

بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر سطوح برخی پروتئین‌های شبکه آندوپلاسمی بافت سیاتیک موش‌های صحرایی دیابتی

محمد حامدی فرا^۱، رحیم میرنصوری^۲، مسعود رحمتی^۳

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه لرستان

۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه لرستان*

۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه لرستان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۷

چکیده

هدف این پژوهش، بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 در بافت سیاتیک موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار دیابتی بود. پژوهش از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به همراه گروه کنترل بود و به شیوه آزمایشگاهی انجام گرفت. در این پژوهش، ۳۲ سررت ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن $10/16 \pm 253$ گرم در چهار گروه سالم کنترل، سالم تمرین، دیابت کنترل و دیابت تمرین به صورت تصادفی تقسیم شدند. برای القای دیابت پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، از روش تزریق درون‌صفاقی محلول STZ (۴۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) استفاده شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، پروتکل تمرین استقامتی با شدت متوسط به مدت شش هفته اجرا شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها تشریح شدند و عصب سیاتیک آن‌ها استخراج شد. میزان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 به روش الیزا اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار اس.بی.اس.اس. و از آزمون آماری تحلیل واریانس دوطرفه با اندازه‌گیری تکراری و تی مستقل برای آزمون تعقیبی استفاده شد. تحلیل داده‌ها نشان داد که تمرین استقامتی باعث کاهش معنادار میزان پروتئین‌های XBP-1 ($P=0.007$) و ATF6 ($P=0.001$) در گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه دیابت کنترل می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که میزان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 که احتمالاً از عوامل مؤثر بر دیابت و تخریب عصب هستند، در اثر تمرین استقامتی در رت‌های سالم و دیابتی کاهش یافته‌اند که می‌تواند به روند جلوگیری از تخریب عصب کمک کند.

واژگان کلیدی: شبکه آندوپلاسمی، دیابت، عصب سیاتیک، فعالیت استقامتی، XBP-1 و ATF6

مقدمه

در بروز دیابت، شبکه پیچیده‌ای از عوامل خطرزای محیطی و ژنتیکی نقش دارند و چنانچه بدون درمان رها شوند، موجب ایجاد عوارض متعددی از جمله تخریب عصب می‌شوند (۱). شبکه آندوپلاسمی (ER^۱) یک ارگانل درون سلولی است که مرکز بلوغ و تاخوردگی پروتئین است. همچنین، نقش بسیار مهمی در هومئوستاز کلسیم و حیات سلول عصبی دارد (۲). مشاهده شده است استرس‌هایی که هومئوستاز شبکه آندوپلاسمی را تغییر می‌دهند، باعث اختلال در تاخوردن پروتئین‌ها می‌شوند و به تجمع پروتئین‌های تانخورده (UPR^۲) و پروتئین‌هایی که به صورت صحیح تا نخورده‌اند، منجر می‌شوند. این عمل می‌تواند به آسیب سلول‌های عضلانی و عصبی به ویژه سلول‌های عصبی و محیطی منجر شود (۳). شواهد فزاینده‌ای ارائه شده‌اند که بر نقش استرس شبکه آندوپلاسمی در پاتوژنز دیابت دلالت می‌کنند و احتمالاً مسیرهای پیام‌رسانی اولیه ناشی از استرس شبکه آندوپلاسمی و تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS^۳) هستند (۴). همچنین، نشان داده شده است که استرس شبکه آندوپلاسمی با تغییرات سیستم ایمنی و اختلالات متابولیکی در ارتباط است که نقش مهمی در دیابت نوع دو و عوارض ناشی از آن ایفا می‌کند (۳). پروتئین‌های XBP-1^۴ و ATF6^۵ مارکرهای مهمی برای استرس شبکه آندوپلاسمی به‌شمار می‌روند (۴). پاسخ سازشی شبکه آندوپلاسمی به استرس شبکه آندوپلاسمی برای همسان کردن ظرفیت عملکردی شبکه آندوپلاسمی با نیاز سلولی و بهبود این اختلالات ناشی از استرس ER است (۵). پروتئین XBP-1 که در ادامه سیگنالینگ پروتئین ترانس‌غشایی IRE1^۶ است، از اعضای پروتئین‌های ترانس‌غشا است که به‌عنوان عضو اصلی تنظیم پایه‌ای خانواده پروتئین زیپ‌شده لوسین (bZIP^۷) می‌باشد (۶). این خانواده شامل فاکتورهای رونویسی درگیر در شبکه آندوپلاسمی است که تأثیرات وسیعی بر عملکرد فیزیولوژیک و پاتولوژیک دارند (۷). زمانی که در شبکه آندوپلاسمیک استرس ایجاد می‌شود، IRE1 به وسیله فسفردار شدن خود به خودی فعال می‌شود و به این صورت عمل می‌کند که به یک حسگر استرس تبدیل می‌شود و باعث فعال شدن مسیر پیام‌رسانی می‌شود (۸). پروتئین ATF6 یکی از پروتئین‌های نسخه‌برداری است که این فاکتور حاوی bZIP است و جزو پروتئین‌های غشا گذر نوع دو است که در شرایط طبیعی از طریق تعامل با

-
1. Endoplasmic Reticulum
 2. Unfolded Protein Response
 3. Reactive Oxygen Species
 4. X-box Binding Protein-1
 5. Activating Transcription Factor 6
 6. Inositol-Requiring Protein 1 α
 7. Basic Leucine Zipper

