

## تغییرات بیان ژن GLUT4 بافت عضله نعلی و شاخص مقاومت به انسولین پس از تمرین تناوبی شدید و مصرف ژل رویال n کروموزومی در رت‌های چاق دیابتی نوع دو

فاطمه صائبی<sup>۱</sup>، حسین عابد نطنزی<sup>۱\*</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۱</sup>، ماندانا غلامی<sup>۱</sup>

### چکیده

**مقدمه:** دیابت نوع دو شایع‌ترین بیماری درون‌ریز است که به دلیل عدم تحمل گلوکز در اثر برهم خوردن تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین رخ می‌دهد. انتقال گلوکز به فیبر عضلانی توسط پروتئین‌های ناقل گلوکز (GLUTs) انجام می‌شود. GLUT4 مهم‌ترین ایزوفرم ناقل گلوکز در عضلات اسکلتی است. انسولین و ورزش، انتقال سریع و شدید GLUT4 به غشای پلاسمایی را تحریک می‌کند و باعث جذب گلوکز در بافت عضلانی و چربی می‌شود. هدف پژوهش حاضر مطالعه تغییرات بیان ژن GLUT4 بافت عضله نعلی و شاخص مقاومت به انسولین پس از انجام تمرین تناوبی شدید و ژل رویال در رت‌های چاق دیابتی نوع دو بود.

**روش‌ها:** نمونه آماری پژوهش حاضر ۳۶ سر موش‌های صحرایی نر دیابتی چاق بودند. پس از ۲۰ هفته تغذیه با رژیم پُرچرب با تزریق درون صفاقی ۲۵ میلی‌گرم STZ به ازای کیلوگرم وزن موش‌ها دیابتی شدند. موش‌هایی که گلوکز ناشتای آنها بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود دیابتی نوع دوم در نظر گرفته شد. موش‌های دیابتی در ۴ گروه کنترل (۶ سر)، تمرین تناوبی (۸ سر)، ژل رویال (۷ سر)، تمرین تناوبی شدید-ژل رویال (۸ سر) گروه‌بندی و پروتکل تمرینی و گاوژ ژل رویال روی آنها اجرا شد. هشت هفته تمرین تناوبی شدید، پنج جلسه در هفته با تناوب شدید ۲ دقیقه‌ای ۸۰ تا ۹۰ درصد VO2max و تناوب استراحت یک دقیقه‌ای با ۵۰ تا ۵۶ درصد VO2max اجرا شد. ژل رویال به صورت گاوژ به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ۵ روز در هفته داده شد.

**یافته‌ها:** تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و دوعاملی و آزمون تعقیبی نشان داد در مقایسه با گروه کنترل، تمرین تناوبی شدید به کاهش معنی‌دار گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. تمرین تناوبی شدید و ژل رویال به افزایش معنی‌دار بیان ژن GLUT4 عضله نعلی در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ( $P=0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** تمرین تناوبی و ژل رویال در کاهش شاخص مقاومت به انسولین و بیان ژن‌های مؤثر در مصرف گلوکز در عضله نعلی مؤثر بود. همچنین تمرین تناوبی و ژل رویال منجر به افزایش بیان ژن GLUT4 در عضله نعلی در مقایسه با گروه کنترل شد که در مصرف گلوکز در افراد دیابتی اهمیت دارد.

**واژگان کلیدی:** تمرین تناوبی شدید، ژل رویال، ژن GLUT4، عضله نعلی، موش دیابتی

۱- گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

\***نشانی:** تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تلفن:

۰۹۱۲۶۱۰۷۰۶۴، کدپستی: ۱۴۷۷۸۹۲۸۵۵ صندوق پستی: ۷۷۵/۱۴۵۱۵، پست الکترونیک: abednazari@gmail.com

## مقدمه

دیابت ملیتوس به یک نگرانی جهانی و مبرم در سلامت عمومی تبدیل شده است. این یک بیماری آشکار و غیر قابل انتقال است که تهدیدی جدی برای سلامت جهان است. با این حال، سریع‌ترین مناطق در حال رشد برای دیابت در آینده آسیا، خاورمیانه و آفریقا هستند که پیش‌بینی می‌شود دیابت تا سال ۲۰۳۰ ۵۰ درصد افزایش یابد [۱]. دیابت یک تعامل مداری از تأثیرات ژنتیکی، محیطی و جمعیتی است و با هیپرگلیسمی مشخص می‌شود که با گذشت زمان بدتر می‌شود و باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و لیپید می‌شود [۲]. اینها به تدریج منجر به از دست دادن بینایی، اختلالات کلیوی، بیماری‌های قلبی و عروقی مغز می‌شوند [۳]. سبک زندگی ساکن، همراه با افزایش عادات پراکنده شهری و غذاهای فرآوری شده، نشان می‌دهد که شیوع دیابت در ۲۵ سال آینده سه برابر بیشتر خواهد شد و این امر همچنین شامل جمعیت جوان می‌شود [۴]. در دیابت نوع دو، مقاومت به انسولین در بافت‌های هدف محیطی توسعه منحصراً به فردی ایجاد می‌کنند، در نتیجه تقاضای زیادی برای انسولین از سلول‌های بتای لوزالمعده ایجاد می‌شود. کاهش ترشح انسولین با افزایش تقاضای انسولین در طول زمان به دلیل مرگ پیش‌رونده سلولی مشاهده شد و اکثر بیماران دیابتی نوع دو زمانی که ترشح انسولین ادامه داشت و کاهش انسولین به ندرت اتفاق می‌افتاد به انسولین وابسته نبودند [۵]. رژیم غذایی پرچرب می‌تواند منجر به تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال بیش از حد (ROS) شود که در نتیجه منجر به افزایش بتا اکسیداسیون می‌شود. این می‌تواند بر تنظیم طبیعی متابولیسم گلوکز و لیپید تأثیر بگذارد [۶]. سیتوکین‌های التهابی و ژن‌های سیگنال دهنده انسولین تغییر می‌کنند و در نتیجه آبشار سیگنال‌دهی انسولین را مختل می‌کنند. لیپیدهای داخل عضلانی ممکن است زمانی ایجاد شوند که سرعت بتا اکسیداسیون از میزان جذب اسیدهای چرب پیشی بگیرد، که ممکن است پیامدهای منفی برای عملکرد انسولین داشته باشد، که مقاومت به انسولین را ایجاد می‌کند [۷]. این ممکن است مقدار ناقل گلوکز سارکولما ۴ (GLUT4) را کاهش دهد، بنابراین از ورود گلوکز به عضله جلوگیری می‌کند و از گلیکولیز، اکسیداسیون گلوکز و سنتز گلیکوژن جلوگیری می‌کند [۸، ۹]. قند خون بالا باعث اتصال غیر آنزیمی گلوکز به

پروتئین‌های داخل و خارج سلول می‌شود. انتقال گلوکز به فیبر عضلانی توسط پروتئین‌های ناقل گلوکز (GLUTs) انجام می‌شود. GLUT4 مهم‌ترین ایزوفرم ناقل گلوکز در عضلات اسکلتی است. انسولین و ورزش، انتقال سریع و شدید GLUT4 به غشای پلاسمایی را تحریک می‌کند و باعث جذب گلوکز در بافت عضلانی و چربی می‌شود. افزایش حساسیت به انسولین پس از ورزش هم‌زمان با تجمع ذخایر گلیکوژن عضلانی رخ می‌دهد [۱۰]. اعتقاد بر این است که افزایش ذخایر گلیکوژن عضلانی پس از تمرین به دلیل افزایش GLUT4 و افزایش انتقال پروتئین GLUT4 از داخل سلول به سطح پلازما است [۱۲].

