



Research Article

The Effect of a Period of Endurance Training with Electrical Stimulation on the Expression of ICAM and VCAM Genes in Heart Tissue of Fasted Obese Rats

Safieh Azadi fard¹, Mehdi Moradi^{2*}, Mohammad Malekipooya²

¹ PhD Student of Sports Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, Mahalat Branch, Islamic Azad University, Mahalat, Iran

² Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

* **Corresponding author:** Mehdi Moradi, Department of Exercise Physiology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran. Email: mehdy_morady59@yahoo.com

DOI: [10.61882/jams.28.4.238](https://doi.org/10.61882/jams.28.4.238)

How to Cite this Article:

Azadi fard S, Moradi M, Malekipooya M. The Effect of a Period of Endurance Training with Electrical Stimulation on the Expression of ICAM and VCAM Genes in Heart Tissue of Fasted Obese Rats. *J Arak Uni Med Sci.* 2025;28(4): 238-45. DOI: 10.61882/jams.28.4.238

Received: 31.07.2024

Accepted: 01.09.2025

Keywords:

Endurance training;
Electrical stimulation;
Cell adhesion molecules;
Vascular adhesion molecule;
Intermittent fasting;
Obesity

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Since endurance training and a fasting diet are effective in reducing the symptoms of heart diseases, this study aimed to investigate the effect of a period of endurance training with electrical stimulation on the expression of ICAM and VCAM genes in the heart tissue of obese fasting rats.

Methods: In this study, 35 male Wistar rats (8 weeks old, avg. weight 200 ± 19 g) were randomly assigned to 5 groups (obese control, fasting, fasting with endurance training, fasting with electrical stimulation, fasting with endurance training with electrical stimulation) after inducing obesity. Fasting utilized a 16/8 protocol for all groups except the obese control. The endurance training lasted 4 weeks, increasing intensity from 50% to 65% of max oxygen consumption. Electrical stimulation was delivered via foot shock (0.5 mA for 20 min). Heart tissue was collected 24 hours post-training under anesthesia, with ICAM-1 and VCAM-1 gene expression measured via Real-time PCR. Data was analyzed using two-way ANOVA and Tukey's post hoc test with significance at $P \geq 0.05$.

Results: The results of the present study demonstrated that intermittent fasting, endurance training, and electrical stimulation—each independently—led to a significant reduction in the gene expression of vascular adhesion molecules in the cardiac tissue of obese rats ($P = 0.001$). Moreover, it appears that the combination of all three interventions exerts a greater effect in reducing the expression levels of these adhesion molecules in the cardiac tissue of obese rats ($P = 0.001$).

Conclusions: Based on the findings, the simultaneous application of endurance training, intermittent fasting, and electrical stimulation exerts a considerable impact on decreasing the expression of VCAM and ICAM in cardiac tissue. However, it is still not possible to definitively determine the directionality of the individual or combined effects of intermittent fasting, endurance training, and electrical stimulation (foot-shock stimulation) on adhesion molecules under conditions of obesity and intermittent fasting.

تأثیر یک دوره تمرین استقامتی همراه با تحریک الکتریکی بر بیان ژن های ICAM و VCAM در بافت قلب موش روزه دار چاق

صفیه آزادی فرد^۱، مهدی مرادی^{۲*}، محمد ملکی پویا^۲

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران

^۲ استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

* نویسنده مسئول: مهدی مرادی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران. ایمیل: mehdy_morady59@yahoo.com

DOI: 10.61882/jams.28.4.238

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۱۰	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۰	مقدمه: از آنجا که تمرین استقامتی و رژیم روزه داری در کاهش علائم بیماری های قلبی مؤثر است، هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی همراه با تحریک الکتریکی بر بیان ژن های ICAM (Intercellular Adhesion Molecule 1) و VCAM (Vascular cell adhesion molecule-1) در بافت قلب موش های روزه دار چاق بود.
واژگان کلیدی: تمرین استقامتی؛ تحریک الکتریکی؛ ملکول های چسبان سلولی؛ مولکول چسبان عروقی؛ روزه داری متناوب؛ چاقی	روش کار: در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۸ هفته ای با میانگین وزن 200 ± 19 گرم) پس از القای چاقی و افزایش وزن به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی (کنترل چاق، روزه دار، تمرین استقامتی، روزه دار و تحریک الکتریکی و روزه دار، تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی) تقسیم شدند. روزه داری به صورت پروتکل ۱۶/۸ برای تمامی گروه ها بجز کنترل چاق انجام شد. پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۴ هفته و ۵ جلسه در هفته با شدت ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی در هفته اول شروع و در هفته چهارم به ۶۵ درصد رسید. همچنین تحریک الکتریکی با (دستگاه فوت شوک برای ۰/۵ میلی آمپر و ۲۰ دقیقه) انجام شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی پس از بیهوشی کامل، بافت قلب برداشته شد. مقادیر بیان ژن ICAM-1 و VCAM-1 قلب به روش Real time PCR اندازه گیری شد. از روش آماری آنالیز واریانس دو راهه همراه با آزمون تعقیبی Tukey برای تجزیه و تحلیل داده در سطح معنی داری ($P \leq 0.05$) استفاده شد.
تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.	یافته ها: نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نشان داد، روزه داری متناوب، تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی هر کدام به تنهایی باعث کاهش معنادار بیان ژن ملکول های چسبان عروقی در بافت قلب موش های صحرایی می شود ($P = 0.001$). این در حالی است که به نظر می رسد ترکیب سه مداخله اثرگذاری بیشتری بر کاهش سطح بیان ژن ملکول های چسبان عروقی در بافت قلب موش های صحرایی چاق شود ($P = 0.001$).
	نتیجه گیری: با توجه به نتایج بدست آمده، انجام تمرینات استقامتی همراه با روزه داری و تحریک الکتریکی، اثر بسزایی در کاهش بیان VCAM و ICAM در بافت قلب دارد. با این حال هنوز نمی توان با قطعیت سمت و سوی اثر روزه داری، تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی فوت شوک را بر ملکول های چسبان در شرایط چاقی و روزه داری متناوب تعیین نمود.

