

اثر تمرین هوازی بر عملکرد سیستم رنین-آنژیوتانسین موضعی و مقاومت به انسولین در عضله گاستروکنمیوس موش‌های دیابتی نوع دو

فاطمه صباغیان^۱، فاطمه کاظمی نسب*^۱، امیر قنبرپور نصرتی^۱

چکیده

مقدمه: هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین هوازی بر عملکرد سیستم رنین-آنژیوتانسین موضعی و مقاومت به انسولین در عضله دوقلو موش‌های دیابتی نوع دو بود.

روش‌ها: تعداد ۱۸ سر موش نر نژاد C57BL/6 به دو گروه تقسیم شدند: ۱- موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد به مدت ۱۲ هفته (گروه کنترل)، ۲- موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پُرچرب به مدت ۱۲ هفته همراه با تزریق استرپتوزوتوسین (گروه دیابت). موش‌های دیابتی به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: ۱- گروه دیابت-بی تحرک، ۲- گروه دیابت-تمرین. موش‌های تمرینی به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته با سرعت متوسط ۱۹ متر بر دقیقه و مدت ۴۵ دقیقه بر روی نوارگردان تمرین کردند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها قربانی شدند. عضله دوقلو استخراج و برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های آنژیوتانسین ۲، گیرنده Mass، گیرنده At1 و انتقال دهنده گلوکز ۴ (Glut4) در فریز ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیان ژن گیرنده Mass و Glut4 در موش‌های دیابت-تمرین به طور معناداری از گروه دیابت-بی تحرک بیشتر بود. همچنین، بیان ژن آنژیوتانسین ۲، شاخص مقاومت به انسولین و گلوکز خون ناشتا در عضله موش‌های دیابت-تمرین در مقایسه با موش‌های دیابت-بی تحرک به طور معناداری کمتر بود. همچنین، بیان گیرنده At1 در گروه دیابت-تمرین نسبت به گروه دیابت-بی تحرک به طور غیرمعناداری کمتر بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه حاضر نقش مهم تمرین ورزشی در بهبود سیستم رنین-آنژیوتانسین موضعی در عضله اسکلتی را نشان می‌دهد. هشت هفته تمرین هوازی از طریق کاهش بیان آنژیوتانسین ۲، گیرنده At1 و افزایش سطوح گیرنده Mass، می‌تواند سبب کاهش مقاومت به انسولین عضلانی و بهبود بیماری دیابت نوع دو شود.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، سیستم رنین-آنژیوتانسین، مقاومت به انسولین، عضله دوقلو، دیابت نوع دو

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

*نشانی: کاشان، قطب راوندی، دانشگاه کاشان، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تلفن: ۰۳۱-۵۵۹۱۳۷۰۶، پست

الکترونیک: fkazeminasab@kashanu.ac.ir

مقدمه

دیابت یک اختلال مزمن غدد درون‌ریز است [۱] که در طول زمان منجر به آسیب قلب، عروق، چشم‌ها، اعصاب و عضلات می‌شود. شایع‌ترین دیابت، دیابت نوع دو است که عمدتاً به دلیل ترکیبی از دو عامل اصلی ترشح معیوب انسولین توسط سلول‌های β پانکراس (نارسایی سلول‌های β) و ناتوانی بافت‌های کبد، چربی و عضله در پاسخ به انسولین (مقاومت به انسولین) ایجاد می‌شود [۲] و به تدریج این شرایط باعث اختلال در سطح گلوکز خون می‌شوند.

چاقی و مقاومت به انسولین هر دو با دیابت نوع دو مرتبط هستند [۳]. اگرچه به خوبی ثابت شده است که چاقی شکمی و کم تحرکی یک عامل خطر اصلی برای بیماری‌های مزمن، ایجاد مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو است، اما سازکارهای اساسی دیابت نوع دو مرتبط با چاقی هنوز به طور کامل شناخته نشده است [۴]. مقاومت به انسولین چندین بافت را تحت تأثیر قرار می‌دهد که اصلی‌ترین بافت‌های مورد هدف آن عضله اسکلتی، پانکراس، کبد و بافت چربی است. گلوکز به طور آزادانه از غشای سلول‌ها عبور نمی‌کند، بلکه انتقال آن با پروتئین انتقال دهنده غشا انجام می‌شود. مهم‌ترین ناقل گلوکز در بافت عضلانی و چربی که مهم‌ترین بافت‌های مصرف کننده گلوکز هستند، GLUT4 است. در شرایط مقاومت به انسولین یعنی عدم وجود حساسیت کافی به انسولین، عملکرد GLUT4 در غشای سلول‌ها کاهش پیدا می‌کند که این مسئله باعث کاهش برداشت گلوکز توسط سلول‌ها شده و در نهایت باعث هایپرگلیسمی می‌شود [۵، ۶].

از طرف دیگر، سیستم رنین-آنژیوتانسین (RAS^1)، عمدتاً آنژیوتانسین ۲ (Ang II^2)، نقش بالقوه‌ای در اختلال عملکرد انسولین، مقاومت به انسولین و التهاب دارد [۷]. به طور کلی RAS به دو نوع سیستمی و موضعی تقسیم‌بندی می‌شود [۸]. در آبشار سلولی RAS، آنژیوتانسینوزن از طریق آنزیمی به فعال‌ترین عنصر RAS، Ang II تبدیل می‌شود. Ang II اثرات خود را از طریق دو گیرنده اصلی اعمال می‌کند: At1R^3 و At2R^4 [۹]. این دو گیرنده عملکرد مخالف همدیگر دارند. اتصال این هورمون به گیرنده At1 با اثرات مخرب و اتصال آن به گیرنده At2 اثرات سودمندی را به

همراه دارد [۱۰]. همچنین ممکن است عملکرد بیولوژیکی RAS توسط آبشارهای آنزیمی جدید به طور قابل توجهی تغییر کند که منجر به تولید مولکول‌هایی با خواص عملکردی متفاوت از Ang II شود. به عنوان مثال Ang [1-7] ، آنژیوتانسینی است که به گیرنده خاص خود به نام گیرنده Mass متصل می‌شود. گیرنده Mass مانند گیرنده At2 اثرات مفیدی از جمله کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود مقاومت به انسولین عضلانی دارد [۹]. در مجموع یافته‌ها نشان می‌دهد که اگر RAS توسط گیرنده مخرب خود عمل کند، می‌تواند یک ارتباط بالقوه بین چاقی، استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندری و مقاومت به انسولین ایجاد کند که در نهایت منجر به دیابت نوع دو شود و اگر از طریق گیرنده Mass عمل کند، با کاهش مقاومت به انسولین همراه است [۸].

