مجله دیابت و متابولیسم ایران. بهمن و اسفند ۱۴۰۲؛ دوره ۲۳ (شماره ۶) ۳۷۷-۳۶۸

مقاله پژوهشی

اثر تمرین‌های تناوبی بر بیان PEPCK در سلول‌های کبدی، گلوکز و انسولین در رت‌های چاق دیابتی نوع دو

فاطمه نیک سرشت*[۱]

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت ورزش در پیشگیری و درمان بیماری‌های مرتبط با چاقی، مطالعهٔ تجربی حاضر با هدف تعیین اثر ٦ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان PEPCK در بافت کبد همچنین گلوکز و انسولین در رت‌های چاق دیابتی نوع دو و مقایسه با گروه چاق غیر دیابتی انجام گرفت.

روش‌ها: ۲۸ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای (۲۰ ± ۲۲۰ گرم) به‌واسطهٔ ٦ هفته رژیم غذایی پُرچرب چاق شدند. سپس ١٤ رت توسط تزریق درون صفاقی ۳۰ mg/Kg STZ دیابتی نوع دو شدند. رت‌های مورد مطالعه در ٤ گروه: ۱) چاق (۷ =n)، کنترل، ۲) چاق تناوبی، ۳) دیابتی کنترل، ٤) دیابتی تناوبی تقسیم شدند. گروه‌های تناوبی برای مدت ٦ هفته در تمرین‌های تناوبی به تعداد ۵ جلسه در هفته در قالب ۱۰ تکرار دویدن ٤۰ ثانیه‌ای روی تریدمیل با فواصل استراحتی ۲ دقیقه‌ای بین تکرارها شرکت نمودند. در نهایت ٤۸ ساعت پس از آخرین جلسه، سطوح ناشتایی گلوکز، انسولین، بیان PEPCK در بافت کبد اندازه‌گیری و توسط آنوای دو سویه مقایسه شدند.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه‌های کنترل، تمرین‌های تناوبی در رت‌های دیابتی و غیر دیابتی به کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا منجر شد (P= ۰/۰۰۱). تمرین‌های تناوبی همچنین به افزایش انسولین سرم نسبت به گروه کنترل دیابتی (P= ۰/۰۰٦) وکاهش در بیان PEPCK نسبت به گروه کنترل دیابتی منجر شد (P= ۰/۰۰۵).

نتیجه‌گیری: بهبود گلوکز در پاسخ به تمرین‌های تناوبی در رت‌های دیابتی نوع دو احتمالاً ریشه در افزایش انسولین و افزایش در بیان PEPCK کبدی دارد. اندازه‌گیری فعالیت یا بیان دیگر آنزیم‌های کبدی جهت نتیجه‌گیری کلی پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی، دیابت نوع دو، مقاومت انسولین، بیان ژن‌های گلوکونئوژنیک

۱- گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

* ***نشانی:*** خوزستان، اهواز، پادادشهر خیابان لادن بین خیابان ١٤ و ١٥، پردیس حضرت فاطمه الزهرا (س)، کُد پستی: ٦١٨٣٩٥٥٧٣٥، تلفن: ٠٦١٣٥٥٣٤٣٠٠، نمابر: ٠٦١٣٥٥٤٠٥٨٠، پست الکترونیک: fateme_nikseresht@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۵ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۴۰۲/۱۱/۱۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۱۱/۲۵

مقدمه

امروزه چاقی به‌عنوان یکی از مشکلات عمده سلامت و بیماری‌های قلبی- عروقی در سرتاسر دنیا به‌شمار می‌رود. از پیامدهای عمدهٔ چاقی و بیماری‌های قلبی- عروقی، شیوع دیابت نوع دو است [۱]. گلوکونئوژنز فرآیندی است که گلوکز از پیش‌سازهای غیرقندی نظیر چربی یا اسیدهای آمینه سنتز می‌شود و این فرآیند در حضور دیابت نوع دو تسریع می‌شود و پیامد آن افزایش رهایی گلوکز کبدی به جریان خون است [۲]. مسیرهای سیگنالینگ انسولین نقش مهمی را در کنترل بیان آنزیم‌های گلوکونئوژنیک به‌ویژه PEPCK بازی می‌کند [۳].

تصور می‌شود ایجاد راهکارهای مناسب با هدف تغییر در فعالیت، سطوح پروتئین یا بیان آنزیم‌ها با هدف بهبود رهایی گلوکز کبدی همواره در کانون توجه محققان علوم سلامت و تندرستی قرار دارد. در این راستا Moura و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای تنظیم رفتارهای ناشی از تمرین بر عوامل کلیدی در انتخاب سوبسترا و گلوکونوژنز در کبد موش را مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد که تودهٔ چربی در موش‌های مسن افزایش یافته است. در بافت کبد موش‌های صحرایی، میزان سیگنال‌دهی انسولین کاهش یافته و سطح PEPCK در مقایسه با موش‌های جوان افزایش یافت. ۱۶ ساعت بعد از ورزش حاد، سطح پروتئین PEPCK و در گروه مسن کاهش یافت [٤]. از طرفی، اشاره شده است که برخی سازگاری‌های بهینه فیزیولوژیکی ناشی از تمرین‌های استقامتی طولانی مدت، در پاسخ به تمرین‌های HIIT[1] (تمرین‌های متناوب شدت بالا) با حجم و دورهٔ تمرینی کمتر به مراتب سریع‌تر حاصل می‌شود [۵] به‌طوریکه در مطالعه‌ای، بهبود قابل ملاحظه‌ای در هر دو عملکرد سلول‌های بتا و مقاومت انسولین در پاسخ به ۸ هفته تمرین‌های HIIT مشاهده شد [٦].

