مقاله پژوهشی

تاثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن عوامل درگیر در متابولیسم عضله اسکلتی موش‌های دیابتی

نویسندگان:

مونا بستان منش نیک جوان[۱]، سعیده شادمهری*[۲]، مژگان احمدی [۳]

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.17, No.2, Summer 2019

چکیده:

مقدمه: بهبود متابولیسم عضلات اسکتی یکی از سازوکارهای مهم برای درمان دیابت نوع ۲ است. هدف از این پژوهش، تاثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن عوامل درگیر در متابولیسم عضله اسکلتی موش‌های دیابتی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۴۸ سر رت نر ویستار با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم به طور تصادفی در ۴ گروه شامل کنترل، دیابت، تمرین و دیابت–تمرین قرار گرفتند. در این مطالعه، موش‌ها با استفاده از تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید– استرپتوزوتوسین، دیابتی نوع ۲ شدند. تمرین تناوبی شدید با شدت ۸۵–۸۰ درصد VO2max، ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته اجرا شد. میزان بیان ژن‌های GLUT4 و PGC-1α به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح P <۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین میانگین بیان ژن GLUT4 و PGC-1α عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف تفاوت وجود دارد (۰/۰۰۱ >p). تغییرات بیان این ژن‌ها در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر بود (P= ۰/۰۳۶). تمرین تناوبی شدید موجب افزایش معنادار بیان ژن های مذکور شد (۰/۰۰۱ >p).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، تمرین تناوبی شدید احتمالاً می‌تواند از طریق افزایش بیان ژن PGC-1α و GLUT4 در عضله اسکلتی به بهبود سطوح انرژی سلولی طی دیابت کمک کند.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرین تناوبی شدید، GLUT4، PGC-1α، رت‌های صحرائی

Pars J Med Sci 2019;17(2):32-39

مقدمه:

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی در سراسر جهان است و تعداد بیماران مبتلا به دیابت در سال‌های اخیر افزایش یافته است [۱]. دیابت با هیپرگلیسمی ناشی از اختلال در ترشح انسولین (نوع ۱)، فعالیت انسولین (نوع ۲) یا هر دو همراه است. دیابت نوع ۲ تقریباً ۹۰ درصد از موارد دیابت را تشکیل می‌دهد و مستلزم مقاومت به انسولین در بافت‌های محیطی و افزایش میزان گلوکز خون به دلیل سوء تغذیه همراه با کمبود ترشح انسولین است [۲]. دیابت اغلب با توسعه عوارض ثانویه در اندام‌های مختلف مانند چشم‌ها، کلیه‌ها، قلب، مغز و عضلات اسکلت همراه است [۳].

شواهد حاکی از آن است که عضله اسکلتی به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر دیابت است. در بدن انسان، عضلات اسکلتی از آن جا که تعداد زیادی از میتوکندری‌ها را شامل می‌شوند، به عنوان عضو اصلی متابولیسم در نظر گرفته می‌شوند

* نویسنده مسئول، نشانی: استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
تلفن تماس: ۰۹۱۲۳۱۴۵۴۱۲ پست الکترونیک:saeedehsh61@gmail.com
دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۰ اصلاح: ۱۳۹۸/۰۴/۲۲ پذیرش:۱۳۹۸/۰۶/۲۰

[۴]. نشان داده شده است که دیابت باعث آتروفی، انتقال پروتئین فیبر از اکسیداتیو به گلیکولیت و اختلال در متابولیسم انرژی در عضلات اسکلتی می‌شود[۵]. این تغییرات باعث اختلال در عملکرد عضلات اسکلتی از جمله ضعف عضلانی و عدم تحمل ورزش می شود. در افراد دیابتی اختلال در برداشت گلوکز معمولاً ناشی از اختلال در عملکرد ژن GLUT4 و اختلال در انتقال سیگنال‌های انسولین است [۶]. عضلات اسکلتی در حال انقباض، توانایی زیادی در برداشت گلوکز خون دارند که مستقل از تأثیر انسولین است [۷]. از طرفی، مشخص شده است که گیرندهٔ آلفا–۱ فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم (PGC-1α نقش مهمی در تنظیم متابولیسم انرژی سلولی دارد و در اکثر مسیرهای درگیر در ایجاد سازگاری‌های عضلانی نقش دارد [۸]. PGC-1α یک پروتئین ۹۰ کیلو دالتونی و یکی از اعضای خانواده فعال کننده‌های رونویسی در میتوکندری است که دارای ناحیه SR و ویژگی چسبندگی به RNA خاص را دارد که می‌تواند موجب خیلی از سازگاری‌های متابولیسم انرژی شود [۹]. این ژن توسط ورزش در عضله اسکلتی القاء می‌شود [۱۰،۱۱]. تمرین‌های ورزشی با افزایش PGC-1α در عضله اسکلتی موجب سازگاری متعددی همچون بیوژنز میتوکندری، آنژیوژنز، فعال‌سازی متابولیسم اکسیداتیو و رشد عضله می‌شوند. افزایش عملکرد عضله اسکلتی و متابولیسم توسط تمرین‌های ورزشی به جلوگیری و بهبود چاقی و بیماری های متابولیک از جمله دیابت کمک می‌کند [۴].

