

## تأثیر شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر سطوح CAPI بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی نر ویستار دارای نوروپاتی دیابت

مسعود رحمتی<sup>۱</sup>، عبدالرضا کاظمی<sup>۲</sup>، اعظم درویشی<sup>۳</sup>، صفورا شاهوزاده<sup>۴</sup>

۱. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشگاه لرستان (نویسنده مسئول)

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

۳. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه لرستان

۴. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۸

### چکیده

پروتئین CAPI یکی از عوامل ساختاری و عملکردی مهم بافت چربی در فرایندهای گوناگون از جمله اختلال‌های بافت چربی در حالت نوروپاتی دیابت (DN) است و ممکن است تغییرات بافت چربی در اثر تمرین‌های ورزشی را واسطه‌گری کند. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر فعالیت استقامتی بر سطوح CAPI بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی نر دارای نوروپاتی دیابت بود. در این پژوهش، ۳۰ موش صحرایی نر ویستار ( $10 \pm 260$  گرم) به روش تصادفی ساده به سه گروه کنترل (C)، نوروپاتی دیابت (DNC) و نوروپاتی دیابتی تمرین (DNT) تقسیم شدند. نوروپاتی دیابت با استفاده از استروپتوزوتوسین القا و با استفاده از آزمون‌های رفتاری درد ارزیابی شد. همچنین، پروتکل تمرین ورزشی شامل شش هفته/پنج جلسه در هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بود. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، آزمودنی‌ها بی‌هوش شدند و بافت چربی احشایی استخراج شد و سطوح CAPI با روش ایمونوهیستوشیمیایی اندازه‌گیری شد. برای مقایسه گروه‌ها در متغیرهای مطالعه‌شده نیز از تحلیل واریانس یک‌سویه استفاده شد. افزایش معنادار سطوح این پروتئین در بافت چربی موش‌های دچار نوروپاتی دیابت مشاهده شد ( $P = 0.0001$ )؛ باین‌حال، تمرین استقامتی به تغییر این سطوح افزایش‌یافته در حالت DN قادر نبود؛ به‌طوری‌که تفاوت معناداری بین گروه‌های DNT و DNC مشاهده نشد ( $P = 0.246$ ). به‌طورکلی، به‌نظر می‌رسد سطوح افزایش‌یافته CAPI ممکن است پاسخ جبرانی برای افزایش برداشت گلوکز، گرمایی و آدیپوزنز باشد. همچنین، تأثیرنگذاشتن تمرین‌های استقامتی بر سطوح CAPI ممکن است به‌دلیل هایپرگلیسمی پایدار در گروه DNT باشد؛ باین‌حال، تأیید این فرضیه‌ها نیازمند انجام بررسی‌های بیشتر است.

**واژگان کلیدی:** نوروپاتی دیابت، CAPI، تمرین استقامتی، بافت چربی احشایی.

1. Email: Rahmati.mas@lu.ac.ir
2. Email: rkazemi22@yahoo.com
3. Email: azam.darvishi94@gmail.com
4. Email: shahoozadeh@yahoo.com

## مقدمه

بیماری دیابت<sup>۱</sup> (DM) ششمین علت مرگ و میر در دنیا است که با اختلال‌ها و عوارض متعددی در بافت‌های متفاوت همراه است. از جمله این اختلال‌ها و عوارض می‌توان از نوروپاتی یاد کرد که به صورت تخریب اعصاب محیطی تعریف می‌شود و اغلب در نیمی از افراد دیابتی مشاهده می‌شود (۱). سازوکار پیچیده بیماری‌زایی نوروپاتی دیابت<sup>۲</sup> (DN) از هایپرگلیسمی یا قندخون بالا ناشی می‌شود که به راه‌اندازی مسیرهای متعددی از جمله فشار اکسایشی، درد نوروپاتی و تخریب عروق ریز منجر می‌گردد (۲). بیماران دیابتی دچار دردهای مزمن نظیر درد نوروپاتیک دچار محدودیت در عملکرد و فعالیت بدنی روزانه می‌شوند؛ از این رو، این بیماران در معرض خطر قرار گرفتن در فقر حرکتی و عوارض ناشی آن مانند چاقی هستند که این شرایط نیز می‌تواند سبب فقر حرکتی بیشتر و پیچیدگی فرایند بیماری شود. از طرفی، اختلال در عملکرد بافت چربی با بیماری‌های متفاوتی همچون DM، التهاب، تصلب شراین و مقاومت به انسولین مرتبط است (۳). به تازگی نشان داده شده است که علاوه بر هایپرگلیسمی، اختلال متابولیسم چربی‌ها نیز یکی از سازوکارهای سبب‌شناسی DN است (۴). شواهد نشان می‌دهند که اختلال متابولیسم چربی‌ها به تسریع تخریب عروق ریز و تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر<sup>۳</sup> (ROS) منجر می‌شود که این شرایط در نهایت موجب تسریع ایجاد و توسعه عوارض متعدد DM می‌شود (۵)؛ از این رو، اختلال متابولیسم چربی‌ها عامل خطر مهمی در توسعه DN شناخته می‌شود (۶).

عوامل متفاوتی می‌توانند در شکل‌پذیری بافت چربی دخالت داشته باشند که پروتئین وابسته به سیکلاز<sup>۴</sup> (CAP) یکی از این عوامل است که عمل آن تنظیم پویایی اکتین سایتواسکلت است و اختلال عملکرد آن با نقص سایتواسکلت همراه است (۷). CAP دارای دو ایزوفرم است: CAP1 که در اغلب سلول‌های غیرعضلانی بیان می‌شود و CAP2 که عمدتاً در بافت عضلانی و نواحی خاص مغز بیان می‌شود (۸). شواهدی در مورد عملکرد این پروتئین در بافت چربی در دست نیست، اما نشان داده شده است که حذف ژن CAP1 در موش‌ها موجب اختلال اکتین سایتواسکلت و پلیمریزاسیون فیلامنت اکتین می‌شود. همچنین، عملکرد مناسب این پروتئین برای مورفولوژی، جنبش و اندوسیتوز سلولی ضروری است (۹). این یافته‌ها نشان می‌دهند که CAP1 سلولی نقش مهمی در حفظ و تبادل میزان فیلامنت اکتین دارد (۱۰). به علاوه، پروتئین CAP1 یکی از عواملی است که ممکن است نقش مهمی در عملکرد بافت چربی داشته باشد.

