مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۹، شماره ۱۱، بهمن ۱۴۰۱ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن مارکر پروتئین فسفاتاز ۱ در بافت کبد رت‌های نر نژاد ویستار

شهره نعیمی: کارشناسی ارشد گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران، (* نویسنده مسئول)
shohrenaimi49@gmail.com
سعید نقیبی: استادیار ، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران.
علی برزگری: استادیار ، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران.
لیلا ظهرابی کرانی: دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوزی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران.
آناهیتا صالحی: کارشناسی ارشد گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه طبری، بابل، ایران.
پروین افچنگی: کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: فعالیت ورزشی با شدت متوسط عاملی برای افزایش گلیکوژنولیز کبدی می‌باشد و در این راستا بررسی ژن‌های درگیر در روند متابولیسم گلیکوژن اهمیت دارد. بنابراین هدف این مطالعه به بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن مارکر پروتئین فسفاتاز ۱ در بافت کبد رت‌های نر نژاد ویستار بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۳۳±۲۳۷ گرم به صورت گروه‌های ۴ سر موش در ۲ گروه کنترل (۸ سر)، گروه تجربی (۸ سر) تقسیم شدند. برنامه تمرین با شدت متوسط به مدت ۸ هفته شامل شنا کردن (شنا کردن و حفظ خود بر روی آب) بود. پس از اتمام دوره تمرین، موش‌ها بیهوش و خونگیری و جداسازی بافت صورت گرفت و داده‌های حاصل از دستگاه PCR-Real time اندازه‌گیری و آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که سطح بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ در گروه تمرین در مقایسه با کنترل کاهش معناداری داشته است.

نتیجه‌گیری: به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تمرین هوازی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته می‌تواند باعث بهبود عملکرد متابولیسم گلیکوژن و مسیر انسولین گردد چرا که در این روند سطح ژن‌های درگیر در متابولیسم گلیکوژن مانند ژن پروتئین فسفاتاز ۱ تعدیل یافت.

تعارض منافع: گزارش نشده است.
منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

کلیدواژه‌ها
تمرین هوازی با شدت متوسط،
متابولیسم گلیکوزن،
ژن PP1،
بافت کبد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۷
تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۱/۱۹

شیوه استناد به این مقاله:
Naimi S, Naghibi S, Barzegari A, Zohrabi Karani L, Salehi A, Afchangi P. The Effect of Moderate Intensity Interval Training on Protein Phosphatase 1 Marker Gene Expression in the Liver Tissue of Male Wistar Rats.. Razi J Med Sci. 2023;29(11): 487-495.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

Razi Journal of Medical Sciences. 2023;29(11):487-495. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

The Effect of Moderate Intensity Interval Training on Protein Phosphatase 1 Marker Gene Expression in the Liver Tissue of Male Wistar Rats.

Shohre Naimi: Masters Department of physical education, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, IRAN. (* Corresponding author) shohrenaimi49@gmail.com
Saeed Naghibi: Department of physical education, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, IRAN.
Ali Barzegari: Department of physical education, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, IRAN.
Lila Zohrabi Karani: PhD in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
Anahita Salehi: Masters Department of Physical Education and Sports Science, Tabari University, Babol, Iran.
Parvin Afchangi: Masters Department of Sports Physiology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.