ارجاع: آزادی فرد صفیه، مرادی مهدی، ملکی پویا محمد. تأثیر یک دوره تمرین استقامتی همراه با تحریک الکتریکی بر بیان ژن های ICAM و VCAM در بافت قلب موش روزه دار چاق. مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک ۱۴۰۴؛ ۲۸ (۴): ۲۳۸-۲۴۵.

مقدمه

مطالعات اپیدمیولوژیکی از چاقی و افزایش توده چربی بدن به عنوان مهم ترین پیش زمینه بیماری های مزمن یاد نموده اند. نتایج مطالعات نشان داده است در ایران مجموعاً ۵۹/۳ درصد بزرگسالان چاق هستند که ۱۵/۳ درصد آن را مردان و ۲۹/۸ درصد آن را زنان تشکیل داده اند (۱). این درحالی است که شواهد علمی و بالینی نشان داده اند چاقی با طیف گسترده ای از بیماری های قلبی- عروقی مرتبط است. بیماری های قلبی- عروقی که مهم ترین آن ها آترواسکلروز است، علت اصلی مرگ و میر و

ناتوانی در اکثر کشورهای صنعتی و پیشرفته جهان به شمار می رود، که گسترش و بروز آن زمینه التهابی دارد (۲).

شواهد زیادی نشان داده است که مولکول های چسبان سلولی نقش مهمی در پاتوژنز قلبی- عروقی ایفا نموده و شاخص های جدید از جمله ژن های ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1) و VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) در پیش گوئی و شناسایی خطر حوادث قلبی- عروقی از حساسیت و دقت بیشتری برخوردار است و نقش مهمی در فرایند آترواسکلروز دارند (۳). ICAM عضو اصلی خانواده

کاملاً جدید است و نظریه واحدی در مورد آن‌ها وجود ندارد. به هر حال در مطالعات مختلف اثرات مثبت تمرینات ورزشی، تحریک الکتریکی و رژیم‌های غذایی روزهداری بر جنبه‌های مختلف سلامت کاهش وزن در افراد چاق مورد توجه قرار گرفته است، اما سازوکارهای فیزیولوژیک (با رویکرد عوامل التهابی) آنها در افراد چاق به خوبی مشخص نیست و مطالعه‌ای یافت نشد که به بررسی هر سه مداخله بر سلامت قلب در افراد چاق پرداخته باشد. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر چهار هفته تمرین استقامتی همراه با تحریک الکتریکی بر مولکول‌های چسب‌بان سلولی بافت قلب موش‌های صحرای چاقی روزهدار انجام شد.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی با روش پس‌آزمون با گروه کنترل انجام شد. در این مطالعه، از ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 200 ± 19 گرم که از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بقیه‌اله ایران خریداری شده بود استفاده شد. این حیوانات در قفس‌های پلی کربنات شفاف و در شرایط کنترل شده محیطی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 در صد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی نگهداری شدند. کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات (آشنا سازی، تمرین، بی‌هوشی و کشتن) بر اساس پروتکل موسسه ملی بهداشت NIH (National Institutes of Health) و با تأیید کمیته اخلاق IR.IAU.ARAK.REC.1402.145 از دانشگاه آزاد اسلامی اراک انجام شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاهی جهت جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیکی به مدت یک هفته در شرایط جدید نگهداری شدند. پس از سازگاری با محیط موش‌های صحرایی وارد پروتکل القا چاقی شدند. در این پروتکل از غذای استاندارد حیوانات و ترکیب بادم زمینی، شکلات شیری و بیسکویت شیرین به نسبت ۳:۲:۱ استفاده شد. این رژیم حاوی ۲۰ گرم پروتئین، ۲۰ گرم چربی کل، ۴۸ گرم کربوهیدرات و ۴ گرم فیبر در هر ۱۰۰ گرم رژیم غذایی بود (۱۲). تمام اجزای رژیم غذایی پرچرب آ سیاب و مخلوط شدند و در دوره القا چاقی به صورت آزاد در دسترس موش‌ها بود تا وزن آن‌ها بر حسب شاخص لی در محدوده ۳۱۰ گرم قرار گرفت (۱۳). پس از مرحله القای چاقی موش‌های صحرایی در ۵ گروه ۷ سری شامل ۱- روزهداری متناوب (F)، ۲- روزهداری متناوب همراه با تمرین استقامتی (F.EX)، ۳- روزهداری متناوب همراه با شوک الکتریکی (F.ES)، ۴- روزهداری متناوب همراه با تمرین استقامتی و شوک الکتریکی (F.EX.ES) و ۵- کنترل چاق (CO) تقسیم شدند.

