اثر تمرین مقاومتی بر بیان ژن GLUT4 در بافت عضله اسکلتی، سطوح گلوکز و مقاومت انسولین در موش های صحرایی دیابتی نوع II

عبدالعلی بنائی فر[1*]، سارا ابراهیم پور[1]، حمید طباطبائی[2]، مهرزاد عبادی قهرمانی[3]

۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲) گروه آسیب شناسی ورزشی و حرکات اصلاحی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳) گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۷

چکیده

مقدمه: یکی از مهم ترین انتقال دهنده های گلوکز، ناقل ۴ گلوکز(GLUT4) است که در بافت های حساس به انسولین از جمله بافت عضلانی، بیان می شود. هدف از این پژوهش بررسی اثر تمرین مقاومتی بر بیان ژن ناقل ۴ گلوکز(GLUT4) در بافت عضله اسکلتی و تغییرات انسولین، گلوکز و مقاومت انسولین در موش های صحرایی نر مبتلا به دیابت بود.

مواد و روش ها: بیست و هفت سر موش صحرایی نژاد ویستار به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. موش ها به مدت ۶ هفته در معرض رژیم غذائی پر چرب قرار گرفتند و سپس به طور تصادفی در سه گروه: دیابتی با تمرین مقاومتی(n=۱۰)، کنترل دیابتی(n=۱۰) و کنترل چاق(n=۷) تقسیم شدند. شیوه القای دیابت نوع ۲ به صورت تزریق یک دوز پایین استرپتوزوتوسین(STZ)(۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) انجام گرفت. برنامه تمرینی مقاومتی به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین اجرا شد. غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی با فن آوری گلوکز اکسیداز، انسولین سرم به روش الیزا و جهت بررسی بیان ژن GLUT4 از روش RT-Real time PCR استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده ها، از آزمون t مستقل و تحلیل واریانس یک راهه استفاده گردید. سطح معنی داری($\alpha \leq 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد، القای دیابت سبب کاهش بیان نسبی ژن GLUT4 در بافت عضله دوقلوی موش های کنترل دیابتی گردید(P=0.001). هم چنین میزان بیان ژن GLUT4 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش نشان داد(P=0.038). علاوه بر این نتایج نشان داد شش هفته تمرین مقاومتی سبب کاهش معنی دار گلوکز خون و مقاومت انسولین در موش های چاق دیابتی گردید(P=0.001).

بحث و نتیجه گیری: بر اساس یافته های این پژوهش، می توان اظهار کرد که بیان ژن GLUT4 در بافت عضله دوقلو موش صحرایی در وضعیت دیابتیک کاهش می یابد. هم چنین تمرینات مقاومتی توانست منجر به افزایش بیان ژن GLUT4 و بهبود سطح گلوکز و مقاومت انسولین در موش های دیابتی نوع ۲ گردد که این امر می تواند ناشی از بهبود عملکرد ناقل گلوکز در اثر تمرین مقاومتی باشد.

واژه های کلیدی: تمرین مقاومتی، موش های صحرایی نر، بیان ژن ناقل غشائی ۴ گلوکز، مقاومت انسولین

* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Email: alibanaeifar@yahoo.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

دیابت نوع ۲ از جمله بیماری های مزمن مرتبط با چاقی است که در نتیجه اختلال در تولید و عملکرد انسولین در بدن به وجود می آید(۱) روند ابتلا به دیابت به عنوان شایع ترین بیماری ناشی از اختلال متابولیسم در سال های اخیر روبه افزایش است. طبق گزارش فدراسیون جهانی دیابت(IDF) تا سال ۲۰۱۳ تعداد ۳۸۲ میلیون نفر دیابت داشته اند و پیش بینی می شود تا سال ۲۰۳۵ این میزان از ۵۹۲ میلیون نفر نیز بگذرد(۲). نقش فعالیت بدنی در کاهش وزن و چاقی و جلوگیری از گسترش دیابت نوع ۲، هم چنین بهبود حساسیت انسولین در عضله اسکلتی قابل اهمیت است، مطالعات نشان می دهند که افراد فعال حساسیت انسولین بالاتری نسبت به افراد غیر فعال دارند(۳). با این، حال شناخت ساز و کارها و عواملی که موجب بهبود حساسیت انسولین و کاهش مقاومت به انسولین می شوند می تواند ما را در کنترل چاقی و مهم تر از آن پیشگیری از دیابت نوع ۲ یاری نماید.

ناقل غشائی گلوکز ایزوفرم ۴ (GLUT-4) یک پروتئین با ۵۰۹–۵۱۰ اسید آمینه ای با وزن مولکولی تقریباً ۵۵ دالتون است که در وضعیت پایه اغلب در ترکیبات درون سلولی قرار دارد و با تحریک از طریق انسولین و یا ورزش از بخش های درون سلولی به غشاء پلاسمائی منتقل می شود(۴). به نظر می رسد در پاسخ به انسولین میزان افزایش جا به جایی GLUT4 به حدود سه برابر برسد GLUT4 از مهم ترین انتقال دهنده های گلوکز در پستانداران است که در بافت های حساس به انسولین از جمله بافت عضلانی، بافت کبد و بافت قلب بیان می شود(۳). مکانیسم اصلی انسولین در برداشت گلوکز از طریق مولکول ناقل گلوکز(GLUT) صورت می گیرد که ایزوفرم های مختلفی دارد(۳،۵). از آن جایی که مهم ترین ناقل گلوکز در عضلات و بافت چربی به عنوان اصلی ترین بافت های مصرف کننده گلوکز، GLUT4 است، عمده مطالعات بر این مولکول متمرکز شده است. مولکولی که تحت تاثیر انسولین و در پاسخ به افزایش گلوکز خون میزان بیان ژن و انتقال آن از سیتوزول به سمت غشاء پلاسمایی افزایش می یابد. گلوکز به طور آزادانه از غشاء پلاسما عبور نمی کند بلکه انتقال آن در سلول با پروتئین انتقال دهندء غشاء انجام می شود. در بیماری دیابت بدلیل عدم وجود حساسیت کافی به انسولین، عملکرد GLUT4 در غشای سلول ها کاهش پیدا می نماید و این مسئله منجر به کاهش برداشت گلوکز توسط سلول ها شده و سبب افزایش قندخون می گردد(۶) خانواده GLUT ۱۴ عضو دارد که GLUT4 مهم ترین آن ها برای انتقال گلوکز به بافت چربی و عضلانی است. GLUT4 بیشتر در بافت های حساس به انسولین مانند عضلات اسکلتی، قلبی و بافت چربی بیان می شود(۷).

