مجله دیابت و متابولیسم ایران. خرداد- تیر ۱۳۹۹؛ دوره ۱۹ (شماره ۵) ۲۸۹-۲۸۱

مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن لیپازین در رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو

سپیده صالحی[1*]، نیکو خسروی[1]، مریم دلفان[1]

چکیده

مقدمه: شیوع بیماری دیابت نوع دو در جهان به سرعت رو به افزایش است، در اثر بروز این بیماری در طولانی مدت مقاومت به انسولین ایجاد می‌شود که در نتیجه‌ی آن سلول‌های بتا پانکراس تخریب شده و به مرور از بین می‌روند که در نتیجه انسولین ترشح نمی‌گردد. اخیرا یک پروتئین به نام لیپازین، که مسؤول امر سیگنال دهی کبد به سلول‌های بتا است، کشف شده و در گزارشات قبلی نشان داده شده است که لیپازین/بتاتروفین تکثیر سلول β پانکراس را افزایش می‌دهد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین استقامتی بر بیان ژن لیپازین در رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو انجام گرفت.

روش‌ها: مطالعه بر روی ۲۵ سر رت نژاد ویستار با میانگین وزن ۱۰±۱۶۰ گرم و سن ۸ هفته انجام شد، که پس از القاء دیابت، رت‌ها به شکل تصادفی به سه گروه ٦ تایی: کنترل و استقامتی و HIIT تقسیم شدند و به‌مدت هشت هفته تمرین ورزشی (۵ جلسه در هفته) اجرا شد. برای بررسی تغییرات بیان ژن لیپازین بافت کبد از تکنیک qRT-PCR استفاده شد.

یافته‌ها: پژوهش حاضر نشان داد پس از هشت هفته تمرین استقامتی و HIIT، بیان ژن لیپازین در کبد رت‌های گروه‌های تمرین نسبت به گروه‌های کنترل افزایش معناداری یافت (P=۰/۰۳۷)؛ همچنین همبستگی معنادار منفی بین بیان ژن لیپازین و شاخص مقاومت به انسولین در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (r=-۰/٦۰۵، P=۰/۰۳۷).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد اجرای هشت هفته تمرینات استقامتی و HIIT، با افزایش بیان ژن لیپازین می‌تواند باعث افزایش سلول‌های بتا در بیماران دیابتی گردد و احتمالاً مداخله‌ی غیر دارویی مؤثری برای کاهش علائم این بیماری باشد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع دو، بیان ژن لیپازین، مقاومت به انسولین، تمرین تناوبی با شدت بالا، تمرین استقامتی

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

* ***نشانی:*** تهران، خیابان ده ونک، دانشگاه الزهرا (س)، کد پستی: ۱۹۹۳۸۹۳۹۷۳، تلفن: ۰۲۱۸۸۰٤٤۰٤۰، نمابر: ۰۲۱۸۸۰۳۵۱۸۷، پست الکترونیک Salehi_s24@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۰ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۳۹۹/۰۴/۰۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۰۴/۱۶

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

مقدمه

یکی از پیامدهای پیشرفت تکنولوژی کاهش فعالیت بدنی است. در افرادی که فعالیت بدنی مناسبی ندارند، احتمال ابتلا به بیماری های قلبی- عروقی دو برابر بیشتر است. همچنین این افراد مستعد اختلالات قند خون نیز هستند. اختلال قند خون یا دیابت درصد شیوع بالایی را در جهان به خود اختصاص می‌دهد. شیوع این بیماری در جهان به سرعت رو به افزایش است [۱]. در حال حاضر بیش از ٤۰۰ میلیون دیابتی در دنیا وجود دارند که پیش‌بینی می‌شود این عدد در سال ۲۰۳۵ به بیش از ٦٤۰ میلیون نفر برسد. به همین ترتیب مشخص می‌شود درحال حاضر حدود ۲۵۰ میلیون نفر دچار اختلال قندخون ناشتا در جهان زندگی می‌کنند [۲].

دیابت اختلال متابولیکی است که از طریق فرآیند هایپرگلیسمی و به‌دنبال نقص در ترشح انسولین و مقاومت به انسولین یا هر دو مشخص می‌گردد [۳]. تأثیر اصلی فقدان انسولین یا مقاومت به انسولین بر متابولیسم گلوکز، شامل عدم برداشت و مصرف ناکافی گلوکز در بیشتر سلول‌های بدن به استثنای سلول‌های مغز است. در نتیجه غلظت گلوکز خون بالا می‌رود، مصرف سلولی گلوکز به‌طور فزاینده کاهش می‌یابد و مصرف چربی‌ها و پروتئین ها افزایش پیدا می‌کند [٤].

سازوکار ترشح انسولین بدین صورت است که سلول‌های بتای پانکراس، انسولین را در دو فاز آزاد می‌کنند [٤]. سلول‌های بتا یک گیرنده‌ی مهم برای میزان گلوکز خون هستند و مقداری از انسولین را برای تعدیل گلوکز و همئوستاز انرژی، ترشح می‌کند [۵].

