

اثر تمرین هوازی و کپسایسین بر بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پُرچرب

عمار راشته^۱، احمد عبدی^{۱*}

چکیده

مقدمه: شواهد نشان می‌دهد که رژیم غذایی پُرچرب (HFD) باعث هیپرانسولینی و اختلال در عملکرد جزایر پانکراس همراه با مقاومت به انسولین در بافت چربی می‌شود. هدف از پژوهش حاضر ارزیابی اثر تمرین هوازی همراه با کپسایسین بر بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس موش‌های HFD بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار به مدت ۸ هفته با رژیم غذایی نرمال (ND، n=۸) و رژیم غذایی پُرچرب (HFD) (n=۳۲) تغذیه شدند. بعد از هشت هفته همه موش‌ها به ۵ گروه: رژیم غذایی نرمال (ND)، رژیم غذایی پُرچرب (HFD)، رژیم غذایی پُرچرب-تمرین (HFDT)، رژیم غذایی پُرچرب-کپسایسین (HFDCap) و رژیم غذایی پُرچرب-تمرین-کپسایسین (HFDTCap) تقسیم شدند. گروه‌های تمرین به مدت هشت هفته برنامه‌ی دویدن هوازی با شدت متوسط (۶۰-۵۰٪ VO₂max، ۱۵-۲۵ متر/دقیقه، ۶۰-۳۰ دقیقه/روز، پنج روز/هفته) را روی تردمیل انجام دادند. کپسایسین (۴ mg/kg/day) یک بار در روز به صورت خوراکی با گاوآژ خورانده شد. داده‌ها با استفاده از ANOVA در سطح معناداری $P < ۰/۰۵$ آزمون شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیان Pdx1 و GLUT2 در گروه‌های HFDT (به ترتیب $P=۰/۰۰۲$ و $P=۰/۰۰۳$)، HFDCap (به ترتیب $P=۰/۰۲۲$ و $P=۰/۰۲۶$) و HFDTCap (به ترتیب $P=۰/۰۰۰$ و $P=۰/۰۰۰$) افزایش معنی‌داری داشت. همچنین افزایش معنی‌داری در بیان Pdx1 و GLUT2 در گروه HFDTCap نسبت به HFDCap (به ترتیب $P=۰/۰۳۷$ و $P=۰/۰۴۴$) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که HFD باعث اختلال در عملکرد سلول‌های β پانکراس شده و تمرین هوازی به تنهایی و همراه با کپسایسین با افزایش بیان Pdx1 و GLUT2، احتمالاً می‌تواند عملکرد سلول‌های جزایر را بهبود ببخشد.

واژگان کلیدی: چاقی، فعالیت ورزشی، عملکرد پانکراس، گیاه دارویی

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

***نشانی:** آمل، خیابان طالب آملی، دریای ۲۳، هشتم شمالی. کد پستی: ۶۶۴۵۷۱-۶۱۷۸، تلفن: ۰۱۱۴۳۲۱۷۱۲۶، نمابر: ۰۱۱۴۳۲۱۷۰۰۹، پست الکترونیک: a.abdi58@gmail.com

مقدمه

رژیم غذایی پُرچرب با افزایش مقاومت به انسولین همراه بوده [۱] و منجر به ترشح ناکافی انسولین در اثر پیری سلول‌های β و در نهایت منجر به دیابت نوع دو می‌شود [۲]. افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به دنبال رژیم غذایی پُرچرب می‌تواند باعث پیری سلولی در موش‌ها شود [۲]. گزارش شده که p38 MAPK که یکی از مولکول‌های مهم در فرآیند پیری سلولی در انسان‌ها و حیوانات است، تحت تأثیر ROS قرار می‌گیرد [۳]. علاوه بر این، نشان داده شده که استرس اکسیداتیو باعث افزایش بیان p21 (به‌عنوان مهارکننده کیناز وابسته به سیکلین -1، در فرآیند پیری سلولی) سلول‌های جزایر موش‌های دیابتی با رژیم غذایی پُرچرب می‌شود [۴]. به دنبال پیری سلولی ناشی از رژیم غذایی پُرچرب، تکثیر سلول‌های β به‌طور قابل توجهی کاهش یافته و به دنبال آن دیابت نوع دو رخ می‌دهد [۲]. پانکراس به میزان زیادی در تنظیم متابولیسم مواد مغذی درگیر است. نشان داده شده که عدم تنظیم سلول‌های β در پانکراس باعث ایجاد شرایط پاتولوژیک مختلف درگیر در متابولیسم مواد مغذی می‌شود. فاکتورهای مختلفی بر تمایز سلول‌ها به سلول‌های β در پانکراس تأثیر گذار است. از جمله این فاکتورها می‌توان به Ngn3⁺، pax4⁺، pax6⁺، MafA⁺ و Pdx1⁺ اشاره کرد [۵]. پروتئین Pdx1 یک فاکتور رونویسی است که در تکوین پانکراس و تنظیم بیان ژن انسولین نقش کلیدی دارد. پروتئین Pdx1 که با نام‌های IPX، IDX-1 و STF-1 نیز شناخته می‌شود، یک فاکتور رونویسی است که تنظیم‌کننده اصلی تکوین سلول‌های پانکراتیک و همچنین عملکرد سلول‌های جزایر^۸ است. Pdx1 در تنظیم بیان ژن انسولین و چندین ژن مربوط به سلول‌های جزایر نقش اساسی دارد. موقعیت ژن بر روی کروموزوم ۱۳ انسان قرار گرفته است [۶]. مطالعات قبلی نشان داده که چاقی با افزایش اختلال در متابولیسم گلوکز همراه است [۷]. علاوه بر این عدم

