

Response of Myocardial NLRP3 and LC3 Gene Expression in Male Diabetic Rats to Ischemic Preconditioning with Different Muscle Masses and Aerobic Training

Fazeleh Akbarnia Joneid¹ , Amin Farzaneh Hesari² , Abdollah Hashemvarzi³ , Ali Asghar Farsavian⁴ 

1. Department of Exercise Physiology, Sar.C., Islamic Azad University, Sari, Iran. [E-mail: saharakb66@gmail.com](mailto:saharakb66@gmail.com)
2. Corresponding Author, Department of Exercise Physiology, Sar.C., Islamic Azad University, Sari, Iran. [E-mail: af.hessari@gmail.com](mailto:af.hessari@gmail.com)
3. Department of Exercise Physiology, Sar.C., Islamic Azad University, Sari, Iran. [E-mail: hashemvarzi_tkd@gmail.com](mailto:hashemvarzi_tkd@gmail.com)
4. Department of Cardiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [E-mail: dralicardio@yahoo.com](mailto:dralicardio@yahoo.com)

Article Info

Article type:

Research

Article history:

Received:

17 April 2025

Received in revised form:

24 May 2025

Accepted:

30 August 2025

Published online:

21 September 2025

Keywords:

Cardiomyopathy,
Training,
Inflammation,
Ischemic preconditioning,
Wistar rats.

ABSTRACT

Introduction: Diabetic cardiomyopathy increases the risk of heart failure. Ischemic preconditioning (IPC) has a protective effect against myocardial injury. The present study aimed to investigate the effect of aerobic training and IPC with different muscle masses on myocardial NLRP3 and LC3 gene expression in diabetic Wistar rats.

Methods: Thirty-five Wistar rats were randomly divided into seven groups: Healthy control (C), diabetic (D), one-leg ischemia (1IP), two-legs ischemia (2IP), aerobic training (T), one-leg ischemia+aerobic training (1IPT), two-legs ischemia+aerobic training (2IPT). Diabetes was induced by a single injection of STZ (50 mg/kg). IPC consisted of three cycles of 5-minute ischemia followed by 5 minutes of reperfusion. Aerobic training was performed on a treadmill for six weeks, starting at 9 m/min for 15 minutes in the first week and gradually increasing to 18 m/min for 30 minutes by the sixth week. Myocardial NLRP3 and LC3 gene expression levels were measured using real-time PCR. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test.

Results: NLRP3 Gene expression significantly increased, and LC3 decreased in D compared to C ($p=0.0001$). NLRP3 and LC3 decreased and increased significantly, respectively, in 1IP ($p=0.0001, p=0.021$), 2IP ($p=0.0001, p=0.003$), T ($p=0.0001, p=0.005$), 1IPT ($p=0.0001$) and 2IPT ($p=0.0001$) compared to the C.

Conclusion: It appears that the effect of ischemic preconditioning on reducing cardiac NLRP3 and increasing LC3 in diabetic rats is independent of the mass of ischemic muscle involved. Aerobic training with IPC is more effective in improving NLRP3 and LC3 in diabetes.

Cite this article: Akbarnia Joneid F., Farzaneh Hesari A., Hashemvarzi A., & Farsavian A. A. Response of Myocardial NLRP3 and LC3 Gene Expression in Male Diabetic Rats to Ischemic Preconditioning with Different Muscle Masses and Aerobic Training. *Journal of Sport Biosciences*. 2025; 17 (2): 61-77.

[DOI: https://doi.org/10.22059/JSB.2025.393561.1676](https://doi.org/10.22059/JSB.2025.393561.1676)



Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
| Web site: <https://jsb.ut.ac.ir/> | Email: jsb@ut.ac.ir.

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Diabetic cardiomyopathy is a specific heart condition associated with diabetes that involves structural changes and functional abnormalities in the heart. In individuals with diabetes, chronic inflammation in heart muscle cells (cardiomyocytes) can lead to increased stiffness in the ventricles and asymptomatic diastolic dysfunction. The NLRP3 inflammasome plays a crucial role in the innate immune system, initiating and promoting inflammatory responses to protect against both internal dangers and pathogenic infections. Autophagy is a cellular process that breaks down and eliminates old proteins and cellular components, and it is essential for maintaining healthy cardiomyocytes. However, conditions such as hyperglycemia and dyslipidemia can negatively impact autophagy in these cells. Aerobic exercise training is beneficial for enhancing exercise capacity and heart function, and it can prevent cardiac remodeling, making it an effective complementary treatment for various cardiovascular disorders. Additionally, ischemic preconditioning (IPC) is a therapeutic strategy that has been shown to reduce the severity of acute myocardial infarction in animal studies. IPC involves a temporary phase of sublethal local tissue ischemia that protects against subsequent lethal ischemia, although its interaction with exercise training is still not fully understood. The present study aimed to investigate the effects of aerobic training and IPC using different muscle masses on the gene expression of NLRP3 and LC3 in the hearts of diabetic Wistar rats.

Methods

In this experimental study, 35 Wistar rats were randomly divided into seven groups: control (C), diabetic (D), diabetic one-leg ischemia (1IP), diabetic two-leg ischemia (2IP), diabetic aerobic training (T), diabetic one-leg ischemia with aerobic training (1IPT), and diabetic two-leg ischemia with aerobic training (2IPT). Diabetes was induced in the rats via a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) at a dosage of 50 mg/kg. IPC was performed by tightening a tourniquet around the upper hind limb, followed by three cycles of ischemia and reperfusion, each consisting of 5 minutes of ischemia and 5 minutes of reperfusion. Endurance exercise began 20 minutes after the final ischemia cycle. Blood flow in the hind limb was completely occluded, which was confirmed by the absence of pulse, hypothermia, and skin cyanosis in the limb. The aerobic exercise regimen lasted for eight

weeks, conducted five days per week, and involved treadmill running. During the first two weeks, the rats ran at speeds of 9 and 12 meters per minute for 15 and 20 minutes, respectively. In week 3, the speed increased to 15 meters per minute for 20 minutes. In week 4, the rats ran at 18 meters per minute for 25 minutes. During week 5, they continued at the same speed for 30 minutes, and in week 6, they maintained the 18 meters per minute pace for another 30 minutes. The treadmill incline remained constant at 5% throughout the entire training period. Forty-eight hours after the last exercise session, the animals were anesthetized, and heart tissues were collected for analysis. The expression levels of the NLRP3 and LC3 genes were measured using the RT-PCR method. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post hoc tests, with statistical significance set at $P < 0.05$.

Results

The results indicated a significant difference between the groups regarding myocardial NLRP3 ($F=152.9$, $P=0.001$) and LC3 ($F=132.9$, $P=0.001$). Specifically, diabetes was associated with a substantial increase in myocardial NLRP3 gene expression compared to the control group (C) ($P=0.0001$). Additionally, there was a significant decrease in NLRP3 gene expression in the 1IP ($P=0.0001$), 2IP ($P=0.0001$), T ($P=0.001$), 1IPT ($P=0.0001$), and 2IPT ($P=0.0001$) groups compared to the diabetes group (D). Furthermore, the results showed that diabetes led to a significant decrease in myocardial LC3 gene expression compared to the control group ($P=0.0001$). In contrast, the 1IP ($P=0.021$), 2IP ($P=0.003$), T ($P=0.0001$), 1IPT ($P=0.0001$), and 2IPT ($P=0.0001$) groups exhibited a significant increase in LC3 gene expression compared to the diabetes group (D).

Conclusion

It seems that the induction of an experimental diabetes model led to an increase in the expression of the NLRP3 gene and a decrease in the expression of the LC3 gene. Our current findings suggest that remote IPC may enhance the effects of aerobic exercise in reducing inflammation and improving autophagy in cardiac tissue following diabetes. Additionally, the beneficial effects of remote IPC appear to be independent of the amount of ischemic muscle involved. These results represent a significant step toward controlling and mitigating cardiac damage associated with diabetes. However, a comprehensive understanding of the mechanisms underlying diabetes-induced autophagy requires further investigation.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines: All research ethics protocols and guidelines for working with laboratory animals were implemented

and approved by the Research Ethics Committee of Islamic Azad University, Sari Branch. Ethics Code: IR.IAU.SARI.REC.1403.156

Funding: Financial resources were provided by the authors.

