

بررسی بیان ژنی رتینول متصل به پروتیین (RBP4) و ناقل غشایی گلوکز (GLUT4) در عضله اسکلتی رت‌های دیابتی شده با STZ به دنبال تمرین ورزشی هوازی

چکیده

حسین شیروانی^۱، ابراهیم فصیحی
رامندی^{۲*}

۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی،

پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی
بقیه‌الله (عج)، تهران، ایران.

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت
بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی تهران،
تهران، ایران.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۲ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۹ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۱/۰۱/۰۱

زمینه و هدف: دیابت نوع دو یک بیماری متابولیکی است و به سرعت در حال افزایش است. Glucose transporter (GLUT4) و type 4 و Retinol-binding protein 4 (RBP4) از عواملی هستند که در برداشت گلوکز نقش دارند. هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های RBP4 و GLUT4 عضله نعلی در رت‌های دیابتی به روش STZ بوده است. روش بررسی: این پژوهش تجربی، مورخ اردیبهشت ۱۳۹۷ تا شهریور سال ۱۳۹۷ در دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) انجام شد. ۴۸ رت به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل پایه، کنترل ۱۲ هفته‌ای، دیابت، و دیابت و تمرین تداومی متوسط تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین انجام گردید. پروتکل تمرینی شامل تمرینات هوازی به مدت ۱۲ هفته پنج جلسه‌ای بود. بیان ژن با روش Real time PCR اندازه‌گیری شد. تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS software, version 22 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) و رسم نمودارها با نرم‌افزار GraphPad Prism version 8 (GraphPad Software, USA) انجام شد.

یافته‌ها: نتایج، افزایش چشمگیر RBP4 در گروه دیابت نسبت به سایر گروه‌ها را نشان داد. در مقایسه دو گروه دیابت و دیابت به همراه تمرین تداومی، متوسط بیان ژن RBP4 در دیابتی‌های تمرینی کمتر بیان شده بود. در رابطه با GLUT4 بین گروه‌های دیابت و دیابت به‌همراه تمرین نسبت به هم تفاوت معناداری وجود داشت و همچنین میزان بیان ژن GLUT4 در گروه دیابت به‌همراه تمرین نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: طبق پژوهش حاضر تاثیر تمرین تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های RBP4 و GLUT4 در عضله نعلی نشان داده شد که می‌تواند در برداشت گلوکز موثر باشد.

کلمات کلیدی: تمرین هوازی، دیابت، ناقل غشایی گلوکز چهار، رتینول متصل به پروتیین چهار، عضله نعلی.

* نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه خوارزمی تهران،
دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی
ورزشی.

تلفن: ۰۲۸-۳۴۵۳۳۲۸۵

E-mail: e.fasihi95@gmail.com

مقدمه

میلیون نفر نیز بیشتر شود.^۲ دیابت نوع دو از بیماری‌های متابولیکی است که به دلیل مقاومت سلول‌های بدن به عملکرد انسولین و اختلال تدریجی در عملکرد سلول‌های β در تولید انسولین ایجاد می‌گردد، که به‌طور تدریجی کنترل متابولیکی را بر هم می‌زند.^۳ از طرفی، در فقدان انسولین یا در شرایط مقاومت به انسولین، سلول‌های بدن در برداشت گلوکز دچار اختلال می‌شوند.^۱

براساس مطالعات همه‌گیرشناسی شیوع جهانی دیابت در حال افزایش است.^۱ با توجه به گزارش فدراسیون جهانی دیابت (IDF) تا سال ۲۰۱۳ تعداد ۳۸۲ میلیون نفر دیابت مبتلا شده‌اند و براساس پیش‌بینی‌های انجام شده، امکان دارد تا سال ۲۰۳۵ این میزان از ۵۹۲

پژوهشی با مداخله فعالیت ورزشی بر بیان ژن RBP4 با GLUT4 را بررسی نکرده است و با توجه به پژوهش‌های محدود در بررسی بیان و سازوکار RBP-4 با GLUT4 در بافت عضلانی پس از یک دوره تمرینی در بیماران دیابتی که مشکل برداشت گلوکز در عضله اسکلتی را دارند، هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین تداومی بر میزان بیان RBP-4 و GLUT4 در بافت عضلانی و اثرات متقابل این دو باهم در رت‌های دیابتی نوع دو می‌باشد.

