دریافت:۹۵/۸/۲۶ پذیرش: ۹۶/۱/۲۷ ص ص:۲۴۸-۲۳۷

تاثیر چهار هفته تمرین ورزشی استقامتی بر بیان ژن های TNF-α و IL-10 در موش های صحرایی نر پس از انفارکتوس تجربی میوکارد

اکبر اعظمیان جزی[۱]، علی مقصودی[۲]، سمیرا عمادی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: گرچه فعال شدن پروسه‌های التهابی در اولین مقطع زمانی پس از انفارکتوس میوکارد (MI) ضروری است، اما اگر بیش از حد ادامه یابد، می‌تواند وقوع مجدد MI را تسهیل نماید. با توجه به اثرات مثبت برنامه‌های تمرین ورزشی منظم هوازی بر التهاب، به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی استقامتی تأثیر مثبتی بر وضعیت التهابی بیماران مبتلا به MI داشته باشد. بر این اساس، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر تمرین ورزشی استقامتی بر بیان ژن های TNF-α و IL-10 در موش‌های صحرایی نر پس از انفارکتوس تجربی میوکارد انجام شد.

مواد و روش ها: ۱۸ سر موش صحرایی به طور تصادفی در گروه‌های کنترل، کنترل کاذب و تمرین ورزشی استقامتی تقسیم شدند. MI با تزریق زیرجلدی ایزوپرنالین (۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) در دو روز متوالی القاء شد. مداخله تمرین ورزش استقامتی، ۲روز پس از MI شروع و به مدت ۴ هفته تداوم یافت. پس از استخراج RNA از بافت قلب و سنتز cDNA، با استفاده از روش Real time-PCR، بیان ژن های TNF-α و IL-10 به صورت کمی محاسبه شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه در سطح P< ۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته ها: بیان ژن TNF-α در گروه تمرین ورزشی استقامتی نسبت به گروه های کنترل (P=۰/۰۰۲) و کنترل کاذب (P=۰/۰۰۱) به طور معنی داری کمتر بود. بیان ژن IL-10 در گروه تمرین ورزشی استقامتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کمتر بود (P=۰/۰۲۳) و بیان این ژن در گروه کنترل نسبت به گروه کنترل کاذب به طور معنی داری بیشتر بود (P=۰/۰۱۱).

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی استقامتی به واسطه تعدیل بیان ژن‌های TNF-α و IL-10 ممکن است فرایند بهبود وضعیت التهابی پس از MI را تسریع نماید.

واژه های کلیدی: تمرین ورزشی استقامتی، IL-10، TNF-α، انفارکتوس میوکارد، موش صحرایی

۱. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران (نویسنده مسئول)، azamianakbar@yahoo.com
۲. دانشجوی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. دانشجوی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

مقدمه

انفارکتوس میوکارد (MI)[1] شایع‌ترین علت آسیب قلبی است (۱). گرچه، التهاب و ارتشاح سلول‌های التهابی از جمله مشخصه‌های MI می‌باشد (۱) و فعال شدن پروسه التهاب در اولین مقطع زمانی بعد از MI لازمه ورود به مراحل بعدی یعنی ترمیم و تکثیر سلولی می‌باشد (۲)، اما از طرف دیگر، التهاب یک عامل زمینه‌ای مهم جهت آغاز تشکیل پلاک‌های کرونری، توسعه، ناپایداری و نیز پارگی آنها نیز به حساب می‌آید (۳). همچنین، پاسخ‌های التهابی مداوم اثرات سوئی بر عملکرد بطن چپ و فرایند بازسازی پس از MI حاد دارد (۴). اطلاعات تحت بالینی نشان می‌دهد که واکنش‌های التهابی حاد پس از MI می‌تواند بروز تصلب عروقی عمومی را شتاب بخشد و در نتیجه، باعث وقوع مجدد MI گردد (۵). لذا، کنترل هر چه سریعتر التهاب ناشی از وقوع MI ضروری به نظر می‌رسد.

میزان التهاب ناشی از وقوع MI تجربی می‌تواند تحت تاثیر افزایش بیان ژن های IL-6، IL-1b و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α)[2] تا چند برابر افزایش یابد (۶). گزارش شده است که سایتوکاین‌های پیش التهابی و به خصوص TNF-α نقش مهمی در روند باز آرایی[3] پس از MI بر عهده دارند (۷). همچنین، اختلالات عملکردی بطن چپ، کاردیومیوپاتی۴ و نارسایی قلبی می تواند بیان TNF-α در انسان و حیوانات را افزایش دهد (۸). اینترلوکین – ۱۰ (IL-10)۵ نقش مهمی در تعدیل تولید TNF-α ایفا می کند (۹) و گزارش شده است که مهار TNF-α و تنظیم مثبت IL-10 اثری حفاظتی بر قلب دارد (۱۰). در مدل حیوانی، میزان نارسایی قلبی پس از MI به طور معنی‌داری با کاهش IL-10 و افزایش قابل توجه سایتوکاین‌های التهابی TNF-α و IL-6 در ارتباط است (۷). بنابراین، بررسی تغییرات TNF-α و IL-10 متعاقب MI می‌تواند اهمیت ویژه‌ای داشته باشد.

پایین بودن سطوح IL-10 ممکن است نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های عروق کرونر و پیامدهای مرتبط با آن داشته باشد (۳). میزان بیان ژن IL-10 به شدت تحت تاثیر بیان ژن فاکتورهای پیش التهابی و به ویژه TNF-α قرار دارد و پس از ایجاد MI، بیان ژن این فاکتور به میزان زیادی افزایش می‌یابد (۱۱). تنظیم افزایشی mRNA و پروتئین IL-10 در نواحی انفارکته قلبی نشان داده است که افزایش بیان ژن IL-10 از زمان ۵ ساعت پس از MI شروع شده و تا ۹۶ الی۱۲۰ ساعت بعد از خونرسانی مجدد به اوج خود می‌رسد (۱۲).