Authors' contribution: Design and conceptualization were carried out by Amin Farzaneh Hesari and Abdollah Hashemvarzi. The methodology and data analysis were conducted by Fazeleh Akbarnia and Ali Asghar Farsavian. Supervision and final writing were performed by Amin Farzaneh Hesari. All authors have read and approved the final version of the article.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments: The author would like to express their sincere gratitude to all who helped them with this research.



پاسخ ژن های NLRP3 و LC3 قلب رت های نر دیابتی به پیش آماده سازی ایسکمی در حجم های عضلانی مختلف و تمرین هوازی

فاضله اکبرنیا جنید^۱، امین فرزانه حصاری^۲، سید عبدالله هاشمورزی^۳، علی اصغر فرسویان^۴

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. رایانامه: saharakb66@gmail.com

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. رایانامه: af.hessari@gmail.com

۳. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. رایانامه: hashemvarzi_tkd@gmail.com

۴. مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. رایانامه: dralcardio@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: پژوهشی	مقدمه: کاردیومیوپاتی دیابتی خطر نارسایی قلب را افزایش می دهد. پیش آماده سازی ایسکمی یک اثر محافظتی در مقابل آسیب میوکارد دارد. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی و دوزهای مختلف پیش آماده سازی ایسکمی در حجم های عضلانی مختلف بر بیان ژن NLRP3 و LC3 قلب رت های ویستار دیابتی بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۸	روش پژوهش: ۳۵ رت نژاد ویستار به صورت تصادفی به هفت گروه: سالم، دیابتی، ایسکمی یک پا، ایسکمی دو پا، تمرین هوازی، تمرین + ایسکمی یک پا، دیابتی تمرین + ایسکمی دو پا تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق یک مرحله ای STZ (دوز ۵۰ mg/kg) صورت گرفت. پیش آماده سازی ایسکمی شامل سه دور پنج دقیقه ای ایسکمی و پنج دقیقه جریان مجدد متعاقب بود. تمرین هوازی به مدت شش هفته و شامل دویدن روی نوار گردان با سرعت ۹ متر در دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه در هفته اول بود که در هفته ششم به سرعت ۱۸ متر در دقیقه و مدت ۳۰ دقیقه رسید. بیان ژن NLRP3 و LC3 با روش real-time PCR اندازه گیری شد. از روش آماری واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۳/۰۳	یافته ها: دیابت با افزایش بیان NLRP3 و کاهش LC3 قلب نسبت به گروه سالم همراه بود ($P=0/0001$). متغیرهای پژوهش به ترتیب کاهش و افزایش معناداری در ایسکمی یک پا ($P=0/0001$ ، $P=0/021$)، ایسکمی دو پا ($P=0/0001$ ، $P=0/003$)، تمرین ($P=0/0001$ ، $P=0/005$)، تمرین + ایسکمی یک پا ($P=0/0001$) و تمرین + ایسکمی دو پا ($P=0/0001$) نسبت به گروه دیابت داشت.
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸	نتیجه گیری: به نظر می رسد که اثر پیش آماده سازی ایسکمی در کاهش NLRP3 و افزایش LC3 قلب رت های دیابتی مستقل از حجم عضلانی درگیر ایسکمی است و تمرین هوازی به همراه پیش آماده سازی ایسکمی اثر بیشتری دارد.
تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۶/۳۰	

کلیدواژه ها:

التهاب،

پیش آماده سازی ایسکمی،

تمرین،

رت های ویستار،

کاردیومیوپاتی.

استناد: اکبرنیا جنید، فاضله؛ فرزانه حصاری، امین؛ هاشمورزی، عبدالله، فرسویان، علی اصغر. پاسخ ژن های NLRP3 و LC3 قلب رت های نر دیابتی به پیش آماده سازی ایسکمی در حجم های عضلانی مختلف و تمرین هوازی. نشریه علوم زیستی ورزشی. ۱۴۰۰؛ (۲) ۱۷، ۶۱-۷۷.

DOI: <http://doi.org/10.22059/JSB.2025.393561.1676>.

دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کرییتیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است. | آدرس نشریه: <https://jsb.ut.ac.ir/> | ایمیل: jsb@ut.ac.ir



© نویسندگان.

ناشر: انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

کاردیومیوپاتی دیابتی یک فنوتیپ خاص قلبی در بیماران دیابتی است که با تغییرات ساختاری (هایپرتروفی قلب، مرگ سلول‌های عضله قلب و فیبروز) و ناهنجاری‌های عملکردی قلب مشخص می‌شود. با وجود نقش مقاومت به انسولین، اختلالات متابولیکی قلب، استرس اکسیداتیو و اختلال در ریزگردش خون کرونر در پاتوفیزیولوژی کاردیومیوپاتی دیابتی [۱]، بیشتر پژوهش‌ها تأیید کرده‌اند که سازوکارهای التهابی نامناسب سیستمیک و موضعی به‌طور شایان توجهی در پیشرفت این بیماری نقش دارند [۲]. التهاب مزمن کاردیومیوسیت‌ها، فیبروبلاست‌های قلبی و سلول‌های اندوتلیال عروق کرونر به افزایش سفتی بطن و اختلال عملکرد دیاستولیک منجر می‌شود، که به دنبال آن بازسازی قلب، هایپرتروفی میوکارد و اختلال در عملکرد انقباضی قلب رخ می‌دهد و در نهایت به نارسایی قلبی منجر می‌شود [۳]. کمپلکس پروتئینی حاوی دمین پیرین ۳ (NLRP3) بخش مهمی از سیستم ایمنی ذاتی است که پاسخ‌های التهابی را در دفاع میزبان علیه خطر اندوژن و عفونت‌های میکروبی بیماری‌زا بلافاصله آغاز و منتشر می‌کند [۴]. شواهد بر دخالت التهاب ناشی از NLRP3 در شروع و پیشرفت اختلالات متابولیکی [۵] و بیماری‌های قلبی - عروقی [۶] تأکید می‌کند. پاتولوژی خاص NLRP3 در قلب نشان می‌دهد که به‌عنوان یک کاندیدای قوی برای پیوند التهاب و کاردیومیوپاتی دیابتی ظاهر شده است که توسط گونه‌های فعال اکسیژن، هایپرگلیسمی، هایپرلیپیدمی و محصولات نهایی گلیکوزه شدن^۲ پیشرفته در طول کاردیومیوپاتی دیابتی فعال می‌شود. این امر سبب التهاب و تغییرات درون سلولی در سلول‌های مختلف قلب شده و به آسیب قلبی، مرگ سلولی و بازسازی نامناسب بطن منجر می‌شود [۷]. این شواهد در مجموع نقش مخربی از NLRP3 در توسعه و پیشرفت کاردیومیوپاتی دیابتی را نشان می‌دهد و بینش جدیدی را برای توسعه درمان‌های دیابت فراهم می‌کند.

در علت‌شناسی کاردیومیوپاتی دیابتی، به‌نظر می‌رسد اتوفاژی نقش مهمی در بقای سلول و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده ایفا می‌کند که به‌عنوان یک سازوکار هموستاتیک در قلب برای حفظ ساختار و عملکرد قلبی ضروری است [۸، ۹]. یکی از پروتئین‌های مهم مرتبط با اتوفاژی پروتئین مرتبط با میکروتوبول زنجیره سبک ۳ (LC3) است. پس از مرحله هسته‌زایی، فرایند اتوفاژی از طریق کمپلکس LC3I و LC3II رخ می‌دهد و به تشکیل اتوفاگوزوم^۴ منجر می‌شود. کاناموری^۵ و همکاران (۲۰۱۵)، جریان اتوفاژیک را با افزایش تجمع LC3-II و کاهش همزمان تعداد لیزوزوم‌ها در سلول‌های میوکارد تحت تأثیر دیابت نوع دو نشان دادند، به‌طوری‌که افزایش سطح LC3-II با سرکوب اتوفاژی همراه بود [۱۰]. تحقیق دیگری نشان داد که مقاومت به انسولین می‌تواند از طریق تنظیم مثبت LC3II و BECLIN1 سبب فعال‌تر شدن اتوفاژی شود [۱۱]. بنابراین، اتوفاژی در دیابت ممکن است نقش دوگانه‌ای ایفا کند، زیرا هم سرکوب و هم فعالیت بیش از حد اتوفاژی می‌تواند اثر پاتولوژیک بر سلول‌های قلبی در دیابت داشته باشد. از این‌رو نقش دقیق اتوفاژی در قلب دیابت نوع دو هنوز مشخص نیست.

