

## اثر ضد التهابی ۸ هفته تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی اپلین موش‌های صحرایی نر دیابتی

فهیمة کاظمی<sup>۱\*</sup>، صالح زاهدی اصل<sup>۲</sup>

### چکیده

مقدمه: اخیراً نقش اپلین در التهاب مشخص شده است، ولی اثر سایتوکاینی اپلین ناشی از تمرین ورزشی در وضعیت دیابت بررسی نشده است. هدف از تحقیق حاضر، تعیین اثر ضد التهابی ۸ هفته تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی اپلین موش‌های صحرایی نر دیابتی بود.

روش‌ها: تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۳ گروه غیر دیابتی (۹ سر)، دیابتی کنترل (۹ سر) و دیابتی تمرین (۱۰ سر) تقسیم شدند. دیابت نوع دو با تجویز درون صفاقی نیکوتین آمید (۹۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) و استروپتوتوزوسین (۶۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) القاء شد. گروه تمرین، ۸ هفته روی نوارگردان به‌طور فزاینده با سرعت ۲۴ متر بر دقیقه، به مدت ۴۵ دقیقه و شیب ۵ درصد دویدند. پس از تمرین، غلظت پلاسمایی گلوکز، انسولین، فاکتور نکروز تومور-آلفا (TNF- $\alpha$ ) و اپلین اندازه‌گیری و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) محاسبه شد. از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون همبستگی پیرسون برای تحلیل داده‌ها استفاده و سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق، کاهش معنی‌دار غلظت پلاسمایی گلوکز و انسولین و TNF- $\alpha$  و HOMA-IR گروه دیابتی تمرین را نسبت به گروه دیابتی کنترل، افزایش معنی‌دار غلظت پلاسمایی اپلین گروه دیابتی تمرین را نسبت به گروه غیردیابتی و دیابتی کنترل و ارتباط منفی معنی‌دار بین غلظت پلاسمایی اپلین و TNF- $\alpha$  گروه دیابتی تمرین را نشان داد. نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ۸ هفته تمرین هوازی با بهبود حساسیت به انسولین و کاهش التهاب می‌تواند غلظت پلاسمایی اپلین موش‌های صحرایی نر دیابتی را افزایش دهد.

واژگان کلیدی: سایتوکاین، اپلین، دیابت نوع دو، تمرین هوازی

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

\*نشانی: تهران، ونک، دانشگاه الزهرا (س)، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، نشانی پست الکترونیک: kazemi.fahimeh@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۲۶

تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۵/۰۸/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۰

## مقدمه

بیماری دیابت به عنوان یک اختلال متابولیکی مزمن تأثیر قابل توجهی بر سلامت، کیفیت و امید به زندگی بیماران دارد و یکی از پنج علل مرگ و میر در جهان به شمار می آید [۱]. شیوع این بیماری در سراسر جهان رو به افزایش است و از میان انواع دیابت، دیابت شیرین نوع دو (T2DM)<sup>۱</sup> یا دیابت غیر وابسته به انسولین شایع ترین نوع دیابت است که ۹۰ تا ۹۵ درصد افراد دیابتی به آن مبتلا هستند [۲]. از طرفی، نشان داده شده است که بافت چربی تعدادی از پروتئین ها به نام آدیپوکاین ها مانند لپتین و آدیپونکتین را آزاد می کند [۳] و نیز اسیدهای چرب غیر استریفیه و سایتوکاین های پیش التهابی مانند اینترلوکین-۶ (IL-6)<sup>۲</sup> و فاکتور نکروز تومور-آلفا (TNF-α)<sup>۳</sup> را تولید و ترشح می کند [۴] که بر حساسیت به انسولین اثر گذاشته و با چاقی ناشی از مقاومت به انسولین در ارتباط هستند [۵]. اپلین عضو جدید پپتیدهای مترشحه از بافت چربی است [۶] که نوع گیرنده ی آن از نوع جفت شده به پروتئین G می باشد [۷]. اپلین که در سال ۱۹۹۸ کشف شد [۸] از پیش ساز پپتیدی متشکل از ۷۷ اسید آمینه نشأت می گیرد. این مولکول تبدیل به مولکول های کوچک تر می شود که با توجه به تعداد اسید آمینه های آن به اپلین ۳۶ و سایر پپتیدهای کوچک تر و فعال از نظر بیولوژیکی مانند اپلین ۱۳ و ۱۷ و به میزان کمتر اپلین ۱۲ و ۱۰ تبدیل می شود [۹]. اپلین و گیرنده ی آن به مقدار زیاد در بافت چربی و هم چنین در بسیاری از بافت های محیطی دیگر و سیستم عصبی مرکزی بیان و در جریان خون نیز یافت می شود [۱۰]. به عبارتی، اپلین می تواند از طریق سیگنال دهی از راه گردش خون و نیز به صورت اتوکراین و پاراکراین عمل کند [۱۱]. هم چنین، پپتیدهای اپلین دارای عملکردهای فیزیولوژیکی مختلفی هستند [۱۰].

