Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(118): 24-34

The Effect of Three-Week Intensive Interval Training on Lipocalin-2 and Interleukin1-β in Healthy and Adult Rat Hippocampus

Bahman Hasanvand[1*], Rahman Soori[2], Sadegh Abbasian[3], Mahsa Rastegar Moghaddam Mansoori[4]

1.Instructor, Department of Physical Education, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran
2.Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
3.PhD of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
4.PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Khorasan Razavi, Iran

Received: 11 Dec 2016, Accepted: 8 Feb 2017

Abstract

Background: In response to the exercise, variety of inflammatory and anti-inflammatory changes in cytokines were occurred into the tissue spaces and also to the systemic circulation. The purpose of the current study was to determine the effect of three-week intensive interval training on Lipocalin-2 and Interleukin1-β in healthy and adult rat hippocampus.

Materials and Methods: Twenty Wistar rats were divided into training and control groups. Training group performed 15 (bouts) × 4 (min) exercise training for 60 min with 85 to 90% of VO_{2max} used for four sessions/week (for 3 weeks). Then, blood (for ELISA analyzing) and tissue sampling was performed from rat's hippocampus and they were evaluated by using a Real-Time PCR method. Also, independent and paired t tests were used to define within and between group differences.

Results: Findings showed that gene translations of Lipocalin-2 and Interleukin1-β were significantly decreased in rat's hippocampus (p=0.0001 and p=0.0001, respectively). Also, similar decreases were shown in serum levels of Lipocalin-2 and Interleukin1-β in rats (p=0.017 and p=0.003, respectively).

Conclusion: It seems that significant decrease of Lipocalin-2 subsequent of short-time intensive interval training is due to decreasing and significant changes in Interleukin1-β. Also, current training protocol on treadmill can significantly decrease levels of Lipocalin-2 and Interleukin1-β in rat serum and hippocampus.

Keywords: Intensive interval training, Interleukin1-β, Lipocalin-2

*Corresponding Author:
Address: Department of Physical Education, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran
Email: hasanvand121@gmail.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۰، شماره ۱ (شماره پیاپی ۱۱۸)، فروردین ۱۳۹۶، ۳۴-۲۴

اثر سه هفته تمرین متناوب شدید بر لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ سالم

بهمن حسنوند[۱*]، رحمان سوری[۲]، صادق عباسیان[۳]، مهسا رستگار مقدم منصوری[۴]

۱.مربی، گروه تربیت بدنی، واحد خرم آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم آباد، ایران

۲.دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳.دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴.دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، خراسان رضوی، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: در پاسخ به فعالیت ورزشی، تغییرات سایتوکاین‌های التهابی و ضد التهابی متفاوتی در درون فضای بافتی و هم‌چنین گردش خون عمومی ایجاد می‌شود. هدف از تحقیق حاضر، تعیین اثر سه هفته تمرین متناوب شدید بر لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ سالم بود.

مواد و روش‌ها: ۲۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار در دو گروه تمرین و کنترل قرار گرفتند. گروه تمرین، ۱۵ وهله‌ی ۴ دقیقه‌ای تمرینات را به مدت ۶۰ دقیقه با ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و چهار جلسه در هفته(به مدت سه هفته) اجرا کرد. سپس، نمونه‌گیری خونی جهت ارزیابی کیت‌های الایزا و بافت‌برداری از هیپوکمپ موش‌های صحرایی انجام شد و با استفاده از روش Real-Time PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. هم‌چنین، از آزمون‌های تی وابسته و مستقل برای تعیین تفاوت‌های درون گروهی و بین گروهی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج بیان‌گر کاهش معنادار مقادیر بیان ژنی لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی در گروه تمرینی بود (به ترتیب p=۰/۰۰۰۱ و p=۰/۰۰۰۱). هم‌چنین، کاهش معناداری در مقادیر سرمی لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتای موش‌های صحرایی در گروه تمرینی مشاهده شد(به ترتیب p=۰/۰۱۷ و p=۰/۰۰۳).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد علت کاهش معنادار لیپوکالین-۲ متعاقب تمرین کوتاه مدت شدید، تغییرات کاهشی و معنادار اینترلوکین-۱ بتا باشد. هم‌چنین، استفاده از پروتکل تمرینی روی تردمیل(با شدت و مدت یاد شده) در موش‌های صحرایی قادر است مقادیر سرمی و هیپوکمپیِ لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا را به طور معناداری کاهش دهد.