گزارشات اخیر یک پروتئین ترشحی از کبد را مسؤول امر سیگنال‌دهی کبد به سلول‌های بتا معرفی کرده است. این پروتئین ترشحی همان بتاتروفین/ لیپازین[1] است [٦]. لیپازین ژنی است که در انسان‌ها با C19 یا F80 و در رت GM6484 نامیده می شود، اما چندین نام مختلف برای این پروتئین شامل RIFL[2]، ANGPTL8[3]، بتاتروفین نیز به‌کار می‌رود [۷]. یک پروتئین جدید که از کبد ترشح شده، در متابولیسم‌تری گلیسرید شرکت می‌کند، تعدیل کننده‌ی متابولیسم لیپیدها است [۸]، همچنین یک غنی کننده‌ی کبد در تعادل غذایی است که مانع فعالیت لیپوپروتئین لیپاز[4] (LPL) می‌گردد. کاهش دهنده‌ی موانع تری گلیسیرید (TG) از راه افزایش محتوای TG سرم است [۵] و سطوح آن حساس به مصرف غذا است [۸]. به این معنی که با خوردن غذا تحریک شده و با گرسنگی متوقف می‌گردد و از همه مهم‌تر تکثیر سلول β پانکراس را افزایش می‌دهد [۷].

بتاتروفین/ لیپازین در درمان بیماری دیابت، اخیراً مورد توجه قرار گرفته و به‌عنوان احیا کننده‌ی سلولی β، نقش بالقوه‌ای در بیماری دیابت نوع دو دارد [۹]. در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو معمولاً برای کاهش وزن و اصلاح مقاومت به انسولین، رژیم غذایی و ورزش توصیه می‌شود [٤].

ورزش بخش مهمی در درمان همه‌ی بیماران دیابتی به‌خصوص دیابت نوع دو است و فواید آن شامل بهبود آمادگی جسمانی، پیشگیری و کاهش چربی، بهبود وضعیت چربی و کنترل متابولیکی قند خون، کاهش خطر بیماری‌های کرونر قلبی، فواید روحی و اجتماعی، کاهش استرس و احتمال کاهش یا حذف داروهای دیابتی برای دیابت نوع دو، می‌شود [۱۰].

دیابت به‌عنوان یک هشدار جدی برای سلامتی انسان‌ها در قرن ۲۱ است که با تغییر در سبک زندگی، رفتار و محیط می‌توان میزان کمی از این بیماری را کنترل کرد. اما نباید از اثرات فعالیت ورزشی بر پیشگیری از این بیماری غافل شد. در سال‌های اخیر آزمایش‌های پزشکی و مطالعات میدانی نقش برجسته ی فعالیت ورزشی را در جلوگیری از ابتلا به دیابت نوع دو کشف کرده‌اند. در پی تأیید این موضوع پژوهش‌های انجام شده توسط صارمی (۱۳۹۰) [۱۱]، Shahrjerd (۱۳۸۹) [۱۲] و موسوی نژاد (۱۳۹۰) [۱۳]، Silvano [۱٤]، Edite و همکاران (۲۰۱۱) [۱۵]، در کنترل بیماری دیابت و کاهش مقاومت به انسولین در اثر فعالیت‌های ورزشی مختلف را می‌توان نام برد. در پژوهشی که توسط Abu_Farha و همکاران در سال ۲۰۱٦ انجام گردید، نتیجه گرفته

[1] Lipasin / Betatrophin
[2] Refeeding Induced Fat and Liver
[3] angiopoietin like protein8
[4] Lipoprotein lipase

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

شده که سطوح بتاتروفین سرم در افراد چاق افزایش می‌یابد و در این مطالعه آزمودنی‌های چاق پس از سه ماه فعالیت ورزشی کاهش معنی‌دار بتاتروفین را نشان دادند که این کاهش پس از انجام فعالیت ورزشی از لحاظ درمانی مفید واقع گردید [۱۶].

با توجه به اینکه تاکنون پژوهش‌های کمی به مسئله‌ی تأثیر ارائه ی تمرین ورزشی بر بیان ژن لیپازین در افراد مبتلا به دیابت نوع دو پرداخته‌اند، در این پژوهش تغییرات بیان ژن لیپازین در اثر انجام فعالیت‌های ورزشی مورد بررسی قرار می‌گیرد و تأثیر دو نوع تمرین استقامتی و HIIT[1] بر بیان ژن لیپازین در افرادی که به دیابت نوع دو مبتلا هستند، با هدف کاهش یا حذف داروها، بررسی می‌شود.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه‌ی میدانی و آزمایشگاهی بر روی ۲۵ سر رت نر نژاد ویستار (تهیه شده از مؤسسه‌ی تحقیقاتی رازی) با میانگین وزن ۱۰±۱۶۰ گرم و سن ۸ هفته، انجام شد؛ همه‌ی اصول اخلاقی مطالعه، مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. (کد اخلاق: R.SBMU.RETECH.REC.1395.883)

