

## اثر تمرینات استقامتی با شدت متوسط بر تغییرات سطوح سرمی فاکتور مهارکننده ماکروفاژ و ارتباط آن با تغییرات گلبول سفید، گلوکز و انسولین پلاسما در زنان دیابتی نوع دو

سمیرا زندا، روح‌الله نیکویی<sup>۱</sup>، داریوش مفلحی<sup>۲</sup>

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان\*

۳. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۹

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین استقامتی بر تغییرات سطوح سرمی فاکتور مهارکننده ماکروفاژ و ارتباط آن با تغییرات گلبول سفید، گلوکز و انسولین پلاسما در زنان دیابتی نوع دو بود. بدین منظور، ۲۴ زن مبتلا به دیابت نوع دو مصرف‌کننده متفورمین (با میانگین سنی ۵۵±۶ سال؛ وزن ۷۳±۵/۱ کیلوگرم) به دو گروه ۱۲ نفری کنترل و تمرین تقسیم شدند. گروه تمرین هشت هفته تمرین استقامتی مشتمل بر دویدن با شدت ۵۵ تا ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب را به مدت ۴۰ تا ۶۰ دقیقه انجام داد. نمونه خونی نیز قبل از اجرای تمرین و ۷۲ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین جمع‌آوری شد. همچنین، غلظت گلوکز با روش گلوکز اکسیداز و غلظت فاکتور مهارکننده ماکروفاژ سرم و انسولین پلاسما با روش الیزا اندازه‌گیری گشت. برای مقایسه متغیرهای بین گروه‌ها نیز از آزمون آماری آنالیز کوواریانس استفاده شد و جهت بررسی ارتباط بین تغییرات گلبول سفید، گلوکز و انسولین پلاسما با تغییرات سطوح سرمی فاکتور مهارکننده ماکروفاژ و تعیین اشتراک احتمالی این عوامل در تغییرات فاکتور مهارکننده ماکروفاژ سرم، آزمون رگرسیون چندگانه مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که پس از هشت هفته تمرین استقامتی، غلظت فاکتور مهارکننده ماکروفاژ سرم ( $P=0.03$ )، غلظت گلوکز پلاسما ( $P=0.02$ )، غلظت انسولین پلاسما ( $P=0.04$ )، تعداد گلبول‌های سفید پلاسما ( $P=0.002$ ) و شاخص مقاومت به انسولین ( $P=0.01$ ) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشته است. همچنین، ارتباط معناداری بین تغییرات تعداد گلبول‌های سفید پلاسما و غلظت فاکتور مهارکننده ماکروفاژ سرم ( $P=0.05$ ) مشاهده شد. شایان‌ذکر است که ۶۳ درصد از تغییرات فاکتور مهارکننده ماکروفاژ سرم تنها با تغییر در تعداد گلبول سفید پلاسما قابل‌پیش‌بینی بود. به‌طور کلی، می‌توان گفت که انجام تمرین استقامتی با کاهش در تعداد گلبول‌های سفید سرمی همراه است و این تغییرات تاحدی می‌تواند کاهش در سطوح سرمی فاکتور مهارکننده ماکروفاژ پس از تمرین استقامتی را تبیین نماید.

**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی، فاکتور مهارکننده ماکروفاژ، گلبول‌های سفید خون، دیابت نوع دو

## مقدمه

دیابت بیماری متابولیکی است که با ناتوانی در تولید انسولین کافی یا عدم کارایی انسولین در برداشت گلوکز بافتی همراه می‌باشد که نتیجه نهایی این امر، افزایش قندخون است (۱). دو نوع اصلی دیابت؛ یعنی دیابت نوع یک یا وابسته به انسولین و دیابت نوع دو یا غیروابسته به انسولین وجود دارد (۱،۲). چاقی یک عامل خطر شناخته شده برای دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین می‌باشد (۳). برخلاف تصور عموم، بافت چربی، بافتی فعال است که منبع ترشح پروتئین‌های فعال زیستی از قبیل فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ )<sup>۱</sup>، اینترلوکین ۶ (IL6)<sup>۲</sup>، رزیستین<sup>۳</sup>، ویسفاتین<sup>۴</sup> و غیره است که در اصطلاح به آن‌ها "آدیپوکاین"<sup>۵</sup> گفته می‌شود (۴،۵). از میان این فاکتورها، سایتوکاین‌های التهابی ترشح شده از بافت چربی سفید (همانند TNF- $\alpha$  و IL6)، سایتوکاین‌هایی هستند که منجر به التهاب، تصلب شرایین و مقاومت به انسولین می‌شوند و با عدم توانایی انسولین در برداشت گلوکز توسط عضلات و بافت چربی همراه می‌باشند (۶). با توجه به این که بیشتر بیماران مبتلا به دیابت نوع دو چاق هستند، سطوح سایتوکاین‌های التهابی در این افراد معمولاً بالا است (۲،۷). سایتوکاین‌های التهابی عمدتاً از ماکروفاژها و لنفوسیت‌های T<sup>۶</sup> ترشح می‌شوند که مهم‌ترین آن‌ها TNF- $\alpha$  است و نقش مهمی را در بیماری دیابت ایفا می‌کند (۶،۷)؛ به‌عنوان مثال، TNF- $\alpha$  با عمل بر گیرنده‌های انسولینی بافت و جلوگیری از دفسفوریلاسیون گیرنده انسولین باعث مسدود کردن مسیر سیگنالیک گیرنده انسولین می‌شود که نتیجه نهایی آن جلوگیری از ورود گلوکز به داخل سلول و القای مقاومت به انسولین در بافت است (۷).