تمرین هوازی رویکرد درمانی مؤثری در پیشگیری از کاردیومیوپاتی دیابتی شناخته می‌شود. به‌نظر می‌رسد تمرین با کاهش NLRP3 نقش مهمی در بهبود کاردیومیوپاتی دیابتی ایفا می‌کند. در این زمینه در مدل چاقی القا شده توسط رژیم غذایی پرچرب، تمرین هوازی به‌طور مؤثری فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 را در بطن چپ سرکوب کرد [۱۲]. علاوه بر این،

¹ NLR Pyrin Domain-Containing 3 Complex

² glycation

³ Microtubule-associated protein 1 light chain 3

⁴ Autophagosomes

⁵ Kanamori

مهار اینفلامازوم NLRP3 در مدل‌های انسانی دیابت نوع دو [۱۳] و کودکان چاق [۱۴] و کاهش بیان NLRP3 قلب رت‌های چاق [۱۵] با تمرین هوازی گزارش شده است. در مقابل، بعضی تحقیقات عدم تغییر NLRP3 را با تمرین گزارش کرده‌اند [۱۶، ۱۷]. از طرفی، اتوفازی به عنوان یک پاسخ تطبیقی ممکن است با فعالیت ورزشی فعال شود که این با هدف کنترل آسیب بافتی و بازگرداندن یکپارچگی بافت اتفاق می‌افتد و موجب مهار پاسخ‌های التهابی و ایجاد سیگنال‌های مستقیم برای سازگاری می‌شود [۱۸]. در این زمینه افزایش بیان پروتئین LC3 بطن چپ رت‌های دیابتی [۱۹] و محتوای پروتئین LC3II در رت‌های چاق [۲۰] با تمرین ورزشی گزارش شد.

پژوهش‌های اخیر اثر پیش‌آماده‌سازی ایسکمی بر بیماری‌هایی مانند دیابت و مشکلات قلبی عروقی را بررسی کرده‌اند. پیش‌آماده‌سازی ایسکمی^۱ (IPC) شامل دوره‌های متناوب و کوتاه ایسکمی-جریان مجدد است که در ابتدا برای محافظت سلول‌های قلبی در مقابل آسیب‌های ایسکمی ناشی از سکتة قلبی و انفارکتوس بررسی و گزارش شد که IPC میزان انفارکتوس قلبی را کاهش می‌دهد و آسیب قلبی پس از ایسکمی متعاقب را به تأخیر می‌اندازد [۲۱]. نکته جالب توجه این است که تأثیرات محافظتی IPC می‌تواند دورتر از بافت یا اندامی که دوره‌های ایسکمی در آنجا اعمال شده است اتفاق بیفتد که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور^۲ (RIPC) خوانده می‌شود [۲۲]. در این زمینه لانگ^۳ و همکاران (۲۰۲۲) محافظت سلول‌های قلبی در برابر آسیب ناشی از سکتة یا انفارکتوس قلبی در نتیجه اعمال IPC در پاها را گزارش کردند. همچنین پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در پا به مدت چند روز به بهبود عملکرد اندوتلیال عروقی بعد از آسیب‌های ایسکمی-جریان مجدد [۲۳] و همچنین در بیماران دیابتی [۲۴] منجر شد.

با وجود تحقیقات انجام گرفته، سازوکارهای دقیق کاردیومیوپاتی دیابتی و اثربخشی مداخله‌های مختلف به خوبی روشن نیست. با توجه به اینکه دیابت با مهار یا تضعیف تأثیرات محافظتی IPC همراه است و همچنین آسیب ایسکمی-جریان مجدد قلبی در دیابت افزایش می‌یابد [۲۵]، محققان در این پژوهش در پی بررسی این موضوع هستند که آیا پیش‌آماده‌سازی ایسکمی پاسخ NLRP3 و اتوفازی بافت قلب به تمرین ورزشی را تغییر می‌دهد؟ از طرفی، تأثیرات مثبت IPC در رسیدن متابولیت‌های خاص از جمله برادی کینین^۴، اپویدها^۵ و آدنوزین به یک سطح بحرانی بستگی دارد و این نشان‌دهنده وجود یک آستانه مشخص برای تأثیرات سودمند IPC است [۲۶]. این موضوع ممکن است نشان‌دهنده این باشد که حجم عضلانی درگیر ایسکمی می‌تواند به بروز آثار متفاوت IPC منجر شود. بنابراین فرض محققان این بود که اگر آماده‌سازی ایسکمی در حجم عضلانی متفاوت اعمال شود (یک پا در برابر دو پا) ممکن است تأثیرات مختلف داشته باشد. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی پاسخ بیان ژن NLRP3 و LC3 بافت قلب به تمرین هوازی و پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در یک پا (حجم عضلانی کم) و دو پا (حجم عضلانی زیاد) در رت‌های دیابتی بود.

^۱ Ischemic Preconditioning

^۲ Remote Ischemic preconditioning

^۳ Lang

^۴ Bradykinin

^۵ opioids

روش‌شناسی پژوهش

حیوانات

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود و بر اساس مقررات نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی، پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد ساری با شناسه (IR.IAU.SARI.REC.1403.156) انجام شد. ۳۵ سر رت نر نژاد ویستار (سن هشت هفته و وزن 215 ± 15 گرم) در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هیستونژنوتک تهران در شرایط آب‌وهوایی کنترل شده (دمای 22 ± 2 سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد، یک سیکل شب و روز ۱۲:۱۲) و با رژیم غذایی استاندارد و آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. پنج سر رت به‌عنوان گروه سالم جدا شدند و بقیه پس از دیابتی شدن به‌صورت تصادفی در شش گروه دیابت، تمرین هوازی، ایسکمی یک پا، ایسکمی دو پا، ایسکمی یک پا+تمرین هوازی و ایسکمی دو پا+تمرین هوازی قرار گرفتند.

روند اجرای تحقیق

القای دیابت با تزریق تک‌دوز 50 ML/KG استرپتوزوسین به‌صورت داخل صفاقی صورت گرفت و قند بالای 250 میلی‌لیتر در دسی‌لیتر در ۷۲ ساعت پس از تزریق، به‌عنوان دیابت القاشده در نظر گرفته شد [۲۷]. قبل از شروع برنامه تمرینی، با هدف آشنایی با فعالیت روی نوار گردان، گروه‌های تمرینی به مدت یک هفته و طی پنج جلسه به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر دویند [۱۹]. پس از آن، پروتکل تمرینی و پیش‌ایسکمی انجام پذیرفت. پیش‌ایسکمی در هر جلسه تمرینی ۲۰ دقیقه قبل از فعالیت اعمال شد و شامل بستن یک تورنیکت (با عرض ۸ میلی‌متر) به بالای ران پای رت‌ها و در سه دور پنج دقیقه‌ای ایسکمی با پنج دقیقه جریان مجدد بود (مدت زمان پروتکل پیش‌ایسکمی ۳۰ دقیقه بود). در گروه‌های پیش‌آماده‌سازی ایسکمی یک پا، تورنیکت فقط دور یک ران و در گروه‌های پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دو پا، تورنیکت همزمان دور هر دو ران بسته شد. برای اطمینان از انسداد جریان خون در طول دوره ایسکمی از علائم بالینی مانند نبود نبض، کاهش دما و سیانوز پوست در پاها استفاده شد. نبود نبض به‌وسیله یک حسگر نبض قرار داده‌شده روی شریان پشت پای^۱ (ادامه شریان تیبیال قدامی در سطح قدامی میچ پا جانب تاندون بازکننده انگشت شست) تأیید شد [۲۷].

