

تأثیر پنج هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن‌های miR-23a و Atrogin-1 عضله‌ی دوقلوی موش‌های صحرایی نر دیابتی

شیوا خرم شاهی^۱، دکتر محمدرضا کردی^۱، دکتر مریم دلفان^۲، دکتر عباسعلی گائینی^۱، دکتر مجید صفا^۲

۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، ۲) گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران؛ ۳) مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی و گروه هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسؤل: تهران، امیر آباد شمالی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، ساختمان ظفر، دکتر محمد رضا کردی؛ e-mail: mrkordi@ut.ac.ir

چکیده

مقدمه: یکی از عوارض ناشی از دیابت، آتروفی عضلانی است، با توجه به نقش ورزش در کنترل عوارض بیماری دیابت، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر پنج هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر بیان ژن‌های miR-23a و Atrogin-1 عضله‌ی دوقلوی موش‌های صحرایی نر دیابتی بود. مواد و روش‌ها: ۱۴ سر موش صحرایی نژاد ویستار با میانگین وزن 10 ± 260 گرم، پس از القای دیابت (تزریق ۵۰ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن) به شکل تصادفی به دو گروه شاهد (۷ سر) و تجربی (۷ سر) تقسیم شدند. برنامه‌ی گروه تجربی، اجرای HIIT شامل چهار تناوب سه دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و یک دقیقه ریکاوری با شدت ۳۰ تا ۳۵ درصد VO_{2max} بین هر دوره‌ی تناوب بود. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، حیوانات قربانی و بافت عضله‌ی دوقلو جدا شد و بیان miR-23a و Atrogin-1 با روش qreal timePCR مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها: اجرای HIIT، بیان miR-23a و Atrogin-1 را در عضله‌ی دوقلو به ترتیب افزایش معنی‌دار و کاهش معنی‌داری داد ($p \leq 0.05$). همچنین گلوکز پلاسما در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ($p \leq 0.05$). نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین تناوبی با شدت بالا به دلیل بهبود هایپرگلیسمی، می‌تواند با تغییر بیان miR-23a و Atrogin-1 عامل موثری برای کاهش عوارض دیابت، از جمله آتروفی عضلانی، باشد.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرین تناوبی با شدت بالا، عضله‌ی دوقلو، آتروفی عضلانی، Atrogin-1، miR-23a

دریافت مقاله: ۹۵/۲/۱۸ - دریافت اصلاحیه: ۹۵/۵/۱۹ - پذیرش مقاله: ۹۵/۷/۲۸

مقدمه

بیماری دیابت شایع‌ترین بیماری ناشی از اختلالات متابولیسمی و به تعبیری شایع‌ترین بیماری آندوکراین است.^۱ آتروفی عضلانی یکی از شاخص‌های دیابت است، به طوری که از بین رفتن عضله‌ی اسکلتی همراه با افزایش تجزیه‌ی پروتئین در مدل‌های آزمایشگاهی دیابت، و همچنین در بیماران دیابتی، مشاهده شده است.^۲ یکی از دلایل وقوع آتروفی عضلانی در بیماران دیابتی، پایین بودن سطح هورمون شبه انسولین^۱ IGF-1 و ایجاد شرایط هایپرگلیسمی است و باعث عدم تعادل در چرخه‌ی ساخت و

تجزیه‌ی پروتئین می‌شود. نتایج پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد، مهار عوامل آتروفی عضلانی به سطح قند خون، میزان انسولین و IGF-1 بستگی دارد. نقش مهم IGF-1 در دیابت زمانی روشن می‌شود که به رابطه‌ی آن با تنظیم ساخت و تجزیه‌ی پروتئین و همچنین جلوگیری از آتروفی عضلانی پی برده شود.^{۳-۵} تا چند سال پیش تصور بر این بود که تمام تنظیمات بدن و سلول‌ها توسط پروتئین‌ها کنترل می‌شوند، اما در چند دهه‌ی اخیر پژوهش‌های مختلفی به بررسی نقش MicroRNAs در ایجاد بیماری‌های مختلف، نظیر چاقی و دیابت، پرداخته‌اند. MicroRNA ها در فرایندهای مختلفی مانند تکوین جنینی، تمایز و سیکل سلولی، پیری، تکوین قلب، متابولیسم چربی‌ها، هموستاز سلولی و