تحریک و تولید TNF- $\alpha$  از بافت چربی تحت تأثیر سایتوکاینی به نام "فاکتور مهارکننده ماکروفاژ" (MIF)<sup>۸</sup> قرار دارد (۶). MIF در سال (۱۹۶۶) به‌عنوان سایتوکاینی که از لنفوسیت‌های T ترشح می‌شود و دارای وزن مولکولی ۱۲/۵ کیلودالتون می‌باشد، معرفی گردید (۷). شایان ذکر است که این سایتوکاین در سال (۱۹۹۰) به‌عنوان پاسخ پیش‌التهابی در ایمنی ذاتی به رسمیت شناخته شد (۷). MIF در سلول‌های مختلفی از جمله هیپوتالاموس، هیپوفیز، غدد فوق کلیوی و جزایر پانکراس بیان می‌شود (۸). غلظت MIF پلاسما در افراد سالم بین (۲/۳) تا (۸/۴) نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد؛

1. Tumor Necrosis Factor Alpha
2. Interleukin 6
3. Resistin
4. Visfatin
5. Adipokine
6. Macrophage
7. Lymphocytus T
8. Macrophage Migration Inhibitory Factor

این درحالی است که غلظت پلاسمایی آن در افراد دیابتی گاهی به (۱۵/۸) نانوگرم بر میلی لیتر نیز می‌رسد (۷). یکی از دلایل افزایش سطوح سرمی MIF، افزایش تعداد گلبول‌های سفید است که معمولاً در افراد دیابتی مشاهده می‌شود (۹) و این امر در نهایت با فعالیت آنتی‌ژن‌های سلول‌های سفید خون باعث انتشار MIF در جریان خون می‌شود (۱۰). افزون‌براین، MIF نقش مهمی در التهاب بافت چربی داشته و موجب تحریک تولید TNF- $\alpha$  می‌گردد که در نهایت منجر به مقاومت به انسولین می‌شود (۶،۷). همچنین، این سایتوکاین در جزایر لانگرهانس، نقش اتوکراین وابسته به گلوکز را داشته و اثر کنترلی در ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس دارد (۸،۱۱). علاوه‌براین، MIF اثر خود را به شکل عمده از طریق آنتی‌ژن‌های CD74<sup>۱</sup> و CD44<sup>۲</sup> ایفا می‌کند. آنتی‌ژن CD74 نوعی پروتئین غشایی است که در ماکروفاژها و سلول‌های T وجود دارد (۱۲) و برای شروع مسیر تیروزین کیناز<sup>۳</sup> به MIF متصل می‌شود. آنتی‌ژن CD44 گلیکوپروتئینی نیز برای حمل و نقل MIF در سلول‌های بتای پانکراس ضروری می‌باشد (۱۲). از دیرباز تمرین استقامتی با کاهش آدیپوکاین‌ها و کاهش قندخون در ارتباط بوده است (۵،۱۳). ورزش هوازی منظم با کاهش سایتوکاین‌های التهابی نظیر TNF- $\alpha$ ، IL6 و غیره و افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی همانند اینترلوکین ۱۰<sup>۴</sup>، اینترلوکین ۵<sup>۴</sup> و غیره، مانع از توسعه التهاب مزمن در افراد دیابتی می‌شود و در نهایت، موجب بهبود مقاومت به انسولین و کاهش تجمع ماکروفاژها می‌گردد (۵). در تأیید این موضوع، در پژوهشی مشاهده شد که ۱۰ هفته تمرین هوازی با کاهش توده چربی منجر به کاهش سایتوکاین التهابی TNF- $\alpha$  در پلاسمای زنان چاق شده است (۱۴). در مطالعه‌ای دیگر نیز شش ماه تمرین هوازی باعث کاهش سایتوکاین TNF- $\alpha$  سرم گردید (۱۵). در هر حال، علی‌رغم مشخص بودن اثرات تمرین هوازی بر TNF- $\alpha$ ، سازوکاری که از طریق آن‌ها این اثرات مفید واسطه‌گری می‌شود هنوز ناشناخته است. با توجه به ارتباط نزدیکی که بین MIF و TNF- $\alpha$  مشاهده می‌شود، این احتمال وجود دارد که بخشی از اثرات تمرین بر بیان TNF- $\alpha$  در خون از طریق تغییرات MIF واسطه‌گری شود. با این وجود، در جستجویی که توسط پژوهشگر صورت گرفت، تاکنون پژوهشی به بررسی تغییرات سطوح MIF در پی تمرین استقامتی و تمرین پذیر بودن یا نبودن این فاکتور

1. Cluster of Differentiation 74
2. CD44 Antigen
3. Tyrosine Kinase
4. Interleukin 10
5. Interleukin 4

نیرداخته است. تنها مطالعه صورت گرفته در این راستا، پژوهش بورگ<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۳) است. آن‌ها در این پژوهش اثر ۲۴ هفته تمرینات قدرتی و درمان تستوسترون<sup>۲</sup> بر سطوح MIF مردان سالمند را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که در گروه تمرینات قدرتی دارونما برخلاف گروه تمرینات قدرتی با درمان تستوسترون، سطوح MIF کاهش یافت (۱۶). در این ارتباط، هدف اول از پژوهش حاضر تعیین تأثیر تمرین استقامتی بر سطوح سرمی MIF در زنان دیابتی نوع دو بود. شناسایی عوامل مرتبط با کاهش MIF در پی تمرین استقامتی با تأکید بر ارتباط تغییرات احتمالی MIF با تغییرات تعداد گلبول‌های سفید پلاسما، سطوح گلوکز پلاسما و سطوح انسولین پلاسما متعاقب تمرین استقامتی نیز به عنوان هدف دوم در نظر گرفته شد.

### روش پژوهش

جهت انجام پژوهش، ۲۴ زن مبتلا به دیابت (نوع دو) مصرف‌کننده متفورمین (با میانگین سنی  $55 \pm 6/6$  سال) با سابقه بیماری ۷-۴ سال به صورت هدفمند از مرکز دیابت بیمارستان باهنر کرمان انتخاب شدند، براساس وزن همسان‌سازی گشتند و به صورت تصادفی در دو گروه کنترل (۱۲ نفر) و تمرین (۱۲ نفر) جای گرفتند. شایان ذکر است که جهت جلوگیری از اثرات مداخله‌ای مصرف کردن یا نکردن دارو بر نتایج، تمامی آزمودنی‌ها از داروی متفورمین استفاده نمودند. ویژگی‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها در جدول شماره دو گزارش شده است. معیارهای ورود به پژوهش عبارت بود از: قراردادن در دامنه سنی ۴۰ تا ۶۰ سال، ابتلا به دیابت نوع دو (ملاک دیابتی بودن آزمودنی‌ها، قندخون بالای ۱۲۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود) (۲) و مصرف متفورمین. معیارهای خروج از پژوهش نیز شامل: عدم سابقه ابتلا به بیماری‌های حاد و مزمن مانند بیماری قلبی - عروقی و تنفسی، عدم استفاده از انسولین و نداشتن عوارض دیابت از جمله زخم پای دیابتی بود. ذکر این نکته ضرورت دارد که پیش از شروع پروتکل تمرینی و پس از ۱۰ ساعت ناشتایی، نمونه خونی از ورید بازویی تمامی آزمودنی‌ها جمع‌آوری شد.

