

تأثیر تمرینات هوازی بر مقاومت انسولین و محور AMPK/PI3K در عضله نعلی رت‌های دیابتی نوع ۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۱

خلاصه

مقدمه: نقش مولفه‌های ژنتیکی در هایپرتروفی و نیمرخ گلیسیمیک بویژه در حضور دیابت نوع ۲ به خوبی مشخص شده است. این مطالعه با هدف تعیین اثر تمرینات هوازی بر محور AMPK/PI3K در عضله نعلی و مقاومت انسولین در رت‌های دیابتی نوع انجام گرفت.

روش کار: برای این منظور، ۱۴ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای (10 ± 220 گرم) توسط تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید و STZ دیابتی نوع ۲ شده و به شیوه تصادفی به ۲ گروه کنترل ($n=7$) و ورزش ($n=7$) تقسیم شدند. رت‌های گروه ورزش در یک دوره تمرینات ۱۰ هفته‌ای هوازی به تعداد ۵ جلسه در هفته در قالب دویدن روی تردمیل شرکت نمودند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بیان PI3K و AMPK در عضله نعلی همچنین سطوح گلوکز ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه اندازه گیری شد. از مقادیر ناشتایی گلوکز و انسولین جهت محاسبه مقاومت انسولین استفاده شد. داده‌ها توسط آزمون تی مستقل بین گروه‌ها مقایسه شدند.

نتایج: در مقایسه با گروه کنترل، تمرینات هوازی به افزایش معنی دار بیان PI3K در عضله نعلی ($P=0/005$) و کاهش معنی دار گلوکز ناشتا ($P=0/001$) و مقاومت انسولین ($P=0/010$) منجر شد. بیان AMPK در پاسخ به تمرینات هوازی نسبت به گروه کنترل تغییر نکرد ($P=0/238$).

نتیجه گیری: بر پایه این یافته‌ها، بهبود گلوکز و مقاومت انسولین در پاسخ به تمرینات هوازی را شاید بتوان به افزایش بیان PI3K در عضله نعلی نسبت داد. شناخت مکانیسم‌های عهده دار هایپرتروفی عضلانی در پاسخ به ورزش نیازمند مطالعات سلولی مولکولی بیشتر در این زمینه است.

کلمات کلیدی: دیابت نوع ۲، بیان ژن، تمرین هوازی، نیمرخ گلیسیمیک، هایپرتروفی

حمید اسلامی^۱

مجتبی ایزدی^{۲*}

مانیا روزبانی^۳

^۱ دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بروجرد،

دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی،

ساوه، ایران

^۳ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد

اسلامی، بروجرد، ایران

Email:

izadimojtaba2006@yahoo.com

مقدمه

دیابت نوع ۲ یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی است (۱) که انتظار می‌رود شیوع آن تا سال ۲۰۲۵ به بیش از ۳۰۰ میلیون نفر افزایش یابد (۲). جدای از ژنتیک و وراثت، این بیماری نه تنها در پاسخ به برخی محرک‌ها نظیر چاقی، رژیم غذایی غیر نرمال و کم تحرکی یا اختلالات درونی نظیر اختلال در مولفه‌های هورمونی و متابولیکی رخ می‌دهد بلکه خود نیز زمینه‌ای برای بروز برخی بیماری‌های مزمن دیگر نظیر بیماری‌های قلبی-عروقی، کبدی و ناهنجاری‌های کلیوی می‌باشد. جدا از تغییرات یا اختلالات هورمونی و متابولیکی اخیراً همچنین نقش مولفه‌های ژنتیکی در بروز یا شدت این بیماری در خصوص ترشح انسولین یا عملکرد آن در بافت‌های هدف نظیر کبد، عضله اسکلتی و بافت چربی مطرح است. بطوریکه اختلال در این مولفه‌های ژنتیکی نه تنها مستقیماً مکانیسم‌ها و عملکرد انسولین را متأثر می‌کند بلکه به طور مستقیم بواسطه تأثیر بر مؤلفه‌های هورمونی میل به دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهند (۳). عوارض ناشی از دیابت نوع تنها متوجه هایلر گلیسمی یا افزایش قند خون و مقاومت انسولین نیست بلکه اختلالات متعددی در بافت‌های هدف، نظیر قلب و عروق، بافت چربی، عضلانی و کبدی نیز از پیامدهای این بیماری هستند و گاهاً خود این اختلالات بر شدت بیماری می‌افزایند (۲).

در این خصوص، اختلال در سطوح پروتئین یا بیان برخی عوامل رونویسی مؤثر بر فرآیندهای متابولیکی، هاپیروتروپی یا آتروپی عضلانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این رابطه، AMPK آنزیمی هتروتیرمیک تشکیل شده از سه زیرواحد α و β می‌باشد که با فسفریلاسیون ریشه ترپونین 172 در زیر واحد α فعال می‌شود (۴،۵). AMPK به عنوان یک سنسور انرژی سلول در فعالیت مکانیسم‌های کاتابولیکی (جذب گلوکز و گلیکولیز، لیپولیز، اتوفاژی، میتوفاژی) و آنابولیکی (لیپوژنز، گلیکوکژنولیز، گلوکونوژنز، سنتز پروتئین) مؤثر است (۶،۷).

