دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی
سال نهم، جلد نهم، شماره ۱

تغییرات بیان ژن LXRα، GLUT2 کبدی و مقاومت به انسولین پس از تمرین هوازی در موش های نر دیابتی نوع ۲

عباسعلی گایینی*[۱]، نسرین رمضانی[۲]، لیلا شفیعی نیک[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۴

چکیده

هدف: گیرنده ایکس آلفا در متابولیسم گلوکز نقش دارد. از طرف دیگر، انتقال گلوکز در کبد توسط انتقال دهنده شماره ۲ گلوکز انجام می شود. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی تغییرات بیان ژن های گیرنده ایکس آلفا، انتقال دهنده شماره ۲ گلوکز کبدی و شاخص مقاومت به انسولین پس از ۸ هفته تمرین هوازی در موش های صحرایی نر دیابتی نوع۲ طراحی شد.

روش‌شناسی: هجده سر موش صحرایی نر ۸ هفته ای (با میانگین و انحراف معیار وزنی ۱۳/۱±۲۳۳/۶ گرم) به عنوان نمونه پژوهش انتخاب شدند. موش ها با استفاده از داروی نیکوتین آمید و استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. پنج روز پس از تزریق، تست دیابت با نوار قند خون انجام شد. موش های با سطح گلوکز ۱۲۶-۴۰۰میلی گرم/ دسی لیتر به عنوان نمونه انتخاب شدند. موش ها در دو گروه کنترل و تمرین قرار گرفتند. برنامه تمرینی ۸ هفته ای شامل دویدن با سرعت ۱۰-۲۵ متر/دقیقه، شیب ۵٪، به مدت ۱۵-۴۰ دقیقه و ۵ جلسه در هفته بود.

یافته‌ها: القای دیابت باعث افزایش وزن(p=۰/۰۰۱) موش ها شد. وزن عضله نعلی(p=۰/۰۰۱) و مقادیر هموگلوبین گلیکوزیله(p=۰/۰۰۰) در گروه تمرین بطور معنادار بیشتر و مقادیر گلوکز(p=۰/۰۰۰۱)، انسولین(p=۰/۰۰۲) و شاخص مقاومت انسولینی(p=۰/۰۰۲) در گروه تمرین بطور معناداری کم تر بود. تفاوت معناداری در بیان ژن های انتقال دهنده گلوکز و گیرنده ایکس آلفا بین دو گروه پس از مداخله تمرینی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد ۸ هفته تمرین هوازی با شدت ۶۰-۸۰ درصد VO2max می تواند تغییرات متابولیکی مثبت در موش های دیابتی نوع۲ ایجاد کند اما در بیان ژن های انتقال دهنده گلوکز و گیرنده ایکس آلفا کبدی تغییری ایجاد نمی کند.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرین هوازی، انسولین، RT-PCR

۱. استاد فیزیولوزی ورزش دانشگاه تهران ، ۲. دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه تهران
*نشانی الکترونیک نویسندهٔ مسئول: aagaeini@ut.ac.ir

مقدمه

دیابت، یکی از شایع ترین بیماری های متابولیکی است (۱۷). به هم خوردن توازن انرژی و متابولیسم لیپید و گلوکزممکن است منجر به شماری از بیماری ها و دیابت شود (۵). گیرنده های کبدی ایکس (LXRs)، ازجمله فاکتورها ی رونویسی فعال شونده توسط لیگاند متعلق به ابر خانواده گیرنده هورمونی هسته ای هستند، که در فرایند های متابولیسم سلولی، تکثیر سلولی ، تمایز و پاسخ ایمنی درگیرند. ایزوفرم های LXRα و LXRβ با فعال سازی هترودایمر گیرنده های رتینوئید ایکس (RXR) و تشکیل کمپلکس LXR/RXR به یک عنصرپاسخ LXR در ناحیه پروموتورژن های هدف متصل شده و عمل خود را انجام می دهند. در سالهای اخیر، LXRs تنظیم کننده های مهم رونویسی متابولیسم کربوهیدرات ها و لیپیدها شناخته شده اند. ایزوفرم های گیرنده ایکس آلفا و بتا هستند که گیرنده ایکس آلفا در بافت های با فعالیت متابولیکی بالا مثل کبد، طحال، ریه، کلیه، روده و بافت چربی بیان می شود در حالیکه گیرنده ایکس بتا در همه جا بیان می شود (۱۶). گیرنده های کبدی ایکس به عنوان حسگرهای استروئیدی (کلسترولی) عمل می کنند به طوریکه از طریق تحریک انتقال معکوس کلسترول و فعال شدن برگشت اسیدهای صفراوی درکبد از اضافه بار کلسترول سلولی جلوگیری می کنند. همچنین، فعالیت LXRs باعث توقف فعالیت ژن های درگیر در گلوکونئوژنز و القای بیان گلوکوکیناز کبدی و انتقال دهنده گلوکز ۴ (GLUT4[1]) حساس به انسولین و کاهش تولیدگلوکز کبدی می شود (۱۶). فعال شدن LXR میزان قندخون را نیزطبیعی می کند و حساسیت به انسولین و مقاومت به انسولین را در موشهای دیابتی نوع ۲ بهبود می بخشد (۱۶). LXR جذب گلوکز در بافت ها را بهتر می کند. آثار فعالیت LXR بر بیان ژن کبدی مشابه آثار انسولین می باشد (۲۹) و یکی از هدف های مستقیم LXR، ژن SREBP-1c[2] است (۲۹) و ممکن است بسیاری از آثار LXR در کبد پیامد افزایش بیان این ژن باشد. لیگاندهای LXR آثاری مشابه آثار انسولین بر بیان این ژن دارند (۳۴). از آنجایی که بیان گیرنده های ایکس آلفا می تواند با عث تغییرات زیادی در نیمرخ بیان ژنی شود، این ویژگی می تواند قدرت دارویی محسوب شود، بنابراین، شناسایی بیشتر نقش LXR می تواند در تغییر دارویی متابولیسم گلوکز موثر باشد.