تحمل گلوکز و اختلال در سلول‌های β از خصوصیات پاتوژنز اختلال در متابولیسم گلوکز است. افزایش قند خون و عدم تحمل گلوکز با بهبود عملکرد ناقل‌های گلوکز (مثل GLUT2^۹) و GLUT4 سرکوب می‌شود و اعضای این خانواده برای کنترل قند خون ضروری است [۸، ۹]. Kahn و Herman (۲۰۰۶) گزارش دادند که انتقال گلوکزی که در سلول‌های β پانکراس، عضلات اسکلتی، بافت چربی و مغز رخ می‌دهد، برای هموستاز گلوکز مورد نیاز است [۱۰]. GLUT2 در سلول‌های β پانکراس برای تحریک تحمل گلوکز و ترشح انسولین مورد نیاز بوده، که هر دو نقش آن در موش‌های مدل دیابتی کاهش می‌یابد [۱۱].

تمرین استقامتی در بیماران دیابتی و جوندگان مدل دیابتی باعث بهبود حساسیت به انسولین شده و همچنین برای عملکرد پانکراس مفید است [۱۲، ۱۳]. نشان داده شده که تمرین هوازی با افزایش محتوی میتوکندری عضله اسکلتی و آنزیم‌های اکسیداتیو، باعث افزایش اکسیداسیون گلوکز و اسیدهای چرب و افزایش بیان پروتئین‌های درگیر در سیگنالینگ انسولین می‌شود [۱۴]. همچنین تمرین طولانی مدت با کاهش تجمع گلوکز و چربی، سمیت گلوکز و چربی را در سلول‌های β پانکراس ناشی از افزایش قند خون و چربی خون کاهش داده و همچنین می‌تواند التهاب و استرس اکسیداتیو را در پانکراس کاهش دهد [۱۵]. کاهش قند خون که به دنبال تمرین ورزشی رخ می‌دهد، باعث کاهش اثرات مخرب گلوکز در سلول‌های پانکراس شده و باعث بهبود عملکرد و بازسازی پانکراس می‌شود [۱۳]. نشان داده شده که تمرین روی ترمیم در موش‌های جوان با افزایش ترشح انسولین و همچنین افزایش میزان سلول‌های β همراه است [۱۲، ۱۳]. با این وجود در پژوهشی نشان داده شد که تمرین ورزشی تأثیر بر عملکرد سلول‌های β ندارد [۱۶]. علی‌رغم همه‌ی این موارد، به‌نظر تمرین روزانه برای جلوگیری از چاقی و طبیعی شدن شاخص‌های متابولیکی در موش‌های صحرایی مناسب است [۱۷]. علاوه بر این، نشان داده شده که کپسایسین^{۱۰} نیز به‌عنوان یک ماده‌ی ضد چاقی مطرح بوده و در درمان بسیاری از بیماری‌ها نقش دارد. کپسایسین اثر محافظتی بر

¹ Reactive oxygen species

² Cyclin-dependent kinase inhibitor

³ Neurogenin 3

⁴ Paired box 4

⁵ Paired box 6

⁶ MAF bZIP transcription factor A

⁷ Pancreatic and duodenal homeobox 1

⁸ Islet

⁹ Glucose transporter 2

¹⁰ Capsaisin

مکمل، مؤنث بودن و آسیب حین اجرا تمرین بود. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر ۵ هفته‌ای با وزن $9/41 \pm 147/68$ از نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهیه شد و به آزمایشگاه منتقل شدند. حیوانات مورد آزمایش در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط $22 \pm 1/4$ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت $55/6 \pm 4$ درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه‌ی موش دسترسی آزاد داشتند.

روش القاء چاقی

بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش‌ها به دو گروه رژیم غذایی نرمال (ND، n=۸) و رژیم غذایی پُرچرب (HFD، n=۳۲) تقسیم شدند. موش‌های گروه ND به مدت هشت با غذایی استاندارد (۲۳ درصد پروتئین، ۶۵ درصد کربوهیدرات و ۱۲ درصد چربی) تغذیه شدند. در همین مدت موش‌های گروه HFD از رژیم غذایی پُرچرب استفاده کردند. غذای پُرچرب شامل ۱۷ درصد پروتئین، ۴۳ درصد کربوهیدرات و ۴۰ درصد چربی بود. غذای استاندارد و غذای پُرچرب با هماهنگی مؤسسه‌ی پاستور تهیه شد. بعد از هشت هفته همه موش‌ها به ۵ گروه: رژیم غذایی نرمال (ND)، پُرچرب (HFD)، پُرچرب-تمرین (HFDT)، پُرچرب-کپسایسین (HFDCap) و پُرچرب-تمرین-کپسایسین (HFDTCap) تقسیم شدند. در ادامه‌ی پژوهش، رژیم غذایی پُرچرب به رژیم غذایی نرمال تغییر یافت.