روش بررسی

پژوهش حاضر با توجه به این‌که بر روی آزمودنی‌های حیوانی (موش‌های صحرايي) صورت گرفت است و امکان کنترل وجود داشت، از نوع تجربی می‌باشد که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. جامعه آماری این پژوهش تعداد ۴۸ سر رت‌های نر نژاد ویستار هشت هفته‌ای (با میانگین وزنی 250 ± 20) بودند که از انستیتو تحقیقاتی دانشگاه بقیه‌الله (عج) خریداری و به صورت تصادفی در چهار گروه ۱۲ تایی شامل، گروه پایه، کنترل سالم، گروه دیابت، و گروه دیابتی و تمرین تداومی با شدت متوسط تقسیم شدند.

برای رت‌های مذکور در آزمایشگاه پژوهش دانشگاه درجه حرارت $23-20^{\circ}\text{C}$ ، چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعت، رطوبت نسبی 50% ایجاد شد تعداد هر سه رت در یک قفس پرورشی با آب و غذای استاندارد (پلیت نرمال) قرار داده شدند. پوشال‌های استریل برای اطمینان از شرایط محیطی مناسب و حفظ رطوبت، دما و تهویه مناسب و تعدیل میزان آلودگی و کاهش بوی بد ناشی از آمونیاک ادرار حیوانات مورد استفاده قرار گرفتند و برای کاهش احتمال بیماری‌های تنفسی در حیوانات از دستگاه تصفیه هوا و برای پایش تغییرات شبانه‌روزی دما و رطوبت از دماسنج و رطوبت‌سنج استفاده شد.

پژوهش حاضر با اصول اخلاقی مطالعه، مطابق اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) تهران انجام گردیده و با کد اخلاق IR.BMSU.REC.1396.633 ثبت گردیده است.

لقای دیابت: جهت القای دیابت نوع دو از تزریق نیکوتین آمید و استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) استفاده شد، ابتدا محلول

در رابطه با همین موضوع رتینول متصل به پروتیین چهار (RBP4) آدیپوکائینی از خانواده لیپوکالینی است که وظیفه آن حمل رتینول (ویتامین A) در خون می‌باشد و تا حد زیادی در کبد و بافت چربی ساخته می‌شود که در تنظیم عملکرد انسولین و متابولیسم گلوکز نقش دارد.^۴

گفته شده، افزایش میزان RBP4 افزایش مولفه‌های سندروم متابولیک را به همراه دارد.^۵ در پژوهشی عنوان گردیده که میزان سرمی RBP4 می‌تواند به عنوان شاخصی برای پیشگویی بیمارهای مثل عروق کرونری، مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو استفاده شود.^۶

مطالعات نشان داده‌اند، افزایش بیان RBP4 در موش‌ها یا تزریق RBP4، می‌تواند حساسیت انسولینی در موش‌های سالم را کاهش دهد. در مقابل، با رسیدن RBP4 به سطح طبیعی در موش‌های چاق، حساسیت انسولینی بهبود می‌یابد.^۷

اخیرا بیان ژن RBP4 در عضله اسکلتی تشخیص داده شده است که بر این اساس، RBP4 نوعی Myokine هم محسوب می‌گردد.^۸ افزایش سرمی RBP4 در جوندگان با مقاومت به انسولین در عضله اسکلتی و کبد همراه بوده است.^۹ یکی از عملکردهای RBP4 سرکوب انتقال‌دهنده‌های گلوکز (GLUT4) می‌باشد که سبب افزایش مقاومت به انسولین می‌شود.^۴

GLUT4 یک حمل‌کننده گلوکز وابسته به انسولین است که در بافت چربی و عضلات مخطط (عضله اسکلتی و قلبی) وجود دارد. این پروتیین سبب می‌شود که گلوکز موجود در خون توسط انتشار تسهیل شده به درون بافت چربی و عضلات اسکلتی برود.^۸

عضله اسکلتی مسئول بیش از 75% مصرف گلوکز در پاسخ به انسولین است و مهم‌ترین بافت در تعادل انرژی از این طریق به شمار می‌رود.^{۱۰}

امروزه با توجه به این‌که تاثیر فعالیت ورزشی در بهبود مقاومت به انسولین در افراد چاقی و مبتلایان به دیابت نوع دوم شناخته شده است، نشان داده شده که فعالیت ورزشی به‌عنوان یک مداخله غیر دارویی حساسیت انسولینی را در افراد دیابتی و غیر دیابتی افزایش می‌دهد.^{۱۱}

در همین رابطه Ramezani و همکاران کاهش سطح سرمی RBP4 پس از اجرای تمرین هوازی با شدت $80\%-60\%$ حداکثر اکسیژن مصرفی در موش‌های دیابتی را گزارش کردند.^{۱۲} ولی از آن‌جا که هیچ

از بدن حیوان برداشته شد و پس از شست‌وشو با سرم بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی با دمای °C ۸۰ در فریزر قرار گرفت.