Abstract

Background & Aims: There are many metabolic diseases that are associated with insulin deficiency, increased blood glucose, and disturbances in carbohydrate, fat, and protein metabolism. Several studies have pointed to the role of exercise in fat metabolism. Regular physical activity leads to the improvement of fat and glucose metabolism by increasing insulin sensitivity and reducing triglycerides. It is often accepted that long-term sports training can increase the body's response to insulin and increase insulin sensitivity by increasing glucose transporters into muscle cells and insulin receptor substrates. It is useful in preventing obesity and its subsequent complications, i.e. type 2 diabetes. Glucose is a potential fuel for tissues such as muscle, liver, and adipose tissue. The sugars in the daily diet, if congenital, can be found in large amounts in different parts of the body such as the liver, and skeletal muscles, and in a very small amount in the heart, blood cells, and parts of the uterus and in astrocytes. Brain cells are stored as glycogen. Liver glycogen is a storage source that can be made from blood glucose, and if needed, it can be converted back into glucose and released into the blood; In addition to the liver, muscles can also store glycogen, to the extent that muscle glycogen can be easily broken down for the muscle's energy needs. On the other hand, one of the conditions that can upset the energy balance in the cell and impose certain needs on the cell is the increase in energy expenditure due to physical stress, including physical activity and exercise. A large number of target proteins bind to specific enzymes and cellular structures and scaffolding proteins collect enzyme intermediates. Insulin increases the accumulation of glycogen by phosphorylating these enzymes and as a result, activates glycogen synthase and deactivates glycogen Desynthase. Although the activation of protein phosphatase 1 (PP1) by insulin has an important role in increasing the storage of glucose as glycogen, although the inactivation of upstream kinases such as Phosphorylase kinase is part of the mediator of the regulation of glycogen metabolism, the activation of protein phosphatase 1 to Insulin plays an essential role in increasing the storage of glucose as glycogen. The activity of protein phosphatase 1 is regulated by inhibitory proteins. The direct regulation of glycogen-targeted protein phosphatase 1 by inhibitors has not been widely investigated. The results of the studies showed that protein phosphatase 1 is a gene involved in glycogen metabolism, and during exercise, the amount of protein phosphatase 1 gene decreases with insulin reduction, and glycogen synthesis decreases, and increases after exercise and at rest. As mentioned, most studies have investigated the effect of endurance and resistance training on insulin resistance and fat profile. Therefore, the study of an alternative type of physical activity with similar metabolic adaptations and without significant time commitment is needed. One of the appropriate exercise protocols is interval training with moderate intensity, which is associated with more variety and less fatigue and has attracted many enthusiasts. Compared to continuous sports activity with medium to low intensity, intermittent training causes adaptation of metabolism in skeletal muscle, which favors the process of fat oxidation (fat burning). In the

Keywords
Moderate-Intensity Aerobic Exercise,
Glycogen Metabolism,
PP1 Gene,
Liver Tissue Companies

Received: 18/12/2022
Published: 08/02/2023

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

studies, it was shown that with the reduction of insulin, the expression of genes involved in glycogen synthase, such as protein phosphatase 1, is reduced, but there was no study investigating the effect of this type of exercise on the level of protein phosphatase 1 gene expression, so the main question of this The study was whether a moderate intensity exercise session has a significant effect on protein phosphatase 1 marker gene expression in the liver tissue of male Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 16 8-week-old male Wistar rats with an average weight of 237±33 grams were divided into groups of 4 rats into 2 control groups (8 rats) and an experimental group (8 rats). In order to get familiar with the conditions of the laboratory and the treadmill, the animals ran on the treadmill for 2 weeks, 5 days per week and for 10 to 15 minutes each day at a speed of 5 to 15 m/min. Due to the lack of access to direct tools, the maximum oxygen consumption of the animals was assessed indirectly with the Faz-Ade test on the treadmill. The moderate-intensity exercise program for 8 weeks included swimming (swimming and staying afloat). The interval training protocol with moderate intensity was implemented in such a way that in the first week, 5 minutes of warming up, 5 minutes of cooling down, and 20 minutes of the main body of the exercise, including running with an intensity of 65% of the maximum oxygen consumption at a speed of 20 meters per minute, and weekly The training was increased so that in the sixth week, the training time reached 37 minutes and remained constant until the end of the eighth. Also, the training speed was unchanged from the first week to the eighth week and was equal to 20 m/min. After the training period, the rats were anesthetized and blood sampling and tissue separation were done, and the data obtained from the PCR-Real time device were measured and analyzed.