پروتکل تمرینی

قبل از شروع تمرین اصلی و به‌منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط تردمیل، موش‌ها در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه‌ی فعالیت ورزشی هوازی شامل دویدن روی تردمیل (شرکت تجهیز گستر امید ایرانیان، ساخت ایران) با شیب صفر درصد به مدت هشت هفته و پنج روز هفته بود. در هفته‌ی اول موش‌ها یک برنامه‌ی تمرینی هوازی فزاینده را روی تردمیل با شدت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه انجام دادند. بعد از آن شدت فعالیت از ۱۵ متر در دقیقه به ۲۵ متر در دقیقه در هفته هفتم رسیده و زمان فعالیت

پانکراتیک حاد ناشی از زیلازین و کتامین^۱ در موش‌های صحرایی دارد [۱۸]. همچنین نشان داده شد که کپسایسین باعث مهار سرطان پانکراس می‌شود [۱۹]. در مطالعه‌ی دیگر کپسایسین باعث تعدیل گیرنده X کبدی^۲ و Pdx1 پانکراس با تنظیم بیان گلوکوکیناز^۳، GLUT2، فسفوانول پیرووات کربوکسی کیناز^۴ و گلوکز ۶ فسفات^۵ شده و منجر به کاهش سطح گلوکز خون در موش‌های دیابتی نوع یک شد [۲۰].

با وجود نقش فعالیت ورزشی هوازی و کپسایسین در کنترل چاقی و بی‌نظمی متابولیکی، مطالعه‌ی اندکی در مورد اثر این دو بر بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس موش‌های چاق وجود دارد. همچنین اثر هم‌زمان تمرین و کپسایسین بر این متغیرها مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین این پژوهش در نظر دارد تا اثر هم‌زمان تمرین هوازی و کپسایسین را بر بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس موش‌های چاق مورد بررسی قرار دهد.

روش‌ها

نمونه و نوع پژوهش

این پژوهش از نوع تجربی بوده و همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. همچنین این پژوهش با تأیید کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت با کد IR.IAU.M.REC.1398.015 به تصویب رسیده است. حجم نمونه‌ی مطالعه‌ی حاضر براساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی‌داری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵٪ (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم‌افزار Medcalc 18.2.1 (۸ سر در هر گروه) تعیین شد. معیار انتخاب به مطالعه‌ی حاضر شامل نر بودن موش‌ها و قرار گرفتن در محدوده‌ی وزنی مورد نظر بود. معیار خروج از مطالعه عدم اجرای پروتکل تمرینی و مصرف نکردن

¹ Xylazine and Ketamine

² Liver X receptor

³ Glucokinase

⁴ Phosphoenolpyruvate carboxykinase

⁵ Glucose 6-phosphate

کم، همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی نمودن موش‌ها به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد.

نیز به ۶۰ دقیقه افزایش یافت (جدول ۱). باتوجه به منع استفاده شده، این شدت تمرین معادل ۶۰-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی (VO₂max) در موش‌های چاق بود [۲۱]. به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان)، استفاده شد، بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ

جدول ۱- پروتکل تمرین [۲۱]

هفته‌ی اول	هفته‌ی دوم	هفته‌ی سوم	هفته‌ی چهارم	هفته‌ی پنجم	هفته‌ی ششم	هفته‌ی هفتم	هفته‌ی هشتم
۱۵	۱۶	۱۸	۲۰	۲۱	۲۳	۲۵	۲۵
۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۰

نحوه‌ی تهیه و مصرف

کپسایسین (با خلوص ۹۵ درصد) از شرکت سیگما-آلدریج (Sigma-Aldrich Co., LLC) خریداری شد. محلول کپسایسین (۴ mg/ml) در سالین ۰/۹ درصد آماده شد. کپسایسین در سالین به خوبی حل نمی‌شود، اما سوسپانسیون به دست می‌آید. در تمام موارد قبل از استفاده از محلول برای اطمینان از این که ترکیبات در حالت معلق وجود دارد، به شدت مخلوط می‌شد. این ترکیب به صورت خوراکی با گاوآژ یک بار در روز با دوز ۴ mg/kg/day به مدت هشت هفته در صبح پس از شروع چرخه‌ی روشنایی استفاده می‌شد [۲۲]. به دیگر گروه‌های نیز به همان میزان سالین گاوآژ شد.