پروتکل تمرین هوازی به مدت شش هفته و پنج روز در هفته اجرا شد که شامل دویدن روی نوار گردان بود و شدت تمرین بر اساس سرعت دویدن روی نوار گردان کنترل شد. تمرین با سرعت ۹ متر در دقیقه و شیب ۵ درجه به مدت ۱۵ دقیقه در هفته اول شروع شد و در طول پژوهش به‌طور تدریجی و با رعایت اصل اضافه بار در هفته ششم به ۱۸ متر در دقیقه و مدت ۳۰ دقیقه رسید. در هر جلسه ۵ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۵ متر در دقیقه انجام شد [۲۸]. شایان ذکر است که در گروه‌های ایسکمی یک پا+تمرین و ایسکمی دو پا+تمرین، ۴۵ دقیقه قبل از شروع فعالیت، اولین چرخه ایسکمی به مدت ۵ دقیقه اعمال و بعد از آن ۵ دقیقه جریان مجدد لحاظ شد. چرخه‌های ایسکمی-جریان مجدد سه بار تکرار شد، به‌طوری‌که دویدن ۲۰ دقیقه بعد از آخرین دور ایسکمی شروع شد.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین (به‌منظور از بین بردن تأثیرات حاد تمرین) و پس از ۸ تا ۱۲ ساعت ناشتایی، رت‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (70 MG/KG) و زایلازین ($5-3 \text{ MG/KG}$) بی‌هوش شدند و بخشی از بافت قسمت

¹ Dorsalis Pedis

نوک بطن چپ قلب رت‌ها استخراج و در ازت مایع قرار گرفت [۱۹، ۲۷]. برای سنجش بیان ژن NLRP3 و LC3 از روش REAL-TIME PCR استفاده شد. ابتدا استخراج RNA صورت گرفت. برای این منظور، میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ RPM و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. فاز شفاف رویی حاوی RNA جدا شده و به میکروتیوب دیگری منتقل شده و به آنها ایزوپروپانول اضافه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- انکوبه شدند. به منظور رسوب RNA، به منظور رسوب، مقدار ۲۰ تا ۳۰ میکرولیتر آب DEPC یا عاری از RNase به هر میکروتیوب اضافه شد تا رسوب RNA در آن حل شود. پس از این مرحله سنتز cDNA انجام شد. برای تهیه میکس RT، برای ساخت cDNA شامل بافر RT، آنزیم RT، پرایمر OLIGO DT و آب DEPC با یکدیگر مخلوط شده و سپس در حجم‌های ۹ ML در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری توزیع شدند. میکروتیوب‌های آماده شده حاوی RT MIX و نمونه RNA در دستگاه ترموسایکلر یا DRY BLOCK HEATER به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۷ درجه و ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه گذاشته شد. نمونه‌های cDNA آماده شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. پس از پایان آزمایش، اعداد CT مربوط به ژن رفرنس و ژن مرجع هر نمونه با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ بیان نسبی هر ژن محاسبه شد. جدول ۱ توالی پرایمرها را نشان می‌دهد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده

ژن‌ها	توالی پرایمرها
GAPDH-Forward	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
GAPDH-Reverse	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
NLRP3 Forward	GGAGTGGATAGGTTTGCTGG
NLRP3-Reverse	GGTGTAGGGTCTGTTGAGGT
LC3-Forward	ACAAGCAGGCAGATGAAGGAG
LC3-Reverse	TTCAGGCTTTCGTCTCTTCCA

روش آماری

به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از روش‌های آماری توصیفی و استنباطی استفاده شد که آمار توصیفی برای تعیین میانگین و انحراف معیار به کار رفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها نیز از طریق آزمون کولموگروف - اسمیرنوف بررسی شد. علاوه بر این، جهت آزمون فرضیه‌های پژوهش از روش تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معناداری نیز $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهشی

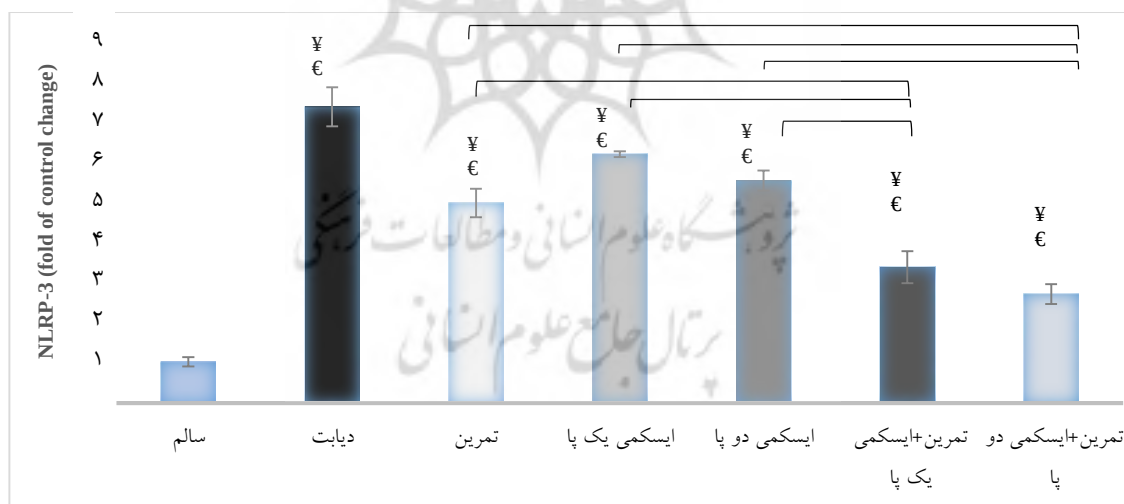
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیان ژن NLRP-3 ($F=152/9$, $P=0/0001$) و LC3 ($F=77/42$, $P=0/0001$) بافت قلب بین گروه‌های مختلف تفاوت معناداری دارد (جدول ۲). نتایج افزایش بیان ژن NLRP-3 بافت قلب در گروه دیابتی را نسبت به گروه سالم

نشان داد ($P=0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد در مقایسه با گروه دیابت، ایسکمی یک پا ($P=0/005$)، ایسکمی دو پا ($P=0/0001$)، تمرین هوازی ($P=0/0001$)، تمرین هوازی + ایسکمی یک پا ($P=0/0001$) و تمرین هوازی + ایسکمی دو پا ($P=0/0001$) به کاهش معنادار بیان NLRP-3 بافت قلب منجر شد. NLRP-3 در گروه تمرین + ایسکمی یک پا در مقایسه با ایسکمی یک پا ($P=0/0001$)، ایسکمی دو پا ($P=0/0001$) و تمرین هوازی ($P=0/003$) و همچنین در گروه تمرین + ایسکمی دو پا در مقایسه با ایسکمی یک پا ($P=0/0001$)، ایسکمی دو پا ($P=0/0001$) و تمرین هوازی ($P=0/0001$) کاهش معناداری داشت (نمودار ۱). تفاوت معناداری بین ایسکمی یک پا و دو پا ($P=0/189$)، تمرین با ایسکمی یک پا ($P=0/098$)، تمرین با ایسکمی دو پا ($P=0/349$) و تمرین + ایسکمی یک پا با تمرین + ایسکمی دو پا ($P=0/179$) مشاهده نشد.

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای بیان ژن NLRP-3 و LC3

متغیرها	منبع تغییرات	جمع مجزورات	درجه آزادی	میانگین مجزورات	F	P
NLRP3	بین گروهی	۸۲/۷۸	۶	۱۳/۸۵		
	درون گروهی	۱/۲۶۳	۲۸	۰/۰۹۰۲۲	۱۵۲/۹	۰/۰۰۰۱
	کل	۸۴/۰۵	۳۵			
LC3	بین گروهی	۱/۷۷	۶	۰/۰۹۲۶۴		
	درون گروهی	۰/۰۳۱۲	۲۸	۰/۰۰۲۲	۱۳۲/۹	۰/۰۰۰۱
	کل	۱/۸۰۹	۳۵			

