تاثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های مبادله گر سدیم هیدروژن ۱ (NHE1) و هم انتقال دهنده سدیم بی‌کربنات ۱ (NBC1) در عضلات اسکلتی رت‌های دیابتی نوع دو

امیر عباس منظمی[۱*]، حمید رجبی [۲]، کبری امیدفر[۳]، علی مصطفایی [٤]

چکیده

مقدمه: هدف از تحقیق حاضر تعیین اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های مبادله گر سدیم هیدروژن۱و هم انتقال دهنده سدیم بی‌کربنات ۱ در عضلات اسکلتی رت‌های دیابتی نوع دو بود.

روش‌ها: تعداد ٤۰ رت نژاد ویستار نر در سن ٤ هفتگی با میانگین وزن ۹/۸±۹۳/۷ گرم انتخاب و به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی و تمرینی دیابتی تقسیم شدند. تمرین استقامتی به مدت هفت هفته (دویدن روی نوار گردان جوندگان)، بر گروه تمرینی دیابتی اعمال شد. میزان بیان mRNA (NHE1 و NBC1) از طریق تکنیک Real time- PCR انجام گرفت. از آزمون آماری t مستقل و نرم‌افزار REST جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها استفاده شد.

یافته‌ها: یافته‌های تحقیق نشان داد بیان mRNA (NHE1) در عضلات EDL و نعلی به‌ترتیب ٪۲۵ و٪۱۹در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم کاهش داشت که این میزان کاهش در هر دو عضله معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). همچنین میزان کاهش در بیان mRNA (NBC1) در عضلات بازکننده طویل انگشتان پا (EDL) و نعلی به‌ترتیب ٪۳۵و٪۲۹ در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل بود که این میزان کاهش در هر دو عضله معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). تمرین استقامتی موجب افزایش بیان NHE1 mRNA و NBC1 در گروه تمرین کرده دیابتی شد.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که بیان mRNA (NHE1 و NBC1) در گروه کنترل دیابتی کاهش قابل ملاحظه‌ای دارد و تمرین استقامتی می‌تواند این کاهش بیان را در گروه تمرینی دیابتی جبران و به سطوح نرمال نزدیک کند.

واژگان کلیدی: بیان ژن، مبادله‌گر سدیم هیدروژن، هم انتقال دهنده سدیم بی‌کربنات، تمرین استقامتی، دیابت نوع دو

۱- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه ، ایران
۲- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران
۳- مرکز تحقیقات بیوسنسور، پژوهشکده علوم سلولی- مولکولی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
٤- دانشکده دارو سازی، دانشگاه علوم پژشکی رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

* ***نشانی*** :کرمانشاه، باغ ابریشم،دانشگاه رازی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، فاکس: ۰۸۳۱-٤۲۷٤۵۸۵ ،نشانی پست الکترونیک: monazzami.amirabbas@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۲ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۳/۰۳/۲۷** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۰۷**

مقدمه

طی سال‌های اخیر به‌علت عدم تحرک و در پی آن چاقی، شیوع دیابت خصوصاً دیابت نوع دو به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. دیابت نوع دو یا دیابت غیروابسته به انسولین (NIDDM)[1] به‌علت مقاومت به انسولین یا کاهش گیرنده‌های غشای هدف به انسولین و هم‌چنین عملکرد تغییر یافته سلول‌های پانکراس توصیف می‌شود [۱،۲]. مقاومت به انسولین موجب هایپرگلیسیمیا، افزایش گلوکونئوژنز در کبد و افزایش لیپولیز و مصرف بیش از حد کتون بادی‌ها می‌گردد که در این شرایط یون هیدروژن تجمع پیدا کرده و pH بافت کاهش پیدا می‌کند. تجمع یون هیدروژن و در پی آن اسیدوز مزمن منجر به آسیب به بافت از طریق اختلال در عملکرد پروتئین‌ها، کانال‌های یونی و آنزیم‌های کلیدی می‌شود که این شرایط از اثرات نامطلوب بیماری دیابت نوع دو به شمار می‌آید [۳].

کاهشpH در شرایط دیگری مانند فعالیت بدنی نیز اتفاق می‌افتد که در این شرایط به‌علت افزایش تولید و تجمع پروتون، بافت عضلانی حالت اسیدی پیدا می‌کند و در این شرایط کاهش عملکرد از طریق اختلال در فعالیت آنزیم‌ها و سنتز ATP رخ می‌دهد [٤]. در نتیجه برای سلول عضلانی حیاتی است که کاهش pH را در سیتوزول از طریق جلوگیری از تجمع پروتون در شرایط دیابت نوع دو جهت به حداقل رساندن اثرات نامطلوب اسیدوز مزمن به تاخیر بیاندازد [۳].

به هر حال در شرایط دیابت نوع دو و فعالیت ورزشی سازوکارهایی جهت هومئوستاز pH_i[2] فعال می‌شوند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به فعالیت سیستم تامپونی و فعالیت انتقال دهنده‌های غشایی اشاره کرد [۷-۵] . تغییر سریع در غلظت سیتوپلاسمی یون هیدروژن به‌وسیله سازوکارهای تامپونی که از بی‌کربنات، فسفات و پروتئین استفاده می‌کنند خنثی می‌شود اما به‌دلیل ظرفیت محدود این سازوکارها سلول به‌وسیله سازوکارهای انتقالی ویژه pH_i را حفظ می‌کنند [۱۰-۸]. مهم‌ترین انتقال دهنده‌های غشایی در تنظیم pH_i در حالت استراحت و فعالیت عضلانی مبادله گر سدیم- هیدروژن، هم انتقال دهنده سدیم- بی‌کربنات و هم انتقال دهنده لاکتات – پروتون می‌باشند [۱۲ ،۱۱]. در این مجموعه MCT[3]ها یا انتقال دهنده‌های لاکتات و پروتون به‌عنوان تنظیم کننده‌های وابسته به لاکتات [١٤ ،١٣] و NBC[4]ها و NHE[5]ها هر دو به‌عنوان تنظیم کننده‌های غیروابسته به لاکتات شناسایی شده‌اند [١١ ،٤]. به هر حال در شرایط اسیدوز دیابتی و تمرین زیر بیشینه تجمع لاکتات پایین است و به‌همین دلیل بخش اصلی دفع پروتون به‌وسیله سازوکارهای غیروابسته به لاکتات تعدیل می‌گردد. اما در شرایط فعالیت با شدت بالا انتقال دهنده‌های لاکتات- پروتون که با شیب لاکتات بالا تحریک می‌شوند بخش عمده تعدیل pH_i را به‌عهده می‌گیرند [١١ ،٤]. در نتیجه به‌نظر می‌رسد فعالیت بدنی خصوصاً تمرین استقامتی بتواند از طریق ایجاد پاسخ‌های تطابقی ناشی از فعالیت انتقال دهنده‌هایNHE1 وNBC1، از اثرات نامطلوب اسیدوز مزمن ناشی از دیابت نوع دو بکاهد هر چند تحقیقات محدودی در این زمینه انجام گرفته است. در یک مطالعه Le- Prigent و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که فعالیت مبادله‌گر NHE1 در عضله قلب رت‌های دیابتی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین[6] کاهش می‌یابد [۱۵]. اما Pierce و همکاران (۱۹۹٦) نشان دادند بیان (NHE1) mRNA عضله قلب گروه دیابتی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین پس از۸ هفته تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل ندارد [١٤] هر چند کاهش فعالیت NHE1 ممکن است به‌علت کاهش بیان ژن آن در شرایط دیابت نوع دو باشد. علاوه بر این Sandman و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیق دیگر گزارش کردند که در اثر انسداد عروق کرونری قلب بیان ژن و پروتئین هر دو مبادله‌گر و انتقال دهندهNHE1 و NBC1 افزایش پیدا می‌کند [١٦]. Jandeleit و همکاران (۲۰۰۰) در تحقیقی دیگر نشان دادند که بیان (NHE1) mRNA نیز در عضلات عروق رت‌های دیابتی افزایش می‌یابد[۱۷]. Monazzami و همکاران (۱۳۹۱) در تحقیق دیگر نشان دادند که تمرین استقامتی

