DOI: 10.22122/jims.v39i649.14799 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و نهم/شماره‌ی ۶۴۹/هفته‌ی اول بهمن ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۸ تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۱۱/۷

تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های استرس اکسیداتیو شبکه آندوپلاسمی (X-box Binding Protein-1 و Eukaryotic Initiation Factor-2α) در بافت قلب موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

معصومه حسین‌زاده[۱]، اسماء طاهری[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های استرس اکسیداتیو شبکه‌ی آندوپلاسمی (Endoplasmic reticulum یا ER) شامل عامل شروع‌کننده‌ی ترجمه‌ی یوکاریوتی ۲ (Eukaryotic Initiation Factor-2α یا eIF2α) و پروتئین متصل شونده به جعبه‌ی X (X-Box Binding Protein-1 یا XBP-1) در بافت قلب موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بود.

روش‌ها: ۲۰ سر موش صحرایی نر با میانگین وزنی ۱۱/۳± ۲۰۴/۰ گرم، به طور تصادفی در چهار گروه شامل شاهد سالم، تمرین سالم، شاهد مبتلا به دیابت و تمرین مبتلا به دیابت قرار گرفتند. جهت القای دیابت، از تزریق دورن صفاقی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin یا STZ) (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده گردید. پس از تأیید القای دیابت از طریق اندازه‌گیری سطح گلوکز خون ناشتا با استفاده از گلوکومتر، برنامه‌ی تمرین هوازی با شدت متوسط به مدت ۳۰ دقیقه و سرعت ۱۸ متر بر دقیقه، ۵ روز در هفته طی ۶ هفته اجرا شد. بیان ژن‌های XBP-1 و eIF2α با استفاده از روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان بیان ژن‌های XBP-1 و eIF2α در بافت قلب موش‌های مبتلا به دیابت، به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد سالم بود. پس از اتمام پروتکل تمرین هوازی، میزان بیان ژن‌های فوق در بافت قلب موش‌های گروه‌های تمرین مبتلا به دیابت، تمرین سالم و شاهد سالم به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مبتلا به دیابت پایین‌تر بود.

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی با کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو ER در قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت، می‌تواند به عنوان مداخله‌ی غیر دارویی در درمان بیماران مبتلا به دیابت مفید باشد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی؛ استرپتوزوتوسین؛ شبکه‌ی آندوپلاسمی؛ XBP-1؛ eIF2α

ارجاع: حسین‌زاده معصومه، طاهری اسماء. **تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های استرس اکسیداتیو شبکه آندوپلاسمی (X-box Binding Protein-1 و Eukaryotic Initiation Factor-2α) در بافت قلب موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۴۹): ۸۷۴-۸۶۷.

مقدمه

دیابت یک بیماری جدی و طولانی مدت و از جمله ده علت اصلی مرگ بزرگسالان می‌باشد (۱). مدیریت و مراقبت ضعیف بیماری دیابت، باعث چندین عارضه‌ی سیستمیک پیچیده مانند رتینوپاتی دیابتی، نفروپاتی دیابتی و نوروپاتی دیابتی می‌شود (۴-۲). تعداد زیادی از تحقیقات، نقش استرس شبکه‌ی آندوپلاسمی (Endoplasmic reticulum یا ER) را در بیماری دیابت نشان داده‌اند که احتمالاً مسیرهای سیگنالینگ اصلی ناشی از استرس ER و استرس اکسیداتیو است (۵). ER یک اندامک داخل سلولی است که نقش مهمی در هموستاز کلسیم و حفظ سلول‌های عصبی دارد. تنش‌های وارد آمده به ER، موجب تجمع پروتئین‌های تانخورده می‌شود و این امر می‌تواند منجر به آسیب سلول شود (۷-۶). از آن‌جایی که سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس مسؤول تولید انسولین در پاسخ به

۱- مربی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانش‌آموخته‌ی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: اسماء طاهری: دانش‌آموخته‌ی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