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



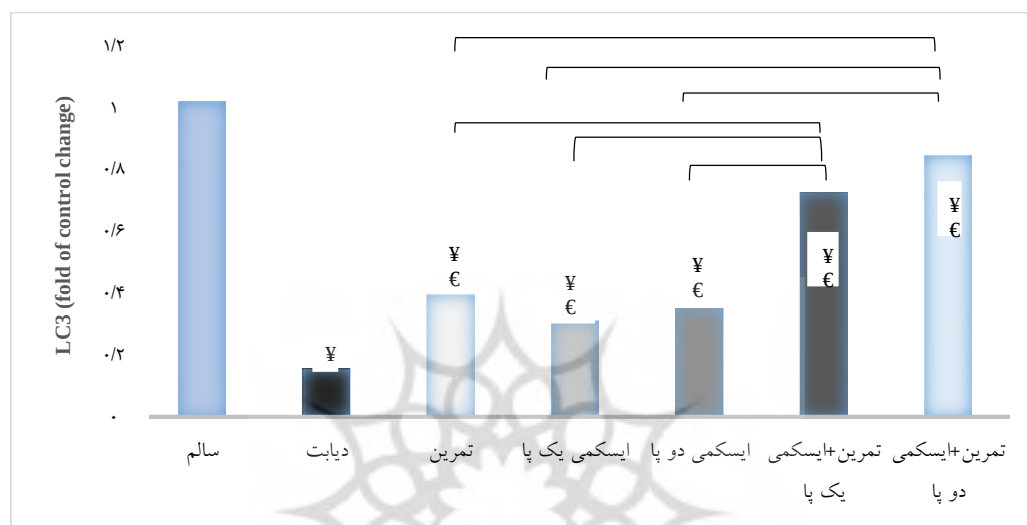
نمودار ۱. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی برای بیان ژن نسبی NLRP-3 گروه‌های تحقیق

¥: تغییرات معنادار نسبت به گروه سالم. £: تغییرات معنادار نسبت به گروه دیابت،

□ : تفاوت معنادار دو گروه مشخص شده با هم سطح معناداری $P<0/05$

نتایج نشان داد که بیان ژن LC-3 بافت قلب در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم کاهش معناداری داشت ($P=0/0001$). تمرین استقامتی ($P=0/005$)، ایسکمی یک پا ($P=0/0213$)، ایسکمی دو پا ($P=0/0031$) و تمرین + ایسکمی یک پا ($P=0/0001$) و تمرین +

ایسکمی دو پا ($P=0/0001$) به افزایش معنادار بیان LC-3 بافت قلب در مقایسه با گروه دیابت منجر شد. تمرین+ایسکمی یک پا و تمرین+ایسکمی دو پا به افزایش معناداری نسبت به تمرین ($P=0/0001$ ، $P=0/0001$)، ایسکمی یک پا ($P=0/0001$) و ایسکمی دو پا ($P=0/0001$) منجر شد (نمودار ۲). تفاوت معناداری بین ایسکمی یک پا و دو پا ($P=0/930$)، تمرین با ایسکمی یک پا ($P=0/370$)، تمرین با ایسکمی دو پا ($P=0/916$) و تمرین+ایسکمی یک پا با تمرین+ایسکمی دو پا ($P=0/094$) مشاهده نشد.



نمودار ۲. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی برای بیان نسبی ژن LC3 گروه‌های تحقیق

¥: تغییرات معنادار نسبت به گروه کنترل. €: تغییرات معنادار نسبت به گروه دیابت،

□: تفاوت معنادار دو گروه مشخص شده با هم سطح معناداری $P<0/05$

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن NLRP-3 بافت قلب در دیابت نسبت به گروه سالم افزایش داشت و تمرین هوازی و پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در یک و دو پا به‌تنهایی و در ترکیب با یکدیگر به کاهش بیان ژن NLRP-3 منجر شد، به‌طوری‌که میزان کاهش NLRP-3 در گروه‌های تمرین+ایسکمی از تمرین و ایسکمی تنها بیشتر بود. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، مطالعات متعددی افزایش اینفلامازوم NLRP-3 را در بیماران دیابتی در مقایسه با گروه سالم نشان دادند. در این زمینه، بهبود تحمل گلوکز و حساسیت به انسولین، کاهش سطوح سایتوکین‌های التهابی و همچنین افزایش فعالیت مسیر سیگنالینگ فسفوتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز/پروتئین کیناز B¹ (PI3K-AKT) انسولین با مهار ژن NLRP3 در رت‌های دیابتی گزارش شد [۲۹، ۳۰].

چندین تحقیق تأثیر تمرینات ورزشی بر NLRP3 قلبی در دیابت را بررسی کرده‌اند. مشابه با نتایج پژوهش حاضر، هو^۲ و همکاران (۲۰۲۲) کاهش NLRP3 سرمی مردان سالمند پیش‌دیابتی بعد از ۱۲ هفته تمرینات تای چی را نشان دادند [۳۱]. چن^۳ و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که تمرین هوازی به کاهش بیان NLRP3 قلبی رت‌های چاق انجامید [۱۵]. کاهش بیان ژن NLRP3 بافت پانکراس پس از

¹. Phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt

². Hu

³. Chen

شش هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط و شدید در رت‌های دیابتی در تحقیق فاطمی و همکاران (۱۴۰۱) گزارش شد [۳۲]. خدایی و همکاران (۱۴۰۳) کاهش NLRP3 قلب رت‌های دیابتی را پس از یک دوره تمرین تناوبی شدید نشان دادند [۳۳]. در مقابل، عدم تأثیر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن NLRP3 بافت چربی بیماران دیابتی در مطالعه زایدی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش شد [۱۶]. نتایج تحقیق زارع و همکاران (۱۳۹۹) نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی بر NLRP3 خون رت‌های چاق اثری نداشت [۱۷]. با بررسی تحقیقات انجام‌شده، نویسندگان تحقیق متناقضی که اثر تمرین بر بافت قلب رت‌ها را مطالعه کرده باشد نیافتند. بنابراین، به دلیل تفاوت در نمونه تحقیق (انسان، رت‌های چاق) و بافت موردنظر (بافت چربی و خون)، امکان مقایسه و بیان دلایل تفاوت پژوهش‌ها وجود ندارد.

از سازوکار احتمالی اثرگذار تمرین بر بیان و فعال‌سازی NLRP3 در قلب، تنظیم استرس اکسیداتیو است. تمرین هوازی می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی را تقویت کند و استرس اکسیداتیو را در بافت قلب کاهش دهد. در تحقیق ون و همکاران (۲۰۲۳) افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در قلب رت‌ها با تمرین هوازی گزارش شد. این بهبود در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با کاهش فعالیت NLRP3 و کاهش سطح سیتوکین‌های پیش التهابی همراه بود [۳۴]. سازوکار بالقوه دیگر تعدیل عملکرد میتوکندری است. اختلال عملکرد میتوکندری و آزادسازی DNA میتوکندری در فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 دخیل است. در این زمینه، ما و همکاران (۲۰۲۱) بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش آزادسازی DNA میتوکندری و فعال‌سازی NLRP3 در میوکارد رت‌ها را پس از تمرین هوازی گزارش کردند [۳۵]. این یافته‌ها نشان می‌دهند که بهبود ناشی از تمرین هوازی در سلامت میتوکندری ممکن است به سرکوب فعالیت NLRP3 قلبی کمک کند. علاوه بر این، نقش اتوفاژی القا شده توسط تمرین ورزشی در تنظیم فعالیت NLRP3 قلبی نیز بررسی شده است. بررسی رابطه بین اتوفاژی القا شده توسط تمرین هوازی و فعال‌سازی NLRP3 موش‌های با کاردیومیوپاتی دیابتی در پژوهش سان و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که تمرین هوازی نشانگرهای اتوفاژی را افزایش داده و فعالیت NLRP3 را در قلب رت‌های دیابتی کاهش داده است، که نقش اتوفاژی در میانجی‌گری اثرات ضد التهابی تمرین ورزشی بر روی NLRP3 قلبی را تأیید می‌کند [۳۶]. سازوکار احتمالی دیگر، افزایش تنظیم سیگنالینگ AMPK (حسگر انرژی سلولی) ناشی از تمرین هوازی است که به نوبه خود فعال‌سازی NLRP3 را مهار کرده و تخلیه میتوکندری‌های آسیب‌دیده از طریق اتوفاژی را تحریک می‌کند. این یافته‌ها بر تعامل پیچیده بین تمرین، AMPK و مسیرهای التهابی در قلب دیابتی اشاره دارد [۳۷].