از آن جائی که عضله اسکلتی مسئول بیش از ۷۵ درصد مصرف گلوکز در پاسخ به انسولین است، مهم ترین بافت در تعادل انرژی از این طریق به شمار می رود(۱). هم چنین با توجه به نقش فعالیت بر عملکرد انسولین و بیان GLUT4 در بافت عضلانی، به نظر می رسد عضله بافت مناسبی جهت مطالعه ناقل گلوکز به شمار می رود. در این میان نقش ورزش به عنوان یک عامل اثرگذار بر این ناقل جالب توجه است. بررسی ها نشان می دهند که ورزش باعث افزایش تعداد گیرنده های انسولین و هم چنین افزایش تعداد حاملین گلوگز در بافت ها(GLUT4) گردیده و از این طریق باعث تسهیل حمل گلوگز به درون سلول ها و رها شدن آن از طریق مسیرهای حساس به انسولین می گردد(۸). هر چند بیشتر مطالعات انجام شده در خصوص نقش ورزش به اثر تمرینات هوازی بر این ناقل پرداخته اند. به عنوان مثال در یک مطالعه نشان داده شد، ۶ هفته تمرین هوازی با شدت ۶۰ درصد $VO2_{MAX}$، متوسط میزان GLUT4 در عضله سرینی میانی اسب ها که توسط بیوپسی جدا شده بود، افزایش می دهد(۹)، در پژوهش مصلحی(۲۰۱۳) ۸ هفته تمرین هوازی در پسران دارای اضافه وزن، موجب افزایش معنی دار در میزان GLUT4 (۳۴ درصد)، بهبود هموستاز گلوکز و کاهش سطح انسولین گردید(۱۰). لنن و همکاران(۲۰۱۰) نیز در تحقیق خود روی موش ها نشان دادند، تمرین ورزشی می تواند منجر به افزایش GLUT4 در بافت عضله قلب و چربی شود(۱۱). گالاگر و همکاران(۲۰۱۳) در پژوهشی نشان

دادند ورزش مقاومتی حاد سبب افزایش بیان GLUT4 در تارهای عضلانی نوع ۲ در آزمودنی های سالم گردید(۱۲).

هر چند برخی پژوهش ها، عدم تغییر این ناقل را در اثر تمرین نشان دادند، به عنوان مثال در پژوهش گارلی و همکاران(۲۰۱۶) ۴ هفته دویدن در موش های چاق که با رژیم غذایی چاق شده بودند، هر چند منجر به بهبود انسولین ناشتای پلاسما گردید اما بر میزان GLUT4 mRNA عضله تاثیری نداشت(۱۳). در مطالعه ای بیان GLUT4 در بافت عضلانی و بافت چربی در بیماران دیابتی نوع ۲ که تحت یک برنامه تمرین هوازی با شدت متوسط قرار گرفتند، در مقایسه با گروه کنترل تفاوتی نداشت(۱۴) از طرفی امروزه تمرینات مقاومتی به عنوان یکی از روش های تمرینی سودمند مورد توجه می باشد، همان طور که اشاره شد مطالعات پراکنده ای در ارتباط با GLUT4 در گروه های مختلف صورت گرفته است اما کمتر مطالعه ای به نقش تمرینات مقاومتی به ویژه در گروه های دیابتی نوع ۲ بر بیان این ناقل پرداخته است. از این رو در این پژوهش سعی در بررسی نقش تمرینات مقاومتی بر تغییرات بیان ژن GLUT4 در بافت عضله دوقلو، هم چنین شاخص های گلوکز، انسولین و مقاومت انسولین سرم در موش های صحرائی نر می باشد.

مواد و روش ها

در این پژوهش تعداد ۲۷ سر رت نر ۱۰ هفته ای نژاد ویستار انستیتو پاستور ایران، در دامنه وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم جهت شرکت در مطالعه انتخاب شدند و به مدت ۶ هفته رژیم غذایی پر چرب را دریافت نمودند. جهت تهیه غذای پرچرب موش ها به غذای استاندارد که به شکل پلت می باشد ۱ درصد پودر کلسترول و ۱ درصد روغن ذرت ۱۰۰ درصد خالص اضافه گردید(۱۵). حیوانات در گروه های ۴ تایی در قفس های مخصوص نگهداری شدند. آن ها در دمای اتاق(۱/۴±۲۲ درجه سانتی گراد) و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل شدند. موش ها به طور تصادفی در سه گروه: تمرین دیابتی (n=۱۰)، کنترل دیابتی(n=۱۰) و کنترل چاق(n=۷) تقسیم شدند. تا پایان دوره تمرین، به دلیل بیماری دیابت در گروه های تمرین مقاومتی و کنترل دیابتی ۴ سراز موش ها از بین رفتند.

نحوه ایجاد دیابت نوع ۲: برای القای دیابت نوع ۲، از رژیم غذایی پرچرب برای مدت ۶ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات با PH=۴/۵ نیز به صورت داخل صفاقی با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم متعاقب ۱۲ساعت گرسنگی شبانه در محدوده ساعت ۸ تا ۹ صبح انجام گرفت. یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه گیری و قندخون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد(۱۶).