پروتکل تمرین، تحریک الکتریکی و روزهداری

پس از القای چاقی موش‌های صحرایی کلیه گروه‌ها بجز کنترل به صورت پروتکل ۱۶/۸ و به مدت ۴ هفته در رژیم غذایی روزهداری متناوب (۸ ساعت اعمال محدودیت کالری و ۱۶ ساعت بدون محدودیت کالری) قرار گرفتند. در مدت زمان روزهداری، موش‌های صحرایی تمامی گروه‌ها با غذای استاندارد حیوانات شرکت پارس که به صورت آماده و ترکیب مشخصی از مواد غذایی مورد نیاز حیوانات که حاوی (۲۳ گرم پروتئین، ۴۹ گرم کربوهیدرات، ۴ گرم چربی کل و ۵ گرم فیبر در هر ۱۰۰ گرم) بود

ایمونوگلوبین‌های موجود در سطح اندوتلیال است و به عنوان یک میانجی به اینترگین‌های متفاوت متصل شده و پاسخ لکوسیت‌ها به التهاب را تنظیم می‌نماید (۴). پروتئین VCAM با اتصال به مونوسیت‌ها و حرکت آنها به عمق اندوتلیال، روند شکل‌گیری سلول‌های کفی شکل را سریع‌تر می‌کند (۴). افزایش این مولکول‌ها باعث هجوم مونوسیت‌ها به اندوتلیال عروق شده و نفوذ پذیری و فعال‌سازی پلاکت‌ها را افزایش می‌دهد. با مهاجرت سلول‌های عضلانی صاف از جدار عروق، رسوب فیبروزی بافت در آن محدوده افزایش یافته و موجب گسترش پلاکت‌های آتروم می‌شود (۴). بنابراین به نظر می‌رسد کاهش نشانگرهای التهابی، اثر مثبتی در بهبود وضعیت بیماران قلبی-عروقی به همراه داشته باشد. از آنجایی که ICAM و VCAM اهمیت ویژه‌ای در تشخیص بیماری‌های قلبی دارند، دستیابی به شیوه‌های مختلف کاهش وزن مانند روزهداری متناوب (Intermittent Fasting) و شیوه‌های مختلف تمرینات ورزشی در سال‌های اخیر مورد توجه محققان در حوزه فیزیولوژی ورزش قرار گرفته است. در حال حاضر رژیم روزهداری متناوب محبوبیت بسیاری در بین جوامع پیدا کرده است، و دارای انواع مختلف است که از یک دوره مصرف غذا و یک دوره ناشتایی در طول ۲۴ ساعت تشکیل شده است (۵).

مطالعات نشان داده‌اند این سبک از رژیم غذایی تأثیر بسزایی بر کاهش وزن، کاهش التهاب و عوامل مرتبط با بیماری‌های قلبی-عروقی دارد (۵-۷). با این حال به نظر می‌رسد مطالعات انجام شده در ارتباط با روزهداری متناوب و ملکول‌های چسب‌بان سلولی محدود باشد. از طرفی انجام تمرینات ورزشی با توجه به نوع و شدت آن اثرات متفاوتی بر عضله قلب می‌گذارد. در این بین تمرینات استقامتی یکی از شیوه‌های تمرینی مناسب در این راستا است و بررسی عوامل اثرگذار این شیوه تمرین، جهت پیشگیری و بهبود بیماری قلبی-عروقی کمک بسزایی می‌کند (۸).

اگرچه مکانیسم‌های احتمالی نیز در این باره پیشنهاد شده است، با این حال به نظر می‌رسد مطالعات محدودی در ارتباط با اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن‌های ICAM و VCAM پرداخته‌اند. این در حالی است که مطالعات مختلف نشان داده‌اند انواع تمرینات ورزشی به روش‌های مختلف می‌تواند تأثیر بسزایی در کاهش ملکول‌های چسب‌بان عروقی در نمونه‌های مختلف داشته باشد (۹).

لذا با توجه به محدود بودن نتایج مطالعات گذشته در خصوص ارتباط میان بازتوانی ورزشی و بیان پروتئین‌های چسب‌بان و نقش حمایتی تمرینات استقامتی در کنترل عوامل درگیر در التهاب قلبی که منجر به کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود، نیاز به مطالعات سلولی و بافتی بیشتری است. همچنین به نظر می‌رسد تحریک الکتریکی (Electrical stimulation) ES به عنوان یک مدالیته مؤثر در درمان بیماری‌های قلبی-عروقی به کار می‌رود (۱۰). از این رو به عنوان یکی دیگر از مداخله‌ها در تحقیق حاضر به کار گرفته شد. ES توسط Wellens و همکاران در سال ۱۹۷۲ برای مطالعه بیماران مبتلا به عود تکیکاردی بطنی پایدار معرفی شد (۱۱). با توجه به مطالعات انجام شده، انتظار می‌رود که ES یک روش توانبخشی برای افرادی که در تمرینات ورزشی مشارکت دارند و همچنین بیماران با نارسایی قلبی باشد (۱۰). بحث پروتئین‌های چسب‌بان در سیستم ایمنولوژیک و واسطه‌های التهابی و پاسخ آنها به فعالیت‌های ورزشی و ES