فعالیت ورزشی به عنوان یک مکمل در درمان دارویی، در مدیریت عوارض دیابت مورد استفاده قرار گرفته است. فعالیت ورزشی منظم موجب افزایش بیوژنز میتوکندری و فعالیت اکسیداتیو می‌شود، که تأثیر مثبتی بر تعادل انرژی کلی ایفا می‌کند [۱۲]. تمرین‌های ورزشی می توانند با اثرات مثبت بر عضلات اسکلتی و افزایش بیان پروتئین GLUT4 باعث بهبود وضعیت بیماران دیابتی شوند [۱۳]. همچنین گزارش شده است که بیان بالای PGC-1α عضله در موش‌ها با افزایش ظرفیت ورزش، مقاومت در برابر خستگی و افزایش اکسیژن مصرفی همراه است [۱۴]. از طرفی، موش های دارای نقص PGC-1α عضلانی، کاهش توان ورزش، عملکرد عضلانی، فعالیت متابولیسم اکسیداتیو، و هوموستاز غیر طبیعی گلوکز را از خود نشان می‌دهند [۱۵]. این موضوع اهمیت ژن مذکور را به عنوان یک تنظیم کننده سازگاری با ورزش در عضلات اسکلتی و جلوگیری از اختلال متابولیسم برجسته می‌کند [۱۶]. با توجه به نقش‌های اساسی PGC-1α در ایجاد سازگاری‌های عضلات اسکلتی، تاثیر روش‌های تمرینی مختلف بر آن مورد توجه قرار گرفته است. مشخص شده است تمرین‌های استقامتی باعث افزایش بیان ژن و پروتئین PGC-1α در تارهای عضلانی می‌شوند [۱۷]. همچنین افزایش معناداری بیان mRNA PGC-1α بعد از تمرین اینتروال و تداومی گزارش شده است [۱۸].

یکی از پروتکل‌های فعالیت ورزشی که به تازگی مورد توجه پژوهشگران فیزیولوژی ورزش قرار گرفته است تمرین تناوبی شدید (HIIT; High-intensity interval training) است که شامل تناوب‌های فعالیت‌های ورزشی با شدت بسیار زیاد و وهله‌های استراحتی فعال با شدت خیلی کم است [۱۹]. HIIT مدل بسیار کارآمد زمانی، برای تمرین ورزشی است و بسیاری از سازگاری های سوخت و سازی با تمرین استقامتی منظم را تحریک می کند [۲۰]. در مطالعات انجام شده اخیر، حمایت‌هایی برای استفاده از تمرین HIIT برای بهبود کنترل گلوکز و آمادگی قلبی- تنفسی در بیماران دیابتی نوع ۲ فراهم شده است [۲۱–۲۴]، با این وجود تاکنون اثر این نوع تمرین بر عوامل اثرگذار بر تنظیم متابولیسم در آزمودنی‌های دیابتی نوع دو مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به این که در زمینه اثر فعالیت ورزشی بر بیان ژن عوامل اثرگذار بر تنظیم گلوکز پژوهش‌های بسیار اندکی انجام شده و معدود پژوهش‌های صورت گرفته به نتایج متناقضی دست یافتند و از آن جایی که تاکنون پژوهشی در زمینه تأثیر تمرین های ورزشی با شدت بسیار زیاد بر مقادیر بیان ژن GLUT4 و-PGC 1αدر آزمودنی‌های دیابتی نوع ۲ مشاهده نشده است، پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن عوامل درگیر در متابولیسم عضله اسکلتی موش های دیابتی طراحی شده است.

