علوم زیستی ورزشی – بهار ۱۴۰۰
دورهٔ ۱۳، شمارهٔ ۱، ص: ۲۳ – ۱۱
تاریخ دریافت : ۲۶ / ۱۱ / ۹۳
تاریخ پذیرش : ۱۸ / ۰۹ / ۹۴

تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید و استقامتی تداومی بر بیان ژن mir-1 و IGF 1 در کاردیومیوسیت رت‌های نر دیابتی

مریم دلفان[۱] – محمدرضا کردی*[۲] – علی اصغر رواسی[۳] – مجید صفا[۴] – انسیه نسلی اصفهانی[۵] – کاملیا رامبد[۶]

۱. استادیار فیزیولوژی ورزش، دانشکدهٔ علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران ۲. استاد فیزیولوژی ورزش، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران۳. استاد فیزیولوژی ورزش، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران۴.دانشیار مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی و گروه هماتولوژی، دانشکدهٔ پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران۵. دانشیار پژوهشی غدد درون ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکدهٔ علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶. پزشک، محقق مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکدهٔ علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

هدف از مطالعهٔ حاضر مقایسهٔ یک دوره تمرین تناوبی شدید با استقامتی تداومی بر بیان ژن mir-1 و IGF 1 در کاردیومیوسیت رت‌های دیابتی بود. ۲۱ سر رت نر نژاد ویستار، پس از القای دیابت به‌صورت تصادفی به سه گروه هفت‌تایی (کنترل، استقامتی تداومی و تناوبی شدید) تقسیم شدند، برنامهٔ تمرینی ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته بود، هر جلسهٔ تمرین استقامتی ۳۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۰ درصد VO2max و هر جلسهٔ گروه تناوبی چهار تناوب سه‌دقیقه‌ای با شدت ۹۰ درصد VO2max و یک دقیقه ریکاوری با شدت ۳۰ درصد VO2max بین هر تناوب بود. بیان ژن IGF-1 و mir-1 از بافت بطن چپ، به‌وسیلهٔ روش qRT PCR سنجیده شد. نتایج نشان داد هر دو نوع تمرین سبب کاهش معنادار بیان ژن mir-1 نسبت به گروه کنترل شده است ، اما این کاهش در گروه تناوبی شدید نسبت به گروه استقامتی بیشتر بود (P≥۰/۰۵)؛ همچنین بیان ژن IGF-1 در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری یافته بود که این افزایش در گروه تناوبی شدید نسبت به گروه استقامتی بیشتر بود (P≥۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید با سرکوب mir-1 می‌تواند مداخلهٔ مؤثری برای کاهش عوارض کاردیومیوپاتی دیابتی باشد.

واژه‌های کلیدی

تمرین ورزشی، کاردیومیوپاتی، IGF-1، microRNA-1.

---

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۲۱۶۱۱۱۸۸۷۰ Email:mkordi@ut.ac.ir

مقدمه

دیابت شیرین از رایج‌ترین اختلالات متابولیکی در دنیاست که به صدمه به ارگان‌های مختلف فرد مبتلا منجر می‌شود (۱). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که به‌علت سبک زندگی بدون تحرک و چاقی مرضی تعداد افراد مبتلا به دیابت به شکل نگران‌کننده‌ای در حال افزایش است (۲، ۱). از سوی دیگر افراد مبتلا به دیابت طول عمر کمتری دارند و به‌طور متوسط امید به زندگی در آنها ۱۰-۷ سال کمتر از عموم جامعه است (۳). ۵۰ درصد بیماران دیابتی به‌علت نارسایی قلبی بدون هیچ‌گونه نشانه‌ای از فشار خون بالا، بیماری عروق کرونر، نقص مادرزادی یا بیماری دریچه‌های قلبی می‌میرند، که کاردیومیوپاتی دیابتی نامیده می‌شود (۱). کاردیومیوپاتی دیابتی به‌عنوان نقص در عملکرد بطن چپ در بیماران مبتلا به دیابت بدون هرگونه علائم پرفشارخونی، احتقان قلبی و یا هرگونه بیماری قلبی دیگر تعریف شده است (۲، ۱). یکی از دلایل ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی، آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها به‌دلیل سمی بودن[1] گلوکز بالا [2] است (۵،۴).