i- Insulin-like growth factor-1

تقریباً در تمام فرایندهای سلولی نقش دارند.^{۶-۹} *miR-23a* یکی از MicroRNA های مهم در بدن انسان است که نقش کلیدی در حفظ سلامت عضلات اسکلتی دارد.^{۱۰} مشخص شده است افزایش *miR-23a* در موش‌ها سبب هایپرتروفی عضلانی نشده، اما از آتروفی عضلانی جلوگیری می‌کند.^۲ *miR-23a* در بافت‌هایی همچون چربی، عضله قلب و اسکلتی بیان می‌شود و نقش‌های متنوع فیزیولوژیک از جمله خواص ضد آتروفی عضلانی^{۱۱} از طریق سرکوب هدف‌های ژنی عوامل آتروفی، از جمله *Atrogin-1* و FOXO^۱ را داراست.^{۱۲} در مطالعه‌های اخیر مشخص شده است تنظیم بیان *Atrogin-1* از طریق اتصال MicroRNAs رخ می‌دهد^{۱۳} و *miR-23a* می‌تواند با اتصال به رونوشت *Atrogin-1* از ترجمه‌ی آن جلوگیری نماید.^۲ طبق پژوهش یانگ و همکارانش^{۱۱} به نظر می‌رسد الگوی بیان *miR-23a* در بیماران دیابتی تغییر می‌کند و میزان بیان آن کاهش می‌یابد.^{۱۴}

مطالعات نشان داده است که تغییر در شیوه‌ی زندگی می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار در سطح گلوکز خون بیماران دیابتی شود.^{۱۵،۱۶} به نظر می‌رسد، تمرینات ورزشی منظم، مداخله‌ی غیر دارویی کارآمدی برای کنترل و درمان دیابت و بهبود حساسیت انسولینی آن است.^{۱۷،۱۸} نکته مهم، حجم و شدت تمرین‌ها است. توصیه شده است، تمرین بهینه برای بیماران دیابتی، ۳۰ دقیقه تمرین هوازی با شدت متوسط است.^{۱۸،۱۹} به نظر می‌رسد این شیوه‌ی سنتی تمرین ضعف‌هایی دارد. با توسعه‌ی زندگی ماشینی و کمبود وقت، این مدل تمرینی با استقبال کمتری روبرو می‌شود، همچنین به علت یکنواختی و ایجاد خستگی مرکزی بیمار را نسبت به انجام آن بی‌رقبت و بی‌انگیزه می‌کند. در مقابل آن تمرین‌های تناوبی شدید^{۱۱} (HIIT) قرار دارد که شامل تناوب‌هایی از فعالیت بدنی با شدت نزدیک به حداکثر اکسیژن مصرفی و تناوب‌های استراحتی فعال با شدت بسیار پایین است.^{۲۰-۲۳} پژوهش‌های اندک نشان داده‌اند، اجرای HIIT با توجه به تنوع، هزینه‌ی زمانی کم، آثار متابولیکی مشابه با فعالیت‌های هوازی، بر نوسازی قلبی، کنترل گلوکز خون و بسیاری از عوارض بالینی بیماری دیابت دارا می‌باشد.^{۲۱،۲۲}

لینتل^{۱۷} (۲۰۱۱) و اسنولینگ و همکارانشان^{۱۸} گزارش کردند، اجرای HIIT باعث کاهش هایپرگلیسمی در بیماران دیابتی می‌شود.^{۲۴،۲۵} زاپارویکس و همکارانش^{۱۹} نشان دادند، تمرین ورزشی با شدت بالا، احتمالاً در کنترل گلوکز خون در بیماران دیابتی بهتر و موثرتر است.^{۲۶}

