Archive of SID

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2017; 19(116): 57-67

Original Article

The Effect of 12-Week Aerobic Training on Protein Tyrosine Phosphatase 1B Gene Expression and Insulin Resistance in Diabetic Rats

Rahman Soori[1*], Fardin Sohrabi[2], Sirous Choobineh[3], Ali Asghar Ravasi[4], Kazem Baesi[5], Sadegh Abbasian[6]

1.Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
2.PhD Student of Exercise Physiology, Paradis of Alborz, University of Tehran, Tehran, Iran
3.Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
4.Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
5.Assistant Professor, Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
6.PhD of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 10 Sep 2016, Accepted: 30 Oct 2016

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

Abstract

Background: Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) is a key enzyme in dephosphorylation of the insulin receptor (IR) and it is a central factor to induce the insulin resistance. The purpose of this study was to evaluate the effect of 12-week aerobic training on protein tyrosine phosphatase 1B gene expression and insulin resistance in diabetic rats.

Materials and Methods: In this study, 16 Wistar rats were divided into aerobic training and control groups. After inducing diabetes intra protaneally, aerobic training group performed training protocol for 12 weeks and 5 session/week. The duration and speed of each session increased progressively as 18 to 26 m/min and 10 to 55 min, respectively. Then, blood and tissue (from gastrocnemius) sampling were carried out in diabetic rats. Insulin resistance markers and PTP1B gene expression were evaluated by commercial kits and Real-Time PCR method, respectively.

Results: Findings showed that PTP1B significantly was decreased in diabetic rats of aerobic training group ($p=0.0001$). Also, glucose and insulin resistance significantly was decreased in aerobic training groups ($p=0.02$ and $p=0.006$, respectively). However, insulin in control rats was significantly increased ($p=0.015$).

Conclusion: It seems that, current aerobic training protocol has capability to decrease PTP1B and insulin resistance in diabetic rats. Furthermore, the direct correlation between PTP1B and insulin illustrated that any changes in insulin resistance due to exercise training associated with diminution of negative regulation of insulin signaling pathway.

Keywords: Aerobic training, Diabetes, Insulin resistance, PTP1B gene

*Corresponding Author:
Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
Email: Soorirahman@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۹، شماره ۱۱ (شماره پیاپی ۱۱۶)، بهمن ۱۳۹۵، ۶۷-۵۷

اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن پروتئین-تیروزین فسفاتاز ۱ نوع B و مقاومت انسولینی رت‌های دیابتی

رحمان سوری[1*]، فردین سهرابی[2]، سیروس چوبینه[3]، علی‌اصغر رواسی[4]، کاظم باعثی[5]، صادق عباسیان[6]

۱.دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲.دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، پردیس البرز، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳.استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴.استاد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۵.استادیار، گروه هپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۶.دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۰۹

چکیده

زمینه و هدف: پروتئین-تیروزین فسفاتاز ۱ نوع B(PTP1B) یک آنزیم کلیدی در دفسفوریله کردن گیرنده انسولینی(IR) و ایجاد مقاومت انسولینی است. هدف از این تحقیق، تعیین اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن پروتئین-تیروزین فسفاتاز ۱ نوع B و مقاومت انسولینی رت‌های دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، ۱۶ سر رت نژاد ویستار در دو گروه تمرین هوازی و کنترل قرار گرفتند. پس ازالقای دیابت به روش درون صفاقی، رت‌های گروه تمرین هوازی، پروتکل تمرینی‌شان را به مدت ۱۲ هفته، ۵ جلسه در هفته و با افزایش تدریجی سرعت (۱۸ الی ۲۶ متر بر دقیقه) و زمان (۱۰ الی ۵۵ دقیقه) دویدن روی تردمیل انجام دادند. سپس، نمونه‌گیری خونی و بافت‌برداری از عضله دو قلوی رت‌های دیابتی انجام شد. نشان‌گرهای مقاومت انسولین با استفاده از کیت‌های تجاری و بیان ژن PTP1B از طریق روش Real-Time PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج بیان‌گر کاهش معنی‌دار PTP1B در رت‌های دیابتیِ گروه تمرین هوازی بود(p=۰/۰۰۰۱). هم‌چنین، مقادیر گلوکز و مقاومت انسولینی رت‌های گروه تمرین هوازی به طور معنی‌دار کاهش یافته بود(به ترتیب، p=۰/۰۲ و p=۰/۰۰۶). با این حال، میزان انسولین سرمی رت‌های گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته بود(p=۰/۰۱۵).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد پروتکل تمرین هوازی در رت‌های دیابتی قادر است مقاومت انسولینی و PTP1B را به طور معنی‌داری کاهش دهد. هم‌چنین، وجود ارتباط بین PTP1B و مقاومت انسولینی احتمالا موید این مطلب است که هر گونه تغییر در مقاومت انسولینی به واسطه تمرین ورزشی، با کاهش تنظیم منفی مسیر سیگنالی انسولین انجام می‌پذیرد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، دیابت، ژن PTP1B، مقاومت انسولینی

***نویسنده مسئول:** ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: Soorirahman@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