از طرفی، بر اساس شواهد موجود، مسیرهای سیگنالینگ وابسته به PI3K در فرآیندهای متابولیکی یا ژنتیکی منتهی به دیابت نقش دارد و اختلال در این مسیر، چاقی و دیابت نوع ۲ را به

دنبال دارد. نقش این مسیر سیگنالینگ در عضله اسکلتی، بافت چربی، قلب، کبد، مغز و پانکراس تمرکز دارد. بطوریکه اختلالات ژنتیکی مسیرهای پایین دست PI3K با مقاومت انسولین در افراد چاق یا دیابتی همراه است و به نوبه خود فرآیندهای سنتز و هاپیروتروپی عضلانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۸). بطوریکه عنوان شده است که AKT1 به عنوان یکی از ژن‌های هدف PI3K در تنظیم هاپیروتروپی ناشی از تمرین نقش دارد (۹،۱۰). اگرچه مکانیسم‌های اصلی عهده‌دار هاپیروتروپی هنوز به طور کامل شناخته نشده‌اند. اما مشخص شده که حضور دیابت نوع ۲ بواسطه کاهش بیان PI3K به کاهش یا مهار هاپیروتروپی منجر می‌شود (۱۱،۱۲). لی و همکاران (۲۰۲۱) اشاره داشته‌اند که جذب گلوکز در آدیپوسیت‌ها از طریق اثرات تنظیمی PI3K/AMPK بر انتقال غشایی GLUT4 پلاسما افزایش می‌یابد (۱۳). مشخص شده است که AMPK فعالیت AKT را از طریق تنظیم مثبت PI3K افزایش می‌دهد (۱۴). از طرفی، مطالعات ژنتیکی آشکار نموده‌اند که AMPK حساسیت انسولین را در درجه اول بواسطه تنظیم PI3K و در درجه دوم از طریق کاهش فعالیت مسیر سیگنالینگ mTOR/S6k که مهارکننده IRS1 است افزایش می‌دهد (۱۵).

بر پایه شواهد مذکور، برخی محققان هموار در صدد ایجاد راهکارهای موثر با هدف بهبود مسیرهای سیگنالینگ منتهی به هاپیروتروپی در دیابتی‌ها بواسطه مداخلات درمانی هستند بین این مداخلات فعالیت‌های ورزشی به عنوان یک فاکتور محافظتی جهت پیشگیری یا درمان عوارض یا ناهنجاری‌های وابسته به دیابت معرفی شده است. برخی مطالعات افزایش فعالیت مسیر AKT1/mTORc1 در پاسخ به تمرینات ورزشی را محرک هاپیروتروپی عضلات اسکلتی معرفی نموده‌اند که بوسیله مسیر سیگنالینگ محوری GH/IGF از طریق PI3K/AKT و نهایتاً AKT/mTORc1 تنظیم می‌شود (۱۶). بطوریکه در مطالعه کامول و همکاران (۲۰۰۷)، ۴ تا ۶ هفته دوچرخه‌سواری تناوبی به افزایش بیان AMPK در افراد چاق دیابتی یا غیر دیابتی منجر شد (۱۷). یافته‌های کائو و همکاران (۲۰۱۲) نیز اشاره نموده‌اند

که هم تمرین حاد و هم تمرین مزمن، موجب فسفوریلاسیون و بیان AMPK و بدنال آن PI3K در موشهای دیابتی می گردد اما نوع بافت در مطالعه آنها مشخص نشده است (۱۸). با این وجود، نقش تمرینات ورزشی بر هایپرگلیسمی و هایپرتروپی عضلانی وابسته به مسیر سیگنالینگ PI3K/AMPK مطالعه نشده است. از این رو، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر تمرینات هوازی به عنوان یکی از رایج ترین متدهای تمرینی بر بیان PI3K و AMPK در عضله نعلی همچنین گلوکز و مقاومت انسولین در رت های دیابتی نوع ۲ انجام گرفت.