به مدت چندین دهه آزمایش‌های زیادی در سطح مولکولی برای روشن‌تر ساختن سازوکارهای مولکولی درگیر در آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها در بیماران دیابتی انجام گرفته است؛ در سال‌های اخیر، پژوهشگران موفق به کشف و شناسایی بالقوهٔ microRNAs شدند که نه‌تنها ظهور کاردیومیوپاتی را مشخص می‌کند، بلکه می‌تواند در آینده نشانگری جدید برای شناسایی زودتر و احتمالاً جلوگیری از کاردیومیوپاتی دیابتی باشد (۶).

microRNAs زیرگروه بزرگی از RNAs غیرکدشوندهٔ کوچک‌اند که از نظر تکاملی محافظت‌شده‌اند و دارای طولی برابر ۲۵-۱۸ نوکلئوتید هستند؛ هر microRNA می‌تواند یک یا چند ژن را در سطوح ترجمه‌ای یا پس‌ترجمه‌ای از طریق اتصال به نواحی ترجمه‌نشدهٔ 3′ mRNA (UTRs)،[3] سرکوب کند و از این طریق فرایندهای متنوعی مثل تمایزپذیری،[4] تکثیر[5] و آپوپتوزیس سلولی و بیماری‌هایی مانند دیابت و کاردیومیوپاتی دیابتی را تنظیم کند (۶-۸).

1. toxicity
2. High Glucose
3. untranslated Reagan
4. Differentiated
5. proliferation

تاکنون بیش از ۱۵۰۰، microRNA در ژنوم انسان شناسایی شده است که بعضی از آنها در عموم بافت‌ها و بعضی به شکل اختصاصی در بافتی معین وجود دارد. miR-1 به‌صورت اختصاصی در سلول‌های عضلهٔ قلبی و عضلهٔ اسکلتی بیان می‌شود (۱۰، ۹)؛ نکتهٔ شایان توجه تفاوت در الگوی بیان این microRNA بین افراد سالم و بیماران دیابتی است، به‌گونه‌ای که در بیماران دیابتی، افزایش چشمگیری می‌یابد که احتمالاً به‌دلیل گلوکز بالا در این بیماران است. این الگوی بیان متفاوت می‌تواند سبب تغییرات ساختاری و عملکردی در قلب بیماران دیابتی شود (۱۵، ۱۲، ۱۱). پژوهشگران، IGF-1 را به‌عنوان یکی از اهداف miR-1 گزارش کردند؛ IGF-1 توسط ژن IGF-1 که بر روی کروموزوم ۱۲ انسان و کروموزوم ۱۰ موش قرار دارد، بیان می‌شود. این هورمون به‌واسطهٔ کبد و تحت کنترل هورمون رشد تولید می‌شود (۱۳، ۱۵)، مطالعات حاکی از نقش آنتی‌آپوپتوزیس IGF-1 در کاردیومیوسیت‌ها از طریق جلوگیری از رهایش سیتوکروم C، مهار کاسپازها و متعاقب آن جلوگیری از تجزیهٔ DNA است (۱۳، ۵). شواهد نشان می‌دهد،mir-1 با تنظیم کاهشی IGF-1 در سطح ترجمه، نقش عمده‌ای در آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها و در نهایت کاردیومیوپاتی ایفا می‌کند (۱۴، ۱۲، ۱۱).

از سوی دیگر با توجه به سرعت در حال رشد هزینه‌های مالی دیابت و عوارض بالینی آن به‌خصوص کاردیومیوپاتی، به‌نظر می‌رسد مداخلات غیردارویی در کنترل این بیماری گزینه‌ای ضروری و مهم است. با توجه به افزایش خطر بیماری‌های قلبی و به‌طور عمده کاردیومیوپاتی در افراد دیابتی، گلوکز بالای آنها باید به‌طور دقیق کنترل و معالجه شود؛ مطالعات نشان می‌دهد از آنجا که افزایش شیوهٔ زندگی کم‌تحرک از مهم‌ترین دلایل افزایش مرگ‌ومیر در بیماران دیابتی است (۱۵). تغییر در شیوهٔ زندگی می‌تواند سبب کاهش معنادار در سطح گلوکز خون بیماران دیابتی شود (۱۶، ۱۵). امروزه نقش ورزش در افزایش کارایی قلبی بر کسی پوشیده نیست، پژوهش‌ها نشان می‌دهد تمرین ورزشی منظم روزانه برای کاهش خطر بیماری‌های قلبی لازم و ضروری است (۱۷). اعتقاد بر این است، تمرین ورزشی منظم، مداخلهٔ غیردارویی کارامدی برای کنترل و درمان دیابت و عوارض بالینی آن است. ورزش منظم سبب کاهش گلوکز خون، بهبود مقاومت به انسولین و بهبود عملکردی و ساختاری قلب بیماران دیابتی می‌شود (۱۸) و در نتیجه بهکاهش مرگ‌ومیر ناشی از بیماری قلبی در افراد دیابتی می‌انجامد (۲۱- ۱،۱۹).