روش بافت برداری و اندازه‌گیری متغیرها

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی، به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین و مکمل) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی، وزن‌کشی و شست و شو با سالین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع متقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز شده و در ساعت ۱۱:۳۰ دقیقه به پایان می‌رسید. برای بررسی بیان Pdx1 و GLUT2 از روش Real Time PCR استفاده شد. توالی پرایمرهای Pdx1 و GLUT2 همراه با ژن کنترل در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- الگوی پرایمر Pdx1 و GLUT2

Genes	Sequence (5' → 3')
β-actin forward	5'-ACA AAG CTG TTC AGT GTC TCC A-3'
β-actin reverse	5'-CTC CGT TTC CAG AAT ACA CAC A-3'
Pdx1 forward	5'-GTG ATG TTG AAC TTG ACC GAG A-3'
Pdx1 reverse	5'-GGT CCC GCT ACT ACG TTT CTT A-3'
GLUT2 forward	5'-TCA GAA GAC AGG GTA CAG CGA-3'
GLUT2 reverse	5'-TCC AGT GCC AGC GTA TAA GT-3'

تحلیل آماری

استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۱ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون، برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی

یافته‌ها

گروه HFDTCap ($P=0/037$) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۳، نمودار ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان +تغییرات بیان GLUT2 بافت پانکراس بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($P=0/000$, $=22/657$) (جدول ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد بین گروه‌های ND با HFD ($P=0/000$), HFDT ($P=0/000$) و HFDCap ($P=0/036$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین گروه‌های HFD با گروه‌های HFDT ($P=0/003$), HFDCap ($P=0/026$) و HFDTCap ($P=0/000$)؛ و گروه HFDTap با گروه HFDTCap ($P=0/044$) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۳، نمودار ۲).

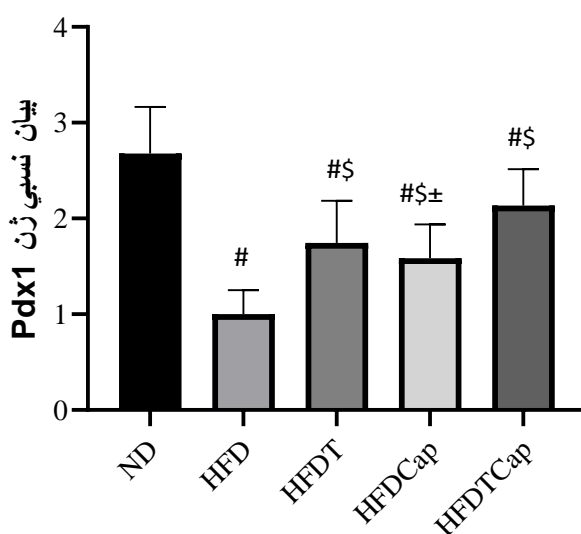
در جدول ۳ میانگین و نتایج آزمون بین گروهی مربوط به وزن گروه‌ها در هفته‌های مختلف ارائه شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان Pdx1 بافت پانکراس بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($P=0/000$, $=23/164$) (جدول ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد بین گروه‌های ND با HFD ($P=0/000$), HFDT ($P=0/000$) و HFDCap ($P=0/000$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین گروه‌های HFD با گروه‌های HFDT ($P=0/002$), HFDCap ($P=0/002$) و HFDTCap ($P=0/039$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین گروه‌های HFD با گروه‌های HFDTCap ($P=0/000$)؛ و گروه HFDCap با

جدول ۳- نتایج آمار توصیفی و استنباطی مربوط به وزن در گروه‌های مختلف پژوه

P	گروه					وزن (گرم)
	HFDTCap	HFDCap	HFDT	HFD	ND	
۰/۳۹۴	۱۵۱/۲۲±۸/۹۸	۱۴۸/۶۷±۱۱/۱۹	۱۴۹/۱۱±۶/۱۳	۱۴۳/۲۲±۷/۲۵	۱۴۵/۳۳±۱۱/۸۹	پیش‌آزمون
۰/۰۰۰*	#۳۷۴/۸۹±۲۶/۲۵	#۳۶۲/۸۹±۲۷/۱۲	#۳۷۰/۵۶±۳۷/۰۱	#۳۳۹/۱۱±۳۴/۴۶	۲۷۰/۱۱±۲۳/۹۶	دوره‌ی القای چاقی
۰/۰۰۰*	#۴۸۲/۲۲±۵۰/۳	#۴۸۲/۸۹±۵۱/۶	#۴۶۹/۵۶±۳۷/۵	#۴۵۶/۱۱±۸۱/۸	۲۹۷/۵۶±۳۰/۰۰	هفته هشتم
۰/۰۰۰*	#\$۴۲۵/۵۶±۳۲/۷۸	#۴۵۸/۷۸±۴۳/۴۴	#۴۵۴±۳۵/۵۵	#۴۷۳/۸۹±۲۹/۲۶	۳۱۳/۸۹±۳۰/۲۸	هفته چهارم
۰/۰۰۰*	#\$۳۹۶/۶۷±۳۲/۱	#\$۴۳۳/۶۷±۴۰/۱	#\$۴۲۹/۷±۳۲/۷	#۴۷۹/۴۴±۲۹/۳	۳۲۳/۵۶±۳۲/۹۴	پس‌آزمون