مرور شواهد پژوهشی، از عدم مطالعات کافی در خصوص پاسخ PEPCK در بافت کبد به متدهای تمرینی طولانی مدت حکایت دارد. از طرفی، این مطالعات نیز اغلب روی جمعیت‌های غیر دیابتی گزارش شده‌اند. همچنین جای مطالعاتی که اهداف مذکور را در پاسخ به تمرین‌های تناوبی شدید در دیابتی‌های نوع دو دنبال نماید خالی به‌نظر می‌رسد. از این‌رو، اجرای مطالعهٔ حاضر با هدف تعیین اثر یک دوره تمرین‌های تناوبی بر بیان PEPCK به‌عنوان یکی ژن‌های مؤثر بر گلوکونئوژنز کبدی همچنین سطوح گلوکز خون و انسولین در رت‌های دیابتی نوع دو است.

روش‌ها

جامعهٔ آماری مطالعهٔ حاضر (کُد اخلاق: LU.ECRA.2021/4) را رت‌های نر ویستار انستیتو پاستور تهران تشکیل می‌دهند. نمونهٔ آماری عبارتند از ۲۸ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای در دامنهٔ وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم که از جامعهٔ آماری انتخاب شده و در ادامه پس از القای چاقی و دیابت نوع دو به گروه‌های ۷ تایی: ۱) چاق سالم، ۲) چاق تناوبی، ۳) دیابتی کنترل، ٤) دیابتی تناوبی تقسیم شدند.

کلیهٔ رت‌های مورد مطالعه در شرایط کنترل شدهٔ نور (چرخهٔ روشنایی – تاریکی ۱۲:۱۲) با دمای (۳±۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبتی در دامنهٔ ۳۰ تا ۵۰ نگه‌داری شدند. تعداد سه رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ٤۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگه‌داری شد که آزادانه به آب و غذای پُرچرب دسترسی داشته باشند. در سرتاسر دوره تحقیق، رت‌ها توسط یک نفر جابجا می‌گردید.

القای چاقی و دیابت نوع دو: برای القای چاقی در همهٔ رت‌ها از ٦ هفته رژیم غذایی پُرچرب استفاده شد. جهت تهیهٔ غذای پُرچرب به غذای استاندارد موش‌های صحرایی که از شرکت خوراک پارس‌دام خریداری گردید ۱٪ پودر کلسترول و ۱٪ روغن ذرت ۱۰۰٪ خالص اضافه شد [۷]. در ادامه جهت القای دیابت نوع دو در گروه‌های دیابتی، ۱٤ سر رت چاق شده تحت تزریق درون صفاقی STZ قرار گرفتند به‌طوری‌که از تزریق محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات با PH= ٤/۵ به‌صورت داخل صفاقی با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام استفاده شد. نهایتاً یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا به روش آنزیماتیک اندازه‌گیری و قند خون بین ۱۵۰ تا ٤۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت نوع دو برای گروه‌های دیابتی در نظر گرفته شد [۸].

پروتکل تمرینی

قبلاً اشاره شد که پس از القای چاقی به همهٔ رت‌ها، ۱٤ سر رت به‌واسطهٔ تزریق درون صفاقی STZ دیابتی نوع دو شدند. به‌طوریکه رت‌های مورد مطالعه به گروه‌های چاق کنترل (n= ۷) و تناوبی (n= ۷) و دیابتی کنترل (n= ۷) و تناوبی (n= ۷) تقسیم

[1] high intensity interval training (HIIT)

شدند. در ادامه رت‌های چاق و دیابتی تناوبی برای مدت ٦ هفته تمرین تناوبی شدید را تجربه نمودند و رت‌های گروه‌های چاق و دیابتی کنترل در دورهٔ تمرینی شرکت نداشتند. رژیم غذایی پُرچرب برای همهٔ گروه‌ها تا انتهای پروتکل تمرینی همچنان ادامه داشت. نهایتاً ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌های مورد مطالعه در هر ٤ گروه بعد از یک گرسنگی شبانه تشریح شدند.

گروه‌های تناوبی از ابتدای هفته هجدهم برای مدت ٦ هفته در یک برنامه تمرین‌های تناوبی شدید به تعداد ۵ جلسه در هفته شرکت نمودند. هر جلسه تمرین تناوبی عبارت از ۱۰ تکرار دویدن ٤٠ ثانیه‌ای روی تریدمیل با فواصل استراحتی ۲ دقیقه‌ای (استراحت فعال) بین تکرارهاست. لازم به ذکر است که در ابتدای هر جلسه تمرینی، رت‌ها جهت گرم کردن به‌مدت ۳ دقیقه با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه روی تریدمیل پیاده‌روی می‌کنند [۹].

جدول ۱- الگوی اجرای تمرین‌های تناوبی به تفکیک هفته و سرعت دویدن در مرحلهٔ تمرین و استراحت فعال در گروه ورزش

هفته	مرحلهٔ ورزش سرعت دویدن (متر دقیقه)	مرحلهٔ استراحت سرعت دویدن (متر دقیقه)	شیب تردمیل
اول	۲۵	۱۰	۵
دوم	۲۵	۱۰	۱۰
سوم	۲۸	۱۰	۱۰
چهارم	۳۲	۱۰	۱۰
پنجم	۳۵	۱۰	۱۰
ششم	۳۵	۱۰	۱۰

زمان دویدن در مرحلهٔ ورزش ٤٠ ثانیه و در مرحلهٔ استراحت فعال ۲ دقیقه است.