اجرای پروتکل تمرینی: در این پژوهش، رت ها پس از انتقال به آزمایشگاه حیوانات به مدت ۱ هفته با شرایط زندگی در آزمایشگاه و نحوه تمرین(بالا رفتن از نردبان) آشنا شدند. قبل از شروع برنامه تمرینی، موش ها سه تکرار را بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها به منظور گرم کردن از نردبان بالا رفتند. تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبانی ۱ متری با وزنه آویزان شده به دم حیوان بود. نحوه افزایش بار از طریق اعمال مقاومت به صورت بستن وزنه به دم موش ها معادل ۳۰ تا ۱۰۰ درصد وزن بدن موش ها در طی شش هفته دوره تمرین انجام گردید، به طوری که در هفته اول معادل ۳۰ درصد وزن بدن، هفته دوم معادل ۵۰ درصد وزن بدن، هفته سوم معادل ۷۰ درصد وزن بدن، هفته چهارم معادل ۹۰ درصد وزن بدن و هفته پنجم و ششم برای اعمال مقاومت حداکثر معادل ۱۰۰ درصد وزن بدن موش ها در نظر گرفته شد. تعداد جلسات تمرین در هفته ۵ جلسه، در ۵ نوبت با ۴ تکرار در هر نوبت انجام شد. فاصله استراحت بین تکرارها ۳۰ ثانیه و بین نوبت های تمرین ۲ دقیقه در نظر گرفته شد(۱۷).

خون گیری و آماده سازی بافت: ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی بعد از ۱۲ ساعت ناشتا حیوانات با ترکیبی از کتامین وزایلزین(۵-۳ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس قفسه سینه حیوان شکافته شده و نمونه خون به طور مستقیم از قلب

حیوان گرفته شد. در ادامه در با برشی در ناحیه تاندون آشیل ابتدا پوست جدا شده و سپس با برشی عمیق تر عضله دوقلو به طور کامل از سر تاندون آشیل جدا شد و در طرف دیگر نیز در سر ثابت با برشی از استخوان درشت نی جدا گردید. سپس بلافاصله در سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و در میکروتویوب استریل قرار گرفته و در نیتروژن مایع(دمای ۱۹۶- درجه) منجمد شده و ضمن انتقال به آزمایشگاه در دمای ۷۰- درجه تا زمان اجرای پروتکل آزمایشگاهی مورد نظر نگهداری شد.

غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی با فن آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران اندازه گیری شد. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری(Demeditec Diagnostic insulin ELIZA) ساخت کشور آلمان اندازه گیری شد. اندازه گیری مقاومت انسولین با استفاده از مقادیر انسولین و گلوکز ناشتا و قرار دادن آن در فرمول زیر، شاخص مقاومت انسولین اندازه گیری شد(۱۸).

$$\text{HOMA-R} = \frac{\text{Fasting Insulin } (\mu U/ml) \text{ X Fasting Glucose } (mmol/l)}{22.5}$$

استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN کشور لهستان انجام گرفت. تعیین mRNA توسط RT- PCR به وسیله دستگاه روتور ژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا(ژاپن) مطابق با دستور العمل شرکت استفاده گردید. آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام گرفت. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه روتوژن در Real time-PCR شامل: ۴۲° به مدت ۲۰ دقیقه، ۹۵° به مدت ۲ دقیقه و ۴۰ سیکل با ۹۴° به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰° به مدت ۴۰ ثانیه بود. پس از مرحله PCR، جهت مطالعه ویژگی پرایمرها، از دماهای ۵۰ تا ۹۹° درجه سانتی گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از RNA Polymrase II به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان GLUT4 استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ بیان شده اند. CT های مربوط به واکنش ها توسط نرم افزار دستگاه Real time-PCR استخراج و ثبت گردید(۱۹).

جدول شماره ۱. الگوی پرایمر مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
Glut4	For: GGCCATGAGCGATGAGTTTC Rev: GGCGGAGGATTGTTGAGATG	159 bp	60	NM_001191052.1
RNA Polymrase II	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	164 bp	60	XM_008759265.1

روش تجزیه و تحلیل آماری: پس از کسب اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده ها با آزمون شاپیرو-ویلک و با استفاده از آمار پارامتریک، برای مقایسه بیان نسبی ژن در گروه های مطالعه از آزمون آماری تی مستقل و مقایسه دیگر متغیرها از تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمام عملیات آماری تحقیق با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و ترسیم نمودارها در نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ انجام شد. سطح معنی داری $P\leq0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

گروه های مورد بررسی در شروع پژوهش از نظر وزن تفاوت معنی داری با هم نداشتند. چنان چه انتظار می رفت القای دیابت موجب کاهش وزن در گروه های دیابتی گردید. در پایان پروتکل تمرینی نیز گروه های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل چاق وزن پایین تری داشتند($P<0.05$)(جدول شماره ۲).

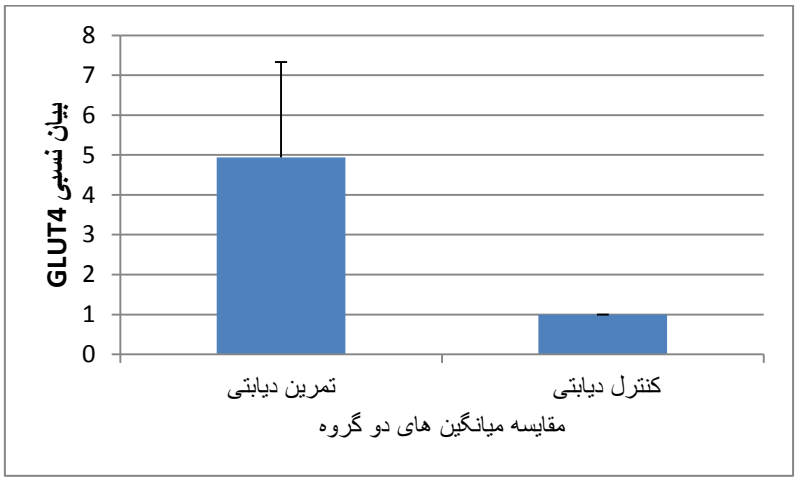
جدول شماره ۲. شاخص های آماری مربوط به وزن(گرم)