تمرینات ورزشی هوازی به طور گسترده‌ای برای بیماران مبتلا به بیماری‌های قلبی و از جمله کسانی که MI را تجربه کرده‌اند، توصیه شده است (۱۳). این بیماران به شرط این که دچار عوارض شدیدی نباشند، باید از روز سوم پس از بروز MI به طور فزاینده و به میزان ۱۸۵ متر و حداقل سه نوبت در روز راه بروند (۱۴). تمرینات ورزشی به دلیل تغییراتی که در دما، PH، سطوح هورمون‌ها و نیز آزاد سازی و کنترل برخی مواد شیمیایی ایجاد می‌کنند، ممکن است بیان ژن فاکتورهای التهابی (ضد التهابی و پیش التهابی) را هم به صورت حاد و هم مزمن تحت تاثیر قرار دهند (۱۵, ۱۶). گزارش شده است که تمرینات ورزشی منظم چندین هفته‌ای دارای اثرات ضد التهابی بوده و به همین دلیل خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی را کاهش می‌دهند (۱۷–۱۹). این تمرینات به واسطه افزایش میزان IL-10 می‌تواند پروفایل التهابی بیماران پس از ابتلا به MI را بهبود بخشد (۲۰) و تولید TNF-α

1- Myocardial Infarction
2- Tumor necrosis factor alpha
3- Remodeling process
4- Cardiomyopathy
5- Interleukin-10

را به واسطه افزایش IL-10 تعدیل نماید (۲۱). همچنین، بر اثر تمرین ورزشی، سطوح IL-10 در بافت قلب افزایش یافته و سطوح TNF-α کاهش می‌یابد که با کاهش فیبروز و بهبود اختلال عملکرد قلب همراه می باشد (۱۰). گزارش شده است که فعالیت‌های بدنی هوازی (استقامتی) به واسطه دارا بودن اثرات تعدیلی بر دستگاه‌های هورمونی و عصبی می‌تواند بیان ژن فاکتور پیش التهابی TNF-α را کاهش دهد (۲۲, ۲۳). فعالیت‌های بدنی بعد از انفارکتوس تجربی می‌تواند با افزایش بیان ژن IL-10 و تولید آن در بدن، تولید فاکتورهای پیش التهابی و از جمله TNF-α و IL-6 و نیز بیان ژن این فاکتورها را در عضله قلبی کاهش دهد (۲۴). همچنین، فعالیت‌های بدنی طولانی مدت در موش‌های صحرایی می‌تواند بیان فاکتورهای TNF-α و IL-6 را به طور معنی داری کاهش داده و بیان ژن IL-10 را افزایش دهد (۱۶). در مجموع، نقش تمرینات ورزشی در ارتباط با کنترل عوامل التهابی و اثرات آن در زمینه بهبود عملکرد قلبی پس از MI به روشنی معلوم نیست.

به طور خلاصه، با اینکه فعال شدن پروسه‌های التهابی در اولین مقطع زمانی پس از MI ضروری است، اما اگر بیش از حد ادامه یابد، می تواند وقوع مجدد MI را تسهیل نماید. با توجه به اثرات مثبت برنامه های تمرینات ورزشی منظم هوازی در کنترل التهاب، ممکن است استفاده از تمرینات استقامتی تأثیر مطلوبی بر وضعیت التهابی بیماران مبتلا به MI داشته باشد. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر تمرین ورزشی استقامتی بر بیان ژن های TNF-α و IL-10 در موش‌های صحرایی نر پس از انفارکتوس تجربی میوکارد انجام شد.

روش بررسی

در تحقیق حاضر، از ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰–۸ هفته‌ای با وزن ۲۴۵–۲۱۰ گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی انتخاب شده پس از همگن سازی بر اساس وزن و یک هفته عادت به شرایط جدید، در یک برنامه‌ی آشناسازی جهت دویدن بر روی تردمیل مخصوص موش‌ها، در ۵ روز متوالی با سرعت ۶ متر بر دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در روز با شیب صفر درجه شرکت کردند (۲۵). برای وادار کردن موش‌های صحرایی به دویدن، از شوک الکتریکی به میزان ۰/۵ میلی آمپر استفاده شد (۲۶, ۲۷). آب و غذا به طور آزادانه در دسترس موش‌های صحرایی قرار داشت و همه آن‌ها در شرایط یکسان با چرخه ۱۲ ساعت روشنایی – تاریکی در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ تا ۵۵ درصد در داخل قفس‌های پلاستیکی در حیوان خانه‌ی دانشگاه ایلام نگهداری شدند (۲۸).

برای القاء انفارکتوس تجربی میوکارد از تزریق زیر جلدی ایزوپرنالین[1] به میزان (۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) محلول در نرمال سالین در دو روز متوالی با فاصله‌ی ۲۴ ساعت استفاده شد. استفاده از این ماده در مدل‌های حیوانی به ویژه موش صحرایی یکی از روش‌های رایج برای ایجاد MI است (۲۹–۳۱). انتخاب دوز تزریقی دارو بر اساس مطالعه‌ی پایلوت انجام شد. به این صورت که از سه دوز ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد و پس از بررسی بافت قلب (میزان نفوذ سلول های التهابی تک هسته‌ای و میزان بافت نکروزی) مشخص شد که MI در دوزهای ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم القاء گردید. بنابراین، دوز تزریقی ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم انتخاب شد (۲۹–۳۱).