Results: The results of this test showed that there is a significant difference between the two research groups in protein phosphatase 1 gene expression. The comparison between groups showed that there is a significant difference in the expression of protein phosphatase 1 gene of Wistar rats between the moderate intensity exercise group compared to the control group ($P \geq 0.001$) so that it is 0.011 units compared to decreased the control group.

Conclusion: In general, it can be concluded that aerobic training with moderate intensity for 8 weeks can improve the function of glycogen metabolism and insulin pathway because, in this process, the level of genes involved in glycogen metabolism such as the PP1 gene was adjusted. Exercises produce favorable changes in the metabolic system of the liver. These effects were seen in moderate-intensity aerobic exercise. Aerobic training with moderate intensity for 8 weeks can decrease protein phosphatase-1 gene expression. Among the limitations of the present study, we can point out the lack of control of the number of calories consumed by rats and the lack of control of physical activity outside of the animal research program. Despite this, the research background on the effect of the current study's training protocols on protein phosphatase 1 in liver tissue is very limited and needs more investigation.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Naimi S, Naghibi S, Barzegari A, Zohrabi Karani L, Salehi A, Afchangi P. The Effect of Moderate Intensity Interval Training on Protein Phosphatase 1 Marker Gene Expression in the Liver Tissue of Male Wistar Rats.. Razi J Med Sci. 2023;29(11): 487-495.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