همه‌ی رت‌ها در حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی ایران در قفس‌های جداگانه‌ی ساخته شده از جنس پلی‌اتیلن شفاف، در شرایط استاندارد حیوان‌های آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد؛ رطوبت ۵۰-۴۵ درصد، سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲: ۱۲) نگه‌داری شدند. در انستیتو رازی، به هر ۴۵ کیلوگرم از پودر پلت استاندارد، ۳۰ درصد چربی حیوانی (حاصل از آب کردن دنبه گاو) و ۲۵ درصد فروکتوز اضافه شد و سپس به شکل پلت استاندارد قالب زده شد. هفت ماه بعد از تغذیه‌ی رت‌ها با پلت پُرچرب و شیرین با اندازگیری میزان قند خون ناشتا به وسیله گلوکومتر صفر-یک (ساخت ژاپن)، سطح گلوکز ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. در طول مدت هفت ماه دیابتی شدن رت‌ها، هفته‌ای دو جلسه برای تمیز کردن قفسه‌ها و رسیدگی به آب و غذای رت ها به حیوان خانه سر زده شد. رت‌های دیابتی، هیچ‌گونه درمان با انسولین در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند. پس از القاء دیابت، رت‌ها به شکل تصادفی به سه گروه ۶ تایی: کنترل (C)، استقامتی (E)[2] و تناوبی شدید (HIIT) تقسیم شدند و به‌مدت هشت هفته تمرین ورزشی اجرا شد.

رت‌های گروه تمرین به‌مدت یک هفته جهت آشناسازی با پروتکل تمرینی، با نهایت دقت و آرامش و با سرعت پایین و یکنواخت بر روی تردمیل قرار داده شدند و پروتکل آشناسازی مورد نظر با سرعت‌های کم‌تر از تمرین تناوبی انجام شد تا رت ها با شیوه‌ی دویدن بر روی نوارگردان آشنا شوند. هفته‌ی بعد از آشنایی، تمرین اصلی به‌مدت هشت هفته شروع و به پایان رسید. از هفته‌ی اول تا هشتم گروه‌های تمرین پروتکل ورزشی مربوط به خود را به‌مدت هشت هفته (پنج روز در هفته) انجام دادند، روز ششم هر دو هفته یک بار، حداکثر اکسیژن مصرفی (Vo_2max) اندازه‌گیری شد. با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی از پروتکل غیرمستقیم و با دقت زیاد به شرح زیر استفاده شد [۱۷].

بعد از سه دقیقه گرم کردن با سرعت پنج متر بر دقیقه، سرعت نوارگردان هر دو دقیقه یک بار به میزان ۴ متر بر دقیقه افزایش یافت، حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که رت‌ها حداقل ۱/۳ دقیقه نتوانستند با یک سرعت ثابت بدوند و بلافاصله پس از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نبودند (شیب تردمیل صفر درجه بود). رسیدن به سرعت بیشینه با غلظت لاکتات بالاتر از شش میلی مول در لیتر و نسبت تنفسی VCO_2/VO_2، معادل ۱/۵ است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند، ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و VO_2max رت‌ها وجود دارد ($p< 0.005, r= 0.98$) (۱۷). از این رو می‌توان با توجه به سرعت بیشینه‌ی دویدن، میزان VO_2max رت‌ها را به‌دست آورد. شدت‌ها با توجه به سرعت به‌دست آمده، تنظیم شد.

[1] High intensity interval training
[2] Endurance training

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه‌ی فعالیت ورزشی شرکت نکردند، ولی برای ایجاد سازگاری با محیط و یکسان‌سازی شرایط با رت‌های دیگر در کنار تردمیل قرار داده شدند. در پروتکل تمرین استقامتی که به‌مدت هشت هفته انجام شد. ابتدا سه دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰ درصد Vo_2max و در مرحله ی بعد ٦ دقیقه دویدن با شدت ٦۰ درصد Vo_2max در هفته‌ی اول که به ۲۰ دقیقه دویدن با شدت ٦۰ درصد Vo_2max در پایان هفته هشتم رسید و در انتها سه دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ درصد Vo_2max صورت گرفت. در پروتکل تمرین HIIT همانند تمرین استقامتی در ابتدا سه دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰ درصد Vo_2max ، پس از گرم کردن، تناوب با شدت بالا، با شدت ۸۰ درصد Vo_2max در هفته‌ی اول و ۹۰ درصد Vo_2max از هفته دوم تا پایان هفته هشتم بود، تناوب با شدت پایین با شدت ۳۰ درصد Vo_2max بود؛ تعداد تکرار تناوب با شدت بالا در هفته اول دو تکرار، در هفته‌ی دوم، سوم و چهارم، سه تکرار و از هفته‌ی پنجم تا هفته‌ی هشتم چهار تکرار بود. زمان تناوب با شدت بالا دو دقیقه و تناوب با شدت پایین نیز دو دقیقه بود، در انتها سه دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ درصد Vo_2max انجام گرفت. شیب دستگاه تردمیل در کل زمان اجرای پروتکل تمرین بر روی صفر درجه تنظیم شده بود. پروتکل تمرینی به‌کار برده شده در این تحقیق در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱- پروتکل تمرینی گروه تمرین استقامتی