[1] Non-insulin Dependent Diabetes Mellitus
[2] Intracellular pH
[3] Monocarboxylate cotransporter
[4] Na^+/HCO_3 cotransporter
[5] Na^+/H^+ cotransporter
[6] Streptozotocin

موجب افزایش بیان ژن و محتوی پروتئینی (NHE1 و NBC1) در عضلات اسکلتی و قلبی رت‌ها می‌گردد [۱۹، ۱۸]. در تحقیق دیگر Rasmossen و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که یک جلسه تمرین سرعتی موجب افزایش معنی‌دار در بیان mRNA (NHE1) عضلات اسکلتی رت می‌شود. آن‌ها هم‌چنین گزارش کردند که سه هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار بیان mRNA (NHE1) در عضلات اسکلتی کند می‌گردد اما این افزایش در سطح پروتئین NHE1 در عضلات اسکلتی معنی‌دار نبوده است [۲۰]. در مجموع نتایج مطالعات نشان می‌دهند که اکثر مطالعات بیان این‌ترانسپورترها را در شرایط سالم مورد ارزیابی قرار داده‌اند و همچنین نوع تمرینات استفاده شده تمرینات قدرتی و سرعتی بوده است و تحقیقات محدودی در زمینه اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن انتقال دهنده‌ها در عضلات اسکلتی کند و تند در شرایط دیابت نوع دو صورت گرفته است. در نتیجه در این تحقیق به بررسی اینکه آیا تمرین استقامتی می‌تواند بیان ژن این انتقال دهندها را تغییر دهد؟ و اینکه توزیع بیان ژن در تارهای کند و تند پیرو تمرین استقامتی در شرایط دیابت نوع دو چگونه است؟ پرداخته می‌شود تا از این طریق برخی از سازوکارهای مسئول تنظیم و کنترل PH_i در شرایط NIDDM مورد مطالعه قرار گیرد.

روش‌ها

تعداد ۴۰ رت نر نژاد ویستار در سن ٤ هفتگی با میانگین وزنی ۹۳/۷±۹/۸ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط دمایی ٤±۲۲ درجه سانتی‌گراد تحت سیکل ۱۲: ۱۲ساعت تاریکی- روشنایی نگهداری شدند. وزن حیوان به‌طور روزانه ثبت و رت‌ها با غذای مخصوص رت و آب تغذیه شدند. بعد از گذشت دو هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن مطلوب)، رت‌ها با میانگین وزن ۱۸۳/٤۷±۱۱/٤ گرم به‌طور تصادفی ضمن همسان‌سازی بر اساس وزن به سه گروه کنترل سالم (۷ سر رت)، کنترل دیابتی (۹سر رت) و تمرینی دیابتی (۹ سر رت) تقسیم شدند. دیابت در این تحقیق از طریق ترکیب مصرف غذای پُرچرب و تزریق استرپتوزوتوسین ایجاد شد. غذای مورد استفاده شامل ۵۸ درصد چربی، ۲۵ درصد پروتئین و ۱۷ درصد کربوهیدرات بود و عناصر تشکیل دهنده آن در جدول ۱ گزارش شده است [۲۱]. این‌ترکیب غذایی به‌وسیله تیم تحقیق به‌صورت دست‌ساز و با همکاری شرکت کانی دام و مؤسسه واکسن‌سازی و سرم‌سازی رازی ایران انجام گرفت. رت‌های گروه دیابتی به مدت دو هفته تحت مصرف غذای چرب قرار گرفتند در حالی که گروه کنترل سالم غذای طبیعی مصرف می‌کرد. بعد از آن تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین به‌میزان ۳۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در بافر سیترات (مولار) PH =٤/۵۱ بعد از ٦ ساعت ناشتایی در دو گروه دیابتی انجام گرفت. ٤۸ ساعت بعد از تزریق دارو، نمونه خونی از چشم حیوان جمع‌آوری و جداسازی سرم با سانتریفیوژ (جی) ۳۰۰۰، (دقیقه) ۱۰، (سانتیگراد) ٤ انجام و غلظت گلوکز از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز با کیت شرکت پارس آزمون‌اندازه‌گیری گردید. غلظت گلوکز بالاتر از ۳۰۰ دسی‌لیتر بر میلی‌گرم به‌عنوان دیابت تعریف و رت‌های واجد شرایط وارد تحقیق شدند [۲۱]. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه‌تربیت مدرس انجام گردید.

پروتکل تمرینی

تمرین استقامتی به مدت ۷ هفته، هر روز بر گروه تمرینی دیابتی اعمال شد (جدول ۲). به‌دلیل شرایط خاص رت‌های تحقیق (دیابت شدید)، اعمال مدت‌های طولانی‌تر تمرینی بیشتر از ۳۵ دقیقه امکان‌پذیر نبود و این مدت به‌عنوان مدت نهایی در اواخر تمرین در نظر گرفته شد. ضمن این که شدت به گونه‌ای انتخاب گردید که سطوح لاکتات را در حین تمرین دستخوش تغییر قابل ملاحظه نماید (۷۰-٦۰ درصد VO_2MAX). Brooks و همکاران نشان دادند که این شدت تمرینی موجب افزایش قابل توجه سطوح لاکتات می‌شود [۲۲]. تمامی این اطلاعات با انجام مطالعات پایلوت روی ٤ سر رت به‌دست آمد. میزان لاکتات در شدت تمرینی۳۰ متر بر دقیقه (٦۰تا۷۰ درصد vo_2max) برابر با ٤ میلی مولار بود. دو هفته آخر نیز تمامی متغیرهای تمرینی ثابت نگه داشته شدند تا سازگاری‌های

انجام شده در زمان تشریح به‌حالت یکنواخت خود برسند [۲۳].