روش کار

مطالعه تجربی حاضر روی ۱۴ سر رت نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن 220 ± 10 گرم که از حیوانخانه انستیتو پاستور تهیه شدند و در ادامه پس از القای دیابت نوع ۲ به شیوه تصادفی در ۲ گروه (۱۰ هفته تمرین هوازی، $n = 7$) و کنترل ($n = 7$) قرار گرفتند انجام شد. رت‌های مورد مطالعه در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ عصر و شروع خاموشی ۶ صبح) با دمای (22 ± 3 سانتی گراد)، و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ۵۰ درصد نگهداری شدند. بدین منظور قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی متر تهیه شد تا موش‌ها در آن آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. برای اطمینان از شرایط محیطی مناسب و حفظ رطوبت، دما و تهویه مناسب (برای تعدیل سطح آلودگی موجود در محل و کاهش بوی بد محیط ناشی از انباشت آمونیاک حاصل از ادرار حیوانات و کاهش احتمال بیماری‌های تنفسی در حیوانات) از دستگاه تهویه هوا و از دماسنج و رطوبت سنج برای پایش تغییرات

شبانۀ روزی دما و رطوبت استفاده شد. همچنین، قفس‌های نگه‌داری حیوانات روزانه با آب و ماده‌شوینده شستشو داده شد. برای حفظ نظافت قفس‌ها و جمع‌آوری ادرار و مدفوع حیوانات از پوشال (تراشه چوب) استفاده شد. در سر تا سر دوره تحقیق رت‌ها توسط یک نفر نیز جابجا و دستکاری شدند.

القای دیابت نوع ۲: دیابت نوع ۲ به شیوه تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید و STZ القاء شد. بطوریکه پس از یک شب ناشتایی (۱۲ ساعت)، ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن موش، به صورت داخل صفاقی تزریق شد؛ پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیتрат با $\text{pH}=4/5$ نیز به صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق شد (۱۹). یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه گیری و قند خون بالای بین ۴۰۰-۱۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (۱۹).

پروتکل تمرینات هوازی: پس از تفکیک رت‌ها به دو گروه هوازی و کنترل، گروه هوازی از هفته دوازدهم در یک دوره تمرینات هوازی شرکت نمودند. برنامه تمرینی برای مدت ۱۰ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی سرعت (۱۶ الی ۲۶ متر بر دقیقه) و زمان (۱۵ الی ۵۰ دقیقه) در قالب دویدن روی تردمیل انجام گرفت (۲۰). همه موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی پس از یک گرسنگی شبانه ۱۰ تا ۱۲ ساعته (ناشتا) تشریح شدند.

جدول ۱. پروتکل تمرینات هوازی بر حسب سرعت و زمان در ۱۰ هفته در آزمودنی ها

اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم	نهم	دهم
۱۶	۱۸	۲۰	۲۰	۲۲	۲۲	۲۴	۲۴	۲۶	۲۶
۱۵	۲۰	۳۰	۳۰	۴۰	۴۰	۴۵	۴۵	۵۰	۵۰
شیب	صفر								

آماري با استفاده از نرم افزار SPSS/Win نسخه ۲۲ انجام گرفت. تغييرات کمتر از ۵ درصد معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول ۲. الگوی توالی پرایمرها

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
PI3K	For: ACTGAGATG GAGACACG GAAC Rev: GCATCCAAG GGTCCAGTT AGTG	159 bp	60	NM_001191052.1
AMPK	For: CCCCTTGAA GCGAGCAAC TATC Rev: GCATCATAG GAGGGGTCT TCAG	159 bp	60	NM_001191052.1
RNA PolymraseII	For: ACTTTGATG ACGTGGAGG AGGAC Rev: GTTGGCCTG CGGTCTTC	164 bp	60	XM_008759265.1

نتایج

الگوی تغییر وزن بدن در گروه های مورد مطالعه در جدول شماره ۳ نمایش شده است. در شرایط قبل از اجرای مطالعه، نتایج آزمون تی مستقل نتایج نشان داد که بین گروه های مورد مطالعه در وزن رت ها اختلاف معنی داری ($P = 0/362$) وجود ندارد. از طرفی، اگرچه وزن بدن در هر دو گروه در شرایط پس از مطالعه به میزان معنی داری نسبت به قبل از مطالعه افزایش یافت، اما سطوح وزن بدن در پس از مداخله در گروه هوازی به میزان معنی داری پایین تر از گروه کنترل بود.

جدول ۳. وزن بدن (گرم) در شرایط قبل مداخله هوازی در گروه های مورد مطالعه

گروه	قبل از مداخله	پس از مداخله	Sig (تی همبسته)
کنترل	229 ± 3	278 ± 8	0/001
هوازی	230 ± 4	264 ± 8	0/001
Sig (تی مستقل)	0/362	0/001	-----

نمونه گیری خون و استخراج یافت: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، رت های مورد مطالعه در هر دو گروه بواسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس قفسه سینه حیوان شکافته شده و نمونه خون بطور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. در ادامه عضله نعلی استخراج و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب های ۱/۸ حاوی مایع RNA later^۱ با نسبت ۲۰ درصد جهت انجام آزمایش های مولکولی غوطه ور گردید. غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی با فن آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران اندازه گیری شد. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری (Demeditec Diagnostic insulin ELIZA) ساخت کشور آلمان اندازه گیری شد. از مقادیر گلوکز و انسولین ناشتا برای مقاومت انسولین استفاده گردید (۲۱).

