$  باعث ایجاد التهاب می گردد (۱۰-۱۲). در حالی که  $TGF-\beta$  یک سایتوکاین ضد التهابی است که به وسیله سلول های التهابی سنتز می شود کاهش در سطوح  $TGF-\beta$  باعث از بین رفتن میتوکندری ها می گردد و در نتیجه فعالیت متابولیکی و سوزانده شدن چربی های قهوه ای را کاهش می دهد و باعث تجمع بیشتر

چربی های سفید می گردد و بدین ترتیب در بیماری دیابت نوع ۲ نقش ایفا می کند (۱۳،۱۴). داروهای رایج در دسترس بر کاهش اثرات مخرب دیابت نوع دو موثر هستند، اما عوارض جانبی زیادی دارند و همین مسئله استراتژی های درمانی غیر دارویی را مورد بررسی و مطالعه بیشتر قرار داده است. برنامه های تمرینی ورزشی مختلفی با اثرات متفاوت در روند بهبودی این بیماری نقش دارند. در چندین مطالعه نشان داده شده که تمرینات مقاومتی و هم چنین تمرین تداومی از طریق توسعه توده عضلانی سبب کاهش سطوح انسولین و مقاومت به انسولین می شوند بر همین اساس تحقیقاتی در خصوص اثر تمرینات ورزشی بر کاهش عوارض ناشی از مقاومت به انسولین صورت گرفته است (۱۴).

در مطالعه پوتر و همکاران (۲۰۱۱) اثر دیابت نوع ۲ بر میزان سطوح اینترفرون گاما در موش های دیابتی شده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که دیابت نوع ۲ موجب افزایش سطوح این سایتوکاین پیش التهابی در این نوع موش های دیابتی شده است (۱۵). در مطالعه بوفردو همکاران (۲۰۰۹) اثر ۳۰ دقیقه فعالیت هوازی را بر بیان ژن  $TGF-\beta$  در افراد دیابتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که تمرین استقامتی میزان بیان ژن این سایتوکاین ضد التهابی را ۲/۴ برابر افزایش داده است (۱۶،۲۲). در مطالعه ای که دانگس و همکاران (۲۰۱۳) اثر تمرینات هم زمان بر بیان ژن سایتوکاین ها در مردان میانسال کم تحرک مورد ارزیابی قرار دادند. نشان دادند که این تمرین موجب افزایش در بیان ژن سایتوکاین های پیش التهابی شده است (۱۷).

به نظر می رسد این گونه تحقیقات بیشتر بر روی فعالیت های هوازی و مقاومتی تمرکز داشته اند و بیشتر بیان پروتئین این سایتوکاین ها را در افراد دیابتی مورد بررسی قرار داده اند و تحقیقات در زمینه اثر تمرین هم زمان بر روی بیان ژن این سایتوکاین ها در افراد دیابتی نوع ۲ محدود می باشد. از طرف دیگر شواهد نشان می دهد که فعالیت ورزشی در هر جلسه تمرین به صورت هم زمان نسبت به تمرین مقاومتی و هوازی به تنهایی، به علت اثرات مضاعف ناشی از ساز و کارهای جبرانی هر دو نوع روش تمرینی، بهبود بیشتری را در حساسیت

انسولین موجب می شود. در نتیجه محقق بر آن است که مشخص نماید که آیا یک جلسه تمرین هم زمان تأثیری بر روی میزان بیان ژن سایتوکاین ها در لکوسیت زنان دیابتی نوع ۲ دارد تا از این طریق برخی مکانیسم های مسئول تنظیم بیان ژن سایتوکاین ها در زنان دیابتی نسبت به تمرین هم زمان تعیین گردد.

### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع نیمه تجربی با سه گروه که شامل گروه تمرینات هم زمان دیابتی (۶ نفر)، گروه تمرینات هم زمان سالم (۶ نفر) و گروه کنترل (۶ نفر) انجام شد. گروه های دیابتی از بین تعداد ۲۰ نفر زن دیابتی نوع ۲ تعداد ۱۲ زن دیابتی نوع ۲ با سابقه حداقل ۶ سال بیماری دیابت در محدوده سنی ۳۰-۳۸ سال و با شاخص گلیسمیک ۲۰۰-۱۳۰ میلی گرم بر دسی لیتر ۱۲ نفر به

صورت تصادفی انتخاب شدند. ۶ نفر گروه سالم نیز با دامنه سنی ۳۸-۳۰ سال و داشتن معیارهای ورود به تحقیق به طور تصادفی از بین ۲۰ نفر انتخاب شدند. معیارهای ورود به تحقیق شامل نداشتن سابقه ابتلا به بیماری های قلبی-عروقی، فشارخون، دخانیات، فعالیت ورزشی و مصرف داروهای metformin, sulfonylurea and glitazone بود. بدیهی است آزمودنی هایی که این شرایط را نداشتند و یا در حین اجرای مراحل تحقیق در تمرین یا اندازه گیری متغیرها شرکت نمی کردند و یا آسیب می دیدند از روند تحقیق حذف می شدند. این پژوهش توسط کمیته اخلاق در دانشکده تربیت بدنی به تصویب رسید (جدول شماره ۱). هم چنین اندازه گیری های قد، وزن و شاخص توده بدنی افراد دیابتی به وسیله دستگاه ترکیب بدن مدل ZEUS 9.9 اندازه گیری شد.