جدول ۱- ترکیب غذای پُرچرب و عناصر تشکیل دهنده آن

عناصر تشکیل دهنده	گرم / کیلوگرم
پودر غذای طبیعی رت	۳٦۵
روغن گیاهی	۳۱۰
کازئین	۲۵۰
کلسترول	۱۰
ویتامین و مواد معدنی	٦۰
متیونین	۳
کلراید سدیم	۱
جوش شیرین	۱

جدول ۲- مشخصات پروتکل تمرین استقامتی

زمان	آشناسازی ۵ روز	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ٤	هفته ۵	هفته ٦	هفته ۷
سرعت [متر بر دقیقه]	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۰
مدت [دقیقه]	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵

تست HOMA-IR[1]

۲٤ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، بعد از ۸ ساعت ناشتایی نمونه خونی به میزان ۱میلی‌لیتر از چشم حیوان جمع‌آوری و جداسازی پلاسما با سانتریفیوژ کردن در (جی) ۳۰۰۰، (دقیقه) ۱۰، (سانتی‌گراد) ٤ و جهت‌اندازه‌گیری گلوکز و انسولین ناشتایی جهت تعیین شاخص HOMA-IR در ۸۰- نگهداری شد. اندازه‌گیری انسولین به روش الایزا و با کیت ساخت شرکت Millipore با حساسیت‌اندازه‌گیری۱ نانو گرم به ازای هر میلی‌لیتر ، catalog number: # EZRMI-13K و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. غلظت گلوکز با روش آنزیمی گلوکز اکسیداز با کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. مقادیر HOMA-IR با استفاده از فرمول زیرمحاسبه گردید [۲٤،۲۵]:

HOMA-IR=Insulin (میکرو واحد بر میلی‌لیتر) × Glucose (میلی مول بر لیتر) ÷ ۲۲/۵

واجد بودن شرایط مقاومت انسولین منوط به داشتن دو شرط بود: ۱- مقادیر HOMA-IR بالاتر از ۲/۵ و ۲- مقادیر انسولین ناشتایی بالاتر از۱٦۰ پیکو مول و تنها رت‌هایی که شرایط فوق را دارا بودند در تجزیه و تحلیل نهایی وارد شدند[۲٤، ۲۵].

استخراج نمونه

٤۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین[2] (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و

[1] Homeostasis model of insulin resistance

[2] Ketamine

زایلازین[1] (۱۰میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش و عضلات نعلی و باز کننده طویل انگشتان پا (EDL) بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۸۰- منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگه‌داری شدند [۲۶].

Real time –PCR

حدود ۵۰ میلی‌گرم عضله با روش هاون کوبی پودر گردید و جهت استخراج RNA تام به نسبت ۱ به ۱۰ در بافر لیز Bisol RNA-Lysis regent به‌مدت ۱۵ دقیقه هموژن گردید. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول حاصل در ٤ درجه سانتی‌گراد، ده دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. مایع رویی برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۲Bisol اولیه با کلروفورم مخلوت و به‌مدت هر ۱۵ ثانیه یک‌بار به آرامی تکان داده شد و سپس محصول را به‌مدت ۱۵دقیقه روی یخ قرار گرفت. محصول در ٤ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آلی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و هم حجم مایع رویی به آن ایزوپروپانل اضافه نموده و به‌مدت بیش از ۲۰دقیقه در یخچال ۲۰- قرار داده تا RNA جداسازی شود. در مرحله بعد محصول را به‌مدت ۱۰ دقیقه، ٤ درجه سانتی‌گراد، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ نموده تا RNA رسوب کند. رسوب حاوی RNA در اتانول ۷۵ درصد شستشو و در۲۰ میکرولیتر آب فاقد RNAS-Free حل گردید. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده و نسبت ۲٦۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ نانوگرم به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA و با استفاده ازReverse primers و آنزیم نسخه برداری معکوس انجام گرفت (جدول۳). Real-Time PCR با استفاده غلظت ۱۰۰ نانوگرم از cDNA انجام گرفت (جدول٤). برنامه مورد استفاده در Real time شامل ۹٤^{o} به مدت ۵ دقیقه – ۹٤^{o} به‌مدت ٤۵ (باز شدن٤۵ثانیه)، $٦۰^{o}C$ به‌مدت ٤۵ ثانیه (جفت شدن) و$۷۲^{o}C$ به‌مدت ٤۵ ثانیه (تکثیر) (تکرار ٤۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ اندازه‌گیری شد [۲۰، ۱٦].

جدول۳- توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق

ژن	پرایمر معکوس	پرایمر فوروارد
SLC9a1 (NHE1)	GCTGGCAAACTCCTCAAAG	CACATCAATGAGCTGCTGC
SLC4a (NBC1)	CATGGTAGGACTTGGCTTTC	ACTCCCTTCATTGCCTTTG
18s	GTTGGTTTTCGGAACTGAGGC	GTCGGCATCGTT TATGGTCG

جدول ۴- اجزایPCR جهت تکثیر ژن

ژن	سایبر میکس (میکرولیتر)	پرایمر (میکرولیتر)	تگ پلیمراز (میکرولیتر)	سی دی ان ا (میکرولیتر)	آب مقطر (میکرولیتر)
NHE1	۱۲/۵	۰/۵	۰/۱۵	۲	۹
NBC1	۱۲/۵	۰/۵	۰/۱۵	۲	۹
18S	۱۲/۵	۰/۵	۰/۱۵	۲	۹

[1] Xylazine

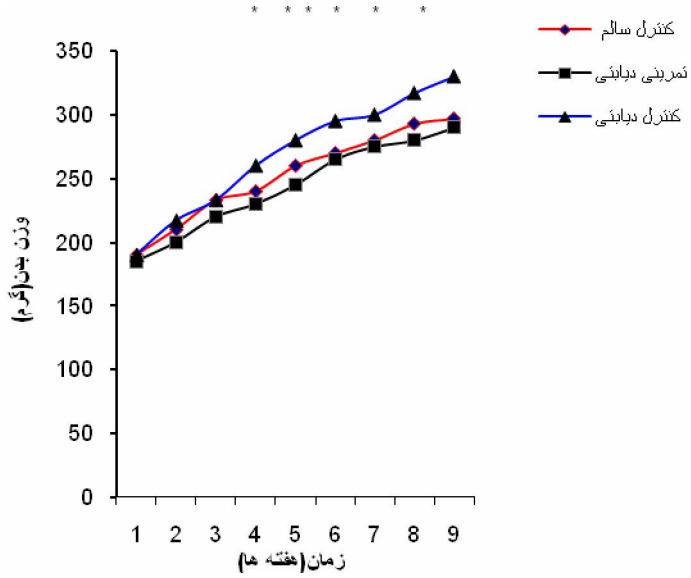
یافته‌ها

وزن بدن

تغییرات وزن بدن در شکل ۱ گزارش شده است. کاهش اندک در وزن بدن در هفته بعد از تزریق استرپتوزوتوسین در گروه‌های دیابتی مشاهده و بعد از آن روند افزایش وزن در تمامی گروه‌ها به صورت طبیعی ادامه یافت. بعد از گذشت ٤ هفته از زمان شروع مصرف غذای پُرچرب توسط گروه‌های دیابتی، اختلاف وزن بین گروه کنترل دیابتی و سایر گروه‌ها معنی‌دار شد و این اختلاف تا پایان تحقیق ادامه داشت.

