

تمرینات اینتروال شدید باعث بهبود بیان ژن GLUT4 عضله نعلی رتھای دیابتی نر می شود

اسرافیل فرجی^۱، کمال عزیزیگی^{۲*}، خالد محمدزاده سلامت^۳، ظاهر اعتماد^۳

۱. دانشجویی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۳. استاد یار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

مؤلف مسوول:

کردستان، سنندج، خیابان پاسداران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، گروه تربیت بدنی، دکتر کمال عزیزیگی

۰۸۷۱-۳۳۶۱۳۲۱۱ - ۰۹۱۸۳۸۰۹۵۴۸ kazizbeigi@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: افزایش بیان ژن گیرنده های انسولین می تواند در کنترل قند خون موثر باشد. هدف تحقیق حاضر بررسی

تاثیر تمرینات اینتروال شدید بر تغییرات بیان ژن GLUT4 عضله نعلی در موش های صحرایی نر دیابتی بود.

مواد و روش ها: تعداد ۱۶ سر رت نژاد ویستار انتخاب و به طور تصادفی در گروه های کنترل دیابتی ($n=8$) تمرین

اینتروال شدید ($n=8$) قرار داده شدند. پس از دو هفته تزریق درون صفاقی دوز پایین استرپتوزتوسین و بعد از اطمینان از دیابتی

شدن رت ها، تمرینات اینتروال شدید به صورت پنج جلسه در هفته و به مدت شش هفته به صورت ۸-۱۰ ست با شدت ۸۵-۶۵

درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی نوار گردان انجام شد. بعد از کشتار حیوانات و آماده سازی بافت عضله نعلی، بیان ژن

GLUT4 با روش PCR real time سنجیده شد.

یافته ها

مشاهده شد توزیع داده های متغیر GLUT4 در گروه های مورد مطالعه از توزیع نرمال برخوردار بود ($p=0/429$). همچنین

بین دو گروه تمرینات اینتروال شدید و گروه دیابتی کنترل تفاوت معنی داری در تغییرات بیان ژن GLUT4 مشاهده شد

($p=0/001$) به طوریکه بیان ژن این پروتئین در گروه تمرینات اینتروال شدید به طور معنی داری افزایش یافت ($p=0/001$).

نتیجه گیری

در نهایت می توان گفت که تمرینات اینتروال شدید موجب افزایش بیان ژن GLUT4 در عضله نعلی رت های دیابتی

خواهد شد.

کلید واژه ها: متابولیسم گلوکز، تمرینات ورزشی با شدت بالا، مقاومت به انسولین

High Intensity Interval Training Improves GLUT4 Gene Expression in the Soleus Muscle of Male Diabetic Rats

Abstract

Background and Objective: Increasing insulin receptor gene expression can be effective in controlling blood sugar. The aim of the present study was to investigate the effect of high-intensity interval training (HIIT) on changes in GLUT4 gene expression in the soleus muscle in diabetic male rats.

Materials and Methods: 16 Wistar rats were selected and randomly assigned to diabetic control (Con; n=8) and high-intensity interval training (HIIT; n=8) groups. After two weeks of intraperitoneal injection of low-dose streptozotocin (STZ) and after ensuring that the rats become diabetic, HIIT was performed five sessions per week for six weeks in 8-10 sets at an intensity of 65-85% of maximum oxygen consumption (VO₂max) on a treadmill. After killing the animals and preparing the soleus muscle tissue, GLUT4 gene expression was measured by real-time PCR.

Results: It was observed that the distribution of GLUT4 variable data in the studied groups had a normal distribution ($p=0.268$, $p=0.429$ respectively for Con and HIIT). It was observed that there was a significant difference in GLUT4 gene expression changes between the HIIT and Control ($p=0.001$), such that its expression increased significantly in the HIIT ($p=0.001$).

Conclusion: Finally, it can be said that intense interval training will increase GLUT4 gene expression in the soleus muscle of diabetic rats.

Keywords: Glucose metabolism, high-intensity exercise, insulin resistance.