Email: asma.taheri66@gmail.com

گلوکز می‌باشند، فرایند بیوسنتز پروتئین در این سلول‌ها بالا و نیازمند یک ER وسیع و گسترده است (۸). عواملی همچون افزایش حجم بیوسنتز انسولین و پلی‌پتید آمیلوئیدی که همراه با انسولین سنتز و ترشح می‌شود، اسیدهای چرب آزاد اشباع و عوامل دیگری که منجر به استرس ER در این سلول‌ها می‌گردد، ممکن است مسیرهای پرو-آپوپتوتیک را فعال نماید که باعث از دست رفتن توده‌ی بزرگی از سلول‌های بتای پانکراس و دنبال آن، دیابت نوع ۱ یا ۲ می‌شود (۹). بر اساس مطالعات اخیر، دیابت القاء شده توسط استرس ER در اثر نشانگرهای استرس از جمله عامل شروع‌کننده‌ی ترجمه‌ی یوکاریوتی ۲ (Eukaryotic Initiation Factor-2α یا eIF2α) و پروتئین متصل شونده به جعبه‌ی X (X-Box Binding Protein-1 یا XBP-1) و دیگر عوامل دخیل در فرایند دیابتی شدن و رتینوپاتی، نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۱۰).

دو پروتئین مهم XBP1 و eIF2α به عنوان شاخص‌های مورد بررسی استرس ER هستند (۱۱). تجمع پروتئین‌های تانخوره در شبکه‌ی سارکوپلاسمی، باعث راه‌اندازی مسیرهای سیگنالینگ شناخته شده با عنوان پاسخ پروتئین تانخورده (Unfolded protein response یا UPR) می‌شود که از طریق گیرنده‌های مولکولی بر روی غشای ER، عامل eIF2α را فعال می‌کند و موجب تضعیف سنتز پروتئین‌های غیر ضروری می‌شود و فاکتور فعال رونویسی ۶ (Activating transcription factor 6 یا ATF6) و آنزیم نیازمند اینوزیتول (Inositol-requiring enzyme 1 یا IRE-1) که فاکتور XBP1 سوبسترای اصلی نیازمند اینوزیتول می‌باشد و در اثر اتصال این فاکتور رونویسی فعال می‌شود و با بیان ژن‌های دخیل در تاخوردگی درست پروتئین‌ها، آزاد شدن و از بین رفتن پروتئین‌های ER، ظرفیت این اندامک داخلی برای تاخوردن پروتئین افزایش می‌یابد. اگر این مسیرها نتوانند هموستاز را بازیابی کنند، آپوپتوز برای از بین بردن سلول‌های آسیب دیده فعال می‌شود (۱۲). نتایج سایر تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی هوازی، باعث کاهش استرس ER به وسیله‌ی هوموستاز پروتئین‌های XBP-1 و C/EBP-homologous protein (CHOP) شده است (۱۴-۱۳).

نتایج پژوهش Singleton و همکاران نشان داد که نشانگرهای استرس ER که از عوامل اصلی مرگ سلولی می‌باشند، به وسیله‌ی فعالیت ورزشی استقامتی کنترل می‌شوند و فعالیت ورزشی باعث کاهش پروتئین‌های XBP-1 در موش‌های چاق شده است (۱۵). در مطالعه‌ی Wu و همکاران، میزان بیان ژن XBP-1 که از شاخه‌های استرس ER می‌باشد، پس از چهار هفته فعالیت استقامتی اندازه‌گیری شد. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که میزان ژن XBP-1 به سطح نرمال کاهش می‌یابد (۱۶). این تحقیقات بیان‌کننده‌ی تأثیرات مثبت فعالیت ورزشی بر کاهش التهاب و استرس ER می‌باشد که در نهایت، منجر به ایجاد تعادل درون سلولی می‌شود. پژوهش‌ها در مورد نقش استرس ER در دیابت به سرعت پیشرفت کرده است و هدف آن‌ها، کاهش استرس ER و به عنوان یک مداخله درمانی می‌باشد (۱۷). لازم به ذکر است که نقش فعالیت بدنی به عنوان یک عامل محافظ در برابر پیشرفت بیماری‌های نورودژنراتیو شناخته شده است (۱۸). هرچند تحقیقات مختلفی در رابطه با اثرات تمرینات ورزشی مختلف بر بیماران مبتلا به دیابت صورت گرفته است، اما هنوز نیاز به بررسی بیشتر در سطح سلولی و مولکولی احساس می‌گردد. همچنین، پژوهش‌های اندکی در رابطه با اثرات تمرینات استقامتی بر ژن‌های دخیل در استرس ER انجام گرفته است. مطالعه‌ی حاضر به بررسی اثر شش هفته فعالیت استقامتی بر بیان ژن برخی شاخص‌های نشان دهنده‌ی استرس ER از جمله eIF2α و XBP1 پرداخت.