خون‌گیری و نمونه‌گیری بافتی

٤٨ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، رت‌های مورد مطالعه در هر گروه به‌واسطهٔ تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و نمونهٔ خون به‌طور مستقیم از قبل حیوان گرفته شد. در ادامه بافت کبد رت‌ها نمونه برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlater با نسبت ۲۰ درصد جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک غوطه‌ور گردید. غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی با فن‌آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون گلوکز به‌ترتیب ۱/۷٤ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری (Demeditec Diagnostic insulin ELIZA) ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون انسولین به‌ترتیب ۲/٦ و ۲/۸۸ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۱/۷٦ بود. استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN انجام گرفت. تعیین G6Pase mRNA توسط RT-Real time PCR به‌وسیله سیستم روتورژن ٦۰۰۰ با استفاده از کیت تک‌مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا مطابق با دستور العمل شرکت استفاده گردید. از RNA Polymrasell به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول ۲ بیان شده‌اند.

جدول ۲- الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
PEPCK	**Fo**: TGCCCCAGGAAGTGAGGAAG **Rev**: CAGTGAGAGCCAGCCAACAG	164 bp	60	XM_008759265.1
RNA PolymraseII	**Fo**: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC **Rev**: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	164 bp	60	XM_008759265.1

آنالیز آماری

از آزمون شاپرو- ویلک جهت اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها استفاده شد. برای توصیف داده‌ها و رسم نمودارها از آمار توصیفی و برای مقایسهٔ گروه‌ها در متغیرهای مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی توکی جهت مقایسه گروه‌ها در هر متغیر استفاده شد. سطح معنی‌دار نیز ۵٪ >α در نظر گرفته خواهد شد. کلیهٔ بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS/Win نسخهٔ ۲۲ انجام گرفت.

یافته‌ها

تغییرات وزن بدن در گروه‌های مورد مطالعه در شرایط قبل و پس از مداخلهٔ ورزشی در جدول ۳ خلاصه شده‌اند. بر پایهٔ یافته‌های حاصل از آزمون آماری، تفاوت معنی‌داری در سطوح وزن بدن بین گروه‌های مورد مطالعه در شرایط قبل از مطالعه مشاهده نشد. با این وجود، در پایان مطالعه تفاوت معنی‌داری در وزن بدن بین گروه‌ها مشاهده شد.

بیان نسبی PEPCK همچنین سطوح انسولین سرم و گلوکز ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ٤ خلاصه شده است.

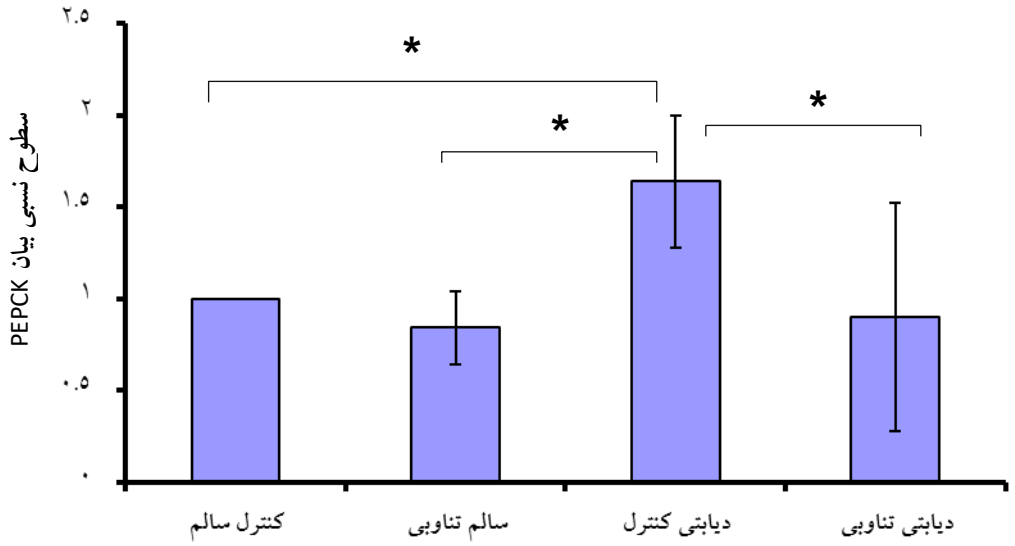
جدول ۳- وزن بدن (گرم) در شرایط قبل و پس از مداخله‌های تمرینی در گروه‌های مورد مطالعه (انحراف استاندارد + میانگین)

گروه	قبل از مداخله	پس از مداخله	سطح معنی‌داری (آزمون تی همبسته)
چاق کنترل سالم	۳۱۹ ± ۹	٤۱۹ ± ۸	۰/۰۰۱
چاق سالم تناوبی	۳۱۸ ± ۹	۳٦۹ ± ۸	۰/۰۰۱
چاق دیابتی کنترل	۳۱٦ ± ۸	۳۹۲ ± ۱۱	۰/۰۰۱
چاق دیابتی تناوبی	۳۱٤ ± ۷	۳۱۲ ± ۱۲	۰/۸۱٤
سطح معنی‌داری (آنوای یکسویه)	۰/۵۹۵	۰/۰۰۱	----