جدول شماره ۱. مشخصات آنترپومتریک و متابولیک آزمودنی های تحقیق متغیرها

متغیر	سالم (میانگین و انحراف معیار)	دیابتی (میانگین و انحراف معیار)
سن (سال)	۳۵/۶۶±۰/۷	۳۶/۶۶±۲/۶۵
وزن (کیلوگرم)	۶۳/۷۵±۲/۷	۶۶/۱±۳/۱۱
درصد چربی (درصد)	۱۹/۸۸±۰/۴۲	۲۷±۲/۴۶
BMI (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۴/۰۱±۱/۲	۳۰/۹±۲/۵۴
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	۹۲/۶±۹/۰۲	۱۷۰±۴۸/۷۴

پروتکل تمرینی؛ برنامه تمرینی شامل یک وهله تمرین ترکیبی (مقاومتی-استقامتی) بود که در نوبت صبح اجرا شد. جلسه تمرینی شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن، برنامه اصلی به مدت ۷۰ دقیقه و ۱۰ دقیقه سرد کردن بود. تمرین اصلی شامل: تمرینات مقاومتی که شامل چهار حرکت پرس سینه، زیربغل، اسکات و اکستنشن زانو بود. حرکات در ۳ ست ۸ تکراری، با شدت ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه (IRM) انجام گرفت. زمان برای تمرینات مقاومتی ۴۰ دقیقه و کل زمان استراحت تمرین مقاومتی ۱۲ دقیقه بود. آزمودنی ها پس از انجام تمرین مقاومتی بلافاصله فعالیت استقامتی خود را بر روی تردمیل اجرا می کردند. فعالیت استقامتی شامل ۳۰ دقیقه دویدن روی تردمیل مدل hp-cosmos با شدت ۷۵-۷۰ درصد HRmax به صورت ۳ ست ۱۰ دقیقه ای بود که آزمودنی ها بعد از پنج دقیقه از پایان تمرین مقاومتی آن را شروع می کردند.

تکنیک *Real time-PCR*: نمونه خون آزمودنی ها به میزان ۰/۵ میلی لیتر از ورید سفالیک بازو در ساعت ۸ صبح در حالت ناشتا و پیش از آزمون گرفته شد. خون تازه در لوله های حاوی EDTA به منظور جلوگیری از لخته شدن خون نگهداری شد و سریعاً با قرار دادن روی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه گیری دوم خون به مقدار ۰/۵ میلی لیتر بلافاصله پس از پایان پروتکل تمرینی صورت گرفت و به آزمایشگاه منتقل شد. استخراج RNA نمونه های خونی با استفاده از کیت (Bio Basic, L3r8t4, RNA Blood Kit, Canada, Inc) با توجه به پروتکل کشور سازنده استخراج شد. به منظور رونویسی RNA و تبدیل به cDNA از کیت (Takara Bio, Rr8201, cDNA kit, Japan, Inc) استفاده شد. به تیوپ RNA بافرهای Random 6 Mers- primer Script و آنزیم (Primer Script Rt Enzyme) دارای فعالیت

DNA پلیمرز وابسته به RNA برای سنتز cDNA و فعالیت RNaseH برای جدایی RNA از هیبرید RNA-DNA (است) اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد در دستگاه برای رونویسی معکوس و به مدت ۵ دقیقه برای غیر فعال شدن رونویسی با حرارت معکوس قرار داده شد. واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با استفاده از کیت (Prime Takara Bio, Rr037q, Script RT Reagent Kit, Inc. Japan) انجام شد. بیان mRNA ژن های اینترفرون گاما، اینترلوکین ۱۸ و TGF- $\beta$  با تشخیص زمان واقعی اندازه گیری شد. PCR با استفاده از سایبر (مخلوطی از Dntp, Mgcl<sub>2</sub>, آنزیم Taq DNA Polymerase) و در دستگاه Real Time-PCR (Polymerase) و در دستگاه Real Time-PCR اندازه گیری شد. سطح بیان ژن های اینترلوکین ۱۸،

اینترفرون گاما و TGF- $\beta$  با سطح بیان ژن گلیسر آلدئید-۳- فسفات دهیدروژناز (GAPDH) نرمال شد. داده ها به صورت نسبت mRNA سایتوکاین های مورد پژوهش به میزان بیان GAPDH بیان شدند. پرایمر ژن های مورد بررسی با استفاده از نرم افزار Oligo طراحی شده و در جدول شماره ۲ آورده شده است. برنامه مورد استفاده در Real Time شامل ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه (دناچوره شدن)، ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه (باز شدن) ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه (جفت شدن) و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه (تکثیر) (تکرار ۴۰ سیکل) بود سپس میزان بیان ژن سایتوکاین ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه گردید (۱۸) (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲: توالی پرایمرهای ژن های مورد بررسی

Primers	Forward	Reverse
TGF- $\beta$	CGACTACTACGCCAAGGA	GAGAGCAACACGGGTTCA
IFN- $\gamma$	AGCGGATAATGGAACTCTTTCTTAT	AAGTTTGAAGTAAAAGGAGCAATTTG
IL-18	GCTTGAATCTAAATTATCAGTC	GAAGATTCAAATTGCATCTTAT
GAPDH	ATCGTGCCTGACTTAAG	GTCATCACCATTGGCAAT