فعالیت بدنی و ورزش منظم یکی از راه‌های درمانی و پیشگیری از دیابت است. اما سؤال مهم اینجاست که چه ورزشی و با چه نوع پروتکل و حجم و شدتی مناسب است؟ لذا محققین علوم ورزش همیشه در پی کشف این موارد هستند. بنابراین با توجه به نقش انجام تمرین‌ها و فعالیت‌های ورزشی در پیشگیری و کنترل چاقی و دیابت، اتخاذ شیوه‌های مختلف تمرینی برای پیشگیری و کاهش شیوع چاقی و نیز کمک به کاهش روند چاقی و عوارض ناشی از آن مانند بیماری‌های کاردیومتابولیک مانند کبد چرب و دیابت و... در جامعه ضرورت پیدا می‌کند. تمرین استقامتی با حجم بالا کنترل قند خون را در دیابت نوع دو بهبود می‌بخشد. تمرین تناوبی با شدت بالا (HIT) در نهایت یک روش با زمان کارآمد برای ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی است، اما در مورد تأثیر HIT در دیابت نوع دو کمتر شناخته شده است. تمرین‌های تناوبی شدید که معمولاً با شدت‌های بالاتر از ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب و دوره استراحت‌های کم و مدت زمان تمرینی کمتر از ۲۰ دقیقه انجام می‌گیرد، با به‌کارگیری و درگیر کردن بهتر و بیشتر تارهای عضلانی و فراخوانی قوی‌تر ارگان‌های سوخت‌وسازی و متابولیسم می‌تواند از طریق سازکار سلولی مولکولی، متابولیسم کل بدن را در جهت مثبت تحت تأثیر قرار دهد. از این‌رو با انجام تمرین‌های تناوبی شدید، همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد، عضلات بیشتری درگیر خواهد شد لذا در پاسخ به درگیری بیشتر عضلات اسکلتی، میزان مایوکین‌های ترشح یافته از عضلات اسکلتی افزایش می‌یابد و با فعال کردن متابولیسم عضلانی بسیاری از مسیرهای مربوط به متابولیسم چربی و جذب گلوکز

انسولین و بیان ژن GLUT4 عضله نعلی موش‌های مدل چاق شده با رژیم پرچرب و دیابتی شده نوع دو با دوز پایین استرپتوزوتوسین (STZ) انجام و گزارش نشده است. لذا در این مطالعه در نظر است تأثیرات تمرین تناوبی شدید به همراه ژل رویال بر بیان ژن GLUT4 عضله نعلی موش‌های دیابتی نوع دو گزارش گردد تا شاید بتوان از اثر بخشی و نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی و دیابتی ژل رویال در کنار طراحی برنامه ورزشی تناوبی متناسب با رژیم غذایی برای دیابتی‌ها استفاده کرد. امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه به‌عنوان راهی نجات‌بخش در بهبود عوارض ناشی از دیابت از قبیل بیماری‌های کاردیومتابولیک مورد استفاده قرار گیرد.

## روش‌ها

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های صحرایی نر تشکیل می‌دهند و نمونه‌های پژوهش ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار جوان با دامنه سنی ۳۵ تا ۴۵ روز و میانگینی وزنی  $110 \pm 10$  گرم بودند. پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن میانگین  $170 \pm 30$  تحت رژیم پرچرب قرار گرفتند. پس از ۲۰ هفته (۵ ماه) تغذیه با رژیم پرچرب و دسترسی آزاد به مواد غذایی و آب، به ۴ گروه کنترل دیابتی (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید (۱۰ سر)، ژل رویال (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۱۰ سر) تقسیم شدند که در پایان پروتکل ۲۹ سر در ۴ گروه کنترل دیابتی (۶ سر)، تمرین تناوبی شدید (۸ سر)، ژل رویال (۷ سر)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۸ سر) باقی ماندند.

### شیوه نگه‌داری و تغذیه موش‌های صحرایی

برای نگه‌داری موش‌های صحرایی از قفس‌های جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو استفاده شد. دمای مطلوب محل نگه‌داری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد بود چرخه روشنایی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به‌طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. جهت تغذیه موش‌های صحرایی از رژیم پرچرب استاندارد استفاده شد. دسترسی موش‌های صحرایی به غذا به‌صورت نامحدود بود و آب در بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری در تمامی قفس‌ها وجود داشت.

خون را افزایش و باعث بالا رفتن هرچه بهتر متابولیسم می‌شود [۱۳].

امروزه ترکیبات و مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور گسترده‌ای به دلیل نقش آنها در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب مورد توجه قرار گرفته‌اند که ممکن است به جلوگیری از شروع دیابت یا کاهش عوارض آن در افراد مبتلا به این بیماری کمک کند. ژل رویال حاوی پلی‌فنل‌ها با بافت چسبناک و کرمی توسط غدد فک پایین زنبورهای عسل کارگر تولید می‌شوند و غذای ضروری ملکه زنبورهای عسل هستند [۱۴]. ژل رویال که به‌عنوان یک ماده بسیار مغذی شناخته می‌شود شامل درشت مغذی‌های اصلی، ریز مغذی‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها است و عمدتاً از آب (۶۰-۷۰٪)، پروتئین‌ها (۹-۱۸٪)، کربوهیدرات‌ها (۷-۱۸٪)، لیپیدها (۳-۸٪)، مواد معدنی (۰.۸-۳٪)، ویتامین‌ها و پلی‌فنل‌ها تشکیل شده است. ژل رویال فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی مانند عملکردهای شبه انسولین، ضد کلسترول خون، کاهش فشار خون و ضد تومور دارد. همچنین، چندین مطالعه برخی از خواص دارویی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی را برای ژل رویال در هر دو مدل انسانی و حیوانی نشان داده است. [۱۶، ۱۵] به‌طور مثال، در یک مطالعه روی موش‌ها، مکمل یاری دوزهای مختلف ژل رویال (۱۰، ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به کاهش فشار خون سیستولیک و سطح انسولین سرم و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی، ضدالتهابی و محافظت‌کننده عصبی ژل رویال نیز به اثبات رسیده است [۱۷، ۱۸]. اینگونه گزارش شده است که افزایش بیان GLUT4 با افزایش مصرف گلوکز وابسته به انسولین همچنین افزایش مصرف گلوکز ناشی از انقباض‌های عضلانی همراه است که پیامد آن کاهش سطوح گلوکز گردش خون است [۱۹]. این فرضیه مطرح است که افزایش بیان GLUT4 در عضلات اسکلتی یا سلول‌های چربی به‌واسطه مداخلات درونی یا بیرونی با انتقال گلوکز غشایی بیشتر و کاهش شدت دیابت همراه است. در این زمینه، مطالعاتی با اهداف افزایش سطوح GLUT4 یا سطوح پروتئین و بیان آن گزارش شده‌اند. به‌طوری‌که برخی مطالعات روی جوندگان انتقال GLUT4 به غشای پلاسمایی و توپول‌های T را متعاقب تزریق انسولین و تحریکات الکتریکی گزارش نموده‌اند [۲۰، ۲۱]. تاکنون پژوهشی در زمینه اثرات تعاملی تمرین تناوبی شدید و ژل رویال بر شاخص مقاومت به