- 
1. Diabetes Mellitus
  2. Diabetic Neuropathy
  3. Reactive Oxygen Species
  4. Cyclase Associated Protein

از سوی دیگر، رزیستین یکی از فاکتورهای پیش‌التهابی مترشحه از بافت چربی است که در مقاومت به انسولین نقش دارد. رزیستن در آدیپوست‌ها و سلول‌های متفاوت از جمله سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی، ماکروفاژها و سلول‌های مغز استخوان یافت می‌شود و در بروز شرایط التهابی در انسان نیز دخیل است (۱۱). رزیستین، بیشتر در آدیپوست‌ها تولید می‌شود که بروز مقاومت به انسولین را به بافت چربی مرتبط می‌کند (۱۲). CAPI یک گیرنده کاربردی برای رزیستین است. رزیستین به‌طور مستقیم به CAPI متصل می‌شود و مقادیر cAMP داخل سلولی، فعالیت PKA و رونویسی مرتبط با NF-KB از سیتوکین‌های التهابی را تنظیم می‌کند (۱۳). افزایش ترشح رزیستین سبب اختلال در عمل انسولین و متابولیسم گلوکز می‌شود و به‌عنوان یک رابط مهم بین مقاومت به انسولین و بافت چربی عمل می‌کند. همچنین، افزایش رزیستین انتقال گلوکز وابسته به انسولین را کاهش می‌دهد که در نهایت به افزایش مقاومت انسولین منجر می‌شود. برخی از مطالعات ارتباط معناداری را بین سطوح رزیستین و مقاومت به انسولین گزارش کرده‌اند (۱۱). با توجه به اینکه شواهدی در مورد عملکرد پروتئین CAPI در بافت چربی در دست نیست، نشان داده شده است که رزیستین به‌طور مستقیم به CAPI متصل است؛ بنابراین، ممکن است CAPI یکی از عواملی باشد که نقش مهمی در عملکرد بافت چربی، بهبود حساسیت به انسولین و کاهش عوارض دیابت داشته باشد.

یافته‌های بسیاری حاکی از آن است که تمرین‌های ورزشی اثرهای سودمندی بر چاقی و اضافه‌وزن از طریق کاهش توده چربی و عوامل خطر ساز متابولیکی در افراد دارند (۱۴). همچنین، تمرین‌های ورزشی موجب بهبود نیمرخ چربی‌های پلاسما، هومئوستاز گلوکز و جریان خون بافت چربی می‌شوند (۱۵). با توجه به نقش نامشخص این پروتئین در بافت چربی و همچنین تأثیر عمیق تمرین‌های ورزشی بر بافت چربی و با توجه به اینکه CAPI یک گیرنده کاربردی برای رزیستین است (۱۳)، ممکن است این پروتئین برخی از سازوکارهای درگیر دیس‌لیپیدمی همراه با DM و نیز شکل‌پذیری بافت چربی در اثر انجام تمرین‌های ورزشی را وساطت کند؛ با این حال، اثرهای تمرین‌های ورزشی بر شکل‌پذیری و ساختار بافت چربی در حالت DN نامشخص است.

با توجه به اهمیت و نقش این پروتئین در سلول، به‌نظر می‌رسد این پروتئین یکی از عوامل ساختاری و عملکردی مهم بافت چربی در فرایندهای متفاوت از جمله اختلال‌های بافت چربی در حالت DN است و نیز ممکن است تغییرات بافت چربی در اثر انجام تمرین‌های ورزشی را واسطه‌گری کند. به‌نظر می‌رسد بررسی این فرض بتواند شناخت ما را در پاتولوژی DN و همچنین چگونگی تأثیر تمرین‌های ورزشی بر بافت چربی نمایان کند؛ از این‌رو، در پژوهش حاضر برای اولین بار اثر تمرین‌های ورزشی

به صورت تمرین‌های استقامتی بر سطوح پروتئین CAPI بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی نر ویستار دارای نوروپاتی دیابت بررسی خواهد شد.

### روش پژوهش

در پژوهش حاضر از ۳۰ سر موش صحرایی نر ویستار هشت‌هفته‌ای با وزن ۲۵۰ گرم استفاده شد. همه موش‌های صحرایی در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی شش صبح و شروع خاموشی شش عصر) دما ( $3 \pm 22$  سانتی‌گراد) و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. در طول پژوهش نیز موش‌های صحرایی توسط یک نفر جابه‌جا و دستکاری می‌شدند. در پژوهش حاضر کار با حیوانات براساس همه اصول اخلاقی تأییدشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه لرستان (LUNS.REC.1395.170) و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی مطالعه درد (IASP)<sup>۱</sup> انجام شد.

پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه، موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه نوروپاتی دیابت تمرین (DNT)، گروه نوروپاتی دیابت کنترل (DNC) و گروه کنترل (C). پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، با تزریق درون‌صفافی محلول STZ (حل‌شده در بافر سیترات تازه ۰/۵ نیم مولار و PH چهار و نیم) دیابت القا شد. میزان تزریق STZ و وزن حیوانات قبل از تزریق STZ، دو عامل مهمی هستند که پیدایش درد نروپاتیک را به‌همراه دارند؛ بنابراین، در مطالعه حاضر برای کاهش حساسیت بیماری و اثرهای جانبی به سطح قابل قبول، از کمترین میزان تزریق STZ و مطابق با وزن حیوانات استفاده شد (۱۶). ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد جراحی کوچک توسط لانسیت روی ورید دم رت‌ها، یک قطره خون روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و نوار توسط دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت روشه آلمان) خوانده شد و رت‌هایی که قندخون آن‌ها از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر بیشتر بود، دیابتی در نظر گرفته شدند. همچنین، به‌منظور تأیید دیابت القا شده توسط STZ، قندخون رت‌ها در هفته‌های سوم و ششم تمرین استقامتی در حالت ناشتا اندازه‌گیری شد.