مراحل نمونه گیری بافت قلب

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش‌های صحرایی به وسیله کتامین با دوز ۹۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و زایلازین با دوز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و با سرنگ انسولین تزریق و بی‌هوش شدند و بافت قلب موش‌های صحرایی توسط متخصصین آزمایشگاه جداسازی و در ادامه بلافاصله در ایزت مایع فریز شده و در دمای ۷۰- نگهداری شد. جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت قلب طبق پروتکل شرکت سازنده (سیناژن، ایران)، انجام گرفت. برای این منظور بافت قلب با نیتروژن مایع منجمد و پس از آن با روش‌های مکانیکی بافت خرد و هموژنایز شد. اولین مرحله برای استخراج RNA از سلول‌های حیوانی، از بین بردن دیواره سلول‌ها با کمک یک بافر لیزکننده به نام RB Buffer می‌باشد. ۳۵۰ µl از RB Buffer به نمونه (رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه شد (از قبل به ازای هر یک میلی‌لیتر ۱۰ میکرولیتر β -mercaptoethanol به بافر اضافه شده است) و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد Filter Column درون Collection Tube قرار گرفت و مخلوط نمونه به Filter Column انتقال داده شد و با دور ۱۴۰۰۰ rpm به مدت دو دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ محلول روشن از Collection Tube به یک تیوپ میکروسانتریفیوژ جدید انتقال یافت. سپس هم حجم آن یعنی ۳۵۰ µl اتانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید، سپس به خوبی ورتکس شد. RB Mini Column درون Collection Tube قرار گرفت و نمونه‌ای که اتانول به آن اضافه شده بود به RB Mini Column انتقال یافت و با سرعت ۱۱۰۰۰ rpm به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در مرحله بعد ۵۰۰ µl از Wash Buffer ۱ به RB Mini Column اضافه گردید و با سرعت ۱۱۰۰۰ rpm به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در ادامه RB Mini Column با ۷۵۰ µl از Wash Buffer ۲ با سرعت ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. این مرحله دوبار تکرار شد. سپس به مدت سه دقیقه با سرعت ۱۱۰۰۰ rpm سانتریفیوژ انجام شد. سپس RB Mini Column درون Elution Tube قرار داده شد و ۵۰ µl از RNase-free ddH₂O به RB Mini Column اضافه شد و یک دقیقه به آن زمان داده و سپس به مدت دو دقیقه با سرعت ۱۱۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. محلول درون Elution Tube، RNAهای استخراج شده بود که در ۷۰- نگهداری شدند. سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی به دست آمد.

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d/1000$$

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت کایژن (به شماره FPKT029.0025) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و سپس بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی q-RT PCR انجام پذیرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه در (جدول ۲) ارائه شده است.

تغذیه شدند. در طی ۴ هفته دوره مطالعه جیره حیوانات به صورت طبیعی و ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن بود که بر اساس وزن کشی هفتگی در هر قفس قرار می‌گرفت (۱۲).

برای ایجاد تحریک الکتریکی در این پژوهش از فوت شوک و دستگاه استیمولیتور Electromodule 12R ساخت شرکت پرتو دانش استفاده شد. میزان شدت جریان الکتریسیته در این برنامه ۰/۵ میلی‌آمپر و برای مدت ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد، که از طریق خروجی‌های استیمولیتور با تنظیمات Trial Number: 1، Trial Period 1200000 و Recording Time: 1200000 به دستگاه فوت شوک (شکل ۱) ارسال شد (۱۴). مرحله آشناسازی موش‌های صحرایی با تردمیل در هفته دوم، به مدت ۱ هفته، هفته‌ای ۵ روز، هر روز به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۸ متر/دقیقه انجام شد. بررسی‌ها نشان داده است که این میزان تمرین در حدی نیست که منجر به تغییر بارزی در ظرفیت هوازی شود. موش‌های صحرایی برای دویدن از طریق صدا و تحریک شرطی‌سازی شدند تا از نزدیک شدن، استراحت و برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند. جهت گرم کردن و سرد کردن قبل از شروع و پس از پایان تمرینات به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه تمرینات استقامتی بر روی تردمیل انجام داده شد (۱۵). پروتکل تمرینی به مدت ۴ هفته و ۵ جلسه در هفته به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. شدت تمرین در هفته اول با ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و سرعت ۱۶ متر در دقیقه آغاز و در هفته آخر به ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و ۲۶ متر در دقیقه رسید (۱۶) (جدول ۱). این در حالی بود که در طول دوره ۴ هفته مطالعه گروه کنترل چاق هیچ گونه فعالیت و مداخله‌ای نداشت.



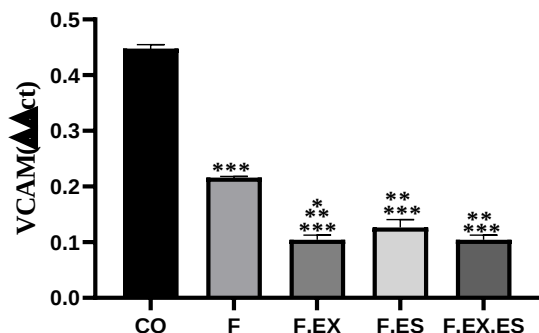
شکل ۱. دستگاه فوت شوک الکتریکی

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی

هفته	شدت فعالیت (درصد)	سرعت (متر)	مدت فعالیت (دقیقه)
اول	۵۰	۱۶	۲۰
دوم	۵۵	۱۸	۲۰
سوم	۶۰	۲۲	۲۰
چهارم	۶۵	۲۶	۲۰

جدول ۵. نتایج آزمون ANOVA در بین گروه‌های مطالعه

متغیر	F	میانگین	P
VCAM	۱/۶۷	۰/۰۸۳	۰/۰۰۱
ICAM	۰/۷۰	۰/۷۲۴	۰/۰۰۱



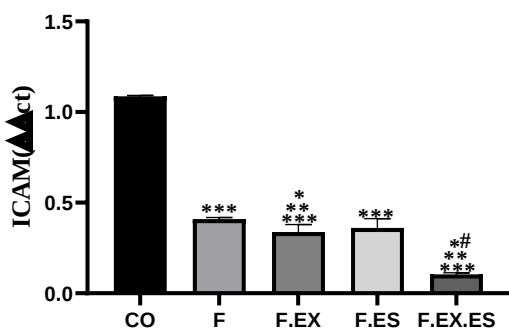
نمودار ۱: سطوح بیان ژن VCAM در گروه‌های مختلف