پژوهش‌هایی که به بررسی تأثیر ورزش بر قلب رت‌های دیابتی پرداخته‌اند، نیز به تغییرات سودمند مثل بهبود عملکرد میتوکندریایی، و اکسیداسیون گلوکز اشاره کرده‌اند (۱۶). نکتهٔ قابل تأمل دربارهٔ تمرین ورزشی، حجم و شدت آن است. انجمن‌های پزشکی و انجمن‌های ورزشی، توصیه کرده‌اند تمرین ورزشی

بهینه برای بیماران دیابتی، ۳۰ دقیقه تمرین هوازی با شدت متوسط است (۲۲، ۳). با وجود فواید برشمرده برای این نوع تمرین (شیوهٔ سنتی تمرین)، به‌نظر می‌رسد از دو نظر این مدل تمرین مطلوب نیست:

۱.با توجه به زندگی ماشینی و کمبود وقت، این مدل تمرینی به‌سبب زمان زیادی که به خود اختصاص می‌دهد، با استقبال کمتری روبه‌رو می‌شود؛

۲.به‌علت یکنواختی، این مدل تمرینی، ملال‌آور است و بیمار انگیزه‌ای برای انجام آن ندارد.

در مقابل این نوع تمرین، تمرینات تناوبی شدید[1](HIT) قرار دارد، برنامهٔ HIT به تمریناتی با وهله‌های تکراری شدید نزدیک به حداکثر اکسیژن مصرفی یا بیشتر از آن اطلاق می‌شود که به نسبت کوتاه و با وهله‌های استراحت بین تکرارها همراه است (۹، ۸، ۶).

با وجود زمان کوتاهی که این مدل تمرینی به خود اختصاص می‌دهد، پژوهش‌ها نشان می‌دهد اجرای HIT نسبت به شیوهٔ سنتی تمرین (شدت پایین تا متوسط و با حجم بالا)، به‌سبب شدت بسیار بالا در وهله‌های کوتاه تکراری، در نوسازی قلبی، کنترل گلوکز خون و بسیاری از عوارض بالینی دیگر بیماری دیابت و همچنین بهبود عوامل خطر بیماران قلبی، مؤثرتر بوده است (۹،۶).

لیتل[2]و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند، یک وهله تمرین HIT سبب کاهش گلوکز بالا در بیماران دیابتی می‌شود (۲۱). در پژوهشی دیگر اسنولینگ[3]و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند، اجرای HIT، پاسخ گلوکز بعد از صرف غذا و همچنین گلوکز بالا را در بیماران دیابتی کاهش می‌دهد (۲۲). در مجموع شواهد نشان می‌دهند که تمرین ورزشی با شدت بالا احتمالاً در کنترل گلوکز خون در افراد دیابتی بهتر و مؤثرتر باشد (۲۲، ۲۱).

با توجه به نقش ورزش در کنترل گلوکز بالا، و عدم بررسی آن در سازوکارهای ریز مولکولی مؤثر بر آپوپتوزیس قلبی بیماران دیابتی، این سؤال مطرح است که آیا تمرینات ورزشی می‌تواند با هدف قرار دادن miR-1 و سرکوب آن و به‌دنبال آن مهار سرکوب IGF-1 ، مداخله‌ای مؤثر برای بهبود کاردیومیوپاتی دیابتی باشد؟ سؤال دوم اینکه آیا اجرای HIT می‌تواند تأثیراتی مشابه تمرینات استقامتی داشته باشد؟

1. High Intensity Interval Training
2. Little
3. Snowling

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی – کاربردی است که بر روی ۲۵ سر رت نر نژاد ویستار (تهیه‌شده از مؤسسهٔ تحقیقات پاستور) با میانگین وزن ۱۰±۲۶۰ انجام گرفت؛ حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۳-۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد؛ رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲) نگهداری شدند و همگی به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. تمامی اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. القای دیابت، به‌واسطهٔ تزریق ۵۰ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین (STZ) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و محلول در بافر سیترات (PH: 4.5) به‌صورت تک‌دوز و داخل‌صفاقی انجام گرفت. برای تأیید ایجاد دیابت، ۳ روز پس از تزریق STZ میزان قند خون ناشتا به‌وسیلهٔ گلوکومتر صفر-یک (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری و سطح گلوکز ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. رت‌های دیابتی هیچ‌گونه درمان با انسولین در طول دورهٔ پژوهش نداشتند. یک هفته پس از القای دیابت، رت‌ها به‌صورت تصادفی به سه گروه هفت‌تایی: کنترل (C)، استقامتی تداومی (CT)، تناوبی شدید (HIT) تقسیم شدند. در طول این یک هفته رت‌ها با دویدن روی نوار گردان نیز آشنا شدند (ابتدا پایلوت پروتکل‌ها روی چهار سر رت انجام گرفت). گروه C در هیچ‌گونه برنامهٔ فعالیت ورزشی شرکت داده نشدند، ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط روی نوار گردان بی‌حرکت قرار داده شدند؛ گروه CT به مدت ۵ هفته پروتکل تمرین استقامتی تداومی را انجام دادند، هر جلسه برنامهٔ تمرین استقامتی تداومی ۴۰ دقیقه دویدن روی نوار گردان و شامل ۵ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا۳۰ درصد VO2max، ۳۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۵- ۶۰ درصد VO2max، ۵دقیقه سرد کردن با شدت ۴۰ تا ۳۰ درصد VO2ma بود. برای گروه HIT نیز در همین مدت برنامهٔ HIT اجرا شد. هر جلسهٔ تمرین ۲۵ دقیقه دویدن روی نوار گردان شامل ۵ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰-۳۰ درصد VO2max، چهار تناوب (سه‌دقیقه‌ای با شدت ۹۰ تا ۸۵ درصد VO2max و یک دقیقه ریکاوری با شدت ۳۰ تا ۳۵ درصد VO2max بین هر تناوب)، ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۴۰-۳۰ درصد VO2max بود.