واژگان کلیدی: تمرین متناوب شدید، لیپوکالین-۲، اینترلوکین-۱ بتا

***نویسنده مسئول:** ایران، خرم آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم آباد، گروه تربیت بدنی

E-mail: hasanvand121@gmail.com

مقدمه

تاکنون مشخص شده است که عضلات اسکلتی ممکن است در پاسخ به فعالیت ورزشی سایتوکاین‌های التهابی و ضد التهابی را به درون فضای میان بافتی و هم‌چنین گردش خون عمومی رها نمایند(۱). البته این سایتوکاین‌ها منابع مترشحه دیگری نیز دارند اما بافت عضلانی در فعالیت ورزشی نقش بیشتری را در سنتز و رهایی آن‌ها ایفا می‌کند(۲). در سال ۲۰۰۷، لیپوکالین-۲ را به عنوان یک سایتوکاین شناسایی نمودند(۳). پروتئین‌های خانواده لیپوکالین به عنوان مارکرهای جدید التهابی اثرگذار بر مسیرهای سیگنالی مختلف معرفی شده‌اند(۴، ۵). در این بین، لیپوکالین-۲ به عنوان یک مارکر دقیق و مهم مرتبط با مسیرهای سیگنالی التهابی، به ویژه در اثر فعالیت‌های بدنی معرفی شده است(۳، ۶- ۸). به علاوه، مشاهده شده است که افزایش مقادیر اینترلوکین-۱ بتا با افزایش لیپوکالین-۲ همراه است(۹). اینترلوکین-۱ بتا با ویژگی التهابی خود موجب کاهش عملکرد سلولی شده و به عنوان یک واسطه قوی برای آن معرفی شده است(۱۰). در نتیجه، از آنجایی که لیپوکالین-۲ بالقوه یک سایتوکاین التهابی در نظر گرفته می‌شود، سطوح بالای این بایومارکر به همراه افزایش ثانویه در سطوح اینترلوکین-۱ بتا از عملکرد سلول‌ها کاسته و منجر به بروز واکنش‌های التهابی در بافت‌های بدن می‌شود(۱۱- ۱۳).

در خصوص اثر فعالیت‌های ورزشی بر پاسخ‌های ایمنی بدن، مشاهده شده است که بین غلظت‌های بایومارکرهای التهابی و سطح فعالیت جسمانی ارتباط معکوسی وجود دارد. بدین معنی که در آزمودنی‌های دارای فعالیت جسمانی و آمادگی جسمانی بالا مقادیر فاکتورهای التهابی بسیار پایین‌تر از آزمودنی‌ها بدون فعالیت یا آمادگی جسمانی پایین است(۱۴). در همین ارتباط، لواتل و همکاران(۲۰۱۳) نیز به ارزیابی مقادیر اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر پس از تمرین روی تردمیل پرداختند. نتایج آنها نشان داد که تمرین اجباری روی تردمیل با کاهش اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر همراه است(۱۵). هم‌چنین، اگاروال و همکاران(۲۰۱۱) اثر ۱۶ هفته تمرین ورزشی را بر مقادیر اینترلوکین-۱ بتا مغزی موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نیز بیان‌گر کاهش معنادار مقادیر اینترلوکین-۱ بتا در مغز موش‌های صحرایی نر بود(۱۶). سپیسمن و همکاران(۲۰۱۳) نیز اثر ۱۲ هفته تمرین روی چرخ گردان را بر مقادیر اینترلوکین-۱ بتای مغزی موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها بیان‌گر کاهش مقادیر اینترلوکین-۱ بتا تنها در مغز (و نه در مقادیر سرمی) موش‌های صحرایی بود(۱۷). هم‌چنین، به نظر می‌رسد مطالعه‌ای در زمینه تاثیر تمرین ورزشی بر مقادیر مغزی یا هیپوکمپی لیپوکالین-۲ به ثبت نرسیده باشد. با این حال، منصوری و همکاران(۲۰۱۴) اثر ۷ هفته تمرین روی تردمیل را بر مقادیر پروتئین متصل به رتینول-۴ (RBP4) را در موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که متعاقب این تمرینات مقادیر RBP4 بافت چربی احشایی و عضلانی موش‌های صحرایی کاهش می‌یابد(۱۸). لازم به ذکر است که این مطالعه به ارزیابی یکی از هم خانواده‌های لیپوکالین(RBP4) و نه لیپوکالین-۲، پرداخته بود. هم‌چنین، مقادیر این پروتئین را در بافت‌های چربی و عضلانی(و نه مغزی) مورد ارزیابی قرار داده بودند. لذا، بر طبق دانش محققین و جستجوهای انجام گرفته در پایگاه‌های اطلاعاتی علمی، (احتمالا) تاکنون مطالعه‌ای اثر تمرین ورزشی تناوبی شدید(HIIT) را بر لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی مورد ارزیابی قرار نداده است. بنابراین، طبق پیشینه تحقیق از یک طرف افزایش مقادیر اینترلوکین-۱ بتا منجر به افزایش ثانویه لیپوکالین-۲ شده(۹) و افزایش لیپوکالین-۲ از عملکرد سلول‌ها کاسته و منجر به بروز واکنش‌های التهابی در بافت‌های بدن می‌گردد(۱۱- ۱۳) و از طرف دیگر، افزایش واکنش‌های التهابی و به ویژه افزایش مقادیر بایومارکرهای التهابی در هیپوکمپ با کاهش اختلالات عصبی-روان‌شناختی و افسردگی مرتبط است. بدین صورت