* : کاهش معنی‌دار نسبت به گروه F.ES (P = ۰/۰۰۵)؛

** : کاهش معنی‌دار نسبت به گروه F (P = ۰/۰۰۱)؛

*** : کاهش معنی‌دار نسبت به گروه CO (P = ۰/۰۰۱)

در سطوح بیان ژن ICAM نیز گروه‌های F.ES, F.EX, F و IF.EX.ES کاهش معنی‌داری نسبت به گروه CO داشتند (P = ۰/۰۰۱). گروه‌های F.EX.ES و F.EX نسبت به گروه F و F.ES کاهش معنی‌داری داشتند (P = ۰/۰۰۱). همچنین سطوح ICAM در گروه F.EX.ES نسبت به گروه F.EX کاهش معنی‌داری داشت (P = ۰/۰۰۱) (نمودار ۲).



نمودار ۲: سطوح بیان ژن ICAM در گروه‌های مختلف

* : کاهش معنی‌دار نسبت به گروه F.ES (P = ۰/۰۰۱)؛

** : کاهش معنی‌دار نسبت به گروه F (P = ۰/۰۰۱)؛

*** : کاهش معنی‌دار نسبت به گروه CO (P = ۰/۰۰۱)؛

: کاهش معنی‌دار نسبت به گروه F.EX (P = ۰/۰۰۱)

بحث

نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نشان داد، روزه‌داری و تحریک الکتریکی باعث کاهش سطوح بیان ژن VCAM در موش‌های روزه‌دار شد. همچنین انجام تمرینات استقامتی باعث کاهش VCAM در بافت قلب موش‌های صحرایی شد. همچنین سطوح بیان ژن ICAM نیز در شرایط روزه‌داری متناوب کاهش یافت. تمرین استقامتی و تحریک الکتریکی نیز باعث کاهش ICAM در بافت قلب شد. همچنین نتایج نشان داد، انجام مداخله ترکیبی

اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای مورد نظر از بافت قلب به وسیله تکنیک Real time-PCR سنجش و تمام پرایمرها توسط نرم‌افزار Allele IDv7.8 طراحی شد و از ژن β2m (بتا ۲ میکروگلوبولین) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تجزیه و تحلیل شد (۱۷).

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد مطالعه

ژن‌ها	توالی پرایمرها
VCAM1	Forward: ACCATGTCTCCTGTCTTG Reverse: ACAGCTTACAGTCTTCCC
ICAM1	Forward: AGCCCCCTAATCTGACCT Reverse: CCTGGTGATACTCCAC

جدول ۳. مواد و مقادیر مورد نیاز جهت Real-time PCR

مقدار	مواد
۶/۵ μl	DW
۱۰ μl	M.M
۰/۵ μl	ROX
۱ μl Forward: 1 μl Reverse: μl	پرایمر
۱ μl	Template (cDNA)
حجم نهایی: ۲۰ μl	

جدول ۴. برنامه دستگاه Real-time PCR

زمان	درجه دما	عملکرد
۱۵ دقیقه	۹۵ درجه	فعال شدن آنزیم پلیمراز
سیکل‌های ریل تایم		
۲۵ ثانیه	۹۵ درجه	Separation
۳۰ ثانیه	۴۹/۵ درجه	Annealing
۳۰ ثانیه	۷۲ درجه	Extention
هر ۷ ثانیه (هر نیم درجه یک جذب نوری خوانده می‌شود)	متغیر	Melting curve
Hold	۴ درجه	دریافت خروجی دستگاه

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون Shapiro-Wilk و همگنی واریانس‌ها آزمون Leven استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه همراه با آزمون تعقیبی Tukey در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ (IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از (P ≤ ۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج تحلیل آنالیز واریانس نشان داد در بیان ژن‌های VCAM (۱/۶۷) f, (P = ۰/۰۰۱) و ICAM (f = ۰/۷۰, P = ۰/۰۰۱) اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های مطالعه وجود دارد (جدول ۵).

نتایج آزمون تعقیبی نشان داد، سطوح بیان ژن VCAM در گروه‌های F.ES, F.EX, F و F.EX.ES کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل چاق (CO) داشتند (P = ۰/۰۰۱). همچنین سطوح بیان ژن VCAM در گروه‌های F.EX, F.ES و F.EX.ES به طور معنی‌داری کمتر از F بود (P = ۰/۰۰۱). بیان ژن VCAM در گروه F.EX کاهش معنی‌داری نسبت به F.ES نشان داد (P = ۰/۰۰۵) (نمودار ۱).

تمرین و تحریک الکتریکی در موش‌های صحرایی روزه‌دار در هر دو بیان ICAM و VCAM را در بافت قلب کاهش داد. در همین راستا Tahapary و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند، روزه‌داری می‌تواند باعث کاهش ICAM در مردان و زنان مبتلا به دیابت و غیر دیابت شود (۱۸) که هم سو با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بود.

با این حال با توجه به پیشینه مطالعات به نظر می‌رسد مطالعات اندکی در این رابطه انجام شده است، که در دسترس نیست. همچنین نتایج بدست آمده نشان داد تمرین استقامتی باعث کاهش ملکول‌های چسبان سلولی می‌شود. در همین راستا، مطالعات مختلف عنوان کرده‌اند که، تمرینات ورزشی بخصوص تمرینات استقامتی باعث کاهش شاخص‌های ICAM و افزایش VCAM می‌شود (۱۹-۲۱). برزگر و همکاران در مطالعه خود عنوان کردند، تمرینات استقامتی در بافت قلب موش‌های صحرایی باعث کاهش بیان ICAM می‌شود، که همسو با نتایج حاضر بود. این درحالی است که این مطالعه نشان داد تمرینات استقامتی باعث افزایش بیان VCAM می‌شود که با نتایج این مطالعه ناهمسو بود (۲). همچنین Brevetti و همکاران، افزایش سطوح ملکول‌های چسبان ICAM-1 پس از انجام فعالیت بیشینه گزارش نمودند (۲۲).