روش‌ها

این تحقیق از نوع تجربی بود که با کد اخلاق EE/9.3.0259296/SCU.AC.IR، در دانشگاه شهید چمران اهواز تأیید گردید. ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفتگی و محدوده‌ی وزنی ۱۱/۳ ± ۲۰۴/۰ گرم، از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در قفس های استاندارد پلی‌کربنات در شرایط دمایی ۲ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد تحت چرخه‌ی ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی- روشنایی و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش نگهداری شدند. پس از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، آشناسازی با نوار گردان و دستکاری، موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه (هر گروه ۵ سر) شاهد مبتلا به دیابت، تمرین دیابت،تمرین سالم و شاهد سالم تقسیم شدند.

القای دیابت: پس از اتمام پروتکل آشناسازی و به دنبال ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، القای دیابت با تزریق درون صفاقی محلول استرپتوزوتوسین (Streptozotocin یا STZ) (شرکت Sigma، Louis، آمریکا) حل شده در بافر سیترات ۰/۰۵ مولار با pH = ۴/۵، ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به منظور ایجاد دیابت نوع ۱ صورت گرفت (۱۴). به موش های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات ۰/۰۵ مولار با pH = ۴/۵ به صورت درون صفاقی تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم، یک قطره‌ی خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و نوار با استفاده از دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت Roche، آلمان) اندازه‌گیری و موش‌های صحرایی که قند خون آن‌ها بیشتر از

۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود، به عنوان مبتلا به دیابت در نظر گرفته شدند. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون، در طول دوره‌ی برنامه‌ی تمرینی هر هفته و نیز پایان دوره، قند خون موش‌ها اندازه‌گیری گردید (۱۹).

پروتکل تمرین هوازی: پس از اطمینان از حصول نوروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی نر، پروتکل تمرین هوازی به مدت شش هفته اجرا شد. در پژوهش حاضر، پروتکل تمرین هوازی بر اساس مطالعه‌ی Chae و همکاران (۲۰) انجام گرفت. ابتدا به منظور خوگیری به شرایط آزمایشگاه، نوار گردان و دستکاری، حیوانات ۵ روز در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان راه رفتند. سپس گروه‌های ورزشی دیابت تمرین و سالم تمرین در معرض تمرین نوار گردان، ۵ جلسه در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفتند (به علت این که نمونه‌ها موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۱ بودند، هرقدر دوره‌ی تمرین طولانی‌تر باشد، تعداد تلفات افزایش می‌یابد، پروتکل ۶ هفته‌ای انتخاب گردید) (۲۰). هر هفته زمان و سرعت تمرین به تدریج افزایش پیدا کرد؛ از ۱۰ دقیقه در هفته‌ی اول و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آغاز گردید. هفته‌ی دوم زمان به ۲۰ دقیقه و سرعت ۱۰ متر در دقیقه، هفته‌ی سوم زمان ۲۰ دقیقه ثابت ماند و سرعت به ۱۵-۱۴ متر در دقیقه افزایش یافت، هفته‌ی چهارم سرعت ۱۵-۱۴ متر در دقیقه مانند هفته‌ی سوم و زمان به ۳۰ دقیقه افزایش یافت، هفته‌ی پنجم زمان ۳۰ دقیقه و سرعت ۱۸-۱۷ متر در دقیقه بود و هفته‌ی ششم برای رسیدن به سازگاری، زمان و سرعت تمرین ثابت باقی ماند (جدول ۱). تمام جلسات تمرینی در پایان سیکل خواب حیوانات و بین ساعت ۱۸-۱۶ عصر برگزار گردید.

جدول ۱. پروتکل برنامه‌ی تمرین هوازی در هفته‌های مختلف

هفته	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)
اول	۱۰	۱۰
دوم	۱۰	۲۰
سوم	۱۵-۱۴	۲۰
چهارم	۱۵-۱۴	۳۰
پنجم	۱۸-۱۷	۳۰
ششم	۱۸-۱۷	۳۰