## روش چاق کردن رت‌ها با رژیم پُرچرب

برای این منظور، پس از آشناسازی و سازگاری با محیط جدید، تمامی رت‌ها به مدت ۲۰ هفته (۵ ماه) تحت رژیم غذایی پُرچرب تهیه شده توسط پژوهشکده زیست فناوری رویان قرار گرفتند که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از

روغن حیوانی (حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم است رژیم پُرچرب ۴۵ درصد به مدت ۳ ماه و رژیم پُرچرب ۶۰ درصد به مدت ۲ ماه داده شد (جدول ۱) [۲۲، ۲۳].

جدول ۱- ترکیب امولسیون پُرچرب جهت گاوآژ به موش‌های صحرائی

غذای پُرچرب ۶۰٪	غذای پُرچرب ۴۵٪	غذای رایج	ماده
۲۶	۴۱	۵۰/۰۳	کربوهیدرات (%)
۲۴	۲۴	۲۳	پروتئین (%)
۳۵	۲۴	۵/۱	چربی (%)
۶۰	۴۵	-	چربی (Kcal%)
۵/۲	۴/۸	۳/۱	کالری (Kcal/g)

## روش دیابتی کردن رت‌ها از طریق تزریق استرپتوزتوسین (STZ)

برای القای دیابت از رژیم غذایی پُرچرب به مدت ۲۰ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ در سرم فیزیولوژیکی قابل تزریق و به صورت داخل صفاقی (۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، گلوکز خون ناشتایی با ایجاد جراحت کوچک در دم رت‌ها یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده شد و اندازه‌گیری گردید و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت در نظر گرفته شد. برای اطمینان بیشتر از دیابتی شدن موش‌ها و دقت کار از ۱۰ سر موش به طور تصادفی خون‌گیری از دم به عمل آمد و گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین آنها اندازه‌گیری شد که اطلاعات آن در جداول یافته‌ها آمده است [۲۴، ۲۵].

## پروتکل مصرف ژل رویال n کروموزومی

در طی دوره آزمایش به موش‌های گروه ژل رویال، و گروه ژل رویال و تمرین تناوبی شدید، ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱۰۰ mg/kg) رقیق شده در آب مقطر و به روش گاوآژ ۵ روز در هفته به گروه ژل و ژل - تمرین قبل شروع تمرین خوراندند. ژل رویال نیز حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است که از مهم‌ترین آنها می‌توان کوئرستین،

کامفرول، آپیزین و لوتولین را نام برد. ژل رویال آنالیز شده و در دمای منفی ۲۰ و به صورت سرد نگهداری شده و هنگام گاوآژ طبق دوز لازم با توجه به پروتکل رفرنس‌ها در آب مقطر حل و گاوآژ شد [۲۶، ۲۷].

آزمون تمرین دویدن با سرعت حداکثر برای تعیین شدت تمرین MERT (Maximal Exercise Running Test) برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل Rodrigues و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO<sub>2</sub>max) به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام شده، پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که هر دو هفته یکبار موش‌ها در یک وهله تمرینی پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه ۳ متر در دقیقه به سرعت افزوده شد تا این‌که هر کدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد و سرعت حداکثر برای شدت تمرین بین ۸۰ تا ۹۵ درصد MERT در نظر گرفته شد که خلاصه پروتکل در جدول ۲ آمده است. با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته، ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و VO<sub>2</sub>max رت‌ها وجود دارد (r=0.94)

به صورت دویدن روی تردمیل انجام شد، به طوری که زمان دویدن از ۱۶ دقیقه در هفته اول، به ۳۴ دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت. رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت ۵ متر در دقیقه با شیب صفر درصد با زمان ۱۰ و ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند [۲۹، ۳۰] (جدول ۲).

از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن، میزان  $VO_{2max}$  رت‌ها را برآورد کرد [۲۸]. ( $p < 0.05$ ).

### پروتکل تمرین تناوبی شدید

برنامه هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۲۲ الی ۳۸ متر بر دقیقه (۸۰ تا ۹۰ درصد  $VO_{2max}$ ) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد  $vo_{2max}$ ) زمان ۱۵ الی ۳۴ دقیقه

جدول ۲- پروتکل تمرین تناوبی شدید

هفته	شدت گرم کردن ۵ دقیقه	تعداد تناوب شدید	زمان تناوب شدید	سرعت تناوب شدید	زمان تناوب استراحت	شدت تناوب استراحت	شدت سرد کردن زمان کل (دقیقه)
اول و دوم	۱۰ متر در دقیقه	۲ تناوب	۲ دقیقه	۸۰٪ سرعت بیشینه (۳۰ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۰٪ (۱۶ متر در دقیقه)	۱۶
سوم و چهارم	۱۰	۴ تناوب	۲ دقیقه	۸۵٪ (۳۲ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۲٪ (۱۸ متر در دقیقه)	۲۲
پنجم و ششم	۱۰	۶ تناوب	۲ دقیقه	۹۰٪ (۳۴ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۴٪ (۲۰ متر در دقیقه)	۲۸
هفتم و هشتم	۱۰	۸ تناوب	۲ دقیقه	۹۵٪ (۳۶ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۶٪ (۲۲ متر در دقیقه)	۳۴

در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation (GeneAll solution) استخراج شد و در نهایت بررسی کمی و کیفی آن با استفاده از دستگاه نانودارپ و ژل آگارز یک درصد انجام شد. پس از اطمینان از خلوص و کیفیت RNA استخراج شده، cDNA با استفاده از کیت Solis BioDyne (FIRE Script Synthesis RT cDNA) ساخته شد و به فریزر منفی ۲۰ انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن GLUT-4 بافت عضله نعلی، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم‌افزار Primer3 طراحی شد و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۳ آورده شده است.

نمونه‌گیری: با خاتمه دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه‌های تجربی تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها توسط ماده بی‌هوشی اتر بی‌هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری شد و در دمای ۲۰- نگه‌داری شد. گلوکز با استفاده از دستگاه اتو آنالیزر و انسولین توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول محاسبه شد [۱۳].