که بایومارکرهای التهابی باعث تغییراتی در مونوآمین‌ها، گلوتامات و سیستم‌های نوروپپتیدی شده و باعث کاهش فاکتورهای رشدی نظیر فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز(BDNF) شده و در نهایت عملکرد عصبی را مختل می‌کند(۱۹). بنابراین، استفاده از مداخله‌ای که بتواند به نحوی بایومارکرهای التهابی را در هیپوکمپ کاهش دهد احتمالا می‌تواند از اختلال در عملکرد عصبی جلوگیری کند. لذا، هدف از تحقیق تعیین اثر سه هفته تمرین متناوب شدید بر لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ سالم بود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تحقیقات نیمه تجربی با طرح پیش و پس آزمون بود. در این تحقیق، بیست سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سه ماهه انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در تحت شرایط کنترل شده به لحاظ روشنایی(دوازده ساعت روشنایی - تاریکی)، دمایی(۲۳ درجه سانتی‌گراد) و رطوبتی(۵۵ درصد) نگهداری شدند. با هدف کاهش اضطراب، موش‌های صحرایی توسط یک فرد مورد ارزیابی قرار گرفته، تمرین داده شده(۲۰) و به مدت پنج روز با شرایط زندگی در حیوان‌خانه و نحوه دویدن روی نوارگردان(به مدت ۱۵ دقیقه در روز و با سرعت ۰/۱ متر/ثانیه) آشنا شدند(۲۱). سپس، موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه تمرین(تعداد=۱۰) و کنترل (تعداد=۱۰) تقسیم شدند. با وجود این، دو موش صحرایی از گروه تمرین به دلیل عدم توانایی در انجام تمرین روی تردمیل از روند کار خارج شدند. لذا، تعداد موش‌های صحرایی در گروه تمرین برابر ۸ سر موش شد(تعداد=۸). وزن موش‌ها در دامنه ۳۰۰-۲۷۰ گرمی در شروع پروتکل تمرین بود.

پروتکل تمرین تناوبی شدید(HIIT) به صورت چهار جلسه در هفته طی سه هفته متوالی و به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه تمرینی انجام شد. پس از گرم کردن به میزان ۱۵-۱۰ دقیقه با ۶۰-۵۰ درصد VO_{2max}، گروه تمرینی، ۱۵ وهله‌ی ۴ دقیقه‌ای را با ۹۰ – ۸۵ درصد VO_{2max} با سه دقیقه ریکاوری با شدت ۷۰ VO_{2max} را بین وهله‌های HIIT اجرا می‌کردند. هم‌چنین، VO_{2max} در انتهای هر هفته(چهار بار در مجموع) ارزیابی شد. حداکثر اکسیژن مصرفی(VO_{2max}) موش‌های صحرایی با استفاده از تردمیل شیب‌دار(چهار لاینه، شرکت سیستم‌های TSE، آلمان) با حداکثر شیب مثبت و منفیِ ۳۰+ تا ۱۵- درجه مورد ارزیابی قرار گرفت. VO_{2max} با استفاده از پروتکل رمپ بر طبق کار هویدال و همکاران(۲۰۰۷) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، پس از گرم کردن با سرعتی معادل ۰/۲ متر/ثانیه، سرعت به طور فزاینده در هر ۲ دقیقه، به میزان ۰/۰۳ متر/ثانیه افزایش می‌یافت تا جایی که موش‌های صحرایی قادر به ادامه آزمون نبودند(عدم توانایی دویدن روی تردمیل و رفتن به فضای انتهایی لاین تردمیل) (۲۲). به علاوه، پس از پایان هفته سوم آخرین آزمون VO2max نیز همانند جلسه اول و بر طبق محاسبه هویدال و همکاران(۲۰۰۷) انجام پذیرفت(۲۲). لازم به ذکر است که شیب تردمیل ۲۵+ درجه در هر دوی VO_{2max} و جلسات تمرینی بود (۲۲). گروه کنترل تا انتهای هفته‌های تمرینی آزادانه در قفس بود و هیچ نوع تمرینی را انجام نمی‌دادند.

در این مطالعه، پیش و پس از اتمام هفته‌های تمرینی، نمونه گیری خونی از دم حیوان گرفته شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۷ دقیقه و در درجه حرارت ۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (مدل ۵۸۱۰، Eppendorf، ساخت آلمان) و برای اندازه‌گیری متغیرهای سرمیِ لیپوکالین-۲ و اینترلوکین ۱- بتا (طی دو وهله پیش آزمون و پس آزمون) تا اتمام مرحله پس آزمون، در شرایط فریز ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند(۲۳). هم‌چنین، پس از اتمام پس آزمون و آخرین نمونه‌گیری خونی، موش‌های صحرایی با استفاده از سوووفلوران چهار درصد بی‌هوش شدند. سپس، مایع PBS(۱۵۰ میلی‌لیتر، pH=۷/۴) به درون بطن چپ موش‌های صحرایی تزریق شد و بلافاصله توسط فورمالدآلدئید(۲۰۰