جدول ۲- ویژگی‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها

متغیر	کنترل (n=۱۲)	تمرین (n=۱۲)
قد (سانتی‌متر)	۱۵۶/۴±۵/۲	۱۵۶/۷±۸/۴
وزن (کیلوگرم)	۷۳/۶±۶	۷۲/۴±۸/۲
شاخص توده بدن (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۹/۱±۶/۴	۲۹/۰±۴/۷۵

داده‌ها میانگین ± انحراف استاندارد هستند.

1. Borg
2. Testosterone

گروه تمرین پس از یک دوره دو روزه آشنایی با کنترل ضربان قلب درحین تمرین و نحوه انجام آن، تمرینات استقامتی (شامل دویدن) را به مدت هشت هفته و هر هفته سه جلسه انجام داد. پروتکل تمرینی در ابتدا با شدت ۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب به صورت تداومی و به مدت ۴۰ دقیقه آغاز گشت و با شدت ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب به مدت ۶۰ دقیقه به پایان رسید. شایان ذکر است که پروتکل تمرینی از مطالعات نیکولاس و همکاران و شاپیرو و همکاران با اندکی تغییر اقتباس شده بود (۱۵،۱۷). باید توجه داشت که درحین تمرین، شدت تمرین از طریق اندازه گیری ضربان قلب در ناحیه گردن (شریان کاروتید<sup>۱</sup>) کنترل می شد.

یک روز قبل و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، نمونه خونی بین ساعت ۹-۷ صبح پس از ۱۰ ساعت ناشتایی به مقدار پنج میلی لیتر از ورید بازویی آزمودنی ها جمع آوری گردید. جدا کردن سرم و پلاسما نیز از طریق سانتریفیوژ کردن نمونه در دمای چهار درجه سانتی گراد و با دور ۳۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت (۱۸) و نمونه تا زمان اندازه گیری نهایی در دمای ۸۰- درجه در فریزر نگهداری شد.

مقادیر MIF توسط کیت الایزا<sup>۲</sup> با حساسیت ۳۲ پیکوگرم بر میلی لیتر (ساخت کشور آمریکا) و با استفاده از روش الایزا اندازه گیری شد. مقادیر انسولین پلاسما نیز توسط کیت شرکت پارس آزمون (ساخت ایران) و با استفاده از روش الایزا اندازه گیری گشت. همچنین، مقادیر گلوکز پلاسما به وسیله روش گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون (ساخت ایران) مورد اندازه گیری قرار گرفت و مقادیر شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)<sup>۳</sup> از طریق فرمول

$$\text{HOMA-IR} = \left( \text{Insulin} \left[ \frac{\mu\text{U}}{\text{ml}} \right] \times \text{Glucose} \left[ \frac{\text{mmol}}{\text{l}} \right] \right) \div 22.5$$

محاسبه گشت (۱۸).

داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده اند. به منظور بررسی معنادار بودن تفاوت بین گروه های مختلف پژوهش از آزمون آنالیز کوواریانس استفاده گردید. جهت تعیین معنادار بودن رابطه بین متغیرها و سهم نسبی عوامل مؤثر در تغییرات MIF پس از تمرین استقامتی نیز از آنالیز رگرسیون چندگانه بهره گرفته شد.

1. Carotid Artery
2. Model: Macrophage Migration Inhibitory Factor ELISA Kit96-strip, Company: Antibodies
3. Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance

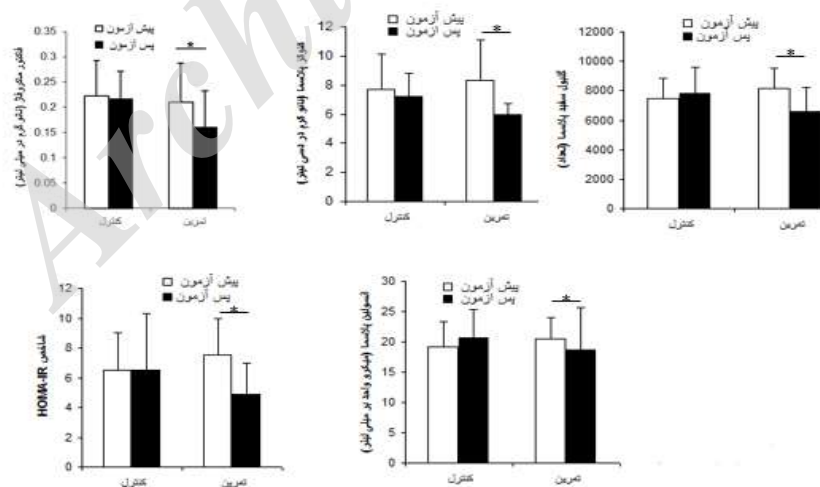
**نتایج**

جدول شماره سه نشان‌دهنده اطلاعات توصیفی متغیرهای MIF، گلوکز پلاسما، انسولین پلاسما، شاخص مقاومت به انسولین و تعداد گلبول‌های سفید آزمودنی‌ها، قبل و پس از تمرینات هوازی در گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد.