مطالعات ایمنی-شیمیایی سلول نشان می دهد که اپلین انتقال پروتئین ناقل گلوکز (GLUT4)<sup>۴</sup> را به غشای پلاسمایی

تحریک می کند و از این لحاظ مانند انسولین عمل می کند [۱۲]. بنابراین، انسولین تنظیم گر قوی بیان ژنی اپلین می باشد، به طوری که مطالعات ارتباط اپلین با مقاومت به انسولین و نقش اپلین در متابولیسم انرژی را به خوبی نشان داده اند [۱۳، ۵]. قابل ذکر است که علاوه بر انسولین، آدیپوسایتوکاین ها و سایر هورمون های مؤثر بر مقاومت به انسولین نیز بخشی از آثار خود بر حساسیت به انسولین را با تغییر بیان ژنی آدیپوکاین ها در سلول های چربی نشان می دهند [۱۴]، به طوری که TNF-α نیز تنظیم گر مهم بیان و ترشح mRNA اپلین در آدیپوسیت های موش و انسان می باشد و نقش اپلین در التهاب و تنظیم سنتز آن توسط TNF-α جهت تداوم ترشح اپلین در وضعیت چاقی نشان داده شده است [۱۵]. بنابراین، اپلین به عنوان یک آدیپوسایتوکاین با سایتوکاین TNF-α ارتباط دارد و علاوه بر بهبود گلوکز مصرفی می تواند با میانجی پاسخ التهابی، راه کار درمانی مهمی برای درمان چاقی، T2DM و مقاومت به انسولین به شمار آید [۱۳، ۱۲].

شیوع T2DM در چند سال گذشته افزایش بسیاری یافته است و به همین دلیل، این بیماری به عنوان یکی از بیماری های همه گیر جدید قرن در نظر گرفته شده و عوارض ناشی از آن، بار مالی بالایی را بر هزینه ی مراقبت های بهداشتی تحمیل کرده است [۱۶]. اگرچه T2DM در کوتاه مدت مهم به نظر نمی رسد، ولی در بلند مدت می تواند به شدت منجر به افزایش خطر بیماری های قلبی و عروقی، سکته مغزی، نارسایی کلیه، قطع عضو، کوری و حتی مرگ و میر شود [۱۷]. با توجه به افزایش هشدار دهنده ی بیماری T2DM در سراسر جهان، راه کارهای متعددی از جمله انجام فعالیت ورزشی جهت جلوگیری از پیشرفت این بیماری و عوارض مربوط به آن در نظر گرفته شده است [۱۸]. نقش فعالیت ورزشی منظم (تمرین هوازی) در بهبود حساسیت به انسولین و T2DM به خوبی مشخص شده است [۱۹-۲۱]. بنابراین، با توجه به نقش مهم اپلین در بهبود مقاومت به انسولین، پاسخ های این پپتید به فعالیت ورزشی می تواند حائز اهمیت باشد، ولی مطالعات در زمینه ی اثر تمرین ورزشی بر اپلین و مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به T2DM اندک و نتایج

<sup>1</sup> Type 2 diabetes mellitus

<sup>2</sup> Interleukine-6

<sup>3</sup> Tumor necrosis factor alpha

<sup>4</sup> Glucose transporter 4

میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) (Sigma, Saint. Louis, MO, USA) محلول در بافر سیترات (۰/۱ مولار و ۴/۵ PH=) به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق شد [۲۷، ۲۸]. گروه غیر دیابتی نیز از دارونما به صورت حجم یکسان محلول سالین و بافر سیترات استفاده کردند [۲۹]. گلوکز پلاسما، ۱۴ روز پس از القای دیابت نوع دو برآورد شد و موش‌ها با دیابت خفیف (هایپرگلیسمی با غلظت گلوکز پلاسما ناشتای بیشتر از ۱۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر) [۳۰]، برای مطالعه‌ی حاضر انتخاب شدند. قابل ذکر است که موش‌ها پس از ثابت شدن غلظت گلوکز پلاسما ناشتا (گروه دیابتی:  $12/06 \pm 188/81$  در مقابل گروه غیر دیابتی:  $98/77 \pm 5/4$ ) وارد مداخله‌ی تمرینی شدند.

### پروتکل تمرین هوازی

چهار هفته پس از پیشرفت دیابت در موش‌ها، گروه دیابتی تمرین با نوارگردان ۴ کاناله‌ی ویژه‌ی جوانگان (برج صنعت، تهران، ایران) به صورت ۵ روز متوالی دویدن روی نوارگردان با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر درصد و به مدت ۱۰ دقیقه آشنا شدند. برنامه‌ی تمرینی شامل ۸ هفته دویدن فزاینده روی نوارگردان و به صورت ۵ روز متوالی در هفته (از روز شنبه تا چهارشنبه) بود. شدت برنامه‌ی تمرینی با توجه به اکسیژن مصرفی (حدود ۶۵ تا ۷۵ درصد  $VO_{2max}$ ) طراحی شد [۳۱]. طبق جدول ۱، در هفته‌ی اول تمرین، موش‌ها با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه شروع به دویدن کردند. این در حالی است که هر دو هفته شدت فعالیت (۴ متر بر دقیقه) و هر هفته مدت فعالیت (۵ دقیقه) به صورت تدریجی افزایش یافت تا در دو هفته آخر موش‌ها با سرعت ۲۴ متر بر دقیقه و به مدت ۴۵ دقیقه دویدند. شیب نوارگردان نیز در سراسر تمرین ۵ درصد در نظر گرفته شد. موش‌های گروه دیابتی کنترل و غیردیابتی نیز در طول دوره‌ی ۸ هفته‌ای تمرین روی نوارگردان قرار گرفتند، ولی هیچ‌گونه فعالیت ورزشی انجام ندادند. این پروتکل براساس اصول انجمن علمی ACSM<sup>۱</sup> و به صورت فزاینده طراحی شد [۳۲].