روش کار:

پژوهش حاضر، یک مطالعه تجربی–آزمایشگاهی است که در آن امکان کنترل عوامل تاثیرگذار بر نتایج پژوهش بوده است. طرح پژوهش از نوع پیش‌آزمون – پس‌آزمون با گروه کنترل است. در این پژوهش ۴۸ سر رت نر ۸ هفته ای نژاد ویستار از انستیتو پاستور ایران با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم به عنوان نمونه پژوهش انتخاب شدند. رت‌ها به طور تصادفی در چهار گروه شامل گروه کنترل سالم (کنترل ۸ هفته) (۱۲سر)، گروه دیابتی بدون انجام تمرین (۱۲سر)، گروه دیابتی با انجام تمرین (۱۲سر) و گروه تمرین سالم (۱۲سر) قرار گرفتند. در این مطالعه برای القای دیابت نوع ۲ از روش تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید – STZ متعاقب یک ناشتایی شبانه استفاده شد. به طوری که ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن رت، به شیوه درون صفاقی تزریق و ۱۵ دقیقه پس از آن محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات با PH=۴/۵ نیز به صورت درون صفاقی با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. برای اطمینان از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق با

کمک گلوکومتر (مدل Active، شرکت Accu-Chek ساخت آلمان) و نمونه خونی گرفته شده ازسیاه رگ دمی موش‌ها اندازه‌گیری شد. مقدار قند خون بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع ۲ در نظر گرفته شد [۲۵]. گروه‌های مورد مطالعه در قفسه های مخصوص جوندگان از جنس پی وی سی با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، نگهداری شدند. دمای اتاق ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت معادل ۵۰ تا ۵۵ درصد بود. نمونه‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری، با در دسترس بودن آب و غذا (غذای فشرده و آماده مخصوص موش، ساخت کارخانه خوراک گرگان و آب مصرفی و آب تصفیه شده شهری در ظرف آب‌خوری) نگهداری شدند. در این پژوهش اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت. همه آزمایش‌ها بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد.

پروتکل تمرین

در پژوهش حاضر آزمودنی‌ها برای برآورد حداکثر سرعت دویدن آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب ۰ درجه اجرا کردند که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و سپس سرعت تردمیل به ازای هر یک دقیقه ۱ متر بر دقیقه افزوده می‌شد تا رت‌ها قادر به دویدن نباشند (واماندگی). پس از برآورد حداکثر سرعت، گروه تمرینی ۵ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته به فعالیت بر روی نوار گردان پرداختند. پروتکل اجرای وهله های تمرینی با شدت ۸۰ تا ۸۵ ٪ حداکثر سرعت به HIIT به مدت ۲ دقیقه با دوره های استراحتی فعال ۱ دقیقه ایی بود و در هر جلسه ۵ وهله تمرینی اجرا می شد (جدول ۱).

مراحل نمونه‌گیری و اندازه‌گیری بیان ژن‌ها در بافت عضله

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، رت های مورد مطالعه در هر گروه با تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس بافت عضله نعلی رت‌ها نمونه برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه ور و برای انجام آزمایش های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شدند. اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای مورد نظر از بافت عضله نعلی به وسیله روش Real time–PCR سنجش و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از PCR master mix (Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه ABI Step (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems. One Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر در جدول ۲ آورده شده است.

برای اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرها از آزمون شاپیرو – ویلک استفاده شد. برای مقایسه میانگین تغییرات میزان بیان ژن گروه ها از آزمون تحلیل وار یانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معناداری در همه موارد $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد.

جدول ۱: پروتکل تمرینی هشت هفته ای آزمودنی‌ها

هفته	تکرارهای دو دقیقه ای (سرعت متر بر دقیقه)	استراحت‌های فعال یک دقیقه‌ای(سرعت متر بر دقیقه)	وهله های تمرینی (روز)
اول	۱۶	۱۰	۵
دوم	۱۸	۱۰	۵
سوم	۲۴	۱۱	۵
چهارم	۲۶	۱۱	۵
پنجم	۳۰	۱۲	۵
ششم	۳۴	۱۲	۵
هفتم	۳۶	۱۴	۵
هشتم	۳۸	۱۴	۵

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی	طـــــول amplicon
PGC-1α	Forward	5′- AGTTGAAAAAGCTTGACTGGCG -3′	92 bp
	Reverse	5′- AACCAGGGCAGCACACTCTA -3′	
GLUT4	Forward	5′- CTTAGTAGAGCGAGCTGGGC -3′	95 bp
	Reverse	5′- AAGAGCTCGGCCACAATGAA -3′	
GAPDH	Forward	5′- ATCACTGCCACTCAGAAGAC -3′	94 bp
	Reverse	5′- ACATTGGGGGTAGGAACAC -3′	

یافته‌ها:

در جدول ۳ میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن PGC-1α عضله اسکلتی موش های دیابتی در گروه‌های مختلف پژوهش، تفاوت وجود دارد (p< ۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تغییرات بیان ژن PGC-1α عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر است (P= ۰/۰۳۶). تغییرات بیان ژن PGC-1α عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بیشتر بود (p< ۰/۰۰۱). همچنین تغییرات بیان ژن PGC-1α عضله اسکلتی در گروه تمرین– دیابت نسبت به گروه دیابت به طور معناداری بیشتر بود (p< ۰/۰۰۱).

همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن GLUT4 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف پژوهش تفاوت وجود دارد (p< ۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد تغییرات بیان این ژن در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر است (P=۰/۰۳۶). تغییرات بیان ژن مذکور در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت (p< ۰/۰۰۱). همچنین تغییرات بیان ژن GLUT4 عضله اسکلتی در گروه تمرین– دیابت نسبت به گروه دیابت (p< ۰/۰۰۱) به طور معناداری بیشتر بود.

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار بیان ژن های PGC-1α و GLUT4 در گروه های مختلف

متغیر / گروه	کنترل	دیابت	تمرین	تمرین+ دیابت
بیان ژن PGC-1α (CTΔΔ)	۱	۰/۰±۹۶/۸۰	*۳/۱±۳۶/۸۰	*۱/۰±۸۶/۴۷
بیان ژن GLUT4 (CTΔΔ)	۱	۰/۰±۲۴/۱۸	*۵/۱±۸۹/۳۹	*۲/۰±۱۴/۹۸

*نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت در سطح ۵٪ >P

بحث :

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی شدید موجب افزایش معنادار بیان ژن PGC-1α عضله اسکلتی موش‌های دیابتی می‌شود. این یافته پژوهش حاضر با نتایج روچکه و همکاران و کانر و همکاران که افزایش معنادار PGC1α پس از تمرین‌های استقامتی و تناوبی شدید را نشان دادند، هم‌خوانی دارد [۱۸،۲۶]. در رابطه با اثر تمرین بر بیان این ژن پژوهش های اندکی انجام گرفته است و در تفسیر نتایج، سازوکارهای متفاوتی را بیان کرده اند. در همین راستا، نتایج روچکه و همکاران نشان داد بیان mRNA PGC-1α به طور معناداری در پاسخ به فعالیت بدنی شدید افزایش می‌یابد[۱۸]. همچنین کانر و همکاران افزایش معناداری بیان mRNA PGC-1α در ۳ ساعت بعد از تمرین اینتروال و تداومی افزایش را گزارش کردند[۲۶]. مطالعات متعددی تلاش کرده‌اند که سازوکارهای موثر در افزایش بیان PGC-1α در عضله را دریابند. فعالیت ورزشی می‌تواند محتوا، شکل و عملکرد میتوکندری را در عضلات اسکلتی تغییر دهد [۲۷]. بیان PGC-1α به عنوان سازگاری عضله با نیازهای متابولیکی به تمرین پاسخ می‌دهد و منجر به بیوژنز میتوکندری می شود [۲۸]. چند مسیر سیگنالینگ پیشنهاد شده وجود دارد که خانواده PGC-1 را تنظیم می‌کنند. این مسیرهای سیگنالینگ شامل تنظیم مسیرها کلسیم، کالسینورین وCaMK، AMPK و p38و همچنین فعال شدن b2- گیرنده‌های آدرنرژیک است [۱۴،۲۹]. از طرفی، یافته‌های اخیر روی انسان، نشان می‌دهد که

تمام ایزوفرم‌های PGC-1α بعد از ورزش بدون در نظر گرفتن نوع تمرین، افزایش می‌یابد. با این حال، نوع تمرین می‌تواند به اثربخشی چنین رویکردی در حفظ توده عضلانی و بهبود کیفیت عضلانی مربوط باشد [۳۰]. همچنین نقش AMPK به عنوان تنظیم کننده اصلی متابولیسم انرژی تایید شده است. AMPK ، PGC-1α را تحریک کرده و هر دو به طور همزمان باعث افزایش سوبستراهای هدف پایین دست خود برای کمک به بازسازی برنامه های تار عضلات اسکلتی می‌شوند[۳۱]. درک اثرات PGC-1α می‌تواند به روشن شدن سازگاری‌های افراد مبتلا به دیابت طی تمرین کمک کند. پاسخ PGC-1α به فعالیت ورزشی می‌تواند تحت تاثیر عوامل گوناگونی از جمله سایقه تمرینی آزمودنی ها، شدت و مدت فعالیت و یا تاثیر فعالیت‌های تکراری تغییر کند. از طرفی، به نظر می‌رسد PGC-1α از واسطه‌های تنظیم کننده متابولیسم عضله اسکلتی است که نقش مهمی در متابولیسم انرژی در عضلات اسکلتی در شرایط دیابتی دارد، به گونه ای که کاهش مقدار آن موجب اختلال در فرآیندهای متابولیک عضله اسکلتی می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید در پژوهش حاضر، می‌تواند راه کار مناسبی برای درمان اختلال متابولیک عضله اسکلتی طی دیابت باشد.