جدول ۴- بیان PEPCK در بافت کبد، سطوح گلوکز و انسولین در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	بیان PEPCK	گلوکز (mg/dL)	انسولین (µIU/ml)
چاق کنترل	۱	۱۱۸ ± ۵	۸/۰٤ ± ۰/۲٦
چاق تناوبی	۰/۸٤ ± ۰/۲	۱۰۷ ± ۵	۷/۳۰ ± ۰/۳۰
چاق دیابتی کنترل	۱/٦٤ ± ۰/۳٦	۳۰۸ ± ۱۷	۵/۹۱ ± ۰/۳۵
چاق دیابتی تناوبی	۰/۹۰ ± ۰/٦۲	۱۹۱ ± ۱۹	٦/۵۸ ± ۱/۲۳

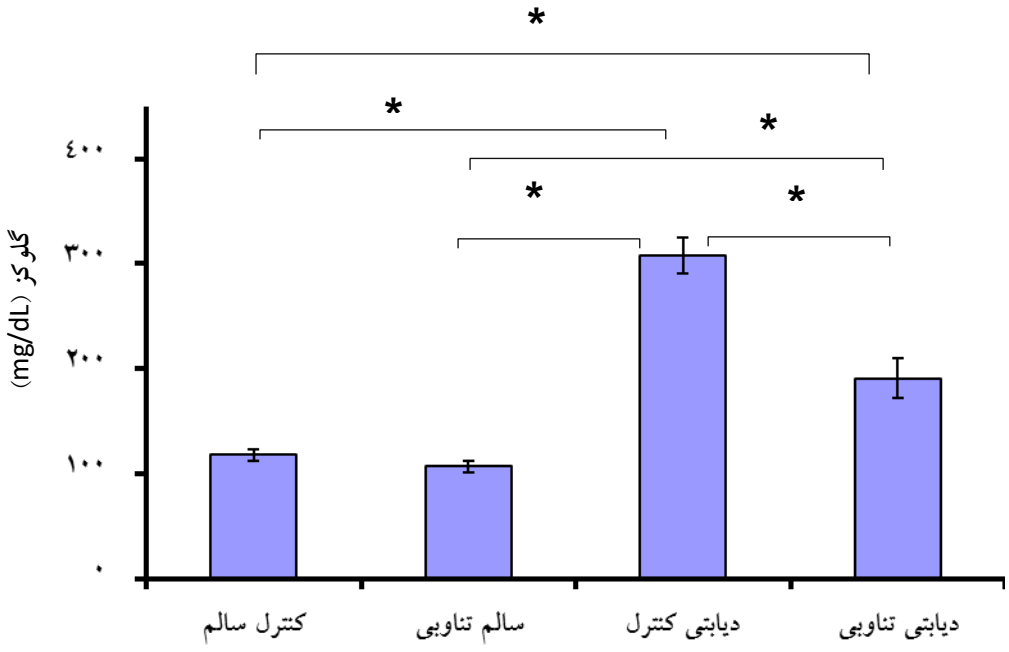
با توجه به جدول ٤، نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که اثرات اصلی دیابت (P= ۰/۰۲۱) و تمرین تناوبی (P= ۰/۰۰٤) بر بیان PEPCK معنی‌دار بوده، همچنین اثر تعامل دیابت و تمرین تناوبی نیز بر بیان PEPCK معنی‌دار است (P= ۰/۰٤۹). لذا بر پایه یافته‌های آزمون تعقیبی توکی، القای دیابت نوع دو به افزایش معنی‌دار بیان PEPCK در سلول‌های کبدی نسبت به گروه کنترل سالم منجر شد و اجرای تمرین تناوبی توسط گروه دیابتی تناوبی به کاهش بیان آن نسبت به گروه دیابتی کنترل منجر شد. به گونه‌ای که بیان PEPCK در گروه دیابتی تناوبی به گروه کنترل سالم نزدیک و اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تناوبی و کنترل سالم مشاهده نشد.



نمودار ۱- الگوی تغییرات بیان PEPCK در بافت کبد گروه‌های مورد مطالعه

القای دیابت نوع دو به افزایش بیان PEPCK در بافت کبد رت‌های چاق منجر شد. تمرین‌های تناوبی در گروه دیابتی تناوبی منجر به کاهش معنی‌دار PEPCK نسبت به گروه دیابتی کنترل شد.