$22,5 / (\text{گلوکز بر حسب میلی مول در لیتر} \times \text{انسولین بر حسب میکرو واحد در میلی لیتر}) = \text{مقاومت انسولین}$

استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN انجام گرفت. تعیین gene mRNA توسط RT-Real time PCR بوسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله ای One Step SYBR TAKARA شرکت تاکارا مطابق با دستور العمل شرکت استفاده گردید. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه از RNA PolymraseII به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول ۲ بیان شده اند.

آنالیز آماری: از آزمون شاپروویک جهت اطمینان از توزیع نرمال داده ها استفاده گردید. مقایسه متغیرها بین دو گروه با استفاده از آزمون تی مستقل انجام گرفت. کلیه بررسی های

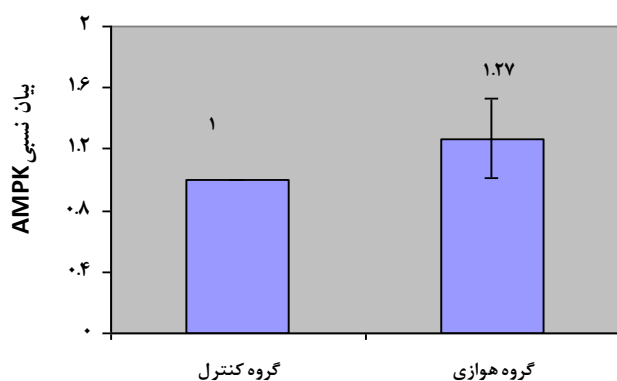
^۱ RNA Stabilization reagent 50 mL

نتایج حاصل از آزمون تی مستقل بیانگر عدم تفاوت معنی دار بیان AMPK در عضله نعلی بین دو گروه مورد مطالعه بود ($P = ۰/۲۳۸$). به عبارتی، ۱۰ هفته تمرین هوازی به تغییر معنی داری در بیان AMPK در عضله نعلی رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل در برنامه تمرینی شرکت نداشته اند منجر

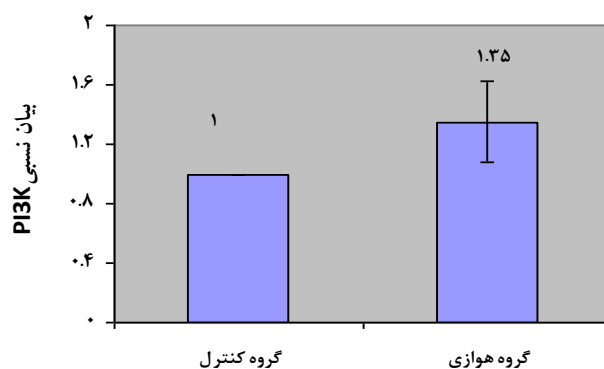
نشد (جدول ۴، نمودار ۱). با این وجود، تفاوت معنی داری در بیان PI3K بین دو گروه مشاهده شد ($P = ۰/۰۰۵$). به عبارتی، ۱۰ هفته تمرین هوازی به افزایش معنی دار بیان PI3K نسبت به گروه کنترل شد (جدول ۴، نمودار ۲).

جدول ۴. بیان نسبی AMPK و PI3K در گروه های هوازی و کنترل

متغیر	گروه کنترل	گروه هوازی	Sig
بیان نسبی AMPK	۱	$۱/۲۷ \pm ۰/۲۶$	$۰/۲۳۸$
بیان نسبی PI3K	۱	$۱/۳۵ \pm ۰/۲۷$	$۰/۰۰۵$



نمودار ۱. الگوی تغییرات بیان نسبی AMPK در گروه های مورد مطالعه

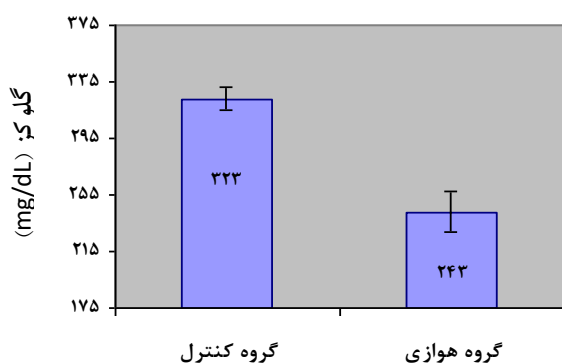


نمودار ۲. الگوی تغییرات بیان نسبی PI3K در گروه های مورد مطالعه

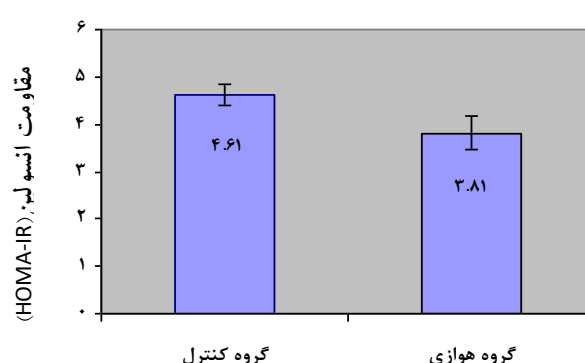
از طرفی، تفاوت معنی داری در سطوح گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. به عبارتی، ۱۰ هفته تمرین هوازی به کاهش معنی دار گلوکز ($P = ۰/۰۰۱$) و مقاومت انسولین ($P = ۰/۰۱۰$) (نمودار ۳) در مقایسه با گروه کنترل منجر شد.