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن GLUT4 عضله اسکلتی در گروه دیابت به طور معناداری کمتر است و تمرین تناوبی شدید موجب افزایش معنادار بیان این ژن می‌شود. این یافته با نتایج وانگ و همکاران، افضل پور و همکاران، محبی و همکاران، و پارک و همکاران هم خوان است [۳۲–۳۵]. در همین راستا، وانگ و همکاران نشان دادند دویدن روی تردمیل با شدت ۷۵ تا ۹۰ درصد VO2max موجب افزایش بیان ژن GLUT4 در موش‌های دیابتی نوع ۲ می‌شود [۳۳]. محبی و همکاران اظهار داشتند که افزایش این ژن وابسته به شدت فعالیت است و فعالیت شدید به دلیل تاثیر بیشتر بر تغییرات متابولیکی میتواند اثربخشی بیشتر بر آن داشته باشد [۳۵]. عضله اسکلتی اولین مکان مصرف گلوکز است؛ اما تفاوت در ریخت شناسی عضله اسکلتی و متابولیسم آن احتمالاً مهمترین دلیل برای وجود تفاوت در اختلاف زیاد بین گلوکز مصرفی افراد دارای توده عضلانی مشابه است. عواملی از قبیل نوع تار عضلانی، میزان چربی و میزان آنزیم های گلیکولیتیک عضله مواردی هستند که ارتباط آنها با حساسیت انسولین و متابولیسم گلوکز گزارش شده است. به علاوه، این احتمال وجود دارد که فاکتورهای رها شده از بافت چربی احشایی (اسید چرب آزاد و سیتوکیناز) بر متابولیسم گلوکز در عضله اسکلتی موثر باشد[۳۶]. ورزش و فعالیت بدنی نه تنها از طریق افزایش گیرنده انسولین و GLUT4، سبب بهبود پیام‌رسانی داخل سلولی انسولین و افزایش تحویل گلوکز به عضله می شود، بلکه به واسطه کاهش وزن و توده چربی، حساسیت انسولینی را بهبود بخشیده و مقاومت به انسولینی را تعدیل می‌کند [۳۷]. شواهد موجود نشان می‌دهد که سازوکار اثر تمرین هوازی بر هموستاز گلوکز و عمل انسولین تا حدود زیادی به عملکرد عضلات اسکلتی برمی‌گردد. عضلات اسکلتی تقریباً بیش از نیمی از وزن بدن را تشکیل می‌دهند و اصلی‌ترین جایگاه مصرف گلوکز هستند. انقباض در عضلات اسکلتی دارای نقش شبه انسولینی بوده و موجب می شود تا مقدار زیادی گلوکز به درون سلول وارد شده و صرف تولید انرژی شود [۳۸]. سازوکار احتمالی این پدیده به نفوذپذیری غشا به گلوکز به دلیل افزایش تعداد ناقل های گلوکز در غشای پلاسمایی و افزایش بیان ژنی یا فعالیت پروتئین های مختلف درگیر در آبشار پیام رسانی انسولین، افزایش چگالی مویرگی و افزایش فعالیت گلیکوژن سنتتاز در انقباض عضلانی برمی گردد. با انجام فعالیت ورزشی مداوم در افراد دیابتی و افزایش انقباض عضلانی ناشی از تمرین، میزان GLUT4 عضلات تحت تمرین افزایش می یابد که سبب بهبود در عبور گلوکز پلاسما به درون سلول عضلانی حتی از مسیرهای غیر وابسته به انسولین می‌شود[۳۹]. تمرینات ورزشی می‌تواند بیان این ژن را در غشای سارکولمای عضله اسکلتی را افزایش دهد [۴۰]. از سویی، اسیدهای چرب تولید شده از بافت چربی با تجمع در سلول‌های عضلانی، انتقالGLUT4 به سطح این سلولها را مختل می‌کند. فعالیت بدنی با افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب از تجمع آنها در سلول عضلانی جلوگیری می‌کند و انتقال GLUT4 را به سطح سلول تسهیل می‌کند. تمرینات ورزشی می تواند ازطریق افزایش GLUT4 به درون سلول‌های عضلانی و سوبستراهای گیرنده انسولین و همچنین افزایش توده عضلانی سبب افزایش پاسخ دهی بدن به انسولین شود. اسیدهای چرب تولید شده از بافت چربی با تجمع در سلول‌های عضلانی، انتقال GLUT4 به سطح این سلول‌ها را مختل می کنند و تمرینات ورزشی با افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب از تجمع آن ها در سلول عضلانی جلوگیری می کنند. از این رو، تغییرات شیوه زندگی با تمرکز بر افزایش فعالیت بدنی از راه کارهای اصلی مقابله با بروز عوامل خطرزای قلبی - عروقی است [۴۱]. نشان داده شده است که تمرینات HIIT موجب بهبود حساسیت انسولینی و افزایش GLUT4 در افراد کم تحرک می‌شود. از آن جایی که مشخص شده است افزایشGLUT4 به دنبال فعالیت ورزشی تحت تاثیر مهار گیرنده‌های آدرنرژیک نیست، به نظر می رسد فعالیت ورزشی با شدت بالا نسبت به فعالیت با شدت پایین از طریق فعال کردن دو مسیر پیام‌دهی وابسته به کلسیم و مسیر پروتئین کیناز فعال شده با AMP موجب افزایش بیشتری در بیان پروتئین GLUT4 عضله اسکلتی شود. با این وجود، افزایش بیان ژن GLUT4 عضله اسکلتی در موش‌های دیابتی متعاقب تمرین در پژوهش حاضر با