GRP78/BIP^۱ و کالرتیکولین^۲ در ER نگه داشته می‌شود. به دنبال استرس ER، ATF6 به اجسام گلژی منتقل می‌شود. در آنجا توسط پروتئازهای سیتوزولی به هسته می‌رود و یک سری از ژن‌های هدف UPR را القا می‌کند (۹، ۶). افزون‌براین، پژوهش‌های جدید نشان می‌دهند که استرس شبکه اندوپلاسمی با تغییرات سیستم ایمنی و اختلالات متابولیکی در ارتباط است. همچنین، نشان داده شده است که شبکه اندوپلاسمی بیش از آنچه تصور می‌شود، در دیابت نوع دو و عوارض ناشی از آن نقش دارد (۶). هنگامی که این بخش از سلول دچار اختلال (استرس) می‌شود، کنترل قند خون بیمار مشکل می‌شود و بیمار دیس‌لیپیدمیا، مقاومت به انسولین، استرس اکسیداتیو و التهاب را تجربه می‌کند (۱۰). این یافته‌ها ارتباط جالبی را بین دو فرایند مولکولی شناخته‌شده؛ یعنی التهاب و عملکرد نامناسب شبکه اندوپلاسمی که در بیماری‌های متابولیک دخیل هستند، نشان می‌دهد و پیشنهاد می‌کند که هدف قراردادن این ارتباط می‌تواند به تکوین درمانی جدیدی منجر شود (۱۱). مشخص شده است که در زمان چاقی، شبکه اندوپلاسمی نمی‌تواند آنبشار پیام‌رسانی درون‌سلولی را که پاسخ UPR است، شروع کند و استرس شبکه اندوپلاسمی را کاهش دهد. در مطالعه تغییرات متابولیسم ایمنی مرتبط با افزایش استرس شبکه اندوپلاسمی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان می‌دهد که التهاب وابسته به چاقی می‌تواند پاسخ UPR و در نتیجه، عملکرد شبکه اندوپلاسمی را مختل کند (۱۲). نتایج پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد که نوعی ارتباط بین عملکرد نامناسب شبکه اندوپلاسمی و دیابت وجود دارد. در واقع، نقص در عملکرد صحیح شبکه اندوپلاسمی خطر ایجاد دیابت نوع دو را افزایش می‌دهد. همچنین، شواهد فزاینده‌ای ارائه شده‌اند که بر نقش شبکه اندوپلاسمی دیابت نوع دو دلالت می‌کنند و مسیرهای پیام‌رسانی اولیه درگیر در پاتوژنز دیابت، احتمالاً از استرس شبکه اندوپلاسمی آغاز می‌شود. در این راستا نشان داده شده است که انجام تمرین استقامتی موجب بهبود دیابت و اختلالات عصبی می‌شود. سازوکارهای درگیر در این فرایندها هنوز کاملاً روشن نیستند؛ اما از سازوکارهای مهم می‌توان به اثرهای ضدالتهابی و ضداکسایشی فعالیت بدنی اشاره کرد (۱۳). همچنین، در مطالعه‌ای به بررسی استرس شبکه اندوپلاسمی در عضله پرداخته شد. آزمایش‌های سلولی نشان داد که فعالیت UPR در عضله اسکلتی در اثر دیابت بالا رفت؛ ولی در اثر چهار هفته تمرین استقامتی، میزان UPR کاهش یافت و سازگاری به وجود آمده به کاهش استرس شبکه اندوپلاسمی منجر شد. همچنین، گزارش شده است که کنترل و هومئوستاز UPR نقش بسیار کلیدی در کاهش استرس به وجود آمده در شبکه اندوپلاسمی ایفا می‌کند (۱۴). پژوهشگران به دنبال روش‌های

1. 78 kDa Glucose-Regulated Protein / Binding Immunoglobulin Protein
2. Calreticulin

جایگزینی برای پیشگیری یا روش‌های درمانی با عوارض کمتر در بیماران دیابتی هستند. سازگاری‌های عصبی ایجادشده ناشی از تمرینات ورزشی، برای پیشگیری و درمان بیماری دیابت و نوروپاتی ناشی از دیابت بسیار سودمند به نظر می‌رسند (۱۵). یافته‌های حاصل از پژوهش‌های گسترده علمی نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی اثرهای سودمندی بر عملکرد شناختی و سلامتی سیستم عصبی پستانداران دارند (۱۶). همچنین، مشخص شده است که تمرینات ورزشی دارای اثرهای محافظتی بر نورون‌ها در مقابل مرگ فیزیولوژیک و پاتولوژیک هستند. فعالیت ورزشی به‌عنوان یک مداخله غیردارویی نقش مهمی در بهبود، رشد و عملکرد شبکه نورونی دارد (۱۵). در حال حاضر، شواهد قابل توجهی وجود دارند که نشان می‌دهند تمرین ورزشی با شدت کم، عامل مهمی در برابر بیماری‌های تخریب عصبی است و عملکرد حرکتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۰). با توجه به نتایج این پژوهش‌ها می‌توان گفت که بیان بیش از اندازه پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 ممکن است باعث برهم‌خوردن همئوستاز ER و در نتیجه، پیشرفت در بیماری‌های دیابت و تخریب عصبی ناشی از دیابت شود. با توجه به اثرهای بیماری دیابت نوع دو، مطالعه حاضر سعی دارد از تمرین استقامتی به‌عنوان یک راهبرد غیردارویی در موش‌های دیابتی استفاده کند؛ از این رو، در این پژوهش به دنبال پاسخ برای این سؤال هستیم که آیا تمرینات استقامتی به‌عنوان یک روش غیردارویی، بر سطوح پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 بافت سیاتیک در موش‌های صحرایی نر و پستار دارای دیابت، تأثیر دارند؟