جدول ۳- شاخص‌های بیوشیمیایی آزمودنی‌ها در پیش‌آزمون و پس‌آزمون

متغیر	گروه	کنترل (n=12)	تمرین هوازی (n=12)
MIF سرم (نانوگرم بر میلی متر)	پیش‌آزمون	۰/۲۲۳±۰/۰۷۰	۰/۲۱۶±۰/۰۵۵
	پس‌آزمون	۰/۲۱۰±۰/۰۷۷	۰/۱۶۰±۰/۰۷۳*
گلوکز پلاسما (میلی گرم بر دسی لیتر)	پیش‌آزمون	۷/۷±۲/۴	۷/۲±۱/۶
	پس‌آزمون	۸/۳±۲/۸	۶±۰/۷*
انسولین ناشتا (میکروواحد بر میلی لیتر)	پیش‌آزمون	۱۹/۱±۱۲/۲	۲۰/۶±۸/۴
	پس‌آزمون	۲۰/۵±۱۳	۱۸/۷±۷*
گلبول سفید (تعداد بر میلی لیتر)	پیش‌آزمون	۷۴۵۰±۱۳۸۹/۸	۷۸۴۳/۳±۱۷۳۵/۱
	پس‌آزمون	۸۱۳۰±۱۴۲۵/۹	۶۵۵۸/۳±۱۶۹۶/۲*
شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	پیش‌آزمون	۶/۵±۴/۵	۶/۵±۳/۸
	پس‌آزمون	۷/۵±۵/۵	۴/۹±۲/۱*

داده‌ها میانگین ± انحراف استاندارد هستند. \*اختلاف معنادار با پس‌آزمون گروه کنترل (P<0.05)



شکل ۱- شاخص‌های بیوشیمیایی آزمودنی‌ها در پیش‌آزمون و پس‌آزمون

داده‌ها میانگین ± انحراف استاندارد هستند. \*اختلاف معنادار با پس‌آزمون گروه کنترل (P<0.05)

براساس نتایج پس از هشت هفته تمرین استقامتی، غلظت MIF سرم بین گروه‌های تجربی و کنترل تفاوت معناداری داشت ( $F(18,1)=5.413, P=0.03$ )؛ بدین صورت که غلظت MIF در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل ۲۵/۹ درصد کاهش یافت. همچنین پس از هشت هفته تمرین استقامتی، تعداد گلبول‌های سفید پلاسما ( $P=0.002$ )، غلظت انسولین پلاسما ( $P=0.04$ )، غلظت گلوکز پلاسما ( $P=0.02$ ) و مقادیر شاخص HOMA\_IR ( $P=0.01$ ) بین گروه‌های مختلف پژوهش تفاوت معناداری را نشان داد؛ بدین صورت که تعداد گلبول‌های سفید پلاسما، انسولین پلاسما، گلوکز پلاسما و مقادیر شاخص HOMA\_IR به ترتیب در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل ۱۶/۲، ۹/۲، ۱۲/۲ و ۴/۹ درصد کاهش داشت. علاوه بر این، نتایج آزمون رگرسیون چندگانه حاکی از آن بود که بین تغییرات ناشی از هشت هفته تمرین استقامتی در تعداد گلبول‌های سفید پلاسما و غلظت MIF سرم ارتباط معناداری وجود دارد ( $P=0.05$ ). باین وجود، بین تغییرات ناشی از هشت هفته تمرین استقامتی در سطوح گلوکز پلاسما، سطوح انسولین پلاسما و غلظت MIF سرم در زنان مبتلا به دیابت نوع دو ارتباط معناداری وجود نداشت. از سوی دیگر، ۶۳ درصد از تغییرات MIF سرم در پی تمرین استقامتی با تغییرات تعداد گلبول سفید پلاسما، گلوکز پلاسما و انسولین پلاسما قابل پیش‌بینی بود؛ اما تنها تغییر در تعداد گلبول سفید پلاسما به‌طور معناداری توانایی پیش‌بینی تغییرات MIF را داشت (جدول شماره چهار).

جدول ۴- نتایج آزمون رگرسیون چندگانه

متغیرهای پیش‌بین	ضرایب بتا	سطح معناداری	ضریب هم‌بستگی	مجذور ضریب هم‌بستگی چندگانه
گلبول سفید	۰/۷۲۳	۰/۰۳	۰/۷۹۴	۰/۶۳۰
گلوکز	-۰/۰۰۴	۰/۹۸۸		
انسولین	-۰/۵۱۴	۰/۱۰۹		

### بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر بلندمدت تمرین استقامتی بر تغییرات غلظت MIF سرم و ارتباط آن با تغییرات گلبول سفید، گلوکز و انسولین پلاسما در زنان مبتلا به دیابت نوع دو به انجام رسید. مهم‌ترین یافته پژوهش این بود که پس از هشت هفته تمرین استقامتی، غلظت MIF کاهش قابل توجهی در پلاسما داشت که این تغییر با کاهش معناداری در سطوح گلوکز، انسولین، گلبول

سفید و شاخص HOMA-IR در گروه تمرینی همراه بود. افزون‌براین، تغییرات ناشی از تمرین در تعداد گلبول‌های سفید پلازما به شکل قابل‌قبولی تغییرات MIF سرم در پی تمرین استقامتی را پیش‌بینی کرد.

شایان‌ذکر است که تاکنون در پژوهشی اثر تمرین استقامتی بر سطوح MIF سرم در زنان دیابتی گزارش نشده است. دلیل تمرکز پژوهش حاضر بر تغییرات MIF سرم در پی تمرین، نقش پررنگ این متغیر در مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو بود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که بالابودن مزمن سطوح MIF در پلازما منجر به تشدید مقاومت به انسولین می‌شود (۸،۱۱،۱۹). همچنین، MIF اثری مهاری بر مسیر سیگنالینگ انسولین داشته و با جلوگیری از فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B<sup>۱</sup> (سیگنال سنتز حمل‌ونقل گلوکز) منجر به کاهش فسفوریلاسیون تیروزین کیناز گیرنده انسولین<sup>۲</sup> می‌گردد (۱۹،۲۰) که این امر در نهایت مانع رسیدن پیام انسولین به مسیرهای درون سلولی و ایجاد مقاومت به انسولین می‌شود (۱۹،۲۰). علاوه‌براین، MIF تنظیم‌کننده منفی انتقال گلوکز به عضله اسکلتی می‌باشد (۲۱). این سایتوکین در پاسخ التهابی منجر به افزایش سایتوکین‌های التهابی می‌شود که علاوه بر کاهش فروکتوز ۲/۶ بیس فسفات<sup>۳</sup> (فاکتور مهم گلیکولیز)، باعث سرکوب مسیر سیگنالیک پروتئین کیناز فعال (AMPK)<sup>۴</sup> شده و منجر به کاهش بیان انتقال‌دهنده غشایی گلوکز (GLUT4)<sup>۵</sup> در سطح غشای پلاسمایی و القای مقاومت به انسولین می‌گردد (۲۱،۲۲). افزون‌براین، افزایش سطوح MIF موجب کاهش سطوح آدیپونکتین<sup>۶</sup> سرم که نقش مهمی در هومئوستاز گلوکز دارد شده و از این طریق منجر به مقاومت به انسولین می‌گردد (۲۳).