جدول ۵. سطوح شاخص‌های تعیین دیابت در گروه های هوازی و کنترل

متغیر	گروه کنترل	گروه هوازی	Sig
گلوکز (mg/dL)	۳۲۳ ± ۸	۲۴۳ ± ۱۴	$۰/۰۰۱$
مقاومت انسولین (HOMA-IR)	$۴/۶۱ \pm ۰/۲۳$	$۳/۸۱ \pm ۰/۳۵$	$۰/۰۱۰$



نمودار ۳. الگوی تغییرات گلوکز ناشتا در گروه های مورد مطالعه



نمودار ۴. الگوی تغییرات مقاومت انسولین در گروه های مورد مطالعه

بحث و نتیجه گیری

افزایش بیان PI3K در عضله نعلی یافته اصلی مطالعه حاضر است. به عبارتی، علیرغم عدم تغییر بیان AMPK در عضله نعلی رت‌های دیابتی در پاسخ به ۸ هفته تمرین هوازی به تعداد ۵ جلسه در هفته اما بیان نسبی PI3K به میزان معنی داری افزایش یافت. افزایش بیان PI3K در حالی گزارش می‌شود که اجرای تمرینات هوازی با کاهش قابل توجه گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین در مقایسه با گروه کنترل که در برنامه تمرینی شرکت نداشته‌اند همراه بود. بر پایه شواهد آزمایشگاهی، کاهش گلوکز ناشتا و بهبود عملکرد انسولین را شاید بتوان به افزایش بیان AMPK در پاسخ به تمرینات هوازی نسبت داد. در خصوص پاسخ گلوکز یا مقاومت انسولین به تمرینات مقاومتی گزارش‌های متفاوتی به چشم می‌خورد. در این زمینه برخی مطالعات عدم تغییر شاخص‌های تعیین دیابت را در پاسخ به تمرینات گزارش نموده‌اند. بطوریکه Maltais و همکاران (۲۰۱۶)، عدم تغییر انسولین و گلوکز در پاسخ به ۴ ماه تمرین مقاومتی را گزارش نموده‌اند (۲۲). همچنین در مطالعه دیگری، ۲۰ هفته فعالیت ورزشی در قالب ۳ الی ۵ جلسه با شدت ۷۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه در هفته به تغییری در هموگلوبین گلیکوزیله به عنوان برآیندی از تغییرات طولانی مدت گلوکز منجر نشد (۲۳). در مطالعه Leggate و همکاران (۲۰۱۲)، ۲ هفته تمرین تناوبی شدید به تعداد ۶ جلسه در هفته به تغییری در حساسیت انسولین در مردان چاق منجر نشد (۲۴). با این وجود، Glans و همکاران (۲۰۰۹)، کاهش قابل توجه گلوکز را متعاقب ۶ ماه تمرین هوازی در بیماران دیابتی گزارش نموده‌اند (۲۵). در مطالعه Lopes و همکاران (۲۰۱۶) نیز ۱۲ هفته تمرین هوازی به کاهش معنی دار گلوکز همراه با افزایش حساسیت انسولین منجر شد (۲۶).

در خصوص تاثیر تمرینات ورزشی بر بیان PI3K علیرغم اینکه برخی مطالعات هیچ اثری از تمرینات ورزشی حاد بر روی تغییرات سیگنال وابسته به انسولین مانند تغییر در فسفوریلاسیون IRS1 یا فعالیت PI3K گزارش نکرده‌اند (۲۷، ۲۸)، برخی مطالعات اشاره داشته‌اند که تمرینات استقامتی مداوم از نوع حاد

در زمان ۴۵ تا ۶۰ دقیقه با ۶۵ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به افزایش بیان PI3K در عضلات افراد سالم تمرین کرده و همچنین افراد با مقاومت انسولین منجر می‌شود (۲۹، ۳۰). زی چاو و همکاران (۲۰۱۳) همچنین افزایش ۳۶ درصدی سطوح پروتئین PI3K را متعاقب ۸ هفته تمرین شنا استقامتی به تعداد ۵ جلسه در هفته نسبت به گروه کنترل که با افزایش فعالیت مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT1 همراه بود گزارش نموده‌اند در این تحقیق همچنین اشاره شده است که ورزش شنا در جهت فعال کردن مسیر سیگنالینگ پروتئین‌هایی که باعث هایپرتروفی میوسیت‌ها می‌شوند یک اثر کاهشی و مهاري نیز بر پروتئین‌های شناخته شده‌ای که باعث هایپرتروفی پاتولوژیک (مانند PTEN) می‌شوند داشته است (۳۱). از طرفی، افزایش فعالیت عامل (PI3K/P110α) قلبی موش‌ها در پاسخ به تمرینات ورزشی توسط برخی محققان گزارش شده است (۳۲).