با توجه به نقش ورزش در کنترل هایپرگلیسمی و تاثیر آن بر آتروفی عضلانی، و عدم بررسی آن در سازوکارهای ریز مولکولی موثر بر اختلالات عضلانی بیماران دیابتی، در این پژوهش تجربی برای نخستین بار، تغییرات سطح بیان *miR-23a* و *Atrogin-1* در پاسخ به پنج هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در موش‌های صحرایی دیابتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به شیوه میدانی و آزمایشگاهی انجام شد. مطالعه بر روی ۱۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (تهیه شده از موسسه انستیتو پاستور ایران) با میانگین (\pm انحراف معیار) وزن 260 ± 10 گرم انجام شد؛ حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، دوره‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲) نگهداری شدند و همگی به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی تهیه شده از موسسه‌ی انستیتو پاستور ایران و آب دسترسی داشتند. اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد توجه قرار گرفت. کد کمیته‌ی اخلاق و کارآزمایی بالینی این پژوهش EC-00312 است. القای دیابت، به واسطه‌ی تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) (۵۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) و محلول در بافر سیترات (PH: ۴/۵) به شکل تک دوز و داخل صفاقی انجام شد. برای تایید ایجاد دیابت، سه روز پس از تزریق، میزان قند خون ناشتا به وسیله‌ی گلوکومتر صفر-یک (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد و سطح گلوکز خون ۲۵۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر به عنوان شاخص ابتلا به دیابت در نظر گرفته شد.^{۲۷} موش‌های صحرایی دیابتی هیچ‌گونه درمان با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند.

iv- Little JP et al (2011)
v- Snowling NJ et al (2012)
vi - Zacharewicz E et al (2013)

i- Forkhead box O
ii- Zhangping Yang et all
iii- High Intensity Interval Training

نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمامی نمونه‌های استخراج شده بین ۲-۱/۸ بود. سپس برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز و ژل آگارز یک درصد استفاده شد. پیش از سنتز cDNA، برای اطمینان از عدم وجود DNA در نمونه‌ی استخراج شده DNAs treatment انجام شد.

برای سنتز cDNA ژن *Atrogin-1* از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis تهیه شده (roche، آلمان) و برای سنتز cDNA ژن *miR-23a* از کیت miScript II RT (Qiagen، آلمان) و طبق دستورالعمل کیت‌های مذکور استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از دستگاه Real time (Rotogene 6000, Corbet) انجام شد. برنامه Real time برای بررسی میزان بیان *Atrogin-1* گروه تجربی نسبت به گروه شاهد بر اساس SYBER – Green (ampliqon، دانمارک) و شامل یک چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه و ۶۰ چرخه سانتی‌گراد بر اساس miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen، آلمان) و شامل یک چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ چرخه با ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه انجام شد. تغییرات بیان در گروه ورزشی نسبت به گروه شاهد برای ژن *Atrogin-1* با ژن خانه‌داری GAPDH و برای *miR-23a* با ژن خانه‌داری Snord 71، با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه و به صورت رتبه تغییرⁱⁱ نشان داده شد.

پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر *miR-23a* از شرکت کیاژن (Cat number: MS00033327) تهیه شد و برای تکثیر آتروژن از پرایمرهای با توالی ذیل استفاده شد.

(Forward 5'-CCA TCA GGA GAA GTG GAT CTA TG-3'), (Reverse 5'-TAT CAG CTC CAA CAG CCT TAC-3')

گلوکز پلاسما به روش رنگ سنجی آنزیمی و بر اساس واکنش گلوکز اکسیداز و به وسیله‌ی کیت ویژه‌ی آن (پارس آزمون) با ضریب تغییر ۰/۰۵ اندازه‌گیری شد.

یک هفته پس از القای دیابت، موش‌های صحرایی به شکل تصادفی به دو گروه شاهد (۷ سر) و تمرین تناوبی شدید (۷ سر) تقسیم شدند. در طول این یک هفته، موش‌های صحرایی با دویدن روی تردمیل نیز آشنا شدند (ابتدا پایلوت پروتکل‌ها برای دو سر موش صحرایی انجام شد). گروه شاهد در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت داده نشدند، ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان پنج بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند. هر جلسه تمرین ۲۵ دقیقه دویدن روی تردمیل بود که شامل پنج دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد VO_{2max} ، چهار تناوب (سه دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و یک دقیقه ریکاوری با شدت ۳۰ تا ۳۵ درصد VO_{2max} بین هر تناوب) و پنج دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد VO_{2max} بود.