از مجموع ۳۵ سر موش صحرایی تعداد ۲ سر موش صحرایی به دلیل عدم سازگاری مناسب با دویدن روی تردمیل از تحقیق خارج شدند و تعداد ۶ سر موش صحرایی به گروه کنترل کاذب (شم) اختصاص یافت (چون موش‌های گروه تجربی و حتی گروه کنترل نیز به MI مبتلا شدند، وجود یک گروه سالم برای بررسی القاء MI

1- Subcutaneous Injection of Isoprenaline

ضروری بود). ۲۷ سر موش صحرایی باقی مانده، مطابق دستورالعمل فوق ایزوپرنالین دریافت کردند. از مجموع ۲۷ سر موش‌های صحرایی که ایزوپرنالین دریافت کرده بودند، تعداد ۵ سر موش صحرایی پس از تزریق دوم تلف شدند. سپس، به منظور بررسی آسیب بافتی و برای اطمینان از بروز MI، ۲ روز پس از القاء MI به طور تصادفی تعداد ۴ سر موش صحرایی کشته شدند و بافت قلب آن‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- آئوزین و بر اساس میزان ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای مورد بررسی قرار گرفت (۳۲). با توجه به اینکه میزان آسیب نکروزی و ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای در بافت قلب همه‌ی ۴ سر موش صحرایی قربانی شده بسیار شدید بود، بنابراین، القاء MI مورد تأیید قرار گرفت. سپس، ۱۸ سر موش صحرایی باقی مانده به طور تصادفی در گروه‌های کنترل (بدون تمرین، ۶= n)، کنترل کاذب (۶= n) و تمرین ورزشی استقامتی (۶= n) توزیع شدند.

چهل و هشت ساعت پس از تزریق دوم مداخله تمرین ورزشی استقامتی شروع شد. لازم به ذکر است که سابقه شروع تمرینات ورزشی حتی ۲۴ ساعت بعد از MI نیز موجود است (۳۳, ۳۴). گروه تمرین ورزشی استقامتی، برنامه تمرینی را با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در روز و ۵ جلسه در هفته شروع کردند. سرعت و مدت تمرین به تدریج افزایش یافت به طوری که در پایان هفته دوم، موش های صحرایی قادر بودند با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و ۵۰ دقیقه در روز (شامل ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه) بدوند. پروتکل تمرین ورزشی استقامتی ۴ هفته به طول انجامید. مشخص شده است که این رژیم تمرینی معادل ۵۵ درصد VO_{2max} است و به خوبی توسط موش‌های صحرایی انفارکتوسی تحمل می‌شود (۲۸, ۳۵). گروه‌های کنترل و کنترل کاذب نیز روزانه به مدت ۵ دقیقه بر روی دستگاه قرار داده شدند و برنامه راه رفتن با سرعت ۵ متر بر دقیقه را انجام دادند. این کار به این منظور انجام شد تا این موش ها نیز مانند همتایان آزاد خود حداقل فعالیت بدنی را داشته باشند.

۲۴ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرین (۲۸ روز بعد از انفارکتوس)، موش‌ها با استفاده از کلروفرم (Chloroform) بی هوش شدند و در شرایط بی‌هوشی عمیق، قلب آن‌ها جدا و بعد از شستشو در داخل فرمالین ۱۰ درصد به عنوان فیکساتیو قرار داده شد. سپس، ۲۴ ساعت بعد، قلب‌ها برش داده شد و در داخل پارافین مذاب غوطه‌ور شدند (۳۶).

پس از جداسازی مقاطع ۵ میکرومتری از بافت فیکس شده در پارافین و پودر کردن بافت توسط هاون، مرحله جدا سازی mRNA از پارافین توسط کیت مخصوص RNeasy FFPE Mini Kit (50) طبق پروتکل استاندارد کیت انجام شد. بعد از استخراج mRNA، مرحله سنتز cDNA با استفاده از ۲۵۰ نانوگرم mRNA استخراج شده و پرایمر راندوم، توسط کیت Thermoscientific-Fischer انجام گردید. سپس، پرایمر های دو ژن هدف و ژن کنترل با مشخصات ارائه شده در جدول ۱ آماده گردید و با استفاده از دستگاه Real Time (مدل Rotor-Gene) نمونه cDNA آماده شده و پرایمر ها درون دستگاه قرار گرفت و دستگاه، نمودار های تکثیر Real Time-PCR و CT دو ژن هدف و ژن کنترل را برای هر نمونه ترسیم کرد. سپس، مقادیر بیان ژن با استفاده از CT به دست آمده برای هر نمونه و فرمول کمی سازی $۲^{-\Delta\Delta CT}$، به صورت نسبی محاسبه گردید (۳۷). لازم به ذکر است که با توجه به نمودار تکثیر Real Time-PCR دو ژن TNF-α و IL-10، میزان بیان ژن این دو فاکتور نسبتا پایین بوده، ولی با توجه به انطباق نمودار های دو تکرار برای هر نمونه برای دو ژن هدف و افت نمودار

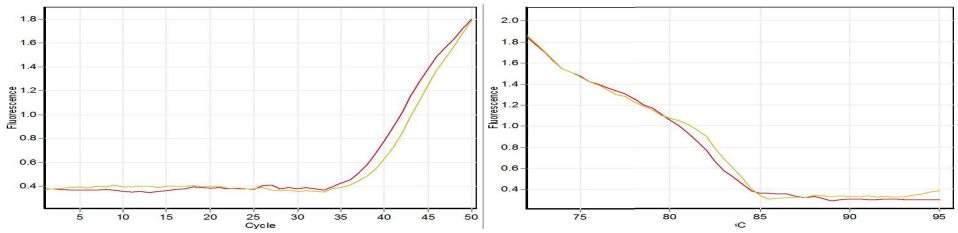
نورFluorescence در یک مرحله در نمودار های Melt برای هر دو فاکتور، آزمایش با کمترین خطا همراه بوده است (۳۷)، (شکل های ۱ و ۲).