یافته‌های زرع کار و همکاران که نشان دادند تمرینات هوازی روی نوارگردان با شدت ۷۵درصد اکسیژن مصرفی بیشینه به مدت ۶ هفته، تغییر معناداری در بیان ژن GLUT4 عضله اسکلتی در موش‌های دیابتی ایجاد نمی کند[۴۲]، هم خوان نیست. احتمالاً عدم هم‌خوانی نتایج این پژوهش با یافته بیان شده را بتوان به نوع عضله مورد بررسی نسبت داد. در پژوهش حاضر عضله نعلی و در پژوهش یادشده عضله دوقلو مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. از طرفی مدت جلسات تمرین و مدت زمان انجام پروتکل تمرین نیز متفاوت بوده است. از جمله محدویت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر فاکتورهای مرتبط با متابولیسم انرژی در عضلات اسکلتی اشاره کرد. اندازه‌گیری مسیرهای سیگنالینگ همچون تنظیم مسیرهای کلسیمی، کالسینورین و CaMK، AMPK و p38 و همچنین گیرنده های آدرنرژیک نیز می‌تواند اثرات فعالیت بدنی بر عوامل رونویسی درگیر در عضله اسکلتی در افراد مبتلا به دیابت را به طور روشن تری نشان دهد. به هرحال پژوهش‌های بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری:

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن های PGC-1α و GLUT4 عضله اسکلتی در گروه دیابت کمتر بوده و تمرین تناوبی شدید موجب افزایش معنادار بیان این ژن‌ها در موش‌های دیابتی می شود. بنابراین، یک دوره تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن PGC-1α و GLUT4 در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی تاثیر دارد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، می‌توان گفت احتمالاً کاهش بیان ژن‌های مذکور در عوارض ناشی از بیماری دیابت درگیر باشد. همچنین تمرین تناوبی شدید احتمالاً می تواند از طریق افزایش بیان این ژن‌ها در عضله اسکلتی به بهبود سطوح انرژی سلولی طی دیابت کمک کند.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام پژوهش حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع:

هیچگونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

References:

1. Fujimaki S, Kuwabara T. Diabetes-Induced Dysfunction of Mitochondria and Stem Cells in Skeletal Muscle and the Nervous System. Int J Mol Sci. 2017; 18(10):2147-2169.
2. D'Souza D.M., Al-Sajee D., Hawke T.J. Diabetic myopathy: Impact of diabetes mellitus on skeletal muscle progenitor cells. Front. Physiol. 2013; 4(379):1-7.
3. Gispen W.H., Biessels G.J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. Trends Neurosci. 2000; 23(11):542-9.
4. Egan, B. Zierath, J. R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. Cell Metab. 2013; 17(2):162-84.
5. Oberbach A., Bossenz Y., Lehmann S., Niebauer J., Adams V., Paschke R., Schon M.R., Bluher M., Punkt K. Altered fiber distribution and fiber-specific glycolytic and oxidative enzyme activity in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. Diabetes Care. 2006; 29(4):895-900.
6. Cho K, Kim YB. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. Korean J Intern Med. 2010; 25(2): 119–129.
7. Esfarjani F, Rashidi F, Marandi S M. The Effect of Aerobic Exercise on Blood Glucose, Lipid Profile and Apo. J Ardabil Univ Med Sci. 2013; 13(2):132-141
8. Liang H, Ward WF. PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. Adv Physiol Educ. 2006; 30(4):145-51.
9. Wende AR, Schaeffer PJ, Parker GJ, Zechner C, Han DH, Chen MM, and Kelly DP. A role for the transcriptional coactivator PGC-1α in muscle refueling. J Biol Chem. 2007; 282(50):36642-51
10. Jung S, Kim K. Exercise-induced PGC-1α transcriptional factors in skeletal muscle. Integr Med Res. 2014; 3(4):155–160.
11. Brandt N, Dethlefsen MM, Bangsbo J, Pilegaard H. PGC-1α and exercise intensity dependent adaptations in mouse skeletal muscle. PLoS ONE 2017; 12(10):231-252.
12. Safdar A, Little JP, Stokl AJ, Hettinga BP, Akhtar M, Tarnopolsky MA, et al. Exercise increases mitochondrial PGC-1α content and promotes nuclear-mitochondrial cross-talk to coordinate mitochondrial biogenesis. J Biol Chem. 2011; 286(12):10605-17.
13. Hussey SE, McGee SL, Garnham A, McConell GK, Hargreaves M. Exercise increases skeletal muscle GLUT4 gene expression in patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab. 2012; 14(8):768-71.
14. Tadaishi M, Miura S, Kai Y, Kano Y, Oishi Y, Ezaki O. Skeletal muscle-specific expression of PGC-1α-b, an exercise-responsive isoform, increases exercise capacity and peak oxygen uptake. PLoS ONE, 2011; 6(12): 341-357.
15. Handschin C, Choi CS, Chin S, Kim S, Kawamori D, Kurpad AJ, et al. Abnormal glucose homeostasis in skeletal muscle-specific PGC-1alpha knockout mice. J Clin Invest. 2007; 117(11):3463-74.