استخراج نمونه و روش اندازه‌گیری: در پایان شش هفته برنامه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، موش‌ها به وسیله‌ی تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و بافت قلب به عنوان نمونه استخراج و در نیتروژن با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منجمد گردید. نمونه‌ها نیز تا زمان انجام آزمایش‌های مولکولی در فریزر با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR): حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت قلب جهت استخراج RNA کل به نسبت ۱ به ۱۰ با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با محلول کلروفرم، مخلوط گردید و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شد. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با محلول ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در دمای ۴ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۰دقیقه و سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. پلیت حاوی RNA در محلول اتانول شستشو و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش قرار گرفت و طبق پروتکل شرکت Eppendorf (آلمان) و به نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تلخیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligo dt MWG-Biotech (آلمان) و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (Fermentas) بر اساس پروتکل مربوط انجام شد. از تکنیک RT-PCR جهت تأیید بیان ژن‌های استرس اکسیداتیو ER (XBP-1 و eIF2α) به صورت کمی استفاده شد. هر واکنش PCR با استفاده از دستگاه‌های PCR Master Mix (Applied Biosystems, Waltham، آمریکا) و SYBR Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems, Foster City، آمریکا) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه RT-PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه تنظیم گردید. ضمن این که از Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) به عنوان ژن شاهد استفاده شد. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در مطالعه‌ی حاضر، با روش مقایسه‌ای چرخه‌ی آستانه (Cycle thereshold) مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول $R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$، میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز گردید و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد. توالی پرایمرها در جدول ۲ ارایه شده است.

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن	توالی پرایمر
eIF2α	For: TAAAGAATGGAGGGGTCTAAGG Rev: GATGTTAATGGTGGACCTGTGG
XBP-1	For: GTCCAAGGGGAATGGAGTAAGG Rev: GGAAGATGTTCTGGGGAGGTGA
GAPDH	For: GACATGCCGCCTGGAGAAAC Rev: AGCCCAGGATGCCCTTTAGT

XBP-1: X-Box Binding Protein-1; eIF2α: Eukaryotic Initiation Factor-2α
GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. برای بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌ها از One-way ANOVA و در صورت معنی‌داری، به منظور تعیین تفاوت بین میانگین‌های دو گروهی از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

یافته‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در وزن اولیه‌ی گروه‌ها وجود نداشت ($P > ۰/۰۵$)، اما در هفته‌های پایانی مطالعه، میانگین تغییرات وزن موش‌های گروه‌های مبتلا به دیابت نسبت به گروه شاهد سالم به صورت معنی‌داری کمتر بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین، میانگین تغییرات وزن گروه‌های مبتلا به دیابت تمرین و سالم تمرین نسبت به گروه شاهد مبتلا به دیابت اگرچه پس از شش هفته تمرین افزایش یافت، اما این افزایش معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$) (جدول ۳).

پس از القای دیابت، سطوح گلوکز خون در گروه‌های دیابت به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$) و این اختلاف تا پایان دوره‌ی پژوهش در مقایسه با گروه شاهد سالم همچنان معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین، در پایان برنامه‌ی تمرینی، گلوکز خون گروه دیابت تمرین نسبت به گروه شاهد دیابت به صورت معنی‌داری پایین‌تر بود ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۴).

با توجه به میانگین گروه‌ها، مشخص شد که القای دیابت موجب افزایش معنی‌دار در میزان بیان ژن XBP-1 در موش‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه شاهد سالم شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین، میزان بیان ژن XBP-1 در گروه تمرین مبتلا به دیابت و گروه شاهد مبتلا به دیابت پایین‌تر بود ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۱).

با توجه به میانگین گروه‌ها، مشخص شد که القای دیابت موجب افزایش معنی‌دار در میزان بیان ژن eIF2α موش‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه شاهد سالم شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین، میزان بیان ژن eIF2α در گروه‌های تمرین مبتلا به دیابت و شاهد مبتلا به دیابت پایین‌تر بود ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۲).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی با شدت متوسط، مانع از کاهش وزن غیر طبیعی و کاهش میزان قند خون در موش‌های دیابتی القا شده با STZ می‌شود. همچنین، بیماری دیابت منجر به افزایش معنی‌دار سطوح ژن‌های استرس ER (XBP-1 و eIF2α) در بافت قلب موش‌های صحرایی نر و تمرین هوازی باعث کاهش ژن‌های مذکور می‌شود. نتایج مطالعه‌ی Liu و همکاران که با هدف بررسی تأثیر استرس اکسیداتیو بیش از حد بر آسیب حاد کلیوی و نقش استرس ER در موش‌های انجام شد، نشان داد که توانایی کاهش یافته برای کنترل استرس ER که تا حدودی به دلیل وجود استرس اکسیداتیو بیش از حد است، شاید منجر به افزایش حساسیت کلیه و آسیب حاد کلیه در پیری شود (۲۱) که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی داشت.