برزگری و همکاران در مطالعه خود عنوان کردند، یک جلسه تمرین هوازی تداومی و تناوبی، تأثیر معنی‌داری بر سلول‌های چسبان بین سلولی و ملکول‌های چسبان سلول عروقی ندارد (۲۳) که ناهمسو با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر است. با توجه به متناقض بودن نتایج بدست آمده از مطالعات، به نظر می‌رسد عدم همسویی به دلیل نوع نمونه‌های تحقیق، شدت و مدت تمرین، بافت‌های مورد اندازه‌گیری و سلامت نمونه‌های پژوهش است. در بیشتر مطالعاتی که انجام شده است و به آن‌ها اشاره شد، سطوح ملکول‌های چسبان را در سطح پلاسما و سرم اندازه‌گیری کرده‌اند این در حالی است که مطالعه حاضر سطح بیان ژن در بافت قلب اندازه‌گیری شده است.

نقص در عملکرد ملکول‌های چسبان سلولی، یکی از علل اصلی پیشرفت پاتولوژیک در بسیاری از بیماری‌ها، از جمله ناراحتی‌های قلبی-عروقی می‌باشد. ICAM یکی از اعضای خانواده ایمونوگلوبین‌ها است که میانجی اصلی در فراخوانی لوکوسیت‌ها از جریان خون و مهاجرت بین اندوتلیالی آنها در پاسخ به یک محرک التهابی محسوب می‌شود. از دیگر نشانگرهای سلولی حساس در زمینه شناسایی روند تشکیل پلاکت آترواسکلروزی دیواره اندوتلیال عروق VCAM است که با اتصال به مونوسیت‌ها و حرکت آن‌ها به عمق اندوتلیال، روند تشکیل سلول‌های کفی شکل را سریع‌تر می‌کند. افزایش ملکول‌های چسبان موجب هجوم مونوسیت‌ها به اندوتلیال عروق می‌شود و در نتیجه نفوذپذیری و فعال‌سازی پلاکت‌ها افزایش می‌یابد. با مهاجرت سلول‌های عضلانی صاف جدار عروق، روند رسوب بافت فیبروزی در آن ناحیه افزایش یافته و موجب گسترش پلاک‌های آتروم می‌شود. بنابراین هرگونه عملی که موجب کاهش شاخص‌های التهابی شود، سبب کاهش احتمال حوادث قلبی-عروقی می‌گردد. با این حال به نظر می‌رسد مکانیسم ناشی از کاهش ملکول‌های چسبان بعد از تمرین مزمن، مربوط به کم شدن درصد چربی بدن آزمودنی‌ها باشد (۲۴).

مشخص شده است که ماکروفاژها در بافت چربی گسترده، تجمع

می‌یابند؛ جایی که منبع عمده‌ای از سیتوکین‌های پیش‌التهابی مثل TNF- α و IL-2 نیز حضور دارند (۲۴) و از آنجا که بافت چربی ترشح سایتوکین‌های پیش‌التهابی در بافت چربی را بر عهده دارد و چون TNF- α و اینترلوکین ۲ از بافت چربی تولید و رها می‌شوند و سپس بر عملکرد اندوتلیال اثر گذاشته و موجب تحریک ملکول‌های چسبان می‌شود. به نظر می‌رسد روزه‌داری متناوب با کاهش درصد چربی بدن موجب کاهش فاکتورهای پیش‌التهابی شده و کاهش این سایتوکین‌ها متعاقباً با کاهش رها سازی واسطه‌های شیمیایی و کاهش فاکتورهای نسخه‌بردار پیش‌التهابی، مانند فاکتور هسته‌ای کاپا-بتا (NFK- β) شده که می‌تواند در تعدیل التهاب عروقی مؤثر باشد (۲۵). NFK- β به شکل غیرفعال در سیتوپلاسم وجود دارد و واسطه شروع فعالیت اندوتلیالی و ترجمه ICAM و VCAM می‌باشد (۲۵). اما به نظر می‌رسد افزایش ICAM به دلیل افزایش تولید ROS و اکسیداسیون LDL در موش‌های صحرایی چاق روزه‌دار و تمرین کرده باشد. مطالعات نشان داده‌اند افزایش لیپوپروتئین‌های اکسید شده نیز سبب بیان عوامل التهابی از جمله ICAM می‌شود (۲۶).

از دیگر نتایج این مطالعه، تأثیر ES از طریق فوت شوک و همچنین تلفیقی از تمرین استقامتی همراه با ES بر سطوح سرمی ICAM و VCAM در بافت قلب موش‌های چاق بود. ابقای ES موجب کاهش ICAM و VCAM در بافت قلب موش‌های صحرایی شد. همچنین نشان داده شد که تلفیق تمرین استقامتی و شوک الکتریکی موجب کاهش VCAM و ICAM شد.

در اندک مطالعات انجام شده خانسوز و همکاران نشان دادند تحریک الکتریکی در نمونه‌های انفارکته موجب افزایش ICAM می‌شود اما مقادیر سرمی VCAM در گروه تحریک الکتریکی و تحریک الکتریکی و باز توانی ورزشی کاهش معنی‌دار داشت (۲۷).