به‌علاوه، در مطالعه حاضر دو هفته پس از تزریق STZ، موش‌هایی که علائم نوروپاتی را (آلودینیای مکانیکی و پردردی حرارتی) نشان دادند، مدل نوروپاتی دیابت در نظر گرفته شدند. هر سه هفته یک‌بار نیز علائم رفتاری و قندخون موش‌ها به‌منظور اثبات دوام دیابت و نوروپاتی سنجیده شد. در صورت بازگشت علائم رفتاری و قندخون به میزان طبیعی، موش‌های موردنظر از فرایند پژوهش خارج شدند.

در پژوهش حاضر برای تمرین استقامتی از شدت تمرینی متوسط (۵۵-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) براساس مطالعه<sup>۱</sup> و همکاران (۱۷) استفاده شد؛ بدین صورت که گروه‌های ورزشی در معرض تمرین نوارگردان برای پنج جلسه در هفته و به مدت شش هفته قرار می‌گیرند. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم و ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۷-۱۸ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. برای رسیدن سازگاری‌های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگاه داشته شدند (جدول شماره یک).

جدول ۱- نمایش عددی پروتکل تمرینی در هفته‌های متفاوت

| متغیر                         | هفته اول | هفته دوم | هفته سوم | هفته چهارم | هفته پنجم | هفته ششم |
|-------------------------------|----------|----------|----------|------------|-----------|----------|
| مدت تمرین (دقیقه)             | ۱۰       | ۲۰       | ۲۰       | ۳۰         | ۳۰        | ۳۰       |
| سرعت نوارگردان (متر در دقیقه) | ۱۰       | ۱۰       | ۱۵       | ۱۵         | ۱۸        | ۱۸       |

**بررسی درد نوروپاتی با استفاده از آزمون آلودینیای مکانیکی:** بدین منظور، حیوان روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰ × ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار می‌گیرد. برای عادت کردن حیوانات به محیط جدید، آن‌ها ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش درون محفظه‌ای شفاف و روی صفحه مشبک قرار می‌گیرند. برای سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای متفاوت وان فری<sup>۲</sup> در محدوده دو تا ۶۰ گرم (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶، ۶۰) ساخت شرکت استولینگ آمریکا<sup>۳</sup> به منظور سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع می‌شود و در صورت ایجاد نشدن پاسخ، به ترتیب از تارهای با وزن بیشتر استفاده می‌شود. چنانچه دو بار متوالی پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده شد، همان وزنه آستانه پس کشیدن پنجه<sup>۴</sup> (PWT) محسوب می‌شود و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کند. چنانچه حیوان به هیچ‌یک از تارها

1. Chae
2. Von Fery
3. Stolting, USA
4. Paw Withdrawal Threshold

از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ ندهد، عدد ۶۰ آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شود. همچنین، هر آزمایش سه بار و به تناوب حداقل سه دقیقه تکرار می‌شود و میانگین آن‌ها به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه منظور می‌شود. به طور کلی، آلودینیای مکانیکی دو هفته پس از القای دیابت و هر دو هفته در طول انجام پروتکل تمرین و نیز ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین اندازه گیری می‌شود (۱۸).

**انجام آزمون پردردی حرارتی:** از آزمون TF<sup>۱</sup> برای سنجش پردردی حرارتی حیوانات استفاده شد. پاسخ TF، یک رفلکس نخاعی درخور توجه در موش است که به وسیله اعمال گرمای آسیب رسان به دم ایجاد می‌شود. تأخیر<sup>۲</sup> این پاسخ در آزمایش‌های الکتروفیزیولوژیک و فارماکولوژیک به عنوان یک معیار پاسخ درد حیوان به کار می‌رود. در این روش اندازه گیری سنجش درد، ابتدا موش‌ها به مقیدکننده سازگاری داده می‌شوند تا اثر استرس بر نتایج کاهش یابد و حیوان کاملاً در شرایط راحت باشد. این کار باید حداقل دو روز قبل از انجام آزمایش و به مدت ۲۰ دقیقه و سه بار در روز انجام گیرد. بعد از عادت کردن حیوان به مقیدکننده و محیط آزمایشگاه، موش به راحتی وارد مقیدکننده می‌شود و هیچ گونه مقاومت و عکس‌العملی نشان نمی‌دهد. پس از ورود حیوان به مقید کننده، حدود پنج سانتی‌متر از نوک دم روی چشم حساس الکترونیکی دستگاه TF قرار می‌گیرد و دکمه شروع دستی یا پایی فشار داده می‌شود که در این هنگام پرتوی نور حاصل از روشن شدن لامپ دستگاه به وسیله آینه مقعری که بالای آن تعبیه شده است، روی دم حیوان متمرکز می‌شود و حیوان پس از مدتی (احساس درد) به صورت غیرارادی دم خود را پس می‌کشد. بعد از تکان دادن دم توسط حیوان، بلافاصله لامپ خاموش می‌شود و مدت زمان تأخیر پس کشیدن دم که به صورت عدد روی دستگاه مشخص است، یادداشت می‌شود. در تمام آزمایش‌ها، ارزیابی تأخیر پس کشیدن دم در زمان، دما و شرایط یکسان انجام می‌گیرد. شدت جریان دستگاه ۳۴ صدم آمپر و فاصله لامپ از چشم حساس الکترونیکی ۲/۶ سانتی‌متر تنظیم شد. بیشترین زمان برای هر آزمون ۱۰ ثانیه لحاظ شد تا به آزمودنی‌ها آسیب وارد نشود (۱۸).

**سنجش بیان پروتئین CAPI به روش ایمونوهیستوشیمی:** ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی توسط استنشاق ترکیب هوای ۸۰ درصد CO<sub>2</sub>/۲۰ درصد O<sub>2</sub> (۱۹) بی‌هوش و سپس تشریح شدند. پس از آن نمونه‌های بافت چربی احشایی استخراج شدند و در فرمالین ۱۰ درصد برای تجزیه و تحلیل بعدی قرار داده شدند. به طور کلی، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در ۶۰ درجه انکوبه شدند. سپس، از طریق سری‌های الکل نزولی دهیدراته شدند و پس از آن برای کاهش فعالیت آنزیم درون‌زا، در پراکسید هیدروژن ۱۰ درصد در متانول به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند.