مقدمه

بیماری‌های متابولیکی زیادی وجود دارد که با کمبود انسولین، افزایش گلوکز خون و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است (۱). مطالعات متعددی به نقش ورزش در متابولیسم چربی‌ها اشاره کرده‌اند (۲). فعالیت منظم بدنی از طریق افزایش حساسیت به انسولین و کاهش تری‌گلیسرید به بهبود متابولیسم چربی و گلوکز منجر می‌شود (۳). اغلب این نکته پذیرفته شده که تمرینات طولانی مدت ورزشی، می‌توانند از طریق افزایش انتقال‌دهنده‌های گلوگز به درون سلول‌های عضلانی و سوبستراهای گیرنده انسولین سبب افزایش پاسخ‌دهی بدن به انسولین شود و حساسیت به انسولین را افزایش دهد و در پیشگیری از چاقی و عوارض بعدی آن یعنی دیابت نوع ۲ مفید باشد (۴). گلوکز، یک سوخت بالقوه برای بافت‌هایی مانند عضلات، کبد و بافت چربی است. قندهای موجود در برنامه‌های غذایی روزانه در صورت مادرزاد بودن می‌توانند به مقدار زیاد در بخش‌های مختلف بدن مثل کبد، عضلات اسکلتی و به میزان بسیار کمی در قلب، گویچه‌های خون و بخش‌هایی از رحم و در استروسیت‌های مغز، به صورت گلیکوژن ذخیره شود (۵). گلیکوژن کبد، منبع ذخیره‌ای است که می‌تواند از گلوکز خون ساخته شود و در صورت نیاز دوباره به گلوکز تبدیل گردد و به درون خون، آزاد شود؛ علاوه بر کبد، عضلات نیز می‌توانند گلیکوژن ذخیره کنند، تا جایی که گلیکوژن عضلانی می‌تواند به سهولت برای نیازهای انرژی عضله شکسته شود (۶). از طرفی یکی از شرایطی که می‌تواند تعادل انرژی را در سلول به هم زده و نیازهای خاصی را به سلول تحمیل نماید، ازدیاد هزینه کرد انرژی در اثر فشارهای جسمانی از جمله انجام فعالیت بدنی و تمرین است (۷). تعداد زیادی از پروتئین‌های هدفمند که به آنزیم‌ها و ساختارهای سلولی اختصاصی و پروتئین‌های داربست متصل می‌شوند، که واسطه‌های آنزیمی را جمع آوری می‌کنند. انسولین از طریق فسفریله کردن این آنزیم‌ها تجمع گلیکوژن را افزایش می‌دهد و در نتیجه فعال شدن گلیکوژن سنتاز و غیر فعال شدن گلیکوژن دسنتاز را موجب می‌شود (۸). اگرچه فعال شدن پروتئین فسفاتاز ۱ (PPI) توسط انسولین نقش مهمی در افزایش ذخیره‌سازی گلوکز به عنوان گلیکوژن دارد (۹). گرچه غیر فعال کردن کینازهای بالادست از قبیل فسفوریلاز کیناز بخشی از واسطه تنظیم متابولیسم گلیکوژن می‌باشد، فعال کردن پروتئین فسفاتاز ۱ به وسیله انسولین یک نقش ضروری در افزایش ذخیره گلوکز به عنوان گلیکوژن دارد (۱۰). فعالیت پروتئین فسفاتاز ۱ توسط پروتئین‌های مهارکننده تنظیم می‌شود. تنظیم مستقیم پروتئین فسفاتاز ۱ مورد هدف گلیکوژن توسط مهارکننده‌ها به طور گسترده مورد بررسی قرار نگرفته است (۱۱). نتایج مطالعات نشان داد که پروتئین فسفاتاز ۱، ژن درگیر در متابولیسم گلیکوژن است که در ورزش کردن با کاهش انسولین میزان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ کاهش یافته و سنتز گلیکوژن کم شده و بعد از ورزش و در حالت استراحت افزایش می‌یابد (۱۲). در مطالعه لیاو (Liao) و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که تمرین‌های استقامتی به مدت ۶ هفته می‌تولند باعث افزایش بیان ژن‌های دخیل در مهار پروتئین فسفاتاز-۱ شود و این ژن می‌تولند یک مارکر درمانی در بیماری دیابت حتی باشد به دلیل اینکه ورزش باعث کاهش پروتئین فسفاتاز ۱ توسط انسولین و افزایش آزادسازی گلوکز می‌شود (۱۰). مانابه (Manabe) و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که افزایش تمرینات ورزشی در بازه زمانی ۴-۷ هفته باعث افزایش مصرف محتوای گلیکوژن عضلانی می‌شود که می‌تولند از طریق مکانیزم‌های متعددی از قبیل افزایش حساسیت به انسولین و افزایش بیان ژن‌های دخیل در مهار پروتئین فسفاتاز-۱ شود عمل کند (۱۱). هینگست (Hingst) و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای با هدف مکانیسم‌های مولکولی در ماهیچه اسکلتی افرادی که ورزش می‌کنند، نشان دادند که ورزش باعث شکسته شدن گلیکوژن و کاهش بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ می‌شود (۱۲). در تحقیق کمی (Kemi) و همکاران (۲۰۰۸) نشان داده شد که فعالیت ورزشی منجر به افزایش بیان ژن پروتئین‌های AKT عضله موش شد که این کینازها منجر به بروز ژن‌های دخیل در شکستن گلیکوژن شدند و میزان بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ کاهش یافت (۱۳). پس از یک دوره تمرین، افزایش معنی‌داری را در محتوی پروتئین پروتئین کیناز مشاهده کردند که این مسیر بر کاهش میزان بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ اثرگذار بود (۵).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

تمرین هوازی با شدت بالا باعث افزایش بیان پروتئین‌های AMPK فعال می‌شود. تصور می‌شود این کینازها منجر به بروز ژن‌های دخیل در شکستن گلیکوژن می‌شود و میزان بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ کاهش می‌یابد (۸). همانطور که گفته شد بیشتر مطالعات به بررسی اثر تمرینات استقامتی و مقاومتی بر مقاومت به انسولین و نیمرخ چربی پرداخته‌اند. بنابراین مطالعه یک نوع فعالیت بدنی جایگزین با سازگاری‌های متابولیکی مشابه و بدون تعهد زمانی قابل ملاحظه مورد نیاز است. یکی از پروتکل‌های تمرینات ورزشی مناسب، تمرینات تناوبی با شدت متوسط است که با تنوع بیشتر و خستگی کمتری همراه بوده و علاقمندان زیادی را به خود جلب کرده است. در مقایسه با فعالیت ورزشی مداوم با شدت متوسط تا کم، تمرین تناوبی موجب سازگاری سوخت و ساز در عضله اسکلتی می‌شود که به نفع فرآیند اکسیداسیون چربی (چربی سوزی) است. در مطالعات نشان داده شد که با کاهش انسولین میزان بیان ژن‌های درگیر در گلیکوژن سنتاز مثل پروتئین فسفاتاز ۱ را کاهش می‌دهند ولی مطالعه‌ای به بررسی اثرگذاری این نوع تمرین بر سطح بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ بپردازد، مشاهده نشد لذا سوال اصلی این مطالعه این بود که آیا یک دوره تمرین با شدت متوسط بر بیان ژن مارکر پروتئین فسفاتاز ۱ در بافت کبد رت های نر نژاد ویستار تأثیر معنی‌داری دارد؟