متناقض می‌باشد [۲۶-۲۲]. قابل ذکر است که در این مطالعات، اثر فعالیت ورزشی بر اپلین به عنوان یک آدیپوکاین در بیماران دیابتی نوع دو مورد بررسی قرار گرفته است و تحقیق حاضر برای اولین بار نقش سایتوکاینی اپلین ناشی از فعالیت ورزشی را در وضعیت دیابت مورد مطالعه قرار داده است. بنابراین، تحقیق حاضر طراحی شده است تا اثر ضد التهابی ۸ هفته تمرین هوازی بر غلظت پلاسمایی اپلین موش‌های صحرایی نر دیابتی مشخص شود.

### روش‌ها

#### حیوانات

تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (سن: ۸ هفته و وزن بدن: ۲۳۰ تا ۲۵۰ گرم) از انیستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه شد. این حیوانات در آزمایشگاه حیوانات پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در اتاق ایزوله در قفس‌های مخصوص و تحت شرایط کنترل شده از نظر دما ( $25 \pm 2^\circ C$ )، رطوبت ( $27 \pm 3^\circ C$ )، تهویه‌ی مطبوع و تصفیه‌ی هوا و نیز چرخه‌ی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. موش‌ها به مدت دو هفته با محیط آزمایشگاه آشنا و سازگار شدند. تمامی این حیوانات به آب و غذای استاندارد موش دسترسی داشتند.

#### روش اجرای تحقیق

پژوهش حاضر از تحقیقات تجربی از نوع توسعه‌ای بود. در ابتدا موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه غیر دیابتی (۹ سر) و دیابتی (۱۹ سر) تقسیم و ۴ هفته پس از القای دیابت، موش‌ها مجدداً به ۳ گروه غیر دیابتی (۹ سر)، دیابتی کنترل (۹ سر) و دیابتی تمرین (۱۰ سر) تقسیم شدند.

#### روش دیابتی کردن موش‌ها

موش‌های صحرایی نر بالغ (۱۰ هفته) با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم انتخاب شدند و طبق روش Masiello و همکاران، پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، NA (۹۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) (Sigma, Saint. Louis, MO, USA) محلول در سالین به صورت داخل صفاقی و ۱۵ دقیقه بعد از آن، STZ (۶۰

<sup>1</sup> American College of Sports Medicine

جدول ۱- پروتکل تمرین هوازی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
سرعت (متر بر دقیقه)	۱۲	۱۲	۱۶	۱۶	۲۰	۲۰	۲۴	۲۴
مدت (دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۴۵
شیب (درصد)	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵

## اندازه‌گیری‌های هفتگی

موش صحرائی (Boster Biological Technology, آمریکا) با حساسیت کمتر از یک پیکوگرم بر لیتر و ضریب تغییرات ۵/۹ درصد اندازه‌گیری شد. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول [۲۲/۵] / گلوکز ناشتا (میلی‌مول بر لیتر) × انسولین ناشتا (میکرو یونیت بر میلی‌لیتر) [۳۳] محاسبه شد.

وزن، میزان غذای دریافتی موش‌های گروه تجربی و کنترل در طول القای دیابت و نیز دوره‌ی تمرین هوازی به‌صورت هفتگی در ساعت ۹ تا ۱۱ صبح اندازه‌گیری و ثبت شد. گلوکز پلاسمای ناشتا در طول ۴ هفته القای دیابت با روش گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد.

## تهیه‌ی نمونه‌ی خونی و تحلیل آن

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶، داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنف، نرمال بودن توزیع داده‌ها تأیید شد و سپس برای مقایسه‌ی میانگین متغیرهای ۳ گروه غیردیابتی، دیابتی کنترل و دیابتی تمرین از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه<sup>۱</sup> و در صورت معنی‌دار بودن داده‌ها، برای تعیین اختلاف درون گروهی از آزمون تعقیبی توکی<sup>۲</sup> استفاده شد. برای تعیین ارتباط بین متغیرها از ضریب همبستگی پیرسون<sup>۳</sup> استفاده شد. برای تمامی تحلیل‌های آماری نیز سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

پس از دوره‌ی ۸ هفته تمرین، موش‌های ۳ گروه (تجربی و کنترل) به‌مدت ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه‌ی تمرین (به‌منظور جلوگیری از آثار جلسه‌ی آخر تمرین) و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، از طریق تزریق داخل صفاقی ماده‌ی بی‌هوشی پنتوباریتال سدیم (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و پس از بازکردن شکم حیوان، خون‌گیری مستقیماً از قلب موش به میزان ۱۰ سی‌سی به‌عمل آمد و بلافاصله خون در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد و برای جداکردن پلاسمای خون، نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگاه‌داری شدند. غلظت پلاسمایی گلوکز با روش رنگ سنجی آنزیمی (گلوکز اکسیداز) (پارس آزمون، تهران، ایران) با حساسیت ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و ضریب تغییرات ۵/۶ درصد، غلظت پلاسمایی انسولین با کیت الایزا ویژه‌ی موش صحرائی (Biospes، چین) با حساسیت کمتر از ۵ میکرو یونیت بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۶/۳ درصد، غلظت پلاسمایی اپلین ۱۳ با کیت الایزا ویژه‌ی موش صحرائی (Biospes، چین) با حساسیت ۰/۷۵ نانوگرم بر لیتر و ضریب تغییرات ۷/۴ درصد، غلظت پلاسمایی TNF- $\alpha$  با کیت الایزا ویژه‌ی

## یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار متغیرهای ۳ گروه غیر دیابتی، دیابتی کنترل و دیابتی تمرین پس از ۸ هفته تمرین هوازی در جدول ۲ ارائه شده است و طبق نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی، پس از ۸ هفته تمرین هوازی در ۳ گروه:

<sup>1</sup> One-way analysis of variance (ANOVA)

<sup>2</sup> Tukey

<sup>3</sup> Pearson correlation coefficient

HOMA-IR گروه دیابتی کنترل و دیابتی تمرین نسبت به غیر دیابتی افزایش معنی داری و گروه دیابتی تمرین نسبت به دیابتی کنترل کاهش معنی داری یافت ( $P < 0/001$ ).

(۶) بین میانگین غلظت TNF- $\alpha$  پلاسمای ناشتا تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $f_{3,27} = 128/885, P < 0/001$ ), به طوری که غلظت TNF- $\alpha$  پلاسمای ناشتای گروه دیابتی کنترل و دیابتی تمرین نسبت به غیردیابتی افزایش معنی داری و گروه دیابتی تمرین نسبت به دیابتی کنترل کاهش معنی داری یافت ( $P < 0/001$ ).

(۷) بین میانگین غلظت اپلین پلاسمای ناشتا تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $f_{3,27} = 27/386, P < 0/001$ ), به طوری که غلظت اپلین پلاسمای ناشتای گروه دیابتی کنترل ( $P < 0/001$ ) و دیابتی تمرین ( $P < 0/001$ ) نسبت به غیر دیابتی و گروه دیابتی تمرین نسبت به دیابتی کنترل ( $P = 0/004$ ) افزایش معنی داری یافت.

(۸) همچنین، نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که بین غلظت پلاسمایی اپلین و TNF- $\alpha$  موش های دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی ارتباط منفی معنی داری مشاهده می شود ( $r = -0/831, P = 0/003$ ) (شکل ۱).

(۱) بین میانگین وزن بدن تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $f_{3,27} = 26/370, P < 0/001$ ), به طوری که بین تغییرات وزن بدن گروه غیر دیابتی و دیابتی کنترل تفاوت غیر معنی داری مشاهده شد ( $P = 0/082$ ) و وزن بدن گروه دیابتی تمرین نسبت به غیر دیابتی و دیابتی کنترل کاهش معنی داری یافت ( $P < 0/001$ ).

(۲) بین میانگین میزان غذای دریافتی تفاوت غیر معنی داری مشاهده شد ( $f_{3,27} = 19/183, P < 0/001$ ).

(۳) بین میانگین غلظت گلوکز پلاسمای ناشتا تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $f_{3,27} = 142/849, P < 0/001$ ), به طوری که غلظت گلوکز پلاسمای ناشتای گروه دیابتی کنترل و دیابتی تمرین نسبت به غیر دیابتی افزایش معنی داری و گروه دیابتی تمرین نسبت به دیابتی کنترل کاهش معنی داری یافت ( $P < 0/001$ ).

(۴) بین میانگین غلظت انسولین پلاسمای ناشتا تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $f_{3,27} = 35/335, P < 0/001$ ), به طوری که غلظت انسولین پلاسمای ناشتای گروه دیابتی کنترل ( $P < 0/001$ ) و دیابتی تمرین ( $P = 0/001$ ) نسبت به غیر دیابتی افزایش معنی داری و گروه دیابتی تمرین نسبت به دیابتی کنترل ( $P = 0/020$ ) کاهش معنی داری یافت.

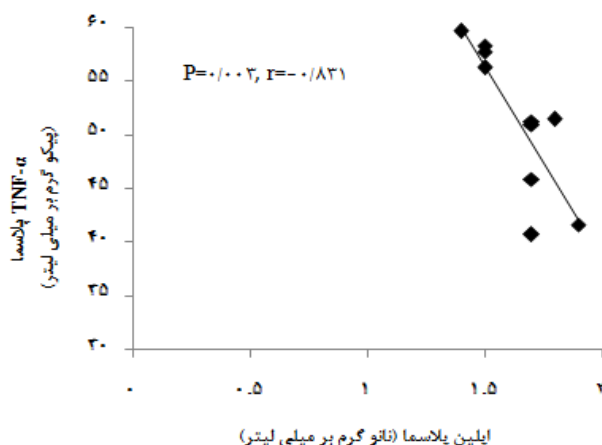
(۵) بین میانگین HOMA-IR تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $f_{3,27} = 275/033, P < 0/001$ ), به طوری که

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار متغیرهای ۳ گروه پس از ۸ هفته تمرین هوازی