جدول شماره ۳: اجزای PCR جهت تکثیر ژن

Product	Syber mix ( $\mu$ l)	primers ( $\mu$ l)	Taq polymerase ( $\mu$ l)	cDNA ( $\mu$ l)	ddH <sub>2</sub> O ( $\mu$ l)
TGF- $\beta$	12/5	0/5	0/15	2	9
IFN- $\gamma$	12/5	0/5	0/15	2	9
IL-18	12/5	0/5	0/15	2	9
GAPDH	12/5	0/5	0/15	2	9

روش آماری: جهت بررسی آماری داده ها، شامل مشخصات بیماران و محاسبه میزان نسبی بیان ژن و بررسی شدت بیان در افراد دیابتی نوع ۲ از نرم افزار REST و از روش آماری (permutation t-test) و آنوای یک راهه مستقل استفاده شد. برای تمام محاسبات آماری انجام شده، P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته های پژوهشی

نتایج حاصل از برنامه تمرینی در این مطالعه کاربردی نشان داد که سطوح بیان ژن فاکتور رشد تراریخته بتا در لکوسیت خون زنان دیابتی نوع ۲ بعد از تمرین نسبت به قبل از تمرین تغییری نکرد (P=0.826) (شکل شماره ۱). میزان بیان این ژن در مقایسه با ژن مرجع ۰/۶۳۷ گزارش شده است (جدول شماره ۴). از طرفی نتایج آنالیز

داده ها با استفاده از تکنیک Real time-PCR نشان داد که سطوح بیان ژن اینترفرون گاما نسبت به قبل از تمرین تغییر نکرده است (P=0.680) (شکل شماره ۲). این میزان با توجه به کمی سازی داده ها ۰/۹۰۶ گزارش شده است (جدول شماره ۴).

هم چنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن اینترلوکین-۱۸ تحت تاثیر یک وهله تمرین ترکیبی قرار نگرفت و اینترلوکین-۱۸ در لکوسیت خون افراد دیابتی نوع ۲ بیان نشد (جدول شماره ۴). هم چنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سطوح بیان ژن فاکتور رشد تراریخته بتا در لکوسیت خون زنان غیر فعال بعد از تمرین نسبت به قبل از تمرین تغییری نشان نداد (P<0.05) (شکل شماره ۱). میزان بیان این ژن در مقایسه با ژن مرجع ۰/۷۷۴ گزارش شده است (جدول

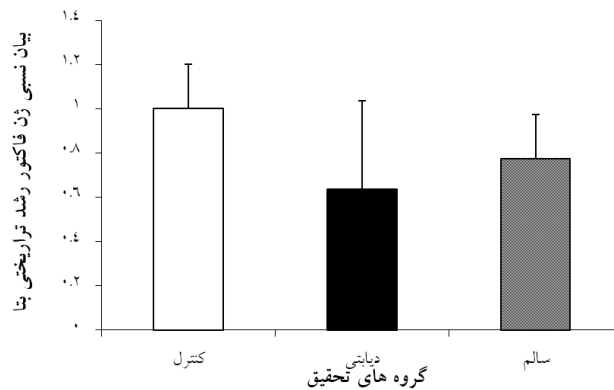
شماره ۴). از طرفی نتایج آنالیز داده ها با استفاده از تکنیک Real time-PCR نشان داد که سطوح بیان ژن اینترفرون گاما نسبت به قبل از تمرین تغییر نکرده است ( $P>0.05$ ) (شکل شماره ۲). این میزان با توجه به کمی سازی داده ها ۰/۵۴۱ گزارش شده است (جدول

شماره ۴).

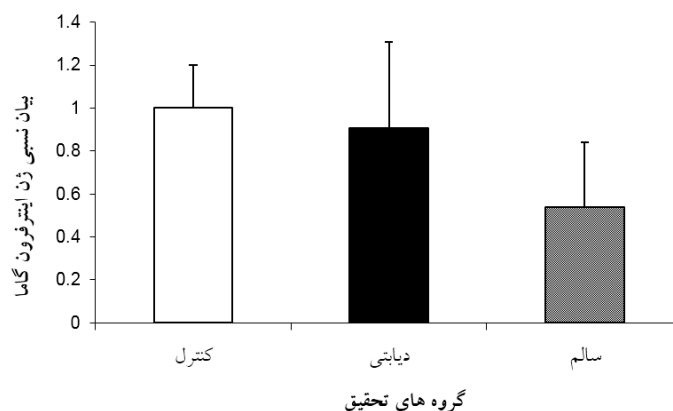
هم چنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن اینترلوکین ۱۸ تحت تاثیر یک وهله تمرین ترکیبی قرار نگرفت و اینترلوکین ۱۸ در لکوسیت خون زنان غیرفعال بیان نشد (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۴. آثار تمرین هم زمان (مقاومتی-استقامتی) بر بیان ژن های فاکتور رشد تراریختی بتا، اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱۸ در لکوسیت زنان دیابتی نوع ۲

ژن	نوع ژن	بازده واکنش	بیان	ضریب ۰/۹۵	PH	نتیجه
گلیسر آلدهید فسفات دهیدروژناز	مرجع	۱/۰	۱/۰	۱/۰۰		(GAPDH)
فاکتور رشد تراریختی بتا	هدف	۱/۰	۰/۶۳۷	۰/۰۳	۰/۵۵	(TGF- $\beta$ )
اینترفرون گاما	هدف	۱/۰	۰/۹۰۶	۰/۱۱۴	۰/۸۹۵	(INF- $\gamma$ )
اینترلوکین ۱۸	هدف	۱/۰	بیان نشد		۰/۳۲۰	(IL-18)