مقادیر mRNA RBP4 و mRNA GLUT4 در بافت عضله نعلی با استفاده از روش تخلیص RNA مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای این منظور، ابتدا عضله نعلی در محلول بافر هموژنیزه و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت 3000g سانتی‌فیوژ شد. محلول به دست آمده برای سنجش مقادیر mRNA RBP4 و mRNA GLUT4 استفاده شد. توالی ژن GLUT4، RBP4 به‌عنوان ژن هدف و توالی GAPDH به‌عنوان ژن مرجع در جدول ۲ آمده است. برای تجزیه و تحلیل داده‌های نتایج qPCR از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ برای بررسی بیان کمی نسبی ژن‌ها به شرح زیر استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل‌ها به‌طور مجزا برای سه گروه نمونه انجام شد.

$$\text{Relative fold change in gene expression} = 2^{-\Delta\Delta CT}$$

$$\Delta CT = CT \text{ target gene} - CT \text{ reference gene}$$

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT \text{ test sample} - \Delta CT \text{ Contro}$$

روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها: در پژوهش حاضر برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی و استنباطی استفاده گردید. از Kolmogorov-Smirnov test برای تعیین نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌ها استفاده و پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها از One-way ANOVA test و Tukey post hoc test برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. در این پژوهش سطح معناداری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. تمامی بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS software, version 22 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) و GraphPad Prism, version 8, GraphPad Software, USA) انجام گردید. و از نرم‌افزار GraphPad Prism, version 8, GraphPad Software, USA) برای ترسیم نمودارها استفاده گردید.

نیکوتین آمید با دوز ۹۵ mg/kg وزن رت، به‌صورت صفاقی تزریق شد، پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات 0.1 mol/l (PH=۴/۵) به‌صورت داخل صفاقی با دوز ۵۵ mg/kg تزریق شد.^{۱۳}

یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، قندخون ورید دم رت‌ها مورد سنجش قرار گرفت و رت‌هایی که قندخون آن‌ها بالاتر از ۲۰۰ mg/dl بود، به‌عنوان رت‌های دیابتی وارد مطالعه شدند.^{۱۵و۱۴} پروتکل تمرینی: پس از انتقال حیوان‌ها به آزمایشگاه برای گروه تمرین و گروه دیابت و تمرین، دو هفته زمان جهت آشنایی و سازگاری به پروتکل تمرین در نظر گرفته شد. در طول این دو هفته رت‌ها با دویدن روی تردمیل با سرعت هشت متر در دقیقه، سه روز در هفته آشنا شدند.

پروتکل تمرینی شامل تمرین تداومی با شدت متوسط بود که در این پروتکل تمرینی اصلاح شده از تمرینات هوازی به مدت ۱۲ هفته، هر هفته پنج جلسه در قالب دویدن روی تردمیل مطابق با جدول ۱ انجام گرفت (این روش تمرینی روی تردمیل مخصوص حیوانات آزمایشگاهی به‌صورت دقیق برنامه‌ریزی شده است).^{۱۶}

نمونه‌گیری و سنجش متغیرهای پژوهش: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها تمامی گروه‌ها با استفاده از محلول کتامین-زایلازین، با تزریق سه واحد محلول کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. در مرحله بعدی با شکاف دادن قفسه سینه و شکم، برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، فوراً خون حیوان با یک سرنگ از داخل قلب گرفته شد و قلب آنان جدا شد تا معدوم شدند. پس از جدا کردن قلب بافت‌های دیگر از جمله بافت عضله نعلی

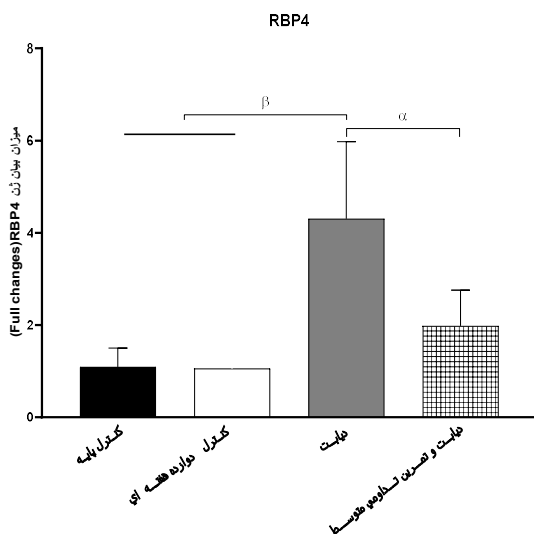
جدول ۲: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش

Genes	Primer sequence
RBP4	For: GGCTCGTTTCTCTGGGCTCT Rev: GGACTCGTCCTTGCTGTA
GLUT4	For: CTTAGTAGAGCGAGCTGGGC Rev: AAGAGCTCGGCCACAATGAA
GAPDH	For: ATCACTGCCACTCAGAAGAC Rev: ACATTGGGGGTAGGAACAC

جدول ۱: پروتکل تمرینی پژوهش حاضر بر حسب هفته

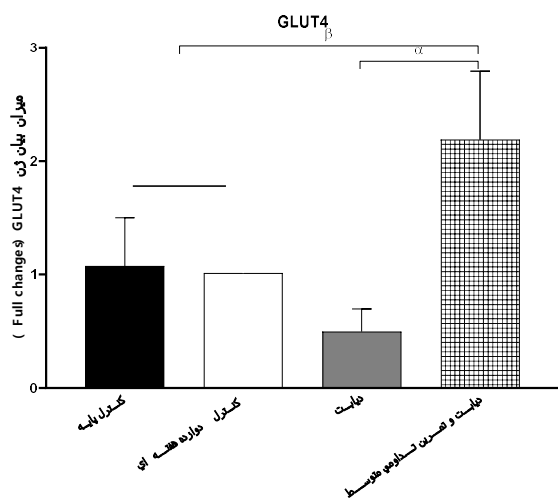
زمان فعالیت (هفته)	زمان دویدن (دقیقه)	سرعت دویدن (متر در دقیقه)
اول	۱۰	۱۸
دوم و سوم	۲۰	۲۰
چهارم و پنجم	۳۰	۲۲
ششم و هفتم	۴۰	۲۲
هشتم و نهم	۵۰	۲۴
دهم تا دوازدهم	۵۰	۲۶

یافته‌ها



نمودار ۱: تغییرات بیان ژن RBP4 در عضله نعلی در گروه‌های پژوهش

α بین دو گروه دیابت و دیابت به همراه تمرین تداومی متوسط تفاوت معناداری (۰/۰۰۰) در سطح معناداری $P \leq 0.05$ مشاهده می‌شود.
 β بین گروه دیابت و هر دو گروه‌های کنترل تفاوت معناداری (۰/۰۰۰) در سطح معناداری $P \leq 0.05$ مشاهده می‌شود.



نمودار ۲: تغییرات بیان ژن GLUT4 عضله نعلی در گروه‌های پژوهش

α بین دو گروه دیابت و دیابت به همراه تمرین تداومی متوسط تفاوت معناداری (۰/۰۰۰) در سطح معناداری $P \leq 0.05$ مشاهده می‌شود.
 β بین گروه دیابت به همراه تمرین تداومی متوسط و هر دو گروه‌های کنترل تفاوت معناداری (۰/۰۰۰) در سطح معناداری $P \leq 0.05$ مشاهده می‌شود.

پس از پایان ۱۲ هفته پروتکل تمرینی تداومی شدید با توجه به نمودار ۱ میزان RBP4 در بافت عضله نعلی تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش مشاهده شد ($P \leq 0.05$).

نتایج حاصل از نمودار مربوطه افزایش چشمگیر RBP4 در گروه دیابت نسبت به سایر گروه‌ها داشته و در مقایسه دو گروه دیابت و دیابت به همراه تمرین تداومی شدید بیان ژن RBP4 در دیابتی‌های به همراه مداخله تمرینی کمتر بیان شده است.

همچنین پس از ۱۲ هفته تمرین تداومی متوسط بیان ژن GLUT4 در عضله نعلی در گروه‌های پژوهش معنادار ($P \leq 0.05$) بود. با توجه به نمودار ۲ گروه‌های دیابت و دیابت به همراه تمرین تداومی متوسط بهم تفاوت معناداری دارند و بین گروه دیابت به همراه تمرین تداومی متوسط نسبت با هر دو گروه‌های کنترل تفاوت معناداری در میزان بیان ژن GLUT4 مشاهده می‌شود. ولی در بین دو گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد. این بدان معنا است که میزان بیان ژن GLUT4 در گروه دیابتی کاهش بیان چشمگیری داشته در حالی که در گروه دیابت به همراه مداخله تمرین تداومی متوسط افزایش بیان بیشتری داشته است.