مقدمه

دیابت اختلال متابولیکی شایعی در سرتاسر جهان است. این بیماری به دلیل کاهش حساسیت انسولینی ناشی از مقاومت انسولینی، کاهش تولید انسولین و آسیب دیدن سلول‌های بتای پانکراس رخ می‌دهد(۱، ۲). تخمین زده شده که ۳۶۶ میلیون فرد در سراسر جهان تا سال ۲۰۱۱ مبتلا به دیابت بوده‌اند و احتمالا این رقم در سال ۲۰۳۰ به ۵۵۲ میلیون فرد خواهد رسید(۳). این بیماری در اصل به دلیل تغییر در دو عامل ژنتیک و سبک زندگی رخ می‌دهد(۴). در خصوص تغییرات ژنتیکی، اخیرا ژن‌هایی کشف شده‌اند که به طور معناداری با توسعه دیابت همکاری می‌کنند. این ژن‌ها شامل TCF7L2، PPARG، FTO، NOTCH2، KCNJ11، SLC30A8 و JAZF1 هستند(۵، ۶). علاوه بر ژن‌های فوق، اخیرا ژن تیروزین-پروتئین فسفاتاز بدون گیرنده، نوع ۱ (PTPN1) یا پروتئین-تیروزین فسفاتاز ۱ نوع B (PTB1B) نیز کشف شده که در توسعه دیابت نقش دارد. نشان داده شده که کاهش در بیان PTB1B با افزایش پیام رسانی و حساسیت انسولینی توام است(۷). PTB1B از خانواده آنزیم‌هایی است که فرآیند دفسفوریله شدنِ پروتئین‌های فسفوریله شده‌ی تیروزینی(Tyr) را کاتالیز می‌کند. PTB1B یک تنظیم کننده منفیِ پیام رسانی گیرنده انسولینی(IR) بوده (۷) و آنزیم کلیدی در دفسفوریله کردن گیرنده انسولینی (IR) و اجزای پایین دست در زنجیره پیام رسانی گیرنده انسولینی، به ویژه IRS است(۸، ۹). لذا، مطالعات نشان داده‌اند که با کاهش بیان PTB1B می‌توان مقاومت انسولینی را کاهش داد(۱۰، ۱۱). در همین راستا، اخیرا از داروهای بازدارنده‌ی PTB1B به عنوان شیوه درمانی جدید برای درمان دیابت استفاده می‌شود(۱۲).

در خصوص علت دوم ابتلای به دیابت(تغییر سبک زندگی) عوامل گوناگونی نظیر عدم فعالیت جسمانی، سبک زندگی کم‌تحرک، کشیدن سیگار و مصرف زیاد الکل می‌توانند در توسعه دیابت نقش داشته باشند. به نظر می‌رسد عدم فعالیت ورزشی از جمله دلایل مهمی باشد که در ابتلای به دیابت نقش کلیدی ایفا می‌کند(۱۳). در این راستا مطالعات معدودی به بررسی اثرات فعالیت ورزشی بر بیان ژن PTP1B پرداخته‌اند که اکثر آن‌ها اثرات تک جلسه‌ای فعالیت ورزشی(نه سازگاری با تمرین ورزشی) را مورد ارزیابی قرار دادند. به عنوان مثال، روپل و همکاران(۲۰۰۶) اثر حاد یک وهله فعالیت ورزشی شنا(به مدت دو وهله ۳ ساعتی و یک دوره استراحتی ۴۵ دقیقه‌ای بین آن‌ها) را بر مقادیر گلوکز، انسولین و PTP1B رت‌های چاق مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که یک وهله شنا با کاهش معنادار بیان ژن PTP1B همراه بود اما تغییر معناداری در گلوکز و انسولین عضله دو قلوی رت‌ها ایجاد نکرد(۱۴). هم‌چنین، پائولی و همکاران(۲۰۱۰) در پروتکل تمرینی مشابه روپل و همکاران، اثر حاد فعالیت ورزشی را در عضله اسکلتی دو قلوی جوندگان چاق ارزیابی کردند که نتایج آن‌ها نیز نشان داد با وجود کاهش در بیان ژن PTP1B، تغییرات انسولین و گلوکز معنادار نبودند(۱۵). هم‌چنین، دمورا و همکاران(۲۰۱۳) اثر حاد دو وهله‌ی ۱/۵ ساعت فعالیت ورزشی شنا کردن را بر مقادیر گلوکز، انسولین و PTP1B کبدی رت‌های پیر مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نیز بیان‌گر کاهش بیان ژن PTP1B و عدم تغییر در مقادیر انسولین و گلوکز کبدی رت‌های پیر بود(۱۶). به علاوه، روپل و همکاران(۲۰۱۳) نیز اثر حاد دو وهله‌ی ۳ ساعت فعالیت ورزشی شنا کردن را بر مقادیر PTP1B و انسولین هیپوتالاموسی رت‌های چاق مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نیز بیان‌گر کاهش بیان ژن PTP1B و عدم تغییر در مقادیر انسولین بود(۱۷).