۴۰۵ / (گلوکز (mg/dl) \* انسولین (μU/ml) = مقاومت به انسولین (HOMA-IR)  
روش بیان ژن GLUT-4 بافت عضله نعلی: بافت عضله نعلی به منظور اندازه‌گیری بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی ۸۰ منتقل شد. مقداری از بافت عضله نعلی برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس

جدول ۳- پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش

Oligo Name Genes	Primer Sequence (5' → 3')	Product size
Glut4	For: GGTTTCCAGCAGATCGGC	127 bp
	Rev: TGATGACTCCAATGTTATAGCCAA	
GapDh	For: GCCTGGAGAAACCTGCCA	137 bp
	Rev: GGAAGAATGGGAGTTGCTGT	

عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسه میزان تأثیر هر یک از متغیرهای مستقل استفاده گردید. آنالیز آماری بیان ژن GLUT4 بافت عضله نعلی با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 انجام شد. در اینجا گروه شاهد به‌عنوان رفرنس سایر گروه‌ها است و برحسب این گروه P-Value سایر گروه‌ها به‌دست آورده شد سطح معنی‌داری  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

میانگین وزن موش‌های مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است.

در این مطالعه ابتدا مطابق برنامه دمایی ذکر شده، واکنش PCR Housekeeping جهت تأیید کیفیت ساخت cDNA انجام شد (جدول ۳) پس از تعیین کیفیت cDNA سنتز شده، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن آنتی بادی واکنش PCR انجام شد. روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. از آزمون شاپیرو ویلک جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی بنفرونی و LSD جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دو

جدول ۴- اطلاعات توصیفی اولیه وزن و گلوکز و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی پس از رژیم پُرچرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع دوم

HOMA.IR	انسولین ( $\mu\text{UI/ml}$ )	گلوکز ( $\text{mg/dl}$ )	وزن پس از چاقی (گرم)	وزن شروع پروتکل (گرم)
$3/56 \pm 1/43$	$3/92 \pm 0/49$	$363 \pm 124/5$	$409/03 \pm 51/69$	$193/34 \pm 19/66$

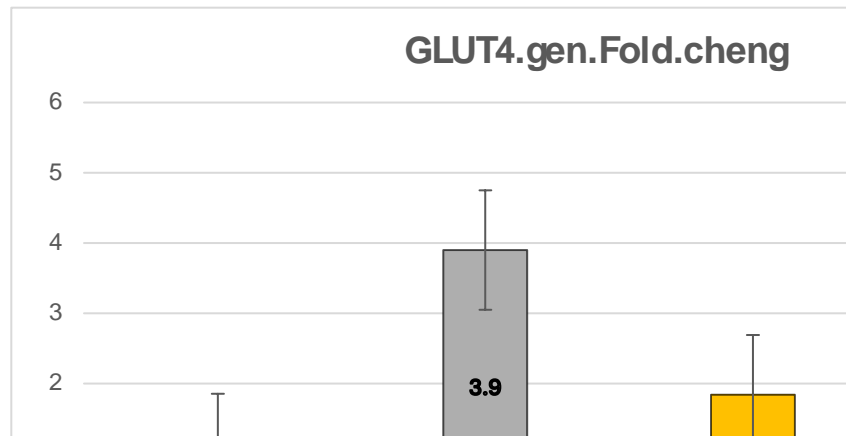
جدول ۵ وزن پس از رژیم پُرچرب، وزن پس از هشت هفته، گلوکز، انسولین، HOMA.IR و GLUT4 را در گروه کنترل، تمرین تناوبی شدید، ژل رویال و گروه ترکیبی تمرین و ژل رویال نشان می‌دهد. شکل ۱ بیان ژن GLUT4 را در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

در جدول ۴ نیز میانگین وزن موش‌ها (گرم) قبل و پس از رژیم پُرچرب را نشان می‌دهد. این جدول نشان می‌دهد وزن بعد از اعمال رژیم پُرچرب افزایش قابل مشاهده داشته است. اطلاعات توصیفی گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت انسولین موش‌ها که پس از خون‌گیری از دم اندازه‌گیری شده نیز در جدول ۴ مشاهده می‌شود که حاکی از دیابتی شدن موش‌ها است.

جدول ۵- نتایج آمار توصیفی و تحلیل واریانس متغیرهای مختلف و بیان ژن GLUT4 بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

متغیر/گروه	کنترل (۶ سر)	تمرین تناوبی (۸ سر)	ژل رویال (۷ سر)	تمرین و ژل رویال (۸ سر)
وزن پس از رژیم پُرچرب (گرم)	$386/6 \pm 48/4$	$407/3 \pm 64/6$	$417/4 \pm 33/6$	$420/4 \pm 56$
وزن پس از هشت هفته (گرم)	$317 \pm 71/3$	$373/1 \pm 54/2$	$344/5 \pm 35/1$	$334/2 \pm 32/2$
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	$333/8 \pm 39/3$	$138/2 \pm 4^{**}$	$131/5 \pm 15/7$	$134 \pm 14/8^{**}$
انسولین ( $\mu\text{UI/ml}$ )	$3/8 \pm 0/5$	$6/2 \pm 1/3$	$7/3 \pm 2/8^{**}$	$5/1 \pm 0/8$
HOMA.IR	$3/1 \pm 0/3$	$2/04 \pm 0/3^{**}$	$2/31 \pm 0/6^{**}$	$1/6 \pm 0/36^{**\dagger}$
GLUT4.gen.Fold.cheng	۱	$3/90 \pm 2/68^{**}$	$1/84 \pm 1/77$	$4/7 \pm 4/6^{**}$

\*\*معنی داری با گروه کنترل ( $P \leq 0.01$ ) †معنی داری گروه تمرین با گروه تمرین - ژل ( $P \leq 0.01$ )



شکل ۱- بیان ژن GLUT4 را در گروه‌های مختلف

جدول ۶- نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص اندازه اثر متغیرهای مختلف در گروه‌ها

معنی داری	اندازه اثر	Sig.	F	گروه	گروه	متغیر/شاخص آماری
P= ۰/۶۲۷	۰/۰۳۶	۰/۳۴۱	۰/۹۴۳	تمرین	کنترل	وزن (گرم)
	۰/۰۱۳	۰/۵۶۹	۰/۳۳۴	ژل رویال		
	۰/۱۴۷	۰/۰۴۹	۴/۲۹	تمرین*ژل رویال		
C&E. P= ۰/۰۰۰۱	۰/۷۵۲	۰/۰۰۰۱	۷۵/۷۰	تمرین	کنترل	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
	۰/۷۷۶	۰/۰۰۰۱	۸۶/۵۳	ژل رویال		
	۰/۷۶۱	۰/۰۰۰۱	۷۹/۵۵	تمرین*ژل رویال		
C&G. P= ۰/۰۰۱	۰/۰۰	۰/۹۴۶	۰/۰۰۵	تمرین	کنترل	انسولین (میکرو واحد بر میلی‌لیتر)
	۰/۱۲۷	۰/۰۶۹	۳/۶۲	ژل رویال		
	۰/۳۵۰	۰/۰۰۱	۱۳/۴۵	تمرین*ژل رویال		
C&E. P= ۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۲	۲۶/۲۳	تمرین	کنترل	شاخص مقاومت به انسولین
	۰/۰۰۱	۰/۱۶۷	۱۲/۷۸	ژل رویال		
	۰/۱۴۵	۰/۳۹۴	۲/۲۶	تمرین*ژل رویال		
C&E. P= ۰/۰۰۱	۰/۲۱۶	۰/۰۲۹	۵/۵۱	تمرین	کنترل	بیان ژن GLUT4 (Fold Cheng)
	۰/۰۱۷	۰/۵۶۸	۰/۳۳	ژل رویال		
	۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۱	۰/۰۰۲	تمرین*ژل رویال		

تمرین و ژل رویال: EG، ژل رویال: G، تمرین: E، کنترل: C.