از سویی، برداشت گلوکز در کبد توسط انتقال دهنده گلوکز ۲ (GLUT2[3]) انجام می شود (۱۰). بیان ژن GLUT2 به عنوان پروتئینی موثر در سنتز گلیکوژن، در بیماران دیابتی نوع ۱ در شرایط گرسنگی و سیری تغییر کمی می کند. با وجود این، لیبال[4] و همکارانش (۲۰۰۱) گزارش کرده اند اگر مقادیرگلوکز و چربی در هپاتوسیت ها زیاد باشد، مقادیر GLUT2 کاهش می یابد. زمانی که مقادیر GLUT2 کاهش می‌یابد، با تزریق انسولین هم تغییر نمی کند. فعالیت ورزشی پتانسیل تاثیر بر این پروتئین را دارد (۲۱) فعالیت های ورزشی گوناگون مثل تمرینات هوازی و مقاومتی، ذخایر گلیکوژن کبد را افزایش می دهد (۳۱،۲۰،۷). با

1. Glucose transporter 4

2. Sterol Regulatory Element Binding Protein 1c
3. Glucose transporter 2
4. Libal

وجود این، بیماران دیابتی از پرداختن به فعالیت های ورزشی به دلیل خطر هیپوگلیسمی می هراسند. افت قند خون پس از فعالیت های ورزشی می تواند با شدت، مدت و نوع آن ارتباط داشته باشد و با دستکاری این متغیرها می توان موثر ترین و کم خطر ترین نوع فعالیت ورزشی را تجویز کرد (۲۵). در این زمینه برخی مطالعات از GLUT2 و LXR بعنوان شاخص های تاثیر گذاری ورزش بر متابولیسم در بیماران دیابتی استفاده کرده اند. کریستین[1] و همکارانش (۲۰۱۱)، تاثیر هشت هفته تمرین استقامتی را بر بیان ژن GLUT2 بررسی کردند و نتایج نشان داد محتوای GLUT2 در بافت پانکراس افزایش یافت (۱۲). از سوی دیگر، دهقان و همکارانش (۲۰۱۶) گزارش کرده اند ۶ هفته تمرین مقاومتی باعث تغییر بیان ژن GLUT2 در بافت پانکراس نشده است (۱۱). با وجود اثبات آثار مفید فعالیت بدنی در دیابت نوع دوم، آثار مفید احتمالی تمرین استقامتی بر GLUT2 و LXR α در بافت کبد به خوبی معلوم نشده است. بنابراین، پژوهش حاضر در نظر دارد با سنجش مقادیر گلوکز، انسولین، هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c)و بیان ژن پروتئین های گلوکوژنیک درگیر در کنترل گلایسمیک (LXRα و GLUT2)، تاثیر احتمالی تمرین استقامتی و سازوکار اثر آن را در موش های دیابتی نوع ۲ بررسی کند.

روش پژوهش

نمونه حیوانی

تعداد ۱۸ سر موش صحرایی نر ۸ هفته ای نژاد ویستار (میانگین وزنی ۱۳/۱±۲۳۳/۶ گرم) به عنوان نمونه پژوهش انتخاب شدند. این موش ها از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی بقیه الله ایران تهیه شدند. حیوانات در دمای (۲۲±۲ درجه سانتی گراد)، رطوبت بین ۲۵ تا ۳۰ درصد و در چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. همچنین، در مدت پژوهش آب و غذا (پلیت نرمال) به اندازه کافی و آزادانه دریافت کردند. موازین اخلاقی کار با حیوانات مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق در پژهش دانشگاه تهران رعایت شد. پس از انتقال موش ها به آزمایشگاه، القای دیابت و آشنایی با فعالیت ورزشی روی تردمیل مخصوص جوندگان انجام شد. سپس، حیوانات تصادفی به دو گروه تقسیم شدند.گروه ها با توجه به وزن همسان سازی شدند. بر این اساس، ۹ سر موش درگروه دیابتی کنترل و ۹ سر در گروه دیابتی تمرین قرار گرفتند. موش های گروه کنترل در دوره ۸ هفته ای هیچ گونه برنامه تمرینی انجام ندادند، در حالی که همه موش های گروه تمرین یک برنامه تمرینی ۵ روز در هفته را اجرا کردند.