در خصوص سازگاری با تمرینات ورزشی، مدیروس و همکاران(۲۰۱۱) اثر ۱۲ هفته تمرین استقامتی شنا را با اضافه بار(۵ درصد وزن بدن) و بدون اضافه بار بر مقادیر انسولین، گلوکز و بیان ژن PTP1B رت‌های چاق مورد ارزیابی قرار دادند. در این مطالعه رت‌ها مجبور بودند روزانه ۱ ساعت را شنا کنند. نتایج آن‌ها بیان‌گر کاهش معنادار مقادیر انسولین، و بیان ژن PTP1B و عدم تغییر معنادار در گلوکز خون رت‌های چاق بود(۱۸). بر خلاف آن‌ها، کومپ و همکاران (۲۰۰۵) اثر ۵ ساعت، ۲۹ ساعت و ۵۳ ساعت و ۳ هفته تمرین آزادانه در چرخ گردان را بر مقادیر انسولین باند شده، انتقال دهنده گلوکز نوع ۴ (GLUT4) و بیان ژن PTP1B مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها بیان‌گر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

کاهش معنادار مقادیر انسولین باند شده و GLUT4 بود اما این پروتکل تمرینی اثری بر PTP1B رت‌های سالم نداشت(۱۹). به علاوه، ویدلی و همکاران(۲۰۰۷) نیز اثر حاد و سازگاری با تمرین ورزشی را در عضله اسکلتی مردان سالم(بی‌تمرین) مورد ارزیابی قرار دادند. در جلسه حاد آزمودنی‌ها ۶۰ دقیقه فعالیت ورزشی روی دوچرخه را با ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام دادند. سپس، آزمودنی‌ها به مدت ۶ روز متناوب ۶۰ دقیقه تمرین روی دوچرخه را با ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام دادند. نتایج آن‌ها بیان‌گر کاهش معنادار انسولین و مقاومت انسولینی(HOMA) و عدم تغییر معنادار در گلوکز خون بود. هم‌چنین، مقادیر PTP1B در هر دو تمرین حاد و سازگاری بدون تغییر بود(۲۰). همان گونه که مشاهده می‌شود تحقیقی تاکنون به بررسی اثر تمرین ورزشی بر روی تردمیل، به مدت ۱۲ هفته و بر روی آزمودنی‌های دیابتی نپرداخته است. لذا، با توجه به نتایج تحقیقات به نظر می‌رسد عدم استفاده از آزمودنی‌های مبتلا به دیابت و هم‌چنین، عدم استفاده از پروتکل تمرینی که کل وزن بدن را به کار گیرد(نوارگردان)، در نتایج تحقیقات بر روی PTP1B و مقاومت انسولینی موثر بوده و انجام تحقیقی در این زمینه ضروری به نظر رسد. هم‌چنین، طبق مطالعه مدیروس و همکاران(۲۰۱۱) (۱۸) به نظر می‌رسد ۱۲ هفته مدت مناسبی برای مشاهده تغییرات PTP1B در رت‌ها باشد. بنابر این، هدف از این تحقیق بررسی اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن PTP1B و مقاومت انسولینی در رت‌های دیابتی بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع مطالعات نیمه تجربی بود. در این تحقیق ۱۶ سر رت نر نژاد ویستار ۲/۵ ماهه و با دامنه وزنی ۲۰ ± ۲۲۰ گرم از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران انتخاب شدند. پس از القای دیابت، رت‌های دیابتی شده به دو گروه تمرین روی تردمیل(تعداد ۸ سر) و کنترل (تعداد ۸ سر) تقسیم شدند. سپس، رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران در اتاقی به ابعاد ۵ ×۱۰ متر در شرایط کنترل شده به لحاظ روشنایی، دمایی و رطوبتی (به ترتیب چرخه ۱۲ ساعت روشنایی - ۱۲ ساعت تاریکی، درجه حرارات ۳±۲۲ سانتی‌گراد و دامنه ۳۰ تا ۶۰ درصد) نگهداری شدند. رت‌ها در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ ×۲۷ ×۴۳ سانتی‌متر با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. برای کاهش اضطراب در رت‌ها علاوه بر رعایت عوامل فوق، در طول دوره تحقیق، رت‌ها توسط یک فرد مورد ارزیابی قرار گرفته، تمرین داده شده و مورد رسیدگی قرار می‌گرفتند(۲۱). رت‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط زندگی در حیوان‌خانه و نحوه دویدن روی نوارگردان آشنا شدند(۲۲). هم‌چنین، کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات(آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) بر اساس AAALAC رعایت گردید. به علاوه پیش از شروع مطالعه مجوز کمیته اخلاق در پژوهش به شماره ۵۶-۱۷۵۶۰ اخذ گردید.