پروتکل به‌صورت ۵ روز در هفته به مدت ۵ هفته انجام گرفت. روز ششم هر هفته، حداکثر اکسیژن مصرفی (Vo2max) براساس پروتکل لندرو[1] (۲۰۰۷) و همکاران اندازه‌گیری شد (۲۳)، روز هفتم هر هفته

1. Leandro CG

برای استراحت در نظر گرفته شد. شایان ذکر است که در طول دورهٔ پژوهش از شوک الکتریکی استفاده نشد و فقط با لمس دم رت‌ها، دویدن آنها هدایت شد.

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسهٔ تمرینی، رت‌ها به‌وسیلهٔ تزریق درون‌صفاقی کتامین [90 mg/kg] و زایلازین [10 mg/kg] بی‌هوش شدند، نمونهٔ خونی، مستقیم از قلب رت‌ها جمع‌آوری و جداسازی پلاسما با سانتریفیوژ کردن در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. همچنین بافت بطن چپ بلافاصله استخراج و پس از وزن شدن در نیتروژن مایع منجمد شد، تا زمان تجزیه‌وتحلیل، پلاسما و بافت استخراج‌شده در فریزر ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج RNA و microRNA و سنتز cDNA

استخراج RNA و microRNA به‌وسیلهٔ کیت(50) miRNeasy Mini Kit ساخت شرکت Qiagen (آلمان) و طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمامی نمونه‌های استخراج‌شده بین ۱/۸ تا ۲ بود، سپس برای بررسی کیفیت RNA استخراج‌شده از روش الکتروفورز و ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. قبل از سنتز cDNA برای اطمینان از نبود DNA در نمونهٔ استخراج‌شده، DNAs treatment انجام گرفت.

برای سنتز cDNA ژن IGF-1 از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit تهیه‌شده از شرکت roche (آلمان) و سنتز cDNA برای mir-1 از کیت miScript II RT Kit تهیه‌شده از شرکت Qiagen (آلمان) و طبق دستورالعمل کیت‌های مذکور استفاده شد.

Real time – PCR

PCR با استفاده از دستگاه real time (Rotrogene 6000, Corbet) انجام گرفت. برنامهٔ real time برای بررسی میزان بیان IGF-1 گروه‌های ورزشی نسبت به گروه کنترل براساس SYBER – Green از شرکت ampliqon (دانمارک) و شامل یک چرخه با ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به‌دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه انجام گرفت. برنامهٔ real time برای mir.1 براساس miScript SYBR Green PCR Kit از شرکت Qiagen (آلمان) و شامل یک چرخه با ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به‌دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت۳۰ ثانیه انجام گرفت. تغییرات بیان در هریک از گروه‌های ورزشی نسبت به گروه کنترل برای ژن IGF-1 (نیکازیست ژن) با ژن

خانه‌داری GAPDH (نیکازیست ژن) و برای mir-1 با ژن خانه‌داری Snord 61 (Qiagen)، با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد.

گلوکز پلاسما به روش رنگ‌سنجی آنزیمی و براساس روش گلوکز اکسیداز و به‌وسیلهٔ کیت ویژهٔ آن (پارس آزمون) با ضریب تغییر ۰/۰۵ و حساسیت ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر اندازه‌گیری شد.

روش آماری

تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد توصیف شده‌اند. به‌منظور تعیین طبیعی بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف. اسمیرنوف استفاده شد. همچنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven سنجیده شد. به‌منظور تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها در ۳ گروه از آزمون آماری One Way ANOVA و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۱۹ در سطح معناداری P≤ ۰/۰۵ و نرم‌افزار Excel 2007 انجام گرفت.