- 
1. Tail-Flick
  2. Latency

در ادامه، در بافر تریس (PH7.4, H<sub>2</sub>NC (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>) شسته شدند و آنتی ژن‌ها با اتوکلاوینگ در بافر سیترات (PH6, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>2H<sub>2</sub>O) به مدت ۱۱ دقیقه بازیابی شدند. سپس، نمونه‌ها با استفاده از آنتی‌بادی اولیه (شرکت اب کم)<sup>۱</sup> به مدت یک شب در دمای چهار درجه انکوبه شدند. شایان ذکر است که رقت مطلوب برای آنتی‌بادی اولیه، یک به ۱۰۰ بود. پس از آن نمونه‌ها در آنتی‌بادی ثانویه (پراکسیداز ترب کوهی، HRP)<sup>۲</sup> (شرکت اب کم) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. در ادامه، محلول دی آمینوبنزیدین (DAB)<sup>۳</sup> (شرکت سیگما<sup>۴</sup>، آمریکا) به نمونه‌ها اضافه شد. در پایان، برش‌ها با استفاده از هماتوکسیلین رنگ شدند، در سری‌های الکل صعودی دهیدراته شدند، توسط زایلن شفاف شدند و برای مشاهده از طریق انتالن، مونته شدند. لازم است ذکر شود که برای کنترل منفی از آنتی‌بادی اولیه استفاده نشد. سپس، از طریق میکروسکوپ نوری (اولیمپوس AX-70)<sup>۵</sup> و با بزرگ‌نمایی 400x، از برش‌ها عکس گرفته شد و در نهایت تعداد سلول‌های مثبت در امتداد خطی با طول ۴۰۰ میکرومتر (مساحتی حدود ۰/۱۶۰ میکرو متر مربع) از بافت چربی احشایی رت‌ها با استفاده از نرم‌افزار ایمج تول-۶<sup>۶</sup> شمارش شد.

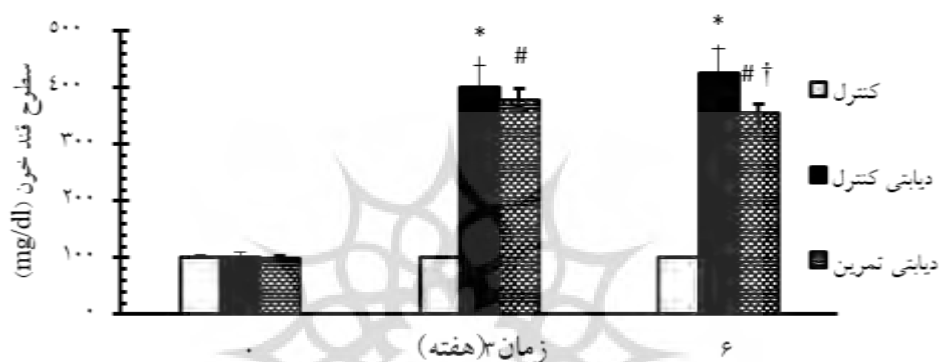
برای توصیف داده‌ها و رسم نمودارها از آمار توصیفی و برای مقایسه گروه‌ها در متغیرهای مطالعه‌شده از تحلیل واریانس یک‌سویه استفاده شد. برای انجام آزمون‌های تکمیلی در صورت نیاز، از آزمون تعقیبی توکی<sup>۷</sup> استفاده شد. همه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای اس.پی.اس.اس.<sup>۸</sup> نسخه ۱۸ و مایکروسافت اکسل ۲۰۱۰ انجام شد و حداقل سطح معناداری داده‌ها برابر با  $\alpha \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

در پژوهش حاضر نشان داده شد که تزریق STZ با موفقیت به قندخون افزایش یافته در موش‌های صحرایی منجر شده است. شکل شماره یک نشان می‌دهد که قندخون در موش‌های صحرایی نسبت

- 
1. ABCam
  2. Horseradish Peroxidase
  3. 3'diaminobenzidine
  4. Sigma
  5. Olympus AX-70
  6. Image Tool-2
  7. Tukey
  8. SPSS

به گروه C افزایش معناداری داشته است ( $P = 0.001$ ). در شروع برنامه تمرینی غلظت گلوکز خون در گروه‌های DC و DT نسبت به گروه سالم به‌طور معناداری بیشتر بود ( $P = 0.001$ ) و پس از شش هفته تمرین استقامتی نیز همچنان تفاوت معنادار وجود داشت ( $P = 0.001$ ). همچنین در پایان برنامه تمرینی، غلظت گلوکز خون گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه دیابت تمرین نکرده به‌طور معناداری کمتر بود ( $P = 0.001$ ) (شکل شماره چهار).

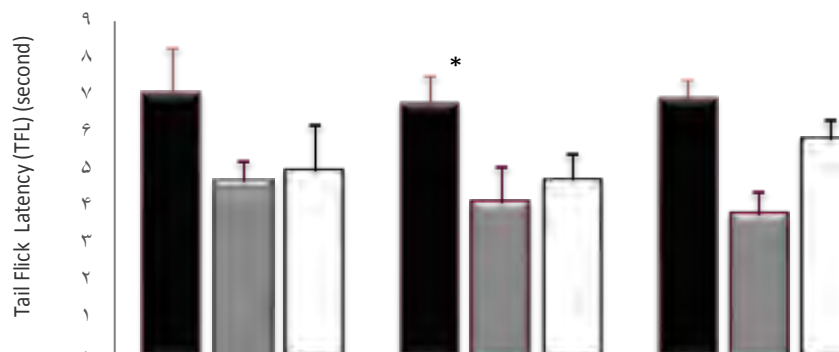


شکل ۱- سطوح قند خون

افزایش معنادار ( $P = 0.001$ ) میزان قند خون در گروه موش‌های دیابتی کنترل (\*) و دیابتی تمرین (#) در مقایسه با موش‌های سالم؛ †: تفاوت معنادار با گروه دیابت کنترل ( $P = 0.001$ ).