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به‌همراه گروه کنترل بود و به شیوه آزمایشگاهی انجام گرفت. در این پژوهش، ۳۲ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزنی $11/2 \pm 235$ گرم به‌عنوان نمونه پژوهش از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی لرستان خریداری شدند. قبل از شروع فرایند پژوهش، مجوز کار با حیوانات از کمیته اخلاقی دانشگاه لرستان با کد اخلاق به شماره LU.ECRA.2017.8 و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی مطالعه درد^۱ (IASP) انجام شد. همه حیوان‌ها در شرایط کنترل‌شده محیطی با میانگین دمایی 2 ± 22 درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه رت نگهداری شدند. آزمودنی‌ها پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و رسیدن به میانگین وزنی $3 \pm 330/7$ ، به‌طور تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی دیابت تمرین‌کرده، دیابت کنترل، سالم تمرین‌کرده و گروه سالم کنترل تقسیم شدند.

1. International Association for the Study of Pain

در مدت مرحله آشناسازی و سازگارشدن با شرایط آزمایشگاه، نوار گردان و دستکاری، حیوانات پنج روز در هفته به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه و با سرعت پنج تا ۱۰ متر در دقیقه روی نوارگردان راه رفتند.

نحوه القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین^۱ (STZ): پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، با تزریق درون صفاقی محلول (STZ Sigma, St. Louis, MO) ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم حل شده در بافر سیترات تازه ۰/۵ مول/لیتر، PH: ۴/۵) دیابت القا شد (۱۶). به حیوان‌های غیردیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانسیت روی ورید دم رت‌ها، یک قطره خون روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و نوار توسط دستگاه گلوکومتر^۲ (شرکت ریشه آلمان) خوانده شد و رت‌هایی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر بود، به‌عنوان حیوان‌های دیابتی وارد مطالعه حاضر شدند (۱۷). لازم است ذکر شود که در پژوهش حاضر چون احتمال از بین رفتن رت‌ها یا دیابتی نشدن آن‌ها می‌رفت، تعداد ۲۰ سر رت با روش تزریق STZ دیابتی شدند که در این بین چهار سر رت پس از تزریق از بین رفتند؛ ولی قند خون ۱۶ رت باقی‌مانده به سطح موردنظر (بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) که نشان‌دهنده دیابتی شدن آن‌ها بود، دست یافت. در پژوهش حاضر، پس از تزریق STZ، هیچ‌گونه علائم ناشی از تزریق اشتباه نظیر تورم شکم و مشکلات گوارشی در حیوان‌ها مشاهده نشد و دو هفته پس از القای دیابت، پروتکل تمرین استقامتی به مدت شش هفته انجام شد و تمام جلسات تمرینی در پایان سیکل خواب حیوان‌ها و بین ساعت‌های ۱۶ تا ۱۸ عصر برگزار شد (۱۸). در پژوهش حاضر، از شدت تمرینی متوسط (۵۵-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) و در عین حال کارآمد از لحاظ فیزیولوژیک، استفاده شد (۱۸)؛ بدین صورت که گروه‌های ورزشی به مدت شش هفته با شدت متوسط برای پنج روز در هفته و با تواتر سه روز تمرین و یک روز استراحت، روی نوار گردان تمرین کردند. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به تدریج افزایش یافت که برنامه آن در جدول شماره یک نمایش داده شده است. برای رسیدن سازگاری‌های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی ثابت نگه داشته شدند (۱۸). همچنین، هیچ‌گونه شوک تمرینی در طول برنامه تمرین استقامتی استفاده نشد و در صورت لزوم، با استفاده از دست یا ایجاد محرک صوتی روی درپوش ریل‌های نوارگردان، حیوانات وادار به ادامه تمرین شدند.

-
1. Streptozotocin
 2. Glucotrend

جدول ۱- نمایش عددی پروتکل در هفته‌های مختلف

هفته	هفته	هفته	هفته	هفته	هفته
اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸

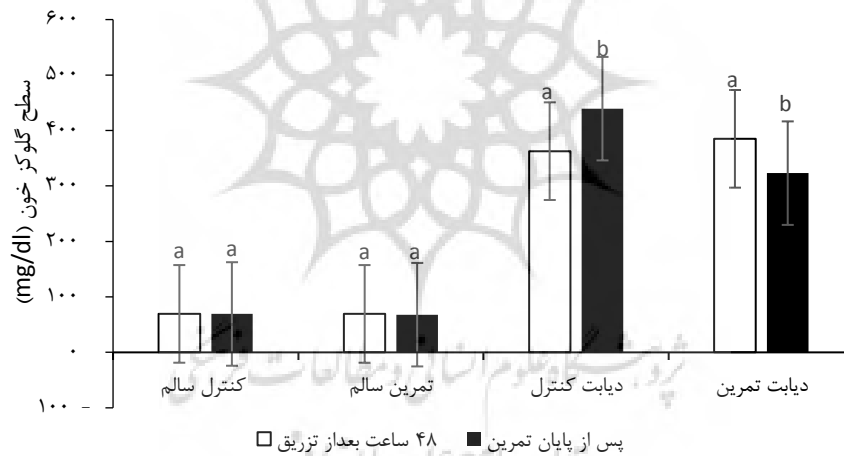
تشریح و استخراج بافت سیاتیک، ۲۴ ساعت بعد از اتمام پروتکل تمرین استقامتی انجام گرفت. برای این کار، حیوان‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۴۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) و گزانتین (هشت میلی‌گرم / کیلوگرم) بی‌هوش شدند و بافت سیاتیک حیوان‌ها با جراحی ناحیه خلفی خارجی ران عصب سیاتیک از خار ایسکیال تا محل دو شاخه شدن عصب سیاتیک به صورت عرضی برید شد و جدا گردید. سپس، بافت‌ها تا زمان آنالیز در منفی ۷۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای انجام آزمایش‌های مولکولی با هدف سنجش میزان بیان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6، از هر گروه به روش الیزا^۱ سنجیده شد. هنگامی که مولکول هدف داخل سرم در داخل چاهک‌ها ریخته می‌شود، به مونوکلونال آنتی‌بادیهای اختصاصی خود که از قبل به کف چاهک متصل شده بودند، از جایگاه اختصاصی خود متصل می‌شود. در مرحله بعد، توسط آنتی‌بادی‌های ثانویه (که بوسیله بیوتین و استرپتواویدین کونژگه^۲ با آنزیم HRP^۳ یک کمپلکس تشکیل می‌دهند)، اضافه‌های کونژگه متصل‌نشده به کمک شست‌وشو از محیط خارج می‌شوند و به محیط H₂O₂^۴ و TMB^۵ به‌عنوان سوبسترا اضافه می‌شوند. آنزیم HRP که یک اکسیژناز است، H₂O₂ افزوده شده را مصرف می‌کند و در این شرایط TMB به رنگ آبی تبدیل می‌شود. سرانجام، به وسیله محلول متوقف‌کننده کل واکنش را متوقف می‌کنیم و OD^۶ محلول را در طول موج ۴۵۰ نانومتر، می‌خوانیم. در این مطالعه، برای اندازه‌گیری پروتئین XBP-1 از کیت بیوماتیک ساخت کشور امریکا با کد نامبر EKV08237 و حساسیت ۰/۰۵۴ نانوگرم/ میلی‌لیتر و برای اندازه‌گیری پروتئین ATF6 از کیت فاین تست ساخت کشور چین با کد نامبر ER1807 و حساسیت ۴۶/۸۷۵ پیکوگرم/ میلی‌لیتر استفاده شد. برای

1. Eliza
2. Biotin and Streptovudine Conjugate
3. Horse Radish Peroxidase
4. Hydrogen Peroxide
5. Tetra Methyl Benzidine
6. Optical Density

تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار اس.پی.اس.اس.۱ و از آزمون آماری تحلیل واریانس دوطرفه با اندازه گیری تکراری و تی مستقل برای آزمون تعقیبی استفاده شد.

نتایج

داده های مربوط به گلوکز پلاسمای پیش آزمون و پس آزمون چهار گروه نشان دادند که در شروع برنامه تمرینی، غلظت گلوکز خون در گروه های دیابتی نسبت به گروه های سالم به طور معناداری بیشتر بود ($P = 0.0001$) و پس از شش هفته تمرین استقامتی نیز همچنان اختلاف معناداری وجود داشت ($P = 0.0001$). همچنین، در پایان برنامه تمرینی، غلظت گلوکز خون گروه دیابتی تمرین کرده نسبت به گروه دیابت کنترل به طور معناداری پایین تر بود ($P = 0.001$) که نشان می دهد شش هفته تمرین استقامتی توانسته است باعث کاهش گلوکز پلاسمایی رت های دیابتی شود (شکل شماره یک).



شکل ۱- تغییرات گلوکز خون (میانگین \pm انحراف استاندارد)

متفاوت بودن حروف اختلاف معنادار را نشان می دهد ($P < 0.001$).

جدول شماره دو نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 را نشان می‌دهد. اثر دیابت، تمرین و تعاملی آن‌ها قابل مشاهده است. همان‌طور که جدول آزمون نشان می‌دهد، تأثیر دیابت و تمرین معنادار است (جدول شماره دو).

جدول ۲- آزمون واریانس دوطرفه پروتئین‌های XBP-1 و ATF6

متغیر	مقدار اف		معداری	
	XBP-1	ATF6	XBP-1	ATF6
اثر دیابت	۴۶/۹۷	۱۸/۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
اثر تمرین	۱۳/۱۹	۱۳/۹۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
اثر تعاملی	۵/۵۲	۵/۷۶	۰/۰۲۳	۰/۰۲۶

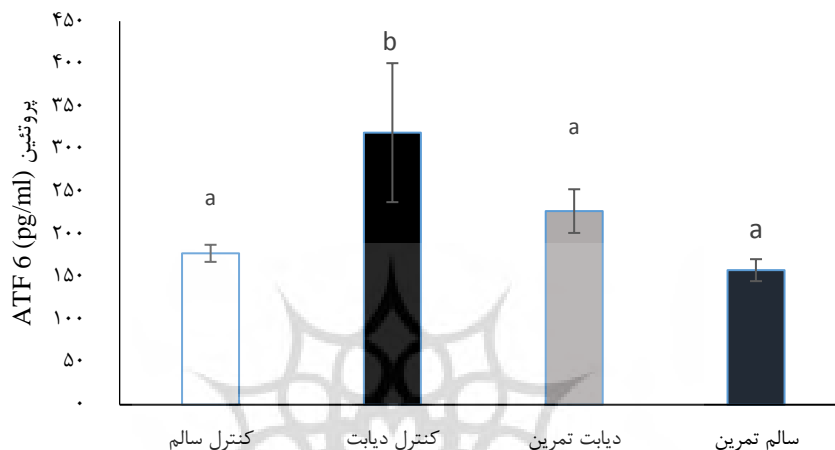
شکل شماره دو، تحلیل داده‌های تغییرات میانگین و انحراف معیار پروتئین XBP-1 را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. میزان پروتئین XBP-1 در گروه دیابت کنترل به نسبت بقیه گروه‌ها بیشتر است که این اختلاف معنادار است ($P = 0.007$) (شکل شماره دو).