شکل شماره ۱. میزان بیان ژن TGF- $\beta$  در لکوسیت گروه های مختلف با استفاده از روش Real time-PCR پس از تمرین هم زمان



شکل شماره ۲: میزان بیان ژن IFN- $\gamma$  در لکوسیت گروه های مختلف با استفاده از روش Real time-PCR پس از تمرین همزمان

گاما، عامل رشد تراریخته بتا و اینترلوکین ۱۸ در لکوسیت خون زنان دیابتی نوع ۲ بود. در این مطالعه به منظور بیان ژن سایتوکاین ها، سعی شد از ساده ترین،

## بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر از نوع نیمه تجربی و با هدف اثر تمرین هم زمان بر بیان ژن سایتوکاین های اینترفرون

کارآمدترین و مطمئن ترین روش ممکن یعنی Real-time-PCR استفاده شود.

در مطالعه حاضر، پس از انجام یک جلسه تمرین هم زمان میزان بیان سایتوکاین پیش التهابی اینترفرون گاما در لکوسیت خون زنان دیابتی نوع ۲ تغییری پیدا نکرد ( $P>0.05$ ). اسمیت در تحقیق خود در مدت زمان ۶ ماه فعالیت را (هفته ای دو ساعت و نیم مورد و هر جلسه هفتاد دقیقه) بر روی ۵۲ مرد و ۱۸ زن با میانگین سنی ۵۸ سال انجام داد، سایتوکاین های مختلفی از قبیل اینترفرون گاما را مورد بررسی قرار داد. نتایج تحقیق نشان داد که سطوح اینترفرون گاما و  $TNF-\alpha$  به دنبال ورزش کاهش یافته است که با پژوهش حاضر هم راستا بود (۱۹). هسن و همکاران در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که میزان غلظت پلاسمایی اینترفرون گاما سی دقیقه بعد از تمرین (۳۰ دقیقه تمرین دوچرخه کارسج با شدت ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) افزایش می یابد (۲۰). چنین به نظر می رسد که اختلافاتی که در گزارش های مختلف در مورد پاسخ سایتوکاین ها به ورزش به چشم می خورد ناشی از عواملی از قبیل استفاده از پروتکل های مختلف با متغیرها و شدت های تمرینی متفاوت، شرایط متفاوت جسمانی و تمرینی افراد، وضعیت تغذیه ای و متغیرهای دیگری هم چون اختلالات ژنتیکی و نژادی و هم چنین وضعیت روحی-روانی آزمودنی ها و افراد مورد بررسی و تکنیک های آزمایشگاهی مورد استفاده می باشد. مطالعات مختلف نشان می دهند که هم در محیط آزمایشگاه و هم در بدن انسان؛ سلول های T، اینترفرون گاما و اینترلوکین-۲ را تولید می شوند که این امر به وسیله هورمون های کورتیزول و اپی نفرین متوقف می شود (۲۱). این هورمون ها در طول ورزش و در پاسخ به ورزش افزایش می یابند. همان طور که مشاهده می شود محققین در تحقیقات خود از مدت و شدت های تمرینی متفاوتی بهره گرفتند. این در حالی است که در پژوهش حاضر آزمودنی ها یک جلسه تمرین هم زمان را با شدت متوسط انجام داده اند که می توان علت تغییرات در سایتوکاین ها را تغییر در ترشح هورمون کورتیزول و ملاتونین در طی روز و تغییرات هورمونی ناشی از فشار مزمن بیان کرد (۲۲). هر چند در این مطالعه میزان

هورمون های مذکور اندازه گیری نشده اند که یکی از محدودیت های این مطالعه می باشد. در مطالعه ای دیگر که توسط دانگس و همکاران (۲۰۱۳) انجام گرفت اثر تمرینات هم زمان به صورت حاد بر بیان ژن سایتوکاین ها در مردان میانسال کم تحرک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که این نوع تمرین بیان ژن سایتوکاین های پیش التهابی مانند اینترفرون گاما را تغییر نداده است که با یافته های تحقیق حاضر هم راستاست هر چند نمونه های تحقیق افراد سالم بوده اند (۱۷). در تحقیقی دیگر که اثر مزمن تمرینات هم زمان را بر روی افراد دیابتی نوع ۲ بررسی کردند محققان دریافتند که هیچ تغییری در سطوح پروتئین اینترفرون گاما ایجاد نشده است که علت عمده آن را کاهش بیان CRP و هم چنین افزایش در بیان VEGF دانستند که افزایش در بیان این پروتئین بیان سایتوکاین های ضد التهابی را افزایش می دهد و سبب کاهش بیان عوامل پیش التهابی می شود که نتایج این تحقیق با نتایج حاصل از این مطالعه هم راستاست (۲۳). عدم تغییرات معنی دار در میزان بیان اینترفرون گاما نسبت به سطوح پیش از تمرین بیانگر آن است که یک وهله تمرین هم زمان نمی تواند بر میزان این سایتوکاین تأثیری بگذارد. بنا بر این می توان گفت برای این که ورزش بتواند بر تغییرات سایتوکاین اثر چشمگیری بگذارد باید از لحاظ شدت به اندازه کافی قوی باشد یا این که بافت مورد نظر باید از جایی دیگر گرفته شود. بنا بر این، در مورد پاسخ اینترفرون به تمرینات قدرتی، استقامتی و ترکیبی یافته های یکسانی وجود ندارد. که می توان علت آن را تفاوت در انواع فعالیت های ورزشی، شدت و مدت متفاوت تمرینات ورزشی، تفاوت های فردی، نوع بافت انتخابی در آزمایش، تجربه ورزشی افراد و اندازه گیری عوامل سیستم ایمنی دانست.

مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن سایتوکاین ضدالتهابی عامل رشد تراپختی بتا بر اثر یک مرحله فعالیت هم زمان با شدت متوسط در افراد دیابتی نوع ۲ تغییر نکرده است ( $P>0.05$ ). توماس و همکاران در طی مطالعه ای (۲۰۱۳) بیان کردند که میزان بیان عامل تغییر رشد بتا در افراد دیابتی نوع ۲ به طور معناداری پایین تر از افراد سالم است که علت عمده آن را افزایش در چربی

زیر جلدی و در نتیجه افزایش ترشح آدیپوکاین ها از بافت چربی می دانند(۲۴). مکانیسم های متفاوتی در سطح مولکولی در توجیه اثرات مفید فعالیت های ورزشی بر افزایش بیان سایتوکاین های ضد التهابی در شرایط مقاومت به انسولین و اختلال در مصرف گلوکز اشاره شده اند. در تمرینات مقاومتی کشش در عضلات باعث تحریک بیان ژن اینترلوکین ۶ از عضلات اسکلتی می شود که این اینترلوکین با تحریک بیان اینترلوکین ۱۰، به عنوان یک واسطه ضد التهابی، باعث افزایش در بیان عامل تغییر رشد بتا می شود و از سوی دیگر میزان بیان عوامل التهابی مانند اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱۸ را کاهش می دهد. محققان بیان کردند که کاهش در سطوح  $TGF-\beta$  باعث از بین رفتن میستوکندری ها می گردد و در نتیجه فعالیت متابولیکی و سوزانده شدن چربی های قهوه ای را کاهش می دهد و باعث تجمع بیشتر چربی های سفید می گردد و بدین ترتیب در بیماری دیابت نوع ۲ نقش ایفا می کند(۲۵). هم چنین  $TGF-\beta$  از طریق تنظیم بیان ژن سلول های  $Fox3, T_H17$  از طریق سلول های  $CD4+T$  در سیستم ایمنی نقش مهمی را ایفا می کند، به نظر می رسد که این سایتوکاین ضد التهابی از فعال شدن لنفوسیت ها و مونوسیت های مشتق شده از فاگوسیت ها جلوگیری می کند(۲۶). فعالیت های هورزی به صورت طولانی مدت می توانند میزان بیان این سایتوکاین را در بافت های چربی افزایش دهند که دلیل آن را افزایش در میزان  $HIF-1$  در بافت دانسته اند. انجام تمرینات قدرتی علاوه بر افزایش در بیان سایتوکاین های ضد التهابی باعث افزایش بیان  $VEGF$  می شود که افزایش خود این پروتئین باعث افزایش در میزان بیان عامل تغییر رشد بتا در سلول های افراد دیابتی می گردد نتایج این مطالعه با تحقیقات هرینگ و همکاران(۲۰۱۲)(۳۲) و گردن و همکاران(۲۰۱۱)(۳۳) هم راستاست(۲۷،۲۸). بلادوسی و همکاران(۲۰۱۳) علت افزایش در میزان بیان سایتوکاین های ضد التهابی را کاهش بیان  $CRP$  و اینترلوکین ۶ بر اثر فعالیت ورزشی دانستند(۲۹). به طور خلاصه نتایج این تحقیق نشان داد که میزان بیان ژن عامل رشد تریاختی بتا در یک وهله تمرین هم زمان در

افراد دیابتی نوع ۲ افزایش قابل ملاحظه ای نداشته است که علت آن را می توان به طور کلی به شدت و مدت تمرین مورد نظر و هم چنین کاهش در سطوح سایتوکاین های پیش التهابی و  $CRP$  در خون دانست. مطالعه های متعدد نشان داده اند که دیابت نوع ۲ با سطح بالای اینترلوکین ۱۸ و اینترلوکین ۶ و  $CRP$  در ارتباط است. بافت چربی به عنوان یکی از منابع اصلی تولید سایتوکاین های اینترلوکین ۱۸ مطرح است. در پژوهش های زیادی بیان شده است که آزمودنی های چاق دارای سطوح اینترلوکین ۱۸ بیشتری نسبت به افراد لاغر هستند. بالا بودن مقادیر غلظت این دو سایتوکاین را می توان به درصد چربی بدنی بیشتر در آزمودنی های چاق نسبت داد(۱۶). برخی از محققان، اینترلوکین ۱۸ را عامل القاء کننده ترشح انسولین در سلول های بتای پانکراس معرفی کرده اند. فسفریله شدن سرین سوبسترای گیرنده انسولین( $IRS$ ) از ساز و کار اصلی مقاومت به انسولین است. پروتئین سیگنالی انسولین( $SOCSs$ ) نقطه مشترک سیگنالینگ مقاومت به انسولین سایتوکاین ها و انسولین است. اینترلوکین ۱۸ موجب بیان  $SOCSs$  در بافت چربی می شود. بیان زیاد این پروتئین از فعالیت سنتزی گلیکوژن در میوتیوپ و جذب گلوکز در بافت جلوگیری می کند(۳۰). پس از ترشح اینترلوکین ۱۸، سلول کشنده طبیعی و  $T$  یاور باعث تحریک بیان ژن اینترفرون گاما ۱ و ۲ می شود که این سایتوکاین نقش بسیار مهمی در فعال کردن ماکروفاژها یا دیگر سلول ها بر عهده دارد(۳۰). ترکیب این سایتوکاین با اینترلوکین ۱۲ باعث مهار فعالیت اینترلوکین ۴ می گردد و از طرفی باعث افزایش در تولید  $IgG2\alpha$  از سلول های  $B$  لنفوسیت می شود. زمانی که این اینترلوکین به پروتئین های موجود در خون( $IL-18BP$ ) متصل می شود باعث ایجاد یک تنظیم منفی در فعالیت های بیولوژیکی می گردد. یکی از عملکردهای این اینترلوکین افزایش در میزان التهاب است که به اعتقاد محققین نقش بسیار مهمی در بیماری های التهابی از جمله دیابت ایفا می کند(۳۰). برون و همکاران(۲۰۰۷) تغییرات اینترلوکین ۱۸ سرم را با تغییرات در مقاومت انسولین هم راستا دانستند و بیان داشتند که این اینترلوکین در بروز مقاومت به انسولین دخیل است. بنا