برای القای دیابت از رژیم غذایی پر چرب به مدت ۶ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ در بافر سیترات با PH =۴/۵ و به صورت داخل صفاقی (۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) استفاده شد(۲۳). جهت تهیه غذای پر چرب، به غذای استاندارد جوندگان (که از شرکت خوراک پارس دام خریداری شده بود) مقادیر ۱ درصد پودر کلسترول و ۱ درصد روغن ذرت خالص اضافه شد. یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتایی اندازه‌گیری و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت در نظر گرفته شد(۲۴). لازم به ذکر است که ۳ سر رت از هر گروه تمرین هوازی (به دلیل عدم تحمل STZ و تمرین ورزشی) و ۳ سر رت نیز از گروه کنترل (عدم تحمل STZ) از روند کاری کنار گذاشته شدند.

برنامه تمرینی به مدت ۱۲ هفته تمرین هوازی و ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی سرعت(۱۸ الی ۲۶ متر بر دقیقه) و زمان(۱۰ الی ۵۵ دقیقه) به صورت دویدن روی تردمیل انجام شد(۲۵). به طوری که زمان دویدن از ۱۰ دقیقه در هفته اول، به ۵۵ دقیقه در هفته دوازدهم افزایش یافت. هم‌چنین، سرعت دویدن روی تردمیل از ۱۸ متر/دقیقه در هفته اول تا ۲۶ متر/دقیقه در هفته دوازدهم افزایش یافته بود(جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

جدول ۱. پروتکل ۱۲ هفته‌ای تمرینات هوازی به تفکیک زمان و سرعت دویدن

هفته	زمان دویدن (دقیقه)	سرعت دویدن (متر/دقیقه)
اول	۱۰	۱۸
دو م و سوم	۲۰	۲۰
چهارم و پنجم	۳۰	۲۲
ششم و هفتم	۴۰	۲۲
هشتم و نهم	۵۰	۲۴
دهم تا دوازدهم	۵۵	۲۶

پس از آخرین جلسه تمرینی(۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه) و با رعایت ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی، رت‌های مورد مطالعه در هر گروه با تزریق درون صفاقیِ مخلوطی از کتامین ۱۰ درصد(۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین ۲ درصد(۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس در همین حالت، قفسه سینه حیوان از ناحیه جناغ سینه شکافته شد و خون به طور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۷ دقیقه و در درجه حرارت ۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و برای اندازه‌گیری متغیرهای مورد نظر تا اتمام مرحله پس آزمون، در شرایط فریز ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند(۲۶). لازم به ذکر است که گلوکز خون پیش از فریز کردن نمونه‌های سرمی مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت، عضله دو قلوی رت‌ها نمونه برداری شد و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، در میکروتیوب‌های حاوی مایع RNAlater^{TM} با نسبت ۲۰ درصد جهت انجام آزمایش‌های بیان ژنی غوطه‌ور گردید.

غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی(توسط گلوکز اکسیداز) و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون (ساخت کشور ایران) اندازه گیری شد. دقت درونی(CV) و دقت بیرونی کیت گلوکز به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه گیری ۵ میلی‌گرم/دسی لیتر بود. انسولین سرمی به روش الایزای ساندویچی و با استفاده از کیت تجاری شرکت Demeditec(کشور آلمان) اندازه گیری شد. دقت درونی(CV) و دقت بیرونی کیت انسولین به ترتیب ۲/۶ و ۲/۸۸ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۱/۷۶ μU/ml بود. شاخص مقاومت انسولینی (HOMA-IR) نیز با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید(۲۷):

HOMA-IR=انسولین ناشتا(μU/ml)×گلوکز ناشتا(mmol/L)/۲۲/۵

هم‌چنین، استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری RNeasy (شرکت QIAGEN، کشور آلمان) انجام گرفت(۲۸). سپس، استخراج PTPmRNA توسط روش Real time-PCR و بوسیله دستگاه روتور ژن ۶۰۰۰ (با استفاده از کیت تک مرحله‌ای شرکت تاکارا، کشور کره جنوبی) مطابق با دستورالعمل موجود در کیت انجام پذیرفت. تجزیه و تحلیل منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR انجام پذیرفت. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه روتوژن در Real time-PCR شامل: ۴۲° سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه، ۹۵° سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و ۴۰ سیکل با ۹۴° سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰° سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه بود. پس از مرحله PCR، جهت مطالعه ویژگی پرایمرها، از دماهای ۵۰ تا ۹۹° درجه سانتی‌گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از RNA پلیمراز نوع ۲ (به عنوان ژن کنترلی) جهت مقایسه و تعیین بیان ژن PTP-1B بر طبق الگوی توالی پرایمرها استفاده گردید(جدول ۲). به علاوه، برش‌نگاری‌های مربوط به واکنش‌ها توسط نرم افزار نصب بر دستگاه Real time-PCR محاسبه و ثبت گردید. در نهایت، جهت کمی‌سازی بیان PTPmRNA، از روش ΔΔCT مقایسه‌ای استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. توالی پرایمر و دمای مربوطه

ژن	توالی پرایمر	دما
PTP-1B	For: GCAGTTGGAGTTGGAGAACCTG Rev: CGTGCTCTGGGCTGAGTG	۶۰
RNA polymrazeII	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	۶۰