نتایج تحقیق حاضر حاکی از این است که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور (در پا) بیان ژن NLRP3 بافت قلب را کاهش داد و این اثر مستقل از حجم عضلانی (یک پا و دو پا) بود، به‌طوری‌که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در یک و دو پا تأثیرات مشابهی داشتند. علاوه بر این، اثر تمرین + پیش‌آماده‌سازی ایسکمی بیشتر از تمرین و پیش‌آماده‌سازی ایسکمی تنها بود. نشان داده است که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی با کاهش اندازه انفارکت و بهبود عملکرد قلبی، حفاظت قلبی را فراهم می‌کند. سازوکارهای پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در کاهش فعال‌سازی NLRP3 به روشنی مشخص نیست. یکی از سازوکارهای احتمالی فعال‌سازی سیگنال پیام‌رسان و فعال‌کننده رونویسی ۳ (STAT3)^۴ (یک فاکتور رونویسی در بقا و تنظیم التهاب سلول‌ها) با پیش‌آماده ایسکمی است. در قلب‌های دیابتی که به‌طور معمول فعالیت STAT3 کاهش می‌یابد، پیش‌آماده ایسکمی دور تعامل بین پروتئین کیناز C و کائولین-۳ را تقویت می‌کند که منجر به افزایش فعالیت STAT3 می‌شود. این فعال‌سازی با کاهش نکروپتوز همراه است و بدین ترتیب آسیب ایسکمی-جریان مجدد میوکارد را کاهش می‌دهد [۳۸]. شواهد نشان می‌دهند که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور می‌تواند فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 را از طریق مسیرهای مختلف، از جمله تنظیم

1. Ven
2. Ma

3. Sun

4. Signal transducer and activator of transcription 3

دینامیک‌های میتوکندری و کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش دهد. پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور همچنین به تقویت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قلب منجر می‌شود که در مجموع استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند [۳۹]. سازوکار احتمالی دیگر، مسیر سیگنال‌دهی PI3K-Akt است. این مسیر برای محافظت قلبی القا شده از طریق پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور حیاتی است. در قلب‌های دیابتی، این مسیر اغلب معیوب است و به تحریک بیشتر پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور برای دستیابی به حفاظت قلبی نیاز دارد. فسفریلاسیون افزایش‌یافته Akt پس از پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور با کاهش اندازه انفارکت همراه است، که نشان می‌دهد سیگنال‌دهی سالم PI3K-Akt برای میانجی‌گری حفاظت میوکارد در دیابت ضروری است [۴۰]. شواهد نشان داده‌اند که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی می‌تواند پاسخ ایمنی را تعدیل کرده و التهاب بیش‌ازحد در لایه‌های مختلف، از مکانیزم‌های مولکولی و سلولی تا سیستمیک، را مهار کند تا از آسیب‌های کشنده محافظت کند [۴۱]. با این حال، سازوکارهای دقیق پیش‌آماده‌سازی ایسکمی به‌طور کامل مشخص نشده است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که دیابت به کاهش بیان ژن LC3 بافت قلب نسبت به گروه سالم منجر شد. بعضی پژوهش‌ها کاهش [۴۲، ۴۳] و بعضی تحقیقات افزایش LC3 [۴۴، ۴۵] را در موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه سالم گزارش کردند. بنابراین به‌نظر می‌رسد که یک سطح نرمال و بهینه از جریان اتوفازی برای هومئوستاز سلول مورد نیاز باشد. تفاوت مشاهده‌شده در تأثیرات ناشی از تمرین در تحقیق حاضر (نقش تقویت‌کنندگی) با برخی پژوهش‌های ذکر شده (نقش سرکوب‌کنندگی) ممکن است ناشی از سطح اتوفازی ایجاد شده پس از القای دیابت باشد، به‌طوری‌که در تحقیق حاضر القای دیابت به کاهش بیان ژن LC3 منجر شد، ولی در پژوهش‌های گلپسندی و همکاران [۴۴] و زنگانه و همکاران [۴۵] با افزایش بیان ژن LC3 همراه بود. تفاوت در سطح اتوفازی ناشی از دیابت ممکن است به‌دلیل روش القای دیابت در رت‌ها باشد. در تحقیق حاضر و گلپسندی و همکاران دیابت با تزریق تک دوز استرپتوزوسین القا شد ولی در تحقیق ژانگ و همکاران [۴۳] دیابت با چهار هفته غذای پرچرب و القای استرپتوزوسین ایجاد شد. در تحقیق حاضر در مجموع، تمرین ورزشی به‌عنوان یک عامل محافظتی سطح مطلوب اتوفازی و در نتیجه هومئوستاز سلولی را برقرار کرد. تمرین ورزشی به اتوفازی درون قلب منجر می‌شود که تحت عنوان اتوفازی قلبی ناشی از فعالیت ورزشی خوانده می‌شود. نتایج نشان داده‌اند که اتوفازی ناشی از تمرین هوایی محیط سلولی مساعدی را فراهم می‌کند که سلول‌های قلبی را در برابر استرس‌هایی مانند ایسکمی و صدمات قلبی محافظت می‌کند [۴۶]. مسیر سیگنالینگ هدف راپاماسین در پستانداران (mTOR) از سازوکارهای احتمالی است که در تنظیم اتوفازی نقش مهمی دارد. پروتئین mTOR از طریق mTORC1 پروتئین‌های تعامل‌کننده با خانواده کینازهای چسبان مرکزی با وزن ۲۰۰ کیلودالتون (FIP200) و کیناز فعال‌کننده اتوفازی-۱ شبه ۵۲-Unc (ULK1) و پروتئین وابسته به اتوفازی-۱۳ (ATG13) را تنظیم و به اتوفازی منجر می‌شود و با تنظیم پروتئین جعبه سرچنگالی o (FOXO3a) از طریق mTORC2 به مرگ سلولی می‌انجامد [۴۷].

نتایج پژوهش حاضر حاکی از این است که پیش‌ایسکمی دور بیان ژن LC3 بافت قلب را افزایش داد و این اثر مستقل از حجم عضلانی (یک پا و دو پا) بود. پژوهش‌های محدودی اثر پیش‌آماده‌سازی ایسکمی را بر اتوفازی بافت قلب در دیابت بررسی کردند. کاهش اندازه انفارکتوس و سطوح کراتین کیناز سرمی رت‌های دیابتی با پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در تحقیق لیو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شد. این نشان می‌دهد که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی با تنظیم اتوفازی ممکن است محافظت در برابر آسیب ایسکمی-پرفیوژن میوکاردی در دیابت ایجاد کند. در این پژوهش پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در سه دور پنج دقیقه‌ای ایسکمی-جریان مجدد و با انسداد شریان کرونری قلب

¹ Mammalian Target of Rapamycin

² FAK Family Kinase-Interacting Protein of 200 kDa

³ Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase-1

⁴ Autophagy-related protein 13

⁵ Forkhead Box Protein O1

⁶ Liu

اعمال شد [۴۷]. نقش محافظتی پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در قلب‌های دیابتی به‌روشنی مشخص نیست. یکی از سازوکارهای احتمالی، فعال‌سازی مسیر کیناز فعال‌شده توسط پیام خارج‌سلولی ۱ و ۲ (ERK1/2) است از قلب در برابر مرگ ناگهانی قلبی محافظت می‌کند. پیش‌آماده‌سازی ایسکمی دور همچنین می‌تواند فسفوریلاسیون گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا (GSK-3 β) را تحریک کند که این موضوع در آسیب ایسکمی-جریان مجدد قلب [۴۰] و در قلب [۴۱] گزارش شد. در هر دو تحقیق، پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در چهار دور پنج‌دقیقه‌ای ایسکمی-جریان مجدد و با انسداد شریان کبدی و ۳۰ دقیقه قبل از آسیب ایسکمی قلب اعمال شد. سازوکار احتمالی دیگر فسفوریلاسیون STAT3 یا STAT5 با پیش‌آماده‌سازی ایسکمی است. بر این اساس، اثر محافظتی پیش‌آماده‌سازی ایسکمی را می‌توان با تجویز مهارکننده‌های STAT مسدود کرد [۳۸]. در مجموع، سازوکارهای زیربنایی پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در اندام در تنظیم اتوفازی قلب به‌طور کامل مشخص نشده است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بین ایسکمی یک پا و دو پا و همچنین بین تمرین و گروه‌های ایسکمی تفاوت معناداری مشاهده نشد. از طرفی اثر تمرین+ایسکمی بیشتر از اثر تمرین و ایسکمی تنها بود. با توجه به سازوکارهای احتمالی بیان‌شده، به‌نظر می‌رسد که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی اثر هم‌افزایی با تمرین هوازی در کاهش NLRP3 و افزایش LC3 دارد. در این زمینه تنظیم استرس اکسیداتیو، تقویت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قلب و بهبود عملکرد میتوکندریایی از عوامل احتمالی اثرگذارند.