گروه			متغیر
دیابتی تمرین (۱۰ سر)	دیابتی کنترل (۹ سر)	غیر دیابتی (۹ سر)	
$307/49 \pm 13/19^{†**}$	$352/34 \pm 11/76$	$338/89 \pm 12/3$	وزن (گرم)
$145/01 \pm 5/57$	$145/9 \pm 6/3$	$145/31 \pm 8/45$	میزان غذای دریافتی (گرم)
$134/8 \pm 10/26^{†**}$	$192/81 \pm 11/16^*$	$114/75 \pm 10/69$	گلوکز پلاسمای ناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر)
$0/73 \pm 0/02^{†**}$	$0/8 \pm 0/03^*$	$0/61 \pm 0/08$	انسولین پلاسمای ناشتا (نانوگرم بر میلی لیتر)
$7/93 \pm 0/35^{†**}$	$9/41 \pm 0/51^*$	$7/56 \pm 0/67$	HOMA-IR
$51/34 \pm 6/82^{†**}$	$82/75 \pm 6/26^*$	$38/31 \pm 6/26$	TNF- $\alpha$ پلاسمای ناشتا (پیکوگرم بر میلی لیتر)
$1/64 \pm 0/15^{†**}$	$1/34 \pm 0/24^*$	$0/93 \pm 0/29$	اپلین پلاسمای ناشتا (نانوگرم بر میلی لیتر)

\* و \*\* نشانگر تفاوت معنی داری ( $P < 0/05$ ) گروه دیابتی کنترل و دیابتی تمرین نسبت به گروه غیر دیابتی است.

† نشانگر تفاوت معنی داری ( $P < 0/05$ ) گروه دیابتی تمرین نسبت به گروه دیابتی کنترل است.



شکل ۱- ارتباط بین غلظت پلاسمایی اپلین و TNF- $\alpha$  موش‌های دیابتی تمرین

## بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، همراه با کاهش وزن، غلظت پلاسمایی گلوکز و انسولین و HOMA-IR موش‌های دیابتی تمرین (پس از ۸ هفته تمرین هوازی) نسبت به موش‌های دیابتی کنترل کاهش یافت، اما میزان این متغیرها نسبت به گروه غیردیابتی هنوز بالاتر بود. بهبود HOMA-IR موش‌های دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی نشان دهنده این است که مقاومت به انسولین در وضعیت T2DM بهبود یافته است. این در حالی است که به‌خوبی نشان داده شده است که حتی یک ساعت تمرین هوازی در هفته می‌تواند حساسیت به انسولین را در بیماران مبتلا به T2DM بهبود بخشد. تمرین ورزشی منظم می‌تواند پاسخ عضله‌ی اسکلتی به انسولین را از طریق افزایش بیان و یا فعالیت پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و سیگنالینگ انسولین بالا ببرد، به‌طوری که تمرین هوازی با شدت متوسط، فعالیت گلیکوژن سنتاز و بیان GLUT4 را افزایش می‌دهد. از طرفی، اکسیداسیون چربی یک جنبه‌ی مهم در بهبود عمل انسولین است و تمرین ورزشی ذخایر چربی عضلات و ظرفیت اکسیداسیون چربی را افزایش می‌دهد. همچنین، وضعیت تمرینی، استفاده از کربوهیدرات هنگام فعالیت هوازی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به‌طوری که انجام چند هفته تمرین هوازی، استفاده از چربی را هنگام فعالیت

ورزشی مشابه افزایش می‌دهد که این عمل موجب صرفه‌جویی در مصرف گلیکوژن عضله و گلوکز خون و در نهایت کاهش کمتر گلیکوژن پس از فعالیت ورزشی می‌شود [۲۱-۱۹].

یافته‌ی دیگر تحقیق حاضر نیز مربوط به افزایش غلظت پلاسمایی اپلین گروه دیابتی تمرین نسبت به موش‌های دیابتی کنترل و غیر دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی بود. مطالعات در زمینه‌ی اثر تمرین ورزشی بر اپلین و مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به T2DM اندک و متناقض (افزایش و یا کاهش غلظت پلاسمایی اپلین گزارش شده است) می‌باشد [۲۶-۲۲]، که این تناقضات می‌تواند به‌علت تفاوت در پروتکل تمرین ورزشی، مدت زمان تمرین، حجم فعالیت، تمرین پذیری نمونه‌ها و نیز سابقه و شدت دیابت باشد، اما در تحقیق حاضر همسو با ۳ مطالعه‌ی اخیر [۲۶، ۲۴، ۲۲]، غلظت پلاسمایی اپلین با افزایش حساسیت به انسولین ناشی از تمرین ورزشی، افزایش یافت. قابل ذکر است که در این مطالعات، نقش آدیپوکاینی اپلین ناشی از فعالیت ورزشی مورد مطالعه قرار گرفته است و تحقیق حاضر برای اولین بار اثر تمرین ورزشی بر اپلین به‌عنوان یک سایتوکاین را در وضعیت دیابت مورد بررسی قرار داده است، به‌طوری که در تحقیق حاضر نشان داده شد که پس از ۸ هفته تمرین هوازی، غلظت پلاسمایی TNF- $\alpha$  موش‌های دیابتی تمرین نسبت به