Dobšák و همکاران نتیجه گرفتند که ES عصبی عضلانی برخی از فاکتورهای التهابی را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد و اثرات ضدالتهابی را به همراه دارد (۲۸). در گزارشی دیگر تعدیل برخی از این سایتوکین‌ها مانند TNF- α ، VCAM به واسطه ES عصبی-عضلانی با بهبود اثرات منفی بیماران قلبی همراه بوده است (۲۹). که نتایج این تحقیقات با مارکرهای التهابی مطالعه حاضر همسو می‌باشد.

تحریک الکتریکی به عنوان یک مداخله می‌تواند مسیرهای ضدالتهابی کولینرژیک را با آزاد کردن واسطه‌های التهابی مهار کند، در نتیجه شروع و پیشرفت بیماری‌های مختلف مرتبط با التهاب را کند می‌کند. مسیر ضدالتهابی کولینرژیک متشکل از عصب واگ و ناقل آن استیل کولین نقش مهمی در تنظیم پاسخ التهابی دارد. هنگامی که بدن آسیب می‌بیند، تحریک‌پذیری عصب واگ افزایش می‌یابد که باعث آزاد شدن استیل کولین از انتهای عصب محیطی می‌شود. این روند می‌تواند آزادسازی سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1b، TNF-a، IL-6 و IL-17 را مهار می‌کند. ES همچنین می‌تواند عملکرد سلول‌های التهابی را در سطح مولکولی تغییر دهد، در نتیجه با تأثیر بر تعداد سلول‌های ایمنی به عنوان یک میانجی از انتشار التهاب جلوگیری می‌کند (۳۰). با این حال مکانیسم دقیق اثر تمرین استقامتی و ترکیب آن با تحریک الکتریکی و روزه‌داری متناوب مشخص نیست و نیازمند آن است که مطالعات دقیق تری در این رابطه انجام شود.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد، انجام روزه‌داری متناوب، تمرین استقامتی و شوک الکتریکی هر کدام به تنهایی باعث کاهش ملکول‌های چسبان در بافت قلب می‌شود. همچنین به نظر می‌رسد انجام این سه متغیر اثر سنرژیکی در بیان شاخص‌های VCAM و ICAM بافت قلب موش‌های چاق دارند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد محلات با کد ۲۰۰۶۴۸۳۰۵۵۹۲۰۳۰۹۸۳۰۱۹۱۶۲۵۴۰۸۶۸ انجام

گرفت. بدین‌وسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی اعلام می‌دارند.

سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشته‌اند و معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادهای کمیته بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی (ICMJE) را داشتند.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تضاد منافع ندارد.