شاخص آماری مربوط به وزن در طول دوره تحقیق گروه ها	قبل از شروع دوره	بعد از شش هفته رژیم غذائی پر چرب	بعد از ۱۲ هفته همراه با رژیم پرچرب
کنترل(چاق)	۲۲۳/۱۶±۶/۰۸	۲۷۷/۳۳± ۷/۲۳	۳۸۶/۳۳± ۶/۸۶
کنترل دیابتی	۲۲۴/۰۰± ۳/۸۹	۲۸۰/۸۷± ۶/۲۹	۳۷۰/۷۵± ۱۰/۱۹
تمرین دیابتی	۲۲۴/۳۷± ۶/۰۴	۲۹۱± ۹/۲۸	۳۷۷± ۸/۲۲

یافته های حاصل از آزمون تی مستقل نشان داد، نمودار شماره ۱ نشان می دهد، بیان نسبی ژن GLUT4 در بافت عضله دوقلو، در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل چاق پائین تر بود(P=0.001). به عبارتی موش های دیابتی از بیان GLUT4 کمتری نسبت به گروه کنترل برخوردار بودند.

نمودار شماره ۱. بیان ژن نسبی GLUT4 بافت عضله دوقلو در دو گروه کنترل دیابتی و کنترل چاق

هم چنین نتایج به دست آمده در ارتباط با مقایسه بیان نسبی ژن GLUT4 در گروه کنترل دیابتی با گروه تمرین دیابتی نشان دهنده افزایش معنی دار بیان GLUT4 در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی بود(P=0.038، نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲. بیان ژن نسبی GLUT4 بافت عضله دوقلو در دو گروه کنترل دیابتی و تمرین دیابتی

یافته های حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک راهه در خصوص، مقایسه شاخص های گلایسمیک در گروه های تحقیق نشان داد، بین میانگین گلوکز، انسولین و مقاومت انسولین در گروه های تحقیق تفاوت معنی داری مشاهده شد(P=0.001، جدول شماره ۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که مقادیر گلوکز و مقاومت انسولین در گروه های دیابتی افزایش معنی داری داشته است(P=0.001)، در مورد انسولین، مقایسه بین گروه های کنترل دیابتی و تمرین دیابتی تفاوت معنی داری نشان نداد. هر چند این مقادیر بین گروه کنترل چاق با گروه های دیابتی معنی دار بود(P=0.001).

جدول شماره ۳. میانگین و انحراف معیار سطوح گلوکز، انسولین و مقاومت انسولین در گروه های تحقیق

متغیر	گروه کنترل چاق	گروه کنترل دیابتی	گروه تمرین دیابتی	سطح معنی داری بین گروه کنترل دیابتی	
				گروه کنترل چاق	گروه تمرین دیابتی
گلوکز(میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۲۰±۳/۸۹	۳۰۱±۱۳/۷	۱۹۸/۲±۳/۲	*P=0.001	† P=0.001
انسولین(میکرو واحد بر میلی لیتر)	۹/۲۳±۰/۷۶	۶/۱±۰/۲۱	۶/۵۷±۰/۱۵	*P=0.001	P=0.514
مقاومت انسولین(واحد IR)	۲/۷۴±۰/۲۲	۴/۵۳±۰/۲۵	۳/۲۲±۰/۵۱	*P=0.014	† P=0.001

*نشان دهنده معنی داری بین گروه کنترل چاق با کنترل دیابتی، † نشان دهنده معنی داری بین گروه تمرین دیابتی و کنترل دیابتی

بحث و نتیجه گیری

یافته های این تحقیق در خصوص مقایسه بیان ژن GLUT4 بین دو گروه کنترل چاق و کنترل دیابتی نشان دهنده تفاوت معنی داری بین آن ها بود. به طوری که القای دیابت در گروه کنترل دیابتی سبب کاهش بیان GLUT4 در این گروه نسبت به گروه کنترل چاق شده است. عضله اسکلتی حدود ۴۰ درصد از وزن بدن را شامل می شود و این اولین محل برداشت گلوکز توسط تحریک انسولین است(۱). همان طور که اشاره شد GLUT4 غالباً در بافت های حساس به انسولین مانند عضله اسکلتی، عضله و بافت چربی بیان می شود(۷). درتحقیق حاضر، بیان ژن GLUT4 بافت عضله دوقلو در گروه دیابتی چاق نسبت به گروه کنترل چاق پائین تر بوده است که این یافته با نتایج تحقیقات ژائوشنگ و همکاران(۲۰۰۵) و هاسی(۲۰۱۱) هم خوانی دارد(۶،۱۴). ژائو شنگ در مطالعه خود روی موش های دیابتی نشان داد که میزان بیان پروتئین GLUT4 در عضله اسکلتی موش های دیابتی نسبت به گروه کنترل تا حدود ۳۰ درصد پائین تر قرار داشت(۶). هاسی و همکاران(۲۰۱۱) در آزمودنی های انسانی گزارش کردند بیان پروتئین GLUT4 بافت چربی ۴۳ درصد در بیماران دیابتی در مقایسه با گروه کنترل پائین تر بود. نتایج به دست آمده در ارتباط با مقادیر انسولین و شاخص مقاومت به انسولین نیز نشان داد میانگین این متغیرها درگروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل چاق پائین تر است. انسولین در تنظیم بسیاری از عملکردهای بدن نقش دارد یکی از این عملکردها بیان ژن GLUT4 است. قرارگیری این پروتئین در بافت عضلانی و بافت چربی نقش حیاتی را در تنظیم گلوکز خون ایفا می کند(۲۰). گزارش شده است که در بیماران با مقاومت انسولین، این فرآیند متابولیک در بافت عضلانی و بافت چربی آسیب می بیند و این بافت ها توانائی خود را در پاسخ فیزیولوژیک به انسولین از دست می دهند(۲۱). به نظر می رسد در پژوهش حاضر، افزایش مقاومت انسولین ناشی از القای دیابت، از اثر انسولین بر عملکرد GLUT4 کاسته است، به عبارتی دیابت سبب ناکارآمدی ناقل گلوکز در این گروه گردید. هم چنین مقایسه سطح گلوکز خون در گروه های دیابتی با گروه کنترل چاق در تحقیق حاضر، بیانگر بالاتر بودن سطح گلوکز در این گروه ها است که با توجه به بالا بودن مقاومت انسولین در این گروه ها می‌تواند نشان دهنده کاهش میزان برداشت گلوکز توسط بافت باشد. نتایج به دست آمده در ارتباط با اثر تمرین مقاومتی بر بیان ژن GLUT4 نشان دهنده افزایش معنی دار بیان ژن GLUT4 در گروه تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل دیابتی می باشد. نتایج مطالعه حاضر در این رابطه با نتایج پژوهش لنن(۲۰۱۰)، هاسی(۲۰۱۰)، هو(۲۰۰۳) و چانا(۲۰۱۵) هم خوانی دارد (۱۱،۱۴،۲۲،۲۳). در پژوهش هو و همکاران (۲۰۰۳) اثر