پژوهش‌های مرتبط در این زمینه نشان دهنده آن است که برای پیشگیری و درمان چاقی، مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو به طور گسترده‌ای از تمرین‌های ورزشی استفاده شده است. تمرین‌های هوازی منجر به بهبود عملکرد میتوکندری، اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش وزن بدن می‌شود و همچنین حساسیت به انسولین و جذب گلوکز را در عضله اسکلتی بهبود می‌بخشد [۱۱]. علاوه بر این، مهار RAS از طریق مسدودکننده‌های آنژیوتانسین می‌تواند با افزایش حساسیت به انسولین و افزایش انتقال گلوکز همراه باشد [۱۲]. مطالعه دیگری که با هدف درمان غیردارویی RAS از فعالیت بدنی استفاده کرده است و نشان داد که فعالیت بدنی از طریق کاهش محور سیستمیک و بافتی $\text{ACE}^5/\text{Ang II}/\text{At1}^6$ و تغییر در RAS به سمت محور $\text{ACE2}^7/\text{Ang (1-7)}^8/\text{Mass}^9$ در عضله اسکلتی از اثرات مخرب آن جلوگیری می‌کند [۱۱].

مطالعه حاضر با توجه به اهمیت فعالیت بدنی برای درمان غیردارویی بیماری دیابت نوع دو طراحی شده است تا با یک بررسی موشکافانه در سطح بیان ژن، یکی از نقش‌های اساسی تمرین هوازی را در بهبود حساسیت به انسولین و بهبود عملکرد سیستم رنین-آنژیوتانسین موضعی در عضله دوقلو در بیماری دیابت نوع دو بررسی نماید. لذا هدف پژوهش حاضر بررسی اثر

⁵ Angiotensin converting enzyme

⁶ Angiotensin type I

⁷ Angiotensin-converting enzyme 2

⁸ Angiotensin (1-7)

⁹ MASS receptor

¹ Renin-angiotensin system

² Angiotensin II

³ Angiotensin I receptor

⁴ Angiotensin 2 receptor

موش‌های گروه تمرین کرده، تمرین هوازی بر روی تردمیل را به مدت ۸ هفته انجام دادند. یک هفته قبل از شروع پروتکل ورزشی برای آشناسازی موش‌ها با تردمیل و دویدن بر روی آن، موش‌ها بر روی تردمیل قرار گرفتند و با سرعت ۱۷ متر بر دقیقه به مدت ۱۵-۴۵ دقیقه دویدند. پروتکل اصلی ورزش بدین صورت بود که در هفته‌های ۱۴ تا ۲۱، به تدریج سرعت تمرین هر دو هفته یکبار از ۱۷ متر در دقیقه به میزان ۲ متر در دقیقه افزایش یافت و به سرعت نهایی ۲۳ متر در دقیقه رسید. مدت هر جلسه تمرین ۴۵ دقیقه، ۵ روز در هفته و یک جلسه در روز بود. در طول این مطالعه، شیب تردمیل صفر درجه بود. این پروتکل شدت متوسطی را نشان می‌دهد که تقریباً معادل ۷۰ درصد Vo2max موش است [۱۵، ۱۶].

تست تحمل گلوکز، استخراج بافت عضله و سنجش بیان ژن

در پایان ۱۲ هفته دریافت رژیم غذایی پُرچرب، و پس از پنج ساعت ناشتایی، تست تحمل گلوکز (GTT) انجام شد. این تست با استفاده از تزریق داخل صفاقی ۲ گرم بر کیلوگرم دی-گلوکز (D-glucose) در محلول ۳۰ درصد فسفات بافر سالین انجام شد و در مدت زمانی صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه قند خون سنجیده شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها درحالتی که یک شب کامل ناشتا بودند (۱۴ ساعت ناشتایی)، از طریق تزریق داخل صفاقی ماده بی‌هوشی کتامین (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی خون‌گیری انجام و بلافاصله درون لوله‌های آزمایش ریخته شد. در نهایت بافت عضله دو قلو استخراج و در فریز -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه (RPM^۳) سانتریفیوژ شدند. سپس برای سنجش گلوکز و مقاومت به انسولین خون، سرم هر نمونه جدا شد. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR^۴) با استفاده از سطوح گلوکز ناشتا و انسولین ناشتا تعیین شد و از معادله (انسولین پلاسما (μU/mL) × گلوکز ناشتا سرمی (mg/dL)/۴۰۵) برای محاسبه میزان HOMAIR استفاده شد [۱۷]. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های آنژیوتانسین ۲، گیرنده Mass، گیرنده At1 و انتقال دهنده گلوکز ۴ (Glut4) در بافت عضله دو قلو از تکنیک Real-time PCR استفاده شد.

تمرین هوازی بر عملکرد سیستم رنین-آنژیوتانسین موضعی و مقاومت به انسولین در عضله دو قلو موش‌های دیابتی نوع دو است.

روش‌ها

حیوانات

تعداد ۱۸ موش نر نژاد C57BL/6 با وزن تقریبی (۱۶-۱۰ گرم) و رده سنی (۵-۸ هفته) در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما (۲۳±۱ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (۵۰±۵ درصد) در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. اندازه‌گیری وزن بدن آنها به صورت هفتگی انجام شد. کد اخلاق این پژوهش IR.SSRC.REC.1401.136 است.