افزایش معنی‌دار داشت (C&E. P= ۰/۰۰۵) و در گروه تمرین-ژل رویال (۵/۱۲) نسبت به گروه ژل رویال (۷/۳۶) تفاوت معنی‌داری نداشت (G&EG. P= ۰/۹۹۲) اما گروه ژل رویال نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری داشت. و در گروه تمرین ژل رویال نسبت به کنترل افزایش غیرمعنی‌دار داشت. میانگین شاخص مقاومت به انسولین (HOMA) در گروه تمرین (۲/۰۴) نسبت به گروه کنترل (۳/۱۸) و ژل رویال (۲/۳۱) کاهش معنی‌دار داشت (P= ۰/۰۴۴). (E&G).

نتایج نشان داد میانگین نسبت بیان ژن GLUT4 در گروه تعاملی تمرین - ژل رویال و تمرین نسبت به کنترل افزایش معنی‌دار و در

با توجه به جداول و نمودار نتایج زیر به دست آمد: میانگین وزن (گرم) در گروه‌های تجربی تمرین (۳۷۳/۱۲)، ژل رویال (۳۴۴/۵۷) و تمرین - ژل رویال (۳۳۴/۲۵) نسبت به کنترل (۳۱۷) افزایش غیر معنی‌دار داشت. میانگین غلظت گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در گروه تمرین (۱۳۸/۲۵) نسبت به کنترل (۳۳۳/۸۳) کاهش معنی‌دار داشت (C&E. P= ۰/۰۰۵) و در گروه تمرین-ژل رویال (۱۳۴) نسبت به گروه ژل رویال (۱۳۱/۵۷) تفاوت معنی‌داری نداشت (G&EG. P= ۰/۹۹۲) و در گروه تمرین ژل نسبت به کنترل کاهش معنی‌دار (C&EG. P= ۰/۰۰۱) داشت. میانگین غلظت انسولین (μUI/ml) در گروه تمرین (۶۲۲) نسبت به کنترل (۳/۸۹)

گروه ژل رویال نسبت به کنترل نیز افزایش غیرمعنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد افزایش بیان ژن GLUT4 در پایان دوره هشت هفته‌ای بیان ژن در گروه تعاملی تمرین - ژل رویال و تمرین و گروه ژل-رویال بیشتر بود.

## بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی شدید تناوبی و ژل رویال منجر به کاهش معنی‌دار گلوکز و افزایش انسولین و کاهش معنی‌دار مقاومت به انسولین موش‌های دیابتی نوع دوم تغذیه شده با رژیم پرچرب گردید و بیان ژن GLUT4 بافت عضله نعلی را در گروه تمرین - ژل رویال و تمرین تناوبی نسبت به کنترل در بافت عضله نعلی به‌طور معنی‌داری افزایش داد.

به‌طور کلی پذیرفته شده است که چاقی عمدتاً با اختلال در میزان جذب گلوکز تحریک شده توسط انسولین در عضلات اسکلتی مرتبط است که به مقاومت به انسولین نسبت داده شده است. بسیاری از مطالعات بر روی سیستم انتقال دهنده گلوکز به‌عنوان بخشی از سازکارهای اساسی متمرکز شده‌اند. انتقال گلوکز به داخل سلول عضله اسکلتی با واسطه پروتئین‌های ناقل گلوکز GLUT1 و GLUT4 است. تصور می‌شود که ایزوفرم ناقل گلوکز GLUT1 از انتقال پایه گلوکز پشتیبانی می‌کند درحالی‌که ایزوفرم GLUT4 انتقال گلوکز را در پاسخ به انسولین و انقباض ورزشی، GLUT4 را از استخر داخل سلولی به غشای پلاسما و لوله‌های T منتقل می‌کند [۳۱]. همچنین گزارش شده در جوندگان، ظرفیت جذب گلوکز در عضلات اکسیداتیو قرمز بیشتر از عضلات گلیکولیتیک سفید است. که به‌نظر می‌رسد یکی از سازکارهای زیربنایی افزایش بیان GLUT4، هم در داخل سلولی و هم در غشای پلاسمایی باشد. نشان داده شده در عضله اسکلتی انسان جذب گلوکز با نسبت فیبرهای نوع I ارتباط مثبت و با نسبت فیبرهای نوع IIb ارتباط منفی داشت [۳۲].

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن GLUT4 عضله نعلی در گروه تمرین تناوبی - ژل رویال و تمرین تناوبی شدید نسبت به گروه دیابت به‌طور معناداری افزایش یافت. این یافته با نتایج گزارش پژوهشی Afzalpour و همکاران [۱۰]، Mohebbi و همکاران [۳۱]، Bostan Manesh و همکاران [۳۳]، Wang و همکاران [۳۴] و Park و همکاران [۳۵] هم‌راستا است و با نتایج

Zarekar و همکاران [۳۶] همسو نیست. Wang و همکاران نشان دادند تمرین استقامتی روی تردمیل با شدت ۷۵ تا ۹۰ درصد VO2max موجب افزایش بیان ژن GLUT4 موش‌های دیابتی نوع دو گردید [۳۴] Mohebbi و همکاران اظهار داشتند که افزایش این ژن وابسته به شدت فعالیت است و فعالیت شدید به دلیل تأثیر بیشتر بر تغییرات متابولیکی می‌تواند اثربخشی بیشتری بر آن داشته باشد [۳۱] عضله اسکلتی اولین مکان مصرف گلوکز است؛ اما تفاوت در ریخت‌شناسی عضله اسکلتی و متابولیسم آن احتمالاً مهم‌ترین دلیل برای وجود تفاوت در اختلاف زیاد بین گلوکز مصرفی افراد دارای توده عضلانی مشابه است. عواملی از قبیل نوع تار عضلانی، میزان چربی و میزان آنزیم‌های گلیکولیتیک عضله مواردی هستند که ارتباط آنها با حساسیت انسولین و متابولیسم گلوکز گزارش شده است. به‌علاوه، این احتمال وجود دارد که فاکتورهای رها شده از بافت چربی احشایی (اسید چرب آزاد و سیتوکیناز) بر متابولیسم گلوکز در عضله اسکلتی مؤثر باشد. فعالیت بدنی و ورزش نه تنها از طریق افزایش گیرنده انسولین و GLUT4، سبب بهبود پیام‌رسانی داخل سلولی انسولین و افزایش تحویل گلوکز به عضله می‌شود، بلکه به واسطه کاهش وزن و توده چربی، حساسیت انسولینی را بهبود بخشیده و مقاومت به انسولینی را تعدیل می‌کند [۳۶] شواهد موجود نشان می‌دهد که سازکار اثر تمرین هوازی بر هموستاز گلوکز و عمل انسولین تا حدود زیادی به عملکرد عضلات اسکلتی برمی‌گردد. عضلات اسکلتی تقریباً بیش از نیمی از وزن بدن را تشکیل می‌دهند و اصلی‌ترین جایگاه مصرف گلوکز هستند. انقباض در عضلات اسکلتی دارای نقش شبه انسولینی بوده و موجب می‌شود تا مقدار زیادی گلوکز به درون سلول وارد شده و صرف تولید انرژی شود [۳۱] سازکار احتمالی این پدیده به نفوذپذیری غشاء به گلوکز به‌دلیل افزایش تعداد ناقل‌های گلوکز در غشای پلاسمایی و افزایش بیان ژنی یا فعالیت پروتئین‌های مختلف درگیر در آبخار پیام‌رسانی انسولین، افزایش چگالی مویرگی و افزایش فعالیت گلیکوژن سنتتاز در انقباض عضلانی بر می‌گردد. با انجام فعالیت ورزشی مداوم در افراد دیابتی و افزایش انقباض عضلانی ناشی از تمرین، میزان GLUT4 عضلات تحت تمرین افزایش می‌یابد که سبب بهبود در عبور گلوکز پلاسما به درون سلول عضلانی حتی از مسیرهای غیر وابسته به انسولین می‌شود [۳۳]. تمرین‌های ورزشی می‌تواند بیان این ژن را در غشای سارکولمای عضله اسکلتی را افزایش دهد. از سویی،