میلی‌لیتر، چهار درصد) جایگزین شد. سپس، مغز از جمجمه جدا شد(حدود ۴۵ تا ۶۰ دقیقه پس از تکمیل تزریقات PBS و فورمالدآلدئید) و درون قالب فلزی به قطعات حدود دو میکرومتری تقسیم شد. لازم به ذکر است که در این مطالعه نواحی محدود به هیپوکمپ مورد ارزیابی قرار گرفتند(۲۴). سپس، قطعات دو میکرومتری در ترکیبی از ساکاروز(سی درصد) و PBS (هفتاد درصد) برای مدت دوازده ساعت نگهداری شدند. سپس با استفاده از نیتروژن مایع به سرعت فریز شدند و در دمای منفی هفتاد درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از اتمام کامل مراحل فوق و دریافت کیت‌ها و مواد آزمایشگاهی مورد نظر، هیپوکمپ موش‌های صحرایی در قطعات مورد نظر نمونه‌برداری شد و پس از شستشو مجدد با PBS، در میکروتیوب‌های حاوی مایع RNAlater^{TM} (بیست درصد) جهت انجام آزمایش‌های بیان ژنی غوطه‌ور گردید. هم‌چنین، استخراج RNA لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا تحت کدهای ژنیِ ۱۷۰۴۹۶ و ۲۴۴۹۴ با استفاده از کیت بالانویس (Invitrogen, Groningen، کشور هلند) انجام گرفت(۲۵). به علاوه، استخراج RNA توسط روش Real time-PCR و به وسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ انجام شد. تجزیه و تحلیل منحنی ذوب به منظور تعیین اعتبار محصول PCR انجام پذیرفت. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده در دستگاه روتوژن در روش Real time-PCR شامل ۴۰ چرخه که دارای درجه حرارت‌های متفاوتی بودند(۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد). هم‌چنین، چرخه‌های حرارتی دارای دوره‌های زمانی متفاوتی بودند(۱۰ ثانیه تا ۲۰ دقیقه). پس از مرحله PCR، جهت مطالعه ویژگی پرایمرها، از دماهای ۵۰ تا ۹۹ درجه سانتی‌گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از بتا-اکتین (β-actin) جهت مقایسه و تعیین بیان ژن لیپوکالین-۲ مطابق توالی پرایمرها استفاده گردید. در نهایت، جهت کمی‌سازی بیان mRNA، از روش ΔΔCT جهت مقایسه با ژن کنترلی بتا-اکتین استفاده شد. توالی پرایمرهای رفت و برگشت برای لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا و بتا-اکتین در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای رفت و برگشت برای لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا و بتا-اکتین

ژن	پرایمر رفت (۳' – ۵')	پرایمر برگشت (۳' – ۵')
لیپوکالین-۲	GGAATATTCACAGCTACCCTC	TTGTTATCCTTGAGGCCCAG
اینترلوکین-۱ بتا	TACCTATGTCTGGCCCGTGGAG	ATCATCCCACGAGTCACACAGG
بتا-اکتین	TGTCACCAACTGGGACGATA	AACACAGCCTGGATGGCTAC

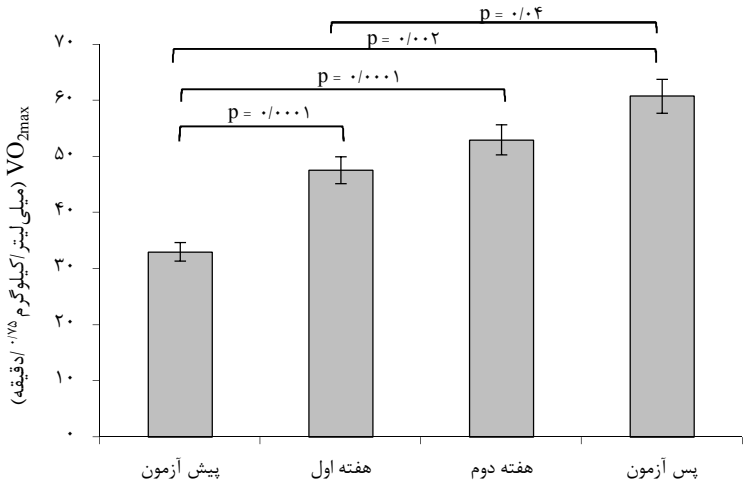
هم‌چنین، مقادیر سرمی لیپوکالین -۲ سرمی به روش الایزا و با استفاده از کیت تجاری شرکت Cusabio (کد: CSB-E09409r، کشور ژاپن) اندازه گیری شد. دقت درونی(CV) و دقت بیرونی کیت لیپوکالین -۲ به ترتیب کمتر از ۸ و ۱۰ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۰/۰۷۸ نانوگرم/میلی‌لیتر بود. هم‌چنین، اینترلوکین ۱- بتای سرمی به روش الایزای و با استفاده از کیت تجاری شرکت Cusabio (کد:CSB-E08055r، کشور ژاپن) اندازه‌گیری شد. دقت درونی(CV) و دقت بیرونی کیت اینترلوکین ۱- بتا به ترتیب کمتر از ۸ و ۱۰ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۱۵/۶ پیکوگرم/میلی‌لیتر بود.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، آن‌ها در بسته‌های نرم افزاری اکسل نسخه ۲۰۱۳، نرم افزاری آماری Stata نسخه ۱۲ و تعیین برچسب‌هایی برای متغیرهای وابسته مورد تجزیه و