روش کار

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود، بدین منظور ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۳۳±۲۳۷ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. این حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه جانوری، به صورت گروه‌های ۸ سر موش در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی در ۲ گروه شامل: گروه کنترل (۸ سر) و تمرین تداومی با شدت متوسط (۸ سر) تقسیم شدند. نگه‌داری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد. همچنین این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه پیام نور با کد IR.PNU.REC.1398.040 تائید گردید. طی دوره تحقیق، غذای ساخت شرکت بهپرور به‌صورت پلت و با توجه به وزن‌کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوان قرار داده شد. آب موردنیاز حیوان نیز به‌صورت آزاد در دسترس قرار داده شد.

پروتکل‌های تمرین: به‌منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوار گردان، حیوانات به مدت ۲ هفته، ۵ روز در هر هفته و در هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان دویدند. حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزآینده بر روی نوارگردان و به‌طور غیرمستقیم ارزیابی شد. جزئیات نحوه اجرای پروتکل‌های تمرینی در جدول ۱ آورده شده است. پروتکل تمرین تناوبی با شدت متوسط بدین‌صورت اجرا شد که در هفته اول ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین شامل دویدن با شدت ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه انجام شد و به‌صورت

جدول ۱- جزئیات پروتکل برنامه تمرین ۸ هفته‌ای برای گروه‌های مختلف تحقیق

هفته	گروه تمرین تناوبی با شدت متوسط	
	سرعت (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)
۱	۲۰	۲۰
۲	۲۰	۲۲
۳	۲۰	۲۵
۴	۲۰	۲۵
۵	۲۰	۳۰
۶	۲۰	۳۷
۷	۲۰	۳۷
۸	۲۰	۳۷

هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد، به‌طوری‌که در هفته ششم زمان تمرین به ۳۷ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم بدون تغییر بوده و معادل ۲۰ متر بر

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

دقیقه بود.

نحوه نمونه‌برداری بافتی: جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و بعد از عمل جراحی قفسه سینه، بافت کبد جدا شده و در میکروتیوب‌های مخصوص در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس برای نگه‌داری به فریزر دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. کیت سنتز cDNA توسط Thermo Scientific که با شماره کاتالوگ K1622 تولید شده است، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج RNA و cDNA، حدود ۵۰ میلی‌گرم میلی‌گرم از بافت کبد رت‌ها به‌صورت جداگانه جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۲ در QIAzol Reagent Lysis هموژن گردید.