پس از جمع‌آوری داده‌ها، آن‌ها در بسته‌های نرم افزاری اکسل نسخه ۲۰۱۳، نرم افزاری آماری Stata نسخه ۱۲ (شرکت StataCorp، کشور آمریکا) و تعیین بر چسب‌هایی برای متغیرهای وابسته مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به نحوی که از مقادیر گرایش مرکزی و پراکندگی(میانگین و انحراف استاندارد) و هم‌چنین ترسیم گراف جهت برآورد آمار توصیفی تحقیق استفاده شد. سپس از آزمون تی مستقل جهت برآورد تفاوت‌های بین گروهی استفاده شد. هم‌چنین، از ضریب همبستگی پیرسون برای ارتباط‌سنجی بین متغیرهای وابسته استفاده شد. سطح معناداری $p<۰/۰۵$ نیز به عنوان ضابطه تصمیم‌گیری جهت رد یا قبول فرضیه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در خصوص تجزیه و تحلیل داده‌های وزن رت‌های دیابتی، نتایج بیانگر کاهش معنادار وزن رت‌های گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل بود (۶۶/۷ تا ۳۹/۳، ۵/۹۴ ± ۵۳/۰۰ = CI). هم‌چنین، یافته‌ها بیان‌گر کاهش معنادار مقادیر گلوکز خونِ گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل بود (۱۲۲/۵۹ تا ۴۰/۶، ۱۷/۷۷± ۸۱/۶=CI). با این حال، مقادیر انسولین سرمی گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافته بود (۱/۹- تا ۱/۳۳-، ۰/۲۵± ۰/۷۶- = CI)(جدول ۳). بر خلاف آن، مقادیر مقاومت انسولینی رت‌های گروه تمرین هوازی در قیاس با گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود (۱/۳۷ تا ۰/۳۳، ۰/۲۲± ۰/۸۵۴ = CI)(جدول ۳).

جدول ۳. پروفایل مقاومت انسولینی و وزن رت‌های گروه تمرین هوازی (۵ سر رت) و گروه کنترل (۵ سر رت) پس از ۱۲ هفته مداخله تمرینی

شاخص *	گروه	پس آزمون(M±SD)	مقادیر t	سطح معناداری
وزن (گرم)	کنترل	۳۷۶/۴± ۱۰/۶۹	۸/۹۲	۰/۰۰۰۱
	تمرین	۳۲۳/۴± ۷/۹		
گلوکز خون (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	کنترل	۳۰۴/۰۰± ۱۷/۱	۴/۵۹	۰/۰۰۲
	تمرین	۲۲۲/۴± ۳۵/۸		
انسولین سرمی (µU/ml)	کنترل	۶/۱۶± ۰/۳۲	-۳/۰۷	۰/۰۱۵
	تمرین	۶/۹۲± ۰/۴۴		
شاخص مقاومت انسولینی	کنترل	۴/۶۲± ۰/۳۴	۳/۷۵	۰/۰۰۶
	تمرین	۳/۷۷± ۰/۳۷۷		

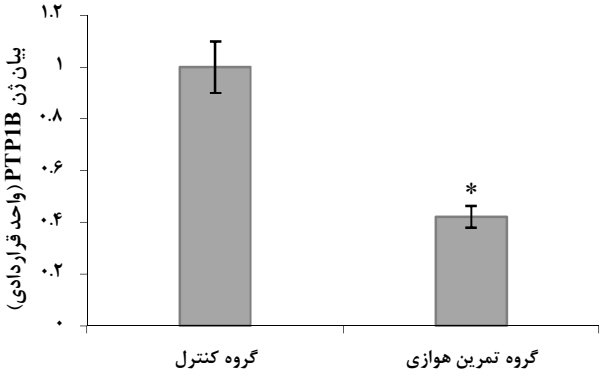
***- سطح معناداری پذیرفته شده در $p<۰/۰۵$، M: میانگین و SD: میزان انحراف معیار را نشان می‌دهد.**

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

هم‌چنین، یافته‌های تحقیق بیان‌گر آن بود که مقادیر بیان ژن PTP1B در رت‌های گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود (۰/۹۵ تا ۰/۲، ۰/۱۶ ± ۰/۵۸ = CI)(نمودار ۱).



نمودار ۱. اثر مداخله تمرین هوازی بر بیان ژن PTP1B در رت‌های گروه تمرین هوازی (۵ سر رت) و گروه کنترل(۵ سر رت). مقادیر t بین‌گروهی برابر ۳/۵۹ و سطح معناداری برابر ۰/۰۰۷ بود. *بیانگر سطح معناداری پذیرفته شده در p<۰/۰۵ است.

هم‌چنین، مقادیر ضریب همبستگی پیرسون بین متغیرهای مقاومت انسولینی، وزن و بیان ژن PTP1B در جدول ۴ آورده شده است. نتایج بیان‌گر وجود ارتباط مستقیم و معنادار بین بیان ژن PTPB1 و وزن رت‌های دیابتی بود (p=۰/۰۰۳). هم‌چنین، ارتباط مستقیم و معناداری بین بیان ژن PTPB1 و گلوکز خون رت‌های دیابتی وجود داشت (p=۰/۰۰۱). با این وجود، ارتباط معکوس و معناداری بین بیان ژن PTPB1 و میزان انسولین سرمی رت‌های دیابتی وجود داشت (p=۰/۰۰۱) و بر خلاف آن، ارتباط مستقیم و معناداری بین بیان ژن PTPB1 و مقاومت انسولینی رت‌های دیابتی وجود داشت (p=۰/۰۰۱).