گروه بندی حیوانات

پس از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌ها به دو گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل، گروه تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد به مدت ۱۲ هفته (تعداد: ۶)، ۲- گروه دیابت نوع دو، تغذیه شده با رژیم غذایی پُرچرب به مدت ۱۲ هفته (تعداد=۱۲). رژیم غذایی پُرچرب شامل ۶۰ درصد کیلوکالری از چربی، ۲۰ درصد کیلوکالری از کربوهیدرات و ۲۰ درصد کیلوکالری از پروتئین و رژیم غذایی استاندارد شامل ۱۰ درصد کیلوکالری از چربی، ۷۰ درصد کیلوکالری از کربوهیدرات و ۲۰ درصد کیلوکالری از پروتئین بود. در شکل ۱ طرح تحقیق و گروه‌بندی حیوانات ارائه شده است.

القای دیابت نوع دو و پروتکل ورزشی

برای القای دیابت نوع دو، موش‌ها به مدت ۸ هفته رژیم غذایی پُرچرب دریافت کردند. سپس استرپتوزوسین (STZ^۱) با دوز ۱۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد و مجدداً موش‌ها به مدت ۴ هفته از رژیم غذایی پُرچرب استفاده کردند [۱۳، ۱۴]. برای تأیید القای دیابت نوع دو، پس از ۱۲ هفته دریافت رژیم غذایی پُرچرب، تست تحمل گلوکز (GGT^۲) پس از ۴ تا ۵ ساعت ناشتایی موش‌ها انجام شد. پس از تأیید القای دیابت نوع دو، موش‌ها به دو گروه تقسیم شدند: ۱- گروه دیابت-بی تحرک (Diabetes-Sed)، ۲- گروه دیابت-تمرین (Diabetes-Exe).

³ Revolutions per minute

⁴ Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance

¹ Streptozotocin

² Glucose tolerance test

زمان‌های ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه در مقایسه با گروه کنترل (موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد) مشاهده شد ($P < 0/001$ ، شکل B ۲). در نتیجه، یافته‌ها نشان دهنده القای دیابت نوع دو پس از ۱۲ هفته اعمال مداخله (رژیم غذایی و Stz) در موش‌های نر نژاد C57BL/6 بود.

اثرات تمرین هوازی بر میزان گلوکز خون ناشتا

شکل ۳ میزان گلوکز خون ناشتا پس از اتمام پروتکل ورزشی در تمام گروه‌ها نمایش داده شده است. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای بررسی تغییرات میزان گلوکز ناشتا در بین گروه‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد که سطوح گلوکز سرمی موش‌ها در بین سه گروه تفاوت معناداری وجود دارد ($P < 0/001$ ، $F = 42$). همچنین برای مقایسه بین گروهی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد، بر اثر القای دیابت، میزان گلوکز در گروه دیابت-بی‌تحرك نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری بالاتر بود ($P < 0/001$). سطوح گلوکز در گروه دیابت-تمرین نسبت به دیابت-بی‌تحرك به‌طور معناداری کمتر بود ($P = 0/002$) (شکل ۳).

اثرات تمرین هوازی بر شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای بررسی مقاومت به انسولین در بین گروه‌ها تفاوت معناداری را نشان داد ($P < 0/001$ ، $F = 319$). همچنین نتایج حاصل از آزمون توکی نشان داد که مقاومت به انسولین در گروه دیابت-بی‌تحرك به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0/001$). HOMA-IR در گروه دیابت-تمرین به‌طور معناداری کمتر از گروه دیابت-بی‌تحرك بود ($P < 0/001$) (شکل ۴).

اثرات تمرین هوازی بر بیان آنژیوتانسین ۲

نتایج نشان داد که بیان ژن آنژیوتانسین ۲ در بین سه گروه تفاوت معناداری وجود داشت ($P = 0/003$ ، $F = 9/077$). برای مقایسه بیان نسبی این ژن در بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که بر اثر القای دیابت، میزان بیان ژن آنژیوتانسین ۲ در گروه دیابت-بی‌تحرك نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری بالاتر بود ($P = 0/002$). علاوه بر این، سطوح

روش Real-time PCR برای همه نمونه‌ها با استفاده از کیت ABI Applied SYBR Green PCR Master Mix و دستگاه Biosystems دو مرتبه تکرار شد. مراحل PCR شامل: ۱) واسرشت اولیه^۱ در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۲) ۴۰ سیکل که به ترتیب شامل a) واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، b) اتصال^۲ در دمای مناسب برای هر پرایمر به مدت ۳۰ ثانیه، c) طول‌سازی^۳ در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه. پس از پایان واکنش Real-time PCR و تعیین خط آستانه با استفاده از نرم‌افزار دستگاه، سیکل آستانه (Ct)^۴ هر نمونه به دست آمد و با استفاده از روش ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) سطوح ژن‌های مورد تحقیق نسبت به بیان ژن رفرنس B-actin محاسبه شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ ارائه شده است.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها بر اساس میانگین \pm خطای استاندارد میانگین^۵ (SEM) گزارش شدند. برای تعیین میزان تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و برای ارزیابی تفاوت بین دو گروهی از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) در سطح معناداری $P < 0/05$ استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند. برای رسم نمودار از نرم‌افزار GraphPad Prism 8 نسخه ۲۰۲۰ استفاده شد.

