

The Effect of 6 Week Resistance Training Program on Foxo1 Expression in Liver Cells and Glucose and Insulin Levels in Type 2 Diabetic Rats

Akbari E, Farajtabar Behrestaq S*, Askari B

Department of Physical Education and Sport Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +989113277367, Fax: +981142155117, E-mail: farajtabarp@yahoo.com

Received: Sep 26, 2020

Accepted: Jan 21, 2021

ABSTRACT

Background & objectives: Foxo1 is a transcription factor in insulin signaling in the liver. The function of Foxo1 is important in the ability of insulin to regulate hepatic glucose production and glucose homeostasis. The aim of this study was to determine the effect of resistance training program on Foxo1 expression in liver cells as well as glucose and insulin serum levels in male Wistar rats with type 2 diabetes.

Methods: The statistical population of this experimental study was 10-weeks old, male Wistar rats weighing 220 ± 20 g ($n=14$). The studied rats were subjected to 6 weeks of high-fat diet and STZ injection for type 2 diabetes induction and then rats were randomly divided into two groups (control and resistance). The training group participated in a resistance training course for 6 weeks, 5 sessions per week, in the form of 4 sets and 5 repetitions per set, climbing a 26-step ladder to a height of one meter with a vertical slope of 80%. Finally, 48 hours after the last training session, fasting blood glucose and insulin levels as well as Foxo1 expression level in liver cells of both groups were measured and compared by independent t-test ($\alpha=5\%$).

Results: The resistance training improved fasting blood glucose compared to control subjects ($p<0.001$). The serum insulin levels were significantly increased ($p=0.042$) and Foxo1 expression significantly decreased in resistance group when compared with control subjects ($p=0.023$).

Conclusion: Based on these data, the decrease in glucose concentration in the exercise group can probably be attributed to the decreased expression of Foxo1 in hepatocyte cells in response to resistance training.

Keywords: Resistance training; Liver Cells; Serum Insulin; Type 2 Diabetes; Foxo1 Expression

اثر شش هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن FoxO1 در سلول‌های کبدی و سطح گلوکز و انسولین در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲

اسماعیل اکبری، سقا فرج‌تبار بهرستاق*، بابی سان عسکری

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۱۳۲۷۷۳۶۷ فاکس: ۰۱۱۴۲۱۵۵۱۱۷ ایمیل: farajtabarp@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: FoxO1 یک فاکتور رونویسی در سیگنالینگ انسولین در کبد می‌باشد. عملکرد FoxO1 بر توانایی انسولین در تنظیم تولید گلوکز کبدی و هموستاز گلوکز، مهم می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر ۶ هفته تمرین مقاومتی بر بیان FoxO1 در سلول‌های کبدی و همچنین سطوح گلوکز و انسولین در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ انجام گرفت.

روش کار: جامعه آماری این مطالعه تجربی را کلیه موش‌های صحرایی نر ویستار تشکیل دادند که از بین آنها ۱۴ سر موش صحرایی ۱۰ هفته‌ای با وزن 20 ± 22 گرم خریداری شدند. در ادامه موش‌های صحرایی مورد مطالعه تحت اثر ۶ هفته رژیم غذایی پرچرب و تزریق STZ دیابتی نوع ۲ شدند و به شیوه تصادفی در دو گروه (کنترل و مقاومتی) قرار گرفتند. سپس گروه تمرین در یک دوره تمرین مقاومتی به مدت ۶ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته در قالب ۴ ست و ۵ تکرار در هر ست در صعود از نردبان ۲۶ پله‌ای به ارتفاع ۱ متر با شیب عمودی ۸۰ درصد، شرکت کردند. نهایتاً ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، سطوح ناشتایی گلوکز و انسولین و بیان FoxO1 در سلول‌های کبدی هر دو گروه اندازه‌گیری و توسط آزمون تی مستقل با یکدیگر مقایسه شدند ($\alpha = 5\%$).

یافته‌ها: تمرینات مقاومتی به بهبود سطوح گلوکز ناشتا در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($p < 0.001$). سطوح انسولین سرم به میزان معنی‌داری افزایش یافت ($p = 0.042$) و بیان FoxO1 در سلول‌های کبدی در گروه مقاومتی در مقایسه با گروه کنترل به میزان معنی‌داری کاهش یافت ($p = 0.023$).