16. Chan MC, Arany Z. The many roles of PGC-1α in muscle-recent developments. Metabolism. 2014; 63(4):441-51
17. Adhihetty PJ, Irrcher I, Joseph AM, Ljubicic V, Hood DA. Plasticity of skeletal muscle mitochondria in response to contractile activity. Exp Physiol. 2003; 88(1):99-107
18. Taylor CW, Ingham SA, Hunt JE, Martin NR, Pringle JS, Ferguson RA. Exercise duration‐matched interval and continuous sprint cycling induce similar increases in AMPK phosphorylation, PGC‐1α and VEGF mRNA expression in trained individuals. Eur J Appl Physiol. 2016; 116(8):1445-54.
19. Engel FA, Ackermann A, Chtourou H, Sperlich B. High-Intensity Interval Training Performed by Young Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front Physiol. 2018; 9:1012-30.
20. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. Diabetologia. 2017; 60(1):7-23.
21. Wormgoor SG, Dalleck LC, Zinn C, Harris NK. Effects of High-Intensity Interval Training on People Living with Type 2 Diabetes: A Narrative Review. Can J Diabetes. 2017; 41(5):536-547.
22. Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. Diabetes Spectr. 2015; 28(1):39-44.
23. Banitalebi E, Faramarzi M, Nasiri S. High-Intensity Interval Training Versus Moderate Intensity Combined Training (Resistance and Aerobic) for Improving Insulin-Related Adipokines in Type 2 Diabetic Women, Zahedan J Res Med Sci. 2018; 20(10):e68793
24. da Silva DE, Grande AJ, Roever L, Tse G, Liu T, Biondi-Zoccai G, de Farias JM. High-Intensity Interval Training in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: a Systematic Review. Curr Atheroscler Rep. 2019 Feb 2;21(2):8.
25. Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of aqueous bark extract of Garuga pinnata Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. J Ethnopharmacol 2006; 107 (2): 285-90.
26. Ruschke K, Fishbein L, Dietrich A, Klöting N, Tönjes A, Oberbach A, et al. Gene expression of PPARg and PGC-1a in human omental and subcutaneous adipose tissues is related to insulin resistance markers and mediates beneficial effects of physical training. Eur J Endocrinol. 2010; 162(3):515-23.
27. Pasini E, Le Douairon Lahaye S, Flati V, Assanelli D, Corsetti G, Speca S, et al. Effects of treadmill exercise and training frequency on anabolic signaling pathways in the skeletal muscle of aged rats. Exp Gerontol. 2012; 47(1):23-8.
28. Erlich AT, Tryon LD, Crilly MJ, Memme JM, Moosavi ZSM, Oliveira AN, et al. Function of specialized regulatory proteins and signaling pathways in exercise-induced muscle mitochondrial biogenesis. Integr Med Res. 2016; 5(3):187–197.
29. Chinsomboon J, Ruas J, Gupta RK, Thom R, Shoag J, Rowe GC, et al., The transcriptional coactivator PGC-1alpha mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106(50):21401-6.
30. Lundberg TR, Fernandez-Gonzalo R, Norrbom J, Fischer H, Tesch PA, Gustafsson T. Truncated splice variant PGC-1α4 is not associated with exercise-induced human muscle hypertrophy. Acta Physiol. 2014; 212(2):142-51.
31. Wang L, Jia Y, Rogers H, Suzuki N, Gassmann M, Wang Q, et al. Erythropoietin contributes to slow oxidative muscle fiber specification via PGC-1α and AMPK activation. Int J Biochem Cell Biol. 2013; 45(7):1155-64.
32. Park ST, Kim K, Yoon JH, Lee S. Effect of Exercise on GLUT4 Expression of Skeletal Muscle in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Journal of Exercise Physiology Online. 2011; 14(3):113-122.
33. Wang Y, Wen L, Zhou S, Zhang Y, Wang XH, He YY, et al. Effects of four weeks' intermittent hypoxia intervention on glucose homeostasis, insulin sensitivity, GLUT4 translocation, insulin receptor phosphorylation, and Akt activity in skeletal muscle of obese mice with type 2 diabetes. PLoS ONE 2018; 13(9):1-22.
34. Afzalpour ME, Yousefi MR, Eivari HA, Ilbeigi S. The comparison of continuous and intermittent training impact on glucose-4 transporter protein level and insulin sensitivity in diabetic rats. 2016.
35. Mohebbi H, Rohani H, Hassan-Nia S. The effect of 12 weeks' endurance training at 2 different intensities on GLUT4 mRNA expression of soleus and gastrocnemius muscles in obese mice. Apunts Medicina de l" Esport (English Edition). 2016; 51(191):93-9.
36. Luk J, Kilpatrick K, Davidson L, Hudson R, Ross R. Whole-body skeletal muscle mass is not related to glucose tolerance or insulin sensitivity in overweight and obese men and women. Appl Physiol Nutr Metab. 2008; 33(4):769-74
37. Brooks N, Layne EJ, Gordon LP, Roubenoff R, Nelson EM, Castaneda SC. Strength training improves muscle quality and insulin sensitivity in Hispanic older adults with type 2 diabetes. Int J Med Sci. 2006; 4(1):19-27.
38. Ivy JL. Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. Sports Med 1997; 24(5):321-36.
39. K VLM, Katch WD, Frank I. Essentials of exercise physiology. 4th eds, 2011.
40. Ku YH, Han KA, Kwon H, Koo BK, Kim HC. Resistance exercise did not alter intramuscular adipose tissue but reduced retinol binding protein 4 concentration in individuals with type 2 diabetes mellitus. J Int Med Res. 2010; 38(3):782-91.
41. Woo KS, Chook P, Chung WY, Sung RY, Qiao M, Leung SS, et al. Effects of diet and exercise on obesity-related vascular dysfunction in children. Circulation. 2004; 109(16):1981-6.
42. Zarekar M, Saghebjoo M, Foadodini M, Hedayati M. Combined effect of aerobic training and pistacia athlantica extract on GLUT-4 protein expression and muscle glycogen in diabetic rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2014; 16(4):245-53.