در سلول‌های چربی، هم توسط انسولین و هم  $TNF-\alpha$  ایجاد می‌شود که منجر به حفظ بیان و ترشح اپلین پایدار در چاقی و دیابت می‌شود [۳۶]. از طرفی، نشان داده شده است که اپلین اثر قابل توجهی بر کاهش بیان ژنی سایتوکاین التهابی IL-6 در سلول‌های چربی مقاوم به انسولین دارد. همچنین، ارتباط مثبتی بین سطوح اپلین و hCRP<sup>۴</sup> سرم بیماران مبتلا به T2DM گزارش شده است. این مطالب نشانگر ویژگی‌های ضد التهابی اپلین است، به طوری که اپلین میانجی پاسخ التهابی در وضعیت مقاومت به انسولین و T2DM می‌باشد [۲۳، ۱۲]. از این رو، همانند  $TNF-\alpha$ ، اپلین نیز به‌عنوان یک سایتوکاین التهابی کم سطح می‌تواند میانجی مقاومت به انسولین [۳۷] و نیز عامل درمانی امیدوار کننده برای T2DM باشد، به طوری که علاوه بر بهبود گلوکز مصرفی می‌تواند پاسخ التهابی را نیز میانجی کند [۱۲]. قابل ذکر است که  $TNF-\alpha$  به‌عنوان نشانگر کلیدی التهاب و اولین سایتوکاین قادر به ایجاد مقاومت به انسولین شناخته شده است [۳۸، ۱] که می‌تواند با تأثیر بر متابولیسم گلوکز و چربی، مانع عملکرد سلول‌های بتای پانکراس و با کاهش تنظیمی آبشار سیگنالینگ انسولین در سلول‌های چربی، کاهش انتقال GLUT4 و کاهش گلوکز مصرفی منجر به ایجاد مقاومت به انسولین شود [۳۹]. از طرفی، به نظر می‌رسد عوامل دیگری به غیر از وزن بدن می‌توانند در کاهش عوامل التهابی ناشی از تمرین ورزشی مؤثر باشند، به طوری که تمرین ورزشی هوازی می‌تواند با تعدیل سایتوکاین‌های تولید شده از بافت چربی (کاهش سطوح سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند  $TNF-\alpha$  و نیز افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی)، مقاومت به انسولین را در بیماران دیابتی کاهش دهد [۴۰]. بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین هوازی با ویژگی ضد التهابی خود منجر به افزایش غلظت پلاسمایی اپلین می‌شود، به طوری که کاهش سطح  $TNF-\alpha$  می‌تواند یکی از علل افزایش اپلین پلاسمای پس از تمرین ورزشی در بیماران مبتلا به T2DM باشد. از طرفی، آثار مفید افزایش غلظت پلاسمایی اپلین ناشی از تمرین ورزشی ممکن است

موش‌های دیابتی کنترل کاهش داشت، نشانگر این که وضعیت التهاب در T2DM بهبود یافته است و این که تمرین ورزشی می‌تواند واکنش التهابی مربوط به مقاومت به انسولین و دیابت را بهبود بخشد. همچنین، غلظت پلاسمایی اپلین موش‌های دیابتی تمرین ارتباط منفی با  $TNF-\alpha$  پلاسمای داشت، به طوری که غلظت پلاسمایی اپلین به موازات کاهش  $TNF-\alpha$  پلاسمای افزایش داشت. در مطالعه‌ای رابطه‌ی مثبت بین اپلین و  $TNF-\alpha$  گردش خون در وضعیت دیابت مشاهده شده است، به طوری که غلظت  $TNF-\alpha$  پلاسمای بیماران چاق مبتلا به T2DM پس از ۶ ماه درمان هم راستا با کاهش اپلین پلاسمای کاهش یافت، مبنی بر این که اپلین مربوط به التهاب است [۳۴]. نشان داده شده است که هورمون‌های تحریک کننده مقاومت به انسولین مانند  $TNF-\alpha$ ، بخشی از آثارشان بر حساسیت به انسولین را با تغییر بیان آدیپوکاین‌ها در سلول‌های چربی اعمال می‌کنند [۳۵].  $TNF-\alpha$  به‌عنوان میانجی التهابی می‌تواند بیان اپلین بافت چربی را از طریق مسیرهای سیگنالی PI3K<sup>۱</sup>، MAPK<sup>۲</sup> و JNK<sup>۳</sup> تنظیم افزایشی کند، به طوری که نقش‌های اندوکرائینی (مانند مهار ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس) و پاراکرائینی برای اپلین مترشح‌ه از بافت چربی در پاسخ به  $TNF-\alpha$  فرض شده است [۱۵]. بنابراین،  $TNF-\alpha$  به‌عنوان تنظیم‌گر قوی بیان اپلین، اثر مستقیم بر تولید و ترشح اپلین دارد و رابطه‌ی بین سطوح  $TNF-\alpha$  و اپلین، نقش مشترک و کمکی بین  $TNF-\alpha$  و اپلین را در شروع اختلالات مربوط به چاقی و دیابت مانند التهاب مزمن چربی و مقاومت به انسولین نشان می‌دهد. به عبارتی دیگر، افزایش تنظیمی اپلین در پاسخ به التهاب می‌تواند سازوکاری جبرانی برای محدود کردن شروع این گونه اختلالات باشد [۱۵]. علاوه بر این، به نظر می‌رسد التهاب ناشی از  $TNF-\alpha$  در بافت چربی، قبل از افزایش سطوح انسولین گردش خون رخ می‌دهد، نشانگر این موضوع که التهاب قبل از ایجاد مقاومت به انسولین اتفاق می‌افتد. بنابراین، تنظیمات متقابل تولید اپلین

<sup>1</sup> Phosphoinositide 3-kinase

<sup>2</sup> Mitogen-activated protein kinase

<sup>3</sup> C-Jun N-terminal kinase

<sup>4</sup> High-sensitivity C-reactive protein

می‌باشد، لازم است تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود.