نتیجه‌گیری: بر پایه این یافته‌ها، احتمالاً کاهش گلوکز در گروه تمرین را می‌توان به کاهش بیان FoxO1 در سلول‌های کبدی در واکنش به تمرینات مقاومتی نسبت داد.

واژه‌های کلیدی: تمرین مقاومتی، سلول‌های کبدی، انسولین سرم، دیابت نوع ۲، بیان FoxO1

دریافت: ۱۳۹۹/۷/۵ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۳۰

مقدمه

اگرچه دیابت نوع ۲ یک بیماری چند علتی است، اما یکی از عوامل خطرزای برجسته آن شیوع پدیده چاقی است. اینکه در میان عوامل موثر در بروز دیابت نوع ۲، چاقی از بیشترین اهمیت برخوردار است اخیراً توسط

بسیاری از مطالعات پیشین حمایت شده است [۱]. در این میان نقش اختلالات متابولیسمی و نیمرخ التهابی نیز از اهمیت بالایی برخوردار است. از طرفی، مطالعات امروزی به شدت بر شناخت عوامل ژنتیکی موثر در این بیماری و سایر بیماری‌های مزمن تاکید دارند.

بطوری که در دهه اخیر فاکتورهای ژنتیکی متعددی که در شیوع یا افزایش شدت دیابت نوع یک و دو اهمیت ویژه‌ای دارند، معرفی شده‌اند. اختلال در سطوح پروتئین و بیان آنها یا پلی‌مورفیسم‌های آنها زمینه را جهت شیوع یا افزایش شدت دیابت بواسطه آسیب در ترشح انسولین یا آسیب رهایی برخی محرک‌های انسولین و مکانیسم‌های عهده‌دار عملکرد انسولین در سطح سلول‌های هدف ایجاد می‌کند [۲]. بین آنها Foxo1^۱ علاوه بر اینکه از اهمیت بالقوه‌ای در ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس برخوردار است [۳]، همچنین اثرات مداخله آن در مسیرهای سیگنالینگ انسولین در بافت‌های هدف نظیر بافت چربی و عضلانی نیز به شدت مقاومت انسولین و نیمرخ گلیسمیک را متاثر می‌کند [۴].

ژن Foxo1 بر روی کروموزوم ۱۰.۱۴.۱۳q قرار دارد که یک فاکتور رونویسی کلیدی در سیگنالینگ انسولین در کبد، بافت چربی و پانکراس می‌باشد [۵]. مطالعات پیوستگی ژنی به نقش احتمالی Foxo1 در پاتوژنز دیابت نوع ۲ بواسطه این ادعا که کنترل گلیسمیک و متابولیسم چربی را متاثر می‌کند، اشاره نموده‌اند. اگرچه شواهد بالقوه‌ای که این ارتباط را مستقیماً گزارش کنند، محدود هستند و این ادعا بیشتر به یافته‌ها از مطالعات *in vitro* متکی هست [۶]. Foxo1 در کبد در تعامل با برخی فاکتورهای رونویسی دیگر نظیر PGC1 α بواسطه نقش افزایشی خود روی فعالیت آنزیم‌ها یا بیان ژن‌های G6Pase و PEPCK به تسریع فرایند گلوکونئوژنز که افزایش رهایی گلوکز کبدی و افزایش گلوکز خون منجر می‌شوند، بطوری که نقش مهمی را در هموستاز انرژی بازی می‌کند. اما تسریع این فرآیند با افزایش رهایی گلوکز کبدی و هایپرگلیسمی بویژه در بیماران دیابتی همراه است. از طرفی، مطالعات ژنتیکی آشکار نموده‌اند که نقص Foxo1 در سلول‌های کبدی به

^۱ Forkhead Box Protein O1

کاهش سنتز گلوکز ناشی از گلوکونئوژنز کبدی منجر می‌شود [۷].