پروتکل پنج روز در هفته به مدت پنج هفته انجام شد. روز ششم هر هفته، حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) بر اساس پروتکل لندرو و همکارانشⁱ اندازه‌گیری می‌شد.^{۲۸} روز هفتم هر هفته برای استراحت در نظر گرفته شد. در طول برنامه‌ی تمرینی از هیچ نوع شوک الکتریکی استفاده نشد. در شرایط حرکت نکردن روی تردمیل فشار اندک دم سبب تحریک و دویدن موش‌های صحرایی شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی، موش‌های صحرایی به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین ۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بی‌هوش شدند و بلافاصله نمونه‌ی خونی، مستقیم از قلب موش‌های صحرایی توسط سرنگ هپارینه کشیده شد و جداسازی پلاسما با سانتریفیوژ کردن در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد؛ همچنین بافت عضله‌ی دوقلو بلافاصله استخراج و پس از شست و شو با سرم فیزیولوژی در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان آزمایش، پلاسما و بافت استخراج شده در فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA و microRNA به وسیله‌ی کیت (۵۰) miRNeasy Mini (Qiagen، آلمان) و طبق دستورالعمل کیت انجام شد.

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار وزن و غلظت گلوکز پلاسمای موش‌های صحرایی

گروه	گلوکز (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	وزن نهایی
شاهد (۷=تعداد)	۵۷۷/۵۷±۱۱/۴۷۳	۲۳۸/۱۷±۱۷/۹
تمرین (۷=تعداد)	۵۰۲/۶۰±۱۰/۱۸۳*	۲۷۶/۴±۱۶/۵*

* نشانه‌ی معنی‌داری نسبت به به گروه شاهد ($P < 0.05$)

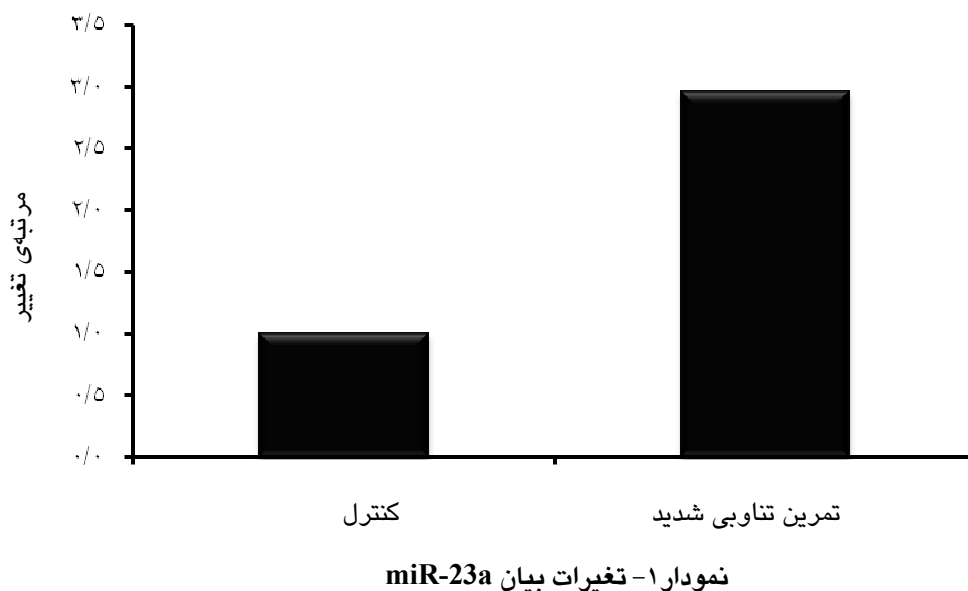
وزن موش‌های صحرایی در گروه تجربی، پس از پنج هفته تمرین به شکل معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($p \leq 0.05$). در واقع می‌توان بیان کرد که تمرین (HIIT) باعث جلوگیری از کاهش وزن موش‌های صحرایی در گروه تجربی شد. هم‌چنین گلوکز پلاسمای در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافت ($p \leq 0.05$).

در نمودار ۱، میزان بیان *miR-23a* آورده شده است. با توجه به اجرای HIIT در گروه تجربی، بیان *miR-23a* در عضله‌ی دوقلو موش‌های صحرایی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($P = 0.031$). و حدود سه برابر افزایش بیان این ژن مشخص شد.

تمامی داده‌ها به شکل میانگین±انحراف معیار توصیف شدند. از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و توصیف داده‌ها استفاده شد. از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (K-S) برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه و پس از تایید طبیعی بودن داده‌ها، از آزمون آماری t مستقل برای مقایسه‌ی بین دو گروه استفاده شد. سطح معنی‌داری برای همه آزمون‌های آماری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه‌ی ۶ انجام گرفت.