با وجود مشخص شدن نقش MIF در دیابت و مقاومت به انسولین، اثر مفید احتمالی تمرین استقامتی بر کاهش سطوح سرمی آن ناشناخته بوده و در زمینه اثر تمرین و MIF نقصان وجود دارد. در تنها پژوهش موجود (که نزدیک‌ترین مطالعه به هدف پژوهش حاضر می‌باشد)، بورگ و همکاران (۲۰۱۳) اثر ۲۴ هفته تمرین قدرتی و درمان تستوسترون را بر سطوح MIF مردان سالمند مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که سطوح MIF و فعالیت التهابی در گروه تمرینات قدرتی دارونما کاهش یافت؛ اما در گروه تمرینات قدرتی با درمان تستوسترون، سطوح MIF افزایش داشت (۱۷). از سوی دیگر، نتایج پژوهش حاضر برای نخستین بار نشان داد که MIF سرم تحت تأثیر تمرین استقامتی قرار می‌گیرد. این که چگونه تمرین می‌تواند این اثر را اعمال نماید، از دو دیدگاه قابل‌بحث

1. AKT/Protein Kinase B
2. Insulin Receptor Substrate-1
3. Fructose 2,6 Bisphosphate
4. AMP-Activated Protein Kinase
5. Glucose Transporter Type 4
6. Adiponectin



است: الف. سطح مورفولوژیک: تغییرات ترکیب بدن و کاهش بافت چربی می‌تواند کاهش مشاهده شده را تفسیر نمایند. با افزایش کلسترول<sup>۱</sup>، تری‌گلیسرید<sup>۲</sup> پلازما و کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالای<sup>۳</sup> پلازما، راه‌اندازی واکنش‌های التهابی و آسیب پروتئین‌های پلازما همراه است که در نهایت، منجر به افزایش بافت چربی و افزایش سطوح MIF می‌شود (۲۴-۲۶). علاوه بر این، تمرین استقامتی در افراد چاق و دیابتی با کاهش وزن و توده بافت چربی منجر به کاهش سایتوکین‌های التهابی و بهبود حساسیت به انسولین می‌شود (۲۷،۲۸). در پژوهش حاضر نیز کاهش وزن در گروه تجربی مشهود بود که این امر می‌تواند بخشی از تغییرات MIF را تبیین نماید. با این وجود، بیان قطعی این ادعا مستلزم کنترل دقیق سطوح چربی بدن است که این امر در پژوهش حاضر میسر نشد؛ لذا، با توجه به ارتباط نزدیک بین MIF و شاخص‌های ترکیب بدن نظیر بافت چربی و شاخص توده بدن، به منظور تعیین اثر وابسته به سطح چربی بدن در تمرین استقامتی، انجام پژوهشی مشابه با پژوهش حاضر در ارتباط با آزمودنی‌هایی با سطوح مختلف بافت چربی پیشنهاد می‌شود؛ ب. سطح هورمونی: در بین فاکتورهای اندوکرین، عاملی که سطوح سرمی آن در حین تمرین به شدت دستخوش تغییر شده و به دلیل ارتباط تنگاتنگ آن با MIF ممکن است در کاهش سطوح این فاکتور نقش داشته باشد، سطح TNF- $\alpha$  است. سایتوکین MIF منجر به افزایش سطوح TNF- $\alpha$  می‌شود که در بیماری مقاومت به انسولین نیز نقش مهمی را ایفا می‌کند (۶). TNF- $\alpha$  از طریق گیرنده P75<sup>۴</sup> از فسفوریلاسیون تیروزینی گیرنده انسولین جلوگیری نموده و مسیر سیگنالیک گیرنده انسولین را مسدود می‌کند که نتیجه نهایی آن جلوگیری از ورود گلوکز به داخل سلول و ایجاد مقاومت به انسولین خواهد بود (۷،۲۹). همچنین، نقش TNF- $\alpha$  در سرکوب GLUT4 در بافت عضلانی منجر به کاهش حساسیت عملکرد انسولین می‌گردد (۳۰)؛ لذا، اعمال MIF در بیماری دیابت می‌تواند از طریق افزایش یا کاهش TNF- $\alpha$  واسطه‌گری شود (۲۹،۳۱). در پی تمرین استقامتی، سطوح سرمی TNF- $\alpha$  کاهش پیدا می‌کند و می‌تواند به‌عنوان عاملی دیگر در کاهش ناشی از تمرین در سطوح MIF مطرح گردد (۳۲،۳۳). با این وجود، معرفی رابطه علت و معلولی بین تغییرات سطوح TNF- $\alpha$  سرم و اثرات تمرین بر MIF از طریق پژوهش حاضر میسر نشده و تأیید یا رد این فرضیه مستلزم مطالعات بیشتری می‌باشد.