مطالعات نشان داده‌اند که Foxo1 در ابتلا به دیابت نوع ۲ نقش دارد [۸،۹]. پروتئین‌های Foxo1 در تنظیم چندین مسیر متابولیکی در کبد در واکنش به ناشتایی شامل گلوکونئوژنز، گلیکولیز و لیپوژنز دخالت دارند [۱۰] و مهار عملکرد Foxo1 برای توانایی انسولین در تنظیم تولید گلوکز کبدی و هموستاز گلوکز مهم می‌باشد [۱۱]. فسفوریلاسیون Foxo1 بیان تعدادی از ژن‌های درگیر در گلوکونئوژنز را متوقف می‌کند [۱۲]. در مقابل، در وضعیت بدون فسفوریلاسیون، Foxo1 بیان آنزیم‌های کلیدی درگیر در گلوکونئوژنز مانند فسفوانوال پیرووات کربوکسیلاز (PEPCK) و گلوکز ۶ فسفاتاز (G6P) را افزایش می‌دهد [۱۳] که پیامد آن افزایش سرعت فرآیند گلوکونئوژنز و رهایی گلوکز کبدی به جریان خون بویژه در بیماران دیابتی است. از این رو، تصور بر این است که چنانچه بتوان بواسطه مداخلات داخلی یا بیرونی، سرعت فرآیند گلوکونئوژنز کبدی را به نوعی کند نمود کاهش رهایی گلوکز کبدی و پیامد آن کاهش سطوح گلوکز خون را به دنبال دارد. در این زمینه، بارها به نقش فعالیت بدنی و تمرینات ورزشی اشاره شده است. اما علیرغم اینکه بویژه در دو دهه اخیر مطالعات متعددی با هدف تعیین پاسخ یا سازگاری مولفه هورمونی، متابولیکی و ژنتیکی به تمرینات ورزشی در جمعیت‌های دیابتی و غیردیابتی انجام شده است اما یافته‌ها در خصوص پاسخ سطوح پروتئین یا بیان Foxo1 متعاقب تمرینات ورزشی در دیابتی‌های نوع ۲ چاق بویژه در سلول‌های کبدی بسیار محدودند.

با این وجود، در مطالعه آزاد و همکاران یافته‌ها آشکار نمود که هر دو تمرین آبی و تمرینات طولانی مدت (۹ هفته) برون‌گرا در قالب دویدن روی تردمیل با شیب منفی به تغییر معنی‌دار در Foxo1 در عضله پهن خارجی موش‌های صحرایی آزمایشگاهی منجر می‌شود با این تفاوت که تمرین آبی بیان Foxo1 را به

میزان ۳/۶۲ درصد افزایش و تمرینات طولانی مدت ۹ هفته بیان Foxo1 را به میزان ۰/۵۶ نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد [۱۴]. یافته‌های مطالعه سه‌پیلی و همکاران نشان داد که تمرین مقاومتی سبب کاهش معنادار گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین و بیان ژن Foxo1 در بافت چربی زیر پوستی موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل گردید [۱۵]. همچنین یافته‌های الماسی و همکاران، پس از ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید، علیرغم عدم تغییر در مقاومت انسولینی در موش‌های دیابتی نوع ۲ به کاهش سطح گلوکز خون و همچنین باعث کاهش معنادار بیان نسبی Foxo1 در مقایسه با گروه کنترل شد [۱۶]. کریمی و همکاران نشان دادند که تمرینات تناوبی شدید سبب افزایش بیان نسبی Foxo1 در بافت پانکراس موش‌های دیابتی شده نسبت به گروه کنترل منجر شد [۱۷]. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که ارتباط بین پلی‌مورفیسیم‌های HNF-4 α با گلوکز و انسولین بوسیله فعالیت بدنی تعدیل می‌شود. بنابراین نتایج این مطالعه نشان داد که اثر پلی‌مورفیسیم‌های HNF-4 α بر روی خطر دیابت نوع ۲ بوسیله فعالیت بدنی تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۱۸]. با وجود مطالعات محدود در خصوص تأثیر تمرین ورزشی بر بیان Foxo1 در سایر بافت‌های بدن و همچنین عدم وجود مطالعه‌ای که مستقیماً اثر تمرینات ورزشی را روی بیان Foxo1 در بافت کبد و تأثیر متقابل آن بر انسولین و مقاومت انسولین را اندازه‌گیری نماید زمینه را جهت اجرای مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر تمرینات مقاومتی بر بیان Foxo1 در بافت کبد، انسولین و گلوکز خون در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ فراهم می‌نماید.