یافته‌های پژوهش

در جدول ۱ مقادیر مربوط به وزن و گلوکز پلاسمای رت‌ها در پایان پژوهش، به تفکیک گروه‌ها نشان داده شده است.

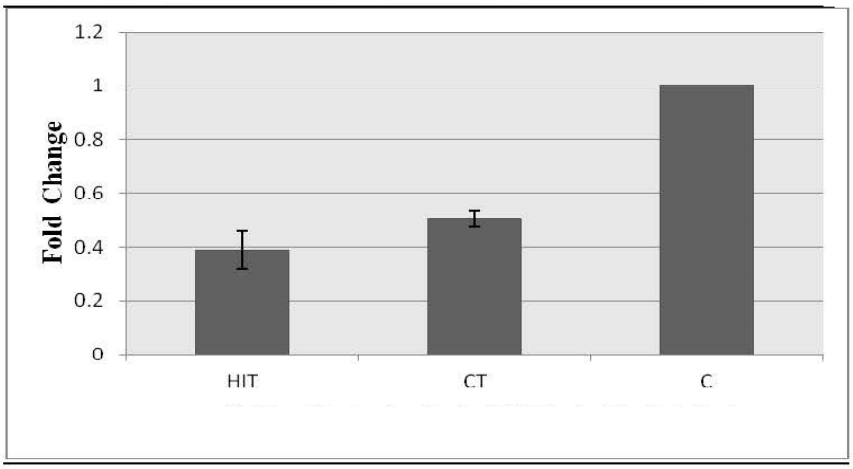
جدول ۱. مقادیر وزن و گلوکز پلاسما (میانگین ± انحراف استاندارد)

متغیر	HIT	CT	C
وزن (گرم)	۲۶۹/۴ ±۱۴/۴ *¥	۲۵۰/۱±۱۳/۱	۲۴۰/۹±۱۷/۸
گلوکز (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	۵۰۲/۸ ±۱۰/۲*¥	۵۱۸/۴ ±۱۳/۴*	۵۷۷/۶ ±۱۱/۵

* نشانهٔ معناداری نسبت به C، ¥ نشانهٔ معناداری نسبت به CT

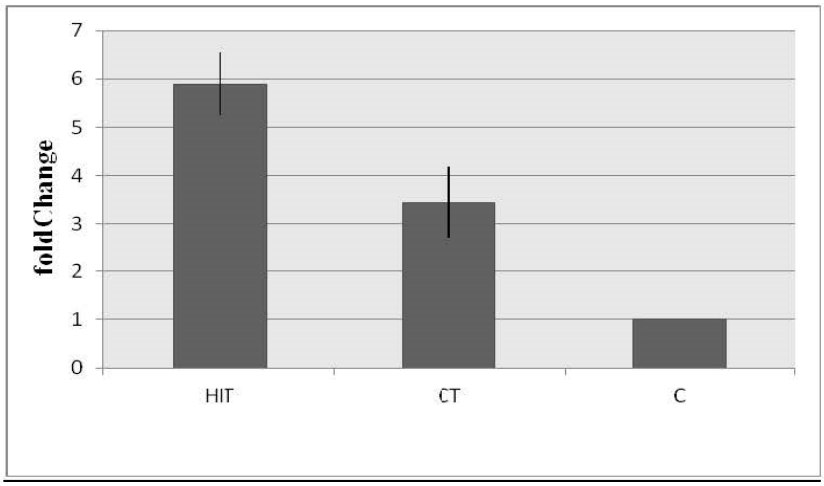
پژوهش حاضر نشان داد که وزن رت‌ها در گروه HIT، پس از ۵ هفته تمرین به‌صورت معناداری نسبت به گروه C افزایش یافت (P <۰/۰۵)، اما بین وزن رت‌های گروه CT و C تفاوت معناداری وجود نداشت (P >۰/۰۵)، همچنین گلوکز پلاسما در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه C کاهش معناداری یافت (P<۰/۰۵) هرچند این کاهش به‌صورت معناداری در گروه HIT نسبت به گروه CT بیشتر بود (P <۰/۰۵).

میزان بیان mir-1 در نمودار ۱ نشان داده شده است. بیان mir-1 در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه C کاهش معناداری یافته است (P <۰/۰۵). همچنین این کاهش در گروه HIT نسبت به گروه CT به میزان بیشتری رخ داده است.



نمودار ۱. تغییرات بیان ژن MIR-1 (برابر تغییر نسبت به گروه کنترل)

میزان بیان ژن IGF-1 در هر دو گروه تمرینی به‌صورت معناداری نسبت به گروه C افزایش یافته، اما میزان افزایش به‌صورت معناداری در گروه HIT نسبت به گروه CT بیشتر بوده است (نمودار ۲) (P≤۰/۰۵).