- 
1. Cholesterol
  2. Triglyceride
  3. High-Density Lipoprotein
  4. Receptor P75

در کنار این عوامل احتمالی، در پژوهش حاضر فرضیه‌ای مبنی بر شناسایی عوامل احتمالی در تغییرات ناشی از تمرین در MIF سرم توسعه یافت. MIF فاکتوری است که در بین عوامل فیزیولوژیکی، بیشتر تحت تأثیر عواملی چون تعداد گلبول‌های سفید پلاسما (۹)، سطوح انسولین پلاسما (۳۴) و سطوح گلوکز پلاسما (۳۴) قرار دارد؛ به همین دلیل، عمده هدف پژوهش حاضر در مورد شناخت عوامل احتمالی دیگر در ارتباط با تغییرات MIF بر این سه فاکتور استوار بود. مطالعات نشان داده‌اند که چاقی و دیابت منجر به القای واکنش‌هایی از قبیل آزادسازی سایتوکین‌ها و افزایش فعالیت فاگوسیتوزها می‌گردد که طی آن سیستم ایمنی بدن مختل شده و تعداد گلبول‌های سفید پلاسما برای تنظیم پاسخ ایمنی در طول التهاب افزایش می‌یابد (۳۵) که این افزایش در تعداد گلبول‌های سفید پلاسما در نهایت با فعال‌سازی آنتی‌ژن‌های سلول‌های سفید پلاسما منجر به انتشار MIF در جریان خون می‌شود (۱۰). رابطه بین MIF، گلوکز و انسولین پلاسما در بدن به شکل زیر برقرار است. در بیماری دیابت که با کمک MIF سرم و سایتوکین التهابی نظیر  $TNF-\alpha$  واسطه‌گری می‌شود، به دلیل سرکوب مسیر AMPK، کاهش GLUT4 و منع عمل تحریکی انسولین، در جذب بافتی گلوکز اختلال به وجود می‌آید (۲۰، ۳۶) که این امر باعث توسعه هرچه بیشتر هایپرگلیسمی در پلاسما می‌گردد. در اثر هایپرگلیسمی ایجاد شده، گلوکز این توانایی را پیدا می‌کند که توسط دیگر ناقل این سوبسترا (انتقال‌دهنده غشایی نوع دو)<sup>۲</sup> بدون نیاز به انسولین وارد سلول‌های بتای پانکراس شده و منجر به آزادسازی انسولین گردد (۲۱، ۳۴، ۳۷). این افزایش در سطوح انسولین پلاسما در نگاه اول مثبت به نظر می‌رسد؛ اما به دلیل غلظت بالای MIF، انسولین نمی‌تواند کار خود را به درستی انجام دهد؛ زیرا، MIF موجود در پانکراس هنگام ترشح انسولین به آن متصل می‌شود و مولکول انسولین را به مولکولی مخرب تبدیل نموده و فعالیت آن را مختل می‌سازد (۳۴). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که کاهش تعداد گلبول‌های سفید پلاسما و سطوح سرمی MIF، هم‌راستا با یکدیگر اتفاق می‌افتد. علی‌رغم این که در پژوهش حاضر علت کاهش در تعداد گلبول‌های سفید پلاسما بررسی نشد؛ اما دلایل مختلفی برای آن در مطالعات پیشین ارائه شده است. در این راستا، عنوان شده است که سایتوکین‌های التهابی باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید پلاسما می‌شوند؛ در حالی که تمرین استقامتی می‌تواند از مختل شدن سیستم ایمنی و افزایش تعداد گلبول‌های سفید پلاسما جلوگیری کند (۳۸). کاهش التهاب عمومی بدن و سایتوکین‌های التهابی از جمله MIF و  $TNF-\alpha$  نیز می‌تواند یکی از دلایل کاهش معنادار تعداد گلبول‌های سفید پلاسما پس از تمرین باشد (۳۸، ۳۹). افزون‌براین، تمرین استقامتی با پاسخ به تغییرات نشانگرهای

- 
1. Phagocytosis
  2. Glucose Transporter Type 2

التهاب مربوط به متابولیسم گلوکز از جمله افزایش آدیپونکتین باعث کاهش تعداد گلبول‌های سفید پلاسما می‌شود (۳۸). شایان‌ذکر است که اثرات مفید تمرین استقامتی بر تعداد گلبول‌های سفید به شدت و مدت تمرین وابسته می‌باشد؛ به‌گونه‌ای که شدت و مدت زمان متوسط برای تأثیرگذاری بر گلبول سفید لازم است (۳۹،۴۰). در این زمینه، ریکاردو<sup>۱</sup> و همکاران در گزارشی تأثیر تمرین با شدت بالا و کم را بر مقدار گلبول‌های سفید پلاسما بررسی کرده و نشان دادند که سطوح گلبول‌های سفید پلاسما در گروه تمرین با شدت بالا نسبت به گروه تمرین با شدت کم به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است (۳۹). در پژوهش حاضر نیز کاهش تعداد گلبول‌های سفید پلاسما بسیار چشمگیر بود. این احتمال وجود دارد که در پژوهش حاضر کاهش تعداد گلبول‌های سفید پلاسما در پی تمرین استقامتی، سطوح سرمی MIF را کاهش داده باشد؛ لذا، علی‌رغم این‌که رابطه معنادار و مستقیمی بین تغییرات MIF و گلبول‌های سفید پلاسما پس از تمرین استقامتی مشاهده شد؛ اما این رابطه لزوماً به معنای رابطه علت و معلولی نبوده و تأیید این فرضیه مستلزم انجام مطالعات بیشتر می‌باشد. لازم‌به‌ذکر است که خوشبختانه هر سه فاکتور یادشده (گلبول سفید، گلوکز و انسولین پلاسما) تحت تأثیر تمرین استقامتی از خود کاهش نشان می‌دهند؛ همان‌گونه که در پژوهش حاضر نیز این تغییرات مشاهده گردید.

**پیام مقاله:** به‌طور خلاصه نتایج پژوهش حاضر نشان داد که انجام تمرین استقامتی با کاهش تعداد گلبول‌های سفید پلاسما همراه است و این تغییرات می‌تواند کاهش در سطوح سرمی MIF پس از تمرین استقامتی را تبیین نماید. براساس این نتایج، MIF سرم، فاکتوری تمرین‌پذیر است و تغییرات تعداد گلبول‌های سفید پلاسما، عاملی دخیل در کاهش سطوح MIF سرم در حین تمرین استقامتی محسوب می‌شود.