یافته‌ها

اثرات رژیم غذایی پرچرب بر وزن بدن موش‌ها و نتایج تست تحمل گلوکز

تغییرات وزن بدن موش‌ها به صورت هفتگی در شکل A ۲ نمایش داده شده است. وزن بدن موش‌های گروه دیابتی از هفته ششم به بعد نسبت به موش‌های غیردیابتی تفاوت معناداری داشت ($P < 0/001$). نتایج تست تحمل گلوکز (GTT) در هفته دوازدهم پژوهش حاکی از آن است که پس از تزریق گلوکز، سطوح قند خون افزایش پیدا کرد. پس از آن، میزان قندخون به تدریج کاهش یافت و در نهایت در زمان ۱۲۰ دقیقه به سطح اولیه بازگشت. تفاوت معناداری در گلوکز خون موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب در

¹ Denaturation

² Annealing

³ Elongation

⁴ Cycle threshold

⁵ Standard Error of the Mean

($F=16, P<0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بر اثر القای دیابت، میزان بیان ژن Mass در گروه دیابت-بی تحرک نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر بود ($P<0/001$). بیان این ژن در گروه دیابت-تمرین نسبت به گروه دیابت-بی تحرک به طور معناداری بیشتر بود ($P<0/001$) (شکل B ۶).

اثرات تمرین هوازی بر بیان ژن Glut4

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بیان ژن Glut4 در بین سه گروه تفاوت معناداری وجود دارد ($F=16, P<0/001$). نتایج آزمون توکی نشان داد که بر اثر القای دیابت، بیان ژن Glut4 در گروه دیابت-بی تحرک به طور معناداری کمتر از گروه کنترل بود ($P<0/001$). بیان ژن Glut4 در گروه دیابت-تمرین به طور معناداری بیشتر از گروه دیابت-بی تحرک بود ($P<0/001$) (شکل ۷).

آنژیوتانسین ۲ در گروه دیابت-تمرین نسبت به گروه دیابت-بی تحرک به طور معناداری کمتر بود ($P<0/001$) (شکل ۵).

اثرات تمرین هوازی بر بیان گیرنده At1

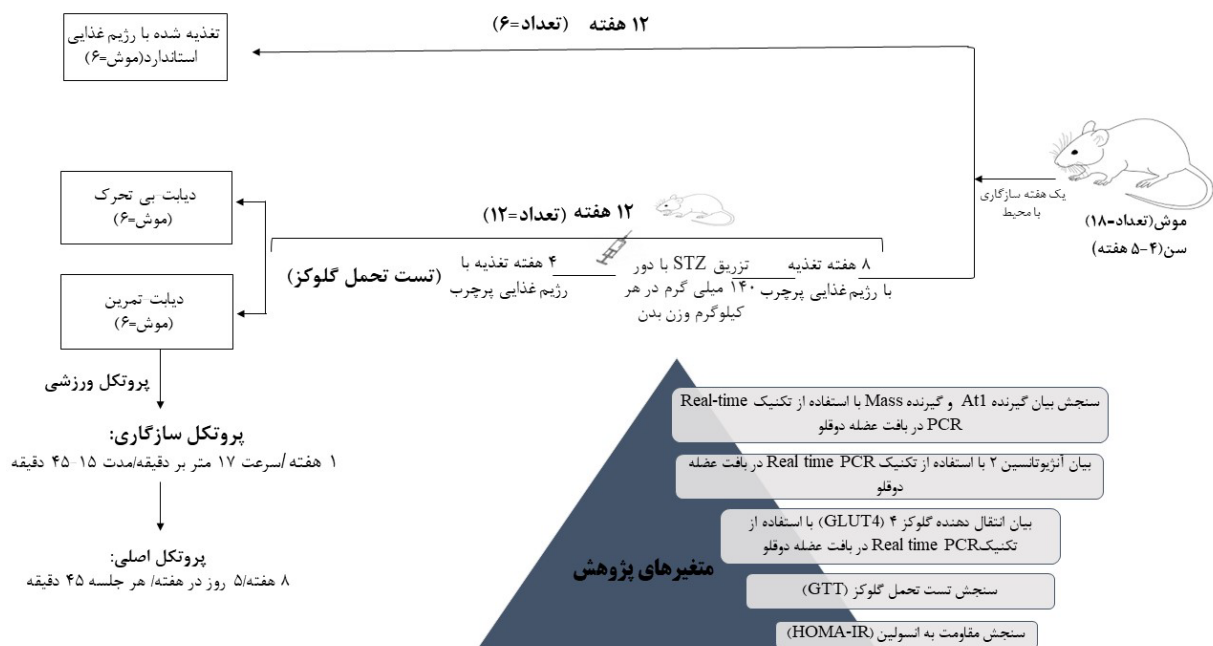
نتایج حاصل از آزمون واریانس یک طرفه حاکی از آن است که بیان ژن گیرنده At1 در بین سه گروه تفاوت معناداری دارد ($P=0/006, F=7$). نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بر اثر القای دیابت، میزان بیان ژن گیرنده At1 گروه دیابت-بی تحرک نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بیشتر بود ($P=0/005$). بیان این ژن در گروه دیابت-تمرین نسبت به گروه دیابت-بی تحرک کمتر بود که کاهش آن نزدیک معناداری بود ($P=0/063$) (شکل A ۶).

اثرات تمرین هوازی بر بیان گیرنده Mass

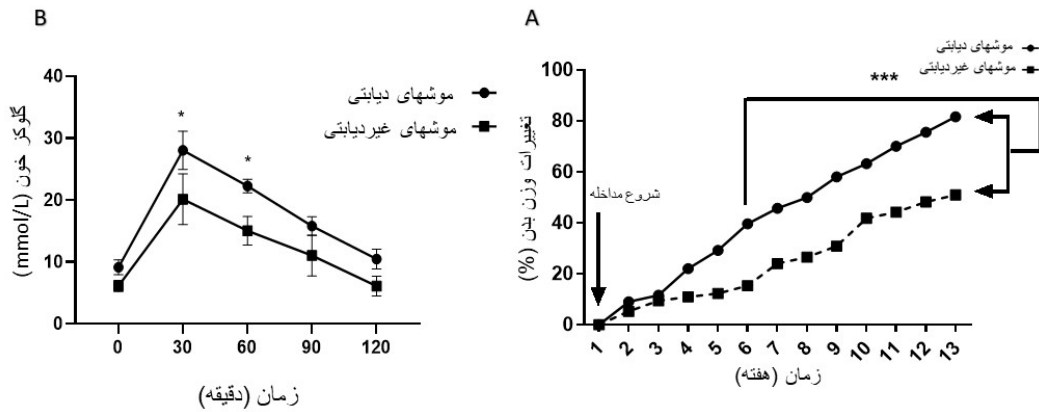
نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بیان ژن گیرنده Mass در بین سه گروه تفاوت معناداری وجود دارد