روش کار

جامعه آماری این مطالعه تجربی- کاربردی را کلیه موش‌های صحرایی نر ویستار حیوان خانه انستیتو پاستور ایران تشکیل می‌دهند که از بین آنها ۱۴ سرموش صحرایی ۱۰ هفته‌ای در دامنه وزنی

۲۰±۲۲ گرم به شیوه تصادفی جهت شرکت در مطالعه انتخاب شدند. در ادامه، پس از القای دیابت نوع ۲، موش‌های صحرایی دیابتی شده با ویژگی‌های سنی مشابهی به شیوه تصادفی در گروه‌های ۷ تایی تمرین (تمرین مقاومتی) و کنترل (بدون تمرین) قرار گرفتند. موش‌ها در اطاقی به ابعاد ۵ در ۱۰ متر در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ عصر و خاموشی ۶ صبح) با دمای (۳±۲۲ سانتی‌گراد) و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ۶۰ نگهداری شدند. تعداد سه سر موش صحرایی در قفس‌هایی از جنس پلکسی‌گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. در سرتاسر دوره تحقیق، موش‌ها توسط یک نفر جابجا می‌گردید. همه موش‌های صحرایی به مدت ۲ هفته با شرایط زندگی در حیوان خانه و نحوه صعود از نردبان ۲۶ پله‌ای به ارتفاع یک متر آشنا شدند. در تحقیق حاضر، تمام اعمال انجام شده حیوانات مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با کد اخلاق IR.SSRI.REC.1399.645 صورت گرفت.

القای دیابت نوع ۲

برای القای دیابت نوع ۲، از رژیم غذایی پرچرب برای مدت ۶ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده STZ^۱ در بافر سیترات با pH=۴/۵ نیز به صورت داخل صفاقی با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام گرفت. جهت تهیه غذای پرچرب به غذای استاندارد موش‌های صحرایی که از شرکت خوراک پارس دام خریداری گردید ۱٪ پودر کلسترول و ۱٪ روغن ذرت ۱۰۰٪ خالص اضافه شد [۱۹].

^۱ Streptozotocin

معیار ورود و خروج از مطالعه

یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه‌گیری و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع ۲ و همچنین عدم توانایی در جابجایی وزنه یا صعود از نردبان در حین تمرین به عنوان معیار خروج از پروسه تمرین برای گروه تمرین مقاومتی در نظر گرفته شد.

پروتکل تمرینی

برنامه تمرینی مقاومتی برای ۶ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته در قالب ۴ ست و ۵ تکرار در هر ست در قالب صعود از نردبان ۲۶ پله‌ای به ارتفاع یک متر با شیب عمودی ۸۰ درصد انجام گرفت. فواصل استراحتی بین ست‌ها ۲ دقیقه و فواصل استراحتی بین تکرارها در هر ست ۳۰ ثانیه بود. قبل و بعد از هر جلسه تمرینی ۳ صعود بدون مقاومت روی نردبان جهت گرم و سرد کردن در نظر گرفته شد. اعمال مقاومت به صورت وزنه به دم بود. بطوریکه اعمال وزنه در هفته اول با ۳۰ درصد، هفته دوم با ۵۰ درصد، هفته سوم با ۷۰ درصد، هفته چهارم با ۹۰ درصد و هفته‌های پنجم و ششم با ۱۰۰ درصد وزن بدن انجام گرفت [۲۰].

خون‌گیری و نمونه‌گیری بافتی

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، موش‌های صحرایی مورد مطالعه در هر گروه بواسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و نمونه خون بطور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. در ادامه بافت کبد موش‌ها نمونه‌برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژی در

میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNA later^{TM1} با نسبت ۲۰ درصد جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک غوطه‌ور گردید. غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی با فن‌آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون گلوکز به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری (Demeditec Diagnostic Insulin ELIZA) ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون انسولین به ترتیب ۲/۶ و ۲/۸۸ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۱/۷۶ بود.

استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN انجام گرفت [۲۱]. تعیین FOX mRNA توسط RT-Real time PCR بوسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک‌مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA شرکت تاکارا مطابق با دستورالعمل شرکت استفاده گردید. از RNA Polymrasell به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول ۱ بیان شده‌اند.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS/Win-21 انجام گرفت. از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف جهت اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها استفاده گردید. آنالیز داده با استفاده از آزمون تی مستقل انجام گرفت.

¹ RNA Stabilization Reagent 50 mL

جدول ۱. الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
Foxo1	F: CACCCTCTGCTGCCAAGATG R: GGCGAGGACTGGGTTGAC	159 bp	60	NM_001191052.1
RNA PolymraseII	F: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC R: GTTGGCCTGCGGTCGTTT	164 bp	60	XM_008759265.1

یافته‌ها

تی‌مستقل نشان داد که در شرایط قبل از شروع مطالعه تفاوت معنی‌داری در وزن بدن بین دو گروه وجود ندارد ($p=0/856$).

تغییرات وزن بدن در هر دو گروه (گروه کنترل بدون تمرین) در شرایط قبل و پس از مداخله تمرینی در جدول ۲ خلاصه شده‌اند. یافته‌های حاصل از آزمون

جدول ۲. وزن بدن (گرم) در شرایط قبل مداخله‌های تمرینی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	قبل از مداخله	پس از مداخله	Sig (تی همبسته)
کنترل (n=7)	282 ± 11	383 ± 12	< 0.001
تمرین مقاومتی (n=7)	283 ± 6	405 ± 19	< 0.001
(تی مستقل)	0/856	0/021	-----

تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل به میزان معنی‌داری کاهش یافته است ($p<0/001$) جدول ۳، نمودار ۱).

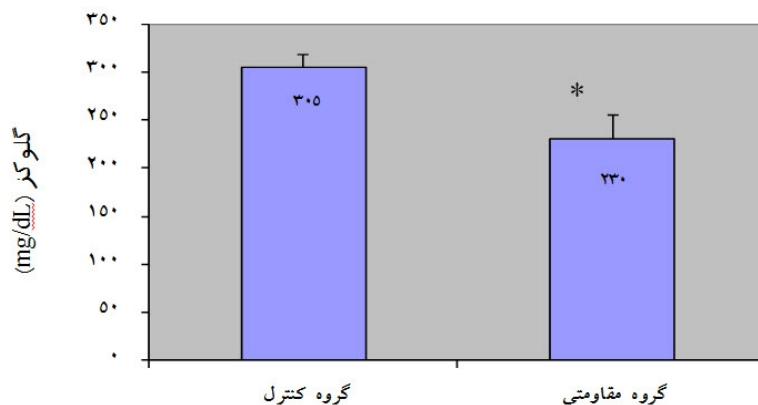
همچنین ۶ هفته تمرین مقاومتی با افزایش معنی‌دار سطوح سرمی انسولین در مقایسه با گروه کنترل همراه بود ($p=0/042$) جدول ۳، نمودار ۲). از طرفی، نتایج حاصل از آزمون تی‌مستقل بیانگر کاهش معنی‌دار بیان Foxo1 در سلول‌های کبدی در پاسخ به تمرینات مقاومتی است ($p=0/023$) جدول ۳، نمودار ۳).

از طرفی، مقایسه تغییرات درون گروهی وزن بدن در هر دو گروه توسط آزمون تی‌همبسته نشان داد که سطوح وزن بدن در پایان مطالعه نسبت به شروع مطالعه در هر دو گروه مقاومتی ($p<0/0001$) و کنترل ($p<0/0001$) به میزان معنی‌داری افزایش یافته است، همچنین یافته‌های حاصل از آزمون تی‌مستقل بیانگر تفاوت معنی‌دار وزن بدن بین دو گروه در پایان مطالعه بود. به عبارتی، در پایان مطالعه وزن بدن در گروه مقاومتی به میزان معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود ($p=0/021$).