تجزیه و تحلیل آماری

بعد از این که نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون K –S تأیید شد، جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های تحقیق از آزمون آماری t مستقل و با استفاده از نرم‌افزار REST (permutation test) استفاده گردید. مقدار α در تمامی مراحل برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



شکل ۱- تغییرات وزن بدن در گروه‌های مختلف تحقیق

*اختلاف معنی‌دار گروه کنترل دیابتی با سایر گروه‌ها (P<۰/۰۵) ، کنترل سالم (۷ سر رت) ، دیابتی (۹ سر رت) ، تمرین دیابتی (۹ سر رت)

تاثیر STZ و غذای پُرچرب بر متغیرهای متابولیک

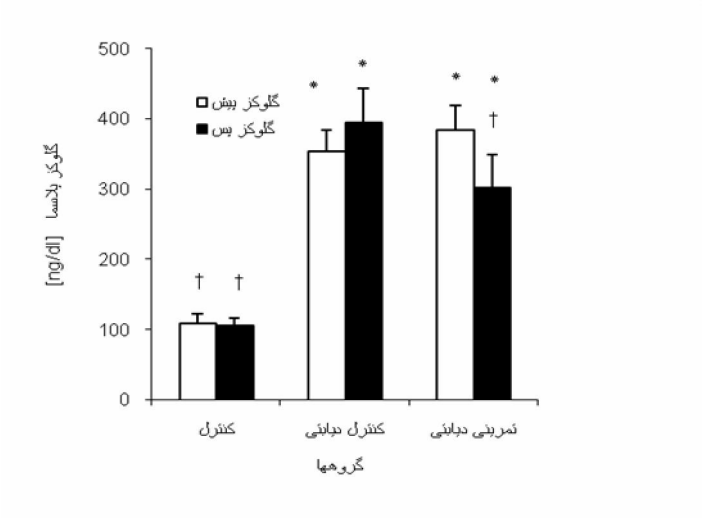
جدول ۵ تأثیر استرپتوزوتوسین و غذای پُرچرب بر متغیرهای متابولیک را نشان می‌دهد. هم‌چنین نتایج گلوکز خون پلاسما قبل و بعد از اجرای پروتکل تمرینی در شکل ۲ آورده شده است. نتایج تست تأیید دیابت قبل از شروع تحقیق افزایش معنی‌دار سطح گلوکز خون (گلوکز پیش) در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم را نشان داد (P</۰۰۱). نتایج آزمون شاخصHOMA-IR نیز در پایان تحقیق اختلاف معنی‌دار بین سطوح گلوکز خون پلاسما بین گروه‌های دیابتی و گروه کنترل سالم را نشان داد (شکل ۲) (P</۰۰۱).

همان‌طور که در جدول ۵ نشان داده شده است اختلاف معنی‌دار بین سطوح انسولین پلاسما گروه کنترل دیابتی و دو گروه دیگر (P<۰/۰۵) به‌دست آمد (شکل ۳) (P<۰/۰۵). هم‌چنین مقادیر HOMA-IR index در دو گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌دار داشت (P</۰۰۱)، ضمن این که بین دو گروه دیابتی نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P</۰۱).

جدول ۵- مشخصات آنتروپومتریک و متابولیک گروه‌های تحقیق

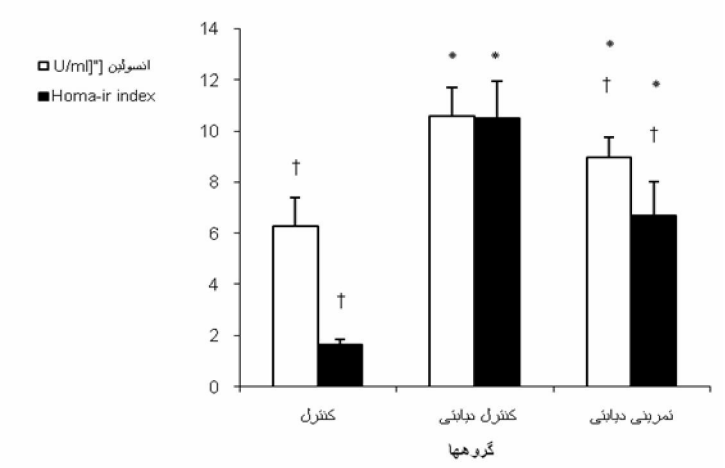
گروه‌ها	کنترل سالم	کنترل دیابتی	تمرین دیابتی
وزن (گرم)	۲۹۹/۷ ± ۳۰/۸۱†	۳۳۱/۷ ± ۱۸/۱٤ *	**۲۹۱/۱۷ ± ۲۵/۲۱
گلوکز (نانوگرم/دسی لیتر)	۱۰٦/٤ ± ۹/۲٦ †	۳۹٤/٤٤ ± ٤۸/۷٤ *	۳۰۱/۷ ± ٤۷/۹۵ *,†
انسولین (میکرو واحد/میکرو لیتر)	٦/۲۵ ± ۱/۱۵ †	۱۰/۵۵ ± ۱/۱۲*	۸/۹۵ ± ۰/۷۸ *,†
شاخص HOMA	۱/٦۲ ± ۰/۲٤†	۱۰/٤۸ ± ۱/٤٤ *	٦/٦۸ ± ۱/۳۱ *,†

* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم (P<۰۵) ، † اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی (P<۰۵)، کنترل سالم (۷ سر رت)، دیابتی (۹ سر رت)، تمرین دیابتی (۹ سر رت)



شکل۲- تغییرات گلوکز پلاسما قبل و بعد از پروتکل تمرینی

*اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم (P<۰/۰۵) ، † اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی (P<۰/۰۵).



شکل ۳- نمودار تغییرات انسولین پلاسما و Homa-ir index

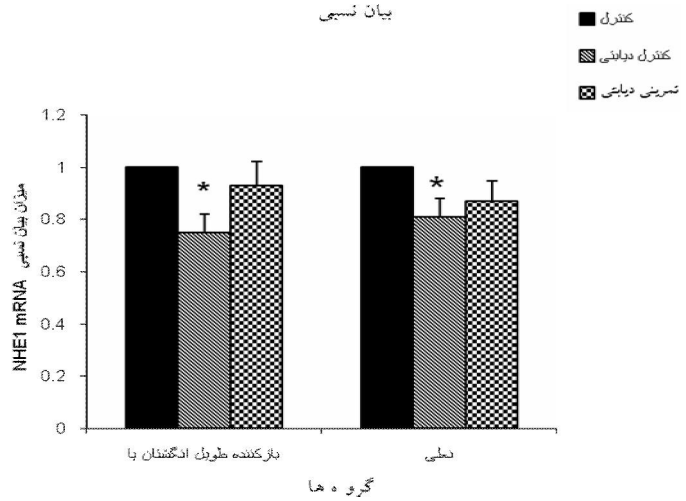
*اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم (P<۰/۰۱) ، †اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی (P<۰/۰۱).