تعاملی تمرین شنا کردن و مصرف هورمون رشد بر بیان پروتئین GLUT4 در عضله کف پائی موش های صحرایی ارزیابی گردید، هر چند پروتکل انجام شده در پژوهش هو، ۲ ساعت تمرین شنا بود اما نتایج آن نشان داد که تمرین ورزشی به طور معنی داری سطوح پروتئین GLUT4 را افزایش داده است. در این پژوهش افزایش ناقل گلوکز در گروه تمرین از افزایش مقاومت انسولین پیشگیری نموده است. لنن(۲۰۱۰) در مطالعه خود نشان داد که ۱۰ هفته تمرین با شدت ۵۰ تا ۷۰ درصد سرعت بیشینه دویدن موجب افزایش GLUT4 در بافت عضله قلب(۳۴ درصد)، و بافت چربی(۲۲ درصد) موش ها می شود. هاسی(۲۰۱۱) در مطالعه خود روی بیماران مرد دیابتی نوع ۲ اظهار می دارد، تمرین ورزشی بیان GLUT4 را در بافت چربی تا ۳۶ درصد و در عضله اسکلتی تا ۲۰ درصد افزایش داده است. وی بیان کرد، این سازگاری ها می تواند به عملکرد مطلوب سلول های بتای لوزالمعده مربوط باشد. تحقیق چانا و همکاران(۲۰۱۵) به بررسی اثرات ۸ هفته تمرین شنا در شدت های مختلف روی GLUT4 و کنترل قندخون در موش های دیابتی چاق و چاق غیر دیابتی پرداخته است. اگر چه تمرین شنا با شدت های کم(۳ درصد وزن موش ها به مدت ۴۰ دقیقه) و شدت زیاد(۶ درصد وزن موش ها به مدت ۲۰ دقیقه) برای سه نوبت در هفته، هر دو فوایدی به دنبال داشت، اما برنامه تمرینی با شدت بالا سبب افزایش معنی دار میزان GLUT4 و کاهش گلوکز خون در موش های دارای مقاومت به انسولین نسبت به گروه کنترل گردید. بر اساس این نتایج به نظر می رسد اعمال مقاومت نقش مهمی در بهبود متغیرهای تحقیق داشته است. در پژوهش حاضر افزایش معنی دار در بیان GLUT4 در عضله دوقلو می تواند ناشی از مقاومت اعمال شده در تمرین مقاومتی باشد.

بررسی ها نشان می دهد، از عوامل موثر در بیان GLUT4 و برداشت گلوکز توسط بافت عضلانی می توان به افزایش فعالیت کینازها تحت اثر تمرین مقاومتی اشاره کرد. پروتئین کیناز وابسته به AMP که توسط افزایش نسبت ATP/AMP فعال می شود یک سیگنالینگ درون سلولی کلیدی در برداشت گلوکز می باشد(۲۴). هم چنین کالمودولین کیناز وابسته به کلسیم نیز به عنوان دومین سیگنالینگ calmodulin-dependent proteinkinase /Ca^{2+}) II (CaMKII) در برداشت گلوکز محسوب می شود(۲۵). در همین زمینه در پژوهش کیدو و همکاران(۲۰۱۶) فعالیت AMPK، به عنوان یکی از عوامل موثر در برداشت گلوکز معرفی شده است(۲۶). در این پژوهش نقش ورزش حاد مقاومتی در برابر ورزش هوازی بر برداشت گلوکز عضله دوقلوی موش مورد بررسی قرار گرفت. موش ها در یک گروه فعالیت انقباض ایزومتریک بیشینه(۳ وهله ۱۰ ثانیه ای برای ۵ ست) و در گروه دیگر ۶۰ دقیقه دویدن با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه انجام دادند. نتایج نشان داد جا به جایی GLUT4، ۳ ساعت بعد از فعالیت، در ورزش مقاومتی افزایش یافته بود. در این پژوهش محقق مکانیسم موثر در افزایش GLUT4 را ناشی از افزایش فعالیت AMPK به عنوان فعال کننده ژن TBC1D1 که در برداشت گلوکز موثر است، بیان نموده است(۲۶). هر چند در تحقیق حاضر شاخص های AMPK و /Ca CaMKII اندازه گیری نگردید ولی بر اساس شواهد به نظر می رسد که تغییرات این متغیرها تحت تاثیر نوع فعالیت، یعنی تمرین مقاومتی قرار گیرند. و از عوامل موثر در بیان GLUT4 در بافت عضله اسکلتی محسوب شوند. از طرفی نتیجه پژوهش گارلی و همکاران(۲۰۱۶)، با نتیجه پژوهش حاضر همسو نبود(۱۳). آن ها نشان دادند که ۴ هفته تمرین ورزشی روی نوار گردان در موش های چاق که با رژیم غذایی چاق شده بودند، منجر به کاهش پروتئین GLUT4 عضله گردید اما بر میزان GLUT4 mRNA عضله تاثیری نداشت. پاسخ متفاوت پژوهش گارلی ممکن است ناشی از نوع آزمودنی ها که در این پژوهش موش ها فقط چاق بوده و دیابتی نشده اند و هم چنین نوع تمرین در این تحقیق باشد. نتایج به دست آمده در ارتباط با سطح انسولین نیز همان طور که اشاره شد مقادیر انسولین در گروه های دیابتی با گروه کنترل چاق تفاوت معنی دار داشت که می تواند ناشی از کاهش توانایی تولید انسولین در گروه های دیابتی در