هفته	سرعت گرم کردن	سرعت فعالیت	سرعت سرد کردن	زمان کل	توضیحات
اول	۵متر بر دقیقه	۹ متر بر دقیقه	۵متر بر دقیقه	۱۲/۵دقیقه	توان هوازی گرفته شد.
دوم	۵متر بر دقیقه	۹ متر بر دقیقه	۵متر بر دقیقه	۱٦/۵ دقیقه	
سوم	۵متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۵متر بر دقیقه	۱۵/۵دقیقه	توان هوازی گرفته شد.
چهارم	۵متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۵متر بر دقیقه	۱۷ دقیقه	
پنجم	٦/۵ متر بر دقیقه	۱۳ متر بر دقیقه	٦/۵متر بردقیقه	۱۹ دقیقه	توان هوازی گرفته شد.
ششم	٦/۵ متر بر دقیقه	۱۳ متر بر دقیقه	٦/۵متر بردقیقه	۲۰ دقیقه	
هفتم	٦/۵ متر بر دقیقه	۱۳ متر بر دقیقه	٦/۵متر بردقیقه	۲۵ دقیقه	توان هوازی گرفته شد.
هشتم	۷/۵ متر بر دقیقه	۱٤/۵ متر بردقیقه	۷/۵متر بردقیقه	۲۵/۵دقیقه	

جدول ۲- پروتکل تمرین گروه تمرین HIIT

هفته	سرعت گرم کردن	سرعت فعالیت	تعداد ست	سرعت سرد کردن	زمان کل
اول	۵متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۲	۵ متر بر دقیقه	۱۲ دقیقه
دوم	۵متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۳	۵ متر بر دقیقه	۱٦ دقیقه
سوم	۵متر بر دقیقه	۱٦ متر بر دقیقه	۳	۵ متر بر دقیقه	۱٦ دقیقه
چهارم	۵متر بر دقیقه	۱۸ متر بر دقیقه	۳	۵ متر بر دقیقه	۱٦ دقیقه
پنجم	۸ متر بر دقیقه	۲۱ متر بر دقیقه	٤	۸ متر بر دقیقه	۲۰ دقیقه
ششم	۸ متر بر دقیقه	۲۳/۵ متر بر دقیقه	٤	۸ متر بر دقیقه	۲۰ دقیقه
هفتم	۸ متر بر دقیقه	۲۳/۵ متر بر دقیقه	٤	۸ متر بر دقیقه	۲۰ دقیقه
هشتم	۱۰متر بر دقیقه	۲٦ متر بر دقیقه	٤	۱۰متر بردقیقه	۲۰ دقیقه

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

۲٤ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی، پس از یک ناشتای شبانه، آزمودنی‌ها به‌وسیله تزریق درون صفاقی کتامین [90 mg/kg] و زایلازین [10 mg/kg] بی‌هوش شده، سپس نمونه‌ی خونی، مستقیم از قلب آنها جمع‌آوری و جداسازی سرم با سانتریفیوژ کردن در (4 min 3000g) انجام شد، همچنین بافت کبد بلافاصله پس از شست و شو در سرم فیزیولوژیک، در ازت مایع منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی در فریزر ۸۰- نگه‌داری شد.

در این مطالعه به‌منظور بررسی تغییرات بیان ژن لیپازین از تکنیک qRT-PCR استفاده شد. بدین منظور ابتدا RNA بافت کبد استخراج شد و سپس در طی مراحلی به‌نام Dnase I treatment، با Dnase I تیمار شد (در این روش درشرایط وجود DNA اضافی در نمونه، DNA حذف می‌شود.) در نهایت cDNA ساخته شد و cDNA سنتز شده برای لیپازین با ٤۰ میکرو لیتر Rans & Dnase –free water رقیق شد ۱/۵ میکرولیتر از هریک از رقت‌ها به همراه ۷/۵ میکرولیتر Master Mix تولیدی ampliqon (دانمارک) و ۱ میکرولیتر از پرایمرها Forward و ۱ میکرولیتر از پرایمر backward در ٤ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز (Nuclease –free Water) برای رسیدن به حجم نهایی ۱۵میکرولیتر به خوبی حل و مخلوط شد. تمام واکنش‌ها به صورت دوتایی انجام شد. درنهایت میکروتیوپ‌ها در محل مخصوص خود در دستگاه قرار داده شدند و واکنش‌های تکثیر در طی ٤۰ سیکل براساس دستورالعمل سازنده کیت انجام شد. از کیت miRNeasy Mini Kit (Qiagen) ساخت کشور آلمان به منظور استخراج بافت و از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit برای سنتز cDNA استفاده شد. کیت اندازگیری گلوکز پلاسما ویژه رت Ultra-Sensitive Rat Insulin ELISA Kit, USA و سنجش گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز و به‌وسیله کیت تشخیص کمی گلوکز پلاسما شرکت پارس آزمون با حساسیت ۵ میلی گرم در دسی لیتر انجام شد. پرایمرهای لیپازین و GAPDH توسط شرکت نیکا زیست ژن طراحی شد. لازم به ذکر است که از ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی برای نرمالیزه کردن واکنش استفاده شد.

برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ (۲ به توان منفیΔΔct) استفاده شد. در این فرمول اندازه‌های لازم از طریق مراحل زیر به‌دست آمد و در فرمول قرار داده شد و مقادیر fold change محاسبه گردید.

ΔCt = Ct (ژن هدف) – Ct (مرجع)

$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ (نمونه تجربی) - ΔCt (نمونه کنترل)

میزان تغییرات بیان نسبت به گروه کنترل= $2^{-\Delta\Delta Ct}$

تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارSPSS.19 و در سطح معناداری P<۰/۰۵ انجام شد. در بخش آمار استنباطی، آزمون کولموگروف اسمیرنوف (K-S) برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه استفاده شد، همچنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven سنجیده شد. پس از اثبات طبیعی بودن داده‌ها، جهت تعیین معنادار بودن اختلاف بین متغیرها در دو گروه از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One Wey Anova) و جهت تعیین جایگاه معناداری از آزمون تعقیبی LSD و سپس برای تعیین میزان همبستگی بین بیان ژن لیپازین و شاخص مقاومت به انسولین از آزمون همبستگی پیرسون، استفاده شد.

یافته‌ها

یافته‌های تحقیق در جدول شماره‌ی ۳ تا ۵ و نمودار ۱ آمده است. نتایج تحقیق نشان داد که گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشته و در گروه تمرین HIIT نیز نسبت به گروه کنترل و تمرین استقامتی کاهش بیشتری به‌صورت معنادار مشاهده گردید (جدول ۳).

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

جدول ۳- بررسی میزان میانگین گلوکز پلاسما، انسولین پلاسما و شاخص HOMA در هر سه گروه

متغیر	C	E	HIIT
گلوکز (میلی گرم/ دسی‌لیتر)	۳۰۵/۵۰ ±۱۰/۳۰	۱۹۷/۸۳ ±۱۸/۰۳*	۱۳۳/۱۷ ±۱۳/۳۱*¥
انسولین (میلی گرم/ دسی‌لیتر)	۸/۵٦۵ ±۰/۱۱	۵/٦۹۳ ±۰/۰۸*	٤/٦٦۸ ±۰/۱۱*¥
شاخص HOMA-IR[1]	٦/٤۳۵ ±۰/۱۹	۲/۷۸۲ ±۰/۲٦*	۱/۵۳۰ ±۰/۱۵*¥

* نشانه‌ی معناداری نسبت به C، ¥ نشانه معناداری نسبت به E

اعداد به شکل میانگین± خطا استاندارد بیان شده‌اند.

در جدول ٤ مقایسه‌ی اختلاف‌های درون گروهی و بین گروهی مورد بررسی قرار گرفته است. اختلاف میانگین بین گروهی و درون گروهی از لحاظ آماری معنادار شده است. جهت تعیین معنادار بودن اختلاف بین متغیرها در سه گروه از آزمون آماری One Way ANOVA استفاده شد و نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین بیان ژن لیپازین در سه گروه پژوهش در رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو وجود دارد و همچنین از آزمون LSD جهت تعیین جایگاه معناداری بین گروه‌های کنترل و تمرین استفاده شد. در جدول ٤ و نمودار ۱ مشاهده می‌شود که هر دو نوع تمرین بر بیان ژن لیپازین نسبت به گروه کنترل از لحاظ آماری تأثیر معنادار داشته است، اما بین دو گروه تمرینی نسبت به یکدیگر هیچ تفاوت معناداری وجود نداشت ($p<0.05$).

جدول ۴- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و LSD برای بیان ژن لیپازین

گروه‌ها	جمع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	عدد معناداری	اختلاف میانگین گروه	خطای استاندارد
بین گروهی	۲/۹۱٦	۲	۱/٤۵۸	٤/۱۹۵	۰/۰۳٦	–	–
درون گروهی	۵/۲۱٤	۱۵	۰/۳٤۸	–	–	–	–
کل گروه‌ها	۸/۱۲۹	۱۷	–	–	–	–	–
C , E	–	–	–	–	۰/۰٤۲	-۰/۷۵٦٦٤*	۰/۳٤۰۳۸
E , H	–	–	–	–	۰/٦۲۷	-۰/۱٦۹۰۳	۰/۳٤۰۳۸
C , H	–	–	–	–	۰/۰۱٦	-۰/۹۲۵٦۷*	۰/۳٤۰۳۸

*نشان دهنده‌ی معنادار بودن اختلاف میانگین در سطح ۰/۰۵، C گروه کنترل، E گروه تمرین استقامتی، H گروه تمرین HIIT

همانطور که در جدول ۵ ملاحظه می‌شود. بین بیان ژن لیپازین و شاخص مقاومت به انسولین پس از یک دوره‌ی تمرین ورزشی از لحاظ آماری، همبستگی معنادار منفی دیده شد، که این میزان همبستگی برابر با ۰/۵٦۸-است ($p<0.05$).