جدول ۱. مشخصات پرایمر های دو ژن هدف و ژن کنترل

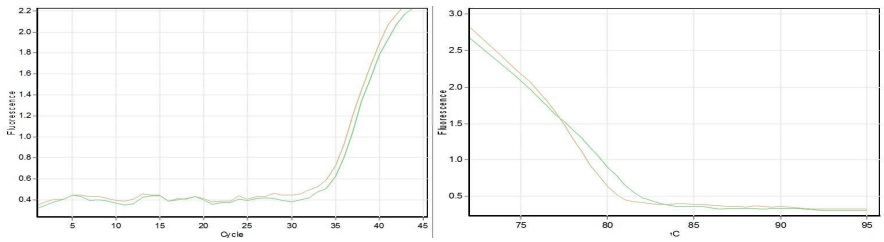
Name	Sequence	Product	Annealing
TNF-α - Forward	CTGGCGTGTTCATCCGTTC	89 bp	61
TNF-α - Reverse	GGCTCTGAGGAGTAGACGATAA		
IL-10 - Forward	AGTGGAGCAGGTGAAGAATGAT	108 bp	61
IL-10 - Reverse	TGTCACGTAGGCTTCTATGCAG		
18s rRNA - Forward	CGCAAATTACCCACTCCCGAC	133 bp	61
18s rRNA - Reverse	CACCAGACTTGCCCTCCAATG		

برای بررسی چگونگی توزیع داده‌ها از آزمون کلموگروف – اسمیرنوف و برای مقایسه گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد.

با توجه به معنی دار شدن تفاوت بین گروه ها، برای TNF-α از آزمون شفه و برای IL-10 چون همگنی واریانس ها بر قرار نبود از آزمون تعقیبی تمهین (Tamhane) استفاده شد. داده‌ها در سطح معنی داری کمتر از پنج صدم و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ تجزیه و تحلیل شدند.



شکل ۱. تکثیر Real Time-PCR ژن TNF-α در گروه تمرین ورزشی استقامتی (تغییرات نور Fluorescence با افزایش دما در بازه ی زمانی)

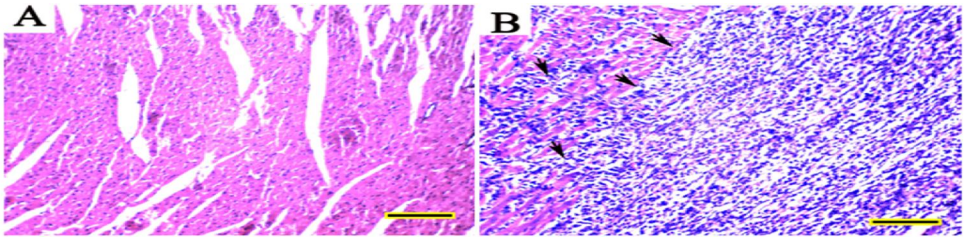


شکل ۲. تکثیر Real Time-PCR ژن IL-10 در گروه تمرین ورزشی استقامتی (تغییرات نور Fluorescence با افزایش دما در بازه ی زمانی)

یافته ها

بررسی القاء MI با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین – آئوزین بافت قلب نشان داد که میزان نفوذ سلول های التهابی تک هسته ای و میزان بافت نکروزی ناشی از تزریق زیر جلدی ایزوپرنالین (۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) در

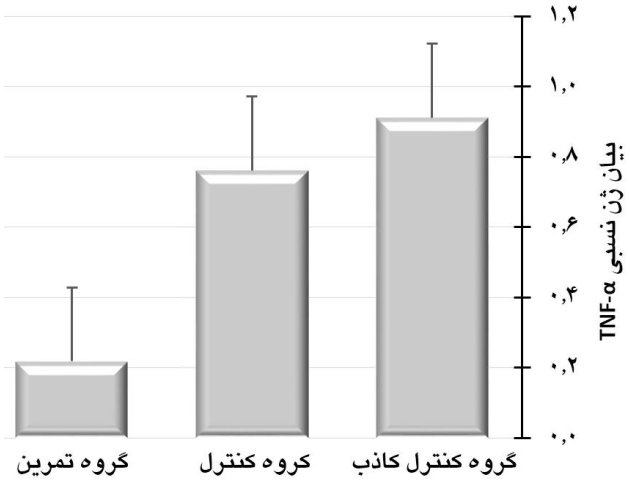
گروه ایسکمی در مقایسه با گروه شاهد سالم (کنترل کاذب/شم) بسیار شدید بود که نشان دهنده القاء صحیح MI است (شکل ۳).



شکل ۳. فتومیکروگراف های رنگ آمیزی هماتوکسیلین- آئوزین بافت قلب

(A) گروه شاهد سالم (شم) (B) گروه ایسکمی (گروه مبتلا شده به MI). نواحی تیره و فلش‌های سیاه، بافت نکروزی را نشان می‌دهند. بزرگنمایی x۱۰. (Scal Bar: 100µm).

تفاوت بیان ژن TNF-α بین گروه های کنترل (۲۸ روز پس از MI)، کنترل کاذب و تمرین ورزشی استقامتی معنی داری بود (P=۰/۰۰۱ و F=۱۷/۰۵). با توجه به همگن بودن واریانس بین گروه ها، نتایج آزمون تعقیبی شفه نشان داد که بین گروه های تمرین ورزشی استقامتی و کنترل (۲۸ روز پس از MI) تفاوت معنی داری وجود دارد (P=۰/۰۰۲)، بین گروه های تمرین ورزشی استقامتی و کنترل کاذب نیز تفاوت معنی داری وجود دارد (P=۰/۰۰۱)، اما بین گروه های کنترل (۲۸ روز پس از MI) و کنترل کاذب تفاوت معنی داری وجود ندارد (P=۰/۵۰۲). به عبارت دیگر، بررسی مقادیر کمی بیان این ژن در سه گروه نشان داد که بیان ژن TNF-α پس از ۲۸ روز از MI، در گروه تمرین ورزشی استقامتی (۰/۲۱۸±۰/۱۳) نسبت به گروه کنترل (۰/۷۶۲±۰/۲۷) به میزان ۷۱ درصد و نیز نسبت به گروه کنترل کاذب (۰/۹۱۲±۰/۲۲) به میزان ۷۶ درصد کمتر بود. همچنین، بیان این ژن در گروه کنترل نسبت به گروه کنترل کاذب به طور غیر معنی داری کمتر بود (شکل ۴).