1. Cristian

دیابتی کردن موش ها

دراین مطالعه موش ها با استفاده از داروی نیکوتین آمید و استرپتوزتوسین (stz)[1] دیابتی شدند (۲۲). ابتدا نیکوتین آمید (۹۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش که در محلول سالین حل شد) به روش درون صفاقی تزریق شد و پس از ۱۵ دقیقه، ۵۵ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن موش- stz که در محلول بافر سیترات ۰/۱ مولار با ph ۴/۵ حل شده بود- به روش درون صفاقی تزریق شد. برای تشخیص دیابتی بودن موش ها، ۵ روز پس از تزریق با ایجاد جراحت کوچک توسط لانست در دم حیوان یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد. قند خون اندازه گیری و قند خون ۴۰۰-۱۲۶ میلی گرم در دسی لیتر نشان دهنده دیابتی شدن آنها بود (۲۶).

برنامه تمرینی

تمرین ورزشی در ۱۳ هفتگی موش ها شروع شد. موش های گروه تمرین به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته، یک برنامه تمرین هوازی مبتنی بر اصل اضافه بار (جدول ۱) را اجرا کردند. تواتر تمرینی در دوره تمرین رعایت شد، به طوری که موش ها در هر هفته روزهای شنبه، یکشنبه، سه شنبه، چهارشنبه و پنج شنبه تمرین و روزهای دوشنبه و جمعه استراحت می کردند. موش ها در ۲ هفته اول، هر روز به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و شیب ۵٪ روی نوار گردان فعالیت داشتند. شدت برنامه تمرینی با توجه به هزینه اکسیژن طراحی شده بود و برابر با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و در محدودهٔ ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max) بود (۲۶). پس از دو هفته اول به تدریج، هر ۲ هفته یک بار شدت و مدت فعالیت افزایش یافت و شیب ثابت ماند. در دو هفته آخر، زمان فعالیت به ۴۰ دقیقه و سرعت به ۲۵ متر در دقیقه (به طور تقریبی معادل شدت ۸۰ درصد VO_2max) (۲۶) افزایش پیدا کرد. قبل و بعد از هر جلسه تمرین، ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن در نظر گرفته شد (۲۶). وزن کشی موش ها هفتگی انجام شد. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی موش ها با کتامین (۹۰میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰میلی گرم/کیلوگرم) (۱۳) بی هوش و خون گیری مستقیم از قلب انجام شد.

برای سنجش وزن بدن، وزن عضله نعلی پس از جداسازی و مقدار غذای مصرفی از ترازوی دیجیتال سارتوریس (ساخت کشور آلمان) با حساسیت ۰/۱ گرم استفاده شد. غلظت سرمی انسولین با روش الایزا[2] و با استفاده از کیت انسولین مخصوص رت (Zelbio، ساخت کشور آلمان) و میزان سرمی گلوکز به روش آنزیماتیک (کیت پارس آزمون ساخت ایران) توسط دستگاه اتوآنالایزر تکنیکون RA-1000 (نیویورک، آمریکا) سنجیده شد. سنجش بیان ژن های GLUT2 و LXRα با زمان واقعی واکنش زنجیره ای پلی مراز (RT-PCR[3]) انجام شده که در زیر کامل توضیح داده شده است. همچنین مقاومت به انسولین به روش HOMA-IR، با سنجش انسولین و گلوکز ناشتا طبق فرمول زیر محاسبه شد (۱۸).

(HOMA-IR) index = (fasting insulin[μU/ml] × fasting glucose [mmol/l])/ 22.5

1. Strptozotosin

2. Eliza

3. real time polymerase chain reaction

استخراج RNA و فرآیند RT-PCR

۲۰ میلی گرم بافت کبد به وسیله اسکالتر خرد و وارد میکروتیوپ شد (۱۵). سپس RNA با استفاده از کیت Rneasy protect mini kit (QIAGEN) و مطابق دستورالعمل شرکت از بافت کبد استخراج شد. پس از استخراج RNA، برای اطمینان از کافی بودن غلظت RNA در تهیه cDNA، چگالی نوری (OD[1]) آن توسط دستگاه نانودراپ چک شد. TCF mRNA با روش RT- PCR، به وسیله دستگاه روتورژن ۶۰۰۰ و با استفاده از کیت تک مرحله ای One Step SYBR TAKARA ساخت شرکت تاکارا، مطابق دستور العمل شرکت تعیین شد. تجزیه و تحلیل منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام شد. پروتکل چرخه حرارتی دستگاه روتوژن در RT-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، برای مطالعه ویژگی پرایمرها از دماهای ۵۰ تا ۹۹° برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از RNA Polymrasell به عنوان ژن کنترل برای تعیین بیان ژن ها استفاده شد. CT های مربوط به واکنش‌ها توسط نرم افزار دستگاه RT-PCR استخراج و ثبت گردید. برای کمی سازی بیان TCFmRNA، از روش ΔΔCT مقایسه‌ای استفاده شد. توالی پرایمر های LXR و Glut2 به صورت زیر بود (جدول ۲).