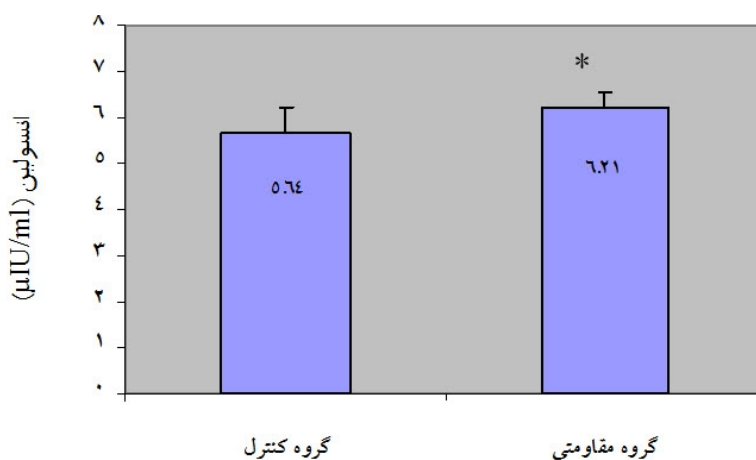
یافته‌های حاصل از آزمون آماری نشان داد که سطوح گلوکز ناشتا در گروه تمرینی در پاسخ به ۶ هفته

جدول ۳. سطوح گلوکز، انسولین و بیان Foxo1 متعاقب مداخله تمرینی در دو گروه تمرین و کنترل دیابتی شده

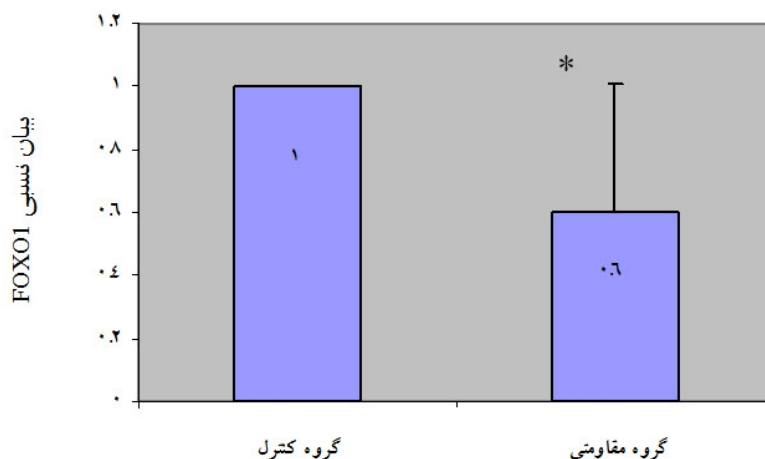
متغیر	گروه کنترل	گروه تمرین	سطح معنی‌داری
گلوکز (mg/dl)	305 ± 14	230 ± 25	< 0.001
انسولین سرم (μIU/ml)	5/64 ± 0/57	6/21 ± 0/33	0/042
بیان نسبی Foxo1	1	0/60 ± 0/41	0/023



نمودار ۱. الگوی تغییرات گلوکز ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۲. الگوی تغییرات انسولین سرم در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۳. الگوی تغییرات بیان نسبی FoxO1 در گروه‌های مورد مطالعه

بحث

موش‌ها در گروه مقاومتی بالاتر از گروه کنترل بود. به عبارتی، در پایان مطالعه وزن بدن در گروه مقاومتی به میزان معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود.

نتایج مطالعه نشان داد که وزن موش‌ها در شروع تفاوت معنی‌داری نداشت، اما بعد از شش هفته وزن