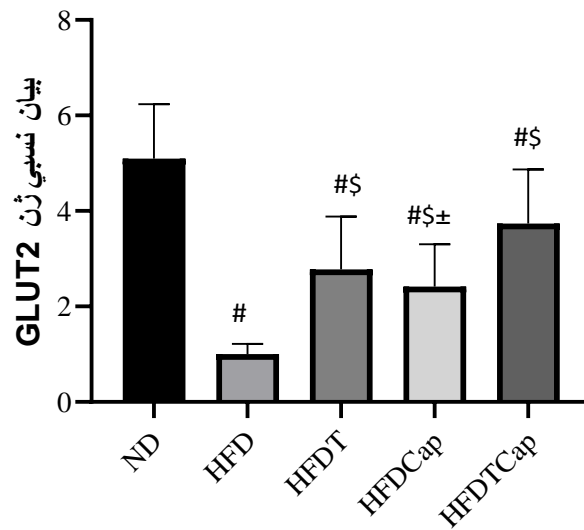
* تفاوت بین گروهی، # تفاوت با ND، \$ تفاوت با گروه HFD، ± تفاوت با گروه HFDTCap

تفاوت با ND، \$ تفاوت با گروه HFD، ± تفاوت با گروه HFDCap در سطح $P \leq 0/05$



نمودار ۱- تغییرات بیان نسبی Pdx1 بافت پانکراس در گروه‌های مختلف

تفاوت با ND، \$ تفاوت با گروه HFD، ± تفاوت با گروه HFDTCap



نمودار ۲- تغییرات بیان نسبی GLUT2 بافت پانکراس در گروه‌های مختلف
تفاوت با ND، \$ تفاوت با گروه HFD، ± تفاوت با گروه HFDT+Cap

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر نشان داده شد که HFD باعث کاهش معنی‌دار بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس شده است. هم راستا با پژوهش حاضر Li و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که دیابت ناشی از HFD به همراه تزریق استرپتوزوسین (STZ)، باعث کاهش معنی‌داری در بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس شده است [۲۳]. Salimi و همکاران (۲۰۱۷) نیز در پژوهشی نشان دادند که HFD باعث کاهش GLUT2 همراه با کاهش انسولین پانکراس می‌شود [۲۴]. Pdx1 برای توسعه‌ی پانکراس و همچنین غدد درون‌ریز مهم است و هر گونه جهش یا فقدان Pdx1 باعث بیماری‌های متابولیکی می‌شود [۲۵]. نشان داده شده که رژیم غذایی پُرچرب باعث کاهش Pdx1 پانکراس شده و حساسیت سلول‌های β پانکراس شده و آپوپتوز را افزایش می‌دهد [۲۶]. Pdx1 با فعال کردن هم‌زمان ژن‌های ضروری برای هویت سلول‌های β ، نقش مهمی در این راستا ایفا می‌کند [۲۷]. به‌نظر می‌رسد استرس شبکه‌ی سارکوپلاسمی ناشی از HFD باعث فعال شدن SREBP-1² و کاهش Pdx1 شده و سلول‌های β را تخریب می‌کند [۲۸]. علاوه بر

این، نشان داده شده که رژیم غذایی پُرچرب می‌تواند باعث کاهش بیان گلوکوکیناز و افزایش میزان تولید ROS جزایر پانکراس شود، و از این‌رو باعث افزایش آپوپتوز در این سلول‌ها شود [۲۹]، احتمالاً از این مسیر باعث کاهش GLUT2 شده است [۲۴]. در این راستا، de Las و همکاران (۲۰۱۷) نیز نشان داده شد که HFD باعث کاهش بیان پروتئین GLUT2 بافت کبد در موش‌ها می‌شود [۳۰]. با این حال، در پژوهش حاضر هشت هفته تمرین هوازی توانست تأثیر منفی HFD را بر بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس بهبود بخشد. هم‌راستا با این پژوهش Sokhanvardastjerdi و همکاران (۲۰۲۰) در پژوهشی نشان دادند که تمرینات هوازی باعث افزایش بیان Pdx1 و GLUT2 بافت پانکراس موش‌های دیابتی می‌شود [۳۱]. همچنین Silva و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تمرین هوازی باعث بهبود عملکرد انسولین و گیرنده‌های انسولینی شده و از طرفی، باعث افزایش بیان GLUT2 بافت پانکراس شد [۳۲]. مطالعات متعددی نشان می‌دهد که میزان Pdx1 پانکراس به‌دنبال فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد [۳۳، ۱۳]. با این وجود Li و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که فعالیت ورزشی تأثیری بر Pdx1 پانکراس ندارد. به‌نظر می‌رسد یکی از مسیرهای افزایش Pdx1 در موش‌های با HFD به‌دنبال فعالیت ورزشی، از طریق افزایش