جدول ۱- توالی پرایمرها

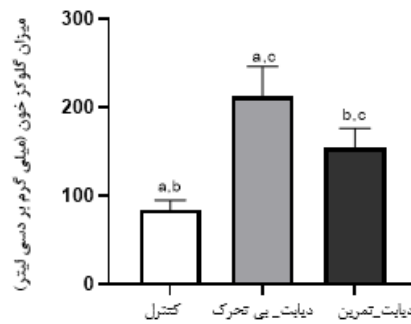
ژن (Gene)	پرایمر معکوس (Reverse Primer) (۳'-۵')	پرایمر پیشرو (Forward Primer) (۳'-۵')
Ang II	TGGACTCCAGGCAGCTGAGA	CTGGATTTATCCACTGACCCAGTTC
Mass Receptor	CTGGCAGGATCACAGAGTTTC	CTCTCCACCTCCTGACTGTTG
AT1 Receptor	GCCAAGCCAGCCATCAGC	CTTCGGCCAGCGTCAGTT TC
Glut4	GACCCATAGCATCCGCAACAT	GGCTTTGTGGCCTTCTTTGAG
B-actin	CTGACCCATACCCACCATCAC	ACAACCTTCTTGCAGCTCCTC



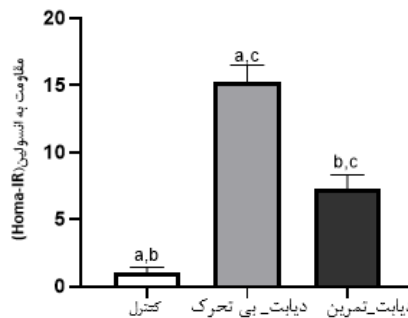
شکل ۱- پروتکل پژوهش با القای دیابت نوع دو و اعمال مداخله ورزشی



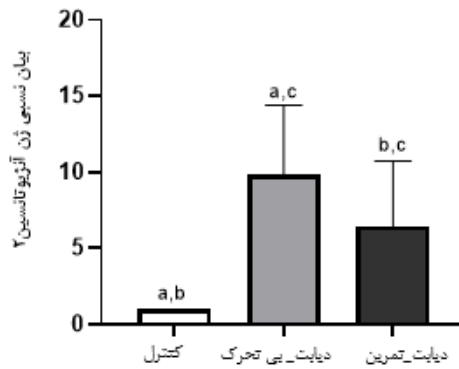
شکل ۲- تغییرات وزن بدن و تست تحمل گلوکز (GTT) پس از اعمال ۱۲ هفته مداخله رژیم غذایی پرچرب و استریتوزوسین (A) تغییرات وزن بدن در موش‌های دیابتی و غیردیابتی، (B) میزان گلوکز خون پس از تزریق گلوکز در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب و استاندارد. *** معنی داری در سطح ۰/۰۰۱ و * معنی داری در سطح ۰/۰۱ را نشان می‌دهد.



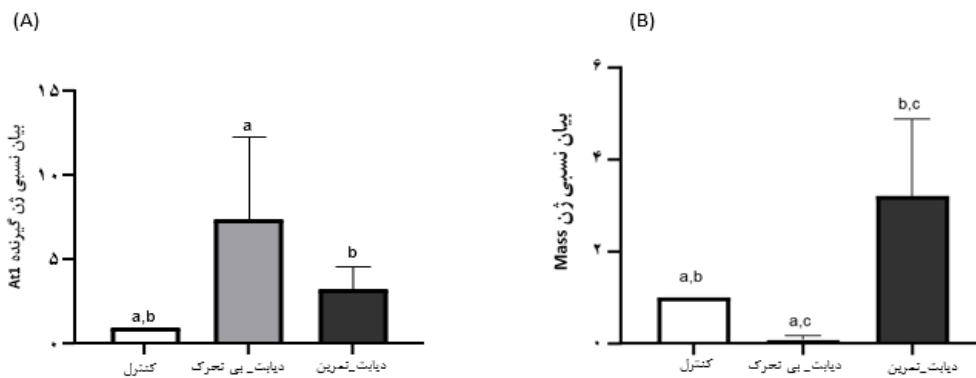
شکل ۳- میزان گلوکز خون ناشتا پس از اتمام پروتکل ورزشی در سه گروه کنترل، دیابت-تمرین و دیابت-بی تحرک (a) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-بی تحرک را نشان می‌دهد. (b) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-تمرین را نشان می‌دهد. (c) تفاوت معنادار بین گروه دیابت-بی تحرک و گروه دیابت-تمرین را نشان می‌دهد.



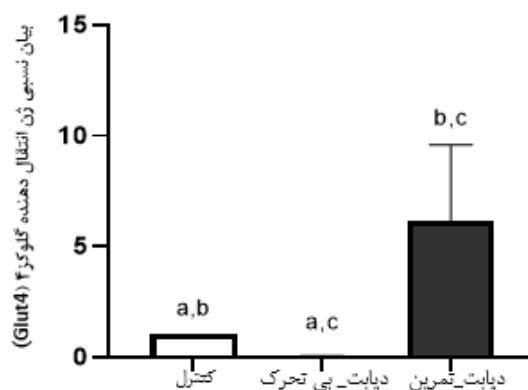
شکل ۴- میزان مقاومت به انسولین (HOMA-IR) پس از اتمام پروتکل ورزشی در سه گروه کنترل، دیابت-تمرین و دیابت-بی تحرک (a) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-بی تحرک را نشان می‌دهد. (b) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-تمرین را نشان می‌دهد. (c) تفاوت معنادار بین گروه دیابت-بی تحرک و گروه دیابت-تمرین را نشان می‌دهد.