مقدمه

اخیرا بیماریهای متابولیکی مانند دیابت امروز در جهان بسیار رو به افزایش می باشد. دیابت به سبب اختلال در متابولیسم گلوکز بوده و می تواند ناشی از نقصان در تولید ترشح انسولین (دیابت نوع اول) یا عدم پاسخ دهی مناسب به ترشح انسولین (دیابت نوع دوم) باشد (بیلکا و همکاران ۲۰۲۴)^۱. اگرچه نقش ژنتیک در ابتلا به دیابت بسیار مبرم می باشد (واز دکاسترو و همکاران ۲۰۲۲)^۲ با وجود این فاکتورهای دیگر به غیر از عوامل ژنتیکی می تواند در ابتلا افراد به دیابت نقش بازدارنده یا نقش تسریع کننده داشته باشند (کولب و همکاران ۲۰۱۷)^۳. آنچه به خوبی به اثبات رسیده است سبک زندگی بی تحرک و به دنبال آن چاقی به عنوان یکی از عوامل خطر زای اصلی برای دیابت نوع ۲ و عوارض آن محسوب می شود. کاهش سطح فعالیت بدنی و دریافت کالری بیش از مقدار مورد نیاز می تواند موجب چاقی شده و و خطر ابتلا به دیابت نوع دو بیشتر می شود (کاربنونه ۲۰۱۹)^۴ بروز چاقی می تواند با افزایش ترشح پروتئین های التهابی سیستمیک مانند سایتوکاین های پیش التهابی و برخی ادیپوکاین ها همراه بوده که همگی می توانند باعث اختلال در عملکرد گیرنده های هورمون انسولین در بافت عضلانی و بافت چربی (GLUT4) باشد (یاری بیگی ۲۰۱۹)^۵، از طرفی دیگر کاهش فعالیت بدنی می تواند اثر نامطلوبی بر بیان و افزایش گیرنده GLUT4 داشته باشد. از آنجاییکه ورود گلوکز به داخل بافت ها جهت انجام مراحل سوخت و سازی نیاز به هورمون انسولین و تعامل آن با گیرنده های گلوت^۵ می باشد هرگونه اختلال در ترشح و یا اختلال در بیان گیرنده های گلوت و یا تعامل هورن- گیرنده می تواند سوخت و ساز گلوکز را با اختلال مواجه کرده و موجب ابتلا به دیابت شود (یاری بیگی ۲۰۱۹)^۵، گیرنده های گلوت در دارای چهار زیر مجموعه بوده و در بافت عضلانی و

¹ Bielka

² Vaz de Castro

³ Kolb

⁴ Carbone

⁵ GLUT

بافت چربی گلوت ۴ بیان می شود (ناواله ۲۰۱۶)^۶. گزارش شده است بیان ژن این گیرنده نسبت به تحرکات خارجی مانند تمرینات ورزشی افزایش می یابد در حالیکه بی تحرکی می تواند موجب کاهش این پروتئین گردد (ایوانز ۲۰۱۹)^۷. بر همین اساس به نظر می رسد افزایش بیان این گیرنده می تواند در تعامل با هومورن انسولین موجب کنترل قند خون گردد.

امروزه پروتکل های ورزشی دارای تنوع و گستردگی زیادی بوده و محققان با تغییر در شدت و حجم تمرینات اهداف مختلفی را دنبال می کنند. یکی از تمرینات ورزشی که توجه زیادی را به خود جلب کرده است تمرینات اینتروال شدید است. گزارش شده است تمرینات اینتروال شدید در بهبود مقاومت به انسولین موثر می باشند (فریتاز ۲۰۱۹^۸؛ رایان ۲۰۲۰^۹). با وجود تاثیر مثبت تمرینات اینتروال شدید بر بسیار از متغیر های مرتبط با سلامتی با وجود این تاثیر این تمرینات بر بیان GLUT4 هنوز به طور کامل مشخص نیست. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی تاثیر شش هفته تمرینات اینتروال بر بیان GLUT4 در عضله نعلی رت های دیابتی شده خواهد بود و به این پرسش پاسخ خواهیم داد که تمرینات شش هفته تمرینات اینتروال شدید بر بیان GLUT4 در عضله نعلی رت های دیابتی شده موثر خواهد بود یا خیر؟