تعیین بیان ژن‌های پروتئین فسفاتاز ۱به روش real-time PCR: واکنش Real-Time PCR در دستگاه ای.بی.آی (ABA) ساخت کشور آمریکا انجام شد. درون هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای، مخلوطی به حجم ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط اصلی سایبرگرین مسترمیکس، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن، ۴ میکرولیتر از DNA ژنومی و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه شد. برنامه زمانی و دمایی واکنش انجام شده در دستگاه real-time PCR مدل ABI در سه مرحله عبارت بود از: مرحله اول در یک چرخه به منظور فعال سازی آنزیم پلیمراز و دناتوره اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه؛ مرحله دوم به صورت متناوب در طول ۴۰ چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد. در مرحله سوم به منظور رسم منحنی تفکیک، برنامه دمایی مورد استفاده شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه بود. در این مرحله، کاهش دما از ۹۵ درجه سانتی‌گراد به ۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۰/۰۳ درجه سانتی‌گراد بر ثانیه انجام شد و حدوداً ۲۰ دقیقه طول کشید. پس از اتمام مرحله سوم، منحنی‌های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم‌افزار SDS ABI تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت ΔCt برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر مورد، ۲-ΔΔCT به دست آمد. علاوه بر این، در این آزمایش تجزیه‌وتحلیل منحنی ذوب جهت اطمینان از ویژگی محصول PCR انجام شد. در ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن IGFBP-1 از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار AllelID و توسط شرکت CinnaGen ساخته شده و پس از آن هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST مورد ارزیابی قرار گرفت تا از قرارگیری جفتی پرایمرها اطمینان حاصل شود. در این تحقیق، ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه منظور گردید، به‌طوری‌که دمای هر چرخه برای ۱۵ ثانیه تا ۹۴ درجه سانتی‌گراد و برای ۳۰ ثانیه تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پرایمرهای مربوط به رت‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- توالی پرایمرها و اندازه محصولات ژن هدف

Genes	Primer sequence
PP1	For: 5′- CATCAGGTTGTAGAAGATGG -3′
	Rev: 5′- GGGCTTGAGGATCTGGAAGG -3′
GAPDH	For: 5′- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′
	Rev: 5′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3′

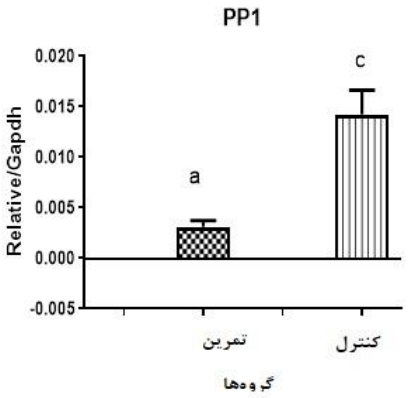
روش‌های آماری: بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و برای تعیین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها، از آزمون‌های پارامتریک شامل آزمون تی مستقل در سطح معنی داری p≤۰/۰۵ استفاده شد. انجام کلیه امور آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و EXCEL انجام شد.

یافته‌ها

نتایج بدست آمده از اجرای این آزمون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه پژوهش در مقادیر بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ وجود دارد (جدول ۲). به منظور تبیین بیشتر و درک بهتر این تغییرات در شکل ۱ نمایش داده شده است. مقایسه بین گروهی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ رت‌های ویستار میان گروه تمرین با شدت متوسط نسبت به گروه کنترل وجود دارد (P≤ ۰/۰۰۱)، به طوری که به میزان ۰/۰۱۱ واحد نسبت به گروه کنترل کاهش داشت.



شکل ۱- تغییرات بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ در رت‌های نر ویستار