تحلیل قرار گرفتند. به نحوی که از مقادیر گرایش مرکزی و پراکندگی(میانگین و انحراف استاندارد) و هم‌چنین ترسیم گراف جهت برآورد آمار توصیفی تحقیق استفاده شد. سپس از آزمون تی مستقل و وابسته به ترتیب جهت برآورد تفاوت‌های بین گروهی و درون گروهی استفاده شد. از آزمون اندازه‌های تکراری نیز برای تعیین تفاوت‌های درون گروهی متغیرهای وزن و VO_{2max} (طی چهار بازه زمانی) استفاده شد. سطح معناداری $p<۰/۰۵$ نیز به عنوان ضابطه تصمیم‌گیری جهت رد یا قبول فرضیه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در تحقیق حاضر، یافته‌ها بیان‌گر عدم وجود تفاوت‌های معنادار درون گروهی و بین گروهی در متغیر وزن موش‌های صحرایی پس از هفته سوم بود(به ترتیب $p = ۰/۹۷۸$ و $p=۰/۷۲۹$). هم‌چنین، یافته‌ها بیان‌گر افزایش معنادار مقادیر VO_{2max} گروه تمرین در هفته اول، هفته دوم و مرحله پس آزمون در مقایسه با مقادیر پیش آزمون بود(به ترتیب ۰/۰۰۰۱ =p، ۰/۰۰۰۱ =p، ۰/۰۰۲ =p). به علاوه، یافته‌ها بیان‌گر افزایش معنادار مقادیر VO_{2max} گروه تمرین در مرحله پس آزمون در مقایسه با مقادیر هفته اول بود (۰/۰۴ =p؛ نمودار ۱).



نمودار ۱. تغییرات درون گروهی VO_{2max} (میلی‌لیتر/کیلوگرم $^{۰/۷۵}$ /دقیقه) موش‌های صحرایی گروه تمرین به تفکیک مراحل مختلف

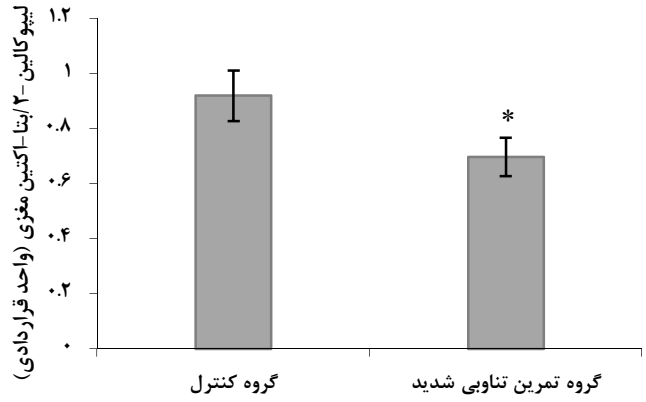
یافته‌های تحقیق بیان‌گر آن بود که مقادیر لیپوکالین-۲ سرمی موش‌های صحرایی گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود(p=۰/۰۱۷؛ جدول ۲). به علاوه، یافته‌های تحقیق بیان‌گر آن بود که مقادیر اینترلوکین ۱-بتای سرمی موش‌های صحرایی گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود(p=۰/۰۰۳؛ جدول ۲). به عبارت دیگر، نتایج تحقیق به ترتیب بیان‌گر کاهش ۳۳/۳۹ در مقادیر لیپوکالین-۲ و ۳۹/۶۲ درصدی در اینترلوکین ۱-بتا در گروه تمرین بود.

جدول ۲. مقادیر سرمی لیپوکالین-۲ و اینترلوکین ۱-بتا در موش‌های صحرایی تمرین(۸ سر موش صحرایی) و گروه کنترل(۱۰ سر موش صحرایی) پس از ۳ هفته مداخله HIIT

شاخص *	گروه	پیش آزمون(M±SD)	پس آزمون(M±SD)	مقادیر t درون گروهی	مقدار p	مقادیر t درون گروهی	مقدار p
لیپوکالین-۲ (نانوگرم/میلی‌لیتر)	تمرین	۵/۳۳± ۰/۷۴	۳/۵۵± ۱/۳۳	۴/۵۳	۰/۰۰۳*	-۲/۶۷	۰/۰۱۷*
	کنترل	۵/۱۴± ۰/۹	۴/۷۹± ۰/۵۷	۱/۱۲	۰/۲۹۱		
اینترلوکین ۱-بتا (پیکوگرم/میلی‌لیتر)	تمرین	۱۰۲۳/۱۲± ۶۳/۵	۶۱۷/۷۵± ۱۵۰/۳۸	۶/۰۸	۰/۰۰۰۱*	-۳/۵۲	۰/۰۰۳*
	کنترل	۱۰۸۲/۱± ۱۲۸/۳۹	۹۳۲/۰۰± ۲۱۲/۹۹	۱/۸۵	۰/۰۹۶		

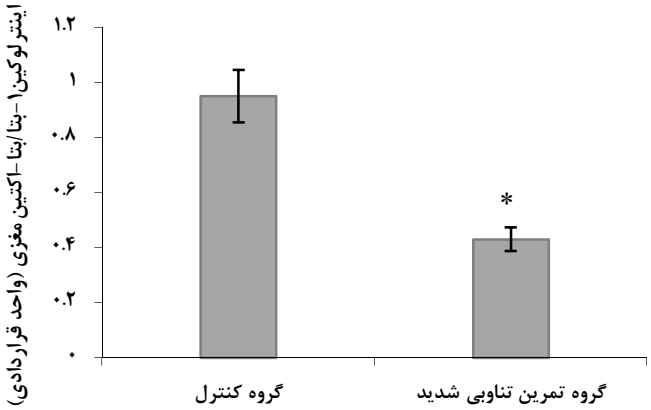
***- سطح معناداری پذیرفته شده در p<۰/۰۵، M: میانگین و SD: میزان انحراف معیار را نشان می‌دهد**

هم‌چنین، یافته‌های تحقیق بیان‌گر آن بود که مقادیر بیان ژن لیپوکالین-۲ مغزی در موش‌های صحرایی گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود (p=۰/۰۰۰۱؛ نمودار ۲).