جدول ٤. همبستگی بین ژن PTP1B و متغیرهای مقاومت انسولینی و وزن رت‌ها پس از مداخله تمرینی هوازی

آزمون آماری	متغیر	وزن	گلوکز خون	انسولین سرمی	شاخص مقاومت انسولینی
r	بیان ژن	۰/۸۲۶	۰/۸۸۷	- ۰/۸۷	۰/۷۹۵
سطح معناداری	PTP1B	*۰/۰۰۳	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۱	*۰/۰۰۶

***بیانگر سطح معناداری پذیرفته شده در p<۰/۰۵ است.**

بحث

پروتئین-تیروزین فسفاتاز ۱ نوع B (PTP1B) تنظیم کننده منفی مسیرهای سیگنالی انسولین بوده و نقش مهمی در توسعه مقاومت انسولینی و دیابت دارد(۸). لذا، در مطالعه حاضر اثر ۱۲ تمرین هوازی بر PTP1B عضله دوقلو و مقاومت انسولینی رت‌های دیابتی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بیانگر کاهش معنادار ۵۸ درصدی در مقادیر بیان ژن PTP1B در گروه تمرین هوازی بود. هم‌چنین، مقادیر مقاومت انسولینی رت‌های دیابتی با کاهش معنادار ۱۸/۴ درصدی در گروه تمرین هوازی همراه بود. به علاوه، ارتباط مستقیم و معناداری بین مقادیر PTP1B و مقاومت انسولینی وجود داشت. به عبارت دیگر با کاهش مقادیر PTP1B این انتظار می‌رود که مقاومت انسولینی کاهش یابد و بالعکس. با این وجود، مقادیر انسولین سرمی در رت‌های دیابتی افزایش یافته بود و احتمالا بیانگر این مسئله است که تمرین هوازی در ترکیب با کاهش PTP1B ناشی از آن، قادر است میزان ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراسی را افزایش دهد (۱۲/۳۳ درصد) که به دلیل آسیب

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

دیدن سلول‌های پانکراسی رت‌ها (با استفاده از STZ) میزان آن کاهش یافته بود. با این حال، مقاومت انسولینی در رت‌های دیابتی به دلیل کاهش مقادیر گلوکز خون (۲۶/۸۴ درصدی)، کاهش یافته بود.

در خصوص اثرات فعالیت ورزشی حاد بر PTP1B و مقاومت انسولینی در معدود نتایج موجود، نتایج ضد و نقیضی وجود دارد. به عنوان مثال، روپل و همکاران (۲۰۰۶)، پائولی و همکاران (۲۰۱۰)، دمورا و همکاران (۲۰۱۳) و روپل و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که بیان ژن PTP1B متعاقب ۳ الی ۶ ساعت فعالیت ورزشی حاد (شنا کردن) به طور معناداری کاهش می‌یابد اما این پروتکل‌های فعالیت ورزشی اثری بر تغییرات شاخص‌های مقاومت انسولینی رت‌ها نداشتند(۱۴-۱۷). به نظر می‌رسد تفاوت در نوع پروتکل تمرینی از اصلی‌ترین دلایل تفاوت پاسخ‌های تمرینی نسبت به این مطالعات است. بیان شده است که یک جلسه فعالیت ورزشی گرچه که می‌تواند متابولیسم گلوکز (تا ۴۰ درصد) و هم‌چنین، انتقال GLUT4 را بهبود بخشد اما سازگاری با تمرین ورزشی عامل اصلی در کاهش مقاومت انسولینی است(۲۹). همچنین، بیان شده است که حداقل ۱۶ ساعت (۲۹) و حداکثر ۴۸ تا ۷۲ ساعت(۳۰) پس از اتمام جلسه فعالیت ورزشی، بهبود پروفایل گلوکزی مشاهده می‌شود و این در حالی است که مطالعات یاد شده پس از اتمام جلسه تمرینی نمونه گیری خونی را انجام دادند. حال اینکه این موضوع در مطالعه حاضر رعایت شده بود و نمونه‌گیری خونی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام پذیرفت. همچنین، در هیچکدام از مطالعات یاد شده، از رت‌های دیابتی شده به عنوان آزمودنی استفاده نشده بود که شدت پاسخ‌های تمرینی می‌تواند تحت تاثیر آن قرار گیرد.

در خصوص سازگاری با تمرینات ورزشی، بیان شده است که حداقل ۱۵۰ دقیقه/هفته فعالیت جسمانی متوسط یا ۹۰ دقیقه/هفته فعالیت جسمانی طبق نظر انجمن آمریکایی طب ورزشی (ACSM) می‌تواند از ابتلای به مقاومت انسولینی جلوگیری کرده یا آن را کاهش دهد(۳۱).