بر این، افزایش تولید این سایتوکاین در سرم افراد چاق موجب تولید بیشتر انسولین می شود و سرانجام مقاومت به انسولین بروز می کند (۳۰). برون و همکاران (۲۰۰۷) ارتباط اینترلوکین ۱۸ سرم را با شاخص مقاومت به انسولین بالا و همبستگی را ۰/۶۵ گزارش کردند. به عقیده بسیاری از محققان، ورزش دارای اثرات ضدالتهابی است و با اثر مثبتی که بر ارگان های داخلی دارد موجب کاهش بیان میانجی های التهابی می شود. شواهد نشان می دهد که فعالیت منظم موجب کاهش درصد چربی بدن می شود. بافت چربی یکی از منابع اصلی ترشح کننده اینترلوکین ۱۸ است. بیان این اینترلوکین با شاخص های WHR و درصد چربی در ارتباط مستقیم است که با کاهش بافت چربی، میزان بیان این اینترلوکین کاهش می یابد. کاهش در سطوح اینترلوکین ۶ و ۱۸ موجب تضعیف مسیرهای سیگنالی تولید CRP و انسولین می گردد. افت تولید انسولین موجب بهبود حساسیت انسولین می شود (۳۰). می توان کاهش تولید اینترلوکین ۱۸ را به اثر ضد التهابی ورزش نسبت داد. فعالیت ورزشی موجب تولید بیشتر سایتوکاین های ضدالتهابی مانند اینترلوکین ۶ و ۱۰ می شود. تولید این سایتوکاین ها باعث کاهش تولید سایتوکاین های پیش التهابی از بافت چربی می شود. بر اساس شواهد موجود، شاخص های ترکیب بدنی با شاخص های التهابی رابطه دارند. یافته های حاصل از تحقیقات نشان دادند که شاخص های ترکیب بدنی مانند نسبت دور کمر به لگن، شاخص توده بدنی و درصد چربی بدن همبستگی بالایی با میزان انسولین ترشح شده، اینترلوکین ۱۸ و CRP دارد. نتایج این تحقیق نشان می دهد که یک وهله تمرین نمی تواند عامل تحریکی برای بیان اینترلوکین ۱۸ باشد اما میزان سطوح این اینترلوکین در خون پس از فعالیت کاهش معنی داری داشت که با نتایج به دست آمده از این مطالعه هم راستاست. در چندین تحقیق مشخص شد که میزان بیان mRNA اینترلوکین ۱۸ در افرادی که چاق هستند و فعالیت کمتری دارند بالاتر است. در این تحقیق فرض بر این بود که میزان mRNA این اینترلوکین در ارتباط مستقیم با سطوح چربی و

مقاومت به انسولین است. در حالی که با بیان نشدن این اینترلوکین در خون فرضیه رد شد اما می تواند علت رد آن شدت فعالیت ورزشی باشد. تحقیقات نشان دادند که هشت هفته تمرین با شدت متوسط بیان اینترلوکین ۱۸ را بیست درصد کاهش داده است ولی این کاهش در بیان، باعث بهبود حساسیت انسولین در بیماران دیابتی نشده است و هم چنین تغییری در وزن و پروفایل لیپیدی صورت نگرفت که نشان دهنده این موضوع است که حساسیت انسولین در افراد دیابتی در ارتباط مستقیم با سطوح این اینترلوکین در خون است و به میزان بیان مرتبط نمی شود. به هر حال تحقیقات نشان دادند که یک جلسه تمرین شدید موجب افزایش در سطوح mRNA اینترلوکین ۶ و ویسفاتین از بافت چربی شکمی می شود. هر چند که به نظر می رسد با انجام تمرین منظم میزان بیان ژن این اینترلوکین از بافت چربی کمتر می شود (۳۰).

در تمرینات مقاومتی به صورت طولانی مدت با شدت متوسط سطوح اینترلوکین ۱۸ کاهش می یابد. محققان علت این کاهش را به دنبال افزایش در میزان تستوسترون در فعالیت های مقاومتی می دانند که این هورمون می تواند موجب سرکوب سایتوکاین های پیش التهابی مانند اینترلوکین ۱۸ شود و از طرفی میزان سایتوکاین های ضد التهابی مانند عامل تغییر رشد بتا را در افراد سالم و دیابتی نوع ۲ را افزایش دهد. در مجموع یافته های پژوهش حاضر بیانگر آن است که تمرین هم زمان در یک وهله نمی تواند تغییری را در بیان ژن اینترفرون گاما، عامل رشد تراریختی بتا و اینترلوکین ۱۸ ایجاد کند. برای ایجاد تغییرات احتمالا به مدت و شدت بالاتری از این نوع تمرین نیاز باشد.