جدول ۳. میانگین وزن بدن موش‌ها در گروه‌های مختلف

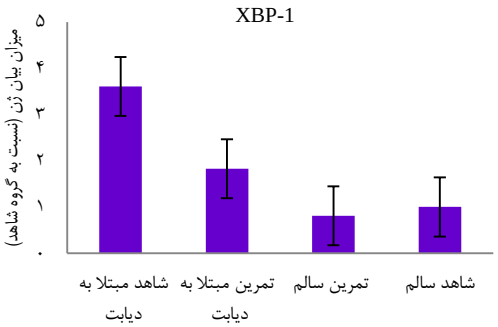
گروه	القای دیابت (گرم)	هفته‌ی دوم (گرم)	هفته‌ی چهارم (گرم)	هفته‌ی ششم (گرم)
شاهد مبتلا به دیابت (۵ سر)	۲۱۱/۴ ± ۱۳/۷	۱۹۸/۰ ± ۱۰/۲	۱۸۵/۵ ± ۱۰/۴	۱۶۰/۱ ± ۸/۱
تمرین مبتلا به دیابت (۵ سر)	۲۱۲/۱ ± ۹/۶	۲۰۳/۳ ± ۸/۷	۱۸۷/۴ ± ۶/۹	۱۸۶/۰ ± ۶/۴
تمرین سالم (۵ سر)	۱۹۹/۵ ± ۱۱/۵	۲۰۳/۵ ± ۱۰/۱	۲۱۶/۹ ± ۹/۱	۲۲۷/۸ ± ۸/۶
شاهد سالم (۵ سر)	۲۰۱/۳ ± ۱۰/۳	۲۱۴/۶ ± ۱۱/۱	۲۲۹/۳ ± ۹/۱	۲۴۲/۸ ± ۸/۱

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

جدول ۴. میانگین سطح گلوکز خون در موش‌های گروه‌های مختلف پس از القای دیابت و پس از اجرای پروتکل تمرین

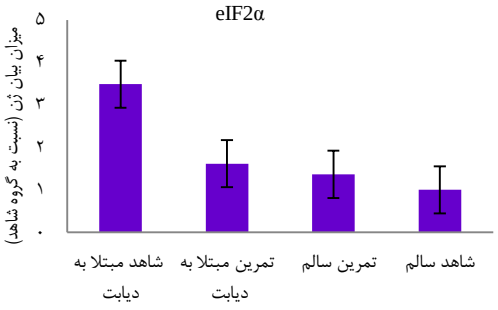
گروه	القای دیابت (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	هفته‌ی دوم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	هفته‌ی چهارم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	هفته‌ی ششم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
شاهد مبتلا به دیابت (۵ سر)	۴۲۱/۹ ± ۱۱۳/۱	۴۶۵ /۴ ± ۸۱/۱	۵۱۵/۹ ± ۶۱/۳	۵۶۳/۴ ± ۴۱/۰
تمرین مبتلا به دیابت (۵ سر)	۴۹۵/۱ ± ۷۱/۶	۵۵۲/۴ ± ۵۷/۹	۵۲۲/۴ ± ۳۴/۸	۴۳۴/۵ ± ۵۵/۱
تمرین سالم (۵ سر)	۱۱۴/۹ ± ۳۱/۶	۱۰۴/۰ ± ۱۶/۷	۱۰۸/۱ ± ۱۴/۰	۱۰۸/۳ ± ۱۳/۱
شاهد سالم (۵ سر)	۱۰۶/۸ ± ۱۳/۸	۱۰۸/۱ ± ۱۳/۸	۱۰۲/۱ ± ۱۴/۱	۱۰۱/۶ ± ۱۳/۳

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.



شکل ۱. میزان بیان ژن X-Box Binding Protein-1 (XBP-1) در بافت قلب گروه‌های مختلف (سطح معنی‌داری: P < ۰/۰۵)

حامدی‌فر و همکاران به بررسی تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر پروتئین XBP-1 در عصب سیاتیک موش‌های مبتلا به دیابت پرداختند و دریافتند که تمرین هوازی باعث کاهش پروتئین XBP-1 می‌شود و بین گروه تمرین مبتلا به دیابت و گروه شاهد مبتلا به دیابت تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (۲۲).