کنترل سالم (۹ سر رت)، کنترل دیابتی (۷ سر رت)، تمرینی دیابتی (۷ سر رت)

بیان ژن NHE1 و NBC1

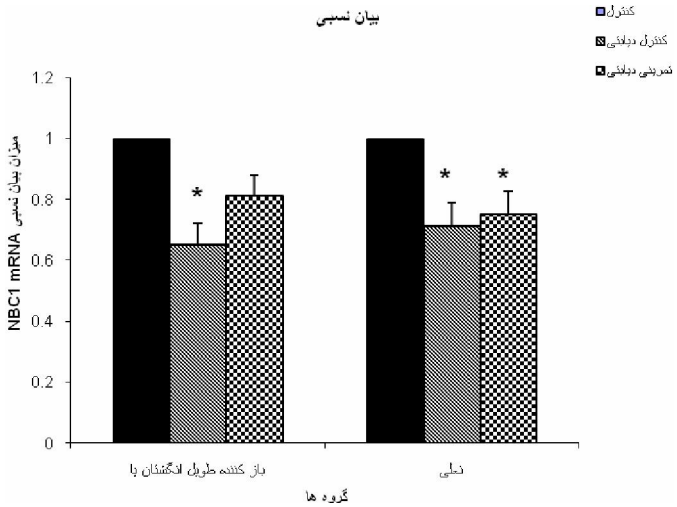
کل تغییرات بیان NHE1 mRNA) و (NBC1 در گروه‌های دیابتی عضلات نعلی و باز کننده طویل انگشتان مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل از طریق محاسبه ارزش RQ[1] استاندارد شدند. نتایج تحقیق نشان داد که بیان (NHE1 mRNA در گروه کنترل دیابتی عضلات بازکننده طویل انگشتان و نعلی به‌ترتیب ۲۵ و ۱۹درصد کاهش داشت که این میزان کاهش در هر دو عضلات باز کننده طویل انگشتان و نعلی معنی‌دار بود (شکل٤) (P<۰/۰۵).

هم‌چنین کاهش بیان ژنNBC1 در گروه کنترل دیابتی عضلات باز کننده طویل انگشتان و نعلی به‌ترتیب ۳۵ و ۳۰ درصد بود که این میزان کاهش هم‌چنین در هر دو عضلات باز کننده طویل انگشتان و نعلی معنی‌دار بود (شکل۵) (P<۰/۰۵). علی‌رغم افزایش در میزان بیان (NHE1 mRNA در گروه تمرینی دیابتی عضله باز کننده طویل انگشتان نسبت به نعلی این میزان افزایش معنی‌دار نبود (شکل٤) (P<۰/۰۵). از طرف دیگر افزایش بیان ژن NBC1 در گروه تمرینی دیابتی عضله بازکننده طویل انگشتان نسبت عضله نعلی، موجب تغییر معنی‌دار با گروه کنترل نشد اما این افزایش بیان در عضله نعلی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (شکل۵) (P<۰/۰۵).



شکل۴-میزان بیان ژنNHE1 در عضلات اسکلتی گروه‌های تحقیق

*اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم (p<۰/۰۵) ، کنترل سالم (۹ سر رت) ، کنترل دیابتی (۷ سر رت) ، تمرینی دیابتی (۷ سر رت)



شکل۵-میزان بیان ژنNBC1در عضلات اسکلتی گروه‌های تحقیق

*اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم (p<۰/۰۵) ، کنترل سالم (۹ سر رت) ، کنترل دیابتی (۷ سر رت) ، تمرینی دیابتی (۷ سر رت)

[1] Relative quantification

بحث و نتیجه گیری

توانایی تنظیم pH درون سلولی عضله بستگی به مجموع همه سیستم‌های تنظیم کننده pH دارد که شامل سیستم تامپونی و همچنین سیستم انتقال دهنده‌های غشایی که شامل انتقال دهنده‌های لاکتات و پروتون (MCTs)، انتقال دهنده‌های سدیم وپروتون (NHEs) و هم‌چنین انتقال دهنده‌های سدیم و بی‌کربنات (NBCs) می‌باشند[۲۹-۲۷]. در مطالعه حاضر مدل دیابت نوع دو و تمرین استقامتی به‌عنوان شرایط ایجاد کننده اسیدوز مورد استفاده قرار گرفتند تا بیان mRNAs (NHE1 وNBC1) را در عضلات اسکلتی باز کننده طویل انگشتان پا (EDL) و نعلی (Soleus) مورد ارزیابی قرار دهند.

تحقیق حاضر اولین تحقیقی است که اثرات بلندمدت تمرین استقامتی را بر بیان mRNAs (NHE1 وNBC1) در عضلات اسکلتی رت‌های دیابتی، مورد بررسی قرار می‌دهد. تغییرات وزن (شکل۱)، گلوکز خون (شکل۲)، سطح انسولین و شاخص مقاومت به انسولین HOMA-IR index در گروه‌های دیابتی همگی دلالت بر این داشت که مدل دیابتی نوع دو به درستی اعمال گردیده است (شکل۳). مهم‌ترین یافته‌های تحقیق این است که بیان mRNAs (NHE1 وNBC1) در شرایط دیابت نوع دو نسبت به شرایط طبیعی کاهش می‌یابد و تمرین استقامتی می‌تواند از کاهش بیان mRNAs (NHE1 وNBC1) در عضلات اسکلتی جلوگیری نماید. مطالعه تغییرات NHE1 و NBC1 در عضلات فقط به تعدادی تحقیق در زمینه فعالیت و بیان پروتئین محدود می‌شود و در زمینه بیان ژن این انتقال دهنده‌ها در شرایط دیابت نوع دو و اثر تمرین خصوصاً تمرین استقامتی بر روی آن تحقیقات محدودی صورت گرفته است. مطالعه حاضر نشان داد که کاهش بیان mRNAs (NHE1 وNBC1) در گروه کنترل دیابتی، دلالت بر این دارد که بیان ژن این انتقال دهنده‌ها نیز تحت تاثیر تغییرات متابولیکی قرار می‌گیرد.

هم‌چنین نتایج این تحقیق نشان دادکه پاسخ انتقال دهنده‌های غشایی به شرایط اسیدوز ناشی از تمرین و دیابت نوع دو در عضلات اسکلتی تند (EDL) و کند (Soleus) متفاوت می‌باشد و اطلاعات در این زمینه ضد و نقیض و وابسته به سطح فعالیت، محتوی پروتئین و بیان ژن می‌باشد. در مطالعه حاضر بیان (NHE1 mRNA) در گروه کنترل دیابتی عضلات بازکننده طویل انگشتان و نعلی به‌ترتیب ۲۵ و ۱۹درصد کاهش داشت که این میزان کاهش در هر دو عضلات باز کننده طویل انگشتان و نعلی معنی‌دار بود (شکل٤ (P<۰/۰۵). کاهش بیشتر بیان ژن NHE1 در گروه کنترل دیابتی (۲۵درصد) در عضله EDL نسبت به عضله Soleus (۱۹درصد) نشان دهنده اثرات نامطلوب کتواسیدوز دیابتی بر بیان این انتقال دهنده خصوصاً در عضله EDL است (شکل٤).