بحث

RBP4 ادیوکاپینی است که سبب افزایش مقاومت به انسولین در افراد چاق می‌شود از طرفی در سلول‌های چربی سبب افزایش لیپولیز می‌گردد.^{۱۷} در افراد که در مرز دیابتی شدن قرار دارند میزان سرمی RBP4 افزایش می‌یابد.^{۱۸} از طرفی گزارش شده که کاهش میزان GLUT4 در بافت چربی احشایی می‌تواند ناشی از افزایش بیان ژن RBP4 باشد که افزایش مقاومت انسولین را به دنبال دارد.^{۱۹}

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر تمرین تداومی متوسط بر میزان بیان ژن‌های RBP4 و GLUT4 در بافت عضله اسکلتی نعلی در رت‌های دیابتی نوع دو پس از دوره تمرینی ۱۲ هفته‌ای انجام گرفت که پس از تجزیه تحلیل‌های سلولی مولکولی انجام شده مشخص گردید که بیان ژن RBP4 در عضله نعلی تفاوت معناداری چشمگیری داشت.

از طرفی ورزش و فعالیت بدنی می‌توانند بر عملکرد انسولین و بیان GLUT4 در بافت عضلانی نقش به‌سزایی داشته باشند. بررسی‌ها نشان می‌دهند که ورزش باعث افزایش تعداد گیرنده‌های انسولین و همچنین افزایش تعداد انتقال‌دهنده‌های گلوکز (GLUT4) در بافت‌ها می‌شود و از این طریق باعث تسهیل انتقال گلوکز به درون سلول‌ها و کاهش مقاومت انسولینی می‌شود.^{۲۴}

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داده شد که ۱۲ هفته تمرین تداومی متوسط تاثیر معناداری بر بیان ژن GLUT4 عضله نعلی رت‌های دیابتی داشت. با مقایسه دو گروه دیابت و تمرین و تداومی متوسط مشاهده می‌شود که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود دارد، همچنین میزان بیان ژن GLUT4 در گروه دیابت و تمرین تداومی متوسط بیشتر از هر دو گروه‌های کنترل است که نشان از اثربخشی تمرین بر بیان ژن GLUT4 در عضله اسکلتی نعلی دارد. پژوهش‌های متعددی در رابطه با تاثیر تمرین ورزشی بر بیان ژن GLUT4 انجام گرفته است. از پژوهش‌های همسو می‌توان به پژوهش Liang اشاره کرد که پس از انجام پروتکل تمرینی شنا (پنج روز در هفته به‌شماره روز اول به‌ترتیب ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه شنا و چهار هفته به‌مدت یک ساعت در روز) عنوان کردند که ورزش شنا سطح بیان mRNA GLUT4 را در سلول‌های چربی افزایش می‌یابد و احتمالاً این افزایش می‌تواند ناشی از افزایش میزان گالانین باشد. در نتیجه گالانین نقش مهمی در تنظیم هموستاز متابولیک گلوکز و افزایش حساسیت به انسولین دارد.^{۲۵}

park و همکاران پس از تمرین بر روی تردمیل به‌مدت شش هفته تحت برنامه تمرینی ورزشی با شدت متوسط (شیب صفر درجه، سرعت ۱۵ متر در دقیقه، ۳۰ دقیقه در روز و پنج روز در هفته) گزارش کردند که تمرین ورزشی سبب افزایش بیان ژن GLUT4 در عضله اسکلتی سولئوس موش‌های دیابتی تمرین کرده نسبت به گروه دیابتی‌ها می‌شود.^{۲۶}

Zhaosheng و همکاران با دادن تمرین شنا به موش‌ها (هشت هفته و در هر هفته پنج روز به‌مدت یک ساعت با اضافه بار ۵٪ وزن بدن) گزارش کردند که ورزش می‌تواند سبب افزایش بیان آدیپونکتین و GLUT4 شود که در حساسیت انسولینی می‌تواند موثر واقع شود.^{۲۷} از مطالعه‌های ناهمسو با پژوهش حاضر می‌توان به پژوهش Zarekar و همکاران اشاره کرد که پس از انجام تمرین هوازی و عصاره پسته وحشی (به‌مدت شش هفته و پنج روز در هفته)

همسو با این پژوهش Yousefi و همکاران عنوان کردند که تمرین استقامتی با شدت متوسط (به‌مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته) سبب کاهش بیان ژن RBP4 در عضله دوقلوی رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (Streptozocin) می‌شود از طرفی هم مقاومت به انسولین نیز کاهش می‌دهد.^{۲۰}