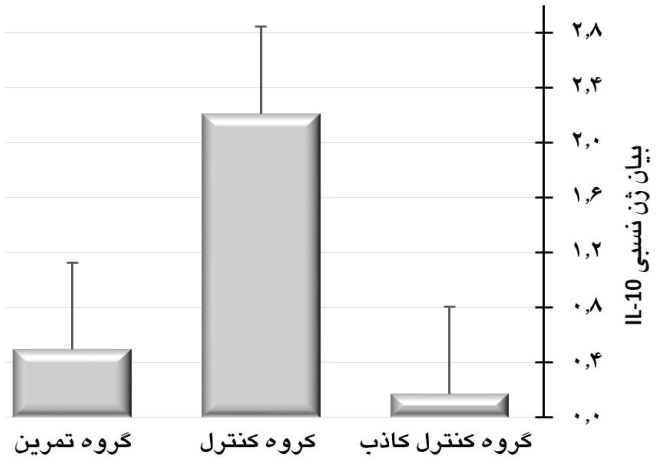
شکل ۴. بیان ژن نسبی TNF-α

تفاوت بیان ژن IL-10 بین گروه های کنترل (۲۸ روز پس از MI) ، کنترل کاذب و تمرین ورزشی استقامتی معنی داری بود (P=۰/۰۰۱ و F=۱۹/۴۵). با توجه به ناهمگن بودن واریانس بین گروه ها، از آزمون تعقیبی تمهین

استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که بین گروه های تمرین ورزشی استقامتی و کنترل (۲۸ روز پس از MI) تفاوت معنی داری وجود دارد (P=۰/۰۲۳)، بین گروه های کنترل (۲۸ روز پس از MI) و کنترل کاذب تفاوت معنی داری وجود دارد (P=۰/۰۱۱)، اما بین گروه های تمرین ورزشی استقامتی و کنترل کاذب تفاوت معنی داری وجود ندارد (P=۰/۰۸۸). به عبارت دیگر، بررسی مقادیر کمی بیان ژن در سه گروه نشان داد که بیان ژن IL-10 پس از ۲۸ روز از MI، در گروه تمرین ورزشی استقامتی (۰/۲۵±۰/۴۹۵) نسبت به گروه کنترل (۱/۰۱±۲/۲۱) به طور معنی داری کمتر بود (۷۷ درصد کمتر)، اما نسبت به گروه کنترل کاذب (۰/۱۹±۰/۱۷۲) به طور غیر معنی داری بیشتر بود (۱۸۸ درصد بیشتر). همچنین، بیان این ژن در گروه کنترل نسبت به گروه کنترل کاذب به طور معنی داری بیشتر بود (شکل ۵).

بحث و بررسی

به طور خلاصه، میزان بیان ژن TNF-α در گروه تمرین ورزشی استقامتی نسبت به گروه کنترل (پس از ۲۸ روز از MI) چندین برابر کمتر بود (یک چهارم)، نسبت به گروه سالم (کنترل کاذب) نیز چندین برابر کمتر بود (یک پنجم) و میزان بیان این ژن در گروه کنترل نسبت به گروه سالم (کنترل کاذب) به طور غیر معنی داری کمتر بود. میزان بیان ژن IL-10 در گروه تمرین ورزشی استقامتی نسبت به گروه کنترل (پس از ۲۸ روز از MI) چندین برابر کمتر بود (یک پنجم)، نسبت به گروه سالم (کنترل کاذب) به طور غیر معنی داری بیشتر بود (سه برابر) و میزان بیان این ژن در گروه کنترل نسبت به گروه سالم (کنترل کاذب) چندین برابر بیشتر بود (۱۴ برابر).



شکل ۵. بیان ژن نسبی IL-10

دلیل پایین تر بودن البته غیر معنی دار بیان ژن TNF-α در گروه کنترل نسبت به گروه سالم را می توان به بالاتر بودن چندین برابری بیان ژن IL-10 در گروه کنترل در مقایسه با گروه سالم، مربوط دانست. در پیشینه تحقیق ذکر شده است که IL-10 نقش مهمی در تعدیل تولید TNF-α ایفا می کند (۹) و با توجه به وضعیت التهابی ایجاد شده ناشی از MI، بالاتر بودن بیان IL-10 و پایین تر بودن بیان TNF-α در گروه کنترل نسبت به گروه سالم طبیعی به نظر می رسد. زیرا سیستم دفاعی بدن در تلاش است تا با التهاب مقابله نماید و مهار TNF-α و تنظیم مثبت IL-10 می تواند اثری محافظتی بر قلب داشته باشد (۱۰). اما، همچنان بالا ماندن میزان بیان

ژن IL-10 در گروه کنترل نسبت به گروه های سالم و نیز تمرین ورزشی استقامتی نشان دهنده آن است که وضعیت التهابی در این گروه همچنان مطلوب نیست و بنابراین، بیان ژن IL-10 بالا مانده است تا با این وضعیت مقابله نماید. لازم به ذکر است که بالا تر از حد نرمال بودن IL-10 پس از MI به عنوان یک واکنش دفاعی طبیعی جهت ترمیم بافت آسیب دیده قلب لازم است که البته سطوح آن با گذر زمان و بهبود تدریجی التهاب به تدریج کاهش می یابد. این افت تدریجی سطوح IL-10 پس از MI در تحقیق کار[1] و همکاران (۲۰۰۶) نیز مشاهده شده است. در تحقیق مذکور، میزان IL-10 متصل به غشاء در موش های صحرایی، در زمان های ۱، ۴، ۸ و ۱۶ هفته پس از MI نسبت به گروه کنترل کاهش یافت و این کاهش نیز با کاهش در میزان IL-10 mRNA همراه بود (۳۸). با این حال، در کل، تا حدودی بالا نگه داشتن سطوح IL-10 ممکن است نقش ارزنده ای بر بهبود وضعیت التهابی داشته باشد. زیرا، کاهش سطوح IL-10 می تواند وضعیت التهابی را به سمت محیطی التهابی تغییر دهد (۳۸).