شکل ۵- بیان نسبی آنزیماتاسین ۲ پس از اتمام پروتکل ورزشی در سه گروه کنترل، دیابت-تمرین و دیابت-بی تحرک (a) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-بی تحرک را نشان می‌دهد. (b) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-تمرین را نشان می‌دهد. (c) تفاوت معنادار بین گروه دیابت-بی تحرک و گروه دیابت-تمرین را نشان می‌دهد.



شکل ۶- بیان نسبی گیرنده‌های At1 و Mass پس از اتمام پروتکل ورزشی در سه گروه کنترل، دیابت-تمرین و دیابت-بی تحرک (A) بیان نسبی گیرنده At1، (B) بیان نسبی گیرنده Mass. (a) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-بی تحرک را نشان می‌دهد. (b) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-تمرین را نشان می‌دهد. (c) تفاوت معنادار بین گروه دیابت-بی تحرک و گروه دیابت-تمرین را نشان می‌دهد.



شکل ۷- بیان نسبی انتقال دهنده گلوکز ۴ (Glut4) پس از اتمام پروتکل ورزشی در سه گروه کنترل، دیابت-تمرین و دیابت-بی تحرک (a) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-بی تحرک را نشان می‌دهد. (b) تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و دیابت-تمرین را نشان می‌دهد. (c) تفاوت معنادار بین گروه دیابت-بی تحرک و گروه دیابت-تمرین را نشان می‌دهد.

بحث

در مطالعه حاضر، اثر تمرین هوازی بر عملکرد سیستم رنین-آنژیوتانسین موضعی پانکراس و بهبود مقاومت به انسولین در بافت عضله دوقلو موش‌های دیابتی نوع دو بررسی شد. نتایج نشان داد که رژیم غذایی پرچرب همراه با تزریق STZ موجب افزایش میزان گلوکز خون ناشتا، مقاومت به انسولین، بیان نسبی ژن آنژیوتانسین ۲ و گیرنده At1 در عضله دوقلو موش‌های دیابتی نوع دو شد. همچنین در اثر القای دیابت، بیان نسبی ژن انتقال دهنده گلوکز ۴ و گیرنده Mass در عضله دوقلو به طور معناداری نسبت به گروه کنترل (غیر دیابتی) کمتر بود. اما تمرین هوازی باعث شد تا شرایط فیزیولوژیک ایجاد شده توسط دیابت دو بهبود یابد. به طوری که بعد از هشت هفته تمرین هوازی، میزان گلوکز خون، مقاومت به انسولین و بیان نسبی ژن آنژیوتانسین ۲ در عضله دوقلو به طور معناداری کاهش یافت. همچنین بیان ژن گیرنده At1 کاهش یافت اما از لحاظ آماری معنادار نبود. همچنین بیان نسبی انتقال دهنده گلوکز ۴ و گیرنده Mass در عضله اسکلتی موش‌های دیابت-تمرین نسبت به موش‌های دیابت-بی‌تحرك به طور معناداری افزایش یافت.

در مطالعات اخیر گزارش شده است که با استفاده از مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین یا مسدودکننده‌های گیرنده At1، اثرات مفیدی بر متابولیسم گلوکز، حساسیت به انسولین و انتقال دهنده گلوکز ۴ ایجاد می‌شود. نتایج این مطالعات با نتایج پژوهش حاضر که با مداخله تمرین هوازی اثرات مفیدی بر RAS ایجاد شد، همسو است [۱۸]. در پژوهش دیگر که تأثیر تمرین ورزشی بر بیان ژن آدیپونکتین و Glut4 در سطح mRNA در موش‌های دیابتی نوع ۲ بررسی شد، یافته‌ها نشان داد تمرین ورزشی سبب افزایش بیان Glut4 شد که به دنبال آن استفاده از گلوکز و اسید چرب را افزایش داد و مقاومت به انسولین را بهبود بخشید. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد [۵]. همچنین تحقیقی که با هدف بررسی اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر میزان ورود گلوکز در عضله اسکلتی انجام شد و مشاهده کردند که هشت جلسه HIIT باعث بهبود جذب گلوکز در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نسبت به گروه کنترل شد و بیان

Glut4 در عضله آزمودنی‌های تمرین کرده نسبت به افراد تمرین نکرده افزایش یافت که نتایج آن با مطالعه حاضر همسو است [۱۹]. مطالعه دیگری با هدف تعدیل و تنظیم سیستم رنین-آنژیوتانسین توسط تمرین ورزشی در بافت چربی سفید و عضله اسکلتی موش‌های چاق دیابتی ناشی از رژیم غذایی پرچرب انجام شد. نتایج نشان داد که القای چاقی و دیابت در مدل حیوانی باعث افزایش محور موضعی ACE/At1 receptor و کاهش محور ACE2/Mass receptor در عضله اسکلتی شد. به طوری که، پس از اعمال تمرین ورزشی فعالیت RAS به سمت محور محافظی (ACE2/Ang 1-7/Mass receptor) در بیماری دیابت تغییر یافت [۲۰]. نتایج این پژوهش با یافته‌های پژوهش حاضر همسو است. همچنین مطالعه دیگر با عنوان اثر فعالیت بدنی بر محور ACE2/Ang 1-7/Mas receptor در سیستم رنین-آنژیوتانسین انجام شد و گزارش کردند که تمرین بدنی میزان Ang II را در حیوانات چاق به سطوح قابل مقایسه با موش‌های غیر چاق کاهش داد. همچنین تمرین ورزشی منجر به کاهش بیان گیرنده ACE و At1 در سطح mRNA و پروتئین و افزایش بیان ژن و پروتئین آنزیم ACE2 و گیرنده‌های At2 و Mass شد. به طور خلاصه تمرین ورزشی توانست محور ACE2-Ang-(1-7)-Mass را به موازات مهار مسیر گیرنده ACE Ang II-At1 در عضله اسکلتی تحریک کند [۲۱].