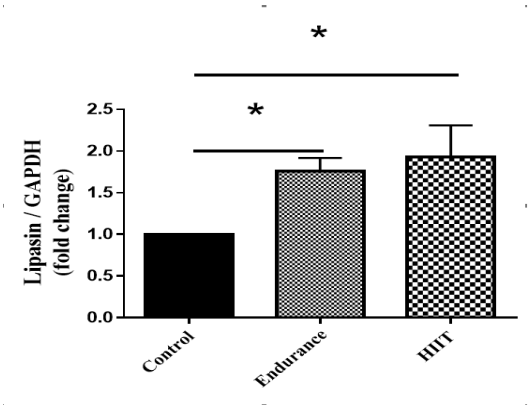
جدول ۵- نتایج آزمون همبستگی پیرسون

متغیر	میزان همبستگی با شاخص مقاومت به انسولین	عدد معناداری
لیپازین	-۰/۵٦۸*	۰/۰۱٤

*نشان دهنده‌ی معنادار بودن اختلاف میانگین در سطح ۰/۰۵

[1] شاخص مقاومت به انسولین

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]



نمودار۱- مقایسه سطوح معناداری بیان ژن لیپازین در گروه‌های تمرین هوازی استقامتی و HIIT و گروه کنترل

* نشانه‌ی معناداری نسبت به C

بحث

نتیجه‌ی پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین استقامتی و تناوبی شدید (HIIT) باعث کاهش گلوکز خون در رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل گردید که این کاهش، به‌نظر می‌رسد که اولین نشانه از درمان بیماری دیابت است. انسولین پلاسما و میزان شاخص نیز به‌صورت معنادار در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است ($p<0.05$). شاخص مقاومت به انسولین (HOMA) یک روش کاربردی برای اندازه‌گیری میزان مقاومت به انسولین است و در اثر کاهش میزان مقاومت به انسولین این شاخص هم کاهش می‌یابد، در نتیجه انسولین بیشتری ترشح می‌شود و بنابر یافته‌های پژوهش‌های اخیر، ترشح بیشتر انسولین هم خود محرکی برای فعال شدن ژن لیپازین و یا بیش‌بیانی این ژن در کبد است [۱۸].

پژوهشی به بیان ژن لیپازین در رت‌های دیابتی پرداخته است و نتایج این تحقیق بر روی رت‌ها نشان داه که بیان لیپازین/ بتاتروفین در بافت کبد و بافت چربی در بیماران دیابتی نوع دو نسبت به دیابتی‌های نوع یک بیشتر صورت گرفته و افزایش معنادار این ژن در رت‌ها مشاهده شده است [۱۹]. همچنین در پژوهشی که توسط Li و همکاران بر روی مقایسه‌ی بتاتروفین در رت‌های دیابتی نوع یک، نوع دو و رت‌های چاق دچار هیپرگلیسمی انجام شد، یافتند که بیان لیپازین/ بتاتروفین در بافت کبد و بافت چربی در دیابتی‌های نوع دو نسبت به دیابتی‌های نوع یک بیشتر انجام شده و افزایش معنادار این ژن در رت‌ها مشاهده شده است، که این نتیجه با نتایج حاصل از پژوهش حاضر، همسو است [۱۸].

برخی از پژوهش‌ها اثر درمانی این ژن را به ثبت رسانده‌اند و این اثر درمانی در بیماران دیابتی در اثر افزایش توده‌ی سلولی بتا در نتیجه‌ی بیش بیانی این ژن رخ خواهد داد. مطالعه‌ای شاهد بر این ادعا توسط Espes و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شد که در این مطالعه مشاهده شده، بتاتروفین در افراد دیابتی به‌عنوان افزایش دهنده‌ی تکثیر سلول‌های بتا، درمان‌گر این بیماری است [۲۰]. مطالعات همسو با این مسئله، پژوهش Chen و همکاران [۲۱] و مطالعاتی است که Ahnfelt-Ronne و همکاران [۲۲]، Li و همکاران [۱۸]، Mohebbi و همکاران [۲۳] انجام داده اند.

Yi و همکاران، در سال ۲۰۱۳ پژوهشی بر روی هورمون بتاتروفین، انجام دادند. نتایج نشان داد که بیان بتاتروفین در کبد، تکثیر سلول‌های بتا را افزایش می‌دهد و باعث توسعه‌ی توده‌ی سلولی بتا شده و تحمل گلوکز را بهبود می‌بخشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد، درمان با بتاتروفین می‌تواند باعث جایگزین شدن تعدادی از سلول‌های تولیدکننده‌ی انسولین به‌جای تزریق انسولین در دیابتی‌ها گردد [٦]. در پژوهشی که توسط Ahnfelt-Ronne که در سال ۲۰۱٤ نیز بر روی بتاتروفین سرم انجام شد، نشان داده شده که، بتاتروفین پتانسیل درمان دیابت نوع دو را خواهد داشت [۲۲]. Zhu و همکاران نیز در پژوهشی که بر درمان دیابت توسط بتاتروفین انجام شد. نشان دادند که سلول های بتا به عنوان پاسخی به تحریک بتاتروفین، که مکانیسم عمل بین کبد

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

و چربی با پانکراس را تعدیل می‌کند، شناخته شده است و راهی را برای درمان دیابت با این رویکرد ارائه می‌کند [۵].