نتیجه دیگر تحقیق حاضر این بود که میزان بیان ژن TNF-α و IL-10 در گروه تمرین ورزشی استقامتی نسبت به گروه کنترل (پس از ۲۸ روز از MI) چندین برابر کمتر بود. به احتمال زیاد، کاهش چندین برابری بیان ژن TNF-α در گروه تمرین ورزشی استقامتی در مقایسه با گروه کنترل نشان می دهد که میزان التهاب در گروه تمرین ورزشی استقامتی کاهش یافته است و حتی نسبت به سطوح نرمال خود (گروه کنترل کاذب) نیز به طور قابل توجهی پایین تر آمده است. در تحقیقات گذشته هم این موضوع تایید شده است که تمرینات ورزشی منظم چندین هفته ای دارای اثرات ضد التهابی بوده و به همین دلیل خطر ابتلا به بیماری های قلبی را کاهش می دهند (۱۷–۱۹). کاهش بیان ژن TNF-α در گروه تمرین ورزشی استقامتی را می توان به افزایش چندین برابری بیان ژن IL-10 نسبت به حد نرمال (گروه کنترل کاذب) نسبت داد. با توجه به همزمانی افت بیان ژن TNF-α با افزایش چندین برابری بیان ژن IL-10 (همانگونه که در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی نیز مشخص شده است) به نظر می رسد تمرینات ورزشی می تواند تولید TNF-α را به واسطه افزایش IL-10 تعدیل نماید (۲۱). لازم به ذکر است که علی رغم اینکه بیان ژن IL-10 در گروه تمرین ورزشی استقامتی نسبت به میزان آن در گروه سالم بالاتر است، ولی در مقایسه با میزان بیان آن در گروه کنترل به طور قابل توجهی پایین تر است. این پایین تر بودن بیان ژن IL-10 را می توان به تاثیر مثبت تمرین ورزشی استقامتی تحقیق حاضر بر وضعیت التهابی گروه تمرین ورزشی استقامتی نسبت داد. به عبارت دیگر، تمرین ورزشی تحقیق حاضر توانسته است فرایند بهبود التهاب را در مقایسه با گروه کنترل تسریع نماید و با توجه به تاثیر متقابل TNF-α و IL-10 بر یکدیگر، پایین آمدن هر دوی آنها متناسب با هم انجام شده است. با توجه به اینکه کاهش التهاب با کاهش بیان ژن TNF-α همراه است، در صورت کاهش التهاب در قلب، بیان ژن IL-10 نیز رو به کاهش می گذارد و حداکثر ظرف ۸ هفته به سطح طبیعی خود باز می گردد (۱۱). همچنین، بیان IL-17 و گیرنده های آن در طی آسیب های ایسکیمیک / رپرفیوژن افزایش می یابد و با توجه به اینکه IL-17 می تواند موجب ترشح برخی از سایتوکین ها و از جمله TNF-α شود (۳۹) ممکن است تغییرات بیان این سایتوکین پیش التهابی نیز در تغییرات التهابی پس از MI مشاهده شده در تحقیق حاضر نقش داشته باشد.

در مورد تاثیر مثبت تمرینات ورزشی بر وضعیت التهابی در بیماران قلبی، گزارش شده است که پس از تمرین ورزشی چندین هفته ای، سطوح IL-10 در بافت قلب افزایش یافته و سطوح TNF-α کاهش می یابد و این

1- Kaur

تغییرات با کاهش فیبروز و بهبود اختلال عملکرد قلب همراه می باشد (۱۰). همچنین، در تحقیقی بر روی بیماران مبتلا به MI چنین نتیجه گیری شد که تمرین ورزشی به واسطه افزایش سایتوکاین ضد التهابی IL-10 می تواند پروفایل التهابی بیماران پس از ابتلا به MI را بهبود می بخشد (۲۰).