دیابت نیز جلوگیری می‌کنند [۳۷، ۳۸]. آپی‌ژنین و کوئرستین استرس اکسیداتیو ناشی از استرپتوزوتوسین را در سلول‌های بتا، کبد و کلیه مهار می‌کنند و رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند. آپیژنین و کامفرول اثر هیپوگلیسمیک در رت‌های دیابتی دارند و می‌توانند گلوکز ناشتا را کاهش دهند که در این پژوهش هم این نتیجه مشاهده شد. ژل رویال با خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی، در برابر گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید مبارزه می‌کند و به میزان قابل توجهی موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت پانکراس بیماران دیابتی نوع دو می‌شود که با توجه به مطالب ذکر شده، بخشی از این اثرات احتمالاً به‌علت وجود فلاونوئیدها در ژل رویال ایجاد شده است [۳۹، ۴۰]. اثر هیپوگلیسمیک ژل رویال را به ویتامین‌های موجود در آن نیز می‌توان نسبت داد. مطالعات نشان داده است که ویتامین‌های E، D، C، B، بیوتین و نیاسین به فراوانی در ژل رویال یافت می‌شود. ویتامین C سطح گلوکز سرم را در دیابت نوع دو کاهش می‌دهد و در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی به صورت رقابتی جانشین گلوکز می‌شود و از گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها به‌خصوص هموگلوبین و لیپوپروتئین‌ها ممانعت می‌کند. ویتامین‌های E، D، B12، B6، B1 و بیوتین و نیاسین نیز عملکرد سلول‌های بتا را تقویت می‌کنند و با تحریک تولید گلیکوژن و مهار گلوکونئوزنز، سطح گلوکز را در بیماران مبتلا به دیابت کاهش می‌دهد. [۴۱، ۴۲]. بنابراین بخشی از نقش مصرف ژل رویال بر کاهش گلوکز را می‌توان به ترکیبات ویتامینی موجود در آن نسبت داد.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی با توجه به نتایج تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تمرین‌های تناوبی و همین‌طور در تعامل با ژل رویال می‌تواند باعث افزایش بیان ژن GLUT4 گردد و در بهبود سطوح گلوکز به‌واسطه تأثیر مؤلفه‌های ژنتیکی موثر در مصرف گلوکز عضلانی در بیماران دیابتی نوع دو مؤثر است و ژل رویال هم به‌دلیل ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی و جایگزین خوب برای نقش گلوکز و نیز نقش‌های متعدد آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی و... موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات‌ها بویژه گلوکز و نیز تنظیم متابولیسم لیپید و کاهش هیپرگلیسمی و دیس لیپیدی و کاهش مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های

اسیدهای چرب تولید شده از بافت چربی با تجمع در سلول‌های عضلانی، انتقال GLUT4 به سطح این سلول‌ها را مختل می‌کند. فعالیت بدنی و ورزش با افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب از تجمع آنها در سلول عضلانی جلوگیری می‌کند و انتقال GLUT4 را به سطح سلول تسهیل می‌کند. تمرین‌های ورزشی می‌تواند از طریق افزایش GLUT4 به درون سلول‌های عضلانی و سوپرترهای گیرنده انسولین و همچنین افزایش توده عضلانی سبب افزایش پاسخ‌دهی بدن به انسولین شود. اسیدهای چرب تولید شده از بافت چربی با تجمع در سلول‌های عضلانی، انتقال GLUT4 به سطح این سلول‌ها را مختل می‌کنند و تمرین‌های ورزشی با افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب از تجمع آنها در سلول عضلانی جلوگیری می‌کنند [۳۱، ۳۳]. نشان داده شده است که تمرین‌های HIIT موجب بهبود حساسیت انسولینی و افزایش GLUT4 در افراد کم‌تحرک می‌شود. از آنجا که مشخص شده است افزایش GLUT4 به‌دنبال فعالیت ورزشی تحت تأثیر مهار گیرنده‌های آدرنرژیک نیست، به‌نظر می‌رسد فعالیت ورزشی با شدت بالا نسبت به فعالیت با شدت پایین از طریق فعال کردن دو مسیر پیامدهی وابسته به کلسیم و مسیر پروتئین کیناز فعال شده با AMP موجب افزایش بیشتری در بیان پروتئین GLUT4 عضله اسکلتی شود. با این وجود، افزایش بیان ژن GLUT4 عضله اسکلتی در موش‌های دیابتی متعاقب تمرین در پژوهش حاضر با یافته‌های Zarekar و همکاران که نشان دادند تمرین‌های هوازی روی نوارگردان با شدت ۷۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه به‌مدت ۶ هفته، تغییر معناداری در بیان ژن GLUT4 عضله اسکلتی در موش‌های دیابتی ایجاد نمی‌کند، هم‌خوان نیست [۳۶]. احتمالاً عدم هم‌خوانی نتایج این پژوهش با یافته بیان شده را بتوان به نوع عضله مورد بررسی نسبت داد که در پژوهش حاضر عضله نعلی و در پژوهش یاد شده عضله دو قلو مورد مطالعه قرار گرفته شده است و از طرفی مدت جلسات تمرین و مدت زمان انجام پروتکل تمرین نیز متفاوت بوده است.