در همین راستا، از معدود مطالعات انجام شده کومپ و همکاران (۲۰۰۵) و ویدلی و همکاران (۲۰۰۷) اثرات حاد و سازگاری با تمرینات ورزشی را بر PTP1B و مقاومت انسولینی به ترتیب در رت‌ها و انسان‌های تمرین نکرده، مورد ارزیابی قرار دادند(۱۹, ۲۰). نتایج آنها نشان داد که با وجود کاهش معنادار در متغیرهای نشانگر مقاومت انسولینی (تنها در سازگاری با تمرین ورزشی و نه طی وهله حاد فعالیت ورزشی)، تغییرات معناداری در PTP1B متعاقب هر دو وهله حاد فعالیت ورزشی و یا سازگاری با تمرینات مشاهده نشد. بنظر می‌رسد تفاوت در نوع آزمودنی (رت‌های سالم و نه دیابتی و همچنین انسان‌های سالم و نه دیابتی) و تفاوت در نوع پروتکل تمرینی از جمله دلایل تفاوت در نتایج بین مطالعه آنها و مطالعه حاضر است. به عبارت دیگر، کومپ و همکاران (۲۰۰۵) از پروتکل تمرین شنا کردن در رت‌ها (۱۹) و ویدلی و همکاران (۲۰۰۷) از تمرین روی دوچرخه ارگومتر (۲۰) به عنوان پروتکل تمرینی استفاده کرده بودند که در هر دو این پروتکل‌ها میزان به کارگیری وزن بدن کاهش می‌یابد و عدم مشاهده تغییرات در بیان ژن PTP1B نیز بنظر می‌رسد به این دلیل باشد (۱۸). بر خلاف آنها و در توافق با مطالعه حاضر، مدیروس و همکاران (۲۰۱۱) اثر تمرین شنا با اضافه بار را بر PTP1B و مقاومت انسولینی رت‌های چاق مورد ارزیابی قرار دادند(۱۸). آنها نشان دادند که متعاقب اعمال اضافه بار، مقادیر انسولین خون و بیان ژن PTP1B کاهش می‌یابد. با این حال، آنها از مدل رت‌های چاق و پروتکل تمرینی شنا کردن استفاده کرده بودند که با تحقیق حاضر مغایرت داشت. همچنین، آنها نتوانستند تغییرات معناداری را مقادیر گلوکز خون (مقاومت انسولینی) رت‌های چاق نشان دهند که بر خلاف نتایج مطالعه حاضر بود. از جمله محدودیت‌های تحقیق می‌توان به عدم استفاده از رت غیردیابتی و عدم استفاده از روش‌های جایگزین ایجاد دیابت نوع ۲ جهت جلوگیری از آسیب به سلول‌های بتای پانکراس، اشاره کرد. همچنین، عدم ارزیابی انسولین باند شده به گیرنده عضلانی در رت‌های دیابتی، عدم ارزیابی مقادیر پروتئینی PTP1B (توسط روش وسترن

www.SID.ir

Archive of SID

بلات) و عدم ارزیابی‌های کبدی و هیپوتالاموسی PTP1B نیز از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر بودند.

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد استفاده از پروتکل تمرین هوازی روی تردمیل (با شدت و مدت یاد شده) در رت‌های دیابتی قادر باشد تا مقاومت انسولینی و PTP1B را به طور معناداری کاهش دهد. هم‌چنین، وجود ارتباط مستقیم و معنادار بین PTP1B و مقاومت انسولینی احتمالا موید این مطلب است که هر گونه تغییر در مقاومت انسولینی بواسطه تمرین ورزشی، با کاهش تنظیم منفی مسیر سیگنالی انسولین انجام می‌پذیرد. همچنین، پیشنهاد می‌شود در تحقیقی مشابه، ارزیابی مقادیر پروتئینی PTP1B انجام گیرد تا دستاوردهای تمرینی بهتر نشان داده شود.

تشکر و قدردانی

محققین از مسئولین دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران و هم‌چنین انستیتو پاستور ایران به جهت مساعدت با اجرای تحقیق حاضر کمال تشکر و قدردانی را ابراز می‌دارند.

منابع

1.Robertson RP, Bogardus C. Antagonist: diabetes and insulin resistance: philosophy, science, and the multiplier hypothesis. Discussion. The Journal of laboratory and clinical medicine. 1995;125(5):560-5.

2.Kahn CR. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. Diabetes. 1994;43(8):1066-85.

3.Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. Oman Med J. 2012;27(4):269-73.

4.Ripsin CM, Kang H, Urban RJ. Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus. Am Fam Physician. 2009;79(1):29-36.

5.McCarthy MI. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. New England Journal of Medicine. 2010;363(24):2339-50.

6.Travers ME, McCarthy MI. Type 2 diabetes and obesity: genomics and the clinic. Human genetics. 2011;130(1):41-58.

7.Gum RJ, Gaede LL, Koterski SL, Heindel M, Clampit JE, Zinker BA, et al. Reduction of protein tyrosine phosphatase 1B increases insulin-dependent signaling in ob/ob mice. Diabetes. 2003;52(1):21-8.