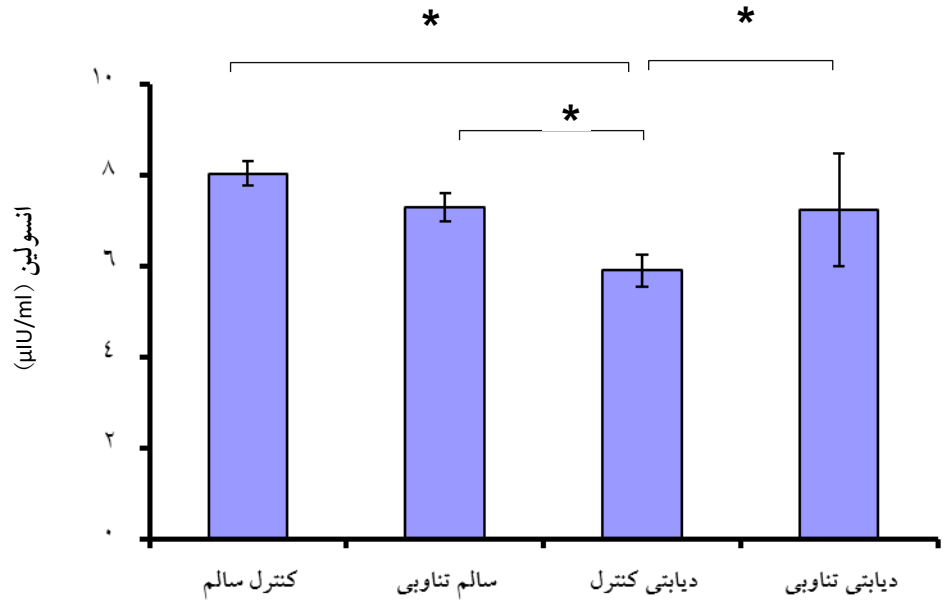
همچنین اثرات اصلی دیابت (P= ۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی (P= ۰/۰۰۱) بر گلوکز ناشتا معنی‌دار بوده، همچنین اثر تعامل دیابت و تمرین تناوبی نیز بر گلوکز ناشتا معنی‌دار است (P= ۰/۰۰۱). لذا یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی توکی آشکار نمود که القای دیابت نوع دو به افزایش گلوکز ناشتا نسبت به گروه سالم منجر می‌شود (P= ۰/۰۰۱). از طرفی، علی‌رغم اینکه اجرای تمرین‌های تناوبی توسط گروه چاق تناوبی به تغییر معنی‌داری در گلوکز ناشتا نسبت به گروه چاق کنترل منجر نشد (P= ۰/۳۶۸). اما اجرای تمرین‌های تناوبی به کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا در گروه دیابتی تناوبی نسبت به دیابتی کنترل مشاهده شد (P= ۰/۰۰۱). با این وجود، سطوح گلوکز در گروه دیابتی تناوبی همچنان به میزان معنی‌داری بالاتر از چاق کنترل است (P= ۰/۰۰۱) (نمودار ۲).



نمودار ۲- الگوی تغییرات گلوکز ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه

القاء دیابت نوع دو به افزایش معنی‌دار گلوکز ناشتا منجر شد. تمرین‌های تناوبی در گروه چاق تناوبی به تغییری در گلوکز نسبت به گروه چاق کنترل منجر نشد اما سطوح گلوکز در گروه دیالتی تناوبی به میزان معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی کنترل کاهش یافت.

اثر اصلی دیابت (P= ۰/۰۰۱) بر انسولین سرم معنی دار بوده اما اثر تمرین تناوبی غیرمعنی دار (P= ۰/۲۵۹) بود، همچنین اثر تعامل دیابت و تمرین تناوبی نیز بر انسولین سرم معنی‌دار است (P= ۰/۰۰۱). لذا یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی توکی آشکار نمود که القاء دیابت نوع دو به کاهش انسولین سرم نسبت به گروه چاق سالم منجر می‌شود (P= ۰/۰۰۱). از طرفی، علی‌رغم اینکه اجرای تمرین‌های تناوبی توسط گروه چاق تناوبی به تغییر معنی‌داری در انسولین نسبت به گروه چاق کنترل منجر نشد (P= ۰/۱۹۰). اما اجرای تمرین‌های تناوبی به افزایش معنی‌دار انسولین در گروه دیابتی تناوبی نسبت به دیابتی کنترل مشاهده شد (P= ۰/۰۰۶). به گونه‌ای که سطح انسولین در گروه دیابتی تناوبی به گروه چاق کنترل نزدیک و اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی تناوبی و چاق کنترل مشاهده نشد (P= ۰/۱۴۳) (نمودار ۳).



نمودار ۳- الگوی تغییرات انسولین سرم در گروه‌های مورد مطالعه

القاء دیابت نوع دو به کاهش معنی‌دار انسولین منجر شد. تمرین‌های تناوبی به افزایش انسولین سرم در گروه دیابتی منجر شد اما سطوح انسولین را در گروه چاق دیابتی نسبت به چاق کنترل تغییر نداد.

بحث

کاهش گلوکز ناشتا و افزایش قابل توجه انسولین سرم به همراه کاهش PEPCK. از یافته‌های اصلی مطالعهٔ حاضر بود. به‌عبارتی، همزمان با کاهش PEPCK در هپاتوسیت‌های کبدی، ٦ هفته تمرین تناوبی شدید به کاهش گلوکز و افزایش انسولین سرم در رت‌های چاق دیابتی نوع دو نسبت به گروهی از رت‌های دیابتی که در تمرین شرکت نداشتند منجر شد. از طرفی، تنها تغییر معنی‌دار در گروه چاق تناوبی نسبت به چاق کنترل، کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا بود. در این خصوص اگرچه برخی مطالعات همسو با یافته‌های ما وجود دارند اما برخی یافته‌ها متناقض نیز قابل مشاهده‌اند. به‌طوریکه Soori همکاران (۲۰۱۷) کاهش معنی‌دار گلوکز را متعاقب ۱۲ هفته تمرین مقاومتی در رت‌های دیابتی نوع دو گزارش نموده‌اند [۱۰]. در مطالعهٔ جورج و همکاران (۲۰۱۱) همچنین کاهش معنی‌دار گلوکز همراه با بهبود ریسک فاکتورهای قلبی-عروقی و فشارخون متعاقب ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، هوازی و ترکیبی

گزارش شد [۱۱]. در مطالعهٔ Wei و همکاران (۲۰۱۳) نیز ۱۰ هفته تمرین شنا توسط رت‌های دارای رژیم غذایی پُرچرب به بهبود متابولیسم گلوکز و چربی همراه با کاهش مقاومت انسولین منجر شد [۱۲].

با این وجود، در مطالعه Maltais و همکاران (۲۰۱٦) ٤ ماه تمرین مقاومتی به تغییری در سطوح گلوکز در مردان سالمند دارای اضافه وزن منجر نشد [۱۳]. در مطالعهٔ دیگری نیز عدم تغییر هموگلوبین گلیکوزیله متعاقب ۲۰ هفته تمرین ورزشی گزارش شد [۱٤].