## منابع

1. Ozougwu J, Obimba K, Belonwu C, Unakalamba C. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Physiol*. 2013; 4(4): 46-57.
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2014; 37: 81-90.
3. Mohebi H, Rahmani Nia F, Hedayati Emami M, Saeidi Ziaberi T. The effect of 8-week aerobic training at moderate intensity levels on plasma apelin serum and insulin resistance in type 2 diabetic women. *Sport Physiology*. 2013; 5(20): 115-28. (In Persian)

---

1. Ricardo

4. Afshoun Pour M T, Habibi A, Ranjbar R. Comparison the effect of two different intensities of acute aerobic exercise on plasma concentrations of Apelin, blood glucose and insulin resistance in type 2 diabetic men. *Sport Physiology*. 2016; 8(30): 115-28. (In Persian)
5. Hopps E, Canino B, Caimi G. Effects of exercise on inflammation markers in type 2 diabetic subjects. *Acta Diabetol*. 2011; 48: 183-9.
6. Chilibeck P, Pérez-López F, Bodary P, Seok Kang E, Jeon J. Adipocytokines, metabolic syndrome, and exercise. *J Endocrinology*. 2014; 8:1-3.
7. Yuriko I, Zamora S, Rodriguez-Sosa M. The role of MIF in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes*. 2014; 6: 1-6.
8. Vujicic M, Senerovic L, Nikolic I, Saksida T, Stosic-Grujicic S, Stojanovic I. The critical role of macrophage migration inhibitory factor in insulin activity. *Elsevier*. 2014; 69: 39-46.
9. Vozarova B, Weyer Ch, Lindsay R, Pratley R, Bogardus C, Tataranni A. High white blood cell count is associated with aworsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Clin Diabetes*. 2002; 51: 455–61.
10. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: A regulator of innate immunity. *Immunology*. 2003; 3(10): 791-800.
11. Morrison M, Kleemann R. Role of macrophage migration inhibitory factor in obesity, insulin resistance, type 2 diabetes, and associated hepatic co-morbidities: A comprehensive review of human and rodent studies. *Immunology*. 2015; 6(308): 1-13.
12. Gore Y, Starlets D, Maharshak N, Becker-Herman Sh, Kaneyuki U, Leng L, et al. Macrophage migration inhibitory factor induces B cell survival by activation of a CD74-CD44 receptor complex. *J Biological*. 2008; 283(5): 2784–92.
13. Sigal R, Kenny G, Wasserman D, Castaneda-Sceppa C, White R. Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Am Diabetes Ass*. 2006; 29(6): 1433-8.
14. Ordonez F, Rosety M, Camacho A, Rosety I, Diaz A, Fornieles G, et al. Aerobic training improved low-grade inflammation in obese women with intellectual disability. *J Intell Disability*. 2013; 10: 1-8.
15. Nikolaos P E, Kadogloua C, Iliadisa F, Angelopouloub N, Perread D, Ampatzidish G, et al. The anti-inflammatory effects of exercise training in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur Society Cardiology*. 2007; 14: 837-43.
16. Glintborg D, Christensen L, Kvorning T, Larsen R, Brixen K, Hougaard D, et al. Strength training and Testosterone treatment have opposing effects on migration inhibitor factor levels in ageing men. *Med Inflammation*. 2013;5(10): 1-7.
17. Sloan R, Shapiro P, DeMeersman R, McKinley P, Tracey K, Slavov J, et al. Aerobic exercise attenuates inducible TNF production in humans. *J Appl Physiol*. 2007; 103: 1007–11.
18. Nikooie R, Aveseh M, Omidfar K. Effects of diabetes induction and endurance training on RBP4 expression of soleus and EDL muscles in male wistar rats. *Diabete Metabolism*. 2014; 13(2): 111-22. (In Persian)
19. Koike T, Kim J, Takeuchi R, Onodera Sh, Umino T, Mitchell R, et al. The proinflammatory Cytokine macrophage migration inhibitory factor regulates Glucose metabolism during systemic inflammation. *Immunology*. 2007; 179: 5399-406.

20. Kleemann R, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor: Critical role in obesity, Insulin resistance, and associated comorbidities. *Med Inflammation*. 2010; 2: 1-7.
21. Koike T, Kim J, Bucala Takeuchi R, Onodera Sh, Umino T, Christine Metz N, et al. Inflammation Glucose metabolism during systemic migration inhibitory factor regulates the proinflammatory Cytokine macrophage. *Immunology*. 2007; 179(8): 5399-406.
22. Ojuka E, Jones T, Nolte L, Chen M, Wamhoff B, Sturek M, et al. Regulation of GLUT4 biogenesis in muscle: Evidence for involvement of AMPK. *Endocrinology*. 2002; 282(5): 1008-13.
23. Koska J, Stefan N, Dubois S, Trinidad C, Considine R, Funahashi T, et al. mRNA concentrations of MIF in subcutaneous abdominal adipose cells are associated with adipocyte size and Insulin action. *Obesity*. 2009; 33: 842-50.
24. Verschuren L, Kooistra T, Bernhagen J, Voshol P, Ouwers M, van Erk M, et al. MIF deficiency reduces chronic inflammation in white adipose tissue and impairs the development of Insulin resistance, Glucose intolerance, and associated atherosclerotic disease. *Circulation Res*. 2009; 105: 99-107.
25. Dandona P, Aljada A, Ghanim H, Mohanty P, Tripathy Ch, Hofmeyer D, et al. Increased Plasma concentration of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and MIF mRNA in mononuclear cells in the obese and the suppressive action of Metformin. *Endocrinology*. 2004; 89(10): 5043-7.
26. Trayhurn P. Adipose tissue in obesity—An inflammatory issue. *Endocrinology*. 2005; 146(3): 1003-5.
27. George P, Nassisa B, Papantakoua K, Skenderia K, Triandafilopouloud M, Kavourasa S, et al. Aerobic exercise training improves Insulin sensitivity without changes in body weight, body fat, adiponectin, and inflammatory markers in overweight and obese girls. *Metabolism*. 2005; 54: 1472-9.
28. Stensvold D, Slørdahl S, Wisløff U. Effect of exercise training on inflammation status among people with metabolic syndrome. *Metabolic*. 2012; 10(4): 267-72.
29. Lin X, Zhang Z, Chen J, Xu Y, Ye H, Cui J, et al. Role of APN and TNF- $\alpha$  in type 2 diabetes mellitus complicated by nonalcoholic fatty liver disease. *Genet Molecular Res*. 2015; 14(2): 2940-6.
30. Schall T, Lewis M, Koller K, Lee A, Rice G, Wong G, et al. Molecular cloning and expression of a receptor for human tumor necrosis factor. *Elsevier*. 1990; 61: 361-70.
31. Sanchez-Zamora Y, Terrazas L, Vilches-Flores A, Leal E, Juárez I, Whitacre C, et al. Macrophage migration inhibitory factor is a therapeutic target in treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *FASEB J*. 2010; 24(7): 2583-90.
32. Kondo T, Kobayashi I, Murakami M. Effect of exercise on circulating adipokine levels in obese young women. *Endocrinology*. 2006; 53(2): 189-95.
33. Sloan R, Shapiro P, DeMeersman R, McKinley P, Tracey K, Slavov I, et al. Aerobic exercise attenuates inducible TNF production in humans. *Physiol*. 2007; 103(3): 1007-11.