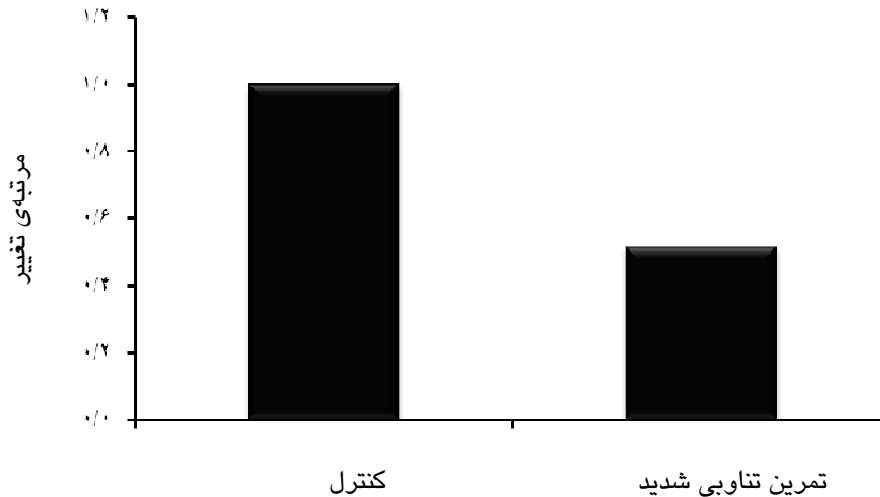
یافته‌ها

در جدول ۱ مقادیر مربوط به تغییرات وزن و گلوکز پلاسمای در گروه‌های شاهد و تجربی (HIIT) آورده شده است.



به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ($P = 0.023$) و بیان این ژن حدود به نصف کاهش پیدا کرد.

در نمودار ۲، میزان بیان *Atrogin-1* آورده شده است. با توجه به اجرای HIIT در گروه تجربی، بیان ژن *Atrogin-1* در عضله‌ی دوقلو موش‌های صحرایی نسبت

نمودار ۲- تغییرات بیان *Atrogin-1*

بحث

با توجه به نتایج پژوهش متیو و همکارانشⁱ، به نظر می‌رسد علت کاهش بیان *miR-23a* وجود گلوکز پلاسمایی بالا و افزایش عوامل آتروفی *Atrogin-1* باشد.^{۲۴} در این راستا از نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مشخص شد گلوکز پلاسمایی در گروه تمرین کرده نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشته است، که می‌توان نتیجه گرفت، احتمالاً افزایش *miR-23a* در این پژوهش به دلیل کاهش گلوکز پلاسمایی و جلوگیری از کاهش کمتر وزن گروه تمرین کرده است که باعث جلوگیری از آتروفی عضلانی شده است.

مشخص شده است، مهار شدن *Atrogin-1* به سطح گلوکز خون بستگی دارد.^{۲۵} وادا و همکارانشⁱⁱ مشاهده کردند، *Atrogin-1* و پروتئین FOXO در شرایط آتروفی افزایش می‌یابند و *miR-23a* خواص ضد آتروفی دارد. آن‌ها مشاهده کردند، *miR-23a* از طریق چسبیدن به ۳' UTR از ترجمه‌ی رونوشت *Atrogin-1* در شرایط آتروفی جلوگیری می‌کند.^{۲۶} گولر و روسلⁱⁱⁱ نشان دادند، در طی یک جلسه‌ی تمرین استقامتی دویدن، بیان *miR-23a* در موش‌های داوطلب کاهش می‌یابد.^{۲۷} همچنین زاچارویکس و همکارانش، نتیجه‌گیری کردند، در طول سه ساعت تمرین استقامتی تک جلسه‌ای، *miR-23a* کاهش می‌یابد.^{۲۸} لین و همکارانشⁱ گزارش کردند، هدف *miR-23a* دقیقاً UTR ۳' است و

با توجه به اهداف پژوهش حاضر و با توجه به نقش شناخته شده‌ی ژنهای *miR-23a* و *Atrogin-1* در آتروفی عضلانی در بیماران دیابتی، این تحقیق جهت آشکارسازی این موضوع که تمرین تناوبی با شدت بالا، چه تاثیری بر میزان تغییرات در بیان *miR-23a* و *Atrogin-1* دارد، انجام شد. نتایج مطالعه‌ی حاضر آشکار کرد که تمرین تناوبی با شدت بالا باعث افزایش سه برابری در سطح بیان *miR-23a* کاهش تقریباً ۵۰ درصدی سطح بیان *Atrogin-1* و کاهش گلوکز پلاسمایی گروه تمرین می‌شود و از طرفی وزن گروه تمرینی نسبت به گروه شاهد را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد.