با این وجود، هنوز به خوبی مشخص نشده است که AMPK بواسطه تاثیر بر فعالیت کدامین ایزوform PI3K مسیرهای سیگنالینگ وابسته به PI3K را متاثر می‌کند (۲۲). در مطالعه حاضر علیرغم اینکه افزایش AMPK در پاسخ به تمرینات هوازی به لحاظ آماری معنی دار نبود اما این افزایش ۲۷ درصدی نسبت به گروه کنترل از دید بالینی قابل توجه است. از طرفی، غیر معنی دار افزایش را شاید بتوان به تعداد کم نمونه مورد مطالعه یا انحراف استاندارد بالای نمرات نسبت داد. مشخص شده است که AMPK به عنوان یک آنزیم حساس به سوخت و ساز متابولیکی عمل می‌کند که فعالیت آن در شرایط تعادل انرژی پایین است اما در شرایط نقص سوخت و ساز انرژی افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت AMPK حساسیت انسولین را از طریق مکانیسم‌های چندگانه‌ای متاثر می‌کند بطوریکه بواسطه تاثیر بر مسیر سیگنالینگ وابسته به PI3K به افزایش فعالیت PI3K/AKT و مهار mTOR/S6K وابسته به انسولین منجر می‌شود (۱۵). در این زمینه اشاره شده است که رژیم غذایی پرچرب بیان AMPK و PI3K عضله اسکلتی را در رت‌های دیابتی شده توسط رژیم غذایی پرچرب کاهش می‌دهد اما هر دو ورزش آبی و طولانی مدت به افزایش بیان آنها نسبت به گروه کنترل که تمرین نداشته‌اند منجر می‌شود (۳۳). در مطالعه دیگری، تمرینات هوازی

طولانی مدت هوازی (۶۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی) به افزایش بیان AMPK در رت‌های آزمایش‌های منجر شد (۳۴). در این زمینه، عنوان شده است که تمرینات ورزشی در شدت‌های بالاتر به طور موثر بیان AMPK در عضلات اسکلتی رت‌های دیابتی نوع ۲ را افزایش می‌دهد (۳۵). از طرفی، برخی مطالعات اشاره نموده اند که اثر تمرین مقاومتی روی حساسیت انسولین معمولاً بیشتر از تمرین هوازی به طول می‌انجامد و محققان این پایداری را به برخی اثرات ناشی از افزایش توده عضلانی نسبت داده اند (۳۶). علیرغم یافته‌ها در مطالعه حاضر اما شناخت مکانیسم‌های اصلی عهده دار بهبود سطوح گلوکز خون، مقاومت انسولین یا هایپرتروفی عضلانی تنها به اندازه گیری ژن‌های مذکور مشخص نمی‌شود بلکه اندازه گیری سایر عوامل هورمونی، متابولیکی و ژنتیکی نظیر AKT1, PI3K, mTORc1 در پاسخ به شیوه‌های تمرینی مختلف جهت دستیابی به یک نتیجه گیری کلی و جامع مورد نیاز است.

نتیجه گیری: تمرینات هوازی نسبتاً طولانی مدت با بهبود گلوکز خون در رت‌های دیابتی نوع ۲ همراه است. این بهبود احتمالاً ریشه در افزایش عملکرد انسولین و بیان PI3K در عضلات اسکلتی در پاسخ به این شیوه تمرینی دارد. از طرفی، افزایش بیان PI3K احتمالاً با هایپرتروفی عضلانی در پاسخ به این شیوه تمرینی نسبت به گروه کنترل همراه است. علیرغم این تغییرات، شناخت مکانیسم‌های اصلی عهده دار عملکرد انسولین یا انتقال غشایی گلوکز و هایپرتروفی عضلانی در بیماران دیابتی نیازمند مطالعات بیشتری است.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از آزمایشگاه ژنتیک و بیمارستان آریا در آنالیز بیان ژن و نمونه‌های خون تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع: نویسندگان مقاله فاقد هر گونه تعارض منافع هستند.