روش شناسی تحقیق

حیوانات

۱۶ سر رت نر نژاد ویستار با سن حدود شش ماهگی در محدوده وزن ۳۵۰ - ۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند و پس از دو هفته سازگاری با محیط جدید و بعد از القای دیابت حیوانات به طور تصادفی در گروه کنترل دیابتی ($n=8$)، تمرین اینتروال شدید ($n=8$) قرار داده شده اند. تمامی حیوانات در آزمایشگاه حیوانات در یک محیط کم استرس و آرام (دمای 23 ± 3 درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۰ درصد و کم سر و صدا) و روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعت در قفس نگهداری شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله کشی و غذای فشرده مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس) دسترسی داشتند. تحقیق حاضر با مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سنجید به شماره

⁶ Navale

⁷ Evans

⁸ Freitas

⁹ Ryan

شناسه (IR.IAU.SDJ.REC.1400.027) صورت گرفت و تمامی اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در آن رعایت شد.

القای دیابت

بعد از گذشت دو هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، برای دیابتی کردن نمونه‌های دیابتی دو هفته مصرف غذای پرچرب ۵۰ درصد چربی ۲۵ درصد پروتئین و ۲۵ درصد کربوهیدرات به شکل پلیت (شرکت کانی) دام تهیه شد و بدون محدودیت در اختیار حیوانات قرار داده شد. پس از دو هفته تزریق درون صفاقی دز پایین استرپتوزوسین^{۱۰} ۳۷ میلی گرم به صورت در بافر سیترات ۰/۱ موالر و pH ۴/۵ بعد از شش ساعت ناشتایی اعمال گردید. ۷۲ ساعت بعد از تزریق دارو نمونه گیری خون از ورید دمی حیوان با استفاده از گلوکومتر (Boehringer Mannheim Indianapolis in) انجام شد و حیوانات دارای غلظت گلوکز بین ۱۵۰-۳۵۰ میلی گرم در دسی لیتر به عنوان رت دیابتی وارد تحقیق شدند. به منظور کنترل وزن، رت‌ها در ابتدا (بدون مدخله) و انتهای پروتکل (روز پایان مطالعه قبل از تشریح) تمرینی توسط ترازوی دیجیتالی وزن شدند.

پروتکل تمرین اینتروال شدید

تمرینات اینتروال شدید به صورت پنج جلسه در هفته و به مدت شش هفته بر روی نوار گردان انجام شد. تمرین اینتروال شدید در بر گیرنده وهله‌های فعالیت ورزشی تکراری باشدت بالا برای سی ثانیه تا چند دقیقه و فواصل استراحتی یک الی پنج دقیقه با توجه به پروتوکلهای سیستمیک که از اجزای اینتروال شدید در پروژهای مختلف مورد استفاده قرار گرفته است (پوله و همکاران^{۱۱} ۲۰۲۰). به منظور آشنا سازی در ابتدا و قبل از پروتکل شروع، حیوانات به مدت یک هفته ۱۰ دقیقه در روز و با سرعت ده متر در دقیقه تمرین خود را آغاز کردند. پروتکل اصلی بعد از آشنا سازی طبق جدول (۲-۳) پیش رفت. قبل و بعد از اتمام جلسات تمرینی پنج دقیقه رت‌ها با سرعت ۱۰ متر بر ثانیه برای گرم کردن و سرد کردن استفاده می شد. هفته اول و دوم تمرینات در هشت ست با سرعت ۲۵ متر

¹⁰ Strptozotocin

¹¹ Poole

بر ثانیه معادل ۶۵ درصد توان هوازی بود که با فعالیت ۴۰ ثانیه و همچنین با مراحل ۱۲۰ ثانیه استراحت فعال با شدت ۱۰ متر بر ثانیه انجام شد.