شکل ۲- تغییرات پروتئین XBP-1 (میانگین \pm انحراف استاندارد)

متفاوت بودن حروف اختلاف معنادار را نشان می‌دهد ($P \leq 0.05$).

شکل شماره سه، تحلیل داده‌های تغییرات میانگین و انحراف معیار پروتئین ATF6 را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان پروتئین ATF6 در گروه دیابت کنترل نسبت به بقیه گروه‌ها بیشتر است که این اختلاف معنادار است ($P = 0.001$) (شکل شماره سه).



شکل ۳- تغییرات پروتئین ATF6 (میانگین \pm انحراف استاندارد) متفاوت بودن حروف اختلاف معنادار را نشان می‌دهد ($P \leq 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر شش هفته فعالیت بدنی به شکل تمرین استقامتی بر میزان پروتئین‌های ATF6 و XBP-1 در بخش عصب سیاتیک رت‌های مبتلا به دیابت بود. در بخش اول، به بررسی غلظت گلوکز خون گروه‌های مختلف پرداخته شد. تحلیل داده‌ها نشان داد که گلوکز خون گروه دیابتی تمرین کرده نسبت به گروه دیابت کنترل در پایان برنامه تمرینی به‌طور معناداری پایین‌تر بود که نشان می‌دهد شش هفته تمرین استقامتی توانسته است باعث کاهش گلوکز پلاسمایی رت‌های دیابتی شود. این یافته با نتایج پژوهش‌های متعددی همسو است (۹، ۱۰، ۱۲، ۱۹). سازوکار احتمالی برای این کاهش وجود دارد که می‌توان به افزایش بیان انتقال‌دهنده‌های گلوکز (Glut4) اشاره کرد (۱۹). فعالیت جسمانی موجب افزایش توانایی حفظ قند خون در دامنه طبیعی، کسب وزن مناسب، کنترل فشارخون، کاهش چربی‌های خون و کاهش میزان انسولین موردنیاز و همچنین، کاهش عوارض ناشی از بیماری دیابت همچون نوروپاتی در این بیماران می‌شود (۲۰). در این مطالعه نشان داده شد

که دیابت باعث افزایش میزان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 در عصب سیاتیک شده است. نتایج پژوهش حاضر با پژوهش‌های انجام‌شده پیشین هم‌راستا است (۱۱، ۱۳، ۲۱). این پژوهش‌ها افزایش میزان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 را در مواجهه با استرس شبکه‌اندوپلاسمی در بافت‌های مختلف انسان و رت نشان می‌دهند. سازوکارهای متفاوتی می‌توانند در این امر دخیل باشند؛ از جمله در پژوهش‌های قبلی نشان داده شده است که هدف از شروع UPR، برقراری مجدد هومئوستاز و عملکرد طبیعی ER و سازوکارهای سازشی است که به بیان ژن‌هایی منجر می‌شوند که قادرند ظرفیت تاخوردن پروتئین ER را افزایش دهند (۲۲، ۹). زمانی که تحریک‌های اولیه که باعث تاخوردن پروتئین در ER می‌شوند طولانی یا بیش‌ازحد باشند، سازوکارهای سازشی UPR با شکست مواجه شوند و مرگ سلولی از طریق آپوپتوز اتفاق می‌افتد. همچنین، مشخص شده است که استرس ER می‌تواند اتوفازی را القا کند (۸). سازوکار پاسخ به این صورت است که هر زمان پروتئین‌های تاخوردن در ER تجمع می‌کنند، پروتئین‌های غشاگذر ER که در سیگنالینگ UPR نقش دارند، فعال می‌شوند. براساس یک فرضیه، انتهای آمینوی این پروتئین‌های غشاگذر به‌وسیله‌چاپرون^۱ شبکه‌اندوپلاسمی پروتئین مرتبط با گلوکز ۷۸ کیلو دالتون^۲ موجود در شبکه‌اندوپلاسمی نگه داشته می‌شوند؛ در نتیجه، از فعال شدن این پروتئین‌ها جلوگیری می‌شود (۹). سه پروتئین ترانس‌غشایی در شبکه‌اندوپلاسمی وجود دارند که به‌عنوان عوامل مؤثر در UPR شناخته می‌شوند که شامل سه پروتئین IRE-1، PERK^۳ و ATF6 هستند و پروتئین XBP-1 در ادامه سیگنالینگ IRE1 است (۵). این سه پروتئین ترانس‌غشایی به هومئوستاز شبکه‌اندوپلاسمی کمک می‌کنند (۲۳). در پژوهش وراذیل^۴ و همکاران (۲۴) نشان داده شد که پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 باعث توسعه سیگنال‌لپتین و انسولین در طول متابولیسم سلولی می‌شوند. شواهد پژوهش آن‌ها نشان می‌دهد که پروتئین‌های شبکه‌اندوپلاسمی پس از آسیب هم در شبکه محیطی اعصاب و هم در شبکه عصبی مرکزی تغییر می‌کند و به تولید پروتئین‌های ناشده در واکنش به استرس نوروها و سلول‌های گلیا منجر می‌شود. استرس شبکه‌اندوپلاسمی باعث واکنش انطباقی UPR می‌شود که در نهایت به مرگ سلول منجر می‌شود (۲۴). XBP-1 و ATF6 دو پروتئین ضروری برای پیچیدن و ترشح بیوسنتز فسفولیپید و همچنین، تخریب پروتئین‌های معیوب شبکه‌اندوپلاسمی هستند. قطع بیان این دو پروتئین باعث کاهش بهبود حرکتی پس از آسیب نخاعی می‌شود که در اثر دیابت به‌وجود آمده است (۸). در مطالعات دیگر نیز اثر عملکردی UPR پس از آسیب‌های نخاعی