شکل ۲. میزان بیان ژن Eukaryotic Initiation Factor-2α (eIF2α) در بافت قلب گروه‌های مختلف (سطح معنی‌داری: P < ۰/۰۵)

Verdile و همکاران در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که پروتئین‌های XBP-1 و ATF6α باعث توسعه‌ی سیگنال لپتین و انسولین در طول متابولیسم سلولی می‌شوند. شواهد آن‌ها بیان کرد که پروتئاز ER پس از آسیب، هم در شبکه‌ی محیطی اعصاب و هم در شبکه‌ی عصبی مرکزی تغییر می‌کند و منجر به تولید پروتئین‌های تاشده در واکنش به استرس نورون‌ها و سلول‌های گلیا می‌شود (۲۳). نتایج مطالعه‌ی Zhang و همکاران نشان داد موش‌های چاق که رژیم غذایی با چربی بالا داشتند، دارای استرس ER در هیپوتالاموس و اعصاب محیطی بودند که نشان دهنده‌ی اختلالات متابولیکی مرتبط با چاقی و ایجاد استرس ER در داخل بدن می‌باشد (۲۴).

در تحقیق Hulmi و همکاران، پس از چند ماه تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی، سطوح پروتئین‌های eIF2α و XBP-1 در بافت چربی زیرجلدی کاهش یافت (۲۵). در برخی پژوهش‌ها، نتایج با مطالعه حاضر همخوان نبود به عنوان مثال ، در پژوهشی که طی مدت زمان کوتاهی مانند شنای یک جلسه‌ای یا یک فعالیت ۵ روز در یک هفته انجام شده بود، تأثیر تمرین بر میزان پروتئین‌های Protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (PERK)، XBP-1 و eIF-2α قابل توجه نبود (۲۶) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت نداشت و این اختلاف ممکن است به دلیل مدت زمان ورزش باشد. فعالیت‌های شدید ورزشی یا استقامتی با حداقل چهار هفته تمرین، می‌تواند بر میزان پروتئین‌های استرس ER تأثیر بگذارد. ورزش می‌تواند استرس اندوتلیال آندوپلاسمی، آپوپتوز سلول و التهاب اندوتلیال آندوپلاسمی را در بیماران متابولیکی کاهش دهد (۱۷). ورزش منظم، فسفوریلاسیون ژن‌های استرس ER را کاهش می‌دهد و مسیرهای سیگنالینگ التهاب و آپوپتوز مرتبط با استرس ER را مهار می‌کند یا کاهش می‌دهد. تمرین ورزشی، سیگنال CHOP ناشی از استرس ER را بهبود می‌بخشد و به نوبه‌ی خود آپوپتوز را کاهش می‌دهد. همچنین، P38 Mitogen-activated protein kinases/Jun N-terminal kinases (P38 MAPK/JNK) با واسطه، IRE-1 و Nuclear factor kappa B (NF-kB) مرتبط با التهاب را کاهش می‌دهد که بیان کاسپاز-۱، Interleukin 1 beta (IL-1β) و IL-6 را تنظیم می‌کند و مسیر سیگنالینگ IRE-1α/TNF receptor-associated factor 2/Apoptosis signal-regulating kinase 1 (IRE-1α/TRAF2/ASK1) را کاهش می‌دهد (۲۶).

ورزش باعث افزایش مصرف انرژی می‌شود، از افزایش وزن

جلوگیری می‌کند و حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد و ممکن باعث کاهش فعالیت مسیر سیگنالیک استرس ER شود (۲۵).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، انجام تمرینات هوازی به عنوان یک مداخله‌ی پیش‌گیرانه، سبب کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو ER افزایش یافته ناشی از القای دیابت می‌شود. یک دلیل احتمالی می‌تواند تأثیر وزش بر شاخص‌های نروتروفیک مشتق شده از مغز باشد که در انتقال عصبی و شکل‌پذیری سیناپسی نقش دارد و بر تعدیل بیان ژن‌های استرس ER مؤثر می‌باشد و موجب بهبود عملکردهای شناختی می‌شود (۲۷). مشاهده‌ی تفاوت در اثرات ناشی از تمرینات جسمانی در پژوهش حاضر (نقش کاهش دهنده) در مقایسه با برخی مطالعات ذکر شده (نقش افزایش دهنده)، ممکن است ناشی از وضعیت پایه‌ی بافت مورد بررسی در مواجهه با انواع استرس‌ها (مانند پیری،آتروفی و هیپوکسی) باشد که اعمال تمرینات جسمانی به عنوان یک عامل محافظتی در تلاش برای برقراری هومئوستاز سلولی در سطح نرمال و در شرایط اضطراری است.