پژوهش های مخالف با نتایج پژوهش حاضر توسط Cox و همکاران [۲٤]، Gusarova و همکاران [۲۵] بود که دلیل ناهمسو بودن این نتایج با نتایج مطالعه حاضر این است که مطالعات بر روی رت‌های سالم صورت گرفته است. در پژوهش‌های دیگر نیز که در سال ۲۰۱۷ توسط Cahova و همکاران بر روی بیان ژن لیپازین در بافت چربی سفید رت‌های ویستار دیابتی انجام گرفت، به عدم همبستگی لیپازین و شاخص HOMA دست یافتند [۲٦] که دلیل عدم همسو بودن این مطالعات در بافت‌های هدف بوده، زیرا مطالعه‌ی حاضر بر بافت کبد انجام شده و این پژوهش بر بافت چربی صورت گرفته است.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر تغییرات بیان ژن لیپازین با مداخله هشت هفته فعالیت ورزشی استقامتی و HIIT به‌عنوان یک روش درمانی برای رت‌های دیابتی نوع دو، با اندازه‌گیری انسولین پلاسما، گلوکز پلاسما، شاخص مقاومت به انسولین و بیان ژن لیپازین در کبد رت‌ها، مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد تمرینات استقامتی و HIIT هر دو بر بیان ژن لیپازین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری را داشته است و این افزایش با هدف افزایش روند بهبود رت‌های دیابتی تأثیر مثبت بر درمان رت‌ها داشته است و احتمالاً با تمرین مداوم بتوان تأثیر بهتری بر درمان این بیماری را مشاهده نمود. از این‌رو لازم است، تحقیقات آتی اثر انواع روش‌های تمرینی را در این زمینه بررسی نماید.

سپاسگزاری

با تشکر و سپاس بی نهایت از اساتید عزیزم، سرکار خانم دکتر نیکو خسروی و سرکار خانم دکتر دلفان و تشکر ویژه از جناب آقای دکتر ستار گرگانی به پاس تمام تلاش‌ها و زحمات.

مآخذ

1. Rashidlamir A, Alizadeh A, Ebrahimiatri A, Dastani M. The Effect of Four-Week Period of Aerobic Exercise with Cinnamon Consumption on Lipoprotein Indicates and Blood sugar in Diabetic Female Patients (Type 2). *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2013; 20(5):605-14.

۲. مهدوی، علیرضا (۱۳۹۸)، آمار دیابت در ایران، سایت تابناک، قابل مشاهده در آدرس:
https://www.tabnak.ir/fa/news/926303/آمار دیابت در ایران

۳. موسوی نژاد، زهرا، تأثیر دود سیگار بر روی بیماری دیابت، *ماهنامه رازی* ۱۳۸٦؛ سال هجدهم شماره ۹، صفحه ۲۹.

۴. گایتون و هال. *فیزیولوژی پزشکی گایتون ۲۰۱٦*. اول ۱۳۹٤، ترجمه‌ی ارجمند. ابولفضل. تهران. خجستگان. نشر بشری با همکاری نشر جامعه نگر. ص ۱۲۸۰ تا ۱۲۸۹

5. Zhu JZ, Yu CH, Li YM. Betatrophin provides a new insight into diabetes treatment and lipid metabolism (Review). *Biomedical reports* 2014; 2(4):447-51.

6. Yi P, Park JS, Melton DA. Betatrophin: a hormone that controls pancreatic beta cell proliferation. *Cell* 2013; 153(4):747-58.

7. Fu Z, Berhane F, Fite A, Seyoum B, Abou-Samra AB, Zhang R. Elevated circulating lipasin/betatrophin in human type 2 diabetes and obesity. *Scientific reports* 2014; 4:5013.

8. Zhang R, Abou-Samra AB. A dual role of lipasin (betatrophin) in lipid metabolism and glucose homeostasis: consensus and controversy. *Cardiovascular diabetology* 2014; 13(1):133.

9. Gomez-Ambrosi J, Pascual E, Catalan V, Rodriguez A, Ramirez B, Silva C, et al. Circulating betatrophin concentrations are decreased in human obesity and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99(10):E2004-9.

۱۰. لئوتولتز، برین سی. *ورزش و درمان بیماری*. ۱۳۸۹، ترجمه هزاوه‌ای، محمد مهدی. ترکمان، علی.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

۱۱. عباس صارمی. تمرینات ورزشی و دیابت ملیتوس نوع ۲: مروری بر شواهد. *سلول و بافت* ۱۳۹۰؛ دوره ۲ شماره ۳؛ از صفحه ۱۷۱ تا ۱۸۱.

12. Shahrjerd S, Shavandi N, Sheikh-Hoseini R, Shahrjerd S. The effect of strengthening and endurance training on metabolic factors, quality of life and mental health in women with type Π diabetes. *Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences* 2010; 12(3):85-93

۱۳. زینب السادات موسوی نژاد، ز؛ رحیمی، ا؛ عمرانی، غ. تأثیر ۱۲ هفته تمرین هوازی، مقاومتی و ترکیب دو نوع تمرین بر میزان قند خون و عوامل خطرساز بیماری قلبی- عروقی در بیماران دیابتی نوع ۲. *ششمین همایش ملی دانشجویان تربیت بدنی و علوم ورزشی ایران*: پژوهشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، ۱۳۹۰.