در شکل شماره دو پردردی حرارتی اندازه‌گیری شده در آزمون TF نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در سرتاسر پژوهش القای دیابت موجب کاهش معنادار ( $P = 0.001$ ) آستانه درد موش‌ها در گروه دیابتی کنترل (DC) و گروه دیابتی تمرین (DT) در مقایسه با موش‌های سالم شده است ( $P = 0.001$ ) و پس از شش هفته تمرین استقامتی، آستانه درد در گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه دیابت تمرین نکرده به‌طور معناداری بیشتر بود ( $P = 0.001$ ).

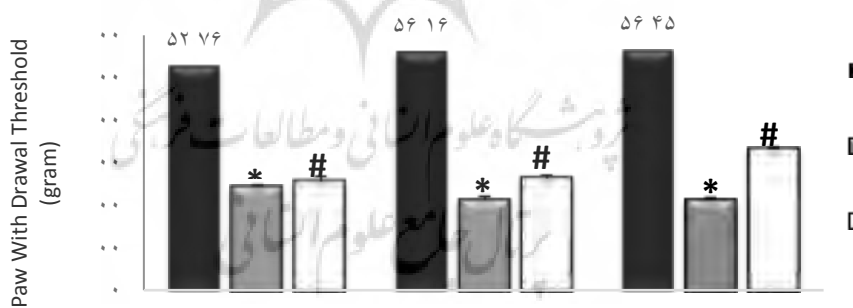




شکل ۲- نتایج آزمایش پردردی حرارتی

(القای دیابت موجب کاهش معنادار ( $P = 0.001$ ) آستانه درد موش‌ها در گروه دیابتی کنترل (\*) و گروه دیابتی تمرین (#) در مقایسه با موش‌های سالم شده است.)

آزمون Von frey نشان داد که میانگین تغییرات آستانه پس کشیدن پنجه در آزمون آلودینیای مکانیکی در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌های سالم کمتر بود ( $P = 0.001$ ). پس از شش هفته تمرین استقامتی، آستانه پس کشیدن پنجه در گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه دیابت تمرین نکرده به طور معناداری بیشتر بود ( $P = 0.001$ ).

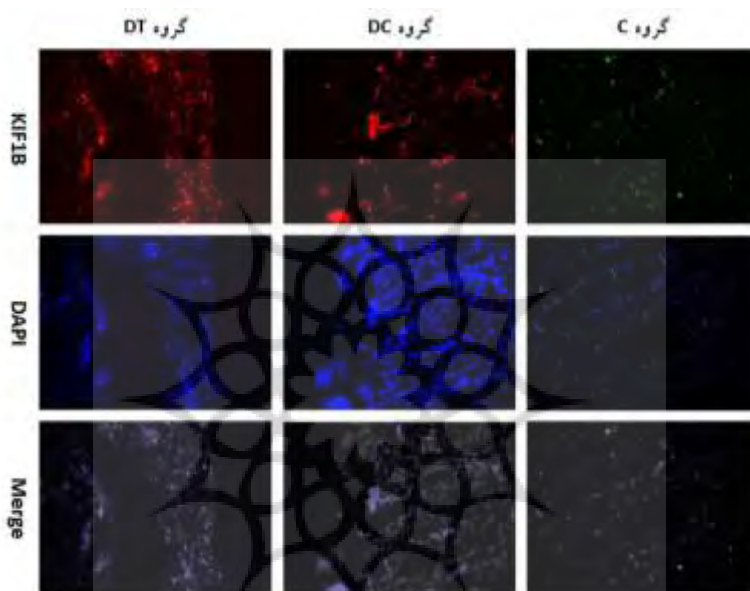


ما: (هفته)

شکل ۳- نتایج آزمایش آلودینیای مکانیکی

(القای دیابت موجب کاهش معنادار ( $P = 0.001$ ) آستانه درد موش‌ها در گروه دیابتی کنترل (\*) و گروه دیابتی تمرین (#) در مقایسه با موش‌های سالم شده است.)

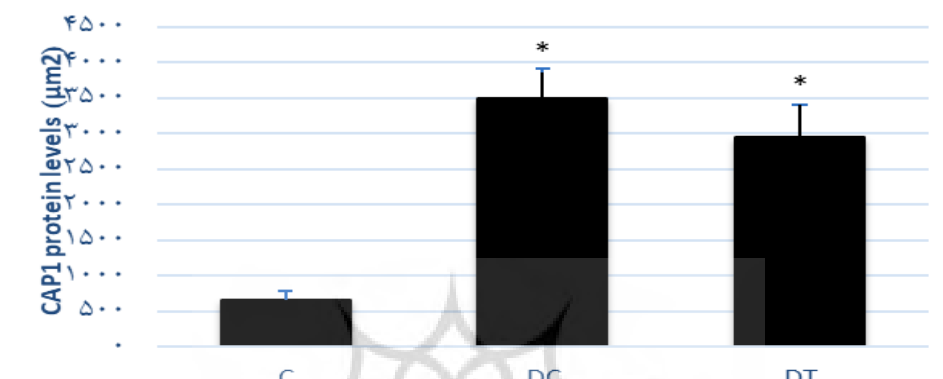
نمایش عکس‌های IHC از CAP1 در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی گروه‌های تجربی با استفاده روش IHC سطوح پروتئین CAP1 در بافت چربی موش‌های صحرایی حاضر در گروه‌های تجربی اندازه‌گیری شد. عکس‌های به‌دست‌آمده از این روش در شکل شماره چهار نمایش داده شده است.



شکل ۴- عکس‌های به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری‌های ایمنو‌هیستوشیمیایی در گروه‌های تجربی پژوهش

مقایسه سطوح کمی CAP1 از بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی گروه‌های تجربی در پژوهش حاضر: به‌منظور بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر سطوح CAP1 بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی نر ویستار دارای نوروپاتی دیابت از روش IHC استفاده کردیم و نتایج سنجش سطوح پروتئین CAP1 در بافت چربی موش‌های صحرایی ویستار دارای نوروپاتی دیابت به روش IHC نشان داد که سطوح پروتئین CAP1 در بافت چربی موش‌های صحرایی گروه DC افزایش معناداری نسبت به گروه C دارد ( $P = 0.0001$ ). این سطوح افزایش‌یافته معنادار بین گروه‌های DT و C نیز مشاهده می‌شود ( $P = 0.001$ ). تفاوت بین گروه‌های DC و DT مشاهده شد، اما معنادار نبود ( $P = 0.246$ ). این یافته‌ها نشان می‌دهند که نوروپاتی دیابت با سطوح افزایش‌یافته سطوح پروتئین

CAPI در بافت چربی همراه است و انجام تمرین‌های ورزشی در حالت DN قادر به تعدیل یا مهار این افزایش به صورت معنادار نیست. نتایج این اندازه‌گیری در شکل شماره پنج نشان داده شده است.