در مورد چگونگی تاثیر مثبت تمرینات ورزشی چندین هفته ای بر وضعیت التهاب در بیماران مبتلا به MI می توان به این نکته اشاره کرد که انجام تمرین ورزش استقامتی (هوازی) در روز های اول پس از MI از طریق افزایش جریان خون در عضله قلب و نیز ناحیه آسیب دیده باعث می شود تا اکسیژن رسانی به این نواحی بهبود یافته و در نتیجه، از مرگ سلولی ناشی از هیپوکسی در این ناحیه جلوگیری شود و در کل، پروسه مذکور به نوبه ی خود می تواند شروع روند کنترل التهاب در روز های اول پس از MI را تسهیل نماید (کاهش بیان ژن TNF-α و دیگر فاکتور های التهابی). همچنین، تداوم انجام تمرینات استقامتی می تواند تا حد زیادی از طریق ایجاد عروق جدید موجب بهبود نواحی آسیب دیده شود (۲۲, ۴۰). ورزش هوازی طولانی مدت در بیماران قلبی به واسطه بهبود عملکرد عصبی ـ عضلانی، باز یابی بافت آسیب دیده، اکسیژن رسانی بهتر، جلوگیری از احتباس آب، تعادل بهتر در سطوح سدیم و پتاسیم غشاء سلول های عضله قلب، تعدیل سطوح کاتوکلامین ها و رادیکال های آزاد، هورمون های استروییدی و همچنین هورمون رشد می تواند بیان ژن TNF-α را کاهش دهد (۲۲, ۴۰). بیان ژن TNF-α می تواند بوسیله IL-10 تعدیل شود. IL-10 پروسه های التهابی را از طریق مهار تولید سایتوکین های التهابی و به ویژه TNF-α تعدیل می کند. این کار در سطح نسخه برداری و بوسیله مهار فاکتور هسته ای کاپا NF-κB B (Nuclear factor kappa B) انجام می شود (۲۱). فاکتور NF-κB بیان ژن های گوناگونی که در پروسه التهاب و ترمیم یاخته ای نقش دارند را تنظیم می کند. NF-kB در تولید TNF-α نقش مؤثری دارد. از طرف دیگر، TNF-α می توانند NF-kB که در نتیجه جدا شدن آن از پروتئین مهاری IκBα (Inhibitor of NF-κB alpha)، (پروتئین مهاری سیستم NF-kB) حاصل می گردد را فعال کند (۴۱). مطالعه روی موش های صحرایی نشان داد که این پروسه تحت تاثیر تمرین هوازی روی تردمیل فعال تر می شود. این کار از طریق کاهش سطح IκBα و افزایش فسفریله شدن IKK (I-kappa B Kinase)، (آنزیمی که کمپلکس پروتئین IκB را تجزیه می کند) انجام می شود (۴۲). بنابراین تعدیل بیان ژن TNF-α بوسیله IL-10 در تحقیق حاضر نیز محتمل به نظر می رسد.

در تحقیق حاضر، موضوع تغییرات التهابی ناشی از تمرین ورزشی استقامتی پس از MI برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت. بررسی سایر سایتوکین های مرتبط مانند IL-17، IL-6 و نیز مکانیسم های درگیر در تغییرات التهابی پس از MI و نقش فعالیت های ورزشی مختلف بر این تغییرات می تواند سایر ابعاد مبهم در این زمینه را روشن نماید.

نتیجه گیری

به نظر می رسد تمرینات ورزشی استقامتی تحقیق حاضر به واسطه تعدیل بیان ژن های TNF-α و IL-10 می تواند نقش مهمی در بهبود وضعیت التهابی ناشی از MI داشته باشد و فرایند بهبود التهاب را در مقایسه با گروه کنترل تسریع نماید.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شهرکرد می باشد. از همکاری عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نموده اند، سپاسگزاریم.

References:

1. Liu J, Wang H, Li J. 2016. Inflammation and Inflammatory Cells in Myocardial Infarction and Reperfusion Injury: A Double-Edged Sword. Clinical Medicine Insights Cardiology. 10:79-84.
2. Prabhu SD, Frangogiannis NG. 2016. The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis. Circulation research. 119(1):91-112.
3. Zhang DF, Song XT, Chen YD, Yuan F, Xu F, Zhang M, et al. 2016. Prognostic performance of interleukin-10 in patients with chest pain and mild to moderate coronary artery lesions-an 8-year follow-up study. Journal of geriatric cardiology. 13(3):244-51.
4. Krishnamurthy P, Rajasingh J, Lambers E, Qin G, Losordo DW, Kishore R. 2009. IL-10 inhibits inflammation and attenuates left ventricular remodeling after myocardial infarction via activation of STAT3 and suppression of HuR. Circulation research. 104(2):e9-18.
5. Joshi NV, Toor I, Shah AS, Carruthers K, Vesey AT, Alam SR, et al. 2015. Systemic Atherosclerotic Inflammation Following Acute Myocardial Infarction: Myocardial Infarction Begets Myocardial Infarction. Journal of the American Heart Association. 4(9):e001956.
6. Csiszar A, Ungvari Z. 2004. Synergistic effects of vascular IL-17 and TNFalpha may promote coronary artery disease. Medical hypotheses. 63(4):696-8.
7. Stumpf C, Seybold K, Petzi S, Wasmeier G, Raaz D, Yilmaz A, et al. 2008. Interleukin-10 improves left ventricular function in rats with heart failure subsequent to myocardial infarction. European journal of heart failure. 10(8):733-9.
8. Torre-Amione G. 2005. Immune activation in chronic heart failure. The American journal of cardiology. 95(11A):3C-8C; discussion 38C-40C.
9. Lopes RD, Batista ML, Jr., Rosa JC, Lira FS, Martins E, Jr., Shimura AY, et al. 2010. Changes in the production of IL-10 and TNF-alpha in skeletal muscle of rats with heart failure secondary to acute myocardial infarction. Arquivos brasileiros de cardiologia. 94(3):293-300, 13-20.
10. Kesherwani V, Chavali V, Hackfort BT, Tyagi SC, Mishra PK. 2015. Exercise ameliorates high fat diet induced cardiac dysfunction by increasing interleukin 10. Frontiers in physiology. 6:124.
11. Frangogiannis NG, Mendoza LH, Lindsey ML, Ballantyne CM, Michael LH, Smith CW, et al. 2000. IL-10 is induced in the reperfused myocardium and may modulate the reaction to injury. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 165(5):2798-808.
12. Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. 2002. The inflammatory response in myocardial infarction. Cardiovascular research. 53(1):31-47.
13. Rodrigues B, Lira FS, Consolim-Colombo FM, Rocha JA, Caperuto EC, De Angelis K, et al. 2014. Role of exercise training on autonomic changes and inflammatory profile induced by myocardial infarction. Mediators of inflammation. 2014:702473.
14. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. 2015. Harrison's Principles of Internal Medicine. 19 ed. USA: McGraw-Hill Education / Medical: 1606.