روش آماری

آزمون شاپیروویلک نشان داد که تمامی داده ها از توزیع نرمال برخوردار است. برای توصیف یافته های تحقیق از آمار توصیفی شامل میانگین و خطای معیار میانگین و برای مقایسه تفاوت میانگین متغیرها بین گروه های تمرین و کنترل از آزمون t مستقل استفاده شد. سطح معنادار ی آماری $p<0.05$ در نظر گرفته شد .داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ تحلیل شد.

یافته‌های پژوهش

تفاوت معناداری در بیان ژن های انتقال دهنده گلوکز و گیرنده ایکس آلفا بین دو گروه مشاهده نشد. القای دیابت، افزایش معناداری را در وزن موش ها پس از مدت ۱ ماه ایجاد کرد (شکل۱). وزن عضله نعلی به شکل معناداری در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود (p=۰/۰۰۰۱). هم چنین، مقادیر گلوکز (p=۰/۰۰۰۱)، انسولین (p=۰/۰۰۲) و شاخص مقاومت به انسولین(p=۰/۰۰۲) در گروه تمرین به شکل معناداری کمتر بود (جدول ۳).

[1]. Optimal density

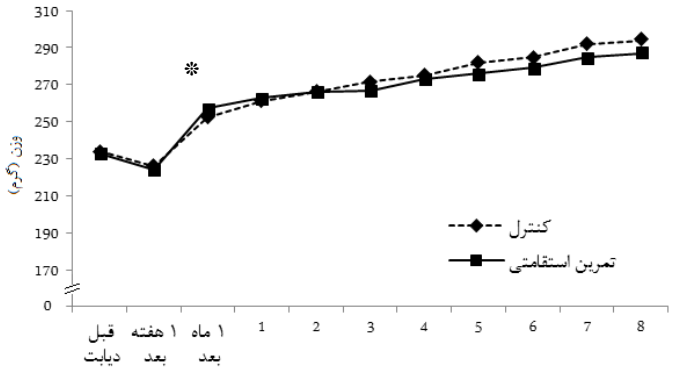
جدول ۱. برنامه تمرین هوازی

هفته	۱ و ۲	۳ و ۴	۵ و ۶	۷ و ۸
سرعت (متر/دقیقه)	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵
مدت (دقیقه)	۱۵	۲۰	۳۰	۴۰

جدول ۲. توالی پرایمرها

فاکتور	توالی پرایمر	
Glut2	F	GCATGTCTGTTACCCCAGGATAG
	R	AGAGGAGTAACAAGCTCAAGGTG
LXR	F	CCTGATGTTTCTCCTGACTC
	R	TGACTCCAACCCTATCCTTA

تفاوت متغیرها بین دو گروه در جدول ۳ نشان داده شد. میانگین وزن در هر دو گروه افزایش یافت. این افزایش در گروه تمرین کم تر اما غیر معنادار بود (شکل ۱).



شکل ۱. وزن موشها به گرم (اعداد ۱ تا ۸ زیر نمودار مربوط به هفته های اول تا هشتم تمرین است).

علامت * نشان دهنده تفاوت معنادار درون گروهی با یک ماه قبل

جدول ۳. اثر تمرین هوازی بر متغیرهای بیوشیمیایی (میانگین ± انحراف معیار)

متغیر	گروه کنترل	گروه هوازی
وزن عضله نعلی (گرم)	۰/۰۸۰±۰/۰۰۸	**۰/۱۰۹±۰/۰۱
غذای مصرفی روزانه (گرم)	۳۴/۴±۲/۹۲	۳۲/۷±۳/۶
گلوکز ناشتایی (میلی گرم/دسی لیتر)	۳۲۴/۵ ±۱۶/۰۴	**۲۳۶±۲۷/۵
انسولین (µmol/L)	۶/۰±۷/۸۳	**۵/۰±۹/۶۶
شاخص مقاومت انسولینی (HOMA-IR)	۶/۰±۸/۷۵	**۵/۲±۲۵/۰۳
بیان ژن GLUT2 در کبد	۰/۹۸±۰/۰۱	۱/۰۲±۰/۵
بیان ژن LXRα در کبد	۱/۱±۰/۲	۱/۶±۰/۴