علی‌رغم برخی یافته‌های متناقض که اشاره شد از آنجا که افزایش گلوکز خون یا هایپرگلیسیمی در دیابتی‌های نوع دو ریشه در عوامل مختلف نظیر ترشح انسولین، جذب غشایی گلوکز در بافت هدف یا رهایی گلوکز کبدی دارد کاهش گلوکز در پاسخ به محرک‌های مختلف نظیر مصرف دارو، رژیم غذایی یا تمرین ورزشی را نیز می‌توان به تغییر در هر یک از عوامل مذکور نسبت داد و نتیجه‌گیری کلی در این زمینه تا اندازه‌ای بحث برانگیز است. در این زمینه، در این نقش آنزیم‌ها یا ژن‌های گلوکونئوژنیکی همواره مطرح بوده است. به‌طوریکه افزایش تولید گلوکز از مسیرهای غیر کربوئیدارات در فرایند گلوکونئوژنز کبدی نهایتاً به افزایش رهایی گلوکز کبدی به‌ویژه در بیماران دیابتی منتهی می‌شود [۱۵].

در این زمینه، اگرچه مطالعات روی مسیرهای درگیر در رهایی گلوکز کبدی کمتر انجام گرفته است. اما در مطالعهٔ حاضر، اجرای تمرین‌های تناوبی با عدم تغییر بیان PEPCK به‌عنوان یکی از آنزیم‌های درگیر در فرایند گلوکونئوژنز کبدی همراه بود. این در حالی است که مطالعات آزمایشگاهی از نقش مؤثر PEPCK در رهایی گلوکز از فرایند گلوکونئوژنز کبدی به شدت حمایت نموده‌اند به‌طوریکه کاهش فعالیت آنزیمی یا بیان PEPCK به کاهش سرعت گلوکونئوژنز و رهایی گلوکز کبدی به‌ویژه در دیابتی‌های نوع دو منجر می‌شود [۱٦]. از طرفی، با توجه به نقش مهارکنندگی انسولین بر آنزیم گلوکونئوزنیکی PEPCK، عدم تغییر بیان G6Pase علی‌رغم افزایش معنی‌دار انسولین در پاسخ به تمرین‌های تناوبی شدید در مطالعهٔ حاضر تا اندازه‌ای بحث برانگیز است.

در این زمینه، Marinho و همکاران (۲۰۱۲) با استناد به یافته‌های خود اشاره نموده‌اند که تمرین‌های ورزشی استقامتی طولانی با بهبود مسیرهای سیگنالینگ انسولین در بافت کبد همراه است. این محققان اشاره نموده‌اند که اثرات سودمند ورزش روی عملکرد انسولین در کبد با کاهش بیان ژن‌های گلوکونئوژنیک همراه است به‌طوریکه تمرین‌های استقامتی طولانی مدت به کاهش بیان PEPCK و G6Pase منجر می‌شود [۱۷]. از طرفی، Nizielski و همکاران (۱۹۹٦) در مطالعهٔ خود اینگونه نتیجه‌گیری نمود که ورزش یک جلسه‌ای به‌واسطهٔ افزایش فعالیت مسیرهای سیگنالینگ رونویسی PEPCK به‌عنوان یکی از آنزیم‌های گلوکونئوژنیکی همکار با G6Pase به افزایش سرعت رهایی گلوکز کبدی ناشی از فرآیند گلوکونئوژنز منجر می‌شود [۱٦]. با این وجود، مشخص شده است که بیان ژن‌های درگیر در فرایند گلوکونئوژنز پس از ریکاوری طولانی مدت متعاقب ورزش طولانی مدت به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. به‌طوریکه در مطالعهٔ Ropelle و همکاران (۲۰۰۹)، بیان ژن‌های کبدی PEPCK و G6Pase متعاقب ۸ ساعت ریکاوری پس از یک جلسه ورزش طولانی مدت کاهش یافت و محققان این کاهش را به نوعی به تغییر در مسیرهای سیگنالینگ دیگر ژن‌های مرتبط نظیر فرایندهای کبدی نسبت داده‌اند. به‌طوری‌که در مطالعهٔ مذکور، گروهی از رت‌ها دو فعالیت شنای ۳ ساعتی با فاصلهٔ استراحتی ٤٥ دقیقه اجرا نمودند و تست تحمل گلوکز و بیان ژن پس از ۸ ساعت ریکاوری انجام گرفت. یافته‌ها نشان داد که مسیرهای سیگنالینگ انسولین پس از ۸ ساعت ریکاوری متعاقب یک جلسه ورزش استقامتی طولانی مدت بهبود می‌یابد که با کاهش بیان ژن‌های گلوکونئوژنز کبدی نظیر PEPCK و G6Pase هم‌زمان با افزایش فسفوریلیشن Akt و Foxo1 وابسته به انسولین همچنین کاهش بیان PGC-1alpha در سلول‌های کبدی همراه است [۱۸]. در مطالعهٔ De Moura و همکاران (۲۰۱۳) نیز اثر یک جلسه ورزش شنای طولانی مدت روی سطوح پروتئین و بین برخی ژن‌های مؤثر در رهایی گلوکز کبدی در رت‌های چاق سالمند اندازه‌گیری شد. به‌طوریکه رت‌های مورد مطالعه ۱/۵ ساعت شنا در در دو مرحله با فاصلهٔ زمانی ٤٥ دقیقه اجرا نمودند. یافته‌ها آشکار نمود که سطوح پروتئین PEPCK در ۱٦ ساعت پس از آزمون ورزشی در بافت کبد به میزان معنی‌داری کاهش یافت [٤].