از طرف دیگر در تحقیق حاضر افزایش بیان ژنNHE1 در گروه تمرین کرده در عضله EDL نسبت به عضله Soleus مشاهده شد که این نتایج حاکی از غلبه کردن اثرات تمرین استقامتی بر دیگر متغیرهای متابولیکی (کتواسیدوز) ناشی از دیابت نوع دو است (شکل٤) . بیان mRNA (NHE1) در پاسخ به تمرین استقامتی (۷درصد کاهش) در عضله EDL بیشتر از بیان (NHE1 mRNA) (۱۳درصد کاهش) در عضله Soleus در گروه تمرین کرده دیابتی بود (شکل٤). دلایل این افزایش را می‌توان به خصوصیات گلیکولیتیکی عضله EDL و توزیع و کنیتیک NHE1 از یک طرف و هم‌چنین شدت و نوع تمرین (استقامتی) از طرف دیگر نسبت داد. در تایید این موضوع Juel و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که اثر تمرین تناوبی شدید بر میزان بیان محتوی پروتئینی NHE۱ در عضلات تند گلیکولیتیکی در مقایسه با عضلات کند اکسیداتیوی متفاوت است و این پروتئین در تارهای گلیکولیتیکی بیشتر بیان شده است [۳۰].

البته علت این افزایش را می‌توان به‌ویژگی این ترانسپورتر و نوع تمرین نسبت داد. در حقیقت NHE ۱ به تغییرات pH به‌شدت حساس بوده و تمرین با شدت بالا موجب تجمع بیش از حد پروتون و کاهش PH می‌گردد و از آنجایی که عضلات گلیکولیتیکی نسبت به

عضلات اکسیداتیوی اسید لاکتیک بیشتری تولید می‌کنند این پروتئین در این عضلات بیشتر بیان شده است تا بتواند پروتون بیشتری را از سلول خارج سازد و به تنظیم و کنترل pH کمک نماید [۳۳-۳۱]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Nikoei و همکاران (۱۳۸۹) که اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن و محتوای پروتئینی MCT1 و MCT4 در عضلات اسکلتی رت‌های دیابتی و سالم مورد ارزیابی قرار دادند، هم راستاست که نشان دادند تمرین استقامتی بیان ژن‌ها و محتوای پروتئینی MCT1 و MCT4 را در گروه تمرینی دیابتی و سالم افزایش داده است [۳٤].

اما Rasmussen و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیق دیگر نتایج متفاوتی به‌دست آوردند. این محققین نشان دادند که یک جلسه تمرین سرعتی موجب افزایش معنی‌دار در بیان mRNA (NHE1) عضلات اسکلتی رت می‌شود [۲۰]. آن‌ها همچنین گزارش کردند که سه هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌داری در بیان (NHE1 mRNA) در عضلات اسکلتی کند می‌گردد اما این افزایش در سطح پروتئینNHE1 در عضلات اسکلتی معنی‌دار نبودکه با نتایج تحقیق حاضر همسو نمی‌باشد [۳۳]. افزایش بیان mRNA (NHE1) نیز در عروق رت‌های دیابتی توسط Jandeleit-Dahm و همکاران (۲۰۰۰) تایید شد، که با یافته‌های تحقیق حاضر همسو می‌باشد [۱۷].

هم‌چنین در مطالعه حاضر بیان mRNA (NBC1) در گروه کنترل دیابتی در عضلات بازکننده طویل انگشتان و نعلی به‌ترتیب ۳۵ و ۲۹ درصد کاهش داشت که این میزان کاهش در هر دو عضلات باز کننده طویل انگشتان و نعلی معنی‌دار بود (شکل۵) ($P<0.05$) . هم‌چنین افزایش بیان mRNA (NBC1) در گروه تمرین کرده دیابتی در عضلات باز کننده طویل انگشتان پا و نعلی مشاهده شد (شکل۵).

بیان mRNA (NBC1) در پاسخ به تمرین استقامتی (۱۹درصد کاهش) در عضله EDL بیشتر از بیان mRNA (NBC1) (۲۵درصد کاهش) در عضلهSoleus در گروه تمرین کرده دیابتی بود (شکل۵). دلایل کاهش بیشتر بیان mRNA (NBC1) در عضلهEDL نسبت به عضله Soleus را می‌توان به توزیع و کنتیک این انتقال دهنده نسبت داد. هرچند Christinsen و همکاران (۲۰۰٤) نشان دادند که NBC1 توزیعی وابسته به تار ندارد و در همه تارها یکسان بیان می‌شود [۲۷]. اما افزایش بیان بیشتر این انتقال دهنده در عضلهEDL در گروه تمرین کرده دیابتی نسبت به عضلهSoleus نشان از درگیر بودن بیشتر این عضله در شدت‌های مختلف تمرینی خصوصاً در هفته‌های پایانی داشته و این عضله نیاز بیشتری به انتقال دهنده‌ها جهت دفع پروتون داشته در نتیجه بیان این انتقال دهنده در این عضله بیشتر افزایش یافته است.

در یک مطالعه Sandmann و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که در اثر انسداد عروق کرونری قلب (اسیدوز) بیان ژن وپروتئین هر دو مبادله‌گر و انتقال دهنده NHE1 و NBC1 افزایش پیدا می‌کند که با نتایج این تحقیق هم راستا می‌باشد [۱٦]. هم‌چنین Claire و همکاران (۲۰۰۷) اثر تمرینات اینتروال شدید بر محتوی پروتئینی MCT1وMCT4وNBC را مورد ارزیابی قرار دادند و افزایش محتوی پروتئینی MCT1وNBC در تارهای کند نسبت به تند را نشان دادند که با نتایج تحقیق حاضر همسو نمی‌باشد [۳۵].

از طرف دیگر نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان افزایش بیانNHE1 وNBC1 در گروه تمرین کرده دیابتی در هر دو عضله باز کننده EDL وSoleus با یکدیگر متفاوت است و وابسته به نقش و اهمیت هر یک ازترانسپورترها در خارج ساختن پروتون دارد. – Le Prigent و همکاران (۱۹۹٦) نشان دادند که مشارکت مبادله گر و انتقال دهنده NHE1 وNBC1 در خارج ساختن پروتونH^+ از سلول قلب در PH=٦/۹۰ به‌ترتیب ٦۹ و ۳۱ درصد است [۳٦]. در نتیجه در تحقیق حاضر بیان ژن NHE1نسبت به NBC1 بیشتر دستخوش تغییر قرار گرفته است (شکل٤و۵).