¹ streptozocin

² Sterol regulatory element-binding transcription factor 1

و GLUT2 مطالعات محدودی وجود دارد، با این وجود در خصوص اثر دیگر گیاهان بر این شاخص‌ها مطالعات محدودی وجود داشته که به آن پرداخته می‌شود. Ardeshiri و همکاران (۱۳۹۸) نشان دادند که مصرف خیار تلخ یا کارلا^{۱۱} در موش‌های صحرایی دیابتی با STZ باعث افزایش بیان Pdx1 پانکراس شد [۴۱]. در پژوهش دیگری نیز نشان داده شد که HFD باعث کاهش عملکرد سلول‌های β شده، اما مصرف جلبک قهوه‌ای^{۱۲} احتمالاً با افزایش GLUT2 پانکراس باعث بهبود سلول‌های β می‌شود [۴۲]. GLUT2 در سلول‌های هیپرتروفی شده جزایر پانکراس با میزان حساسیت گلوکز و تحریک ترشح انسولین ارتباط دارد. سازوکار بهبود عملکرد پانکراس با استفاده از جلبک قهوه‌ای از طریق تنظیم افزایشی GLUT2 در جزایر پانکراس، با تنظیم بیان Pdx1، هگزوکیناز ۱ و ۱۳۲ ارتباط دارد [۴۳]. نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده افزایش معنی‌داری Pdx1 و GLUT2 در گروه HFDCap نسبت به گروه HFDCap بود. اثر هم‌زمان تمرین هوازی و کپسایسین بر شاخص‌های Pdx1 و GLUT2 بررسی نشده است. با این وجود به نظر می‌رسد تمرین و کپسایسین با اثر هم‌افزایی که داشتند باعث بهبود عملکرد پانکراس می‌شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی به همراه مصرف کپسایسین با تغییراتی که در سطوح Pdx1 و GLUT2 به وجود آورد، روش مناسبی برای بهبود عملکرد سلول‌های پانکراس در حیوانات HFD باشد. همچنین با وجود افزایش در بیان Pdx1 و GLUT2 پانکراس به دنبال مصرف کپسایسین، این تغییرات معنی‌دار نشد. به نظر پژوهش‌های بیشتری در این زمینه لازم است.

سپاسگزاری

این پژوهش حاصل پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی و با حمایت مالی پژوهشگران انجام

فسفوریل‌اسیون Akt^۱ است. Park و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که فعالیت ورزشی باعث فسفوریل‌اسیون Akt شده و منجر به افزایش IRS2^۲ در سلول‌های جزایر پانکراس و همچنین هیپرپلازیای^۳ سلول‌های β شده و به دنبال آن باعث بهبود عملکرد مسیر IRS2-PDX-1 می‌شود [۳۳]. علاوه بر این، پژوهش‌ها نشان می‌دهد رونویسی GLUT2 نیز توسط Pdx1 تنظیم می‌شود [۳۴]. بیان Pdx1 منجر به القای GLUT2 شده، در حالی که سرکوب عملکرد Pdx1 در موش‌ها به‌طور انتخابی بیان GLUT2 را کاهش داده که نشان می‌دهد Pdx1 یکی از عوامل اصلی در تنظیم رونویسی GLUT2 است [۳۵، ۳۴]. از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش ۳۶/۳ درصدی در میزان Pdx1 و همچنین افزایش ۳۹/۹ درصدی در میزان GLUT2 به دنبال مصرف کپسایسین بود. مطالعات قبلی نشان می‌دهد HFD، با کاهش حساسیت به انسولین همراه بوده و عملکرد سلول‌های β در جزایر پانکراس کاهش یافته و منجر به تکثیر بیش از حد سلول‌های β و افزایش اندازه‌ی جزایر پانکراس شود [۳۶، ۳۷].

احتمالاً یکی از دلایل افزایش میزان Pdx1 و GLUT2 به دنبال مصرف کپسایسین ناشی از اثرات ضد التهابی این ماده است. در پژوهشی نشان داده شده که کپسازپین^۴ (یک آنالوگ مصنوعی کپسایسین) می‌تواند باعث کاهش NF- κ B^۵ و انسداد کانال TRPV1^۶ شده [۳۸]، و این تغییرات می‌تواند با مهار سیکلواکسیژناز^۷، NOs^۸ و IL-6^۹ [۳۹] باعث کاهش التهاب و بافت پانکراس شده و در نهایت بقا و عملکرد سلول‌های جزایر پانکراس را بهبود ببخشد. در همین راستا، Tsai و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که ریشه‌ی گیاه تونکات^{۱۰} نیز با افزایش بیان Pdx1 و افزایش تعداد سلول‌های β پانکراس باعث بهبود عملکرد سلول‌های جزایر پانکراس می‌شود [۴۰]. در خصوص اثر کپسایسین بر Pdx1

¹ Protein kinase B

² Insulin receptor substrate 2

³ Hyperplasia

⁴ capsazepine

⁵ Nuclear factor- κ B

⁶ Transient receptor potential vanilloid 1

⁷ Cyclooxygenase

⁸ Nitric Oxide Synthase

⁹ Interleukin 6

¹⁰ Longifolia jack

¹¹ Chartine

¹² Shige okamurae

¹³ Hexokinase 1 & 2

شده است. بدین وسیله، نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحدهای دانشگاهی اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تضاد منافی برای نویسندگان وجود ندارد.