اثر تخریب سلول های بتای پانکراس باشد. لیکن مقادیر انسولین در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی اندکی بالاتر قرار داشت هر چند این تفاوت معنی دار نبود. به عبارتی در گروه تمرین دیابتی، میزان تولید انسولین در اثر تمرین افزایش اندک ولی غیر معنی داری پیدا کرد که این امر می تواند نشان دهنده افزایش توانائی سلول های بتای پانکراس در گروه تمرین دیابتی باشد. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر در خصوص اثر تمرین مقاومتی بر دیگر شاخص های گلایسمیک نشادن داد، تمرین سبب کاهش معنی دار گلوکز و مقاومت انسولین در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی شده است. این نتایج، با نتایج تحقیق مصلحی(۲۰۱۳)، مایورانا(۲۰۰۲)، چانا(۲۰۱۵)، هم خوانی دارد (۱۰،۲۲،۲۷). هم چنین با نتایج مطالعه جمشیدی و همکاران(۲۰۱۴)، فنکی و همکاران(۲۰۰۶)، سنوت و همکاران(۲۰۰۸)، هم راستا نمی باشد(۲۸،۲۹) در پژوهش مصلحی، میزان گلوکز پس از ۸ هفته تمرین هوازی در پسران نابالغ به میزان ۹ درصد کاهش یافت. در تحقیق چانا نیز برنامه تمرینی با شدت بالا سبب کاهش نیمرخ گلایسمیک خون در مقایسه با گروه کنترل شده است(۲۲). مایورانا و همکاران(۲۰۰۲) در بررسی اثر هشت هفته تمرین دایره ای در ترکیب با تمرین هوازی و تمرین مقاومتی در آزمودنی های انسانی مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان دادند که مقاومت انسولین کاهش یافت(۲۷). از طرفی نتایج مطالعه جمشیدی(۲۰۱۴) نشان داد میزان گلوکز و مقاومت انسولین در پاسخ به سه پروتکل تمرین مقاومتی تغییر معناداری پیدا نکرد که این عدم تغییر می تواند ناشی از مدت زمان مطالعه باشد. سنوت و همکاران(۲۰۰۸) نشان دادند که تمرین منجر به تغییر معنی دار در میزان مقاومت انسولین، انسولین ناشتا، استراحتی نگردید(۳۰). از دلایل عدم هم خوانی نتایج مطالعه سنوت و همکاران با مطالعه حاضر می تواند نوع و شدت پائین تر تمرین باشد. فنکی و همکاران نیز نشان دادند ۱۲ هفته تمرین مقاومتی بر کاهش مقاومت انسولین در زنان چاق تاثیر معنی داری ندارد(۲۹). از دلایل عدم هم خوانی با تحقیق حاضر می توان به شدت تمرین و نوع آزمودنی ها اشاره کرد.

بهبود شاخص های گلایسمیک در پژوهش حاضر، می تواند ناشی از اثر تمرین مقاومتی بر افزایش توده عضلانی موش ها و بهبود متابولیسم گلوکز باشد. با توجه به نقش عضله اسکلتی در متابولیسم گلوکز، مطالعات نشان می دهد در افراد دیابتی میزان برداشت گلوکز در عضله اسکلتی حتی نسبت به افراد لاغر سالم کمتر است(۳۱). به نظر می رسد با توجه به نقش تمرینات مقاومتی در افزایش توده عضلانی، میزان برداشت گلوکز در موش های دیابتی افزایش یابد و در بهبود متابولیسم گلوکز موثر باشد. تمرین مقاومتی از طریق مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز ۳-پروتئین کیناز B-راپامایسین (PI3k-AKT-mTOR)، توده و قدرت عضلانی را به میزان زیادی در نتیجه هایپرتروفی عضلانی افزایش می دهد(۳۲). تغییر در افزایش توده بدنی می تواند سبب بهبود متابولیسم گلوکز و چربی در عضله شود(۳۳). گزارشات اخیر نشان می دهد، ۹ ماه تمرین مقاومتی علاوه بر افزایش قدرت، مصرف گلوکز را در عضله اسکلتی افراد دیابتی نوع ۲ افزایش می دهد(۳۴). افزایش ۱/۴ کیلوگرمی در توده عضلانی مشاهده شده در افراد دیابتی نوع ۲ در پژوهش اسپارک(۲۰۱۳) می تواند تائیدی بر علت اصلی این سازگاری های متابولیکی باشد، با این حال عوامل دیگری هم چون بهبود در سیگنالینگ انسولین(۳۵)، افزایش بیان GLUT4 که در پژوهش حاضر نیز مشاهده گردید، می توانند از عوامل موثر در بهبود متابولیسم سوبسترای گلوکز و کنترل قندخون ناشی از تمرین مقاومتی در نظر گرفته شوند. این نتایج نشان می دهد که تمرین مقاومتی جدای از اثر افزایش قدرت می تواند بر مصرف سوبسترا نیز موثر باشد. بر اساس یافته های این پژوهش می توان گفت، بیان ژن GLUT4 در بافت عضلانی در وضعیت دیابتیک کاهش می یابد که می تواند با کاهش برداشت گلوکز بافتی به افزایش گلوکز خون و مقاومت انسولین منجر شود. هم چنین با انجام شش هفته تمرین مقاومتی بیان GLUT4 در بافت عضله دوقلو موش صحرایی