سازوکارهای که از طریق آن دیابت موجب کاهش بیان ژن مبادله‌گر و هم انتقال دهنده NHE1 وNBC1 می‌شود به خوبی مشخص نشده است اما اختلاف بین بیان ژن و

پروتئین نشان دهنده تاثیر متغیرهای مداخله‌گر پس‌ترجمه‌ای بر کنترل سنتز پروتئین می‌باشد. نتایج تحقیق Le – Prigent و همکاران، Darmellah و همکاران موید این موضوع می‌باشد [۱۵، ۳۷]. از طرف دیگر تغییرات متابولیکی نیز می‌توانند به‌عنوان عوامل موثر پس‌ترجمه‌ای در کاهش بیان این انتقال دهنده‌ها باشد. نتایج تحقیق Grinstein و همکاران (۱۹۸٤) نشان داد که افزایش سدیم درون سلولی می‌تواند یک نقش مهاری از طریق رقابت با پروتون دراتصال به جایگاه درون سلولی مبادله‌گر NHE1 داشته باشد [۲٤].

تغییر در کنترل کلسیم درون سلولی از جمله سازوکارهای دیگر مسئول کاهش فعالیت مبادله‌گر NHE1در عضله دیابتی است. در تحقیق دیگر Bertrand و همکاران[1] (۱۹۹٤) دو مسیر درون سلولی را برای کنترل فعالیت NHE1 از طریق کلسیم پیشنهاد دادند. مسیر اول از طریق پیوند مستقیم کلسیم/کالمودلین (CAM^2) به مبادله‌گر و مسیر دوم فسفوریلاسیون مبادله‌گر به‌وسیله کلسیم/کالمودلین وابسته به پروتئین کیناز۲ می‌باشد [۳۸]. سازوکارهایی که از طریق آن تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن مبادله گر و انتقال دهنده NHE1 وNBC1 غشای سلول عضلانی می‌گردد تا کنون به خوبی مشخص نشده است اما چندین عامل جهت ایجاد این تغییرات توسط محققین پیشنهاد شده است که شامل کلسیم، $MAPK^3$، $AMPK^4$ وPKC^5 می‌باشد [۳۳]. تمرین استقامتی موجب آزادسازی کلسیم درون سلولی می‌گردد و کلسیم از طریق فعال کردن چندین سازوکار به تغییرات در سطح mRNA و پروتئین‌ترانسپورترهای غشایی کمک می‌کند[۳۳].

در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که که بیان ژن در گروه کنترل دیابتی کاهش قابل ملاحظه‌ای دارد و تمرین استقامتی می‌تواند این کاهش بیان را جبران و به سطوح نرمال نزدیک کند. همچنین الگوی بیان، مختص هر ژن و نقش متابولیکی آن در بافت مورد نظر دارد. این الگوی بیان ژن در عضلات اسکلتی مختص تار عضلانی است که از لحاظ متابولیکی با یکدیگر متفاوتند و یک نوع سازگاری به تمرین است که سلول عضلانی خود را با شرایط ویژه تمرین جهت کنترل و تنظیم pH_i منطبق می‌سازد. هم‌چنین این الگوی افزایش بیان مختص ترانسپورترهایی است که از لحاظ متابولیکی نقش مهم‌تری را در تنظیم و نگه‌داری pH درون سلولی در عضلات اسکلتی بر عهده دارند.

سپاسگزاری

نویسندگان بدین‌وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از صندوق حمایت از پژوهشگران کشور (ریاست جمهوری) به جهت حمایت مالی از تحقیق حاضر، شرکت دام و طیور کانی دام و مرکز تحقیقات بیو لوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رازی کرمانشاه به جهت همکاری در اجرای تحقیق ابراز می‌دارند.

[1] Bertrand B and et al
[2] Ca^+/calmodulin
[3] Mitogen- activated protein kinases
[4] Adenosin monophosphate kinases
[5] Protein kinase C

ماخذ

1. Gerald I , Shulman. Cellular Mechanisms of Insulin Resistance. *Journal of Clinical Investigation* 2000; 106: 171-6.
2. Van ZD. Diagnosis and Treatment of Diabetic Ketoacidosis. *SA FAMPRAC* 2008; 50: 35-40.
3. Wiederkebr M , Krapt R. Metabolic and Endocrine Effect of Metabolic Acidosis in Humans. *Swiss Medwkly* 2001; 131: 127-132.
4. Juel C. Regulation of pH in Human Skeletal Muscle: Adaptaion to Physical Activity. *Acta Physiol scand* 2008; 193: 17-24.
5. Boning D , klarhola C. Causes of differences in exercise-induced changes of base excess and blood lactate. *Eur appl physiol* 2007; 99: 163-171.
6. David B, Edge J , Goodman C. Muscle buffer capacity and aerobic fitness are associated with rpeated-sprint ability in women. *Eur J Appl Physiol* 2004; 92: 540–547.
7. Dieter B , Carola K. Extracellular Bicarbonate and Nonbicarbonate Buffering against lactic acid during and after exercise. *Eur appl physiol* 2007; 99: 163-171.
8. Johann E, David B, Carmel G. The effects of training intensity on muscle buffer capacity in females. *Eur J Appl Physiol* 2006; 96: 97–105.
9. Mannion AF, Jakeman PM, Dunnett M, Harris RC, Willan PL. Carnosin and anersine concentration in the quadriceps femoris muscle of healthy humans. *European journal f applied physiology* 1992; 64: 47-50.
10. McKenna M. J, Harmer AR, Fraser SF, Li JL. Effects of training on potassium, calcium and hydrogen ion regulation inskeletal muscle and blood during exercise. *Acta Physiol Scand* 1996; 156: 335–346.
11. Juel C. Muscle pH regulation: role of training. *Acta Physiol Scand* 1998a ; 162: 359-366.
12. Messonnier L, Kristensen M, Juel C, Denis C. Importance of pH regulation and lactate/H transport capacity for work production during supramaximal exercise in humans. *J Appl Physiol* 2007; 102: 1936–1944.
13. Coles L, Litt J, Hatta H, Bonen A. Exercise rapidly increases expression of the monocarboxylate transporters MCT1 andMCT4 in rat muscle. *J Physiol* 2004; 561: 253–261.
14. Pierce GN, Slotin T, Fliegel L, Gilchrist JSC, Maddaford TG. Expression and activity of the sodium–hydrogen exchanger in cardiac sarcolemma in health and disease. In: Fliegel L, ed. TheNa/H Exchanger. *Heidelberg: Springer-Verlag* 1996; 12: 217–228.
15. Le – Prigent K, Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Modulation byextracellular pH and intracellular calcium of Na/H exchange in diabetic rat isolated ventricular myocytes. *Circ Res* 1997; 80: 253–260.
16. Sandmann S, Yu M, Kaschina E, Blume A, Bouzinova E, Aalkjaer C, and et al. Differential effects of angiotensin AT1 and AT2 receptors on theexpression, translation and function of the Na/H exchanger and Na+–HCO3 − symporter in the rat heart after myocardial infarction. *J Am CollCardiol* 2001; 37: 2154–65.
17. Jandeleit-Dahm K, Hannan KM, Farrelly CA, Allen TJ, Rumble JR, Gilbert RE and et al. Diabetes-induced vascular hypertrophy is accompaniedby activation of Na/H exchange and prevented by Na/H exchange inhibition. *Circ Res* 2000; 87: 1133–40.
18. Monazzami AA, Ragabi H,Gharakhanlou R. The effect of endurance training on myocardial Na/H^+ exchanger1 (NHE1) and Na/ HCO_3 cotransporter1 (NBC1) gene expression in type 2 diabetic rat. *Olympic journal* 2013;4: 61-74.
19. Monazzami AA, Ragabi H,Gharakhanlou R, Norouzian M, Javan M, Omidfar K, et al. The effect of endurance training on skeletal muscle Na/H^+ exchanger1 (NHE1) and Na/ HCO_3 cotransporter1 (NBC1) protein expression in type 2 diabetic rat. diabetes and lipid journal 2011; 2: 142-153.
20. Rasmussen, M, Juel, C, Nordsborg, B. Exercise-induced regulation of muscular Na-K pump, FXYD1, and NHE1mRNA and protein expression: importance of training status, intensity,and muscle type. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300: 1209-1220.
21. Viswanad KB, Lydia A , Ramarao P. Combination of High-Fat-Diet-Fed and Low-Dose Streptocin-Treated Rat: A Model for Type 2 Diabetes and Pharmacological Screening Srinivasan. *Pharmacological Research* 2005; 52: 313-32.
22. Brooks GA , White TP. Determination of metabolic and heart rat responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol* 1978; 45: 1009–1015.
23. Norten A. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *EUR SOCIETY OF CARDIOLOGY* 2007; 14: 753-760.
24. Grinstein S, Goetz JD, Rosthstein A. Na/H fluxes in thymiclymphocytes. II. Amiloride sensitive Na/H exchange pathway: reversibility of transport and asymmetry of the modifier site. *J GenPhysiol* 1984; 84: 585–600.
25. Sharma AK, Srinivasan BP. Triple verses glimepiride plus metformin therapy on cardiovascular risk biomarkers and diabetic cardiomyopathy in insulin resistance type 2 diabetes mellitus rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 38: 433– 444.