Original Article

The effect of high-intensity interval training (HIIT) on gene expression of the factors involved in the skeletal muscle metabolism of diabetic rats

Mona Bostan Manesh[1], Saeedeh Shadmehri*[2], Mozhgan Ahmadi[3]

Received:2019.09.30 Revised:2019.07.13 Accepted: 2019.09.11

1.Department of Physical Education and Sport Science Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.17, No.2, Summer 2019

Abstract:

Pars J Med Sci 2019;17(2):32-39

Introduction:
Improving the metabolism of skeletal muscle is one of the important mechanisms for the treatment of type 2 diabetes. The aim of this study was to evaluate the effect of high-intensity interval training (HIIT) on gene expression of the factors involved in the skeletal muscle metabolism of diabetic rats.

Material and Methods:
To implementation of this experimental research, 48 male Wistar rats weighing 220 ± 20 gr randomly were divided into 4 groups including control, diabetes, training and diabetes-training. In this study, the rats become diabetes type 2 using peritoneal injection nicotinamide-STZ. High-intensity interval training performed with intensity of 80-85% VO2max, 5 days a week and for 8 weeks. The expression of GLUT4 and PGC-1α genes were measured by Real Time PCR. Data were analyzed by One-way ANOVA and Tukey post hoc test at the $P<0.05$.

Results:
The results showed a significant difference between the mean expression of GLUT4 and PGC-1α of skeletal muscle in diabetic rats in different groups ($P< 0.001$). The changes in the expression of GLUT4 and PGC-1α of the skeletal muscle in the diabetes group were significantly lower than the control group ($P=0.036$). High-intensity interval training significantly caused higher the expression of GLUT4 and PGC-1α ($P< 0.001$).

Conclusion:
According to the findings of the present study, high-intensity interval training can help to improve cellular energy levels during diabetes as a result of increasing the expression of PGC-1α and GLUT4 in skeletal muscle.

Keywords: Diabetes, High-Intensity Interval Training, GLUT4, PGC-1α, Rats

* Corresponding author Email: saeedehsh61@gmail.com