*سطح معناداری ۰/۰۵؛ **سطح معناداری ۰/۰۱

بحث و نتیجه‌گیری

در بحث بهبود سلامتی و با هدف پیشگیری و درمان، ویژگی غیردارویی بودن مداخلات مؤثر حائز اهمیت است. آثار مفید تمرین ورزشی به عنوان یک روش مداخلهای ساده، کم هزینه و غیردارویی در ابعاد گوناگون سلامتی پذیرفته شده است . در این مطالعه که با هدف بررسی نقش تمرینات هوازی به عنوان عامل غیردارویی بر برخی عوامل اثرگذار بر بیماری دیابت نوع ۲ انجام شد. مطالعه حاضر نشان داد: تزریق نیکوتین آمید و stz دیابت نوع ۲ را القا کرد و باعث افزایش وزن در موش ها شد. همچنین، پس از ۸ هفته تمرین، در هر دو گروه کنترل و تمرین افزایش وزن مشاهده شد. اما، این افزایش در گروه تمرین کم تر بود و تفاوت بین دو گروه معنادار نبود. از سوی دیگر، سنجش وزن عضله نعلی تفاوت معناداری را بین دو گروه نشان داد و در گروه تمرین زیادتر بود. مقادیر گلوگز ، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین در گروه تمرین به شکل معناداری کمتر بود اما بیان ژن های GLUT2 و LXR تغییر معناداری نداشت و به نظر می رسد کاهش مقاومت به انسولین در موش های تمرین کرده به بیان ژن های اندازه گیری شده ارتباطی ندارد و احتمالا به سازکارهای مثبت دیگری از انجام تمرینات هوازی مثل افزایش تخلیه اسید چرب آزاد، افزایش پیام های پس سیناپسی انسولین و فعالیت واسطه های پیام رسانی مثل AMP فعال شده با پروتئین کیناز (AMPK)، افزایش فعالیت مسیر PI3 و MAPK، ساخت نیتریک اکساید آندوتلیال (eNOS) و مهار آنزیم کلیدی گلوکونئوژنز PEPCK و واحد کاتالیکی گلوکز ۶ فسفات، افزایش بیان سوبسترای گیرنده انسولینی و تغییر ساختار عضله مرتبط باشد.

مطالعات قبلی نیز افزایش گلوکز خون، افزایش جبرانی ترشح انسولین و ایجاد مقاومت انسولین با افزایش شاخص HOMA-IR با القای دیابت به وسیله نیکوتین آمید و استرپتوزوتوسین را گزارش کرده اند (۴،۲۸). همچنین، افزایش وزن در گروه تمرین به دلیل افزایش حجم عضلانی

بوده است و با وجود مشابه بودن وزن بدن، دو گروه از لحاظ ترکیب بدنی با هم متفاوت بودند.

کبد اندامی پیچیده است که در فرآیندهای ضروری و حیاتی مثل جذب مواد مغذی، بیوسنتز و ایمنی بدن نقش دارد. یکی از نقش های اصلی کبد، ثابت نگه داشتن قند خون است که در بیماران دیابتی اهمیت دارد. کبد از راه جذب گلوکز و سنتز گلیکوژن می تواند در مواقع فعالیت بدنی یا گرسنگی، قند خون را ثابت نگه دارد (۲۳). جذب گلوکز در کبد از راه GLUT2 انجام می شود (۸). GLUT2 در چند بافت وجود دارد، اما بیشترین مقدارآن در هپاتوسیت‌ها و سلول‌های بتای پانکراس بیان می شود (۳۳). GLUT2 ، به رغم آنکه بیشترین ظرفیت جذب گلوکز را دارد، اما میل ترکیبی آن نسبت به گلوکز در مقایسه با دیگر ایزومرهای GLUT کم است و در شرایطی که مقادیر گلوکز خون کم است مانع از هیپوگلیسمی می شود (۸).

مطالعات نشان داده اند گلوکز بیان mRNA ژن گلوکز (GLUT2) کبدی را افزایش می دهد. اثر وابسته به دوز گلوکز بر بیان GLUT2 کبدی نشان داده شد. همچنین، ارتباط بین غلظت گلوکز خارج سلول و غلظت mRNA GLUT2 به سادگی بازتاب فعال سازی متابولیسم گلوکز است. در نتیجه، متابولیسم مناسب گلوکز برای القای مناسب ژن GLUT2 در کبد مورد نیاز است. واسطه ها و مکانیسم مسئول این پاسخ هنوز مشخص نیست .گزارش شده است گلوکز تنظیم بیان چندین ژن را برعهده دارد مثل پیرووات کیناز کبد، سنتز انسولین و سنتز اسید چرب (۳۲،۲۴،۱۹،۹). در مطالعه حاضر، بیان ژن GLUT2 به عنوان پروتئینی که مستقیم در مسیر سنتز گلیکوژن نقش دارد، سنجیده شد تا بررسی شود آیا تمرین هوازی می تواند ظرفیت بیان این ژن را در کبد را افزایش دهد یا خیر؟ یافته ها نشان داد بیان ژن GLUT2 کبد دچار تغییر نشده است. این نتیجه با نتیجه مطالعه ماری[1] و همکارانش (۲۰۱۵) همسو است. در این مطالعه، تاثیر ۱۰ هفته تمرین هوازی با شدت ۷۰-۸۰ درصد vo_2max، در موش های دیابتی نوع ۱ بر محتوای گلیکوژن کبد بررسی شد و نتایج نشان داد تمرین نتوانسته کمبود گلیکوژن کبد را در موش های دیابتی نوع ۱ بهتر کند و محتوای GLUT2، گلوکوکیناز (GK) و فسفو انول پیروات کربوکسی کیناز (PEPCK) کبدی را تغییر دهد (۶). همچنین، یافته های مایهو[2] و همکارانش (۲۰۱۲) نیز در راستای یافته های این مطالعه قرار می گیرد. آن ها گزارش کردند ۱۲ هفته تمرین هوازی روی تردمیل ترشح انسولین را در پانکراس افزایش داده اما، باعث تغییر در بیان ژن GLUT2 در پانکراس موش های غیر دیابتی نشده است (۲۲). به نظر می رسد که GLUT2 عامل اثرگذار بر جذب گلیکوژن در افراد سالم نمی باشد (۳۰). با وجود این، مطالعه در موش های دیابتی نوع ۲ نشان می دهد تمرین استقامتی پروتئین GLUT2 در کبد را افزایش می‌دهد که با یافته های مطالعه حاضر همسو نمی باشد (۹). در مطالعه حاضر با توجه آنکه مقادیر گلوکز خون در موش های تمرین کرده کم تر از موش های گروه کنترل بوده و گلوکز به عنوان عاملی که در تولید GLUT2 نقش دارد، مقادیر GLUT2 در

1. Mary
2. Mihuo

موش های تمرین کرده تغییر نکرده است. از سوی دیگر، ممکن است GLUT2 عامل اثرگذار بر انتقال گلوکز در کبد موش های دیابتی نوع ۲ نباشد و برای ذخیره گلیکوژن مورد نیاز نباشد. با وجود این، کریستین و همکارانش (۲۰۱۱) گزارش کرده اند ۸ هفته تمرین استقامتی در موش های دیابتی محتوای GLUT2 پانکراس را در یک روش وابسته به دوز تمرینی افزایش داده و موش هایی که ۵ روز در هفته تمرین کرده اند محتوایGLUT2 پانکراس شان در مقایسه با موش هایی که ۱ یا ۳ روز تمرین کرده اند افزایش زیادتری نشان داده اند (۱۲). بنابراین، به نظر می رسد پاسخ GLUT2 به تمرین در بافت ها متفاوت می باشد.

LXR ها تنظیم کنندهای کلیدی هموستاز گلوکز و لیپولیز هستند (۱۶،۱). گزارش شده است القای آگونیست های LXR در موش های چاق ناشی از رژیم پرچرب باعث افزایش تحمل گلوکز در هپاتوسیت ها شده است. این تاثیر از راه سرکوب گلوکونئوزنز در هپاتوسیت ها و افزایش برداشت گلوکز در بافت چربی انجام می شود (۱). فعال شدن LXR (به وسیله T۰۹۰۱۳۱۱۷) در فعالیت ورزشی درمانده ساز با تغییر سوخت غالب به اسید چرب، افزایش مصرف تری گلیسرید داخل عضلانی و اکسایش چربی باعث جلوگیری از هایپوگلیسمی شد (۲). این آثار مثبت بر متابولیسم باعث شد LXR به عنوان هدف مناسب درمان بیماری های متابولیکی مانند سندروم متابولیک، دیابت و ... مطرح شود (۱۵). فعالیت ورزشی را می توان یکی از عوامل تاثیر گذار بر بیان LXR در نظر گرفت. زیرا برخی مطالعات به ارتباط بین عوامل گیرنده ای کبدی با PGC-1α[1] اشاره کرده اند (۲۷). بدین معنا که با افزایش PGC-1α ، بیان ژن عوامل گیرنده هسته ای نظیر LXR افزایش می یابد و از آنجایی که افزایش PGC-1α به دنبال فعالیت ورزشی ثابت شده است بنابراین احتمالا با انجام فعالیت ورزشی بیان ژن LXR افزایش خواهد یافت (۲۷،۳). مطالعات درباره تاثیر فعالیت ورزشی بر بیان LXRα خیلی کم است. حسنوند و همکارانش تاثیر تمرینات تناوبی شدید و تداومی بر بیان ژن های LXRα و LXRβ در بافت کبد را مورد بررسی قرار دادند (۲۷). نتایج وی نشان می دهد تمرین تداومی تاثیر معناداری بر بیان ژن LXRβ ندارد، اما هر دو نوع تمرین (تناوبی شدید و تداومی) باعث افزایش بیان ژن LXRα شدند. تاثیر تمرین تناوبی شدید در مقایسه با گروه کنترل معنادار بود، اما تفاوت بین دو گروه تمرین معنادار نبود (۲۷). نتایج این پژوهش با پژوهش حاضر همسو است، زیرا در هر دو پژوهش تمرین هوازی تداومی نتوانسته بیان ژن LXR را افزایش دهد. در مطالعه دیگری، کاظمی نسب و همکارنش به بررسی تاثیر ۴ هفته تمرین هوازی بر نیمرخ لیپیدی و گیرنده های کبدی در رت های نر نژاد ویستار پرداختند. نتایج این پژوهش افزایش گیرنده کبدی ایکس آلفا، افزایش معنادار HDL و کاهش کلسترول را در رت ها نشان داد (۱۴). احتمالا دلیل تضاد نتایج این پژوهش با پژوهش حاضر تفاوت در نمونه پژوهش است زیرا موش های پژوهش

1. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1α

حاضر دیابتی اما در پژوهش کاظمی نسب و همکارانش موش ها سالم بودند. همچنین، تفاوت در پروتکل تمرین نیز می تواند عامل دیگر تفاوت در نتایج باشد.

نتیجه گیری

تمرین هوازی با شدت متوسط می تواند تغییرات متابولیکی مثبت در موش های دیابتی نوع۲ ایجاد کند و به عنوان یک عامل مداخله غیر دارویی اهمیت به سزایی داشته باشد.

حامی

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی شماره ۴۵۴۰۰۹/۱/۱۱ مورخ ۹۵/۱۲/۰۸ مصوب دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران است.

تضاد منافع

در این مقاله تضاد منافع برای نویسندگان وجود ندارد.

منابع

1. Archer A, Laurencikiene J, Ahmed O, Steffensen KR, Parini P, Gustafsson J-Å, et al. Skeletal muscle as a target of LXR agonist after long-term treatment: focus on lipid homeostasis. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2013;306(5):E494-E502.
2. Baranowski M, Zabielski P, Błachnio-Zabielska A, Harasiuk D, Górski J. LXR activation prevents exhaustive exercise-induced hypoglycaemia and spares muscle glycogen but does not enhance running endurance in untrained rats. Acta Physiologica. 2011;201(3):373-9.
3. Cacho J, Sevillano J, de Castro J, Herrera E, Ramos MdP. Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2008;295(5):E1269-E76.
4. Carvalho AL, DeMambro VE, Guntur AR, Le P, Nagano K, Baron R, et al. High fat diet attenuates hyperglycemia, body composition changes, and bone loss in male streptozotocin-induced type 1 diabetic mice. Journal of cellular physiology. 2018;233(2):1585-600.
5. Cazzo E, Jimenez LS, Gestic MA, Utrini MP, Chaim FHM, Chaim FDM, et al. Type 2 Diabetes Mellitus and Simple Glucose Metabolism Parameters may Reliably Predict Nonalcoholic Fatty Liver Disease Features. Obesity surgery. 2018;28(1):187-94.
6. Corcoran MP, Lamon-Fava S, Fielding RA. Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance: effect of dietary fatty acids and exercise–. The American journal of clinical nutrition. 2007;85(3):662-77.
7. De Carvalho AK, da Silva S, Serafini E, de Souza DR, Farias HR, de Bem Silveira G, et al. Prior Exercise Training Prevent Hyperglycemia in STZ Mice by Increasing Hepatic Glycogen and Mitochondrial Function on Skeletal Muscle. Journal of cellular biochemistry. 2017;118(4):678-85.
8. Dihingia A, Ozah D, Ghosh S, Sarkar A, Baruah PK, Kalita J, et al. Vitamin K1 inversely correlates with glycemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes (T2D) and positively regulates SIRT1/AMPK pathway of glucose metabolism in liver of T2D mice and hepatocytes cultured in high glucose. The Journal of nutritional biochemistry. 2018;52:103-14.
9. Giffhorn-Katz, S. and Katz, N. R. (1986) Eur. J. Biochem. 159, 513–518.
10. Melloul, D., Ben-Neriah, Y. and Cerasi, E. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90, 3865–3869
11. Guillam M-T, Dupraz P, Thorens B. Glucose uptake, utilization, and signaling in GLUT2-null islets. Diabetes. 2000;49(9):1485-91.
12. Hansen E, Landstad BJ, Gundersen KT, Torjesen PA, Svebak S. Insulin sensitivity after maximal and endurance resistance training. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2012;26(2):327-34.
13. Janke J, Engeli S, Boschmann M, Adams F, Böhnke J, Luft FC, et al. Retinol-binding protein 4 in human obesity. Diabetes. 2006;55(10):2805-10.
14. Karaca, T., S. Demirtas, and D. Uzun Goren. Pendrin and sodium/iodide symporter protein expression in the testicular tissue of normal and diabetic rats in prepubertal and post pubertal stages. Iranian journal of veterinary research 19.4 (2018): 255.

15. Kazeminasab F, Marandi M, Esfarjani F, Moshtaghian J. The Effect of Endurance Training on Lipid Profile and Expression Level of Liver X Receptor α Gene in Male Wistar Rats. Genetics in the 3rd millennium. 2017;10(2):714-2721.
16. Korach-André M, Gustafsson J-Å. Liver X receptors as regulators of metabolism. Biomolecular concepts. 2015;6(3):177-90.
17. Laffitte BA, Chao LC, Li J, Walczak R, Hummasti S, Joseph SB, et al. Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003;100(9):5419-24.
18. Lotfi MH, Saadati H, Afzali M. Prevalence of diabetes in people aged≥ 30 years: the results of screen-ing program of Yazd Province, Iran, in 2012. Journal of research in health sciences. 2013;14(1):88-92.
19. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia 1985;28:412-9.
20. Mul JD, Stanford KI, Hirshman MF, Goodyear LJ. Exercise and regulation of carbohydrate metabolism. Progress in molecular biology and translational science. 135: Elsevier; 2015. p. 17-37.
21. Nickels JZ. The effect of insulin treatment and exercise modality on skeletal muscle fiber size in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. 2017.
22. Pierre W, Gildas AJH, Ulrich MC, Modeste W-N, azTélesphore Benoît N, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Bersama engleriana leaves in nicotinamide/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. BMC complementary and alternative medicine. 2012;12(1):264.
23. Pillon Barcelos R, Freire Royes LF, Gonzalez-Gallego J, Bresciani G. Oxidative stress and inflammation: liver responses and adaptations to acute and regular exercise. Free radical research. 2017;51(2):222-36.
24. Rencurel, f., Waeber, G., Antoine, B., Rocchiccioli, F., Maulard, P., Girard, J., & Leturque, A. (1996). Requirement of glucose metabolism for regulation of glucose transporter type 2 (GLUT2) gene expression in liver. Biochemical Journal, 314(3), 903-909.
25. Ried-Larsen M, MacDonald CS, Johansen MY, Hansen KB, Christensen R, Almdal TP, et al. Why prescribe exercise as therapy in type 2 diabetes? We have a pill for that! Diabetes/metabolism research and reviews. 2018:e2999.
26. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen M-C, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. Cardiovascular diabetology. 2007;6(1):38.
27. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen M-C, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. Cardiovascular diabetology. 2007;6(1):38.
28. Soori R, Choobine S, Akbarnejed A. The effect of eight weeks of high intensity interval training on gene expression of liver X receptors (LXR) in Wistar male rats. Yafte. 2017;19(4).
29. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul C, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. Pharmacological research. 2005;52(4):313-20.

30. Su W, Peng J, Li S, Dai Y-b, Wang C-j, Xu H, et al. Liver X receptor α induces 17β-hydroxysteroid dehydrogenase-13 expression through SREBP-1c. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2017;312(4):E357-E67.
31. Thorens B, Mueckler M. Glucose transporters in the 21st Century. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2009;298(2):E141-E5.
32. Trefts E, Williams AS, Wasserman DH. Exercise and the regulation of hepatic metabolism. Progress in molecular biology and translational science. 135: Elsevier; 2015. p. 203-25.
33. Wang J, Gu W, Chen C. Knocking down Insulin Receptor in Pancreatic Beta Cell lines with Lentiviral-Small Hairpin RNA Reduces Glucose-Stimulated Insulin Secretion via Decreasing the Gene Expression of Insulin, GLUT2 and Pdx1. International journal of molecular sciences. 2018;19(4):985.
34. Vaulont, S., Munnich, A., Decaux, J. F. and Kahn, A. (1986) J. Biol. Chem. 261, 7621–7625
35. Zhou Y, Yu S, Cai C, Zhong L, Yu H, Shen W. LXRα participates in the mTOR/S6K1/SREBP-1c signaling pathway during sodium palmitate-induced lipogenesis in HepG2 cells. Nutrition & metabolism. 2018;15(1):31.

Metabolism and Exercise
A bioannual journal

Vol 9, Number 1, 2019

University Of Guilan

Changes of LXR α, GLUT2 genes expression in liver and insulin resistance after aerobic training in type 2 diabetic rats

Gaeini AA[1*], Ramezani N[2], Shafiei Neek L[2]

Received: 8/4/2019 Accepted: 25/12/2019

Abstract

Aim: Background: The liver xα receptor (LXRα) participates in glucose metabolism. On the other hand, glucose transfer in liver by glucose transporter 2 (GLUT2). Therefore, this study was designed to examine the changes of LXRα, GLUT2 genes expression in liver and insulin resistance after 8 weeks of aerobic training in type 2 diabetic rats.

Method: Eighteen male 8-weeks-old Wistar rats were selected as research sample. Diabetes was induced by nicotinamide and streptozotocin. Five days after diabetes induction, fasting blood glucose was measured using blood glucose strips. Rats with fasting blood glucose between 126-400 mg were selected as diabetic. Rats were divided into two groups: control and training. The training program was running with the speed of 10–25 m/min for 15-40 min/day, 5% slope, 5 days a week for 8 weeks.

Results: Diabetes induction resulted in significant increase in body weight (p=0.001). Training group had higher muscle weight (p=0.001) and HbA1c (p=0.001) but lower glucose (p=0. 001), insulin (p=0.002) and insulin resistance index (p=0.002). LXRα and GLUT2 gene expressions were not different significantly.

Conclusion: It seems that 8 weeks aerobic training with 60-80% of vo_2max can induce some positive metabolic changes in diabetic rats but did not induce any significant changes in LXRα and GLUT2 genes expression in liver tissue.

Keywords: Diabetes, Aerobic training, Insulin, RT-PCR

1. Professor in Exercise Physiology, University of Tehran, 2. PhD in Exercise Physiology, University of Tehran

*****Email: aagaeini@ut.ac.ir