ژل رویال نیز حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است که از مهم‌ترین آنها می‌توان کوئرستین، کامفرول، آپیژنین و لوتولین را نام برد. فلاونوئیدها از چند جهت بر دیابت تأثیر می‌گذارند، این ترکیبات موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات و لیپید و کاهش هیپرگلیسمی، دیس لیپیدی و مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی ممانعت می‌کنند. فلاونوئیدها (به‌خصوص کوئرستین) از کاهش وزن در

گیرند و علاوه بر بافت عضله، بافت آدیپوز و کبد نیز که یکی از فعالترین بافتها حین فعالیت ورزشی است مورد بررسی قرار گیرد.

### سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از رساله دکتری فاطمه صائبی بود و با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1399.128 در کمیته اخلاق پزشکی پژوهشگاه تربیت بدنی وزارت علوم تأیید شد. از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

### تعارض منافع

این مطالعه هیچگونه تضاد منافی ندارد.

تنهایی افراد دیابتی نوع دو که دیابت مرتبط با ورزش و معمولاً همراه با اضافه وزن و چاقی نیز هست ممانعت می‌کنند اما مصرف ژل رویال به تنهایی نمی‌تواند در این زمینه‌ها و تغییرات ژن GLUT4 مؤثر باشد و استفاده از برنامه‌های تمرینی ورزشی هوازی از نوع تمرین‌های تناوبی می‌تواند اثر بخشی آن را بهبود بخشد با این وجود انجام مطالعات بیشتر و تکمیلی در این زمینه ضروری است. از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم اندازه گیری دیگر فاکتورهای مرتبط با متابولیسم انرژی در عضلات اسکلتی اشاره کرد. اندازه‌گیری مسیرهای سیگنالینگ همچون تنظیم مسیرهای کلسیمی، کالسیورین و  $caMK\alpha/AMPK$  و P38 و همچنین گیرنده‌های آدرنژیک نیز می‌تواند اثرات فعالیت بدنی بر عوامل رونویسی درگیر در عضله اسکلتی در افراد مبتلا به دیابت را به‌طور روشن‌تری نشان دهد. از طرفی برای مطالعه بیشتر دلایل این تغییرات و بررسی مسیر سیگنالینگ بالادستی این ژن‌ها پیشنهاد می‌گردد عواملی مانند PGC1- $\alpha$  نیز در این مسیر مورد بررسی قرار

### مآخذ

- Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of Diabetic Complications. *Physiol Rev*. 2013; 93:137–188.
- Kallikazaros IE. Diabetes mellitus: A sweet-and-sour disease. *Hell. J. Cardiol*. 2013; 5:153–154.
- Talukder A, Hossain MZ. Prevalence of Diabetes Mellitus and Its Associated Factors in Bangladesh: Application of Two-level Logistic Regression Model. *Sci. Rep*. 2020; 10:10237.
- Animaw W, Seyoum Y. Increasing prevalence of diabetes mellitus in a developing country and its related factors. *PLoS ONE*. 2017;12: e0187670.
- Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J. Diabetes*. 2015; 6:850–867.
- Mason S, Wadley GD. Skeletal muscle reactive oxygen species: A target of good cop/bad cop for exercise and disease. *Redox Rep*. 2014; 19:97–106.
- Zhang L, Keung W, Samokhvalov V, Wang W, Lopaschuk GD. Role of fatty acid uptake and fatty acid beta-oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Biochim Biophys. Acta*. 2010; 1801:1–22.
- Dresner A, Laurent D, Marcucci M., Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, et al. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Investig*. 1999; 103: 253–259.
- Roy JR, Janaki CS, Jayaraman S, Periyasamy V, Balaji T, Vijayamalathi M, Veeraraghavan VP. Carica papaya Reduces Muscle Insulin Resistance via IR/GLUT4 Mediated Signaling Mechanisms in High Fat Diet and Streptozotocin-Induced Type-2 Diabetic Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 21;11(10):2081.
- Afzalpour ME, Yousefi MRY, Abtahi Eivari H, Ilbeigi S. The comparison of continuous and intermittent training impact on glucose-4 transporter protein level and insulin sensitivity in diabetic rats. *Journal of Basic Research in Medical Sciences*. 2016; 3 (4) :40-48
- Chou CH, Tsai YL, Hou CW, Lee HH, Chang WH, Lin TW, et al. Glycogen overload by postexercise insulin administration abolished the exercise-induced increase in GLUT4 protein. *J Biomed Sci*. 2005; 12(6):991-8.
- Tsai YL, Hou CW, Liao YH, Chen CY, Lin FC, Lee WC, et al. Exercise training exacerbates tourniquet ischemia-induced decreases in GLUT4 expression and muscle atrophy in rats. *Life Sci*. 2006;78(25):2953-9.
- Saebi F, Abednatanzy H, Azarbayjani M, Gholami M. The Effect of High Intensity Interval Training and Royal Jelly on RBP4 and AMPK Gene Expression in Soleus Muscle and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats. *RJMS*. 2023; 30 (6):13-28.
- Nasri H, Shirzad H, Baradaran A, Rafieian-kopaei M. Antioxidant plants and diabetes mellitus. *J Res Med Sci*. 2015;20(5):491.
- Fujita T, Kozuka-Hata H, et al. Proteomic analysis of the royal jelly and character-ization of the functions of its derivation glands in the honeybee. *J Proteome Res*. 2012; 12(1):404–411.
- Maleki V, Jafari-Vayghan H, Saleh-Ghadimi S, Adibian M, Kheirouri S, Alizadeh M. Effects of Royal jelly on metabolic variables in diabetes mellitus: A systematic review. *Complement Ther Med*. 2019; 43:20-27.
- Shidfar F, Jazayeri Sh, Musavi SN, Malek M, and et.al. Does Supplementation with Royal Jelly Improve Oxidative Stress and Insulin Resistance in Type 2