مآخذ

- Choi SB, Jang JS, and Park S. Estrogen and exercise may enhance β -cell function and mass via insulin receptor substrate 2 induction in ovariectomized diabetic rats. *Endocrinology* 2005; 146(11): 4786-4794.
- Sone H, and Kagawa Y. Pancreatic beta cell senescence contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. *Diabetologia* 2005; 48(1): 58-67.
- Iwasa H, Han J, and Ishikawa F. Mitogen-activated protein kinase p38 defines the common senescence-signalling pathway. *Genes to Cells* 2003; 8(2): 131-144.
- Kaneto H, et al. Oxidative stress induces p21 expression in pancreatic islet cells: possible implication in beta-cell dysfunction. *Diabetologia* 1999; 42(9): 1093-1097.
- Barker JM. Type 1 diabetes-associated autoimmunity: natural history, genetic associations, and screening. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006; 91(4): 1210-1217.
- Feldman M, Friedman LS, and Brandt LJ. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease E-book: pathophysiology, diagnosis, management 2020: Elsevier.
- Wiegand S, et al. Impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus: a new field for pediatrics in Europe. *International Journal of Obesity* 2005; 29(2): S136-S142.
- Nishiumi S, et al. Green and black tea suppress hyperglycemia and insulin resistance by retaining the expression of glucose transporter 4 in muscle of high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Journal of agricultural and food chemistry* 2010; 58(24): 12916-12923.
- Yamashita Y, et al. Fermented tea improves glucose intolerance in mice by enhancing translocation of glucose transporter 4 in skeletal muscle. *Journal of agricultural and food chemistry* 2012; 60(45): 11366-11371.
- Herman MA, and Kahn BB. Glucose transport and sensing in the maintenance of glucose homeostasis and metabolic harmony. *The Journal of clinical investigation* 2006; 116(7): 1767-1775.
- Bonny C, et al. The loss of GLUT2 expression in the pancreatic β -cells of diabetic db/db mice is associated with an impaired DNA-binding activity of islet-specific trans-acting factors. *Molecular and cellular endocrinology* 1997; 135(1): 59-65.
- Park S, Hong SM, and Sung SR. Exendin-4 and exercise promotes β -cell function and mass through IRS2 induction in islets of diabetic rats. *Life sciences* 2008; 82(9-10): 503-511.
- Park S, et al. Exercise improves glucose homeostasis that has been impaired by a high-fat diet by potentiating pancreatic β -cell function and mass through IRS2 in diabetic rats. *Journal of applied physiology* 2007; 103(5): 1764-1771.
- Gordon JW, et al. Targeting skeletal muscle mitochondria to prevent type 2 diabetes in youth. *Biochemistry and cell biology* 2015; 93(5): 452-465.
- Teixeira-Lemos E, et al. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovascular diabetology* 2011; 10(1): 1-15.
- Moran TH, and Bi S. Hyperphagia and obesity of OLETF rats lacking CCK1 receptors: developmental aspects. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 2006; 48(5): 360-367.
- Miles JL, et al. Moderate daily exercise activates metabolic flexibility to prevent prenatally induced obesity. *Endocrinology* 2009; 150(1): 179-186.
- Schmidt RA, Schneider CJ, and Glomset J. Evidence for post-translational incorporation of a product of mevalonic acid into Swiss 3T3 cell proteins. *Journal of Biological Chemistry* 1984; 259(16): 10175-10180.
- Bai H, et al. Inhibition of chronic pancreatitis and pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) by capsaicin in LSL-Kras G12D/Pdx1-Cre mice. *Carcinogenesis* 2011; 32(11): 1689-1696.
- Zhang S, et al. Capsaicin reduces blood glucose by increasing insulin levels and glycogen content better than capsiate in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of agricultural and food chemistry* 2017; 65(11): 2323-2330.
- Rocha-Rodrigues S, et al. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life sciences* 2016; 165: 100-108.
- Mosqueda-Solís A, et al. Combination of capsaicin and hesperidin reduces the effectiveness of each compound to decrease the adipocyte size and to induce browning features in adipose tissue of western diet fed rats. *Journal of agricultural and food chemistry* 2018; 66(37): 9679-9689.