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین هوازی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته می‌تواند باعث کاهش بیان ژن پروتئین فسفاتاز-۱ شود. نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که ۸ هفته فعالیت‌های ورزشی هوازی باعث بهبود عملکرد متابولیسم گلیکوژن و مسیر انسولین می‌شود و یک مارکر جدید در شناسایی دیابت باشد. فسفوریله شدن تیروزین کلید اصلی راه اندازی مسیر پیام‌رسانی انسولین محسوب می‌شود، بنابراین پروتئین فسفاتازها به عنوان مهم‌ترین مهارکننده‌های این مسیر به شمار می‌آیند؛ این یافته همسو با نتایج مطالعات ماناب (Manabe) و همکاران (۲۰۱۳) (۱۱)، هینگست (Hingst) و همکاران (۲۰۱۸) (۱۲)، کمی (Kemi) و همکاران (۲۰۰۸) (۱۳)، باکورا (Bacurau) و همکاران (۲۰۱۶) (۱۴) و ما (Ma) و همکاران (۲۰۱۳) (۱۵) بود. هینگست (Hingst) و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ورزش باعث شکسته شدن گلیکوژن و کاهش بیان ژن پروتئین فسفاتاز ۱ می‌شود (۱۲). کمی (Kemi) و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه خود اظهار داشتند که فعالیت ورزشی منجر به کاهش ژن پروتئین فسفاتاز ۱ کاهش می‌شود (۱۳). ورزش‌های هوازی باعث افزایش AMPK، AKT می‌شود و تولید گلوکز را بالا می‌برد. در واقع با شکستن گلیکوژن تولید گلوکز بالا می‌رود و با افزایش AKT میزان مهارکننده‌های پروتئین فسفاتاز-۱ بالا رفته و سنتز گلیکوژن کاهش می‌یابد و گلوکز آزاد می‌شود (۱۴). تحقیقات موجود در مورد AMPK، یک سنسور اصلی انرژی ناشی از ورزش، نشان می‌دهد که این بیماری در بهبود اختلال در متابولیسم گلوکز در دیابت نقش دارد (۱۵). باکورا (Bacurau) و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که تمرین ورزشی هوازی با مهار cAMP / PKA و فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ AMPK، متابولیسم گلوکز کبدی را بهبود می‌بخشد (۱۴). ورزش باعث افزایش بیان مسیر PI3P و MAPK شده و نیز باعث کاهش انسولین و کاهش بیان ژن پروتئین فسفاتاز-۱ می‌شود. به نظر می‌رسد فعالیت بدنی با افزایش توده عضلانی و بیان سوبسترای گیرنده انسولینی در کاهش انسولین جبرانی در دیابت نوع دو تأثیر می‌گذارد. در مجموع، فعالیت ورزشی مهمترین محرک برای افزایش بیان MAPK است و این تأثیر به بهبود عمل انسولین و مصرف گلوکز و افزایش ذخیره گلیکوژن عضلات تمرین کرده نسبت داده می‌شود (۹). فعالیت ورزشی با شدت متوسط موجب بکارگیری تارهای گلیکولیتیکی می‌شود و مقدار پروتئین GLUT4 زیاد می‌شود و افزایش برداشت گلوکز و ذخایر گلیکوژن سلولی و بهبود فعالیت انسولین و کاهش پروتئین فسفاتاز-۱ را سبب می‌شود (۷). این

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

سازگاری‌ها به لحاظ فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی با اهمیت هستند و می‌توانند به ورزشکاران و افراد دیابتی و یا هر فردی که در معرض دیابت است کمک شایانی بنماید. در رابطه با مکانیزم مداخله کننده در این سازگاری به نظر می‌رسد مسیرهای سیگنالی بالادستی که نهایتاً منجر به جابجایی GLUT4 می‌شوند ممکن است شامل AMPK، CaMKII، NOS و ROS باشند (۱۲). همچنین ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس برای اطمینان از هموستاز دقیق گلوکز، باید دقیق تنظیم شود. ظرفیت سلول‌های بتا برای پاسخ به تحریک خارج سلولی توسط چندین مسیر سیگنالینگ تعیین می‌شود (۱۵). یکی از ویژگی‌های مهم این مسیرها، فسفوریلاسیون و دفسفریلاسیون طیف وسیعی از سوبسترای سلولی است. مطالعات نشان داد که DARPP-32در سلول‌های بتا درون ریز ترشح کننده انسولین وجود دارند (۱۲). DARPP-32 مهار کننده -۱ را فعال می‌کند و با افزایش پروتئین کیناز A، DARPP32 و مهار کننده ۱، فعالیت PP1 را مهار می‌کند و باعث افزایش فسفریلاسیون سلولی می‌شود (۵). فعال شدن پروتئین فسفاتاز ۱ توسط انسولین نقش مهمی در افزایش ذخیره‌سازی گلوکز به عنوان گلیکوژن دارد (۱۵)، فعالیت پروتئین فسفاتاز ۱ همچنین توسط پروتئین‌های مهار کننده Darpp-32 تنظیم می‌شود (۶).