از محدودیت‌های پژوهش حاضر، روش تشخیص ایسکمی در اندام بود که به‌وسیلهٔ مشخص نبودن نبض، کاهش دما و سیانوز پوست در پاها تأیید شد. به‌منظور اطمینان از انسداد جریان خون از روش‌های دقیق‌تر مانند سونوگرافی یا عکس‌برداری استفاده شود. از طرفی، با توجه به ماهیت پیش‌روندهٔ کاردیومیوپاتی دیابتی، پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آینده اثر زمان‌بندی بهینهٔ تمرینات ورزشی را بررسی کنند. تعیین اینکه آیا تأثیرات تمرین در مهار فعال‌سازی NLRP3 و تنظیم اتوفازی در زمان کمتر مؤثرتر است، پیامدهای بالینی شایان توجهی خواهد داشت. درحالی‌که مطالعات حیوانی بینش‌های ارزشمندی ارائه داده‌اند، نیاز به تحقیقات بیشتری روی انسان برای تأیید تأثیرات تمرین و پیش‌آماده‌سازی ایسکمی بر التهاب و اتوفازی قلبی در بیماران دیابتی وجود دارد.

با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر، به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی، پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در یک پا یا دو پا به کاهش بیان NLRP3 و افزایش بیان LC-3 بافت قلب ناشی از دیابت منجر شد، به‌طوری‌که اثر پیش‌آماده‌سازی ایسکمی ظاهراً مستقل از حجم عضلانی درگیر بود و تمرین به‌همراه پیش‌آماده‌سازی ایسکمی اثر بیشتری داشت. این نتایج ممکن است گامی در جهت کنترل و کاهش کاردیومیوپاتی دیابتی بردارد. با وجود این شناخت و سازوکارهای عهده‌دار فرایند التهاب اینفلامازومی و اتوفازی ناشی از دیابت نیازمند تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رسالهٔ دکتری فیزیولوژی ورزش است. از تمامی کسانی که در پیشبرد اجرای این تحقیق همکاری داشتند و از داوران محترم به سبب ارائهٔ نظرهای ساختاری و علمی سپاسگزاری می‌شود.

¹ . Extracellular Signal-regulated

² . Lycopgen Synthase Kinase-3 beta

References

- [1]. Tan Y, Zhang Z, Zheng C, Wintergerst KA, Keller BB, Cai L. Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence. *Nature Reviews Cardiology*. 2020;17(9):585-607. doi: 10.1038/s41569-020-0339-2.
- [2]. Nishida K, Otsu K. Inflammation and metabolic cardiomyopathy. *Cardiovascular research*. 2017;113(4):389-98. doi: 10.1093/cvr/cvx012.
- [3]. Jia G, Hill MA, Sowers JR. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. *Circulation research*. 2018;122(4):624-38. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311586.
- [4]. Mangan MS, Olhava EJ, Roush WR, Seidel HM, Glick GD, Latz E. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases. *Nature reviews Drug discovery*. 2018;17(8):588-606. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.97>
- [5]. Sharma BR, Kanneganti T-D. NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases. *Nature immunology*. 2021;22(5):550-9. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-00886-5>
- [6]. Toldo S, Mezzaroma E, Buckley LF, Potere N, Di Nisio M, Biondi-Zoccai G, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases. *Pharmacology & therapeutics*. 2022;236:108053. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.108053.
- [7]. Mao S, Chen P, Pan W, Gao L, Zhang M. Exacerbated post-infarct pathological myocardial remodelling in diabetes is associated with impaired autophagy and aggravated NLRP3 inflammasome activation. *ESC Heart Failure*. 2022;9(1):303-17. doi: 10.1002/ehf2.13754.
- [8]. Lu Q-B, Ding Y, Liu Y, Wang Z-C, Wu Y-J, Niu K-M, et al. Metrnl ameliorates diabetic cardiomyopathy via inactivation of cGAS/STING signaling dependent on LKB1/AMPK/ULK1-mediated autophagy. *Journal of Advanced Research*. 2023;51:161-79. doi: 10.1016/j.jare.2022.10.014.
- [9]. Wang H, Wang L, Hu F, Wang P, Xie Y, Li F, et al. Neuregulin-4 attenuates diabetic cardiomyopathy by regulating autophagy via the AMPK/mTOR signalling pathway. *Cardiovascular Diabetology*. 2022;21(1):205. doi: 10.1186/s12933-022-01643-0.
- [10]. Kanamori H, Takemura G, Goto K, Tsujimoto A, Mikami A, Ogino A, et al. Autophagic adaptations in diabetic cardiomyopathy differ between type 1 and type 2 diabetes. *Autophagy*. 2015;11(7):1146-60. doi: 10.1080/15548627.2015.1051295.
- [11]. Munasinghe PE, Riu F, Dixit P, Edamatsu M, Saxena P, Hamer NS, et al. Type-2 diabetes increases autophagy in the human heart through promotion of Beclin-1 mediated pathway. *International journal of cardiology*. 2016;202:13-20. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.08.111
- [12]. Kar S, Shahshahan HR, Hackfort BT, Yadav SK, Yadav R, Kambis TN, et al. Exercise training promotes cardiac hydrogen sulfide biosynthesis and mitigates pyroptosis to prevent high-fat diet-induced diabetic cardiomyopathy. *Antioxidants*. 2019;8(12):638. doi: 10.3390/antiox8120638.
- [13]. Vandanmagsar B, Youm Y-H, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nature medicine*. 2011;17(2):179-88. doi: 10.1038/nm.2279.
- [14]. Quiroga R, Nistal E, Estébanez B, Porras D, Juárez-Fernández M, Martínez-Flórez S, et al. Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children. *Experimental & molecular medicine*. 2020;52(7):1048-61. doi: 10.1038/s12276-020-0459-0.
- [15]. Chen X, Li H, Wang K, Liang X, Wang W, Hu X, et al. Aerobic exercise ameliorates myocardial inflammation, fibrosis and apoptosis in high-fat-diet rats by inhibiting P2X7 purinergic receptors.