لیتل و همکارانش گزارش کردند، اجرای HIIT باعث کاهش هایپیرگلیسمی در بیماران دیابتی می‌شود^{۲۹} که همسو با نتایج پژوهش حاضر است. در پژوهش دیگر، اسنولینگ و همکارانش گزارش کردند، اجرای HIIT، پاسخ گلوکز پس از صرف غذا و همچنین هایپیرگلیسمی را در بیماران دیابتی کاهش می‌دهد.^{۳۰} بر اساس نتایج پژوهش‌ها به نظر می‌رسد، تمرین ورزشی با شدت بالا، احتمالاً در کنترل گلوکز خون بیماران دیابتی بهتر و موثرتر است،^{۳۱} تمامی نتایج این تحقیقات و نتایج پژوهش حاضر بیانگر تأثیر فعالیت بدنی بر بهبود هایپیرگلیسمی و کاهش میزان گلوکز پلاسمایی خون است و افزایش و تنظیم حساسیت انسولینی اساس ترین نقش فعالیت بدنی در بهبود هایپوگلیسمی در بیماران دیابتی است.^{۳۲-۲۹}

i- Matthew B et al

ii- Wada S et al (2009)

iii- Guller I and Russell AP (2010)

با توجه به افزایش وزن گروه تجربی، نسبت به گروه شاهد، به نظر می‌رسد تمرینات تناوبی با شدت بالا از مهار مسیر عامل آتروفی Atrogin از طریق افزایش *miR-23a* افزایش توانسته تأثیر مثبت خود را در پیشگیری از تخریب بیشتر دیابت بر بافت عضلانی و آتروفی عضلانی بگذارد.

عدم کنترل فعالیت آزمودنی‌ها در دوره‌ی شبانه و همچنین با توجه به ضرورت ارزیابی VO_{2max} موش‌های صحرایی، یک روز در هفته به صورت هوازی تمرین می‌کردند که ناچار از دو مدل تمرین اجباری استفاده شد که این عوامل را می‌توان به عنوان محدودیت‌های پژوهش حاضر دانست. با بیان این موضوع و مشاهدات محقق، می‌توان خاطر نشان کرد که موش‌های صحرایی برای اجرای HIIT تمایل بیشتری نسبت به تمرین هوازی داشتند و در وهله‌های تمرین هوازی سعی در امتناع در اجرا و ادامه‌ی تمرین داشتند.

با در نظر گرفتن نتایج پژوهش حاضر و دیگر پژوهش‌ها به نظر می‌رسد تمرین‌های تناوبی با شدت بالا احتمالاً به دلیل بهبود هایپر گلیسمی، جلوگیری از کاهش وزن، کاهش عوامل آتروفی و افزایش *miR-23a* می‌تواند مداخله‌ی غیر دارویی مناسبی برای بیماران دیابتی که خود درگیر مسئله‌ی آتروفی عضلانی هستند، باشد. با توجه به اثرات دیابت نوع ۱، تمرین تناوبی با شدت بالا خواهد توانست در حفظ توده‌ی عضلانی این بیماران موثر باشد؛ البته برای اطمینان یافتن از این موضوع نیاز به پژوهش‌های بیشتری است.

جالب این که در ورزش استقامتی بیان *miR-23a* تا ۸۴ درصد کاهش می‌یابد.^{۱۱}

با توجه به نتایج مطالعه‌های گذشته^{۱۱،۲۶،۳۰} و پژوهش حاضر شاید بتوان به این نکته اشاره کرد که تمرینات استقامتی در مقابل تمرینات تناوبی با شدت بالا در بیماران دیابتی که با مشکلات آتروفی عضلانی مواجه هستند روش تمرینی خوبی برای مقابله با این مشکل نخواهد بود.