جدول ۱. تمرینات اینتروال شدید

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
جلسه در هفته (تعداد)	۵	۵	۵	۵	۵	۵
ست (تعداد)	۸	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
سرعت نوار گردان (متر بر ثانیه)	۲۵	۲۵	۲۸	۲۸	۳۲	۳۵
شدت تمرین (ml/kg.min)	۶۵	۶۵	۷۰	۷۰	۷۵	۸۰-۸۵
شیب نوار گردان (درصد)	۵	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
استراحت بین ست ها (ثانیه)	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰
شدت تمرین در ریکاوری (متر بر ثانیه)	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰

نمونه بر داری و روش های بیوشیمیایی

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رتھا با تزریق درون صفاقی، ترکیبی از کتامین و زایلزین بی هوش شدند. برای جمع آوری نمونه ها سرموش ها از ناحیه گردن توسط قیچی مخصوص جدا شد، ابتدا با استفاده از تیغ جراحی عضله سولئوس با دقت برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و بلافاصله به میکروتیوب و برای استفاده در ادامه مراحل آنالیز بیوشیمیاییه فریز دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گرادانتقال یافت.

تجزیه و تحلیل داده ها

تمامی داده ها بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شدند. بررسی نرمال بودن توزیع متغیرها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف انجام شد و برای بررسی تاثیر تمرینات اینتروال شدید از آزمون تی مستقل در سطح معنی داری ($p \leq 0.05$) استفاده گردید. تمامی محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ انجام شد.

نتایج

مشاهده شد که توزیع داده های متغیر GLUT4 در گروه های مورد مطالعه از توزیع نرمال برخوردار بود ($p=0.429$). بین دو گروه تمرینات اینتروال شدید و گروه کنترل تفاوت معنی داری در تغییرات بیان ژن GLUT4 مشاهده شد ($p=0.001$) به طوریکه بیان GLUT4 در گروه تمرینات اینتروال شدید به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت.

بحث و نتیجه گیری

هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات تمرینات اینتروال شدید بر تغییرات بیان ژن GLUT4 رت های دبابتی بود. به همین منظور رت های مورد مطالعه در گروه تمرین اینتروال شدید تحت تاثیر تمرینات به مدت شش هفته قرار گرفتند.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیان ژن GLUT4 به طور معنی داری در عضله نعلی رت های تمرین کرده در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری یافت. این مساله می تواند نشان دهد که تمرینات اینتروال شدید توانسته است به طور موثری مکانیزم های تاثیر گذار بر بیان این ژن را وادار به پاسخ کند و نهایتا موجب افزایش بیان ژن GLUT4 شود.

افزایش بیان ژن GLUT4 می تواند حائز اهمیت باشد چرا که این پروتئین سطح غشایی در تعامل با هورمون انسولین موجب انتقال گلوکز به داخل سلولهای عضلانی و بافت چربی شده و می تواند به عنوان مکانیزمی جهت کنترل و کاهش قند خون مورد توجه قرار گیرد. هموسو با نتایج تحقیق حاضر حبیبی ملکی و همکاران (۱۴۰۲) گزارش دادند که تمرینات اینتروال شدید می تواند بر ناقل گلوکز بافت بیضه به طور اختصاصی GLUT3 تاثیر گذاشته و نهایتا بر متابولیسم لاکتات موثر باشد (حبیبی ملکی و همکاران ۱۴۰۲).

در بررسی دیگر با وجود اختلافاتی در متدولوژی تحقیق منجمه شدت تمرینات اعمالی گراوند پور و همکاران (۲۰۲۴) گزارش دادند که تمرین هوازی موجب تعدیل هایپرگلیسمی و افزایش پروتئین های AS160 و GLUT4 در عضله می گردد. بنابراین، به نظر می رسد تمرین هوازی با افزایش این پروتئین ها به جبران اختلال انتقال غشایی گلوکز خون ناشی از دیابت نوع ۲ در عضله موش ها کمک کند.