- Diabetic Patients? *Iran J Public Health*. 2015; 44(6):797-803.
18. Nomura M, Maruo N, Zamami Y, Takatori S, Kawasaki H. Effect of long-term treatment with royal jelly on insulin resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Yakugaku zasshi: J Pharm Soc Jpn*. 2007; 127(11):1877-82.
  19. Amini A, Mirakhori Z, Eizadi M. The effect of aerobic training on Glucose transporter type 4 expression in Gastrocnemius muscle and blood glucose of type 2 diabetes rats induced by Nicotinamide and STZ. *RJMS*. 2020; 27(5):76-85.
  20. Lauritzen HP, Ploug T, Prats C, Tavaré JM, Galbo H. Imaging of insulin signaling in skeletal muscle of living mice shows major role of T – tubules. *Diabetes*. 2006; 55(5):1300-6.
  21. Lauritzen HP, Galbo H, Toyoda T, Goodyear LJ. Kinetics of contraction-induced GLUT4 translocation in skeletal muscle fibers from living mice. *Diabetes*. 2010 Sep; 59(9):2134-44.
  22. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sci*, 2006; 79(11): 1100–1107.
  23. Gheibi Seveda, Bakhtiari Zadeh. F, Ghasemi. AA review of the high-fat diet model- Streptozotocin for type 2 diabetes in rats. *Journal of Endocrinology and Metabolism of Iran, Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services*. 2016; 18(2):135-148.
  24. Aghanouri Z, Nouredini M, Salami M. Effect of Citrullus Colocynthis on diabetic rat's plasma glucose. *Feyz*. 2009; 12 (4):1-6. [Persian].
  25. Moeini Fard. M, Hedayati M. Aluxan and Streptozotocin, Diabetes Research Tool. *Journal of Applied Sports Physiology*. 2014;10(20):13-22. [Persian].
  26. Asgari M, Asle-Rousta M, Sofiabadi M, Effect of Royal Jelly on Blood Glucose and Lipids in Streptozotocin Induced Type 1 Diabetic Rats. *Arak Med Uni J*. 2017; 20(122): 48-56.
  27. Baburao Waykar B. and Alqadhi YA, Administration of Honey and Royal Jelly Ameliorate Cisplatin Induced Changes in Liver and Kidney Function in rats. *Biomed Pharmacol J*. 2018; 11(4):2191-2199.
  28. Rodrigues B, Figueroa DM, and et al. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in Streptozotocin -diabetic rats. *Cardiovascular Diabetology*; 2007, 6:38.
  29. Akbarzadeh A, Fattahi Bafghi A. The effect of high intensity interval training combined with curcumin supplementation on Plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. *JSSU*. 2018; 25(12):961-969. [Persian].
  30. Rezaei R, Norshahi M, Bigdel MR, Khodaghali F, Haghparast A. Effect of eight weeks of continuous and interval intense aerobic exercise on VEGFR-2 and VEGF-A values in the brain tissue of wistar rats. *Journal of Exercise Physiology and Physical Activity. Physiology of Exercise and Physical Activity*. 2015; 8(2):1213-1221. [Persian].
  31. Mohebbi H, Hadi R, Sadegh HN. The Effect of 12 Weeks Endurance Training at 2 Different Intensities on GLUT4 MRNA Expression of Soleus and Gastrocnemius Muscles in Obese Mice. *Apunts: Medicina De l'esport*. 2016; 51(191):93-99.
  32. Izumiya Y, Hopkins T, Morris C, Sato K, Zeng L, Viereck J, et al. Fast/Glycolytic muscle fiber growth reduces fat mass and improves metabolic parameters in obese mice. *Cell Metab*. 2008; 7:159-72.
  33. Bostan Manesh Nik Javan M, Shadmehri S, Ahmadi M. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on gene expression of the factors involved in the skeletal muscle metabolism of diabetic rats. *Pars Journal of Medical Sciences* 2022; 17(2): 32-39.
  34. Wang Y, Wen L, Zhou S, Zhang Y, Wang XH, He YY, et al. Effects of four weeks' intermittent hypoxia intervention on glucose homeostasis, insulin sensitivity, GLUT4 translocation, insulin receptor phosphorylation, and Akt activity in skeletal muscle of obese mice with type 2 diabetes. *PLoS ONE*. 2018; 13(9):1-22.
  35. Park ST, Kim K, Yoon JH, Lee S. Effect of Exercise on GLUT4 Expression of Skeletal Muscle in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Exercise Physiology Online*. 2011; 14(3):113-122.
  36. Zarekar M, Saghebjo M, Foadodini M, Hedayati M. Combined effect of aerobic training and pistacia atlantica extract on GLUT-4 protein expression and muscle glycogen in diabetic rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2014; 16(4):245-53.
  37. Kocot J, Kielczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: possible medical application. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 1-29.
  38. Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, De Nigris V, Ceriello A. *The Possible Role of Flavonoids in the Prevention of Diabetic Complic. Nutr*. 2016; 8(5): 310.
  39. Rauter AP, Martins A, Borges C, Mota- Filipe H, Pinto R, Sepodes Bet al. Antihyperglycaemic and protective effects of flavonoids on streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res*. 2010; 24(S2): S133-8.
  40. Amirshahi T, Nejati V, Najafi G. Biochemical and Histological Evaluation of Protective Effect of Royal Jelly on PancreasInduced Oxidative Stress in Male Rat Pancreas. *J Mazandaran Uni Med Sci*. 2013; 23(107).
  41. Dakhale GN, Chaudhari HV, Shrivastava M. Supplementation of vitamin C reduces blood glucose and improves glycosylated hemoglobin in type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind study. *Adv Pharmacol Sci*. 2011; 1-5.
  42. Xiang X, Liu Y, Zhang X, Zhang W, Wang Z. Effects of biotin on blood glucose regulation in type 2 diabetes rat model. *J Hyg Res*. 2015; 44(2):185- 9.

## Changes in GLUT4 Gene Expression in Soleus Muscle Tissue and Insulin Resistance Index After HIIT and Consumption of Chromosome Royal Gel in Type 2 Diabetic Obese Rats

Fateme Saebi<sup>1</sup>, Hossein Abednatanzi<sup>\*1</sup>, Mohammad Ali Azarbajani<sup>2</sup>, Mandana Gholami<sup>1</sup>

1. Department of physical education and sport science, Science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran

### ABSTRACT

**Background:** Type 2 diabetes is the most common endocrine disease that occurs due to glucose intolerance due to imbalance between insulin demand and reserves. Glucose transport to the muscle fiber is carried out by glucose transporter proteins (GLUTs). GLUT4 is the most important glucose transporter isoform in skeletal muscles. Insulin and exercise stimulate the fast and intense transfer of GLUT4 to the plasma membrane and cause the absorption of glucose in muscle and fat tissue. The aim of the present study was to study the changes in GLUT4 gene expression in soleus muscle tissue and insulin resistance index after HIIT and royal jelly in type 2 diabetic obese rats.

**Methods:** The statistical subject consisted of wistar rats became diabetic after a 20 weeks high-fat diet by intraperitoneal injection of 25 mg/kg STZ. Rats with fasting glucose between 150 and 400 mg / dL were considered to have type 2 diabetes. HIIT protocol and gavage performed for eight weeks, five sessions per week with 2-minute alternation of 2 and 8 intervals with 80 to 90% vo2max and a one-minute rest cycle with 50 to 56% vo2max. Royal Jelly was given by gavage at a dose of 100 mg / kg 5 days a week.

**Results:** Data analysis using two-way analysis of variance test showed that in comparison with the control group, HIIT led to a significant reduction in glucose and insulin resistance index. so data shown that a significant increase in soleus muscle GLUT4 gene expression compared to the control group and HIIT and royal jelly (P = 0.001).

**Conclusion:** HIIT and royal jelly were effective in reducing insulin resistance index and expression of genes effective in glucose consumption in soleus muscle. Also, HIIT and royal jelly led to an increase in GLUT4 gene expression in the soleus muscle compared to the control group, which is important in glucose consumption in diabetics.

**Keywords:** HIIT, Royal Jelly, GLUT4 Gene, Soleus Muscle, Diabetic Rat

\* Department of Physical Education and Sports Science, Daneshgah Blvd, Simon Bulivar Blvd, Tehran. Phone Number: 44865179-82 & 44865154-8. Mobile: 09126107064 • ORCID: 0000-0001-6638-1131, Academic email: h-abednatanzy@srbiau.ac.ir . Postal Code: 1477893855. Post Office Box: 14515/775. Email: abednazari@gmail.com