جدا از سازکارهایی که اشاره شد فعالیت یا رونویسی آنزیم‌های گلوکونئوزنتیک توسط مؤلفه‌های هورمونی انسولین و گلوکاگون نیز تنظیم می‌شود. در مطالعهٔ حاضر، اگرچه عدم اندازه‌گیری گلوکاگون از محدودیت‌های اصلی است اما افزایش انسولین سرم در رت‌های دیابتی در پاسخ به تمرین‌های تناوبی از یافته‌های اصلی مطالعه است. به‌طوری‌که تغییر در بیان ژن‌های اندازه‌گیری شده را می‌توان به نوعی به افزایش انسولین در پاسخ به مداخلهٔ تمرینی نسبت داد. افزایش موقتی انسولین وریدی مشابه با شرایطی که پس از تغذیه اتفاق می‌افتد به مهار یا سرکوب سریع تولید گلوکز کبدی ناشی از منابع گلوکونئوژنیکی یا گلیکوژنولیتیکی منجر می‌شود. شواهد حاصل از کبد ایزوله شده در مطالعات سلولی-مولکولی روی موش‌های صحرایی آشکار نموده‌اند که مهار فرایند گلوکونئوژنیکی کبدی وابسته به انسولین از طریق تنظیم رونویسی آنزیم‌های محدود کننده سرعت این فرایند تسهیل می‌شود [۱۹].

انسولین با اتصال به گیرندهای کبدی، آبشارهای سیگنالینگی که آنزیم‌های مؤثر در جذب و رهایی گلوکز از کبد را در فرآیندهای گلوکونئوژنز، گلیکولیز و متابولیسم گلیکوژن فعال می‌کنند را تنظیم می‌کند. حضور انسولین در کبد به تحریک گلوکوکیناز [۲۰] و کاهش بیان G6Pase [۲۱] منجر می‌شود که به تغییرات طولانی مدت در پروتئین‌های گلوکوکیناز و G6Pase که فرایند رهایی و جذب گلوکز را تسهیل می‌کنند منجر می‌شود.

انسولین همچنین به‌طور مؤثر و سریع ظرف چند دقیقه به مهار رونویسی PEPCK منجر می‌شود [۲۱]. کنترل یا تنظیم ژنتیکی ژنتیکی PEPCK توسط انسولین فرآیند پیچیده‌ای شامل چندین واسطهٔ شیمایی است که همچنین تنظیم بیان G6Pase را متأثر می‌کند. به‌طوری‌که مطالعات متعددی، تغییرات در فعالیت و بیان PEPCK و G6Pase به‌عنوان شاخصی از تغییرات انسولین کبدی را ارزیابی نموده‌اند. تحت شرایط ناشتا، فاکتور رونویسی FOXO1 در واکنش با پروتئین PGC1-α در پروموتورهای ژن‌های گلونئوژنیکی PEPCK و G6Pase به تغییر در بیان آنها منجر می‌شوند [۲۰]. بر پایهٔ شواهد مذکور، عدم اندازه‌گیری دیگر مؤلفه‌های آنزیمی یا ژنتیکی که در پاسخ به تغییرات انسولین سرعت گلوکونئوژنز را متأثر می‌کنند از محدودیت‌های مطالعهٔ حاضر است. این شواهد به این نکته اشاره دارند که اندازه‌گیری بیان PEPCK در پاسخ به تمرین‌های تناوبی شدید یا دیگر متدهای تمرینی به تنهایی تعیین کننده سرعت یا رهایی گلوکز کبدی در رت‌های دیابتی نوع دو نیست. از طرفی، اگرچه اندازه‌گیری بیان PEPCK در سلول‌های کبدی در کنار سطوح انسولین سرم از نقاط قوت مطالعهٔ حاضر است اما اندازه‌گیری بیان این آنزیم در پاسخ به تمرین‌های تناوبی شدید یا دیگر متدهای تمرینی به تنهایی تعیین کننده سرعت یا رهایی گلوکز کبدی در رت‌های دیابتی نوع دو نیست. به‌عبارتی، عدم اندازه‌گیری سطوح پروتئین یا بیان دیگر آنزیم‌های مؤثر در فرایند گلوکونئوژنز کبدی نظیر G6Pase از نقاط ضعف و محدودیت اصلی مطالعهٔ حاضر است.

نتیجه‌گیری

اجرای تمرین‌های تناوبی شدید با کاهش PEPCK به بهبود سطوح گلوکز خون در رت‌های دیابتی نوع دو چاق منجر می‌شود. تغییر در سطوح گلوکز احتمالاً ریشه در افزایش انسولین و کاهش PEPCK در پاسخ به تمرین‌های تناوبی دارد. شناخت سازکارهای عهده‌دار این تغییرات در پاسخ به تمرین‌های ورزشی نیازمند مطالعات سلولی-مولکولی بیشتر در این زمینه است.

تعارض منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تضاد منافعی برای نویسنده وجود ندارد.