از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم نمونه‌برداری هم‌زمان از بافت تمامی موش‌ها، عدم اندازه‌گیری هم‌زمان تمامی بافت‌ها و همچنین، غیر هم‌زمان بودن اندزه‌گیری میزان گلوکز خون و وزن در همه‌ی موش‌ها اشاره کرد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده، اثر تمرین مقاومتی و تمرینات ترکیبی (استقامتی- مقاومتی) بر میزان ژن های eIF2α و XBP-1 و دیگر عوامل میسر سیگنالینگ استرس ER در سایر بافت‌های موش‌های مبتلا به دیابت مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

تمرین هوازی با شدت متوسط، احتمالاً به واسطه‌ی تعدیل شرایط هایپرگلیسمی، می‌تواند مهارکننده‌ی خوبی جهت کنترل بیان بیش از اندازه‌ی عوامل استرس اکسیداتیو ER در بافت قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت باشد. چنین مهاری می‌تواند از راه‌اندازی چرخه‌های معیوب درون سلولی جلوگیری و به بیان دیگر، شرایط تحریک‌کننده را کنترل نماید.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با کد ۹۲۲، مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده‌ی علوم ورزشی دانشگاه شهید چمران اهواز می‌باشد. بدین وسیله از همه‌ی افرادی که در انجام این طرح همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9(th) edition. Diabetes Res Clin Pract 2019; 157: 107843.
2. Gray SP, Cooper ME. Diabetic nephropathy in 2010: Alleviating the burden of diabetic nephropathy. Nat Rev Nephrol 2011; 7(2): 71-3.
3. Liu HF, Zhang HJ, Hu QX, Liu XY, Wang ZQ, Fan JY, et al. Altered polarization, morphology, and impaired innate immunity germane to resident peritoneal macrophages in mice with long-term type 2 diabetes. J Biomed Biotechnol 2012; 2012: 867023.
4. Won JC, Kwon HS, Kim CH, Lee JH, Park TS, Ko KS, et al. Prevalence and clinical characteristics of diabetic peripheral neuropathy in hospital patients with Type 2 diabetes in Korea. Diabet Med 2012; 29(9): e290-e296.
5. Wlodkowic D, Skommer J, McGuinness D, Hillier C, Darzynkiewicz Z. ER-Golgi network--a future target for anti-cancer therapy. Leuk Res 2009; 33(11): 1440-7.
6. Kerner W, Bruckel J. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2014; 122(7): 384-6.
7. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: Principles of pathogenesis and therapy. Lancet 2005; 365(9467): 1333-46.
8. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. EMBO Rep 2006; 7(9): 880-5.
9. Oshitari T, Hata N, Yamamoto S. Endoplasmic reticulum stress and diabetic retinopathy. Vasc Health Risk Manag 2008; 4(1): 115-22.
10. Bravo R, Parra V, Gatica D, Rodriguez AE, Torrealba N, Paredes F, et al. Endoplasmic reticulum and the unfolded protein response: Dynamics and metabolic integration. Int Rev Cell Mol Biol 2013; 301: 215-90.
11. Kim Y, Park M, Boghossian S, York DA. Three weeks voluntary running wheel exercise increases endoplasmic reticulum stress in the brain of mice. Brain Res 2010; 1317: 13-23.
12. Cao SS, Kaufman RJ. Targeting endoplasmic reticulum stress in metabolic disease. Expert Opin Ther Targets 2013; 17(4): 437-48.
13. Morrow TJ. Animal models of painful diabetic neuropathy: The STZ rat model. Curr Protoc Neurosci 2004; 9: 9.18.
14. Soya H, Nakamura T, Deocaris CC, Kimpara A, Iimura M, Fujikawa T, et al. BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. Biochem Biophys Res Commun 2007; 358(4): 961-7.
15. Singleton JR, Smith AG, Marcus RL. Exercise as therapy for diabetic and prediabetic neuropathy. Curr Diab Rep 2015; 15(12): 120.
16. Wu J, Ruas JL, Estall JL, Rasbach KA, Choi JH, Ye L, et al. The unfolded protein response mediates adaptation to exercise in skeletal muscle through a PGC-1alpha/ATF6alpha complex. Cell Metab 2011; 13(2): 160-9.
17. Pereira BC, da Rocha AL, Pinto AP, Pauli JR, de