شکل ۵- مقایسه سطوح CAPI بافت چربی بین سه گروه آزمایش

\*: تفاوت معنادار بین سطوح CAPI و گروه C ( $P = 0.0001$ )

### بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر مشاهده شد که در حالت DN، سطوح پروتئین CAPI در بافت چربی دچار تنظیم افزایشی می‌شود. عملکرد فیزیولوژیک این پروتئین به‌ویژه در بافت چربی نامشخص است، اما رزیستین به‌طور مستقیم به CAPI متصل می‌شود و مقادیر cAMP داخل سلولی، فعالیت PKA و رونویسی مرتبط با NF-KB از سیتوکین‌های التهابی را تنظیم می‌کند (۱۳). افزایش ترشح رزیستین سبب اختلال در عمل انسولین و متابولیسم گلوکز می‌شود و به‌عنوان رابطی مهم بین مقاومت به انسولین و بافت چربی عمل می‌کند. افزایش رزیستین انتقال گلوکز وابسته به انسولین را کاهش می‌دهد که در نهایت به افزایش مقاومت انسولین منجر می‌شود. برخی مطالعات ارتباط معناداری را بین سطوح رزیستین و مقاومت به انسولین گزارش کرده‌اند (۱۱). افزایش ترشح رزیستین سبب اختلال در عمل انسولین و متابولیسم گلوکز شده است؛ براین اساس، سطح رزیستین در افراد دیابتی بالاست (۲۰). شوندی و همکاران (۲۱) نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی باعث کاهش درخور توجه سطوح رزیستین مردان دیابتی شد. آن‌ها گزارش کردند که افزایش درخور ملاحظه حساسیت انسولین گروه تمرین با تغییرات سطوح رزیستین در ارتباط بود؛ البته میزان رزیستین در پژوهش حاضر اندازه‌گیری نشده است. با توجه به وجود ارتباط نزدیک CAPI با رزیستین ممکن است افزایش سطوح پروتئین

CAP1 در بافت چربی با افزایش رزیستین در ارتباط باشد. ممکن است پروتئین CAP1 در ایجاد دیابت به همراه ایجاد مقاومت انسولینی نقش داشته باشد؛ با این حال، با توجه به نبود شواهد در این رابطه، برای تأیید این فرضیه انجام پژوهش‌های بیشتری لازم است.

از طرفی، عمل CAP1 تنظیم اکتین سایتواسکلت است. سایتواسکلت ساختار واحد و یکپارچه‌ای است که از سه کمپلکس با ویژگی‌های متفاوت تشکیل شده است که با یکدیگر در تعامل هستند: میکروتوبول‌ها، نوروفیلانمنت‌ها و میکروفیلانمنت‌ها (۲۲). در مورد اهمیت سایتواسکلت در بافت چربی گزارش شده است که اکتین سایتواسکلت برای تردد و اتصال وزیکول<sup>۱</sup> حیاتی است (۲۳). در بافت چربی برداشت گلوکز ناشی از تحریک انسولین، نیازمند حرکت ناقل گلوکز (GLUT4) از ذخایر وزیکولی درون سلولی به غشای پلاسمایی از طریق یک مسیر اگزوسیتوزی است. در این حین، انسولین با تحریک بافت چربی به بازسازی اکتین سایتواسکلت منجر می‌شود و اختلال در این بازسازی موجب مهار تردد GLUT4 و برداشت گلوکز می‌شود. نشان داده شده است که اختلال در بازسازی اکتین سایتواسکلت با انباشتگی طبیعی وزیکول‌های GLUT4 در غشای پلاسمایی همراه است (۲۳)؛ از این رو، به نظر می‌رسد سطوح افزایش‌یافته CAP1 در بافت چربی در حالت DN ممکن است پاسخ جبرانی به دلیل اختلال در عملکرد GLUT4 به سبب کمبود انسولین باشد؛ به طوری که سطوح پروتئین‌های سایتواسکلت در حالت آتروفی بافت چربی همانند حالت DM نوع یک کاهش می‌یابند (۲۴). این کاهش ممکن است با اختلال در عملکرد GLUT4 همراه باشد (۲۳)؛ به صورتی که همسو با این فرض گزارش شده است که در مدل DM با STZ به کاهش بیان GLUT4 در آدیپوسایت منجر می‌شود (۲۵).

از سوی دیگر، در پژوهش حاضر، انجام شش هفته تمرین استقامتی قادر به تغییر سطوح پروتئینی CAP1 در حالت DT بود، اما این تغییر معنادار نبود؛ هرچند نشان داده شده است که تمرین‌های استقامتی علاوه بر قهوه‌ای کردن بافت چربی که به دلیل افزایش سطوح میتوکندری و بهبود ظرفیت سوخت‌وساز در این بافت است، موجب تغییرات ساختاری دیگری همچون کاهش توده بافت چربی، کوچک‌تر کردن اندازه آدیپوسایت‌ها، کمتر کردن محتوای تری‌گلیسیرید در هر آدیپوسایت و کم کردن تعداد آدیپوسایت می‌شود (۲۶). در این شرایط تمرین‌های ورزشی به بهبود واکنش‌های متابولیک از جمله لیپولیز آدیپوسایت، برداشت گلوکز ناشی از تحریک انسولین و جریان خون بافت چربی منجر می‌شود (۱۵). از سوی دیگر، پژوهش حاضر نشان داد که در مقایسه با گروه دیابتی تمرین‌نکرده، شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط موجب کاهش معنادار غلظت گلوکز خون در گروه تمرین دیابتی شده است. همسو با این نتیجه، نشان داده شده است که ورزش می‌تواند حساسیت انسولینی را

## 1. Vesicle Trafficking and Fusion

افزایش دهد (۲۷)؛ از این رو، در پژوهش حاضر این احتمال وجود دارد که ورزش از طریق تأثیر بر کاهش غلظت گلوکز خون موجب بهبود واکنش‌های متابولیک از جمله لیپولیز آدیپوسایت در رت‌های دیابتی تمرین کرده شده است؛ اگرچه این موضوع به‌طور مستقیم در این پژوهش ارزیابی نشده است. از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به بررسی‌نشدن سازوکارهای دقیق سیگنالینگ مرتبط با پروتئین CAPI اشاره کرد؛ بنابراین، توصیه می‌شود در پژوهش‌های آینده این موضوع به‌طور دقیق بررسی شود.