8.Cho H. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and obesity. Vitam Horm. 2013;91:405-24.

9.Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, et al. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. Science. 1999;283(5407):1544-8.

10.Delibegovic M, Zimmer D, Kauffman C, Rak K, Hong E-G, Cho Y-R, et al. Liver-specific deletion of protein-tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) improves metabolic syndrome and attenuates diet-induced endoplasmic reticulum stress . Diabetes. 2009;58(3):590-9.

11.Agouni A, Mody N, Owen C, Czopek A, Zimmer D, Bentires-Alj M, et al. Liver-specific deletion of protein tyrosine phosphatase (PTP) 1B improves obesity- and pharmacologically induced endoplasmic reticulum stress. Biochemical Journal. 2011;438(2):369-78.

12.Tamrakar AK, Maurya CK, Rai AK. PTP1B inhibitors for type 2 diabetes treatment: a patent review (2011 - 2014). Expert Opin Ther Pat. 2014;24(10):1101-15.

13.Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. Obstetrical & gynecological survey. 2002;57(3):162-4.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

14.Ropelle ER, Pauli JR, Prada PcO, De Souza CuT, Picardi PK, Faria MC, et al. Reversal of dietâ induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRSâ serine phosphorylation. The Journal of physiology. 2006;577(3):997-1007.

15.Pauli JR, Ropelle ER, Cintra DE, De Souza CT, da Silva AS, Moraes JC, et al. Acute exercise reverses aged-induced impairments in insulin signaling in rodent skeletal muscle. Mechanisms of ageing and development. 2010;131(5):323-9.

16.De Moura LP, Pauli LSS, Cintra DE, de Souza CT, da Silva ASR, Marinho R, et al. Acute exercise decreases PTP-1B protein level and improves insulin signaling in the liver of old rats. Immunity & Ageing. 2013;10(1):1.

17.Chiarreotto-Ropelle EC, Pauli LS, Katashima CK, Pimentel GD, Picardi PK, Silva VR, et al. Acute exercise suppresses hypothalamic PTP1B protein level and improves insulin and leptin signaling in obese rats. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2013;305(5):E649-E59.

18.Medeiros C, Frederico MJ, da Luz G, Pauli JR, Silva AS, Pinho RA, et al. Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of dietâ€‘induced obesity rats. Journal of cellular physiology. 2011;226(3):666-74.

19.Kump DS, Booth FW. Alterations in insulin receptor signalling in the rat epitrochlearis muscle upon cessation of voluntary exercise. The Journal of physiology. 2005;562(3):829-38.

20.Wadley GD, Konstantopoulos N, Macaulay L, Howlett KF, Garnham A, Hargreaves M, et al. Increased insulin-stimulated Akt pSer473 and cytosolic SHP2 protein abundance in human skeletal muscle following acute exercise and short-term training. Journal of applied physiology. 2007;102(4):1624-31.

21.Van Sluyters R, Obernier J. Guidelines for the care and use of mammals in neuroscience and behavioral research. Contemporary topics in laboratory animal science. 2004;43(2):48.+–

22.Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henriksen EJ, Musch T, et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. American Physiological Society Bethesda. 2006:1-80.

23.Grise KN, Olver TD, McDonald MW, Dey A, Jiang M, Lacefield JC, et al. High Intensity Aerobic Exercise Training Improves Deficits of Cardiovascular Autonomic Function in a Rat Model of Type 1 Diabetes Mellitus with Moderate Hyperglycemia. Journal of diabetes research. 2015;2016.

24.Sun Y ,Lu NC, Parmley WW, Hollenbeck CB. Effects of cholesterol diets on vascular function and atherogenesis in rabbits. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. 2000;224(3):166-71.

25.Sikkema SR. High-Intensity Interval Training Improves Insulin Sensitivity Independent of Adipose Tissue Inflammation. 2011.

26.Khodadadi H, Rajabi H, Attarzadeh SR, Reza S, Abbasian S. The Effect of High Intensity Interval Training (HIIT) and Pilates on Levels of Irisin and Insulin Resistance in Overweight Women. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2014;16(3):190-6.

27.Lazo M, Hernaez R, Eberhardt MS, Bonekamp S, Kamel I, Guallar E, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988â€“1994. American journal of epidemiology. 2013:kws448.

28.Coughlin CC, Finck BN, Eagon JC, Halpin VJ, Magkos F, Mohammed BS, et

www.SID.ir

Archive of SID

al. Effect of marked weight loss on adiponectin gene expression and plasma concentrations. Obesity. 2007;15(3):640-5.

29.Borghouts L, Keizer H. Exercise and insulin sensitivity: a review. International journal of sports medicine. 2000;21(01):1-12.

30.Ross R. Does exercise without weight loss improve insulin sensitivity? Diabetes Care. 2003۵.-۹۴۴:(۳)۲۶;

31.Turcotte LP, Fisher JS. Skeletal muscle insulin resistance: roles of fatty acid metabolism and exercise. Physical therapy. 2008;88(11):1279-96.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:50 +0430 on Tuesday May 30th 2017

www.SID.ir