نمودار ۲. اثر مداخله HIIT بر بیان ژن لیپوکالین-۲ مغزی در موش‌های صحرایی گروه تمرین و گروه کنترل. مقادیر t بین‌گروهی برابر ۵/۱۶- و سطح معناداری برابر ۰/۰۰۰۱ بود.
***بیان‌گر سطح معناداری پذیرفته شده در p<۰/۰۵ است.**

هم‌چنین، یافته‌های تحقیق بیان‌گر آن بود که مقادیر بیان ژن اینترلوکین ۱-بتای مغزی در موش‌های صحرایی گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود(p=۰/۰۰۰۱؛ نمودار ۳). به عبارت دیگر، پس از هفته سوم تمرین مقادیر بیان ژنی لیپوکالین-۲ در هیپوکمپ موش‌های صحرایی با کاهش ۲۴/۹۷ درصدی و در مقادیر اینترلوکین-۱ بتای هیپوکمپ موش‌های صحرایی با کاهش ۴۷/۹ درصدی نسبت به گروه همراه بود.



نمودار ۳. اثر مداخله HIIT بر بیان ژن اینترلوکین ۱-بتای مغزی در موش‌های صحرایی گروه تمرین و گروه کنترل. مقادیر t بین‌گروهی برابر ۱۱/۱۵- و سطح معناداری برابر ۰/۰۰۰۱ بود.
***بیان‌گر سطح معناداری پذیرفته شده در $p<0/05$ است.**

بحث

هدف از مطالعه حاضر، تعیین اثر سه هفته تمرین متناوب شدید بر لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ سالم بود. نتایج تحقیق بیان‌گر افزایش معنادار مقادیر VO_{2MAX} پس از سه هفته تمرین بود. در خصوص مقادیر سرمی لیپوکالین-۲ و اینترلوکین- ۱ بتا، نتایج تحقیق به ترتیب بیان‌گر کاهش معنادار در گروه تمرین بود. به علاوه، پس از هفته سوم تمرینی مقادیر بیان ژنی لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتای در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود.

در خصوص اثرات تمرین ورزشی بر لیپوکالین-۲ و اینترلوکین- ۱ بتا نتایج محدود و انگشت شماری وجود دارد. بر خلاف نتایج مربوط به مقادیر اینترلوکین- ۱ بتا (صرف نظر از تفاوت در نوع پروتکل تمرینی HIIT) که در توافق با نتایج تحقیق حاضر هستند و در ادامه بدان‌ها اشاره خواهد شد، بر طبق جستجوهای محققین، مطالعه‌ای به بررسی اثرات تمرین ورزشی بر مقادیر هیپوکمپی یا مغزی لیپوکالین-۲ نپرداخته است. با وجود این، منصوری و همکاران(۲۰۱۴) اثر ۷ هفته تمرین روی تردمیل را بر مقادیر پروتئین متصل به رتینول-۴ (RBP4) را در موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار دادند. پروتکل تمرینی آن‌ها شامل ۲۰ دقیقه تمرین با سرعت پایین ۱۵-۲۰ متر/دقیقه به مدت ۵ روز در هفته بود. سپس، مدت و شدت تمرین افزایش می‌یافت به طوری که در ۲ هفته آخر موش‌های صحرایی به مدت ۳۵ دقیقه و با شدت ۳۰ متر/دقیقه به تمرین می‌پرداختند. آن‌ها نشان دادند که متعاقب این تمرینات مقادیر RBP4 بافت چربی احشایی و عضلانی موش‌های صحرایی کاهش می‌یابد(۱۸). با این حال، این مطالعه بر روی یکی از هم خانواده‌های لیپوکالین انجام گرفته بود و به طور مستقیم لیپوکالین-۲ مورد ارزیابی قرار نگرفته بود و همچنین، بافت مورد ارزیابی و هدف مطالعه، بافت مغزی نبود. هم‌چنین، در خصوص مطالعات انسانی انجام گرفته(بر روی نمونه سرمی)، چویی و همکاران(۲۰۰۹) اثر ۱۲ هفته تمرین ورزشی هوازی را بر لیپوکالین-۲ سرمی در زنان چاق مورد ارزیابی قرار دادند. در این تحقیق، فعالیت‌های ورزشی شامل ۴۵ دقیقه/۳۰۰ کیلوکالری در هر روز و تمرین مقاومتی شامل ۲۰ دقیقه/۱۰۰ کیلوکالری در هر روز تمرینی بود. نتایج بیان‌گر عدم تغییر در لیپوکالین-۲ متعاقب ۱۲ هفته تمرین هوازی و مقاومتی بود(۲۶). بر خلاف آن‌ها در مطالعه دیگر