References

- Al-Dwairi A, Alfaqih MA, Saadeh RA, Al-Shboul O, Alqudah M, Khanfar M, Khassawneh A. Lack of glycemic control in type two diabetes mellitus patients is associated with reduced serum epidermal growth factor level and increased insulin resistance. *Biomed Rep.* 2024 Oct 29; 22(1):5.
- Wang H, Shan C, Guo G, Ning D, Miao F. Therapeutic potential of palmitoleic acid in non-alcoholic fatty liver disease: Targeting ferroptosis and lipid metabolism disorders. *Int Immunopharmacol.* 2024 Dec 5; 142(Pt A):113025.
- Amra C. The T-Allele of TCF7L2 rs7903146 Associates with a Reduced Compensation of Insulin Secretion for Insulin Resistance Induced by 9 Days of Bed Rest. *DIABETES* 2010; 59: 836-43.
- Göransson O, McBride A, Hawley SA, Ross FA, Shpiro N, Foretz M, et al. Mechanism of action of A-769662, a valuable tool for activation of AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 2007; 282(45): 32549-60.
- Chen L, Jiao ZH, Zheng LS, Zhang YY, Xie ST, Wang ZX, et al. Structural insight into the autoinhibition mechanism of AMP-activated protein kinase. *Nature* 2009; 459(7250): 1146-9.
- Ross FA, Jensen TE, Hardie DG. Differential regulation by AMP and ADP of AMPK complexes containing different γ subunit isoforms. *Biochem J.* 2016; 473:189–199.
- Garcia D, Shaw RJ. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Mol Cell.* 2017; 66:789–800.
- Huang X, Liu G, Guo J, Su Z. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes. *Int J Biol Sci.* 2018 Aug 6; 14(11):1483-1496.
- James SR, Downes CP, Gigg R, Grove SJ, Holmes AB, Alessi DR. Specific binding of the Akt-1 protein kinase to phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate without subsequent activation. *Biochem J.* 1996 May 1; 315:709-13.
- Sussman MA, Völkers M, Fischer K, Bailey B, Cottage CT, Din S, et al. Myocardial AKT: the omnipresent nexus. *Physiol Rev.* 2011 Jul; 91(3):1023-70.
- Jiang ZY, Lin YW, Clemont A, Feener EP, Hein KD, Igarashi M, Yamauchi T, White MF, King GL. Characterization of selective resistance to insulin signaling in the vasculature of obese Zucker (fa/fa) rats. *J Clin Invest.* 1999; 104(4):447–57.
- De Nigris V, Pujadas G, La Sala L, Testa R, Genovese S, Ceriello A. Shortterm high glucose exposure impairs insulin signaling in endothelial cells. *Cardiovas Diabetol.* 2015; 14:114.
- Ji Hee Lee, Jae Eun Park, Ji Sook Han. Fucoidan Stimulates Glucose Uptake via the PI3K/AMPK Pathway and Increases Insulin Sensitivity in 3T3-L1 Adipocytes. *Journal of Life Science.* 2021; 31(1): 1-9.