نمودار ۲. تغییرات بیان IGF-1 (برابر تغییر نسبت به گروه کنترل)

بحث و نتیجه‌گیری

با وجود انجام پژوهش‌های متعدد در زمینهٔ MicroRNAs و ژن‌های هدف آنها در پاتوزنز کاردیومیوپاتی دیابتی، متأسفانه در زمینهٔ تأثیر ورزش بر بیان MicroRNAs درگیر در این بیماری، پژوهشی منتشر نشده است.

پژوهش حاضر، به‌عنوان اولین پژوهش در این زمینه، به بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید و هوازی تداومی بر بیان ژن miR-1 و عوامل وابسته در کاردیومیوسیت رت‌های دیابتی پرداخت. در مدت ۵ هفته اجرای HIT، سرعت دویدن رت‌ها از ۱۲ متر بر دقیقه به ۲۴ متر بر دقیقه رسید. در همین مدت سرعت دویدن رت‌های گروه CT از ۹ متر بر دقیقه به ۱۸ متر بر دقیقه رسید.

براساس یافته‌های پژوهش هر دو مدل تمرینی سبب کاهش معناداری در میزان گلوکز پلاسما شد، به‌گونه‌ای که این میزان از ۵۷۷/۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، در گروه C به ۵۰۲/۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در گروه HIT و به ۵۱۸/۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در گروه CT رسید . انتقال گلوکز به عضلهٔ اسکلتی از طریق پروتئین‌های ناقل گلوکز[1] انجام می‌گیرد و ناقل گلوکز[2] ۴ (GLUT-4) مهم‌ترین ایزوفرم در عضلهٔ اسکلتی است که فعالیت آن تحت تأثیر انسولین و انقباض عضلهٔ اسکلتی است (۲۵، ۲۴). انسولین جابه‌جایی GLUT-4 از عمق به سطح سلول را از طریق آبشارهای سیگنالی پیچیده‌ای فعال می‌کند (مسیر وابسته به انسولین). درحالی‌که انقباض عضلانی از طریق فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال‌شده با AMP (AMPK[3]) سبب جابه‌جایی GLUT-4 از عمق سلول عضلانی به سطح غشای سلول می‌شود (مسیر مستقل از انسولین)؛ به همین دلیل انقباض عضلانی دارای نقش شبه‌انسولینی است (۲۴). در بیماران دیابتی جابه‌جایی از عمق به سطح (وابسته به انسولین) یا به دلیل فقدان ترشح انسولین (دیابت نوع ۱) یا به‌دلیل مقاومت به انسولین (دیابت نوع ۲) مختل می‌شود، در نتیجه تمرین ورزشی به‌سبب تحریک مسیر مستقل از انسولین سبب افزایش GLUT-4 در سطح غشا و بهبود جذب گلوکز توسط عضلات و در نتیجه کاهش میزان گلوکز خون می‌شود (۲۵، ۲۴). به‌نظر می‌رسد در اثر همین سازگاری با تمرینات ورزشی سطح گلوکز خون در دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل، به‌صورت معناداری کاهش یافت. کاهش بیشتری که در گروه HIT مشاهده شده است، همسو با نتایج لیتل[4] و همکاران (۲۰۱۱) است که نشان دادند اجرای

1 . Clucose Transporter Proteins
2 . Glucose Transporter 4
3 . AMP-activated Protein Kinase
4. Little

HIT سبب کاهش هایپرگلیسمی در بیماران دیابتی می‌شود (۲۱). همچنین اسنولینگ[1] و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند، اجرای HIT، پاسخ گلوکز بعد از صرف غذا و همچنین هایپرگلیسمی را در بیماران دیابتی کاهش می‌دهد (۲۲)؛ همچنین تمرین ورزشی با شدت بالا احتمالاً به‌دلیل شدت بیشتر، سبب فعال شدن بیشتر AMPK در عضلات گروه HIT می‌شود که این مسئله سبب کاهش معنادار میزان گلوکز خون این گروه نسبت به گروه CT شده است، در نتیجه احتمالاً تمرین HIT در کنترل گلوکز خون در افراد دیابتی بهتر و مؤثرتر است (۲۷،۲۷)، که نتایج پژوهش حاضر نیز مؤکد همین موضوع است.