References

- Ejtahed H-S, Hasani-Ranjbar S, Malmir H, Razmandeh R, Pakmehr A, Khorshidi Y, et al. Guideline for treatment of obesity in Iranian adults [in Persian]. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2024;24(1):1-14.
- Asad MR, Sistani M, Barzegari A. The effect of eight weeks of continuous endurance training on ICAM-1 and VCAM-1 expression in the heart tissue of rats [in Persian]. *J Babol Univ Med Sci*. 2019;21(1):230-6. doi: 10.22088/jbums.21.1.230
- Ashtari M, Abedi B, Fatollahi H. The effect of endurance training on plasma levels of icam, vcam, and opg in rats with experimental myocardial infarction: a gender-based study. *Dis Diagn*. 2021;10(3):108-15. doi: 10.34172/ddj.2021.21
- Jiang L, Yang A, Li X, Liu K, Tan J. Down-regulation of VCAM-1 in bone mesenchymal stem cells reduces inflammatory responses and apoptosis to improve cardiac function in rat with myocardial infarction. *Int Immunopharmacol*. 2021;101(Pt A):108180. pmid: 34607225 doi: 10.1016/j.intimp.2021.108180
- Malinowski B, Zalewska K, Węsierska A, Sokołowska MM, Socha M, Licznar G, et al. Intermittent fasting in cardiovascular disorders—an overview. *Nutrients*. 2019;11(3):673. pmid: 30897855 doi: 10.3390/nu11030673
- Cheung K, Chan V, Chan S, Wong MMH, Chung GK-K, Cheng W-Y, et al. Effect of intermittent fasting on cardiometabolic health in the Chinese population: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*. 2024;16(3):357. pmid: 38337642 doi: 10.3390/nu16030357
- Varady KA, Cienfuegos S, Ezpeleta M, Gabel K. Cardiometabolic benefits of intermittent fasting. *Annu Rev Nutr*. 2021;41(1):333-61. pmid: 34633860 doi: 10.1146/annurev-nutr-052020-041327
- Seifi Skishahr F, Ramezani S. The effect of eight weeks of continuous aerobic training with moderate intensity on the apoptosis indices of heart tissue in aged male rats [in Persian]. *Daneshvar Medicine*. 2025;32(5):55-66. doi:10.22070/daneshmed.2024.19721.1557
- MalekiPooya M, Khansooz M. The response of exercise rehabilitation combined with electrical stimulation on the serum levels of ICAM and VCAM in rats with experimental myocardial infarction [in Persian]. *Razi J Med Sci*. 2023;30(6):127-38.
- Kadoglou NP, Mandila C, Karavidas A, Farmakis D, Matzaraki V, Varounis C, et al. Effect of functional electrical stimulation on cardiovascular outcomes in patients with chronic heart failure. *Eur J Prev Cardiol*. 2017;24(8):833-9. pmid: 28079427 doi: 10.1177/2047487316687428
- Wellens HJ, Schuilenburg RM, Durrer D. Electrical stimulation of the heart in patients with ventricular tachycardia. *Circulation*. 1972;46(2):216-26. pmid: 4114692 doi: 10.1161/01.cir.46.2.216
- Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Do Nascimento CMO. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. 2004;20(2):218-24. pmid: 14962690 doi: 10.1016/j.nut.2003.10.008
- Duarte FO, Sene-Fiorese M, Manzoni MSJ, de Freitas LF, Cheik NC, de Oliveira Duarte ACG, et al. Caloric restriction and refeeding promoted different metabolic effects in fat depots and impaired dyslipidemic profile in rats. *Nutrition*. 2008;24(2):177-86. pmid: 18068950 doi: 10.1016/j.nut.2007.10.012
- Malekipooya M, Khansooz M, Palizvan M, Saremi A, Abedi B. Changes in serum troponin-i and corticosterone levels after a period of endurance training and electrical stimulation in infarcted rats [in Persian]. *Razi J Med Sci*. 2020;28(12):271-80.
- Ramezani S, Bolboli L, Valinejad B, Yaqoubi M. The effect of six weeks of aerobic exercise on malondialdehyde and superoxide dismutase of heart tissue in rats poisoned with steroid dianabol [in Persian]. *Journal of Vessels and Circulation*. 2021;2(4):179-86.
- Amerian D, Nemati N, Azarbayjani MA, BagherPoor T. Interactive effect of exercise training and octopamine on SIRT-1 gene expression in brown adipose tissue of male rats fed with DFO [in Persian]. *Razi J Med Sci*. 2021;28(4):57-65.
- Shamsi B, Abedi B, Ramezani S. The effect of eight weeks of resistance training with consumption of Tribulus terrestris extract on antioxidant indices of hippocampal tissue in male rats exposed to stanazol [in Persian]. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2022;9(1):48-60. pmid: 37455951 doi: 10.22049/jahssp.2022.27659.1441
- Tahapary DL, Rizqa T, Syarira CV, Lusiani L, Rizka A, Wafa S, et al. Differential effect of ramadan fasting on intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in diabetes mellitus and non-diabetes mellitus patients. *Heliyon*. 2023;9(7):e17273. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e17273
- Bagheri MR, Banaifar A, Arshadi S, Sohayli S. The effect of intense aerobic training on ICAM-1, VCAM-1 and RAGE expression in heart tissue in type 2 diabetes obese rats [in Persian]. *Med J Mashhad Univ Med Sci*. 2020;63(4):2529-40.
- Hosseini M. Effect of eight weeks intermittent medium intensity training with curcumin intake on serum levels of ICAM-1 and VCAM-1 in menopause fat rats [in Persian]. *J Rafsanjan Univ Med Sci*. 2017;16(5):409-20.
- Pouranfar S, Azarbayjani MA, Abedi B. The Effects of resistance training on VCAM-1, ICAM-1 and CRP in diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity*. 2019;11(1):38-45.
- Brevetti G, De Caterina M, Martone VD, Ungaro B, Corrado F, Silvestro A, et al. Exercise increases soluble adhesion

- molecules ICAM-1 and VCAM-1 in patients with intermittent claudication. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2001;24(3):193-9. **pmid: 11455059**
23. Barzegari A, Asad MR, Ranjbar H. Effect of one bout continuous versus intermittent aerobic exercise on plasma levels of intercellular adhesion molecules 1 and vascular cell adhesion molecules 1 in patients with coronary heart disease [in Persian]. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2020;27(11):2052-62. **doi: 10.18502/ssu.v27i11.2492**
 24. Sell H, Eckel J. Adipose tissue inflammation: novel insight into the role of macrophages and lymphocytes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010;13(4):366-70. **pmid: 20473150 doi: 10.1097/MCO.0b013e32833aab7f**
 25. Ding Y-H, Young CN, Luan X, Li J, Rafols JA, Clark JC, et al. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. *Acta Neuropathol*. 2005;109(3):237-46. **pmid: 15616790 doi: 10.1007/s00401-004-0943-y**
 26. Abednatanzi H, Choopani Z. The effect of six weeks of high intensity interval training (hiit) on plasmatic levels of cellular adhesion molecules (icam-1) and lipid profile in young overweight women [in Persian]. *Int Res J Appl Basic Sci*. 2014;8(11):2082-8.
 27. Khansooz M, Maleki Pooya M. Exercise rehabilitation response with electrical stimulation on serum ICAM and VCAM levels of rats with myocardial infarction [in Persian]. *Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences*. 2024;18(4):32-9. **doi: 10.22100/jkh.v18i4.2900**
 28. Dobšák P, Tomandl J, Spinarova L, Vitovec J, Dusek L, Novakova M, et al. Effects of neuromuscular electrical stimulation and aerobic exercise training on arterial stiffness and autonomic functions in patients with chronic heart failure. *Artif Organs*. 2012;36(10):920-30. **pmid: 22882472 doi: 10.1111/j.1525-1594.2012.01474.x**
 29. Karavidas AI, Raisakis KG, Parissis JT, Tsekoura DK, Adamopoulos S, Korres DA, et al. Functional electrical stimulation improves endothelial function and reduces peripheral immune responses in patients with chronic heart failure. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2006;13(4):592-7. **pmid: 16874150 doi: 10.1097/01.hjr.0000219111.02544.ff**
 30. Sun X, LM SD, Hu L, Cai R, Wu Z. Effects of Acupuncture Neiguan (PC 6) and Xinshu (BL 15) on the expression of MMP-9 with coronary heart disease rats. *J Tradit Chin Med*. 2013;36:5-9. **pmid: 26742310 doi: 10.1016/s0254-6272(15)30155-2.**