Souza CT, Cintra DE, et al. Excessive eccentric exercise-induced overtraining model leads to endoplasmic reticulum stress in mice skeletal muscles. Life Sci 2016; 145: 144-51.
18. Dunys J, Duplan E, Checler F. The transcription factor X-box binding protein-1 in neurodegenerative diseases. Mol Neurodegener 2014; 9: 35.
19. Wei M, Ong L, Smith MT, Ross FB, Schmid K, Hoey AJ, et al. The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. Heart Lung Circ 2003; 12(1): 44-50.
20. Chae CH, Jung SL, An SH, Jung CK, Nam SN, Kim HT. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. J Physiol Biochem 2011; 67(2): 235-41.
21. Liu X, Zhang R, Huang L, Zheng Z, Vlassara H, Striker G, et al. Excessive oxidative stress contributes to increased acute ER stress kidney injury in aged mice. Oxid Med Cell Longev 2019; 2019: 2746521.
22. Hamedifar M, Mirnasuri R, Rahmati M. The effects of six weeks endurance training on XBP-1 protein in the diabetic male wistar rats sciatica tissues. Iran J diabetes Obes 2018; 10(4): 187-93.
23. Verdile G, Fuller SJ, Martins RN. The role of type 2 diabetes in neurodegeneration. Neurobiol Dis 2015; 84: 22-38.
24. Zhang X, Xu L, He D, Ling S. Endoplasmic reticulum stress-mediated hippocampal neuron apoptosis involved in diabetic cognitive impairment. Biomed Res Int 2013; 2013: 924327.
25. Hulmi JJ, Hentila J, DeRuisseau KC, Oliveira BM, Papaioannou KG, Autio R, et al. Effects of muscular dystrophy, exercise and blocking activin receptor IIB ligands on the unfolded protein response and oxidative stress. Free Radic Biol Med 2016; 99: 308-22.
26. Hong J, Kim K, Kim JH, Park Y. The role of endoplasmic reticulum stress in cardiovascular disease and exercise. Int J Vasc Med 2017; 2017: 2049217.
27. Park SM, Kang TI, So JS. Roles of XBP1s in transcriptional regulation of target genes. Biomedicines 2021; 9(7): 791.

DOI: 10.22122/jims.v39i649.14799 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School Vol. 39, No. 649, 1st Week, February 2022

Received: 23.11.2021 Accepted: 19.12.2021 Published: 05.02.2022

The Effect of Six Weeks of Aerobic Training on Expression of Endoplasmic Reticulum Stress Genes (X-box Binding Protein-1 and Eukaryotic Initiation Factor 2α) in the Heart Tissue of Male Rats with Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetes

Masoumeh Hosseinzadeh[1], Asma Taheri[2]

Original Article

Abstract

Background: The aim of this study was to investigate the effect of six weeks of aerobic training on expression of endoplasmic reticulum stress genes [X-box binding protein-1 (XBP1) and eukaryotic initiation factor 2α (eIF2α)] in the heart tissue of male rats with streptozotocin (STZ)-induced diabetes.

Methods: Twenty male rats with the mean weight of 204.0 ± 11.3 grams were randomly divided into four groups including of healthy control, healthy exercise, diabetic control, and diabetic training. They became diabetic by intraperitoneal injection of STZ (50 mg/kg). After confirmation of induction of diabetes by measuring fasting blood glucose level with glucometer, aerobic training program was performed with an average intensity for 30 minutes at a speed of 18 meters per minute, 5 days a week for 6 weeks. The expression of endoplasmic reticulum stress genes (XBP1 and eIF2α) was measured using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for statistical analysis.

Findings: The expression of endoplasmic reticulum stress genes (XBP1 and eIF2α) in heart tissue in diabetic rats was significantly higher than the healthy control group. After 6 weeks of aerobic exercise protocol, the expression of these genes in heart tissue was significantly lower in the diabetic group of exercise, healthy exercise, and healthy control than the diabetic control group.

Conclusion: The results of the present study showed that by reducing endoplasmic reticulum stress factors in the heart of male rats with diabetes, aerobic training can be useful as a preventive and non-pharmacological factor in the treatment of patients with diabetes.

Keywords: Aerobic training; Streptozotocin; Endoplasmic reticulum stress; XBP-1; eIF2α

Citation: Hosseinzadeh M, Taheri A. **The Effect of Six Weeks of Aerobic Training on Expression of Endoplasmic Reticulum Stress Genes (X-box Binding Protein-1 and Eukaryotic Initiation Factor 2α) in the Heart Tissue of Male Rats with Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetes.** J Isfahan Med Sch 2022; 39(649): 867-74.

1- Instructor, Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2– Graduated of PhD in Exercise Physiology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Asma Taheri, Graduated of PhD in Exercise Physiology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Email: asma.taheri66@gmail.com