23. Li J, et al. Angiotensin-(1-7) improves Islet Function in a Rat Model of Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus by Up-regulating the Expression of Pdx1/Glut2. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets* 2020; PMID: 32679026
24. Salimi M, et al. High-fat diet with stress impaired islets' insulin secretion by reducing plasma estradiol and pancreatic GLUT2 protein levels in rats' proestrus phase. *J Physiol Pharmacol* 2016; 67: 653-66.
25. Yoon JW, et al. Virus-induced diabetes mellitus: isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *New England Journal of Medicine* 1979; 300(21): 1173-1179.
26. Sachdeva MM, et al. Pdx1 (MODY4) regulates pancreatic beta cell susceptibility to ER stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009; 106(45): 19090-19095.
27. Gao T, et al. Pdx1 maintains β cell identity and function by repressing an α cell program. *Cell metabolism* 2014; 19(2): 259-271.
28. Wang H, Kouri G, and Wollheim CB. ER stress and SREBP-1 activation are implicated in β -cell glucolipotoxicity. *Journal of cell science* 2005; 118(17): 3905-3915.
29. Pinilla L, et al. Regulation of serum leptin levels by gonadal function in rats. *European Journal of Endocrinology* 1999; 140(5): 468-473.
30. De Las Heras N, et al. Molecular factors involved in the hypolipidemic-and insulin-sensitizing effects of a ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extract in rats fed a high-fat diet. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2017; 42(2): 209-215.
31. Sokhanvardastjerdi S, et al. The Effect of 12 Weeks Aerobic Training on PDX-1 and GLUT2 Gene Expression in the Pancreatic Tissue of Type 2 Diabetic Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity* 2020; 12(2): 98-103.
32. Silva LLS, et al. Effects of Aerobic Exercise Protocol on Genes Related to Insulin Resistance and Inflammation in the Pancreas of ob/ob Mice with NAFLD. *Clinical and Experimental Gastroenterology* 2020; 13: 223.
33. Park S, et al. Chlorpromazine attenuates pancreatic β -cell function and mass through IRS2 degradation, while exercise partially reverses the attenuation. *Journal of Psychopharmacology* 2008; 22(5): 522-531.
34. Ahlgren U, et al. β -Cell-specific inactivation of the mouse *Ipf1/Pdx1* gene results in loss of the β -cell phenotype and maturity onset diabetes. *Genes & development* 1998; 12(12): 1763-1768.
35. Wang H, et al. Pdx1 level defines pancreatic gene expression pattern and cell lineage differentiation. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 276(27): 25279-25286.
36. Matveyenko AV, et al. Successful versus failed adaptation to high-fat diet-induced insulin resistance: The role of IAPP-induced β -cell endoplasmic reticulum stress. *Diabetes* 2009; 58(4): 906-916.
37. Butler AE, et al., β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52(1): 102-110.
38. Yang MH, et al. Pleiotropic pharmacological actions of capsazepine, a synthetic analogue of capsaicin, against various cancers and inflammatory diseases. *Molecules* 2019; 24(5): 995.
39. Ruan J, et al. Bioactive constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Molecules* 2019; 24(17): 3157.
40. Tsai CH, et al. The powdered root of *eurycoma longifolia* jack improves beta-cell number and pancreatic islet performance through *pdx1* induction and shows antihyperglycemic activity in db/db mice. *Nutrients* 2020; 12(7): 2111.
41. Ardeshiri M, and Zia Jahromi N. The effect of Chartine on expression of *Pdx1* gene in streptozotocin-induced diabetic rats. *Razi Journal of Medical Sciences* 2019; 26(6): 44-53.
42. Yang HW, et al. *Ishige okamurae* reduces blood glucose levels in high-fat diet mice and improves glucose metabolism in the skeletal muscle and pancreas. *Fisheries and Aquatic Sciences* 2020; 23(1): 1-9.
43. Frantz EDC, et al. Renin-angiotensin system blockers protect pancreatic islets against diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *PloS one* 2013; 8(7): e67192.

The Effect of Aerobic Exercise and Capsaicin on the Gene Expression of Pancreaticpdx1 and GLUT2 in Rats Fed High-Fat Diet

Ammar Rashed¹, Ahmad Abdi^{*2}

1. Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

ABSTRACT

Background: Evidence has suggested that high-fat diet (HFD) promote hyperinsulinemia and pancreatic islet dysfunction with insulin resistance in adipose tissue. The aim of the present study was to examine the effect of aerobic exercise and capsaicin on the gene expression of pancreaticPdx1 and GLUT2 in Rats HFD.

Methods: this experimental study, 40 male Wistar rats were fed a normal diet (ND, n = 8) or high-fat diet (HFD) (n = 32) for 8 weeks. After 8 weeks, all rats were divided into 5 groups: normal diet (ND), high-fat diet (HFD), high-fat diet-training (HFDT), high-fat diet-capsaicin (HFDCap), high-fat diet-training-capsaicin (HFDTCap). Training groups have performed a moderate intensity aerobic running program (60-50% VO₂max, at 15-25 m/min, 30-60 min/day, and 5 days/week) on a motor-driven treadmill for eight weeks. Capsaicin (4 mg/kg/day) were administered orally, by gavage, once a day. Data were analyzed using ANOVA at p<0.05.

Results: the results showed significant increase in expression of Pdx1 and GLUT2 in HFDT (p = 0.002 and p = 0.003, respectively), HFDCap (p = 0.022 and p = 0.026, respectively) and HFDTCap (p = 0.000 and p = 0.000, respectively) groups.

Conclusion: also, a significant increase in the expression of Pdx1 and GLUT2 was observed in the HFDTCap compared to the HFDCap (respectively P=0.037, and p=0.044).

The results showed that HFD impaired pancreatic beta cell function and that aerobic exercise alone and with capsaicin could significantly increase islet cell function by increasing Pdx1 and GLUT2 expression.

Keywords: Obesity, Exercise, Pancreatic function, Herb

* 8th North, 23 Darya, Taleb Amoli St, Amol, Postal code: 464571-46178, Phone: +9801143217126-+9809113001960, Fax: +9801143217009, E-mail: a.abdi58@gmail.com