15. Goldhammer E, Tanchilevitch A, Maor I, Beniamini Y, Rosenschein U, Sagiv M. 2005. Exercise training modulates cytokines activity in coronary heart disease patients. International journal of cardiology. 100(1):93-9.
16. Ding YH, Young CN, Luan X, Li J, Rafols JA, Clark JC, et al. 2005. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. Acta neuropathologica. 109(3):237-46.
17. Balady GJ, Williams MA, Ades PA, Bittner V, Comoss P, Foody JM, et al. 2007. Core components of cardiac rehabilitation/secondary prevention programs: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention Committee, the Council on Clinical Cardiology; the Councils on Cardiovascular Nursing, Epidemiology and Prevention, and Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; and the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. Circulation. 115(20):2675-82.
18. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. 2011. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nature reviews Immunology. 11(9):607-15.
19. Pedersen BK. 2006. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. Essays in biochemistry. 42:105-17.
20. Ribeiro F, Alves AJ, Teixeira M, Miranda F, Azevedo C, Duarte JA, et al. 2012. Exercise training increases interleukin-10 after an acute myocardial infarction: a randomised clinical trial. International journal of sports medicine. 33(3):192-8.
21. Batista ML, Jr., Lopes RD, Seelaender MC, Lopes AC. 2009. Anti-inflammatory effect of physical training in heart failure: role of TNF-alpha and IL-10. Arquivos brasileiros de cardiologia. 93(6):643-51, 92-700.
22. Niebauer J, Clark AL, Webb-Peploe KM, Coats AJ. 2005. Exercise training in chronic heart failure: effects on pro-inflammatory markers. European journal of heart failure. 7(2):189-93.
23. Anker SD, von Haehling S. 2004. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. Heart. 90(4):464-70.
24. Keller C, Keller P, Giralt M, Hidalgo J, Pedersen BK. 2004. Exercise normalises overexpression of TNF-alpha in knockout mice. Biochemical and biophysical research communications. 321(1):179-82.
25. Galvão TF, Matos KC, Brum PC, Negrão CE, Luz PLd, Chagas ACP. 2011. Cardioprotection conferred by exercise training is blunted by blockade of the opioid system. Clinics. 66(1):151-7.
26. Rodrigues LO, Oliveira A, Lima NR, Machado-Moreira CA. 2003. Heat storage rate and acute fatigue in rats. Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas. 36(1):131-5.
27. Gholamnezhad Z, Boskabady MH, Hosseini M, Sankian M, Khajavi Rad A. 2014. Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 17(1):1-8.
28. Xu X, Zhao W, Lao S, Wilson BS, Erikson JM, Zhang JQ. 2010. Effects of Exercise and L-arginine on Ventricular Remodeling and Oxidative Stress. Medicine and science in sports and exercise. 42(2):346-54.
29. Moradi-Arzeloo M, Farshid AA, Tamaddonfard E, Asri-Rezaei S. 2016. Effects of histidine and vitamin C on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats. Veterinary Research Forum. 7(1):47-54.

30. Shukla SK, Sharma SB, Singh UR. 2015. beta-Adrenoreceptor Agonist Isoproterenol Alters Oxidative Status, Inflammatory Signaling, Injury Markers and Apoptotic Cell Death in Myocardium of Rats. Indian journal of clinical biochemistry. 30(1):27-34.
31. Zaafan MA, Zaki HF, El-Brairy AI, Kenawy SA. 2013. Protective effects of atorvastatin and quercetin on isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University. 51(1):35-41.
32. Azamian Jazi A, Abdi H, Haffezi Ahmadi MR, Cheraghi J. 2017. Effect of endurance exercise training on morphological changes in rat heart tissue following experimental myocardial infarction. Journal of Basic Research in Medical Sciences. 4(1):8-16.
33. Wu G, Rana JS, Wykrzykowska J, Du Z, Ke Q, Kang P, et al. 2009. Exercise-induced expression of VEGF and salvation of myocardium in the early stage of myocardial infarction. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 296(2):H389-95.
34. de Waard MC, van der Velden J, Bito V, Ozdemir S, Biesmans L, Boontje NM, et al. 2007. Early exercise training normalizes myofilament function and attenuates left ventricular pump dysfunction in mice with a large myocardial infarction. Circulation research. 100(7):1079-88.
35. Xu X, Wan W, Ji L, Lao S, Powers AS, Zhao W, et al. 2008. Exercise training combined with angiotensin II receptor blockade limits post-infarct ventricular remodelling in rats. Cardiovascular research. 78(3):523-32.
36. Ono K, Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, Sasayama S. 1998. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular remodeling. Circulation. 98(2):149-56.
37. Santana ET, Feliciano RdS, Serra AJ, Brigidio E, Antonio EL, Tucci PJF, et al. 2016. Comparative mRNA and MicroRNA Profiling during Acute Myocardial Infarction Induced by Coronary Occlusion and Ablation Radio-Frequency Currents. Frontiers in physiology. 7:565.
38. Kaur K, Sharma AK, Singal PK. 2006. Significance of changes in TNF-alpha and IL-10 levels in the progression of heart failure subsequent to myocardial infarction. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 291(1):H106-13.
39. Barry SP, Ounzain S, McCormick J, Scarabelli TM, Chen-Scarabelli C, Saravolatz L, II, et al. 2013. Enhanced IL-17 signalling following myocardial ischaemia/reperfusion injury. International journal of cardiology. 163(3):326-34.
40. Passino C, Severino S, Poletti R, Piepoli MF, Mammini C, Clerico A, et al. 2006. Aerobic training decreases B-type natriuretic peptide expression and adrenergic activation in patients with heart failure. Journal of the American College of Cardiology. 47(9):1835-9.
41. Hoesel B, Schmid JA. 2013. The complexity of NF-κB signaling in inflammation and cancer. Molecular Cancer. 12(86):12-86.
42. Spangenburg EE, Brown DA, Johnson MS, Moore RL. 2006. Exercise increases SOCS-3 expression in rat skeletal muscle: potential relationship to IL-6 expression. The Journal of physiology. 572(Pt 3):839-48.