### سپاسگزاری

از کارکنان محترم پژوهشکده پزشکی استان کرمانشاه که در مراحل انجام کار کمک شایان توجه ای کردند و هم چنین کارکنان مرکز دیابت استان کرمانشاه که بدون هیچ گونه چشم داشتی ما را در انجام این پروژه یاری کردند تشکر و قدردانی می نمایم.

کد اخلاق: IR.SSRC.139.049



## References

1. Gokhale R, Chandrashekar S, Vasanthakumar KC. Cytokine response to strenuous exercise in athletes and non athlete an adaptive response. *Cytokine*2007;40:123-7. doi: 10.1016/j.cyto.2007.08.006.
2. Medeiros NDS, Abreu FG, Colato AS, Lemos LS, Ramis TR, Dorneles GP, et al. Effects of concurrent training on oxidative stress and insulin resistance in obese individuals. *Oxid Med Cell Longe*2015; 697181. doi.10.1155/2015/697181.
3. Kuryłowicz A, Kozniowski K. Anti inflammatory strategies targeting metaflammation in type 2 diabetes . *Molecules* 2020; 25: 2224. doi.10.3390/molecules25092224.
4. Correa, Fernanda O B. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing levels of interleukin-1beta and proteases in gingival crevicular fluid from patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis. *J Periodontol* 2008;11: 2143-50. doi: 10.1902/jop.2008.080132.
5. Carraro L, Ferraresso S, Cardazzo B, Romualdi C, Montesissa C, Gottardo F, et al. Expression profiling of skeletal muscle in young bulls treated with steroidal growth promoters. *Physiol Genom*2009; 38:138-48. doi.10.1152/physiol.gen.00014.
6. Lee YH, Bae SC. Association between interferon- $\gamma$  +874 T/A polymorphism and susceptibility to autoimmune diseases a meta-analysis. *Lupus* 2016; 25:710-718. doi. 10.1177/0961203315624557.
7. Cruz M, Maldonado C, Mondragon R, Sanchez R, Wachter NH, Carvajal G, et al. Glycine treatment decreases proinflammatory cytokines and increases interferon gamma in patients with type 2 diabetes. *J Endo Invest*2008;31:694-9. doi.10.1007/BF03346417.
8. mcgillicuddy FC, Chiquoine EH ,Hinkle CC, Kim RJ, Shah R, Roche HM, et al. Interferon gamma attenuates insulin signaling, lipid storage and differentiation in human adipocytes via activation of the JAK/STAT pathway. *J Biol Chem* 2009;284:31936-44. doi.10.1074/jbc.M109.061655
9. Katarzyna S, Rafal M, Anna ZM, Anna PK, Piotr S, Natalia WK, et al. Interleukin6 and Interleukin15 as possible biomarkers of the risk of autoimmune diabetes development. *Biomed Res Int*2019; 4734063. doi.10.1016/j.biopsycho.2014.03.009
10. Leick L, Lindegaard B, Stensvold D, Plomgaard P, Saltin B, Pilegaard H. Adipose tissue interleukin18 mRNA and plasma interleukin18 effect of obesity and exercise. *Obesit Silve Spring* 2007;15:356-63. doi.10.1038/oby.2007.528
11. Colato A, Abreu F, Medeiros N, Lemos L, Dorneles G, Ramis T, et al. Effects of concurrent training on inflammatory markers and expression of CD4 and CD8 and HLA-DR in overweight and obese adults. *J Exe Sci Fit*2014; 12:55-61. doi.10.1016/j.jesf.2014.06.002
12. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, et al. Recent advances in the relationship between obesity inflammation, and insulin resistance. *European Cyt Net*2006; 17:4-12.
13. Saremi A. [Comparison of the effects of endurance resistance and concurrent training on insulin resistance and adiponectin-leptin ratio in diabetic Rat]. *J QUMS*2017; 21:13-22. (Persian)
14. Emma LL, Andrew HB, Angela CB. TGF $\beta$  smooth muscle cells and coronary artery disease a review. *Cel Sig* 2019; 53: 90-101. doi.10.1016/j.cellsig.2018.09.004
15. Zanuso S, Jimenez A, Pugliese G, Corigliano G, Balducci S. Exercise for the management of type 2 diabetes a review of the evidence. *Acta Diabetol* 2010;47:15-22. doi. 0.1007/s00592-009-0126-3
16. Thomas W, Buford MBC, Brian D, Shelmadine M. Effects of eccentric treadmill exercise on inflammatory gene expression in human skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Met.* 2009;34:745-53. doi.org/10.1139/H09-067.
17. Cheyne E, Donges RD, Greg C, Michael J. Cytokine mRNA expression responses to resistance aerobic and concurrent exercise in sedentary middle aged men. *Appli Physiol Nut Metab*2014;39:130-7. doi.10.1139/apnm-2013076
18. Monazzamirabbas RH, Ghrakhanlou R, Yari Kh, Rahimi Z. Modulation of