34. Sakaue Sh, Nishihira J, Hirokawa J, Yoshimura H, Honda T, Aoki K, et al. Regulation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression by Glucose and Insulin in Adipocytes in vitro. *Molecular Med.* 1999; 5: 361-71.
35. Gregory J, Leech M, David J, Yang Y, Hickey M. Reduced leukocyte–endothelial cell interactions in the inflamed microcirculation of macrophage migration inhibitory factor–deficient mice. *Rheumatol.* 2004; 50(9): 3023-34.
36. Conin S, Cross J. MIF deficiency does not alter Glucose homeostasis or adipose tissue inflammatory cell infiltrates during diet-induced obesity. *Obesity.* 2014; 22(2): 418-25.
37. Richter E, Hargreaves M. Exercise, Glut 4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol.* 2013; 93(3): 993-1017.
38. Johannsen M, Swift L, Johnson D, Dixit D, Earnest P, Blair N, et al. Effect of different doses of aerobic exercise on total white blood cell (WBC) and WBC subfraction number in postmenopausal women. *J Pone.* 2012; 7(2): 313-19.
39. Silva Neves P, Ricardo T, Lins T, Tereza M, Botero P, Luiz W. Acute effects of high and low intensity exercise bouts on leukocyte counts. *Exercise Sci Fit.* 2015; 13: 24-8.
40. Natale V, Brenner I, Moldoveanu A, Vasiliou P, Shek P, Shephard R. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *Sao Paulo Med.* 2003; 121(1): 9-14.

## ارجاع دهی

زند سمیرا، نیکویی روح‌الله، مفلحی داریوش. اثر تمرینات استقامتی با شدت متوسط بر تغییرات سطوح سرمی فاکتور مهارکننده ماکروفاژ و ارتباط آن با تغییرات گلبول سفید، گلوکز و انسولین پلاسما در زنان دیابتی نوع دو. *فیزیولوژی ورزشی*. پاییز ۱۳۹۶؛ ۳۵(۹): ۱۰۵-۱۸. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2017.3151.1429

Zand S, Nikooie R, Moflehi D. The Effect of Endurance Training at Moderate Intensity on Changes of Serum Concentration of MIF and It's Relationship with Plasma White Blood Cells, Glucose, and Insulin Changes in Type 2 Diabetic Women. *Sport Physiology.* Fall 2017; 9(35): 105-18. (In Persian). DOI: 10.22089/SPJ.2017.3151.1429

## The Effect of Endurance Training at Moderate Intensity on Changes of Serum Concentration of MIF and It's Relationship with Plasma White Blood Cells, Glucose, and Insulin Changes in Type 2 Diabetic Women

S. Zand<sup>1</sup>, R. Nikooie<sup>2</sup>, D. Moflehi<sup>3</sup>

1. M.Sc.of Sport Physiology, Shahid Bahonar University of Kerman
2. Assistance Professor of Sport Physiology, Shahid Bahonar University of Kerman\*
3. Assistance Professor of Sport Physiology, Shahid Bahonar University of Kerman

Received: 2016/10/18

Accepted: 2017/02/07

### Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of endurance training on changes of serum concentration of MIF and its relationship with plasma white blood cells, glucose, and insulin changes in type 2 diabetic women. Twenty-Four subjects (age  $55\pm 6.6$  years and weight  $73\pm 5.1$ ) randomly divided in two groups, including control (n=12) and trained (n=12). Trained group performed eight weeks of endurance training including running at of 55-75% of their heart rate maximum for 40 to 60 minutes. Blood samples were collected before training protocol and 72 hours after the last exercise session. Plasma glucose was measured with glucose oxidase method; Serum MIF and plasma insulin concentration were measured by ELISA method. Difference of variables between groups were evaluated by analysis of covariance and multiple regression analysis was used to determine the possible contribution of white blood cells, glucose, and insulin changes to serum MIF changes after training protocol. Compared to the control group, concentration of serum MIF ( $P=0.03$ ), plasma glucose ( $P=0.02$ ), plasma insulin ( $P=0.04$ ), white blood cell population ( $P=0.002$ ), and HOMA\_IR index values ( $P=0.01$ ) in trained group significantly decreased after eight week of endurance training. Significant correlation was found between the exercise-induced changes in white blood cell population and serum MIF concentration ( $P=0.05$ ). Sixty-three percent of the variance in the changes in serum MIF concentration could be predicted by only the changes in white blood cell population. In summary, long-term endurance training is accompanied by decrease in white blood cell population and these changes could predict the exercise-induced suppression in serum MIF concentration after endurance training.

**Keyword:** Endurance Training, Macrophage Migration Inhibitory Factor, White Blood Cell Population, Type 2 Diabetes

\* Corresponding Author

Email: r\_nikooie@uk.ac.ir