چن و همکارانش^{۱۱}، نشان دادند دیابت ایجاد شده با STZ با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن باعث کاهش مشخص وزن عضله دوقلو در گروه دیابتی در مقایسه با گروه شاهد می‌شود و هشت هفته تمرین هوازی توانست که تا حدی از کاهش وزن عضله در موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری کند. این گروه نشان دادند، میزان بیان و پروتئین عامل آتروفیک MURF-1 در گروه دیابتی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و تمرین هوازی می‌تواند بیان MURF-1 را در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش دهد که این مطلب پیشنهادکننده آن است که ورزش در مهار بیان MURF-1 در دیابتی‌ها نقش دارد.^{۳۱} در پژوهش حاضر نیز با اندازه‌گیری وزن موش‌های صحرایی در هر دو گروه مشخص شد موش‌های صحرایی گروه شاهد طی پنج هفته ارزیابی، با کاهش وزن مواجه شدند، در حالی که گروه اجرای HIIT با افزایش معنی‌دار وزن روبه‌رو بودند. در گروه تمرین، ورزش انجام شده از کاهش وزن جلوگیری کرده و حتی تا حدودی باعث افزایش وزن شده است.

i- Zacharewicz

ii-Lin et all(2009)

iii- Chen GQ et all (2011) -

References

1. Azizi F, Janghorbani M, Hatami H. Epidemiology and control of common diseases in Iran. Press Khosravi; 2009.
2. Halvatsiotis P, Short KR, Bigelow M, Nair KS. Synthesis rate of muscle proteins, muscle functions, and amino acid kinetics in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2395-404.
3. Wada S, Kato Y, Okutsu M, Miyaki S, Suzuki K, Yan Z, et al. Translational suppression of atrophic regulators by microRNA-23a integrates resistance to skeletal muscle atrophy. *J Biol Chem* 2011; 286: 38456-65.
4. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 2004; 117: 399-412.
5. Dehoux M, Van Beneden R, Pasko N, Lause P, Verniers J, Underwood L, et al. Role of the insulin-like growth factor I decline in the induction of atrogin-1/MAFbx during fasting and diabetes. *Endocrinology* 2004; 145: 4806-12.
6. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes(Lond)* 2008; 32: 684-91.
7. Chaudhuri K, Chatterjee R. MicroRNA detection and target prediction: integration of computational and experimental approaches. *DNA Cell Biol* 2007; 26: 321-37.
8. Latronico MV, Condorelli G. MicroRNAs and cardiac pathology. *Nature Reviews Cardiology* 2009; 6: 419-29.
9. Miura P, Jasmin BJ. Utrophin upregulation for treating Duchenne or Becker muscular dystrophy: how close are we?. *Trends Mol Med* 2006; 12: 122-9.