-
1. Chaperone
 2. Glucose-Regulated Protein, 78kDa
 3. Protein Kinase RNA-Like ER Kinase
 4. Verdile

دیده می شود. علاوه بر این، بی نظمی در مارکرهای استرس ER (XBP-1, ATF6, CHOP) در نورون ها، پس از آسیب مکانیکی در نورون های اعصاب محیطی گزارش شده است. نقش کاربردی UPR در بازسازی اکسون بعد از آسیب اعصاب محیطی بیان شده است. همچنین، گزارش شده است که XBP-1 و ATF6 در دوباره سازی لپتین و بازتوانی حرکتی در آسیب سیاتیک نقش مهمی ایفا می کنند (۲۳). ژانگ^۲ و همکاران (۲۵) نشان دادند موش های چاق که رژیم غذایی با چربی بالا داشته اند، دارای استرس شبکه اندوپلاسمی در هیپوتالاموس و اعصاب محیطی بودند که نشان دهنده اختلالات متابولیکی مرتبط با چاقی و ایجاد استرس ER در داخل بدن است (۲۵). افزون بر این، یافته های حاصل از پژوهش های گسترده علمی نشان می دهد که تمرینات ورزشی اثرهای سودمندی بر عملکرد شناختی و سلامتی سیستم عصبی پستانداران به ویژه اعصاب محیطی دارند (۲۵). ساز و کارهای درگیر هنوز کاملاً روشن نیستند؛ اما نتایج پژوهش های گذشته حاکی از این بود که استرس های اکسیداتیو، التهاب و استرس های اکسیداتیو، در این فرایندها نقش مهمی دارند (۱۰، ۴). در همین راستا، در مطالعات قبلی نشان داده شد که فعالیت ورزشی هوازی باعث کاهش استرس شبکه اندوپلاسمی به وسیله هومئوستاز پروتئین های XBP-1, ATF6 و CHOP شده است (۲۳، ۸). در مطالعه دیگری توسط کوتمان^۳ و همکاران (۲۶) انجام دادند، مارکرهای استرس شبکه اندوپلاسمی (XBP-1, ATF6 و CHOP) که از عوامل اصلی آپوپتوز سلول هستند، با فعالیت ورزشی کنترل می شوند. همچنین، در یک مطالعه نشان داده شد که فعالیت ورزشی شنا باعث کاهش پروتئین های XBP-1, ATF6 و JNK^۴ در موش های چاق شده است (۲۰). در یک مطالعه، پس از سه ماه تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی، mRNA و سطوح پروتئین های XBP-1, GRP78 و eIF2^۵ در بافت چربی زیرجلدی و تک هسته ای خون محیطی کاهش یافته بودند (۲۷). علاوه بر این، نشان داده شد که سطوح پروتئین های XBP-1, PERK و ATF6 در موش های دیابتی، در اثر فعالیت ورزشی هوازی کاهش یافته بودند (۲۰). استرس شبکه اندوپلاسمی در ارتباط با بیان ژن و پروتئین های PERK, XBP-1s و ATF6 در موش های دیستروفی و چاق افزایش یافته است؛ ولی در اثر هفت هفته فعالیت هوازی نشانه های آپوپتوز گزارش نشدند (۲۸). نتایج این مطالعات با پژوهش حاضر مبنی بر تأثیر مثبت ورزش در ایجاد هومئوستاز در شبکه اندوپلاسمی هم خوانی دارد. در واقع، فعالیت استقامتی کمک می کند

1. Cyclophosphamide Hydroxydaunorubicin Oncovin Prednisone
2. Zhak
3. Cotman
4. c-Jun N-Terminal Kinase
5. Eukaryotic Initiation Factor-2