26. Baker S, Karl JA, Bonen A. Training intensity-dependent and tissue-specific increasesin lactate uptake and MCT-1 in heart and muscle. *J Appl Physiol* 1998; 84: 987-994.
27. Kristensen JM, Kristensen M, Juel C. Expression of Na+/HCO3) co-transporter proteins (NBCs) in rat and human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2004; 182: 69-77.
28. Puceat M, Arnaud DV, Montpellier F. PHi regulatory ion transporters: An Update on Structure , Regulation and Cell Function. *Clms Cell Mol Lifesci* 1999; 55: 1216-1229.
29. Soleimani M , Barnhan CE. Na: HCO3 cotransporter [NBC]: Cloning and Characterization. J Membrane Biol1 2001; 83: 71-84.
30. Juel C. Expression of The Na/H Exchanger Isoform NHE1 in Skeletal Muscle and Effect of Training. *Acta Physiol Scand* 2000; 170: 59-63.
31. Juel C, Mads KH, Dela F. Effect of Strenght Training on Muscle Lactate Release and MCT1 and MCT4 Content in Healthy and Type 2 Diabetic Humans. *J Physiol* 2004;55: 297-304.
32. Juel C. Skeletal muscle Na+/H+ exchange in rats: pH dependency and the effect of training. *Acta Physiol Scand* 1998b;164: 135–140.
33. Juel C. Training-induced changes in membrane transport proteins of humanskeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2006; 96: 627–635.
34. Nikoei R,Rajabi H, ghrakhanlou R, Omidfar K, Monazzami AA,Atabi F, et al. Modulation of skeletal muscle monocarboxylate cotransporter 1 (MCT1) and monocarboxylate cotransporter 4 (MCT4) gene expression in type 2 diabetic rats following endurance training. *diabetes and lipid journal* 2011; 31: 345-56.
35. Claire T, David B. Effect of High- Intensity Training on MCT1,MCT4 and NBC Expressions in Rat Skeletal Muscles: Influwnce of Chronic Metabolic Alkalosis. *Am J Physiol Endocrinol Metabol* 2007; 293: 916-922.
36. Le – Prigent K, Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Modulation by extracellular pH and intracellular calcium of Na/H exchange in diabetic rat isolated ventricular myocytes. *Circ Res* 1997; 80: 253–260.
37. Darmellah D. Enhanced activity of myocardial na/h exchanger contribute to left ventricular hypertrophy in GOTO-KAKIZAKIrat model of type 2 diabetes: critical role of Akt. *diabetologia* 2007; 50: 1335-1344.
38. Bertrand B, Wakabayashi S, Ikeda T, Pouyssegur J, Shigekawa M. The Na/H exchanger isoform NHE 1 is a novel member of thecalmodulin-binding proteins: Identification and characterization ofcalmodulin-binding sites. *J Biol Chem* 1994; 269: 13703–13709.

ENDURANCE TRAINING INCREASES SKELETAL MUSCLE NA/H^+ EXCHANGER1 (NHE1) AND NA/HCO_3 CO-TRANSPORTER1 (NBC1) GENE EXPRESSIONS IN TYPE2 DIABETIC RAT

Amirabbas Monazzami[*1], Hamid Rajabi[2], Kobra Omidfar[3], Ali Mostafaie[4]

1. *Assistant professor in Sport Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Razi, Kermanshah, Iran*
2. *Associate professor in Sport Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Tarbiat Moallem, Tehran , Iran*
3. *Biosensor Research Center, Endocrinology and Metabolism Molecular -Cellular Sciences Institute, University ofTehran Medical Sciences, Tehran, Iran*
4. *Professor in Immunology, Department of Immunology, University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*

ABSTRACT

Background: The purpose of this study was to investigate the effects of endurance training on muscle NHE1 and NBC1 gene expressions in type 2 diabetic rats.
Methods: Male wistar rats (n=40), 4weeks old and 93.7±9.8g, were randomly selected and divided into control, diabetic control and diabetic training groups. The Endurance training was performed for 7 weeks on diabetic training groups (running on treadmill forrodent). NHE1 and NBC1 gene expression were determined by Realtime-PCR technique. The differences between groups in variables were determined by an independent t-test using REST Software.
Results: NHE1 mRNA expression reduced significantly in EDL and Soleus by 25% and 19% in the diabetic control group compared with the control group, respectively (P<0/05).NHE1 mRNA expression also reduced significantly in EDL and Soleus by 35% and 29% in the diabetic control group compared with the control group, respectively (P<0/05).Endurance training increased NHE1 and NBC1 geneexpressions in both EDL and Soleus in the diabetic training group.
Conclusion: The present study showed that NHE1 and NBC1 mRNA expressions decreased significantly in the diabetic control group and endurance training increased NHE1 and NBC1 mRNA expressions in the diabetic trained group leading to normalizing the mRNAs in diabetic trained group.

Key words: Gene expression, NHE1, NBC1, Endurance training, Type 2 diabetes

[*] Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Razi, Kermanshah, Iran. Fax: +98083- 34274585, Tell:09127261026, Email: Monazzami.amirabbas@gmail.com