علاوه‌براین، در پژوهش حاضر تمرین استقامتی قادر به تعدیل پردردی حرارتی و آلودینمای مکانیکی در موش‌های صحرایی دارای DT شد. همسو با این یافته پژوهش حاضر، طاهرآبادی و همکاران (۲۸) نیز گزارش کردند که چهار هفته تمرین استقامتی زیربیشینه قادر به تعدیل پردردی حرارتی اندازه‌گیری شده با دستگاه Tail Flick در موش‌های دارای نوروپاتی دیابتی است؛ با این حال، مطالعات متفاوتی وجود دارد که نشان می‌دهند تمرین‌های ورزشی قادر به تأخیر در آغاز درد نوروپاتی (۲۹)، کاهش حساسیت لامسه‌ای (۳۰)، آلودینمای مکانیکی (۳۱) و پردردی حرارتی (۳۲) هستند. از طرفی مشخص نیست که آیا فعالیت افزایش‌یافته به شکل تمرین‌های استقامتی می‌تواند از تغییر در سطح پروتئین CAPI در شرایط درد نوروپاتی جلوگیری کند یا خیر؟ در صورتی که گزارش شده است فعالیت بدنی افزایش‌یافته به شکل تمرین‌های ورزشی اثر تعدیل‌کننده‌ای بر درد نوروپاتیک دارد. برای شناخت بیشتر این سازگاری‌ها به انجام پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

**پیام مقاله:** به‌طور کلی در پژوهش حاضر مشاهده شد که DC موجب افزایش بیان پروتئین CAPI سیتوپلاسمی در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی می‌شود و تمرین استقامتی نیز قادر به تعدیل و کاهش معنادار این بیان نیست. سطوح افزایش‌یافته CAPI ممکن است پاسخ جبرانی برای افزایش برداشت گلوکز، گرم‌زایی و آدیپوژنز باشد. به‌نظر می‌رسد تأثیرنگذاشتن معنادار تمرین‌های ورزشی بر سطوح پروتئین CAPI بین گروه‌های DC و DT احتمالاً ناشی از مدت زمان کوتاه شش‌هفته‌ای تمرین‌های ورزشی بوده باشد؛ با این حال، برای تأیید این فرضیه‌ها انجام بررسی‌های بیشتری لازم است.

### تشکر و قدردانی

از همکاری سرکار خانم دکتر زهره مظاهری برای انجام آزمایش‌های هیستولوژیک کمال تشکر و قدردانی را داریم. لازم است ذکر شود که مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی درون‌دانشگاهی دانشگاه لرستان است.

## منابع

1. Klippel JH, Stone JH, White PH. Primer on the rheumatic diseases. Berlin/Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2008. p. 45-6.
2. Tesfaye S, Selvarajah D. Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Metab Res Rev.* 2012;28(S1):8-14.
3. Van Gaal LF, Mertens IL, Christophe E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature.* 2006;444(7121):875-80.
4. Lupachyk S, Watcho P, Hasanova N, Julius U, Obrosova I. Triglyceride, nonesterified fatty acids, and prediabetic neuropathy: Role for oxidative–nitrosative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 2012;52(8):1255-63.
5. Sandireddy R, Yerra VG, Areti A, Komirishetty P, Kumar A. Neuroinflammation and oxidative stress in diabetic neuropathy: Futuristic strategies based on these targets. *Int J Endocrinol;* 2014.
6. Wiggin TD, Sullivan KA, Pop BR, Amato A, Sima A, et al. Elevated triglycerides correlate with progression of diabetic neuropathy. *Diabetes.* 2009;58(7):1634-40.
7. Sultana H. Cyclase associated protein CAP in the regulation of the actin cytoskeleton and cell polarity in *Dictyostelium discoideum*. Koln: Universität zu Köln; 2004. p. 79-80.
8. Normoyle KP. Cyclase associated protein (CAP) and the physiological disassembly of actin. Illinois: University of Illinois at Urbana-Champaign; 2015. p. 14-6.
9. Bertling E, et al. Cyclase-associated protein 1 (CAP1) promotes cofilin-induced actin dynamics in mammalian nonmuscle cells. *Mol Biol Cell.* 2004;15(5):2324-34.
10. Zhang H, Ghai P, Wu H, Wang C, Field J, et al. Mammalian adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) regulates cofilin function, the actin cytoskeleton, and cell adhesion. *J. Biol. Chem.* 2013;288(29):20966-77.
11. Adeghate E. An update on the biology and physiology of resistin. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004;61(19-20):2485-96.
12. Jamaluddin M, Weakley S, Yao Q, Chen C. Resistin: Functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br. J. Pharmacol.* 2012;165(3):622-32.
13. Lee S, Lee HC, Kwon YW, Lee SE, Cho Y, et al. Adenylyl cyclase-associated protein 1 is a receptor for human resistin and mediates inflammatory actions of human monocytes. *Cell Metab.* 2014;19(3):484-97.
14. Alm PS, Krook A, de Castro Barbosa T. Maternal obesity legacy: Exercise it away! *Diabetologia.* 2016;59(1):5-8.
15. Stallknecht B. Influence of physical training on adipose tissue metabolism—with special focus on effects of insulin and epinephrine. *Dan Med Bull.* 2004;51(1):1-33.
16. Calcutt NA. Experimental models of painful diabetic neuropathy. *J Neurol Sci.* 2004;220(1):137-9.
17. Chae C, Jung S, An S, Park B, Wang S, et al. RETRACTED: Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. *Neuroscience.* 2009;164(4):1665-73.