در وضعیت دیابتیک افـــزایش می یـــابد که می تواند باعث افزایش برداشـــت گـــلوکز بافتی گردد و در کاهش مقاومت انـــسولین، هم چنـــین بهبود سطح گلوکز خـــون نقـــش مـــوثری داشته باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان بدین وسیله از هـــمکاری پرســـنل نگهداری آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تهران و هم چنین کارکنان انستیتو پاستور که در اجرای این مطالعه همیاری نموده اند تشکر و قدردانی می نمایند.

Reference

1. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. Diabetes Care2009;32: 157-63. doi.org/10.2337/dc09-S302
2. Guariguata L, Whiting D, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw J. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Diabetes Res Clin Pract 2014;103:137-49. doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002
3. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. Endocrinol Metab Clin North Am2004;33:351-75. doi.org/10.1016/j.ecl.2004.03.005
4. Esteghamati AR HM, Halabchi F. Exercise prescription in patients with type 2 diabetes. Iran Diabetes Lipid2008;7:251-65.
5. Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the US. Diabetes Care 2005;28:2745-9. doi.org/10.2337/diacare.28.11.2745
6. Zhaosheng T, Li Y, Chengying G, Yun L, Lian Z. Effect of exercise on the expression of adiponectin mRNA and GLUT4 mRNA in type 2 diabetic Rats. J Huazhong Med Sci Uni Technolog 2005;25:191-3. doi.org/10.1007/BF02873574
7. Augustin R. The protein family of glucose transport facilitators: It's not only about glucose after all. IUBMB life. 2010;62:315-33. doi.org/10.1002/iub.315
8. Stuart CA, Howell ME, Baker JD, Dykes RJ, Duffourc MM, Ramsey MW, et al. Cycle training increased GLUT4 and activation of mTOR in fast twitch muscle fibers. Med Sci Sports Exe 2010;42:96. doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181ad7f36
9. Mccutcheon L, Geor R, Hinchcliff K. Changes in skeletal muscle GLUT4 content and muscle membrane glucose transport following 6 weeks of exercise training. EVJ 2002;34:199-204. doi.org/10.1111/j.2042-3306.2002.tb05418.x
10. Moslehi F, Farzanegi P, Mousavi SJ. [The effect of aerobic training along with milk supplement on glut4, glucose and insulin in overweight immature boys]. Sport Biosci2013;2:41-6. (Persian)
11. Lehnen AM, Leguisamo NM, Pinto GH, Markoski MM, Angelis K, Machado UF, et al. The beneficial effects of exercise in rodents are preserved after detraining a phenomenon unrelated to GLUT4 expression. Cardiovasc Diabetol2010;9:67. doi.org/10.1186/1475-2840-9-67
12. Gallagher PM, Touchberry CD, Teson K, Mccabe E, Tehel M, Wacker MJ. Effects of an acute bout of resistance exercise on fiber type specific GLUT4 and IGF-1R expression. Appl Physiol Nutr Metab2013;38:581-6. doi.org/10.1139/apnm-2012-0301
13. Gurley JM, Griesel BA, Olson AL. Increased skeletal muscle GLUT4 expression in obese Mice after voluntary wheel running exercise is posttranscriptional. Diabetes 2016;65:2911-9. doi.org/10.2337/db16-0305
14. Hussey S, Mcgee S, Garnham A, Wentworth J, Jeukendrup A, Hargreaves M. Exercise training increases adipose tissue GLUT4 expression in patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab 2011;13:959-62. doi.org/10.1111/j.1463-1326.2011.01426.x
15. Mohitiardekani J, Akbarian Z, Nazarian A. Effects of Cumin cyminum l oil on serum glucose and lipid levels of Rats. SSUJ2011;19:388-97.
16. Eizadi M, Ravasi AA, Soory R, Baesi K, Choobineh S. The effect of three months of resistance training on TCF7L2