10. Safdar A, Abadi A, Akhtar M, Hettinga BP, Tarnopolsky MA. miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice. *PLoS One* 2009; 4: e5610.
11. Lin Z, Murtaza I, Wang K, Jiao J, Gao J, Li PF. miR-23a functions downstream of NFATc3 to regulate cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 12103-8.
12. Wada S, Kato Y, Okutsu M, Miyaki S, Suzuki K, Asahara H, et al. miR-23a attenuates skeletal muscle atrophy by targeting MAFbx/atrogin-1 and MuRF1. *In Journal of Physiological Sciences* 2009; 59: 216-216.
13. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 294: 1704-8.
14. Yang Z, Chen H, Si H, Li X, Ding X, Sheng Q, et al. Serum miR-23a, a potential biomarker for diagnosis of pre-diabetes and type 2 diabetes *Acta Diabetol* 2014; 51: 823-31.
15. 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: 259-64.
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 Diabetol* 2010; 47: 15-22.
17. Harding AH, Williams DE, Hennings SH, Mitchell J, Wareham NJ. Is the association between dietary fat intake and insulin resistance modified by physical activity?. *Metabolism* 2001; 50: 1186-92.
18. Albright A, Franz M, Hornsby G, Kriska A, Marrero D, Ullrich I, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and type 2 diabetes. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32: 1345-60.
19. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary. *Diabetes Care* 2010; 33: 2692-6.
20. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32: 684-91.
21. Meyer P, Normandin E, Gayda M, Billon G, Guiraud T, Bosquet L, et al. High-intensity interval exercise in chronic heart failure: protocol optimization. *J Card Fail* 2012; 18: 126-33.
22. Buchan DS, Ollis S, Young JD, Thomas NE, Cooper SM, Tong TK, et al. The effects of time and intensity of exercise on novel and established markers of CVD in adolescent youth. *Am J Human Biol* 2011; 23: 517-26.
23. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300: R1303-10.
24. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *J Appl Physiol* 2011; 111: 1554-60.
25. 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: 2518-27.
26. Zacharewicz E, Lamon S, Russell AP. MicroRNAs in skeletal muscle and their regulation with exercise, ageing, and disease. *Front Physiol* 2013; 4: 266.
27. Ishida S, Usui T, Yamashiro K, Kaji Y, Ahmed E, Carrasquillo KG, et al. VEGF164 is proinflammatory in the diabetic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 2155-62.
28. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhas-De-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; 21: 751-6.
29. Karstoft K, Winding K, Knudsen SH, James NG, Scheel MM, Olesen J, et al. Mechanisms behind the superior effects of interval vs continuous training on glycaemic control in individuals with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia* 2014; 57: 2081-93.
30. Mikus CR, Oberlin DJ, Libla J, Boyle LJ, Thyfault JP. Glycaemic control is improved by 7 days of aerobic exercise training in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2012; 55: 1417-23.
31. Holloszy JO, Schultz J, Kusnierkiewicz J, Hagberg JM, Ehsani AA. Effects of exercise on glucose tolerance and insulin resistance. Brief review and some preliminary results. *Acta Med Scand Suppl* 1986; 711: 55-65.
32. Kjaer M, Hollenbeck CB, Freyhewitt B, Galbo H, Haskell W, Reaven GM. Glucoregulation and hormonal responses to maximal exercise in non-insulin-dependent diabetes. *J Appl Physiol* (1985) 1990; 68: 2067-74.
33. Gillen JB, Little JP, Punthakee Z, Tarnopolsky MA, Riddell MC, Gibala MJ. Acute high-intensity interval exercise reduces the post prandial glucose response and prevalence of hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2012; 14: 575-7.
34. Hudson MB, Woodworth-Hobbs ME, Zheng B, Rahnert JA, Blount MA, Gooch JL, et al. miR-23a is decreased during muscle atrophy by a mechanism that includes calcineurin signaling and exosome-mediated export. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014; 306: C551-C8.
35. Güller I, Russell AP. MicroRNAs in skeletal muscle: their role and regulation in development, disease and function. *J Physiol* 2010; 588: 4075-87.
36. Chen GQ, Mou CY, Yang YQ, Wang S, Zhao ZW. Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes. *Life Sci* 2011; 89: 44-9.
37. Weinberg MS, Wood MJ. Short non-coding RNA biology and neurodegenerative disorders: novel disease targets and therapeutics. *Human molecular genetics* 2009; 18: R27-39.

Original Article

Effect of Five Weeks of High-Intensity Interval Training on the Expression of miR-23a and Atrogin-1 in Gastrocnemius Muscles of Diabetic Male Rats

Khoramshahi SH¹, Kordi MR¹, Delfan M², Gaeini AA¹, Safa M³

¹Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran,

²Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Alzahra University, ³Cellular and Molecular Research Center and Department of Hematology, Faculty of Allied Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: mrkordi@ut.ac.ir

Received: 07/05/2016 Accepted: 19/10/2016

Abstract

Introduction: One of the complications of diabetes is muscular atrophy. Considering the role of exercise in controlling diabetes complications, the aim of the study was to evaluate the effect of five weeks of high intensity interval training (HIIT) on miR-23a and Atrogin-1 genes expression in the gastrocnemius muscles of male diabetic rats. **Materials and Method:** For this purpose, diabetes was induced in 14 Wistar rats with an average weight of 260 ± 10 g by injection of Streptozotocin (50mg/kg). They were randomly divided into two groups, controls (n=7) and HIIT (n=7) group. The HIIT program included implementing four 3-minute sets at intensity of 85-90% VO₂max and one-minute recovery between each set with intensity of 30 to 35% VO₂max. Twenty-four hours after the last training session, animals were anesthetized, gastrocnemius muscles were removed and Mir-23a and Atrogin-1 genes expression was evaluated by quantitative REAL time PCR. Data were analyzed by using the Kolmogorov-Smirnov test and t-test with SPSS software, version 19 and Excele 2007 at a significance level of $p\leq 0.05$. **Results:** Analysis with independent t-test showed that the HIIT training caused a significant increase in expression of miR-23a and consequently significant decrease in expression of Atrogin-1 gene, compared to controls group. **Conclusion:** Evidently high intensity interval training due to decrease of hyperglycemia, change in expression of miR-23a and Atrogin-1 can be an effective intervention to reduce diabetes complications such as muscle atrophy.

Keywords: Diabetes, High Intensity Interval Training, Gastrocnemius muscles, Muscle Atrophy, miR-23a, Atrogin-1