محدودیت‌ها

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می توان به عدم کنترل میزان کالری مصرفی موش‌های صحرایی و عدم کنترل فعالیت بدنی خارج از برنامه تحقیق حیوانات اشاره نمود.

پیشنهادات

با وجود این، پیشینه تحقیقاتی در زمینه تاثیر پروتکل‌های تمرینی تحقیق حاضر بر پروتئین فسفاتاز ۱ در بافت کبد بسیار محدود بوده و نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری

تمرینات ورزشی تغییرات مطلوبی در سیستم متابولیسمی کبد ایجاد می‌کند این تأثیرات در ورزش هوازی با شدت متوسط دیده شد. تمرین هوازی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته می‌تواند باعث کاهش بیان ژن پروتئین فسفاتاز-۱ شود. نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که ۸ هفته فعالیت‌های ورزشی هوازی باعث بهبود عملکرد متابولیسم گلیکوژن و مسیر انسولین می‌شود.

References

1. Mayer-Davis EJ, D'Agostino Jr R, Karter AJ, Haffner SM, Rewers MJ ,Saad M, et al. Intensity and amount of physical activity in relation to insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. Jama. 1998;279(9):669-74.
2. Busel GA, Mir H. Suprapatellar Tibial Nailing. Orthop Clin North Am. 2019;50(3):289-295.
3. Hawley J. The fuels for exercise. Australian Journal of Nutrition and Dietetics. 2001;58(2):S19-S.
4. Arora E, Shenoy S, Sandhu J. Effects of resistance training on metabolic profile of adults with type 2 diabetes. Indian Journal of Medical Research. 2009;129(5):515.
5. Akbar S, Bellary S, Griffiths HR. Dietary antioxidant interventions in type 2 diabetes patients: a meta-analysis. The British Journal of Diabetes & Vascular Disease. 2011;11(2):62-8.
6. Roden M, Petersen KF, Shulman G. Nuclear magnetic resonance studies of hepatic glucose metabolism in humans. Recent progress in hormone research. 2001;56:219-38.
7. Greenberg CC, Jurczak MJ, Danos AM, Brady MJ. Glycogen branches out: new perspectives on the role of glycogen metabolism in the integration of metabolic pathways. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2006.
8. Atwood CS, Bowen RL. Metabolic clues regarding the enhanced performance of elite endurance athletes from orchiectomy-induced hormonal changes. Medical hypotheses. 2007;68(4):735-49.
9. Brady MJ, Saltiel AR. The role of protein phosphatase-1 in insulin action. Recent progress in hormone research. 2001;56:157-73.
10. Liao J, Li Y, Zeng F, Wu Y. Regulation of mTOR pathway in exercise-induced cardiac hypertrophy. International journal of sports medicine. 2015;36(05):343-50.
11. Manabe Y, Gollisch KSC, Holton L, Kim Y-B, Brandauer J, Fujii NL, et al. Exercise training-induced adaptations associated with increases in skeletal

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]

muscle glycogen content. The FEBS journal. 2013;280(3):916-26.

12. Hingst JR, Bruhn L, Hansen MB, Rosschou MF, Birk JB, Fentz J, et al. Exercise-induced molecular mechanisms promoting glycogen supercompensation in human skeletal muscle. Molecular metabolism. 2018;16:24-34.

13. Kemi OJ, Ceci M, Wisloff U, Grimaldi S, Gallo P, Smith GL, et al. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. Journal of cellular physiology. 2008;214(2):316-21.

14. Bacurau AV, Jannig PR, de Moraes WM, Cunha TF, Medeiros A, Barberi L, et al. Akt/mTOR pathway contributes to skeletal muscle anti-atrophic effect of aerobic exercise training in heart failure mice. International journal of cardiology. 2016;214:137-47.

15. Ma Z, Qi J, Meng S, Wen B, Zhang J. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. European journal of applied physiology. 2013;113(10):2473-86.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-28]