18. Hole K, Tjølsen A. Tail Flick test. In: Encyclopedia of pain. London: Springer; 2007. p. 2392-5.
19. Kohler I, Meier R, Busato A, Neiger-Aeschbacher G, Schatzmann U. Is carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) a useful short acting anaesthetic for small laboratory animals?. *Lab. Anim.* 1999;33(2):155-61.
20. Jamali E, Asad MR, Rassouli A. Effect of eight-week endurance exercise on resistin gene expression in visceral adipose tissues in obese rats. *JSSU.* 2017;25(1):20-31.
21. Shavandi N, Saremi A, Ghorbani A, Parastesh M. Effects of aerobic training on resistin, adiponectin and insulin resistance index in type 2 diabetic men. *Sport Physiology.* 2011;3(10):89-102. (In Persian).
22. Luo L. Actin cytoskeleton regulation in neuronal morphogenesis and structural plasticity. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2002;18(1):601-35.
23. Lopez JA, Burchfield JG, Blair DH, Mele K, Ng Y, et al. Identification of a distal GLUT4 trafficking event controlled by actin polymerization. *Mol. Biol. Cell.* 2009;20(17):3918-29.
24. Takada J, Machado MA, Peres SB, Brito LC, Borges-Silva CN, et al. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: A model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. *Metabolism.* 2007;56(7):977-84.
25. Gerrits PM, Olson AL, Pessin JE. Regulation of the GLUT4/muscle-fat glucose transporter mRNA in adipose tissue of insulin-deficient diabetic rats. *J. Biol. Chem.* 1993;268(1):640-4.
26. Cinti S. Exercise and the adipose organ. *Dtsch Z Sportmed.* 2016;67:77-83.
27. Chen Y-W, Li Y-T, Chen YC, Li Z-Y, Hung C-H. Exercise training attenuates neuropathic pain and cytokine expression after chronic constriction injury of rat sciatic nerve. *Anesth Analg.* 2012;114(6):1330-7.
28. Taherabadi SJ, Heidarianpour A, Basereh M. Effects of submaximal endurance training and vitamin D3 supplementation on pain threshold in diabetic rats. *Zahedan. J. Res. Med. Sci.* 2013;15(7):22-5.
29. Chen Y-W, Hsieh P-L, Chen Y-C, Hung C-H, Cheng J-T. Physical exercise induces excess hsp72 expression and delays the development of hyperalgesia and allodynia in painful diabetic neuropathy rats. *Anesth Analg.* 2013;116(2):482-90.
30. Shankarappa SA, Piedras-Rentería ES, Stubbs EB. Forced-exercise delays neuropathic pain in experimental diabetes: Effects on voltage-activated calcium channels. *JNC.* 2011;118(2):224-36.
31. Cobianchi S, Casals-Diaz L, Jaramillo J, Navarro X. Differential effects of activity dependent treatments on axonal regeneration and neuropathic pain after peripheral nerve injury. *Exp. Neurol.* 2013;240:157-67.
32. Rossi DM, Valenti VE, Navega MT. Exercise training attenuates acute hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetic female rats. *Clinics.* 2011;66(9):1615-9.

**ارجاع‌دهی**

رحمتی مسعود، کاظمی عبدالرضا، درویشی اعظم، شاهوزاده صفورا. تأثیر شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر سطوح CAPI بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی نر ویستار دارای نوروپاتی دیابت. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۳۹۹؛ ۱۲(۴۶): ۴۱-۵۶. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2019.6576.1826

Rahmati M, Kazemi A, Darvishi A, Shahozadeh S. The Effect of 6 Weeks Endurance Training on the CAPI Levels in Visceral Adipose Tissue of Male Wistar Rats with Diabetes Neuropathy. *Sport Physiology*, Summer 2020; 12(46): 41-56. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2019.6576.1826

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی  
پرتال جامع علوم انسانی



**The Effect of 6 Weeks Endurance Training on the CAP1 Levels in Visceral Adipose Tissue of Male Wistar Rats with Diabetes Neuropathy**

**M. Rahmati<sup>1</sup>, A. Kazemi<sup>2</sup>, A. Darvishi<sup>3</sup>, S. Shahzadeh<sup>4</sup>**

1. Associate Professor of Exercise Physiology, Lorestan University (Corresponding Author)
2. Associate Professor of Exercise Physiology, Vali E Asr University of Rafsanjan
3. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Lorestan University
4. M.Sc. of Exercise Physiology, Islamic Azad University of Kerman

**Received: 2018/10/30**

**Accepted: 2019/02/16**

---

**Abstract**

CAP1 is one of the structural and functional important factors in fat tissues' abnormalities in diabetic neuropathy (DN) state. The purpose of this study was investigation of the effects of endurance training on visceral adipose tissue levels of the CAP1 in male rats with diabetic neuropathy. 30 male Wistar male rats ( $260\pm 10$  g) were randomly divided into three group of Control (C), Diabetic neuropathy control (DNC) and Diabetic neuropathy trained (DNT). Diabetes neuropathy induced by streptozotocin and was evaluated using behavioral pain tests. Also training group performed 6 week/ 5 sessions in week endurance training with moderate intensity. Forty-Eight hours after the last training session, subjects were anesthetized and visceral adipose tissue was removed immediately and by immunohistochemical analysis, the CAP1 protein level was measured. To assessing comparison between groups, ANOVA was used. The result of blood sugar and behavioral measurements demonstrated diabetic neuropathy model. Also, significant increase of the CAP1 levels was observed in adipose tissue of rats with diabetic neuropathy ( $P=0.0001$ ) however, training was not able to change this increased level of this protein in DN state so that significant difference was not seen between DNT and DNC groups ( $P=0.246$ ). The elevated levels of CAP1 may be a compensatory response to increase the glucose uptake, thermogenesis and angiogenesis. Also, the ineffectiveness of endurance training may be due to persistent hyperglycemia in the DNT group. However, the proof of these assumptions needs further studies.

**Keywords:** Diabetes Neuropathy, CAP1, Endurance Training, Adipose Tissue.

---

- 
1. Email: Rahmati.mas@lu.ac.ir
  2. Email: rkazemi22@yahoo.com
  3. Email: azam.darvishi94@gmail.com
  4. Email: shahzadeh@yahoo.com