### سپاسگزاری

از پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

بر نقش اپلین به‌عنوان سایتوکائینی مهم در ارزیابی مقاومت به انسولین و نیز نقش مؤثر آن در پاتوژنز T2DM تأکید کند. در مجموع، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی علاوه بر بهبود حساسیت به انسولین با کاهش التهاب (کاهش TNF- $\alpha$ ) می‌تواند موجب افزایش غلظت پلاسمایی اپلین موش‌های صحرایی نر دیابتی شود، ولی با توجه به این که مطالعات در زمینه اثر سایتوکائینی اپلین ناشی از فعالیت ورزشی در وضعیت دیابت اندک

### مآخذ

- Li HT, Wu XD, Davey AK, Wang J. Antihyperglycemic effects of baicalin on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Phytotherapy Research* 2011; 25(2): 189-194.
- Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental mode. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)* 2012; 237(5): 481-490.
- Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 64(4): 355-365.
- Castan-Laurell I, Dray C, Knauf C, Kunduzova O, Valet P. Apelin, a promising target for type 2 diabetes treatment? *Trends in Endocrinol Metab* 2012; 23(5): 234-241.
- Dray C, Knauf C, Daviaud D, Waget A, Boucher J, Buléon M, et al. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metab* 2008; 8(5): 437-445.
- Tapan S, Tascilar E, Abaci A, Sonmez A, Kilic S, Erbil MK, et al. Decreased plasma apelin levels in pubertal obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; 23(10): 1039-1046.
- Ringström C, Nitert MD, Bennet H, Fex M, Valet P, Rehfeld JF, et al. Apelin is a novel islet peptide. *Regul Pept* 2010; 162(1-3): 44-51.
- Cekmez F, Cekmez Y, Pirgon Ö, Canpolat FE, Aydinöz S, Metin Ipcioglu O, et al. Evaluation of new adipocytokines and insulin resistance in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Eur Cytokine Netw* 2011; 22(1): 32-37.
- Clarke KJ, Whitaker KW, Reyes TM. Diminished metabolic responses to centrally-administered apelin-13 in diet-induced obese rats fed a high-fat diet. *J Neuroendocrinol* 2009; 21(2): 83-89.
- Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. *Arq Bras Cardiol* 2008; 90(5): 343-349.
- Meral C, Tascilar E, Karademir F, Tanju IS, Cekmez F, Ipcioglu OM, et al. Elevated plasma levels of apelin in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; 23(5): 497-502.
- Zhu Sh, Sun F, Li W, Cao Y, Wang C, Wang Y, et al. Apelin stimulates glucose uptake through the PI3K/Akt pathway and improves insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biochem* 2011; 353(1-2): 305-313.
- Li L, Yang G, Li Q, Tang Y, Yang M, Yang H, et al. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006; 114(10): 544-548.
- Beltowski J. Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit* 2006; 12(6): RA112-RA119.
- Daviaud D, Boucher J, Gesta S, Dray C, Guigne C, Quilliot D, et al. TNF up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue. *FASEB J* 2006; 20(9): 796-802.
- Chou TW, Ma CY, Cheng HH, Chen YY, Lai MH. A rice bran oil diet improves lipid abnormalities and suppress hyperinsulinemic responses in rats with streptozotocin/ nicotinamide-induced type 2 diabetes. *J Clin Biochem Nutr* 2009; 45(1): 29-36.
- Xu S, Tsao PS, Yue P. Apelin and insulin resistance: another arrow for the quiver? *J Diabetes* 2011; 3(3): 225-231.
- Palsamy P and Subramanian S. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental



- diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 2008; 62(9): 598-605.
19. Lin GM, Li YH, Wen SH. Aerobic and resistance training for patients with type 2 diabetes. *JAMA* 2011; 305(9): 891-892.
  20. Sigal RJ, Kenny GP, Boulé NG, Wells GA, Prud'homme D, Fortier M, et al. Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 147(6): 357-369.
  21. Hansen D, Dendale P, Jonkers RA, Beelen M, Manders RJ, Corluy L, et al. Continuous low- to moderate-intensity exercise training is as effective as moderate- to high-intensity exercise training at lowering blood HbA(1c) in obese type 2 diabetes patients. *Diabetologia* 2009; 52(9): 1789-1797.
  22. Kadoglou NP, Vrabas IS, Kapelouzou A, Lampropoulos S, Sailer N, Kostakis A, et al. The impact of aerobic exercise training on novel adipokines, apelin and ghrelin, in patients with type 2 diabetes. *Med Sci Monit* 2012; 18(5): 290-295.
  23. Krist J, Wieder K, Klötting N, Oberbach A, Kralisch S, Wiesner T, et al. Effects of weight loss and exercise on apelin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Obes Facts* 2013; 6(1): 57-69.
  24. Kadoglou NP, Fotiadis G, Kapelouzou A, Kostakis A, Liapis CD, Vrabas IS. The differential anti-inflammatory effects of exercise modalities and their association with early carotid atherosclerosis progression in patients with type 2 diabetes. *Diabet Med* 2013; 30(2): 41-50.
  25. Mohebbi H, Rhamania F, Hedayati Emami MH, Saidi Ziabari T. Effects of 8-week moderate-intensity aerobic training on levels of plasma apelin and insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Sport Physiol* 2014; 5(20): 115-128. (Persian).
  26. Kazemi F, Ebrahim KH, Zahedi Asl S. Effects of aerobic training on plasma concentration of apelin and insulin resistance in type 2 diabetic rats. *Med J Tabriz University Med Sci Health Serv* 2014; 36(3): 62-67. (Persian).
  27. Pierre W, Gildas AJ, Ulrich MC, Modeste WN, Benoît NT, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Bersama engleriana* leaves in nicotine/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12: 264.
  28. Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of aqueous bark extract of *Garuga pinnata* Roxb. In streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol* 2006; 107(2): 285-290.
  29. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes* 1998; 47(2): 224-229.
  30. Ortiz-Andrade RR, Sánchez-Salgado JC, Navarrete-Vázquez G, Webster SP, Binnie M, García-Jiménez S, et al. Antidiabetic and toxicological evaluations of naringenin in normoglycaemic and NIDDM rat models and its implications on extra-pancreatic glucose regulation. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10(11): 1097-1104.
  31. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol* 2007; 6: 38.
  32. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes: the american college of sports medicine and the american diabetes association: joint position statement executive summary. *Diabetes Care* 2010; 33(12): 2692-2696.
  33. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7): 412-419.
  34. Yu S, Zhang Y, Li MZ, Xu H, Wang Q, Song J, et al. Chemerin and apelin are positively correlated with inflammation in obese type 2 diabetic patients. *Chin Med J (English Edition)* 2012; 125(19): 3440-3444.
  35. Kralisch S, Lossner U, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Growth hormone induces apelin mRNA expression and secretion in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Regul Pept* 2007; 139(1-3): 84-89.
  36. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003; 112(12): 1821-1830.
  37. Cavallo MG, Sentinelli F, Barchetta I, Costantino C, Incani M, Perra L, et al. Altered glucose homeostasis is associated with increased serum apelin levels in type 2 diabetes mellitus. *PLoS One* 2012; 7(12): e51236.
  38. Chang HP, Yao HT, Chiang MT. Effects of high and low molecular weight chitosan on plasma cholesterol, glucose and adipocytokines in diabetic

- rats induced by streptozotocin and nicotinamide. *J Food Drug Anal* 2012; 20(3): 661.
39. Hammadi SH, AL-Ghamdi SS, Yassien AI, AL-Hassani SD. Aspirin and blood glucose and insulin resistance. *Open J Endocr Metab Diseases* 2012; 2(2): 16-26.
40. Kadoglou NP, Iliadis F, Angelopoulou N, Perrea D, Ampatzidis G, Liapis CD, et al. The anti-inflammatory effects of exercise training in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14(6): 837-843.

## ATNI-INFLAMMATION EFFECT OF 8-WEEK AEROBIC TRAINING ON APELIN PLASMA CONCENTRATION IN DIABETIC MALE RATS

Fahimeh Kazemi<sup>\*1</sup>, Saleh Zahedi Asl<sup>2</sup>

1. Department of Exercise Physiology, faculty of Physical Education and Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
2. Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### ABSTRACT

**Background:** Recently the role of apelin in inflammation has been known. However, the effect of exercise training-induced cytokine apelin in diabetes status hasn't been investigated. The purpose of this study was to determine the atni-inflammation effect of 8-week aerobic training on apelin plasma concentration in diabetic male rats.

**Methods:** Twenty eight diabetic male Wistar rats were randomly divided into 3 groups: Non-diabetic (n=9), control diabetic (n=9) and trained diabetic (n=10). Type 2 diabetes was induced by intraperitoneal injection of nicotinamide (95 mg/kg body weight) and streptozotocin (60 mg/kg body weight). The training group ran 8-week on treadmill progressively for 45 min at a speed of 24 m/min and a 5% grade. After the training, plasma concentrations of glucose, insulin, TNF- $\alpha$  and apelin were measured and HOMA-IR was calculated. One-way analysis of variance (ANOVA) and Pearson's correlation was used for analyzing data. P<0.05 was considered to be statistically significant.

**Results:** Results showed a significant decrease in plasma concentrations of glucose, insulin and TNF- $\alpha$  and HOMA-IR in trained diabetic vs control diabetic group, a significant increase in plasma concentration of apelin in trained diabetic group vs non-diabetic and control diabetic group and a significant negative correlation between plasma concentrations of apelin and TNF- $\alpha$  in trained diabetic group.

**Conclusion:** It appears that 8-week aerobic training by improvement of insulin sensitivity and decrease of inflammation can increase plasma concentration of apelin in diabetic male rats.

**Keywords:** Cytokine, Apelin, Type 2 Diabetes, Aerobic Exercise

---

\* Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Alzahra University, Vanak, Tehran, Iran. Email: kazemi.fahimeh@gmail.com