این کاهش در مقدار گلوکز پلاسما احتمالاً سبب تغییر در الگوی بیان ژن miR-1 در این دو گروه تمرینی شد، به‌گونه‌ای که میزان بیان آن در گروه HIT نسبت به گروه کنترل ۶۹ درصد و در گروه CT نسبت به گروه کنترل ۵۰ درصد کاهش یافت، در همین زمینه یو[2] و همکاران (۲۰۰۸) نیز با قرار دادن سلول‌های C2C12 کشت‌داده‌شدهٔ کاردیومیوسیت رت‌ها در معرض ۲۵ میلی‌مول گلوکز، نشان دادند ۲۴ ساعت پس از قرارگیری سلول‌ها در معرض گلوکز بالا، بیان ژن miR-1 افزایش چشمگیری یافت (۵)، پژوهش‌های دیگر نیز مؤید همین موضوع هستند (۲۹، ۲۸).

کاهش بیان ژن miR-1 نیز احتمالاً سبب کمتر شدن سرکوب اهداف پایین‌دست آن شده است، به‌گونه‌ای که نسبت به گروه کنترل، در گروه HIT میزان بیان ژن IGF-1، ۵/۸۹ برابر و در گروه CT، ۳/۴۴ برابر افزایش یافت، که همسو با سایر پژوهش‌هاست. الیا[3] و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند، بیش بیان ژنی miR-1، سبب کاهش IGF-1 می‌شود (۱۱). همچنین یو و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که افزایش سطوح miR-1 سبب کاهش بیان ژن IGF-1 می‌شود. آنها نتیجه گرفتند که IGF-1 از اهداف ژنی miR-1 است (۵).

در مجموع پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تمرین HIT با وجود اختصاص زمان کمتر نسبت به تمرینات استقامتی (در پژوهش حاضر ۱۵ دقیقه نسبت به ۳۰ دقیقه)، احتمالاً به‌سبب شدت بالاتر ممکن است مداخلهٔ مؤثرتری برای کاهش عوارض کاردیومیوپاتی در مبتلایان به دیابت باشد.

تشکر و قدردانی

1. Snowling
2. Yu
3. Elia

این مقاله حاصل بخشی از رسالۀ دکتری نویسندۀ اول است که با کد اخلاق EC- 00312 در مرکز تحقیقات دیابت پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تصویب و حمایت مالی قرار گرفته است، که بدین‌وسیله از مرکز مذکور تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع و مآخذ

1.Murarka S, Movahed MR. Diabetic cardiomyopathy. Journal of cardiac failure. 2010;16(12):971-9.

2. Bugger H, Abel ED. Molecular mechanisms for myocardial mitochondrial dysfunction in the metabolic syndrome. Clinical science (London, England : 1979). 2008. 114(3); 195-210.

3. Skyler JS. Diabetic complications: the importance of glucose control. Endocrinology and Metabolism Clinics. 1996;25(2):243-54.

4. Yu T, Sheu SS, Robotham JL, Yoon Y. Mitochondrial fission mediates high glucose-induced cell death through elevated production of reactive oxygen species. Cardiovascular research. 2008;79(2):341-51.

5. Yu X-Y, Song Y-H, Geng Y-J, Lin Q-X, Shan Z-X, Lin S-G, et al. Glucose induces apoptosis of cardiomyocytes via microRNA-1 and IGF-1. Biochemical and biophysical research communications. 2008;376(3):548-52.

6.Tang X, Tang G, Özcan S. Role of microRNAs in diabetes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Gene Regulatory Mechanisms. 2008;1779(11):697-701.

7. Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature.2004. (7006)5;350-431.

8. van Rooij E, Olson EN. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. The Journal of clinical investigation. 2007;117(9):2369-76.

9.Townley-Tilson WH, Callis TE, Wang D. MicroRNAs 1, 133, and 206: critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease. The international journal of biochemistry & cell biology. 2010;42(8):1252-5.

10. Rao PK, Kumar RM, Farkhondeh M, Baskerville S, Lodish HF. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2006;103(23):8721-6.

11. Elia L, Contu R, Quintavalle M, Varrone F, Chimenti C, Russo MA, et al. Reciprocal regulation of microRNA-1 and insulin-like growth factor-1 signal transduction cascade in cardiac and skeletal muscle in physiological and pathological conditions. Circulation. 2009;120(23):2377-85.

12. Xu C, Lu Y, Pan Z, Chu W, Luo X, Lin H, et al. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes. Journal of cell science. 2007;120(Pt 17):3045-52.