Mansouri و همکاران در بررسی میزان RBP4 سرمی پس از یک دوره تمرینی استقامتی و همچنین رابطه سطوح سرمی RBP4 با میزان بیان ژن RBP4 بافت کبدی و بافت چربی گزارش کردند که تمرین استقامتی در گروه دیابت سبب کاهش سطح سرمی RBP4 و بافت چربی احشایی می‌شود ولی این کاهش بیان ژن RBP4 در بافت کبد میزان معناداری نیست و این کاهش میزان RBP4 سرمی بیشتر مربوط به بافت چربی است نه بافت کبدی.^{۲۱}

همچنین Marschner و همکاران در پژوهشی که در جوندگان انجام دادند گزارش کردند که پس از یک دوره تمرین هوازی (به‌مدت ۱۰ هفته، یک ساعت در روز و پنج روز در هفته) میزان سرمی RBP4 و مقاومت به انسولین کاهش و میزان بیان ژن GLUT4 در بافت چربی افزایش می‌یابد که این‌ها در یک دوره کوتاه بی‌تمرینی قابل حفظ خواهند بود.^{۲۲}

در مطالعه دیگر Ramezani و همکاران گزارش کردند تمرین مقاومتی (به‌مدت هشت هفته، پنج روز در هفته و در هر جلسه تمرینی موش‌ها یک نوبت ۱۰ تکرار) با توجه به سازوکارهای ویژه و با افزایش بیشتر توده عضلانی در کاهش عامل التهابی RBP4، گلوکز خون و مقاومت به انسولینی در موش‌های دیابتی نوع دو تاثیرگذار باشد و می‌تواند به‌عنوان شیوه‌ای مناسب برای کنترل قندخون و بهتر شدن مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی استفاده شود.^{۲۱}

با توجه به گزارش‌های پژوهش‌های اعلام شده اکثر پژوهش‌ها همسو با پژوهش حاضر می‌باشد و می‌توان گفت تمرین تداومی با شدت متوسط تاثیر خوبی بر کاهش بیان ژن RBP4 دارد که می‌تواند بر کاهش عوامل التهابی ناشی از دیابت موثر واقع گردد.

GLUT4 مهم‌ترین عضو از خانواده GLUT می‌باشد که در انتقال گلوکز به بافت چربی و عضلانی نقش دارد. GLUT4 بیشتر در بافت‌های حساس به انسولین مانند عضلات اسکلتی، قلبی و بافت چربی بیان می‌شود.^{۲۳}

پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تداومی با شدت متوسط می‌تواند نقش به‌سزایی در بیان ژن GLUT4 و RBP4 داشته باشد. افزایش بیان ژن GLUT4 و کاهش بیان ژن RBP4 می‌تواند در کاهش میزان گلوکز در بیماران دیابتی شود و از این جهت بیماران دیابتی زیر نظر متخصصین علوم ورزشی و پزشکان خودشان می‌توانند در کنار نسخه دارویی از اثربخشی ورزش استفاده کنند و از آسیب‌های ناشی از دیابت بکاهند.

نتیجه‌گیری: با تکیه بر نتایج و بحث‌های انجام شده در پژوهش حاضر نشان داده شد که تمرین تداومی با شدت متوسط به نوعی از طریق فعال‌کردن مسیر و سازوکارهای سلولی و مولکولی مختلف موجب کاهش اثرات منفی ناشی از بیماری دیابت بر سوخت‌وساز بدن و سلامتی می‌شود. همچنین نشان داده شد که تمرین تداومی با شدت متوسط می‌تواند با کاهش بیان ژن RBP4 عوارض ناشی از دیابت را به حداقل برساند و در کاهش التهاب و اثرات نامطلوب بر سایر سایتوکاین‌ها و مسیرهای سلولی موثر واقع گردد.

در پژوهش حاضر افزایش بیان ژن GLUT4 نشان داده شده که می‌تواند در برداشت گلوکز نقش به‌سزایی را ایفا کند و گلوکز خون را کاهش دهد. از این رو توصیه می‌گردد که بیماران دیابتی ورزش را به‌عنوان یک نسخه ورزشی کلیدی در سبک زندگی خود قرار داده و از پیشرفت عوارض این بیماری جلوگیری کنند.