سپاسگزاری

نویسنده مقاله از همکاری کارکنان انستیتو پاستو و آزمایشگاه بیمارستان آریا به جهت انجام آزمایش های ژنتیکی و الیزا تشکر و قدردانی می نمایند

مآخذ

1. Hogan P DT, Nikolov P. Economic costs of diabetes in the US in 2002; *Diabetes Care*. 2003. 26: 917–32.
2. Konopelska S, Kienitz T, and Quinkler M. Downregulation of Hepatic Glucose - 6 - Phosphatase - α in Patients With Hepatic Steatosis. *Obesity*. 2011; 19(12): 2322-2326.
3. Vidal-Puig A, and O'Rahilly S. Controlling the glucose factory. *Nature*. 2001; 413(6852): 125-126.
4. De Moura LP, et al. Acute exercise decreases PTP-1B protein level and improves insulin signaling in the liver of old rats. *Immunity & Ageing*. 2013; 10(1): 1-9.
5. MJ G. High intensity interval training: new insights. *Sports Science Exchange*. 2007; 20(2): 1-8.
6. Madsen SM, et al. High intensity interval training improves glycaemic control and pancreatic β cell function of type 2 diabetes patients. *PloS one*. 2015. 10(8): e0133286.
7. Sun YP, et al. Effects of cholesterol diets on vascular function and atherogenesis in rabbits. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 2000; 224(3): 166-171.
8. Eizadi M, et al. The effect of three months of resistance training on TCF7L2 expression in pancreas tissues of type 2 diabetic rats. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*. 2016. 4(1): p. 12-34014.
9. Karimi M, and Eizadi M, The effect of interval training on FOXO1 expression in pancreas tissue of diabetes rats with high fat diet and STZ. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2019; 26(6): 95-104.
10. Soori R, et al. Effects of 12 weeks resistant training on MTNR1B gene expression in the pancreas and glucose and insulin levels in type 2 diabetic rats. *Koomesh*. 2017; 19(1): 46-55.
11. Jorge, M.L.M.P., et al., The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 2011. 60(9): p. 1244-1252.
12. Wei SS, and Liang DD. The effect of exercises on TNF-alpha, IL-6 and adiponectin in different fat diet rats. Zhongguo ying yong sheng li xue za zhi= Zhongguo yingyong shenglixue zazhi. *Chinese journal of applied physiology*. 2013; 29(3): 280-282.
13. Maltais ML, et al. Effect of resistance training and various sources of protein supplementation on body fat mass and metabolic profile in sarcopenic overweight older adult men: a pilot study. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2016; 26(1): 71-77.
14. Vancea DMM, et al. Effect of frequency of physical exercise on glycemic control and body composition in type 2 diabetic patients. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2009; 92: 23-30.
15. Basu R, et al. Pathogenesis of prediabetes: role of the liver in isolated fasting hyperglycemia and combined fasting and postprandial hyperglycemia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013; 98(3): E409-E417.
16. Nizielski SE, et al. Involvement of transcription factor C/EBP-beta in stimulation of PEPCK gene expression during exercise. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1996; 270(5): R1005-R1012.
17. Marinho R, et al. Endurance exercise training increases APPL1 expression and improves insulin signaling in the hepatic tissue of diet - induced obese mice, independently of weight loss. *Journal of cellular physiology*. 2012; 227(7): 2917-2926.
18. Ropelle ER, et al. Acute exercise modulates the Foxo1/PGC - 1α pathway in the liver of diet - induced obesity rats. *The Journal of physiology*. 2009; 587(9): 2069-2076.
19. Pilkis SJ, MR. El-Maghrabi, and T.H. Claus, Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annual review of biochemistry*. 1988; 57(1): 755-783.
20. Agius L. Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *Biochemical Journal*. 2008; 414(1): 1-18.
21. O'brien, R., et al., Insulin-regulated gene expression. *Biochemical Society Transactions*. 2001; 29(4): 552-558.

The Effect of Interval Training on PEPCK Expression in Hepatic Tissue, Glucose and Insulin of Obese Rats with Type 2 Diabetes

Fatemeh Nikseresht[*1]

1. Department of Physical Education, Farhangian University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: Considering the importance of exercise in the prevention and treatment of diseases related to obesity the objective of this experimental study was to determine the effect of six weeks of intensive interval training on PEPCK expression in liver tissue, glucose and insulin and insulin resistance in obese rats with type 2 diabetes and compared with non-diabetic obese group.
Methods: 28 male Wistar rats aged 10 weeks (220 ± 20 g) were obesed by six weeks of high-fat diet (HFD). Then type 2 diabetes was induced in 14 rats by intraperitoneal injection of STZ (30 mg/kg). Finally, the studied rats were divided into 4 groups (n= 7): 1) control obese, 2) interval obese, 3) control obese diabetic, 4) interval obese diabetic. Interval groups participated in an interval exercise program of five sessions per week for six weeks consists of 10 repetitions of a 40-second run on the treadmill with 2-minute rest (active rest) between repetitions. Finally, 48 hours after the last session, the fasting levels of glucose, insulin, PEPCK expression in liver tissue were measured and compared by two-way ANOVA.
Results: Compared with control groups, interval training in diabetic and obese rats resulted in significant decrease of fasting glucose (P= 0.001). Interval training also led to an increase in serum insulin compared to the diabetic control group (P= 0.006) and a decrease in PEPCK expression compared to the diabetic control group (P= 0.005).
Conclusion: Improved glucose response to interval training in type 2 diabetic rats may be rooted in increase insulin with decrease in hepatic PEPCK expression. Measurement of activity or expression of other liver enzymes is suggested for general conclusion.

Keywords: Interval training, Type 2 Diabetes, Insulin Resistance, Gluconeogenic Genes Expression

* Laden St., between 14th and 15th St., Hazrat Fatima Al-Zahra Campus, Padadshahr, Ahvaz, Khuzestan, Iran. Postal Code 6183955735 Tel: +986135534300, E-mail: fateme_nikseresht@yahoo.com

Copyright © 2024 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.