به نظر می رسد تمرینات ورزشی جدای از شدت تمرین اعمالی با تاثیر بر مکانیزم های دیگر موجب افزایش بیان ژن GLUT4 می شود. گلوکز سوخت مهمی برای انقباض عضلات است و متابولیسم طبیعی گلوکز برای سلامتی حیاتی است. گلوکز از طریق انتشار آسان از طریق ناقل گلوکز GLUT4 وارد سلول عضلانی می شود که از انبارهای ذخیره سازی درون سلولی به غشای پلاسما و لوله های T در هنگام انقباض عضلانی منتقل می شود. بر

همین اساس به سبب نیاز مبرم به گلوکز و ورود آن به داخل سلول اولین چالش سلول برای تامین گلوکز ورود آن به داخل سلول بوده و بر همین اساس به نظر می رسد سلول نسبت به محرک تمرین ورزشی پاسخ مناسب در بیان ژن این گیرنده را فراهم خواهد کرد (ریچر و همکاران^{۱۲} ۲۰۱۳).

نتیجه گیری کلی

در نهایت می توان گفت که تمرینات اینتورال شدید موجب افزایش بیان ژن GLUT4 در عضله نعلی رت های دیابتی خواهد شد.

منابع

- 1- Bielka W, Przek A, Molęda P. et al. (2024). Double diabetes—when type 1 diabetes meets type 2 diabetes: definition, pathogenesis and recognition. *Cardiovasc Diabetol* 23, 62 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12933-024-02145-x>
- 2- Carbone S, Del Buono MG, Ozemek C, Lavie CJ. (2019). Obesity, risk of diabetes and role of physical activity, exercise training and cardiorespiratory fitness. *Prog Cardiovasc Dis.* 2019 Jul-Aug;62(4):327-333. doi: 10.1016/j.pcad.2019.08.004.
- 3- Evans PL, McMillin SL, Weyrauch LA, Witczak CA. (2019). Regulation of Skeletal Muscle Glucose Transport and Glucose Metabolism by Exercise Training. *Nutrients* 12;11(10):2432. doi: 10.3390/nu11102432.
- 4- Freitas DA, Rocha-Vieira E, De Sous RAL, Soares BA, Rocha-Gomes A, Chaves Garcia BC, et al. (2019). High-intensity interval training improves cerebellar antioxidant capacity without affecting cognitive functions in rats.
- 5- Garavandpour F, Valipour Dehnou V, Eslami R. (2024). The effect of eight weeks of aerobic training on GLUT4 and AS160 protein levels and insulin resistance in the EDL muscle of type 2 diabetic rats. *Feyz Med Sci J* 2024; 28 (4) :335-343.
- 6- Habibi Maleki A, Tolouei Azar J, Razi M, & Tofighi A. (2023). The effect of high-intensity interval training (HIIT) on GLUT-3 expression and lactate levels in testicular tissue of obese rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, doi: 10.22049/jahssp.2023.29071.1597.
- 7- Kolb H, Martin S. (2017). Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Med.* 19;15(1):131. doi: 10.1186/s12916-017-0901-x. PMID: 28720102; PMCID: PMC5516328.
- 8- Navale AM, Paranjape AN.(2016). Glucose transporters: physiological and pathological roles. *Biophysical Reviews* 8(1):5-9. doi: 10.1007/s12551-015-0186-2.

¹² Richter

- 9- Richter EA, Hargreaves M. (2013). Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol Rev.* 93(3):993-1017. doi: 10.1152/physrev.00038.2012. PMID: 23899560.
- 10- Ryan BJ, Schleh MW, Ahn C, Ludzki AC, Gillen JB, Varshney P., et al.(2020). Moderate-Intensity Exercise and High-Intensity Interval Training Affect Insulin Sensitivity Similarly in Obese Adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1; 105(8):e2941–59. doi: 10.1210/clinem/dgaa345.
- 11- Vaz de Castro PAS, Bitencourt L, de Oliveira Campos JL, Fischer BL, Soares de Brito SBC, Soares BS, Drummond JB, Simões E Silva AC. (2022). Nephrogenic diabetes insipidus: a comprehensive overview. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 11;35(4):421-434. doi: 10.1515/jpem-2021-0566. PMID: 35146976.
- 12- Yaribeygi H, Sathyapalan T, Atkin SL, Sahebkar A. (2020). Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. *Oxid Med Cell Longev.* 9;2020:8609213. doi: 10.1155/2020/8609213. PMID: 32215179; PMCID: PMC7085395.