گزارش کردند که تمرین ورزشی و عصاره پسته وحشی به‌تنهایی تاثیر معناداری بر بیان ژن GLUT4 عضلانی نداشتند ولی مصرف همزمان عصاره پسته وحشی با تمرین هوازی بر بیان ژن GLUT4 عضلانی اثر معناداری داشت.^{۲۸}

پروتیین GLUT4 یک واسطه مهم و عمده برای برداشت گلوکز از خون می‌باشد که در عضلات اسکلتی و بافت چربی بیان می‌شود.^{۲۹} باید توجه داشت که مقدار GLUT4 و میزان جابه‌جایی آن در تارهای عضلانی، میزان جذب گلوکز در پاسخ به انسولین را تعیین می‌کند و تقریباً پذیرفته شده است که این پروتیین نقش کلیدی در تحمل گلوکز و حساسیت انسولینی دارد.^{۳۰}

آنچه حایز اهمیت است رابطه RBP4 با GLUT4 که در این زمینه Yang و همکاران بیان کرده‌اند کاهش می‌کند که بیان GLUT4 در بافت چربی حیوانات چاق رخ می‌دهد، با افزایش بیان و ترشح فاکتور مشتق از چربی چربی RBP4 همراه است. این عامل، احتمالاً سبب انسداد سیگنالینگ انسولین در عضلات، مهار جذب گلوکز و تولید گلوکز در کبد سبب بالا رفتن سطح قندخون می‌شود.^{۹۵}

موضوعی که اینجا حایز اهمیت است مکانیزم این فاکتورها در بیماران دیابتی است که به‌طور دقیق بررسی نشده و امروزه تاثیر تمرینات ورزشی بر بیان ژن GLUT4 و RBP4 موضوعی است که باید بیشتر مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Ubink-Veltmaat LJ, Damoiseaux RA, Rischen RO, Groenier KH. Please, let my doctor be obese: associations between the characteristics of general practitioners and their patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(10):2560-.
2. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* 2014;103(2):137-49.
3. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care* 2018;41(Suppl 1):S13-27.
4. Graham TE, Yang Q, Blüher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006;354(24):2552-63.
5. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005;436(7049):356-62.
6. Bobbert T, Raila J, Schwarz F, Mai K, Henze A, Pfeiffer AF, et al. Relation between retinol, retinol-binding protein 4, transthyretin and carotid intima media thickness. *Atherosclerosis* 2010;213(2):549-51.
7. Craig RL, Chu WS, Elbein SC. Retinol binding protein 4 as a candidate gene for type 2 diabetes and prediabetic intermediate traits. *Mol Genet Metab* 2007;90(3):338-44.
8. Ribel-Madsen R, Friedrichsen M, Vaag A, Poulsen P. Retinol-binding protein 4 in twins: regulatory mechanisms and impact of circulating and tissue expression levels on insulin secretion and action. *Diabetes* 2009;58(1):54-60.
9. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005;436(7049):356-62.
10. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32 Suppl 2(Suppl 2):S157-63.
11. Walker KZ, Piers LS, Putt RS, Jones JA, O'Dea K. Effects of regular walking on cardiovascular risk factors and body composition in normoglycemic women and women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22(4):555-61.
12. Ramezani N, Gaiini A, Choobineh S, Kordi M, Baesi K. The Effect of resistance training on serum levels of RBP-4 and insulin resistance index in type 2 diabetic male rats. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2017;9(2):147-57.
13. Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Methods Mol Med* 2004;99:55-65.