که استرس وارد شده بر شبکه آندوپلاسمی عصب سیاتیک، در رت‌های دیابتی که فعالیت استقامتی انجام داده بودند، با کمک پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 تعدیل شود. احتمالاً سازوکار به این صورت است که ورزش کمک می‌کند افزایش بیش از اندازه میزان فسفوریلاسیون نابه‌جا در شبکه آندوپلاسمی باعث آپوپتوز و تخریب سلول می‌شود، کاهش یابد. همچنین، فعالیت استقامتی باعث می‌شود که در اثر سازگاری بین این پروتئین‌های ترانس‌غشایی، میزان پروتئین‌های بدتاخورده یا زیادتاخورده شبکه آندوپلاسمی که باعث ایجاد استرس می‌شوند، کاهش یابند؛ در نتیجه، به جلوگیری از تخریب عصب منجر می‌شود. از طرف دیگر، نتایج برخی مطالعات دیگر با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد؛ برای مثال، در یک پژوهش که فعالیت‌های ورزشی با مدت زمان کوتاه مثل شنای یک‌روزه یا یک فعالیت پنج‌روزه به مدت یک هفته انجام شده بودند، تأثیری بر میزان پروتئین‌های PERK, XBP-1s و ATF6 مشاهده نشد (۲۰) که احتمال می‌رود این تأثیر نداشتن به دلیل مدت زمان فعالیت ورزشی باشد؛ زیرا، در این مطالعات، مدت زمانی که آزمودنی‌ها به فعالیت ورزشی پرداخته بودند، کمتر از یک هفته بود، در مقایسه با مطالعاتی که نشان می‌دادند در سطوح این پروتئین‌تغییری به وجود آمده است که حداقل شامل چهار هفته فعالیت ورزشی بود؛ برای مثال، نشان داده شده است که فعالیت‌های ورزشی شدید و استقامتی با حداقل چهار هفته تمرین می‌توانند بر میزان این پروتئین‌ها تأثیر داشته باشند. گزارش شده است که ورزش باعث کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی، آپوپتوز سلولی و التهاب مزمن شبکه آندوپلاسمی در بیماران متابولیکی شده است (۲۹). در مطالعات دیگری نشان داده شده است که استرس شبکه آندوپلاسمی تار عضلانی و نشانه‌های آن مانند XBP-1, ATF6, PERK, IRE1 (1 و CHOP)، در فعالیت‌های ورزشی هوازی و مقاومتی افزایش یافته‌اند؛ اما این افزایش باعث تخریب سلول و آپوپتوز سلول نشد که این مطلب می‌تواند بیان‌کننده پاسخ مثبت شبکه آندوپلاسمی به فعالیت‌های ورزشی باشد و در نتیجه، به هومئوستاز داخلی سلول منجر شود (۲۰). جالب توجه است که پژوهش‌های مختلفی نشان داده‌اند موش‌هایی که سابقه فعالیت ورزشی داشته‌اند، به نسبت موش‌هایی که فعال نبودن نشانه‌های استرس آن‌ها و بیان ژن‌های UPR (XBP-1, ATF6 و Bip) و CHOP آن‌ها پس از فعالیت ورزشی مقاومتی کمتر بود که نشان دهنده تأثیر مثبت فعالیت ورزشی بر کاهش نشانه‌های استرس در موش‌های ورزش کرده، می‌باشد (۲۰). از آنجایی که فعالیت ورزشی یکی از راهکارهای درمانی پیشنهادی در بهبود التهاب و پیشگیری و اختلالات متابولیکی از جمله دیابت نوع دوم و مقاومت انسولینی است، برخی مطالعات با هدف شناسایی سازوکارهای مولکولی واسط در تأثیر فعالیت بدنی، در این زمینه به بررسی تأثیر ورزش بر پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 و پاسخ ER پرداخته‌اند. مطالعات انجام‌شده نشان داده‌اند که سطوح پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 به دنبال تمرینات هوازی کاهش می‌یابند (۲۰). همچنین، سازگاری با تمرینات ورزشی علاوه بر بهبود

نیم‌رخ التهابی در آزمودنی‌ها، استرس ER را مهار می‌کند و به بهبود UPR منجر می‌شود (۲۲). افزون‌براین، تمرینات ورزشی دارای اثرهای محافظتی بر نورون‌ها درمقابل مرگ فیزیولوژیک و پاتولوژیک هستند و به‌عنوان یک مداخله غیردارویی تأثیر مثبتی بر بهبود، رشد و عملکرد شبکه نورونی دارند (۲۵). همچنین، فعالیت‌های هوازی به‌عنوان یک درمان کم‌هزینه برای بهبود عملکرد عصبی - شناختی ظاهر شده‌اند که در دسترس بیشتر افراد هستند و عوارض غیرقابل‌تحملی را که اغلب با درمان دارویی آشکار می‌شود، ندارند (۳۰). در حال حاضر، شواهد قابل‌توجهی وجود دارند که نشان می‌دهند تمرین ورزشی با شدت کم، عامل مهمی در برابر بیماری‌های تخریب عصبی و عملکرد حرکتی است (۲۷). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دیابت باعث افزایش میزان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 در عصب سیاتیک می‌شود و این افزایش در موش‌های دیابتی هم نسبت به موش‌های سالم کنترل و هم نسبت به موش‌های ورزش‌کرده سالم و دیابتی معنادار بود که این موضوع تأییدی بر احتمال حمایت از افزایش استرس شبکه اندوپلاسمی به‌عنوان یکی از عوامل بروز آپوپتوز و مرگ سلولی در دیابت و نروپاتی دیابت است. براساس مطالعات قبلی این احتمال وجود دارد که تولید بیش از اندازه پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 باعث بروز استرس در شبکه اندوپلاسمی می‌شود و در پی آن، به‌هم‌خوردن هموستاز درون‌سلولی و در نهایت، آپوپتوز و مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. در این مطالعه گزارش شد که یک دوره شش‌هفته‌ای فعالیت استقامتی باعث شد که میزان پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 در موش‌های دیابتی تمرین‌کرده نسبت به موش‌های سالم و موش‌های تمرین‌کرده، تغییر زیادی نداشته باشند و در سطح طبیعی خود باقی بمانند.

پیام مقاله: از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت ورزشی استقامتی به موش‌های رت‌های دیابتی کمک کرد که سطوح پروتئین‌های XBP-1 و ATF6 در حالت طبیعی خود باقی بمانند. این موضوع می‌تواند به‌عنوان یک روش مداخله‌ای تأثیرگذار در بیماری دیابت و نروپاتی ناشی از دیابت مورد توجه قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود که این پژوهش روی عضلات و همچنین، بیماران دارای نروپاتی نیز انجام شود.

تشکر و قدردانی

از همه عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، به‌ویژه اساتید محترم راهنما و مشاور، سپاس‌گزاری می‌شود.