نشان داده شد که تمرین استقامتی به مدت چهار هفته و با شدت ۵۰ الی ۷۵ درصد VO_{2MAX} می‌تواند به طور معناداری مقادیر سرمی لیپوکالین-۲ را کاهش دهد(۲۷). با این حال، در خصوص بحث در مورد نتایج یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج این مطالعات، بایستی نهایت دقت را به کار برد. به این دلیل، که اولا در مطالعه منصوری و همکاران(۱۸) از RBP4(عضوی از خانواده لیپوکالین-۲) و بافت‌های چربی و عضلانی استفاده شده بود و در ثانی مطالعات دیگر بر روی آزمودنی‌های انسانی(۲۶، ۲۷) انجام شده بود. صرف نظر از دلایل فوق، نتایج تحقیق حاضر با نتایج بیژه و عباسیان(۲۰۱۳) (۲۷) در توافق و با نتایج منصوری و همکاران و چویی و همکاران(۱۸، ۲۶) در تضاد است. در خصوص تغییرات اینترلوکین- ۱ بتا و در توافق با یافته‌های تحقیق حاضر، لواتل و همکاران(۲۰۱۳) نیز به ارزیابی مقادیر اینترلوکین- ۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر پس از تمرین روی تردمیل پرداختند. در پروتکل آن‌ها حیوانات مجبور بودند تا در جلسات اول و در هر جلسه به ترتیب با سرعت ۶/۷ متر/دقیقه برای ۲ دقیقه، ۱۰ متر/دقیقه برای ۴ دقیقه، ۱۵ متر/دقیقه برای ۸ دقیقه، ۱۰ متر/دقیقه برای ۴ دقیقه و ۶/۷ متر/دقیقه را برای آخرین ۲ دقیقه بدوند. سپس، حیوانات مجبور بودند در جلسات بعدی و در هر جلسه به ترتیب با سرعت ۶/۷ متر/دقیقه برای ۴ دقیقه، ۱۵ متر/دقیقه برای ۱۲ دقیقه و ۶/۷ متر/دقیقه را برای آخرین ۴ دقیقه بدوند. نتایج آن‌ها نشان داد که تمرین اجباری روی تردمیل با کاهش اینترلوکین- ۱ بتا در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر همکاری می‌کند(۱۵). هم‌چنین، چن و همکاران(۲۰۱۲) اثر دو نوع تمرین ورزشی روی تردمیل و تمرین ورزشی شنا را در موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار دادند. دوره تمرینی تردمیل شامل ۶ هفته تمرین دویدن به مدت ۲ روز در هفته در هفته اول و ۶ روز در هفته در هفته‌های دوم تا ششم با سرعت ۱/۸ کیلومتر در ساعت بود. کل جلسات تمرینی هفته اول ۱۵-۳۰ دقیقه (۷/۵ الی ۱۵ دقیقه در هر جلسه)، هفته دوم ۳۰ دقیقه (۵ دقیقه در هر جلسه) و هفته‌های سوم تا ششم ۶۰ دقیقه (۱۰ دقیقه در هر جلسه) بود. نتایج آن‌ها بیانگر کاهش معنادار سطوح اینترلوکین- ۱ بتا متعاقب هر دو نوع تمرین ورزشی بود(۲۸). به علاوه، اگاروال و همکاران(۲۰۱۱) نیز اثر ۱۶ هفته تمرین ورزشی(۵ روز در هفته، ۶۰ دقیقه در هر جلسه، سرعت ۱۸ متر/دقیقه و شیب صفر درصد) را بر مقادیر اینترلوکین- ۱ بتا مغزی موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار دادند. موش‌های صحرایی با شدتی معادل ۶۰ درصد حداکثر سرعت هوازی(۱۸-۲۰ متر/دقیقه) به تمرین پرداختند. نتایج آن‌ها بیان‌گر کاهش معنادار مقادیر اینترلوکین- ۱ بتا در مغز موش‌های صحرایی نر بود(۱۶). در نهایت، سپیسمن و همکاران(۲۰۱۳) اثر ۱۲ هفته تمرین روی چرخ گردان را بر مقادیر اینترلوکین- ۱ بتا مغزی موش‌های صحرایی نر مورد ارزیابی قرار دادند. موش‌های صحرایی به صورت روزانه و در هر هفته(پس از آشنایی با چرخ گردان) به میزان ۴ کیلومتر چرخ گردان را حرکت می‌دادند. نتایج آن‌ها بیانگر کاهش مقادیر اینترلوکین- ۱ بتا تنها در مغز(و نه در مقادیر سرمی) موش‌های صحرایی بود(۱۷). از جمله محدودیت‌های تحقیق می‌توان به عدم ارزیابی مقادیر پروتئینی هر دو لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا (توسط روش وسترن بلات) و عدم ارزیابی بیان ژنی آن‌ها در سایر بافت‌ها و هم‌چنین، عدم امکان مقایسه پروتکل تمرینی HIIT با سایر انواع تمرین‌ها به دلیل محدودیت‌های مالی و روش‌شناختی اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

احتمالا استفاده از پروتکل تمرینی روی تردمیل(با شدت و مدت یاد شده) در موش‌های صحرایی نر قادر باشد تا مقادیر سرمی و هیپوکمپیِ لیپوکالین-۲ و اینترلوکین-۱ بتا را در به طور معناداری کاهش دهد. هم‌چنین، به نظر می‌رسد کاهش معنادار لیپوکالین-۲ به دلیل تغییرات کاهشی و معنادار اینترلوکین-۱ بتا باشد(۹). با این حال، به مطالعات بیشتری برای تایید این نتایج نیاز است.

تشکر و قدردانی

از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم آباد (خرم آباد، ایران) جهت انجام تحقیق حاضر با کد تحقیقاتی مصوب ۱۴۸۹۰۷۰۴۰۰۰۸، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

1.Christidis N, Ghafouri B, Larsson A, Palstam A, Mannerkorpi K, Bileviciute-Ljungar I, et al. Comparison of the levels of pro-inflammatory cytokines released in the vastus lateralis muscle of patients with fibromyalgia and healthy controls during contractions of the quadriceps muscleâ€“a microdialysis study. PloS one. 2015;10(12):e0143856.

2.Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance. Exerc Immunol Rev. 2006;12(6-33):41.

3.Yan Q-W, Yang Q, Mody N, Graham TE, Hsu C-H, Xu Z, et al. The adipokine lipocalin 2 is regulated by obesity and promotes insulin resistance. Diabetes. 2007;56(10):2533-40.

4.Zhang J, Wu Y, Zhang Y, LeRoith D, Bernlohr DA, Chen X. The role of lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages. Molecular endocrinology. 2008;22(6):1416-26.

5.Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, et al. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. Clinical chemistry. 2007;53(1):34-41.

6.Esteve E, Ricart W, Fern،ndez-Real JM. Adipocytokines and Insulin Resistance The possible role of lipocalin-2, retinol binding protein-4, and adiponectin. Diabetes care. 2009;32(suppl 2):S362-S7.

7.Fu Y ,Luo N, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. Journal of lipid research. 2005;46(7):1369-79.

8.Robergs R, Roberts S. Text book of Fundamental Principles of Exercise Physiology : For Fitness, Performance and Health. McGraw-Hill Press: Dubuque; 2002.

9.Sommer G, Weise S, Kralisch S, Lossner U, Bluher M, Stumvoll M, et al. Lipocalin-2 is induced by interleukin-1B in murine adipocytes in vitro. Journal of cellular biochemistry. 2009;106(1):103-8;

10.Kralisch S, Weise S, Sommer G, Lipfert J, Lossner U, Bluher M, et al. Interleukin-induces the novel adipokine chemerin in adipocytes in vitro. Regulatory peptides. 2009;154(1):102-6.

11.Das UN. Anti-inflammatory nature of exercise. Nutrition. 2004;20(3):323.

12.Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. Journal of applied physiology. 2005;98(4):1154-62.

13.USDHHS U. Department of Health and Human Services. Physical activity and health: a report of the Surgeon General. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Center of Disease Control and Prevention. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. 1996.

14.Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. Clinica chimica acta. 2010;411(11):785-93.

15.Lovatel GA, Elsner VR, Bertoldi K, Vanzella Cu, dos Santos Moys©İs F, Vizuete A, et al. Treadmill exercise induces age-related changes in aversive memory, neuroinflammatory and epigenetic processes in the rat hippocampus. Neurobiology of learning and memory. 2013;101:94-102.

16.Agarwal D, Welsch MA, Keller JN, Francis J. Chronic exercise modulates RAS components and improves balance between pro-and anti-inflammatory cytokines in the brain of SHR. Basic research in cardiology. 2011;106(6):1069-85.

17.Speisman RB, Kumar A, Rani A, Foster TC, Ormerod BK. Daily exercise improves memory, stimulates hippocampal neurogenesis and

modulates immune and neuroimmune cytokines in aging rats. Brain, behavior, and immunity. 2013;28:25-43.

18.Mansouri M, Nikooie R, Keshtkar A, Larijani B, Omidfar K. Effect of endurance training on retinolâ€binding protein 4 gene expression and its protein level in adipose tissue and the liver in diabetic rats induced by a highâ€fat diet and streptozotocin. Journal of diabetes investigation. 2014;5(5):484-91.

19.Felger JC, Lotrich FE. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. Neuroscience. 2013;246:199-229.

20.Van Sluyters R, Obernier J. Guidelines for the care and use of mammals in neuroscience and behavioral research. Contemporary topics in laboratory animal science. 2004;43(2):48.+–

21.Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henriksen EJ, Musch T, et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. American Physiological Society Bethesda. 2006:1-80.

22.Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2007;14(6):753-60.

23.Tuck MK, Chan DW, Chia D, Godwin AK, Grizzle WE, Krueger KE, et al. Standard operating procedures for serum and plasma collection: early detection research network consensus statement standard operating procedure integration working group. Journal of proteome research. 2008;8(1):113-7.

24.Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates/George Paxinos. Charles Watson, Amsterdam. 2007.

25.Sultan S, Ahmad S, Rave-Fr¤ĺnk M, Malik IA ,Hess CF, Christiansen H, et al. Induction of Lipocalin2 in a Rat Model of Lung Irradiation. International journal of molecular sciences. 2016;17(5):637.

26.Choi K, Kim T, Yoo H, Lee K, Cho G, Hwang T, et al. Effect of exercise training on A-FABP, lipocalin-2 and RBP4 levels in obese women. Clinical endocrinology. 2009;70(4):569-74.

27.Bijeh N, Abbasian S. The effect of intensity of aerobic training and dietary pattern changing on interleukin-1 ²خand resistance insulin indexes in non-active obese subjects. Arak Medical University Journal. 2013;16(7):0.–

28.Chen Y-W, Li Y-T, Chen YC, Li Z-Y, Hung C-H. Exercise training attenuates neuropathic pain and cytokine expression after chronic constriction injury of rat sciatic nerve. Anesthesia & Analgesia. 2012.۷–۱۳۳۰:(۶)۱۱۴;