13. Li Y, Wu H, Khardori R, Song YH, Lu YW, Geng YJ. Insulin-like growth factor-1 receptor activation prevents high glucose-induced mitochondrial dysfunction, cytochrome-c release and apoptosis. Biochem Biophys Res Commun. 2009;384(2):259-64.
14. Yu XY, Geng YJ, Liang JL, Lin QX, Lin SG, Zhang S, et al. High levels of glucose induce apoptosis in cardiomyocyte via epigenetic regulation of the insulin-like growth factor receptor. Experimental cell research. 2010;316(17):2903-9.
15. Wei M, Gibbons LW, Kampert JB, Nichaman MZ, Blair SN. Low cardiorespiratory fitness and physical inactivity as predictors of mortality in men with type 2 diabetes. Annals of internal medicine. 2000;132(8):605-11.
16. Zanuso S, Jimenez A, Pugliese G, Corigliano G, Balducci S. Exercise for the management of type 2 diabetes: a review of the evidence. Acta diabetologica. 2010;47(1):15-22.
17. Gielen S, Schuler G, Adams V. Cardiovascular effects of exercise training: molecular mechanisms. Circulation. 2010;122(12):1221-38.
18. Harding AH, Williams DEM, Hennings SHJ, Mitchell J, Wareham NJ. Is the association between dietary fat intake and insulin resistance modified by physical activity? Metabolism. 2001;50(10):1186-92.
19. Paulson DJ, Kopp SJ, Peace DG, Tow JP. Improved postischemic recovery of cardiac pump function in exercised trained diabetic rats. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985). 1988;65(1):187-93.
20. Reed JC. Cytochrome c: can't live with it--can't live without it. Cell. 1997;91(5):559-62.
21. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology. 2011;300(6):R1303-10.
22. Snowling NJ, Hopkins WG. Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients: a meta-analysis. Diabetes care. 2006;29(11):2518-27.
23. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. Journal of strength and conditioning research. 2007;21(3):751-6.
24. Laurie J. Goodyear P, Barbara B. Kahn M. Exercise, Glucose Transport, and Insulin Sensitivity. Annual Review of Medicine. 1998;49(1):235-61.
25. Frøsig C, Richter EA. Improved Insulin Sensitivity After Exercise: Focus on Insulin Signaling. Obesity. 2009;17(S3):S15-S20.
26. Boulé NG, Kenny GP, Haddad E, Wells GA, Sigal RJ. Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in Type 2 diabetes mellitus. Diabetologia. 2003;46(8):1071-81.
27. Zanesco A, Antunes E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: pharmacological approaches. Pharmacology & therapeutics. 2007;114(3):307-17.

28. Shan ZX, Lin QX, Deng CY, Zhu JN, Mai LP, Liu JL, et al. miR-1/miR-206 regulate Hsp60 expression contributing to glucose-mediated apoptosis in cardiomyocytes. FEBS letters. 2010;584(16):3592-600.
29. Yang B, Lin H, Xiao J, Lu Y, Luo X, Li B, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. Nature medicine. 2007;13(4):486-91.

The Effect of High Intensity Interval Training and Continuous Endurance Training on Gene Expression of mir-1 and IGF-1 in Cardiomyocyte of Diabetic Male Rats

Maryam Delfan[1]- Mohammad Reza Kordi[*2]- Ali Asghar Ravasi[3]- Majid Safa[4]- Ensie Nasli Esfahani[5]- Kamelia Rambod[6]

1.Assistant Professor of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran 2,3.Professor of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 4. Associate Professor of Cellular and Molecular Research Center, Department of Hematology, Faculty of Allied Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran 5. Research Associate Professor of Endocrinology and Metabolism, Diabetes Research Center, Endocrinology and Metabolism Research Center, University of Medical Sciences, Tehran, Iran 6. Researcher of Endocrinology and Metabolism, Endocrinology and Metabolism Research Center, University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2015/02/15; Accepted: 2015/12/09)

Abstract

This study aimed to compare high intensity interval training and continuous endurance training on the gene expression of mir-1 and IGF-1 in cardiomyocytes of diabetic rats. After induction of diabetes, 21 male Wistar rats were randomly divided into three groups (each group 7 subjects): control, continuous endurance training, high intensity interval training). The training program included 5 days a week for 8 weeks. Each endurance session consisted of 30 minutes of running with the intensity of 60% VO2max. Each interval session consisted of 4 intervals, each interval 3 minutes, with the intensity of 90% VO2max and 1 minute of recovery with the intensity of 30% VO2max between each two intervals. Gene expression of IGF-1 and mir-1 of left ventricle tissue was assessed by qRT PCR. The results showed that both types of training significantly reduced the gene expression of mir-1 compared to the control group, but this decline was severer in the high intensity interval group than the endurance group ($P \geq 0.05$). Also, the gene expression of IGF-1 significantly increased in both training groups compared to the control group but this increase was severer in high intensity interval group than the endurance group ($P \geq 0.05$). It seems that high intensity interval training can be an effective intervention to reduce the complications of diabetic cardiomyopathy by repression of mir-1.

Keywords

Cardiomyopathy, IGF-1, microRNA-1, training.

[*] Corresponding Author: Email: mkordi@ut.ac.ir ; Tel: +9861118870