- Frontiers in physiology. 2019;10:1286. doi: 10.3389/fphys.2019.01286.
- [16]. Zaidi H, Byrkjeland R, Njerive IU, Åkra S, Solheim S, Arnesen H, et al. Effects of exercise training on inflammasome-related mediators and their associations to glucometabolic variables in patients with combined coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus: Sub-study of a randomized control trial. *Diabetes and Vascular Disease Research*. 2019;16(4):360-8. doi: 10.1177/1479164119836922.
- [17]. Zare Damirchi Z, Narimani Rad M, Hadi H. The effect of eight weeks of endurance training and olive oil supplementation on IL-1 β and NLRP3 indices in obese male rats. *Yafteh*. 2020;22(3). Available from: <https://sid.ir/paper/367409/en> (In Persian)
- [18]. Grumati P, Coletto L, Schiavinato A, Castagnaro S, Bertaggia E, Sandri M, et al. Physical exercise stimulates autophagy in normal skeletal muscles but is detrimental for collagen VI-deficient muscles. *Autophagy*. 2011;7(12):1415-23. doi: 10.4161/auto.7.12.17877.
- [19]. Jafari A, Zarghami Khameneh A, Nikookheslat S, Karimi P, Pashaei Z. Effects of Two Months of High Intensity Interval Training and Caffeine Supplementation on the Expression of Beclin-1 and Bcl-2 Proteins in the Myocardium of Type 2 Male Diabetic Rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2021;8(2):83-91. doi: 10.22049/jahssp.2022.27500.1401. (In Persian)
- [20]. Daneshyar S, Tavoosidana G, Bahmani M, Basir SS, Delfan M, Laher I, et al. Combined effects of high fat diet and exercise on autophagy in white adipose tissue of mice. *Life Sciences*. 2023;314:121335. doi: 10.1016/j.lfs.2022.121335.
- [21]. O'Brien L, Jacobs I. Methodological variations contributing to heterogenous ergogenic responses to ischemic preconditioning. *Frontiers in physiology*. 2021;12:656980. doi:10.3389/fphys.2021.656980
- [22]. Lang JA, Kim J. Remote ischaemic preconditioning—translating cardiovascular benefits to humans. *The Journal of Physiology*. 2022;600(13):3053-67. doi: 10.1113/JP282568.
- [23]. Jones H, Nyakayiru J, Bailey TG, Green DJ, Cable NT, Sprung VS, et al. Impact of eight weeks of repeated ischaemic preconditioning on brachial artery and cutaneous microcirculatory function in healthy males. *European journal of preventive cardiology*. 2015;22(8):1083-7. doi: 10.1177/2047487314547657
- [24]. Maxwell JD, Carter HH, Hellsten Y, Miller GD, Sprung VS, Cuthbertson DJ, et al. Seven-day remote ischaemic preconditioning improves endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomised pilot study. *European Journal of Endocrinology*. 2019;181(6):659-69. doi: 10.1530/EJE-19-0378.
- [25]. Charan K, Goyal A, Gupta JK, Yadav HN. Role of atrial natriuretic peptide in ischemic preconditioning-induced cardioprotection in the diabetic rat heart. *Journal of Surgical Research*. 2016;201(2):272-8. doi: 10.1016/j.jss.2015.10.045.
- [26]. Leurcharumsee P, Sawaddiruk P, Punjasawadwong Y, Sugandhavesa N, Klunklin K, Tongprasert S, et al. Ischemic preconditioning upregulates Mitofusin2 and preserves muscle strength in tourniquet-induced ischemia/reperfusion. *Journal of orthopaedic translation*. 2022;35:113-21. doi: 10.1016/j.jot.2022.09.012.
- [27]. Akbarnia F, Farzaneh Hesari A, Hashemvarzi A, Farsavian A. The effect of endurance training and remote ischemic preconditioning on myocardial Beclin-1 gene expression in diabetic rats. *Daneshvar Medicine*. 2025;32(5):34-43. doi: 10.22070/daneshmed.2024.19695.1554. (In Persian)
- [28]. Arabzadeh E, Samadian Z, Tofighi A, Tolouei Azar J. Alteration of follistatin-like 1, neuron-derived neurotrophic factor, and vascular endothelial growth factor in diabetic cardiac muscle after moderate-intensity aerobic exercise with insulin. *Sport sciences for health*. 2020;16(3):491-9.

doi:10.1007/s11332-020-00631-9

- [29]. Zhang L, Liu H-H, Li F, Yang F, Qian L-L, Wang R-X. The role of nlrp3 inflammasome signaling on arrhythmias in diabetes. *Journal of Inflammation Research*. 2022;6883-9. doi: 10.2147/JIR.S390310
- [30]. Bai Y, Mu Q, Bao X, Zuo J, Fang X, Hua J, et al. Targeting NLRP3 inflammasome in the treatment of diabetes and diabetic complications: Role of natural compounds from herbal medicine. *Aging and disease*. 2021;12(7):1587. doi:10.14336/AD.2021.0318.
- [31]. Hu S, Hu Y, Long P, Li P, Chen P, Wang X. The effect of tai chi intervention on NLRP3 and its related antiviral inflammatory factors in the serum of patients with pre-diabetes. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:1026509. doi: 10.3389/fimmu.2022.1026509.
- [32]. Fatemi SA, Hesari AF, Shahamat MD. NLRP-3 Expression in Pancreatic Tissue Following Moderate and High Intensity Interval Training with Liposomal Alpha-Lipoic Acid Supplement in Diabetic Rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2022. <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-5517-en.html>. (In Persian)
- [33]. Khodaei O, Bolboli L, Siakkohian M, Bagaei B. The effect of 8-weeks of high intensity interval training (HIIT) along with L-cysteine consumption on the level of NLRP3 in the heart tissue of rats with type 2 diabetes. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2024. doi: 10.22049/jahssp.2024.29872.1671 (In Persian)
- [34]. Wen R-M, Lyu H-Y, Chang B, Yi X-J. Role of NLRP3 inflammasome in diabetes mellitus and exercise intervention. *Sheng li xue bao:[Acta Physiologica Sinica]*. 2023;75(6):788-98. PMID: 38151344.
- [35]. Ma M, Chen W, Hua Y, Jia H, Song Y, Wang Y. Aerobic exercise ameliorates cardiac hypertrophy by regulating mitochondrial quality control and endoplasmic reticulum stress through M2AChR. *Journal of Cellular Physiology*. 2021;236(9):6581-96. doi: 10.1002/jcp.30342.
- [36]. Sun Y, Ding S. NLRP3 inflammasome in diabetic cardiomyopathy and exercise intervention. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(24):13228. doi: 10.3390/ijms222413228.
- [37]. Zhang J, Huang L, Shi X, Yang L, Hua F, Ma J, et al. Metformin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury and cell pyroptosis via AMPK/NLRP3 inflammasome pathway. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(23):24270. doi: 10.18632/aging.202143.
- [38]. Luo N, Liu J, Chen Y, Li H, Hu Z, Abbott GW. Remote ischemic preconditioning STAT3-dependently ameliorates pulmonary ischemia/reperfusion injury. *PloS one*. 2018;13(5):e0196186. doi: 10.1371/journal.pone.0196186.
- [39]. Ginis I, Jaiswal R, Klimanis D, Liu J, Greenspon J, Hallenbeck JM. TNF- α -induced tolerance to ischemic injury involves differential control of NF- κ B transactivation: the role of NF- κ B association with p300 adaptor. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2002;22(2):142-52. doi: 10.1097/00004647-200202000-00002
- [40]. Yang G, Yang Y, Li Y, Hu Z. Remote liver ischaemic preconditioning protects rat brain against cerebral ischaemia-reperfusion injury by activation of an AKT-dependent pathway. *Experimental physiology*. 2020;105(5):852-63. doi: 10.1113/EP088394. Epub 2020 Apr 3.
- [41]. Liu X, Chen H, Yan Z, Du L, Huang D, Gao WD, et al. Remote liver ischemic preconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Scientific reports*. 2021;11(1):1903. doi: 10.1038/s41598-021-81422-1
- [42]. Sadeghi S, Delphan M, Shams M, Esmaeili F, Shanaki-Bavarsad M, Shanaki M. The high-intensity interval training (HIIT) and curcumin supplementation can positively regulate the autophagy pathway in myocardial cells of STZ-induced diabetic rats. *BMC Research Notes*. 2023;16(1):21. doi:

10.1186/s13104-023-06295-1

- [43]. Zhang L, Ding W-y, Wang Z-h, Tang M-x, Wang F, Li Y, et al. Early administration of trimetazidine attenuates diabetic cardiomyopathy in rats by alleviating fibrosis, reducing apoptosis and enhancing autophagy. *Journal of translational medicine*. 2016;14(1):109. doi: 10.1186/s12967-016-0849-1.
- [44]. Golpasandi H, Rahimi MR, Ahmadi S. Investigating the mutual effects of autophagy and apoptosis in heart tissue of type 2 diabetic rats in interaction with aerobic exercise training and vitamin D3 injection. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2024;17(2):34-47. doi: 10.48308/joeppa.2024.235803.1257 (In Persian)
- [45]. Zanganeh F, Farzanegi P, Asgharpour H. Effect of Exercise Training and Atorvastatin Supplementation on Beclin1, LC3-I and LC3-II Expression in Old Diabetic Rats. *Medical Laboratory Journal*. 2022;16(1). <https://sid.ir/paper/1014522/en>
- [46]. Hashemi Chashmi SZ, Souri H, Jalali Dehkordi K. Effects of 8 weeks of continuous and intermittent aerobic training with resveratrol supplementation on Beclin-1 and LC3I-II genes expression in heart tissue of diabetic male rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2021;8(2):61-9. (In Persian)
- [47]. Liu Y-Y, Sun C, Xue F-S, Yang G-Z, Li H-X, Liu Q, et al. Effect of autophagy inhibition on the protection of ischemia preconditioning against myocardial ischemia/reperfusion injury in diabetic rats. *Chinese Medical Journal*. 2018;131(14):1702-9. doi: 10.4103/0366-6999.235867.