سازکارهای زیادی از جمله افزایش جریان خون عضلانی، افزایش تراکم مویرگی، افزایش جذب مویرگی با واسطه انسولین، اتصال انسولین به گیرنده خود و انتقال گلوکز با تحریک انتقال Glut4 به سلول عضلانی و در نتیجه افزایش عملکرد انسولین می‌توانند جذب گلوکز را در حین و پس از تمرین ورزشی بهبود بخشند [۲۲، ۱۹]. همچنین تمرین ورزشی بیان Glut4 را از طریق مسیرهای سیگنالینگ مختلف از جمله افزایش فعالیت گلیکوژن سنتاز و افزایش گلیکوژنز عضلانی افزایش می‌دهد که به موجب آن استفاده از گلوکز توسط سلول‌های عضلانی را بهبود می‌بخشد و گلوکز خون را کاهش دهد [۵، ۲۲].

از طرف دیگر، اگرچه به نظر می‌رسد که هنوز ابعاد مختلفی از رابطه مولکولی بین تمرین ورزشی و بهبود حساسیت به انسولین شناخته نشده است، تعداد زیادی از مطالعات نشان

¹ High-intensity interval training

آنژیوتانسین موضعی در بافت عضله در بیماری دیابت نوع دو، استفاده از تمرین‌های ورزشی به‌ویژه تمرین‌های هوازی منظم با شدت متوسط و حداقل سه جلسه در هفته به‌عنوان یک مداخله ورزشی و غیردارویی توصیه می‌شود. اما با توجه به نامشخص بودن برخی از سازکارهای احتمالی در روند بهبود این بیماری، به تحقیقات تکمیلی بیشتری برای شناسایی مسیرهای سیگنالینگ نیاز است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه کاشان انجام شده است. بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌نمایند.

می‌دهند که فعالیت بدنی می‌تواند^۱ AMPK را فعال کند و منجر به بهبود مقاومت به انسولین و بهبود قند خون شود [۵]. همچنین محققان گزارش کرده‌اند که بخش قابل توجهی از گلوکز مصرف شده توسط عضلات اسکلتی برای پر کردن ذخایر گلیکوژن جذب می‌شود [۲۲].

علاو بر این، تنظیم سیستم رنین-آنژیوتانسین می‌تواند مستقیماً بر سیگنال‌دهی انسولین عضلات اسکلتی اثرگذار باشد [۱۸]. به‌طوری‌که، فعال شدن RAS از طریق گیرنده At1 بر بافت‌های مختلف پانکراس، عضله اسکلتی و بافت چربی اثرات منفی دارد. برای مثال، اختلال عملکرد بافت چربی ممکن است ظرفیت ذخیره‌سازی چربی در بافت چربی را مختل کند و ممکن است منجر به تجمع لیپیدها در عضلات اسکلتی و پانکراس شود. تجمع لیپیدهای نابجا با عملکرد طبیعی پانکراس و سیگنال‌دهی انسولین در عضله اسکلتی تداخل ایجاد کنند. در نتیجه، اثرات منفی RAS بر ترشح و حساسیت انسولین با اثرات منفی RAS بر روی چندین بافت مرتبط است [۱۸]. مطالعات نشان داده‌اند که مسدود کردن مسیر سیگنالینگ Ang II منجر به بهبود عضلات اسکلتی و اتساع عروق می‌شود و از تکثیر سلولی، التهاب و اثرات ضد فشار خون جلوگیری می‌کند. همچنین کاهش سطوح آنژیوتانسین ۲ حساسیت به انسولین و جذب گلوکز را بهبود می‌بخشد و از تولید ROS جلوگیری می‌کند و RAS را به سمت افزایش محور ACE2-Ang-(1-7)-Mass و کاهش محور ACE Ang II-At1 تنظیم می‌کند [۲۰].

نتیجه‌گیری

نتایج اصلی پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی می‌تواند با تأثیر بر روی سیستم رنین-آنژیوتانسین موضعی، کاهش شاخص مقاومت به انسولین، بیان ژن آنژیوتانسین II، گیرنده At1، بیان ژن انتقال دهنده گلوکز ۴ و افزایش بیان گیرنده Mass عضلانی سبب کاهش میزان گلوکز خون و بهبود مقاومت به انسولین عضلانی و در نهایت بهبود بیماری دیابت نوع دو شود. در نتیجه، با توجه به اثرات تمرین‌های هوازی با شدت متوسط بر تنظیم سیستم رنین-