14. Zanuso S, Jimenez A, Pugliese G, Corigliano G, Balducci S. Exercise for the management of type 2 diabetes: a review of the evidence. *Acta diabetologica* 2010; 47(1):15-22

15. Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovascular diabetology* 2011;10(1):12

16. Abu-Farha M, Sriraman D, Cherian P, AlKhairi I, Elkum N, Behbehani K, et al. Circulating ANGPTL8/Betatrophin Is Increased in Obesity and Reduced after Exercise Training. *PLoS One* 2016; 11(1):e0147367.

17. HØydal, Morten A., Ulrik WislØff, Ole J. Kemi, and Oyvind Ellingsen. "Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: partical implications for exercise training." *European journal of Cardiovascular preventation & Rehabilitation* 2007; 14(6): 753-760.

18. Li E, Nakata M, Shinozaki A, Yang Y, Zhang B, Yada T. Betatrophin expression is promoted in obese hyperinsulinemic type 2 but not type 1 diabetic mice. *Endocr J* 2016; 63(7):611-9.

19. Zhang R. Lipasin, a novel nutritionally-regulated liver-enriched factor that regulates serum triglyceride levels. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 424(4):786-92.

20. Espes D, Martinell M, Liljebäck H, Carlsson P-O. Betatrophin in diabetes mellitus: the epidemiological evidence in humans. *Current diabetes reports* 2015; 15(12):104.

21. Chen J, Chen S, Huang P, Meng X-L, Clayton S, Shen J-S, et al. In vivo targeted delivery of ANGPTL8 gene for beta cell regeneration in rats. *Diabetologia* 2015; 58(5):1036-44.

22. Ahnfelt-Ronne J, Madsen OD. Betatrophin. *Islets* 2014; 6(2):e28686.

23. Mohebbi H, Rohani H, Hassan-nia S, Pirooznia N. The Effect of Obesity and Endurance Training-induced Weight Loss on UCP3 mRNA Expression in C57BL/6 MICE. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2013; 15(3):311-21

24. Cox AR, Lam CJ, Bonnyman CW, Chavez J, Rios JS, Kushner JA. Angiopoietin-like protein 8 (ANGPTL8)/betatrophin overexpression does not increase beta cell proliferation in mice. *Diabetologia* 2015; 58(7):1523-31.

25. Gusarova V, Alexa CA, Na E, Stevis PE, Xin Y, Bonner-Weir S, et al. ANGPTL8/betatrophin does not control pancreatic beta cell expansion. *Cell* 2014; 159(3):6916.

26. Cahová M, Habart D, Olejár T, Berková Z, Papáčková Z, Daňková H, et al. Lipasin/betatrophin is differentially expressed in liver and white adipose tissue without association with insulin resistance in Wistar and Goto-Kakizaki rats. *Physiological research* 2017; 66(2).

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]

THE EFFECT OF 8 WEEKS OF HIGH INTENSITY INTERVAL AND ENDURANCE TRAINING ON LIPASIN GENE EXPRESSION IN RATS WITH TYPE 2 DIABETES

Sepideh Salehi[*1], Niko Khosravi[1], Maryam Delfan[1]

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Al-Zahra University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: The prevalence of type 2 diabetes is rapidly increasing in the world. As a result of this disease, long-term insulin resistance develops, as a result of which pancreatic beta cells are destroyed and disappear, as a result insulin is not released. Recently, a protein called lipasin, which is responsible for signaling the liver to beta cells, has been discovered, and previous reports have shown that lipasin/betatrophin increases pancreatic β cell proliferation. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of high intensity interval training (HIIT) and endurance training on lipasin gene expression in rats with type 2 diabetes.

Methods: The study was performed on 25 Wistar rats with a mean weight of 160±10 g and age of 8 weeks. After induction of diabetes, the rats were randomly divided into three groups of 6: control and endurance and HIIT. And exercise was performed for eight weeks (5 sessions per week). QRT-PCR technique was used to evaluate changes in hepatic lipasin gene expression.

Results: The present study showed that after eight weeks of endurance training and HIIT, the expression of lipasin gene in the liver of rats in the training group increased significantly compared to the control group (P = 0.037); Also, a significant negative correlation was observed between lipasin gene expression and insulin resistance index in the exercise group compared to the control group (r = -0.605, P = 0.037).

Conclusion: It seems that performing eight weeks of endurance training and HIIT, by increasing the expression of lipasin gene can increase beta cells in diabetic patients and may be an effective non-pharmacological intervention to reduce the symptoms of this disease.

Keywords: Type 2 Diabetes, Lipasin Gene Expression, Insulin Resistance, High Intensity Interval Training, Endurance Training

* Al-Zahra University, Deh Vanak St., Tehran, Tel: 02188044040 - 09182688361, Postal code: 1993893973, Fax: 02188035187, Email: Salehi_s24@yahoo.com

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-24]