- oxidative and glycolytic skeletal muscle fibers Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger1 and Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> co-transporter genes and proteins expression in type2 diabetic Rat streptozotocin + high fat diet following long term endurance training. CMB2017;63:8-11. doi.10.14715/cmb/2017.63.5.3
19. Libardi CA, Souza GV, Cavaglieri CR, Madruga VA, et al. Effect of resistance endurance and concurrent training on TNF- $\alpha$ , IL-6 and CRP. Med Sci Spor Exe 2012; 44; 51-6. doi. 10.1249/MSS.0b013e318229d2e9
21. Atashak S, Stannard SR, Azizbeigi k. Cardiovascular risk factors adaptation to concurrent training in overweight sedentary middle aged men. J Sport Med Phys Fit2016; 56:624-30
22. Yamamoto SN, Umeda T, Matsuzaka M, Takahashi I, Tanabe M, Danjo K, Kojima A, et al. Effects of long term training on neutrophil function in male university judoists. British J Sport Med2008;42:255-9. doi.10.1074/jbc.RA119.009596
23. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, Paavonen K. The biology of vascular endothelial growth factors. Cardio Res2005;65:550-63. doi.10.1016/j.cardiores.2004.12.002
24. Atashak S. [The effect of the eight-week progressive concurrent training on inflammatory index of cardiovascular disease predictor, and body composition in sedentary middle age Men]. Iranian J Cardiovas Nurs2013; 2:16-25. (Persian)
25. Eskandary S, Rahimi E. [Effects of eight weeks aerobic training, resistance training and concurrent training on the metabolic syndrome and HbA1c in men with type 2 diabetes]. J Phys Act Horm2017; 1; 51-64. (Persian).
26. Aikens JE, Perkins DW, Piette JD, Lipton B. Association between depression and concurrent Type 2 diabetes outcomes varies by diabetes regimen. Diabet Med2008; 25:1324-9. doi. 10.1111/j.1464-5491
27. Abdi A, Mehrabani J, Nordvall M, Wong A, Fallah A, Bagheri R. Effects of concurrent training on irisin and fibronectin type III domain containing 5 expression in visceral adipose tissue in type-2 diabetic rats. Arch Physiol Biochem2020;1-6. doi.10.1080/13813455.2020.1716018
28. Ogorman DJ, Karlsson HK, Mcquaid S, Yousif O, Rahman Y, Gasparro D, et al. Exercise training increases insulin stimulated glucose disposal and GLUT $\alpha$  protein content in patients with type 2 diabetes. Diabetologia 2006;49:2983-92. doi.10.1007/s00125-006-457-3
29. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. 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. Nut Metab Cardiovas Dis2010;20:608-17. doi.10.1016/j.numecd.2009.04.015
30. Bruun JM, Stallknecht B, Helge JW, Richelsen B. Interleukin18 in plasma and adipose tissue effects of obesity, insulin resistance and weight loss. European J Endocrinol2007;157:465-71. doi.10.1530/EJE-07-0206.

## Effects of Concurrent Training (Resistance-Endurance) on Interferon- $\gamma$ , Interleukin-18 and Transforming Growth Factor- $\beta$ Gene Expression in Women with Type 2 Diabetes

Heydarian M<sup>1</sup>, Monazzami A<sup>2\*</sup>, Behpour N<sup>1</sup>, Mostafaei A<sup>2</sup>

(Received: May 27, 2020

Accepted: 16 September 2020)

### Abstract

**Introduction:** High-intensity training increases the expression of anti-inflammatory cytokines and decreases the expression of pro-inflammatory cytokines in healthy individuals. However, there is limited research investigating the role of concurrent training in the expression of these cytokines in diabetics. This study aimed to evaluate the effect of concurrent training on the gene expression of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in females with type 2 diabetes.

**Materials & Methods:** In total, 12 diabetic patients (age range: 30-38 years) were selected randomly and divided into concurrent training (healthy cases, n=6), concurrent training (diabetic cases, n=6), and control (diabetic cases, n=6). The concurrent training protocol consisted of three isometric resistance training sessions with 3 sets of 8 with 80% of their one maximum repetition ( $3 \frac{80}{8}$ ) per week. Moreover, the endurance training included 30-min running (3 sets of 10 min) on a treadmill with a 70%-80% maximum heart rate. The amount of the mRNA gene expression in leukocyte (Interferon- $\gamma$ [IFN-

$\gamma$ ], Interleukin-18[IL-18], and Transforming Growth Factor [TGF- $\beta$ ]) was determined by the Real time-PCR technique. Quantitative gene expression was calculated using the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. The differences in variables were determined by the independent t-test (permutation test) and one-way ANOVA. **Ethics code:** IR.SSRC.139.049

**Findings:** The healthy and diabetic cases showed no significant difference in terms of reduction in the IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  mRNA gene expression after training, compared to the control group ( $P>0/05$ ). In addition, the results showed that IL-18 mRNA gene was not expressed in leukocytes of healthy and diabetic cases immediately after training ( $P>0.05$ ).

**Discussions & Conclusions:** In conclusion, the results suggest that concurrent training in one session is not able to create an alteration in the expression of IFN- $\gamma$ , IL-18, and TGF- $\beta$ . This type of exercise training may require a longer duration and greater intensity to make changes.

**Keywords:** Type 2 Diabetes, Concurrent Training, TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-18

1. Dept of Sport Physiology, Faculty of Sports Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

2. Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

\*Corresponding author Email: monazzami.amirabbas@gmail.com