¹Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase

مآخذ

- Saini V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes*. 2010; 1(3):68.
- Galicía-García U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(17):6275.
- Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006; 444(7121):840-6.
- Goossens GH. The renin-angiotensin system in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Obesity Facts*. 2012; 5(4):611-24.
- Zhaosheng T, Li Y, Chengying G, Yun L, Lian Z. Effect of exercise on the expression of adiponectin mRNA and GLUT4 mRNA in type 2 diabetic rats. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. 2005; 25(2):191-93.
- da Silva Rosa SC, Nayak N, Caymo AM, Gordon JW. Mechanisms of muscle insulin resistance and the cross-talk with liver and adipose tissue. *Physiological Reports*. 2020; 8(19):e14607.
- Yacoub R, Campbell KN. Inhibition of RAS in diabetic nephropathy. *International journal of nephrology and renovascular disease*. 2015: 29-40.
- Ramalingam L, Menikdiwela K, LeMieux M, Dufour JM, Kaur G, Kalupahana N, et al. The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2017; 1863(5):1106-14.
- Stasiołek M, editor Local renin-angiotensin system in the thyroid—myth or fact? *Thyroid Research: BioMed Central*. 2013.
- Frigolet ME, Torres N, Tovar AR. The renin-angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2013; 24(12):2003-15.
- Américo ALV, Muller CR, Vecchiato B, Martucci LF, Fonseca-Alaniz MH, Evangelista FS. Aerobic exercise training prevents obesity and insulin resistance independent of the renin angiotensin system modulation in the subcutaneous white adipose tissue. *PLoS One*. 2019; 14(4):e0215896.
- Ribeiro-Oliveira Jr A, Nogueira AI, Pereira RM, Boas WWV, Dos Santos RAS, e Silva ACS. The renin-angiotensin system and diabetes: an update. *Vascular health and risk management*. 2008; 4(4):787-803.
- Kazemi Nasab F, Marandi M, Ghaedi K, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. The Effect of Endurance Training and High-Fat Diet on PGC-1 α /FNDC5/Irisin Pathway in Male C57BL/6 Mice. *Sport Physiology*. 2019; 11(41):63-80.
- Kazeminasab F, Marandi SM, Baharlooie M, Nasr-Esfahani MH, Ghaedi K. Modulation and bioinformatics screening of hepatic mRNA-lncRNAs (HML) network associated with insulin resistance in prediabetic and exercised mice. *Nutrition & Metabolism*. 2021; 18(1):1-16.
- Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu F-K, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1993; 265(6):H2094-H8.
- Kazeminasab F, Marandi SM, Ghaedi K, Safaiejad Z, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. A comparative study on the effects of high-fat diet and endurance training on the PGC-1 α -FNDC5/irisin pathway in obese and nonobese male C57BL/6 mice. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 2018; 43(7):651-62.
- Kazeminasab F, Marandi SM, Baharlooie M, Safaiejad Z, Nasr-Esfahani MH, Ghaedi K. Aerobic exercise modulates noncoding RNA network upstream of FNDC5 in the Gastrocnemius muscle of high-fat-diet-induced obese mice. *Journal of physiology and biochemistry*. 2021; 77:589-600.
- Van der Zijl NJ, Moors CC, Goossens GH, Blaak EE, Diamant M. Does interference with the renin-angiotensin system protect against diabetes? Evidence and mechanisms. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2012;14(7):586-95.
- Dela F, Ingersen A, Andersen NB, Nielsen MB, Petersen HH, Hansen CN, et al. Effects of one-legged high-intensity interval training on insulin-mediated skeletal muscle glucose homeostasis in patients with type 2 diabetes. *Acta Physiologica*. 2019;226(2):e13245.
- Frantz EDC, Prodel E, Braz ID, Giori IG, Bargut TCL, Magliano DAC, et al. Modulation of the renin-angiotensin system in white adipose tissue and skeletal muscle: focus on exercise training. *Clinical science*. 2018; 132(14):1487-507.
- Nunes-Silva A, Rocha GC, Magalhaes DM, Vaz LN, Salviano de Faria MH, Simoes e Silva AC. Physical exercise and ACE2-angiotensin-(1-7)-mas receptor axis of the renin angiotensin system. *Protein and peptide letters*. 2017; 24(9):809-16.
- Dastbarhagh H, Kargarfard M, Abedi H, Bambaiechi E, Nazarali P. Effects of food restriction and/or aerobic exercise on the GLUT4 in type 2 diabetic male rats. *International journal of preventive medicine*. 2019; 10.

The Effect of Aerobic Exercise on the Function of Local Renin-Angiotensin System and Insulin Resistance in the Gastrocnemius Muscle of Type 2 Diabetic Mice

Fatemeh Sabaghian¹, Fatemeh Kazeminasab^{*1}, Amir Ghanbarpour Nosrati¹

1. Department of Physical Education and Sport Sciences/Faculty of Humanities, University of Kashan, Kashan, Iran

ABSTRACT

Background: The purpose of this study was to investigate the impact of aerobic exercise on the function of local renin-angiotensin system and insulin resistance in the Gastrocnemius muscle of type 2 diabetic mice.

Methods: The number of 18 male C57BL/6 mice were divided into two groups: 1. Mice fed with a standard diet for 12 weeks (control group), 2. Mice fed with a high-fat diet for 12 weeks with streptozotocin injection (diabetes group). Diabetic mice were randomly divided into two groups: 1. Diabetes-Sedentary group, 2. Diabetes-exercise group. The mice of the training group exercised on the treadmill for eight weeks and five days/week with an average speed of 19 m/min and for 45 minutes. 24 hours after the last training session, the mice were sacrificed. The Gastrocnemius muscle tissue was extracted and stored in -80°C freezer to measure the expression level of angiotensin 2, Mass receptor, At1 receptor and glucose transporter 4 (Glut 4).

Results: The results showed that the expression of Mass and Glut4 receptor in diabetes-exercise mice was significantly higher than diabetes-sedentary group. Also, the expression of angiotensin 2, HOMA-IR, and fasting glucose in the muscle of diabetes-exercise mice were significantly lower vs. diabetes-sedentary mice. Also, the expression of At1 receptor in the diabetes-exercise group was insignificantly lower than in the diabetes-sedentary group.

Conclusion: The findings of the present study show the important role of exercise in improving the local renin-angiotensin system in skeletal muscle. Eight weeks of aerobic training can reduce muscular insulin resistance and improve type 2 diabetes by decreasing the expression of angiotensin 2, At1 receptor and increasing the Mass receptor.

Keywords: Aerobic Exercise, Renin-Angiotensin System, Insulin Resistance, Gastrocnemius Muscle, Type 2 Diabetes

* Kashan, km 6 of Qutb Ravandi Blvd, Department of Physical Education and Sport Sciences, Postal code: 8731735153, Tel: +9831-55913706, Email: fkazeminasab@kashanu.ac.ir