expression in pancreas tissues of type 2 diabetic Rats. AJMB 2016;4:123-8.
17. Talebigarakani E. [The effect of resistance training intensity on serum ApoA-I concentration in streptozotocin-induced diabetic Rats]. IJEM. 2013;15:183-9. (Persian)
18. Mcauley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewisbarned NJ, Temple LA, et al. Diagnosing insulin resistance in the general population. Diabetes Care2001;24:460-4.
doi.org/10.2337/diacare.24.3.460
19. Coughlin CC, Finck BN, Eagon JC, Halpin VJ, Magkos F, Mohammed BS, et al. Effect of marked weight loss on adiponectin gene expression and plasma concentrations. Obesity 2007;15:640-5. doi.org/10.1038/oby.2007.556
20. Wood IS, Trayhurn P. GLUT and SGLT expanded families of sugar transport proteins. Br J Nutr2003;89:3-9. doi.org/10.1079/BJN2002763
21. Bjornholm MZJ. Insulin signal transduction in human skeletal muscle identifying the defects in Type II diabetes. Biochem Soc Trans 2005;33354-7. doi.org/10.1042/BST0330354
22. Cunha VN, Paulalima M, Mottasantos D, Pesquero JL, Andrade RV, Almeida JA, et al. Role of exercise intensity on GLUT4 content aerobic fitness and fasting plasma glucose in type 2 diabetic Mice. Cell Biochem Funct 2015;33:435-42. doi.org/10.1002/cbf.3128
23. Hou CW, Chou SW, Ho HY, Lee WC, Lin CH, Kuo CH. Interactive effect of exercise training and growth hormone administration on glucose tolerance and muscle GLUT4 protein expression in rats. IJBS2003;10:689-96.
doi.org/10.1007/BF02256320
24. Oneill HM. AMPK and exercise glucose uptake and insulin sensitivity. Diabetes Metab J2013;37:1-21. doi.org/10.4093/dmj.2013.37.1.1
25. Moralesalamo D, Poncegonzalez JG, Guadalupegrau A, Rodriguezgarcia L, Santana A, Cusso R, et al. Critical role for free radicals on sprint exercise-induced CaMKII and AMPKα phosphorylation in human skeletal muscle. J Appl Physiol 2013;114:566-77.
doi.org/10.1152/japplphysiol.01246.2012
26. Kido K, Ato S, Yokokawa T, Makanae Y, Sato K, Fujita S. Acute resistance exercise-induced IGF1 expression and subsequent GLUT4 translocation. Physiol Rep2016;4:12907. doi.org/10.14814/phy2.12907
27. Maiorana A, Odriscoll G, Goodman C, Taylor R, Green D. Combined aerobic and resistance exercise improves glycemic control and fitness in type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract2002;56:115-23.
doi.org/10.1016/S0168-8227(01)00368-0
28. Jamshidikhezerlou Z, Ahmadizad S, Hedayati M, Rahmani H. Responses of visfatin and insulin resistance index to different resistance exercise protocols. Iranian J Diabetes Metab2014;13:297-307.
29. Fenkci S, Sarsan A, Rota S, Ardic F. Effects of resistance or aerobic exercises on metabolic parameters in obese women who are not on a diet. Adv Ther2006;23:404-13.
doi.org/10.1007/BF02850161
30. Sennott J, Morrissey J, Standley PR, Broderick TL. Treadmill exercise training fails to reverse defects in glucose, insulin and muscle GLUT4 content in the db/db mouse model of diabetes. Pathophysiology 2008;15:173-9. doi.org/10.1016/j.pathophys.2008.06.001
31. Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on glucose homeostasis in type 2 diabetes mellitus. Med Sci Sports Exe2001;33: 495-501.
32. Romeroarenas S, Martinezpascual M, Alcaraz PE. Impact of resistance circuit training on neuromuscular, cardiorespiratory and body composition adaptations in the elderly. Aging Dis 2013;4:256.
doi.org/10.14336/AD.2013.0400256
33. Church TS, Blair SN, Cocreham S, Johannsen N, Johnson W, Kramer K, et al. Effects of aerobic and resistance training on hemoglobin A1c levels in patients with type 2 diabetes a randomized controlled trial. JAMA2010;304:2253-62.
doi.org/10.1001/jama.2010.1710
34. Sparks LM, Johannsen NM, Church TS, Earnest CP, Moonenkornips E, Moro C, et al. Nine months of combined training improves ex vivo skeletal muscle metabolism in individuals with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab

uptake GLUT4 content and insulin signaling in skeletal muscle in patients with type 2 diabetes. Diabetes2004;53:294-305. doi.org/10.2337/diabetes.53.2.294

2013;98:1694-702. doi.org/10.1210/jc.2012-3874

35. Holten MK, Zacho M, Gaster M, Juel C, Wojtaszewski JF, Dela F. Strength training increases insulin mediated glucose

The Effect of Resistance Training on Muscle GLUT4 Gene expression Blood glucose and Insulin Resistance in type 2 Diabetic Rats

Banaeifar A[1], Ebrahimpour S[1], Tabatabaei H[2], Ebadi Ghahremani M[3]*

(Received: September 17, 2017 Accepted: January 7, 2018)

Abstract

Introduction: One of the most important glucose transporters is glucose transporter 4 (GLUT4), which can be expressed in insulin-sensitive tissues such as skeletal muscles. The purpose of this study was to investigate the effects of resistance training on GLUT4 gene expression and glycemic index in rats with type 2 diabetes.

Materials & Methods: Twenty-seven Wistar rats were selected; the rats were fed a high-fat diet for 6 weeks and then randomly divided into three groups: diabetic with resistance training (n=10), diabetic control (n=10), and obesity control (n=7).
Type 2 diabetes was induced by injection of a low dose of Streptozotocin (STZ) (30 mg/kg).
The resistance training program was performed for 6 weeks, five days per week. The glucose concentration was measured by glucose oxidase enzyme technology, serum insulin by the ELISA method, and real-time PCR was used to test the GLUT4 gene expression. For data analysis, independent t-test and one-way analysis of variance were used (α=0/ 05).

Findings: The results indicated that induction of diabetes reduced the GLUT4 gene expression in the gastrocnemius muscle tissue of diabetic rats (P=0.001). Also, GLUT4 gene expression increased in the diabetic training group compared with the diabetic control group (P=0.038). In addition, blood glucose and insulin resistance decreased significantly.
The content of GLUT4 gene expression was increased in the training group compared with the diabetic control group (p=0.001).

Discussion & Conclusions: Based on the findings of this study, it can be stated that the GLUT4 gene expression in rat gastrocnemius muscle tissue is reduced in diabetic rats. Also, resistance training could increase the GLUT4 gene expression and improve glucose transport and insulin resistance in type 2 diabetic rats. This could be due to improvement in the performance of glucose transporters by resistance training.

Keywords: Resistance training, Insulin resistance, GLUT4 gene expression, Rats

1. Dept of Sport Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2.Dept of Sport Injuries and Corrective Exercises, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3.Dept of physical education and sport science, Varamin-Pishva branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
**Corresponding author, Email: alibanaeifar@yahoo.com*