14. Vieira RFL, Junqueira RL, Gaspar RC, Muñoz VR, Pauli JR. Exercise activates AMPK signaling: impact on glucose uptake in the skeletal muscle in aging. *J Rehab Therapy*. 2020; 2(2):48-53.
15. Tao R, Gong J, Luo X, Zang M, Guo W, Wen R, Luo Z. AMPK exerts dual regulatory effects on the PI3K pathway. *J Mol Signal*. 2010 Feb 18; 5(1):1. doi: 10.1186/1750-2187-5-1.
16. Kate L. Weeks and Julie R. McMullen. The Athlete's Heart vs. the Failing Heart: Can Signaling Explain the Two Distinct Outcomes? *Physiology*. 2011; 26(2):97-105.
17. Sriwijitkamol A, Coletta DK, Wajcberg E, Balbontin GB, Reyna SM, Barrientes J, et al. Effect of acute exercise on AMPK signaling in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes: a time-course and dose-response study. *Diabetes*. 2007; 56(3):836-48.
18. Cao S, Li B, Yi X, Chang B, Zhu B, Lian Z, et al. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. *PLoS One*. 2012; 7(12):e51709.
19. Eizadi M, Soory R, Ravasi A, Baesy K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 Relative Expression in Pancreas Tissue with Changes in Insulin by High Intensity Interval Training (HIIT) in Type 2 Diabetes Rats . *JSSU*. 2017; 24 (12):981-993.
20. Ghahramani M, Banaei Far, Arshadi, Sohaily. Effect of aerobic training on expression of PGC-1A&PEPCK genes in hepatocyte of streptozotocin induced diabetic mare rats. *Stud Med Sci*. 2019; 30 (10):791-802.
21. McAuley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, Duncan AW. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care*. 2001 Mar; 24(3):460-4.
22. Maltais ML, Perreault K, Courchesne-Loyer A, Lagacé JC, Barsaloni R, Dionne IJ. Effect of Resistance Training and Various Sources of Protein Supplementation on Body Fat Mass and Metabolic Profile in Sarcopenic Overweight Older Adult Men: A Pilot Study. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2016 Feb; 26(1):71-7.
23. Vancea DM, Vancea JN, Pires MI, Reis MA, Moura RB, Dib SA. Effect of frequency of physical exercise on glycemic control and body composition in type 2 diabetic patients. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 92(1):23-30.
24. Leggate M, Carter WG, Evans MJ, Vennard RA, Sribala-Sundaram S, MA. Determination *J Appl Physiol* (1985). 2012 Apr; 112(8):1353-60.
25. Glans F, Eriksson KF, Segerström A, Thorsson O, Wollmer P, Groop L. Evaluation of the effects of exercise on insulin sensitivity in Arabian and Swedish women with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009 Jul; 85(1):69-74.
26. Lopes WA, Leite N, da Silva LR, Brunelli DT, Gáspari AF, Radominski RB, et al. Effects of 12 weeks of combined training without caloric restriction on inflammatory markers in overweight girls. *J Sports Sci*. 2016 Oct; 34(20):1902-12.
27. Deshmukh A, Coffey VG, Zhong Z, Chibalin AV, Hawley JA, Zierath JR. Exercise-induced phosphorylation of the novel Akt substrates AS160 and filamin A in human skeletal muscle. *Diabetes*. 2006; 55(6): 1776–1782.
28. Wojtaszewski JFP, Hansen BF, Gade J. Insulin signaling and insulin sensitivity after exercise in human skeletal muscle. *Diabetes*. 2000; 49(3): 325–331.
29. Cusi K, Maezono A, Osman. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *The Journal of Clinical Investigation*. 2000; 105(3). 311–320.
30. Howlett KF, Sakamoto K, Yu H, Goodyear LJ, Hargreaves M. Insulin-stimulated insulin receptor substrate-2-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity is enhanced in human skeletal muscle after exercise, *Metabolism: Clinical and Experimental*. 2000; 55(8): 1046–1052.
31. Ma Z, Qi J, Meng S, Wen B, Zhang J. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Eur J Appl Physiol*. 2013 Oct; 113(10):2473-86.
32. Perrino C, Schroder JN, Lima B. Dynamic regulation of phosphoinositide 3-kinase-gamma activity and beta-adrenergic receptor trafficking in end-stage human heart failure. *Circulation*. 2007; 116(22):2571–2579.
33. Cao S, Li B, Yi X, Chang B, Zhu B, Lian Z, et al. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. *PLoS One*. 2012; 7(12):e51709.
34. Takekoshi K, Fukuhara M, Quin Z, Nissato S, Isobe K, Kawakami Y, et al. Long-term exercise stimulates adenosine monophosphate-activated protein kinase activity and subunit expression in rat visceral adipose tissue and liver. *Metabolism*. 2006; 55(8):1122-8.
35. Sriwijitkamol A, Coletta DK, Wajcberg E, Balbontin GB, Reyna SM, Barrientes J, et al. Effect of acute exercise on AMPK signaling in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes: a time-course and dose-response study. *Diabetes*. 2007; 56(3):836-48.
36. Zachwieja JJ, Toffolo G, Cobelli C, Bier DM, Yarasheski KE. Resistance exercise and growth hormone administration in older men: effects on insulin sensitivity and secretion during a stable-label intravenous glucose tolerance test. *Metabolism*. 1996 Feb; 45(2):254-60.

Original Article

The effect of aerobic training on insulin resistance and AMPK/PI3K axis in Soleus muscle of type 2 diabetic rats

Received: 09/10/2024 - Accepted: 21/12/2024

Hamid Eslami¹
Mojtaba Eizadi*²
Mania Roozbayani³

¹ PHD Candidate, Department of Exercise Physiology, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran

² Department of Exercise Physiology, Sav. C., Islamic Azad University, Saveh, Iran.

³ Department of Exercise Physiology, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran

Email:
izadimojtaba2006@yahoo.com

Abstract

Introduction: The role of genetic components in hypertrophy and glycemic profile especially in the presence of type 2 diabetes is well defined. This study aimed to determine the effect of aerobic training on AMPK/PI3K axis in Soleus muscle and insulin resistance in type 2 diabetic rats.

Methods: For this purpose, type 2 diabetic induced in fourteen male Wistar rats aged 10 week (220 ± 10 g) by intraperitoneal injection of nicotinamide and STZ and were randomly selected in exercise ($n = 7$) and control ($n = 7$) groups. The exercise rats participated in an aerobic training program (5 times weekly) in the form of running on the treadmill. 48 hours after the lasting exercise session, PI3K and AMPK expression in soleus muscle as well as fasting glucose were measured. Fasting glucose and insulin values were used to calculate insulin resistance. Data compared by independent t test between groups.

Results: Compared to control group, aerobic training resulted in significant increase in PI3K expression in soleus muscle ($P = 0.005$) and significant decrease in fasting glucose ($P = 0.001$) and insulin resistance ($P = 0.010$). AMPK expression did not change in response to aerobic training compare with control group ($P = 0.238$).

Conclusion: Based on these data, improved glucose and insulin resistance in response to aerobic training may be attributed to increased PI3K expression in soleus muscle. Understanding the mechanisms responsible for hypertrophy in response to exercise requires more studies in this area.

Keywords: Type 2 diabetes, Gene expression Aerobic training, Glycemic profile, Hypertrophy