منابع

1. Rawal LB, Tapp RJ, Williams ED, Chan C, Yasin S, Oldenburg B. Prevention of type 2 diabetes and its complications Review of Diabetes. Current Medicine. Philadelphia: Int J Behav Med; 2012. 71° 83.
2. Stumvoll M, Goldstein BJ, Van Haeften TW. Type 2 diabetes: Principles of pathogenesis and therapy. The Lancet. 2005;365(9467):1333-46.
3. Kerner W, Brückel J. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2014;122(07):384-6.
4. Wlodkowic D, Skommer J, McGuinness D, Hillier C, Darzynkiewicz Z. ER° Golgi network-A future target for anti-cancer therapy. Leul Res. 2009;33(11):1440-7.
5. Kim I, Xu W, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: Disease relevance and therapeutic opportunities. Nat rev drug discov. 2008;7(12): 1013-30.
6. Eizirik DL, Cardozo AK, CnopM. Therole for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. Endocr Rev. 2008;29(1):42-61.
7. Cnop M, Fougelle F, Velloso LA. Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. Trends Mol Med. 2012;18(1):59-68.
8. Dunys J, Eric Duplan and Frédéric Checler. The transcription factor X-box binding protein-1 in neurodegenerative diseases. Mol Neurodegenr. 2014;9:89-102.
9. Kadowaki H, Nishitoh H. Signaling pathways from the Endoplasmic Reticulum and their roles in disease. Genes. 2013;4(3):306-33.
10. Hetz C. The unfolded protein response: Controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. Nat Rev Mol Cell Biol. 2012;13:89° 102.
11. Tirosch B, Iwakoshi NN, Glimcher LH, Ploegh HL: Rapid turnover of unspliced Xbp-1 as a factor that modulates the unfolded protein response. J Biol Chem. 2006;281:5852° 60.
12. Raji L, Aravind S, Viswanathan M, and Muthuswamy B. Altered immunometabolism at the interface of increased endoplasmic reticulum (ER) stress in patients with type 2 diabetes. J Leukoc Biol. 2015;98:615-22.
13. Toraman NF, Ayceman N. Effects of six weeks of detraining on retention of functional fitness of old people after nine weeks of multicomponent training. Br J of Sports Med. 2005;39(8):565-8.
14. 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-1 /AT66 complex. Cell Metab. 2011;13:160-9.
15. Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. Clinica Chimica Acta. 2010;411(11):785-93.
16. Rajasekar R, Manokaran K, Rajasekaran N, Duraisamy G, Kanakasabapathi D. Effect of alpinia calcarata on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. J Diabetes Metab Disord. 2014;33(13):1-13.
17. Calcutt N. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. In: Luo ZD, editor. Pain research methods in molecular medicine. Philadelphia: Humana Press; 2004. p. 55-65.
18. Chae C H, Jung S L, An S H, Jung C K, Nam S N, Kim H T. 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*. 2011;67(2):235-41.
19. Christ-Roberts C Y, Pratipanawatr T, Pratipanawatr W, Berria R, Belfort R, Kashyap S, et al. Exercise training increases glycogen synthase activity and GLUT4 expression but not insulin signaling in overweight nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2004;53:1233° 42.
 20. Singleton JR, Smith AG, Marcus RL. Exercise as therapy for diabetic and prediabetic neuropathy. *Curr Diab Rep*. 2015;15(12):1-8.
 21. Junyoung H, Kwangchan K, Jong-Hee K and Yoonjung P. The role of endoplasmic reticulum stress in cardiovascular disease and exercise. *International Journal of Vascular Medicine*. 2017; vol. 65, no. 9, pp. 1409° 20.
 22. Braakman I, Hebert DN. Protein folding in the endoplasmic reticulum. *Cold Spring Harb perspect biol*. 2013;5(5): 8: 633° 44.
 23. Jiang D, Niwa M, Koong AC. Targeting the IRE1 -XBP1 branch of the unfolded protein response in human diseases. *Semin Cancer Biol* J.2015;33: 48-56.
 24. Verdile G, Fuller SJ, Martins RN. The role of type 2 diabetes in neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 2015;84:22-38.
 25. Zhang X, Xu L, He D, Ling S Endoplasmic reticulum stressmediated hippocampal neuron apoptosis involved in diabetic cognitive impairment. *Biomed Res Int*. 2013;7(2):71° 3.
 26. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: A behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002;25(6):295-301.
 27. Cai MH, Wang J-J, Li J. J., Zhang Y. L., Xin L., Li F., tt ... , The signaling mechanisms of hippocampal endoplasmic reticulum stress affecting neuronal plasticity-related protein levels in high fat diet-induced obese rats and the regulation of eerbccxxrr rnnn Bhhvvoar, nnd Immuntty, 2016, vo555,pp.347° 59.
 28. Khadir A., Kavalakatt S., Abubaker J. et al.. Physical exercise alleviates ER stress in obese humans through reduction in the expression and release of GRP78 chaperone. *Metabolism: Clinic Exp*. 2016;65(9):1409° 20.
 29. Hulmi JJ, Hentil`a 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 Radical Biol Med*. 2016;99:308° 22.
 30. 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 Sciences*. 2016;145:144° 51.

ارجاع دهی

حامدی فر محمد، میرنصوری رحیم، رحمتی مسعود. بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر سطوح برخی پروتئین‌های شبکه آندوپلاسمی بافت سیاتیک موش‌های صحرایی دیابتی. فیزیولوژی ورزشی. زمستان ۱۳۹۷؛ ۱۰(۴۰): ۸۴-۶۹. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2018.5772.1762

Hamedifar M, Mirnasuri R, Rahmati M. The Effect of Six Weeks Endurance Training on the Levels of Some Endoplasmic Sciatica Tissue Proteins in Diabetic Rats. Sport Physiology. Winter 2019; 10(40): 69-84. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2018.5772.1762.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی