DOI: 10.22100/jkh.v14i1.2151

مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

مقاله پژوهشی

تأثیر ۱۲ هفته تمرینات تناوبی شدید (HIIT) بر بیان ژن MTNR1B و سطوح انسولین و گلوکز در رت‌های دیابتی نوع ۲

محمد رشیدی*[۱]، مجتبی ایزدی[۲]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد سمنان، دانشگاه آزاد اسلامی، سمنان، ایران.

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد ساوه، ساوه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۹، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۲/۲۷

چکیده

مقدمه: *ژن MTNR1B با میزان ابتلا به دیابت نوع ۲ مرتبط است و افزایش بیان آن خطر دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرینات تناوبی شدید بر بیان ژن MTNR1B و گلوکز و انسولین ناشتا در رت‌های نر ویستار مبتلابه دیابت نوع ۲ است.*

مواد و روش‌ها: *دراین مطالعه از ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰±۲۲۰گرم، استفاده شد. در طول دوره در شرایط استاندارد یعنی دمای ۳±۲۲ سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ درصد و دوره‌های ۱۲ ساعته متوالی نور و تاریکی نگهداری شدند. رت‌ها به سه گروه تقسیم شدند. القای دیابت از طریق محلول نیکوتین آمید و STZ انجام شد و برنامه تمرینی برای یک دوره تمرینات تناوبی شدید به مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته بود. غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ‌سنجی گلوکز اکسیداز، انسولین به روش الیزا و بیان ژن به روش RT-Real time PCR اندازه‌گیری شد.*

نتایج: *برنامه تمرینی به کاهش سطوح گلوکز ناشتا و افزایش سطوح انسولین سرم نسبت‌به گروه دیابتی کنترل منجر شد (P=۰/۰۰۱). از طرفی، اجرای تمرینات تناوبی شدید بیان ژن MTNR1B در بافت پانکراس را به میزان ۳۹ درصد نسبت‌به گروه کنترل دیابتی کاهش داد (P=۰/۰۲۳). ارتباط معکوس و معنی‌داری بین سطوح نسبی بیان MTNR1B و سطوح نسبی انسولین سرم در گروه اینتروال نسبت‌به کنترل مشاهده شد (P=۰/۰۳۹، r=۰/۸۴).*

نتیجه‌گیری: *نتایج این مطالعه نشان داد که دوازده هفته ورزش تناوبی شدید باعث کاهش گلوکز خون و افزایش سرم انسولین و کاهش بیان ژن MTNR1B در بافت پانکراس می‌شود.*

واژه‌های کلیدی: بیان ژن MTNR1B، رت‌های دیابتی نوع ۲، تمرینات تناوبی شدید، سطوح گلوکز، سطوح انسولین.

نویسنده مسئول: سمنان، کیلومتر ۵ جاده سمنان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان، گروه تربیت بدنی. **تلفن:** ۰۲۳۳۳۶۲۵۲۹۲، **نمابر:** ۰۲۴۳۳۴۴۹۵۵۳، **Email:** Mrashidi48@yahoo.com

ارجاع: رشیدی محمد، ایزدی مجتبی. تأثیر ۱۲ هفته تمرینات تناوبی شدید (HIIT) بر بیان ژن MTNR1B و سطوح انسولین و گلوکز در رت‌های دیابتی نوع ۲. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۸؛۱۴(۱):۲۸-۳۵.

مقدمه

دیابت نوع دو یک بیماری چند علتی است به‌طوری‌که هر دو فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در شیوع و گسترش آن مؤثرند (۱–۲). شیوه زندگی کم تحرک، رژیم غذایی نامناسب و تکنولوژی جدید همگی به کاهش فعالیت بدنی که عامل اصلی مشکلات سلامت عمومی، کاهش هزینه انرژی همراه با افزایش انرژی جذبی است، منجر می‌شوند و پیامد آن افزایش وزن و افزایش ریسک سلامت قلبی–عروقی است (۳). دیابت نوع دو به‌واسطه کنش‌های پیچیده‌ای از فاکتورهای ژنتیکی و الگوی فعالیت زندگی ایجاد می‌گردد (۴) و یک تاریخچه خانوادگی از دیابت نوع دو با کاهش آمادگی فیزیکی و افزایش خطر بروز بیماری مرتبط است (۷–۵). در طول سال‌های اخیر، محققان حدود ۷۰ واریانت خطر ژنتیکی مؤثر در شیوع دیابت را کشف نموده‌اند در مطالعات اخیر MTNR1B ژن مستعد دیابت شناخته شده است (۱۵–۸)، ژن MTNR1B با میزان ابتلا به دیابت نوع۲ مرتبط است و افزایش بیان آن خطر دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد (۱۵–۸). اشخاص دارای خطر گسترش دیابت نوع دو به شدت از اثرات سودمند مداخله‌های غیر دارویی نظیر رژیم غذایی و ورزش بهره می‌برند (۱۶ و ۱۷).

از این‌رو مراقبت از افراد دیابتی یک موضوع پیچیده بوده و نیازمند یک سری مداخلات برای بهبود کنترل گلیسمی می‌باشد در همین راستا فعالیت جسمانی و ورزش در طول چند دهه، به‌عنوان یکی از ارکان اساسی مراقبت و مدیریت دیابت مطرح بوده است که هزینه اندک و ماهیت غیر دارویی فعالیت جسمانی، اهمیت درمانی آن را افزون‌تر می سازد. تصور بر این است که فعالیت ورزشی به‌وسیله‌ی کاهش سطح لیپیدهای پلاسمایی و گلوکز خون، کاهش استرس اکسایشی و افزایش حساسیت انسولینی موجب بهبود و تعدیل عوارض ناشی از دیابت می گردد (۱۸) همچنین، فعالیت ورزشی از راه کاهش توده‌ی چربی احشایی و به دنبال آن کاهش رهایی سایتوکین‌های پیش التهابی و ایجاد محیطی ضدالتهابی در کنترل بیمارهای مرتبط با التهاب، نظیر دیابت نقشی اساسی دارد (۱۹). براساس مطالعات موجود، به این نتیجه رسیدند که بیماران دیابتی باید در برنامه‌های طراحی شده ورزشی شرکت نمایند و بیشتر نتایج مطالعات آزمایشگاهی تأثیر تمرینات ورزشی را برای این بیماران تضمین می‌نماید (۲۰). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت، توصیه‌های ورزشی به بیماران دیابتی نوع دو ارایه شده است، در این مطالعه دانشکده طب ورزشی آمریکا و انجمن دیابت آمریکا به بیماران دیابتی نوع دو توصیه می‌کنند که در هفته حداقل ۱۵۰ دقیقه تمرینات ورزشی متوسط و تمرینات مقاومتی با دو یا سه جلسه در هفته شرکت نمایند (۲۱). در مطالعه‌ای دیگر دانشکده طب ورزشی آمریکا و انجمن دیابت آمریکا حداقل ۱۵۰ دقیقه فعالیت هوازی شدید و متوسط در هفته را توصیه می‌کنند (۲۲) از طرفی، برخی محققان به اثرات سودمند ورزش‌های نسبتاً شدید با رعایت برخی استراتژی‌ها بر هموستاز گلوکز در این بیماران اشاره نموده‌اند و مطالعات گسترده‌ای در این زمینه در حال اجراست (۲۳–۲۴). به‌طوری‌که اثرات سودمند تمرینات تناوبی شدید در کانون توجه محققان علوم تندرستی قرار گرفته است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که برخی سازگاری‌های بهینه ناشی از تمرینات استقامتی طولانی مدت سنتی به‌دست می‌آید در پاسخ به تمرینات HIIT با حجم دوره تمرینی کمتر به مراتب سریع‌تر حاصل می‌شود (۲۵). برای مثال، مشخص شده است که دو هفته تمرینات HIIT روی دوچرخه کارسنج با کاهش معنی‌دار هایپرگلیسیمی‌در بیماران دیابتی نوع دو همراه است (۲۷–۲۶). همچنین تمرینات اینتروال در قالب پیاده‌روی‌های شدید با بهبود عملکرد انسولین و ظرفیت متابولیک عضلات اسکلتی (۲۸) و بهبود عملکرد سلول‌های بتا (۲۹) در این بیماران همراه است. برخی مطالعات، هر دو تمرینات منظم کم شدت (۳۱–۳۰) و تمرینات HIIT (۳۳–۳۲) با بهبود در حساسیت انسولین همراه بوده‌اند. اگرچه برخی محققان اشاره نموده‌اند که حساسیت انسولین در پاسخ به تمرینات HIIT (۳۴) و تمرینات کم شدت (۳۶–۳۵) دستخوش تغییرات محسوسی نمی‌شوند. در مطالعه دیگری بهبود قابل ملاحظه‌ای در هر دو عملکرد سلول‌های بتا و مقاومت انسولین در پاسخ به هشت هفته تمرینات HIIT مشاهده شد (۳۷). تمرینات با شدت متوسط و بالا ممکن است منجر به بهبودی مشابه‌ای در آمادگی جسمانی و عملکرد بدنی افراد دیابتی شود (۳۸) اگرچه محققان این یافته‌های متناقض را به تفاوت در نوع، شدت، مدت برنامه‌های تمرینی یا ابزار اندازه‌گیری نسبت داده‌اند، اما به نظر می‌رسد که جدا از عوامل محیطی یا هورمونی، عواملی دیگری نظیر تغییرات در بیان ژن یا پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی نیز در شیوع یا بهبود فاکتورهای تعیین‌کننده دیابت اهمیت دارند. لذا باتوجه به نقش MTNR1B و واریانت‌های آن بر شیوع دیابت نوع ۲ که اخیراً توسط مطالعاتی نیز گزارش شده است (۸، ۳۹–۱۴ و ۴۰–۱۵)، پاسخ به این سؤال که آیا تغییر در بیان این ژن یا واریانت‌های آن به‌واسطه‌های مداخلات بیرونی با تغییر در سطوح انسولین و گلوکز خون که از تعیین کننده‌های دیابت نوع ۲ هستند همراه است از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این زمینه، مطالعاتی براساس تمرینات ورزشی مختلف بر بیان MTNR1B صورت نگرفته است. علیرغم این یافته‌ها که تأثیر تمرینات تناوبی شدید را برروی افراد دیابتی مورد بررسی قرار داده است، تاکنون مطالعه‌ای که نقش مستقیم تمرینات تناوبی شدید را بر بیان MTNR1B در سلول‌های بتا همچنین ارتباط آن با تغییرات گلوکز و انسولین در جمعیت‌های دیابتی نوع ۲ را دنبال نماید به چشم نمی‌خورد، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرینات تناوبی شدید (HIIT) بر بیان ژن

MTNR1B و گلوکز و انسولین ناشتا در رت‌های نر ویستار مبتلابه دیابت نوع ۲ است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع بنیادی و روش آن تجربی می‌باشد. جامعه آماری تحقیق حاضر را کلیه رت‌های نر ویستار انستیتو پاستور ایران تشکیل می‌دهند که از بین آنها ۳۰ سر رت نر ۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۲۰±۲۰ گرم (در ابتدا) خریداری شدند. در ادامه رت‌های صحرایی مورد مطالعه که همگی از ویژگی‌های فیزیکی و سنی مشابهی برخوردار بودند، به شیوه تصادفی در ۳ گروه همسان قرار گرفتند.

نکته ۱: در همه گروه‌ها منظور از دیابت، دیابت نوع ۲ است.

نکته ۲: در کلیه مراحل، شیوه القای دیابت نوع ۲ به‌صورت طریق تزریق نیکوتین آمید و STZ انجام گرفت که متعاقباً توضیح داده خواهد شد (۳۹-۳۸)

گروه اول (گروه کنترل سالم): این گروه عبارتند از ۱۰ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای که در هیچ برنامه تمرینی شرکت ندا شتند و همزمان با گروه‌های تمرین کرده تشریح شدند.

گروه دوم (گروه کنترل دیابتی): این گروه عبارتند از ۱۰ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای که از طریق تزریق نیکوتین آمید و STZ دیابتی شدند و در هیچ برنامه تمرینی شرکت نداشتند و همزمان با گروه‌های تمرین کرده تشریح شدند.

گروه سوم (گروه دیابتی با تمرینات تناوبی شدید): این گروه عبارتند از ۱۲ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای که از طریق تزریق نیکوتین آمید و STZ دیابتی شدند و از هفته یازدهم در یک دوره تمرینات تناوبی شدید (High intensity interval training) به مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته در قالب دویدن روی تریدمیل با تکرارهای یک دقیقه‌ای و استراحت فعال دو دقیقه‌ای بین هر تکرار شرکت کردند. همه رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تشریح شدند. برنامه تمرین تناوبی در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- برنامه تمرین تناوبی شدید روی نوارگردان

هفته	تعداد تکرار	زمان تکرار (دقیقه)	شدت فعالیت (متر بر دقیقه)	استراحت فعال (دقیقه)	شدت استراحت فعال (متر بر دقیقه)
اول	۱۰	۱	۱۶	۲	۱۰
دوم و سوم	۱۰	۱	۲۰	۲	۱۰
چهارم و پنجم	۱۰	۱	۲۵	۲	۱۲
ششم و هفتم	۱۰	۱	۳۰	۲	۱۲
هشتم و نهم	۱۰	۱	۳۳	۲	۱۴
دهم تا دوازدهم	۱۰	۱	۳۶	۲	۱۴

نهایتاً ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌های سه گروه در حالت ناشتا (۱۰ تا ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه)، پس از القای بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، مورد جراحی قرار گرفتند.

پس از یک شب ناشتایی، برای القای دیابت نوع ۲، ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن رت، به‌صورت صفاقی تزریق شد؛ پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات با PH=۴/۵ نیز به‌صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق شد (۴۱). ۷۲ ساعت پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا به‌وسیله کیت گلوکومتر (ACON Laboratories, Inc. USA) اندازه‌گیری و قند خون بالای ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت نوع ۲ در نظرگرفته شد (۴۲). برای اندازه‌گیری گلوکز از روش گلوکز اکسیداز و برای اندازه‌گیری انسولین سرم از روش الیزا استفاده شد.

رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت بدنی در اطاقی به ابعاد ۱/۶۰ در ۲/۲۰ متر در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) دما (۳±۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. تعداد سه تا پنج عدد رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. در سرتا سر دوره تحقیق رت‌ها توسط یک نفر نیز جابجا و دستکاری شدند.

جمع‌آوری نمونه خون و بافت: در این مطالعه از ۱۰ سر رت موجود در هر گروه تعداد هشت سر رت برای هر گروه مورد مطالعه مولکولی قرار گرفتند طوری‌که ۵ سی‌سی خون محیطی از افراد گرفته شد و به روش گلوکز اکسیداز با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران اندازه‌گیری شد. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری (Demeditec Diagnostic insulin ELIZA) ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد. همچنین پس از تشریح، بافت پانکراس

نمونه‌برداری و به نسبت یک به ۴ در مایع حاوی RNAlaterTM جهت اندازه‌گیری بیان ژن MTNR1B ذخیره شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر از روش Real Time-PCR استفاده شد. بافت‌های پانکراس (لوزالمعده) در محلول خنثی فرمالین ۱۰ درصد (حجمی/حجمی) (Sigma-Aldrich)، تثبیت، در ادامه جهت غوطه‌وری در پارافین برش داده می‌شوند (۵ میکرومتر). برای تجزیه و تحلیل ایمنوهیستوشیمی، برش‌ها با آب اکسیژنه ۳٪ در متانول به مدت ۱۵ دقیقه تیمار می‌شوند، اسلایدها سپس در بافر سیترات (M; pH 6.0/۰۱) غوطه‌ور می‌شوند و برای ۲۵ دقیقه در ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام بخار انکوبه شد. سپس اسلایدها در بافر تریس – سالین با Tween20 0.01% شستشو داده شده و در محلول بلوکینگ (متوقف‌کننده) (BSA in TBST ٪۵) برای ۱ ساعت در دمای اتاق جهت توقف پیوندهای غیراختصاصی انکوبه شد.

RNA توسط کیت(QIAGEN) Rneasy protect mini kit از بافت پانکراس مطابق با دستورالعمل شرکت استخراج شد. به‌طوری‌که ۲۰ میلی‌گرم از بافت را با استفاده از اسکالپر خرد نموده و وارد میکروتیوپ می‌کنیم و سپس RNA با استفاده از کیت RNeasy Protect مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده آلمانی استخراج شد.

پس از استخراج RNA، برای اطمینان از کافی بودن غلظت RNA در تهیه cDNA، OD آن توسط دستگاه نانودراپ چک کرده شد.

تعیین MTN mRNA توسط RT-Real time PCR به‌وسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا مطابق با دستورالعمل شرکت استفاده گردید. تجزیه و تحلیل 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 سانتی‌گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از RNA Polymrasell به‌عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان MTNR1B استفاده گردید. CTهای مربوطبه واکنش‌ها توسط نرم‌افزار دستگاه Real time-PCR استخراج و ثبت گردید. جهت کمی‌سازی بیان MTNmRNA، از روش ΔΔCT مقایسه‌ای استفاده گردید. الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش در جدول ۲ آمده است.

ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول	زمان به دقیقه	بانک ژن
MTNR1B	For: TTGCTGTGGTGTCCTTTTGC Rev: GCAAGGCCAATACAGTTGAGG	181 bp	60	NM_001100641.1
RNA PolymraseII	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	164 bp	60	XM_008759265.1

برای توصیف داده و رسم نمودارها از آمار توصیفی و برای مقایسه گروه‌ها در متغیرهای مورد مطالعه از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. جهت انجام آزمون‌های تکمیلی در صورت نیاز، آزمون پیگیر LSD به‌عمل می‌آید. سطح معنی‌دار نیز α=٪۵ در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS/Win انجام شد.

نتایج

مقایسه یافته‌های آماری نشان داد که القای دیابت نوع ۲ سطوح گلوکز ناشتا را در گروه‌های دیابتی به میزان معنی‌داری نسبت‌به سطوح پایه افزایش داد (P=۰/۰۲۳). از طرفی، ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید سطوح گلوکز ناشتا را در گروه دیابتی تناوبی شدید به میزان معنی‌داری نسبت‌به قبل از اعمال مداخله ورزشی کاهش داد (P=۰/۰۰۰۱). اما مقادیر گلوکز ناشتا در دو گروه کنترل سالم و کنترل دیابتی پس از ۱۲ هفته دستخوش تغییر معنی‌داری نشد (به‌ترتیب P=۰/۳۴، P=۰/۲۸) (جدول ۳).

پس از القای دیابت، تفاوت معنی‌داری بین مقادیر انسولین ناشتا بین گروه کنترل سالم با دو گروه کنترل دیابتی و دیابتی تناوبی شدید مشاهده شد (به‌ترتیب P=۰/۰۱۱، P=۰/۰۰۰۱). مقایسه سطوح انسولین سرم بین گروه‌های مورد مطالعه پس از اعمال مداخله ورزشی، تفاوت معنی‌داری را بین هر سه گروه مورد مطالعه نشان داد به‌طوری‌که سطوح انسولین در گروه کنترل سالم به میزان معنی‌داری از دو گروه دیابتی بالاتر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۳۸، P=۰/۰۳۳) (جدول ۴).

جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد سطوح ناشتایی گلوکز در شرایط پایه، پیش آزمون (پس از تزریق) و پس آزمون (پس از مداخله) در گروه‌های مورد مطالعه (mg/dL)

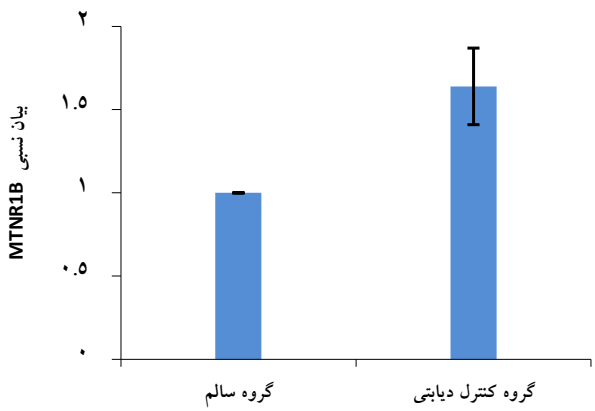
گروه	سطوح پایه	پیش آزمون	پس آزمون
کنترل سالم	۹۳ ± ۱۴	۱۰۳ ± ۲۱	۹۶ ± ۱۶
کنترل دیابتی	۱۰۲ ± ۱۹	۳۶۹ ± ۷۷	۳۸۴ ± ۸۱
دیابتی تناوبی	۱۰۱ ± ۱۶	۳۵۷ ± ۷۹	۲۳۰ ± ۱۲

جدول ٤- میانگین و انحراف استاندارد سطوح انسولین سرم بین سه گروه مورد مطالعه

متغیر	پیش آزمون	پس آزمون
کنترل سالم	۸/۳۵ ± ۰/۲۳	۸/۵۴ ± ۲/۳۱
کنترل دیابتی	۴/۱۴ ± ۱/۲۱	۵/۶۴ ± ۱/۲۱
دیابتی تناوبی	۴/۰۳ ± ۰/۹۸	۵/۷۴ ± ۰/۵۷

(انسولین سرم در دو مرحله یعنی قبل و بعد از مطالعه اندازه‌گیری شده است. به عبارتی پس از تزریق نیکوتین آمید-STZ و پس از مداخله تمرینی در هر ۳ گروه اندازه‌گیری شده است)

یافته‌های آماری نشان داد که القاء دیابت نوع ۲ به‌واسطه تزریق نیکوتین آمید-استرپتوزوتئسین به افزایش معنی‌دار بیان ژن MTNR1B در رت‌های مورد مطالعه می‌شود. به عبارتی، بیان ژن MTNR1B در گروه دیابتی کنترل نسبت‌به گروه کنترل سالم به میزان ۶۴ درصد افزایش یافت (P=۰/۰۲۵، نمودار ۱). از طرفی، اجرای تمرینات تناوبی بیان ژن MTNR1B را به میزان ۳۹ درصد نسبت‌به گروه کنترل دیابتی کاهش داد (P=۰/۰۱۶، نمودار ۲). این یافته‌ها نشان می‌دهد که بیان ژن MTNR1B به‌واسطه حضور دیابت نوع ۲ به میزان معنی‌داری افزایش می‌یابد و اجرای تمرینات تناوبی شدید برای ۱۲ هفته به کاهش معنی‌دار بیان این ژن در رت دیابتی نوع ۲ منجر می‌شود.



نمودار ۱- بیان نسبی MTNR1B در بافت پانکراس گروه های سالم و کنترل دیابتی. به عبارتی، القاء دیابت نوع ۲ به افزایش بیان نسبی ژن MTNR1B در بافت پانکراس نسبت به گروه سالم منجر شد.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که یک دوره تمرینات ورزش تناوبی شدید سبب:

میزان گلوکز ناشتا در گروه‌های دیابتی به میزان معنی‌داری بالاتر از گروه غیردیابتی بود.

سطوح انسولین سرم در رت‌های دیابتی شده در پایان برنامه تمرینی به میزان معنی‌داری نسبت‌به گروه کنترل سالم افزایش یافت.

بیان ژن MTNR1B در گروه‌های دیابتی به میزان معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم افزایش یافت.

دوازده هفته ورزش تناوبی شدید منجر به کاهش معنی‌دار گلوکز خون و کاهش معنی‌دار بیان ژن MTNR1B در بافت پانکراس نسبت‌به گروه کنترل دیابتی شد.

یکی از نتایج مهم مطالعه حاضر، کاهش بیان ژن MTNR1B در پاسخ به ۱۲هفته ورزش تناوبی در رت‌های دیابتی نوع ۲ بود. از طرفی، برنامه تمرینی به کاهش سطوح ناشتایی گلوکز خون در رت‌های تمرین کرده نسبت‌به رت کنترل دیابتی منجر شد. مطالعات گذشته نشان دادکه افزایش بیان ژن MTNR1B منجر به افزایش قند خون و متعاقب آن افزایش میزان ابتلا به دیابت نوع ۲ می‌شود (۱۵-۸) و یا این ژن MTNR1B در مطالعات ژنوم گسترده، نخستین ژنی است که هم با افزایش قند خون و هم با افزایش خطر بروز دیابت در ارتباط است (۳۹) در این مطالعه نیز بیان ژن MTNR1B در گروه‌های دیابتی به میزان معنی‌داری نسبت‌به گروه کنترل سالم افزایش یافت چنانچه بتوان بیان ژن MTNR1B را از طریق مداخلات کاهش داد که نتایج مطالعه مذکور اینگونه است، احتمالاً منجر به کاهش میزان ابتلا به دیابت نوع۲ و در مواردی بهبودی در صورت ابتلا می‌گردد. باتوجه به نتایج این مطالعه، افزایش معنی‌داری را در انسولین سرم شاهد بودیم، در اینجا پاسخ به این سؤال ضروری به‌نظر می‌رسد که آیا افزایش انسولین سرم در پی کاهش بیان ژن MTNR1B است یا خیر؟ به خوبی مشخص شده است که علاوه‌بر کاهش حساسیت انسولین، آسیب عملکرد سلول‌های بتای پانکراس نیز دارای نقش کلیدی در پاتوژنز این بیماری دارد (۴۵) یا در مطالعه‌ای دیگر عامل اصلی این بیماری به‌ویژه در نوع شدید آن عدم ترشح انسولین کافی از سلول‌های بتای پانکراس جهت جبران مقاومت انسولین است (۴۶) به‌نظر می رسد که اثر دیابتیکی MTNR1B یا واریانت‌های مرتبط با آن به واسطه کاهش ترشح انسولین یا نقص در فرآیندهای عملکرد انسولین، نمایان می‌شود (۳۹). درنتیجه در پاسخ به مقاومت انسولین طولانی مدت، سطوح توده سلول‌های بتا جهت ترشح انسولین کافی حفظ نمی شود (۴۳). در بیشتر مطالعات تغییرات در بیان این ژن و واریانت‌های آن با آسیب ترشح انسولین همراه است که ظرفیت ترشح انسولین را در پاسخ به حساسیت انسولین کاهش می‌دهد (۴۱ و ۴۲) اگرچه نمی توان به‌طور یقین به ساز و کارهای که برنامه تمرینی در مطالعه حاضر به افزایش انسولین سرم در رت‌های دیابتی منجر شد اشاره نمود اما با

توجه به شواهد پیشین، به‌نظر می‌رسد که کاهش بیان MTNR1B متعاقب برنامه تمرینی از اهمیت بالقوه‌ای در بهبود سطح انسولین سرم داشته باشد. چراکه اغلب مطالعات پیشین در این زمینه، افزایش بیان MTNR1B در سلول‌های پانکراس را مهمترین عامل ژنتیکی مؤثر در کاهش ترشح انسولین معرفی نموده‌اند. از این‌رو، به‌نظر می‌رسد که پروتکل تمرینی مذکور به‌واسطه کاهش بیان MTNR1B در پانکراس به افزایش معنی‌دار ترشح انسولین از سلول‌های بتا منجر شده است. در این زمینه برخی مطالعات اشاره نموده‌اند که هر دو رژیم غذایی و فعالیت ورزشی ترشح انسولین را افزایش می‌دهند در حالی‌که مکانیسم‌های عملکردی هر یک مستقل از دیگری است. رژیم غذایی برای غلبه بر مقاومت انسولین، توده سلول‌های بتا را به‌واسطه فرآیند هایپرتروفی افزایش می‌دهد در حالی‌که فعالیت ورزشی، توده سلول‌های بتا را از طریق فرآیند هایپرپلازی افزایش می‌دهد و این هایپرپلازی ناشی از افزایش تکثیر سلول‌های بتا و کاهش مرگ سلولی نمایان می‌شود (۴۳). مطالعات گذشته نشان داد که دو هفته تمرینات HIIT روی دوچرخه کارسنج با کاهش معنی‌دار هایپرگلیسیمی در بیماران دیابتی نوع دو همراه است (۲۶ و ۲۷). در این مطالعه نیز ما شاهد گلوکز در رت‌های دیابتی شده بوده‌ایم. همچنین تمرینات اینتروال در قالب پیاده‌روی‌های شدید با بهبود عملکرد انسولین و ظرفیت متابولیک عضلات اسکلتی (۲۸) و بهبود عملکرد سلول‌های بتا (۲۹) در این بیماران همراه است. نتایج این مطالعه نیز افزایش معنی دار انسولین سرم را نشان داد. البته در برخی مطالعات، هر دو تمرینات منظم کم شدت (۳۰ و ۳۱) و تمرینات HIIT (۳۲ و ۳۳) با بهبود در حساسیت انسولین همراه بوده‌اند و نیز برخی محققان اشاره نموده‌اند که حساسیت انسولین در پاسخ به تمرینات HIIT (۳۴) و تمرینات کم شدت (۳۵ و ۳۶) دستخوش تغییرات محسوسی نمی‌شوند. در این مطالعه با انجام تمرینات تناوبی شدید بر روی بیان ژن MTNR1B شاهد نتایج خوبی در جهت بهبودی این بیماری بودیم و انجام شیوه‌های تمرین تناوبی شدید پیشنهاد می‌شود.

یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر را می‌توان عدم وجود گروه کنترل سالم با تمرین تناوبی شدید نام برد لذا مطالعه‌ای با یک گروه کنترل سالم با مداخله تمرین تناوبی شدید توصیه می‌شود.

به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان دادکه دوازده هفته ورزش تناوبی شدید باعث کاهش معنی‌داری در بیان ژن MTNR1B و کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز خون و همچنین افزایش معنی‌داری در انسولین سرم شد. باتوجه به اینکه افراد دیابتی نوع ۲ دارای نقص در ترشح انسولین و بالا بودن سطح گلوکز خون هستند انجام تمرینات تناوبی شدید توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزش دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران اجرا گردید لذا از کلیه اساتید گروه فیزیولوژی ورزش دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران و همکاران محترم پژوهشی تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

1. Hogan P, Dall T, Nikolov P. Economic costs of diabetes in the US in 2002. ADA. Diabetes Care 2003;26:917-32. doi:10.2337/diacare.26.3.917
2. Risch N. Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus models. Am J Hum Genet 1990;46:222-8.
3. Ng SW, Popkin BM. Time use and physical activity: a shift away from movement across the globe. Obes Rev 2012;13:659–80. doi:10.1111/j.1467-789X.2011.00982.x
4. McCarthy MI. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. N Engl J Med 2010; 363: 2339-2350. doi: 10.1056/NEJMra0906948
5. Almgren P, Lehtovirta M, Isomaa B, Sarelin L, Taskinen MR, Lyssenko V, et al. Heritability and familiality of type 2 diabetes and related quantitative traits in the Botnia Study. Diabetologia 2011;54:2811-9. doi: 10.1007/s00125-011-2267-5
6. Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuomi T, Karanko S, Nissén M, et al. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence for sex-specific parental effects. Diabetes. 1996;45:1585-93. doi: 10.2337/diab.45.11.1585
7. Isomaa B, Forsen B, Lahti K, Holmstrom N, Waden J, et al. A family history of diabetes is associated with reduced physical fitness in the Prevalence, Prediction and Prevention of Diabetes (PPP)-Botnia study. Diabetologia 2010; 53: 1709–1713. doi: 10.1007/s00125-010-1776-y
8. Lyssenko V, Nagorny CL, Erdos MR, Wierup N, Jonsson A, Spégel P, et al. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired earlyinsulin secretion. Nat Genet 2009; 41:82-88. doi: 10.1038/ng.288
9. Ciaran J, McMullan, et al. Melatonin Secretion and the Incidence of Type 2 Diabetes. JAMA 2013;13:309. doi: 10.1001/jama.2013.2710
10. Lisa Nainggolan. Low levels of melatonin up risk for type 2 diabetes. Medscape Medical News 2013.
11. Yaghootkar H ,Timothy M Frayling. Recent progress in the use of genetics to understand links between type 2 diabetes and related metabolic traits. Genome Biology 2013;14:203. doi:10.1186/gb-2013-14-3-203
12. Prokopenko I, Langenberg C, Florez JC, Saxena R, Soranzo N, Thorleifsson G, et al. Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels. Nat Genet 2009;41:77-81. doi: 10.1038/ng.290
13. Been LF, Hatfield JL, Shankar A, Aston CE, Ralhan S, Wander GS, et al. A low frequency variant within the GWAS locus of MTNR1B affects fasting glucose concentrations: genetic risk is modulated by obesity, Nutr Metab Cardiovasc Dis 2012;22:944-51. doi: 10.1016/j.numecd.2011.01.006
14. Bonnefond A, Clément N, Fawcett K, Yengo L, Vaillant E, Guillaume JL, et al. Rare MTNR1B variants impairing melatonin receptor 1B function contribute to type 2 diabetes. Nat Genet 2012; 44:297-301. doi: 10.1038/ng.1053

15. Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, Saxena R, Soranzo N, Jackson AU, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. Nat Genet 2010; 42:105-116. doi: 10.1038/ng.520

16. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. N Engl J Med 2002;346:393-403. doi: 10.1056/NEJMoa012512

17. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. N Engl J Med 2001; 344:1343-1350. doi:10.1056/NEJM200105033441801

18. Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. Cardiovasc Diabetol 2011;10:1-15. doi: 10.1186/1475-2840-10-12

19. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nat Rev Immunol 2011;11:607-15. doi: 10.1038/nri3041

20. Stephan F, E Praet , Luc J. C, van Loon. Exercise therapy in Type 2 diabetes. Acta Diabetol 2009;46:263-278. doi: 10.1007/s00592-009-0129-0

21. Joy A. Dugan, CSCS, MPH, PA-C. Exercise recommendations for patients with type 2 diabetes. JAAPA 2016;29:13-8. doi: 10.1097/01.JAA.0000475460.77476.f6

22. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. Diabetes Care 2010;33:e147-67. doi: 10.2337/dc10-9990

23. Duncan GE, Anton SD, Sydeman SJ, Newton RL Jr, Corsica JA, Durning PE, et al. Prescribing exercise at varied levels of intensity and frequency: a randomized trial. Arch Intern Med 2005;165:2362-9. doi:10.1001/archinte.165.20.2362

24.Bjorntorp P, Fahlen M, Grimby G, Gustafson A, Holm J, Renstrom P, et al. Carbohydrate and lipid metabolism in middle-aged, physically well-trained men. Metabolism 1972;21:1037-44. doi: 10.1016/0026-0495(72)90034-0

25. Gibala MJ. High intensity interval training: new insights. Sports Science Exchange 2007;20:1-8.

26. Shaban N, Kenno KA, Milne KJ. The effects of a 2 weekmodified high intensity interval training program on the homeostatic model of insulin resistance (HOMA-IR) in adults with type 2 diabetes. J Sports Med Phys Fitness 2014;54:203-9.

27. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. J Appl Physiol 2011;111:1554-60. doi: 10.1152/japplphysiol.00921

28. Karstoft K,Winding K, Knudsen SH, James NG, Scheel MM, Olesen J, et al. Mechanisms behind the superior effects of interval vs continuous training on glycaemic control in individuals with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. Diabetologia 2014;57:2081-93. doi: 10.1007/s00125-014-3334-5

29. Slentz CA, Tanner CJ, Bateman LA, Durheim MT, Huffman KM, Houmard JA, et al. Effects of exercise training intensity on pancreatic beta-cell function. Diabetes Care 2009;32:1807-11. doi: 10.2337/dc09-0032

30. Mikus CR, Oberlin DJ, Libla J, Boyle LJ, Thyfault JP. Glycaemic control is improved by 7 days of aerobic exercise training in patients with type 2 diabetes. Diabetologia 2012;55:1417-23. doi: 10.1007/s00125-012-2490-8

31. Larsen S, Skaaby S, Helge JW, Dela F. Effects of exercise training on mitochondrial function in patients with type 2 diabetes.World J Diabetes 2014;5:482-92. doi: 10.4239/wjd.v5.i4.482

32. Marwick TH, Hordern MD, Miller T, Chyun DA, Bertoni AG, Blumenthal RS, et al. Exercise training for type 2 diabetes mellitus: impact on cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation 2009;119:3244-62. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA

33. Kjaer M, Hollenbeck CB, Frey-Hewitt B, Galbo H, HaskellW, Reaven GM. Glucoregulation and hormonal responses to maximal exercise in non-insulin-dependent diabetes. J Appl Physiol 1990; 68:2067–2074. doi: 10.1152/jappl.1990.68.5.2067

34. Gillen JB, Little JP, Punthakee Z, Tarnopolsky MA, Riddell MC, Gibala MJ. Acute high-intensity interval exercise reduces the postprandial glucose response and prevalence of hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab 2012;14:575-7. doi: 10.1111/j.1463-1326.2012.01564.x

35. Eriksen L, Dahl-Petersen I, Haugaard SB, Dela F. Comparison of the effect of multiple short-duration with single long-duration exercise sessions on glucose homeostasis in type 2 diabetes mellitus. Diabetologia 2007;50:2245-2253. doi:10.1007/s00125-007-0783-0

36. Goedecke JH, Dave JA, Faulenbach MV, Utzschneider KM, Lambert EV,West S, et al. Insulin response in relation to insulin sensitivity: an appropriate beta-cell response in black South African women. Diabetes Care 2009;32:860-5. doi: 10.2337/dc08-2048

37. Madsen SM, Thorup AC, Overgaard K, Jeppesen PB. High Intensity Interval Training Improves Glycaemic Control and Pancreatic β Cell Function of Type 2 Diabetes Patients. PLoS One 2015;10:0133286. doi: 10.1371/journal.pone.0133286

38. Taylor JD, Fletcher JP, Mathis RA, Cade WT. Effects of moderate-versus high-intensity exercise training on physical fitness and physical function in people with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. Phys Ther 2014;94:1720-30. doi: 10.2522/ptj.20140097

39. McCarthy MI, Zeggini E: Genome-wide association studies in type 2 diabetes. Curr Diab Rep 2009;9:164-171.

40. Pierre W, Gildas AJ, Ulrich MC, Modeste WN, Benoit NT, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Bersama engleriana leaves in nicotinamide streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. BMC Complementary and Alternative Medicine 2012;12:264-69. doi: 10.1186/1472-6882-12-264

41. Staiger H, Machicao F, Schäfer SA, Kirchhoff K, Kantartzis K, Guthoff M, et al. Polymorphisms within the novel type 2 diabetes risk locus MTNR1B determine beta-cell function. PLoS One 2008;3:e3962. doi: 10.1371/journal.pone.0003962

42. Chambers JC, Zhang W, Zabaneh D, Sehmi J, Jain P, McCarthy MI, et al. Common genetic variation near melatonin receptor MTNR1B contributes to raised plasma glucose and increased risk of type 2 diabetes among Indian Asians and European Caucasians. Diabetes 2009;58:2703-8. doi: 10.2337/db08-1805

43. Park S, Hong SM, Lee JE, Sung SR. Exercise improves glucose homeostasis that has been impaired by a high-fat diet by potentiating pancreatic B- cell function and mass through IRS2 in diabetic rats. J Appl Physiol 2007;103:1764-71. doi:10.1152/japplphysiol.00434.2007

44. Sigal RJ, Armstrong MJ, Colby P, et al. Canadian diabetes association 2013 clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada. Can J Diabetes 2013;37:S1-3. doi: 0.1016/j.jcjd.2013.01.009

45. Adeghate E, Schattner P, Dunn E. An update on the etiology and epidemiology of diabetes mellitus. Ann NY Acad Sci 2006;1084,1-29. doi:10.1196/annals.1372.029

46. Amra C, Alibegovic, Mette P. Sonne, Lise Højbjerre, Torben Hansen, Oluf Pedersen, Gerrit van Hall, et al The T-allele of TCF7L2 rs7903146 associates with a reduced compensation of insulin secretion for insulin resistance induced by 9 days of bed rest. Diabetes 2010; 59:836-43. doi: 10.2337/db09-0918

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2019; Vol 14, No 1

DOI: 10.22100/jkh.v14i1.2151

Original Article

The Effect of an Interval Exercise Period (HIIT) on MTNR1B Gene Expression, Insulin and Glucose Levels in Type 2 Diabetic Rats

Mohammad Rashidi (Ph.D.)[1*], Mojtaba Eizadi (Ph.D.)[2]

1- Dept. of Exercise Physiology, Semnan Branch, Islamic Azad University, Semnan, Iran.

2- Dept. of Exercise Physiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.

Received: 19 January 2019**, Accepted:** 17 May 2019

Abstract:

Introduction: *MTNR1B genes expression is associated with increase of the of type 2 diabetes . The objective of this study was to evaluate the effect of 12 weeks of high intensity intermittent exercise on MTNR1B gene, glucose and insulin levels in diabetic rats*

Methods: *In this study, 30 male Wistar rats weighing 220± 20g were divided into three groups control, diabetic and HIIT/diabetic groups. Administration of streptozotocin (STZ) and nicotinamide (NA) induced experimental diabetes in the rat. Interval Exercise (HIIT) performed for 12 weeks (5 times/30 mintes). The glucose concentration examined using oxidase colorimetric method, insulin by ELISA and gene expression was measured by RT-Real time PCR. All statistical analysis performed using SPSS.*

Results: *Exercise program decreased fasting blood glucose and serum insulin in diabetic group compared to the control (P=0.001). Intensive interval training decreased MTNR1B gene expression in pancreatic tissue compared to diabetic control group (P=0.023). There was a significant correlation between the expression of MTNR1B and serum insulin (P=0.039, r=-0.84)*

Conclusion: *The results showed that twelve weeks of high intensity intermittent exercise decrease blood glucose and increase serum insulin and decrease of MTNR1B gene expression in pancreatic tissue.*

Keywords: MTNR1B expression, Interval training, Rat with type II diabetes, Glucose level and insulin level.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author**: M. Rashidi, **Email:** Mrashidi48@yahoo.Com*

Citation: Rashidi M, Eizadi M. The effect of an interval exercise period (hiit) on mtnr1b gene expression, insulin and glucose levels in type 2 diabetic rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2019;14(1):28-35.