14. De Bem GF, Da Costa CA, Da Silva Cristino Cordeiro V, Santos IB, De Carvalho LCRM, De Andrade Soares R, et al. Euterpe oleracea Mart. (açai) seed extract associated with exercise training reduces hepatic steatosis in type 2 diabetic male rats. *J Nutr Biochem* 2018;52:70-81.
15. Gundala NKV, Naidu VGM, Das UN. Amelioration of streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus in Wistar rats by arachidonic acid. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;496(1):105-13.
16. Soori R, Fardin Sohrabi F, Choobineh S, Ravasi A-A, Baesi K, Abbasian S. The Effect of 12-Week Aerobic Training on Protein Tyrosine Phosphatase 1B Gene Expression and Insulin Resistance in Diabetic Rats. *J Arak Univ Med Sci* 2017;19(11):57-67.
17. Kilicarslan M, De Weijer BA, Simonytė Sjödin K, Aryal P, Ter Horst KW, Cakir H, et al. RBP4 increases lipolysis in human adipocytes and is associated with increased lipolysis and hepatic insulin resistance in obese women. *FASEB J* 2020;34(5):6099-110.
18. Fan J, Yin S, Lin D, Liu Y, Chen N, Bai X, et al. Association of Serum Retinol-Binding Protein 4 Levels and the Risk of Incident Type 2 Diabetes in Subjects With Prediabetes. *Diabetes Care* 2019;42(8):1574-81.
19. Christou GA, Tselepis AD, Kiortsis DN. The metabolic role of retinol binding protein 4: an update. *Horm Metab Res* 2012;44(1):6-14.
20. Yousefi MR, TaheriChadomeshin H. The effect of moderate endurance training on gastrocnemius retinol-binding protein 4 and insulin resistance in streptozotocin-induced diabetic rats. *Interv Med Appl Sci* 2018;10(1):59-63.
21. Mansouri M, Nikooie R, Keshtkar A, Larijani B, Omidfar K. Effect of endurance training on retinol-binding protein 4 gene expression and its protein level in adipose tissue and the liver in diabetic rats induced by a high-fat diet and streptozotocin. *J Diabetes Investig* 2014;5(5):484-91.
22. Marschner RA, Pinto G, Borges J, Markoski MM, Schaan BD, Lehen AM. Short-Term Detraining does not Change Insulin Sensitivity and RBP4 in Rodents Previously Submitted to Aerobic Exercise. *Horm Metab Res* 2017;49(1):58-63.
23. Flores-Opazo M, McGee SL, Hargreaves M. Exercise and GLUT4. *Exerc Sport Sci Rev* 2020;48(3):110-8.
24. Huang S, Czech MP. The GLUT4 glucose transporter. *Cell Metab* 2007;5(4):237-52.
25. Liang Y, Sheng S, Fang P, Ma Y, Li J, Shi Q, et al. Exercise-induced galanin release facilitated GLUT4 translocation in adipocytes of type 2 diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2012;100(3):554-9.
26. Astorino T, Baker J, Brock S, Dalleck L, Goulet E, Gotshall R, et al. Effect of exercise on GLUT4 expression of skeletal muscle in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Exercise Physiologyonline* 2011;14(4).-22.
27. 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 Univ Sci Technol [Med Sci]* 2005;25(2):191-3
28. Zarekar M, Saghebjoo M, Foadodini M, Hedayati M. Combined effect of aerobic training and pistacia atlantica extract on GLUT-4 protein expression and muscle glycogen in diabetic rats. *Iran J Endocrinol Metabol* 2014;16(4):245-53.
29. Augustin R. The protein family of glucose transport facilitators: It's not only about glucose after all. *IUBMB Life* 2010;62(5):315-33.
30. 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. *J Biomed Sci* 2003;10(6 Pt 2):689-96.

Investigation of the RBP4 and GLUT4 gene expression in skeletal muscle of STZ induced diabetic rats following aerobic exercise training

Hossein Shirvani Ph.D.¹
Ebrahim Fasihi Ramandi M.Sc.^{2*}

1- Exercise Physiology Research Center, Lifestyle Research Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Tehran Kharazmi University, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Tehran Kharazmi University, Tehran, Iran.
Tel: +98-28-34533285
E-mail: e.fasihi95@gmail.com

Abstract

Received: 14 Oct. 2021 Revised: 21 Oct. 2021 Accepted: 14 Mar. 2022 Available online: 21 Mar. 2022

Background: Type2 diabetes is a metabolic disease that is rapidly increasing in the world. GLUT4 and RBP4 are factors that play a role in glucose uptake. This study aimed to investigate the effect of moderate-intensity continuous training on RBP4 and GLUT4 gene expression of soleus muscle in STZ induced diabetic rats.

Methods: This experimental study was conducted between May and September 2016 at Baqiyatallah University of Medical Sciences. In this study, there were 48 8-week-old male Wistar rats (mean weight 250±20) that were randomly divided into four groups: basic control, 12-week control, diabetes, diabetes and moderate continuous training. Diabetes was induced by injection of streptozotocin solution. The training protocol consisted of continuous aerobic training for 12 weeks, five sessions per week in the form of running on a treadmill. After sampling, real-time PCR expression was used to measure gene expression. Statistical analysis was performed by SPSS software, version 22 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) and graphs were drawn using GraphPad Prism, version 8, (GraphPad Software, USA).

Results: According to the results, there was a significant increase in RBP4 in the diabetic group compared to other groups. compared to the two groups of diabetes and diabetes, along with moderate continuous training, RBP4 gene expression was less expressed in diabetic training. Regarding GLUT4, there was a significant difference between diabetes and diabetes groups with training. Also, the expression of the GLUT4 gene in the diabetic group with training was higher than the other groups. According to this study, it was shown that moderate-intensity continuous training somehow reduces the negative effects of diabetes on metabolism and health by activating various cellular and molecular pathways and mechanisms.

Conclusion: the present study showed the effect of moderate-intensity continuous training on the expression of RBP4 and GLUT4 genes in soleus muscle which can be effective in glucose uptake. It was also shown that moderate-intensity continuous training can minimize the complications of diabetes by reducing RBP4 gene expression.

Keywords: aerobic exercise training, diabetes, glucose transporter type 4 (GLUT4), retinol-binding protein 4 (RBP4), soleus muscle.