کوتاه و طولانی مدت (۷ و ۱۰ و ۱۴ روز تمرین) بر بیان FoxO1 در بافت چربی موش‌های ۹ هفته‌ای پرداختند، نشان دادند که تمرینات استقامتی طولانی مدت به کاهش سطوح پروتئین FoxO1 از جلسات دهم به بعد منجر می‌شود. این کاهش در FoxO1 به کاهش ذخایر هسته FoxO1 و افزایش سطوح سیتوزولی آن در پاسخ به تمرینات استقامتی طولانی مدت اشاره می‌کند که تمرینات طولانی مدت به خروج FoxO1 از هسته سلولی به سیتوزل کمک می‌کند. این محققان با استناد به یافته‌های خود اشاره نموده‌اند که تمرینات طولانی مدت به کاهش نقش عملکردی پروتئین FoxO1 منجر می‌شود [۲۶]. همچنین یافته‌های مطالعه سهیلی و همکاران نشان داد که تمرین مقاومتی سبب کاهش معنادار گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین و بیان ژن FoxO1 در بافت چربی زیرپوستی موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل گردید و اشاره به این که تمرینات مقاومتی به واسطه مهار بیان ژن FoxO1 در بافت چربی زیرپوستی به کاهش مقاومت انسولین و گلوکز سرم در موش‌های دیابتی منجر می‌گردد [۱۵]. از طرفی دیگر، یافته‌های الماسی و همکاران، پس از ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید، علیرغم عدم تغییر در مقاومت انسولینی در موش‌های دیابتی نوع ۲ به کاهش سطح گلوکز خون و همچنین باعث کاهش معنادار بیان نسبی FoxO1 در مقایسه با گروه کنترل شد این بهبود را می‌توان به نوعی به مسیره‌های سیگنالینگ وابسته به تغییر در بیان FoxO1 مستقل از مقاومت انسولین نسبت داد [۱۶]. برخلاف شواهد مذکور کریمی و همکاران نشان دادند که تمرینات تناوبی شدید سبب افزایش بیان نسبی FoxO1 در بافت پانکراس موش‌های دیابتی شده نسبت به گروه کنترل منجر شد. در این مورد این فرضیه مطرح می‌شود که افزایش سطوح پروتئین یا بیان FoxO1 در بافت پانکراس با بهبود مسیره‌های سیگنالینگ منتهی به سنتز و ترشح انسولین از سلول‌های بتا همراه است. بر پایه

که به نظر می‌رسد دلیل افزایش وزن در گروه تمرین مقاومتی افزایش توده عضلانی در پاسخ به تمرینات مقاومتی بود. تمرین مقاومتی احتمالاً از طریق افزایش سنتز پروتئین عضلانی در تنظیم توده عضلانی و هایپرتروفی عضلانی موش‌های دیابتی نقش دارد [۲۲]. کاهش بیان FoxO1 یافته اصلی مطالعه حاضر است. به عبارتی ۶ هفته تمرین مقاومتی به تعداد ۵ جلسه در هفته به کاهش معنی‌دار بیان FoxO1 در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی چاق دیابتی نوع ۲ منجر شد. جدا از این، برنامه تمرینی با کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا در موش‌های صحرایی مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل همراه بود. بر پایه شواهد موجود [۳۷] بر نقش موثر سطوح پروتئین یا بیان FoxO1 بر رهایی گلوکز کبدی، کاهش گلوکز خون در گروه تمرین را شاید بتوان به کاهش بیان FoxO1 ناشی از تمرین مقاومتی در سلول‌های کبدی نسبت داد. مشابه با مطالعه حاضر، برخی مطالعات آشکار نموده‌اند که سطوح FoxO1 متعاقب تمرینات ورزشی مستمر و طولانی مدت کاهش می‌یابد. بطوری‌که در مطالعه سوزا و همکاران، یک دوره تمرینات ورزشی با کاهش معنی‌دار فسفوریلاسیون FoxO1 و همچنین بیان G6P همراه با افزایش حساسیت انسولین و بهبود سطوح گلوکز در موش‌های چاق همراه بود [۲۳]. از طرفی، لی و همکاران، کاهش معنی‌دار سطوح FoxO1 را در آئورت موش‌های آزمایشگاهی را متعاقب یک دوره تمرینات مقاومتی در مقایسه با گروه کنترل گزارش نموده‌اند [۲۴]. برخی مطالعات نیز اشاره نموده‌اند که کاهش بیان FoxO1 دارای نقش مهمی در سازگاری عضله اسکلتی یا بافت چربی به تمرین استقامتی دارد، بطوری‌که مهار فعالیت FoxO1 به افزایش ظرفیت اکسایشی عضلات در پاسخ به تمرینات استقامتی منجر می‌شود [۲۵]. در این زمینه، اسلوپاک و همکاران در مطالعه‌ای که به بررسی اثر تمرینات

این یافته‌ها، بهبود انسولین سرم در گروه ورزش را شاید بتوان به افزایش بیان Foxo1 در بافت پانکراس در پاسخ به تمرینات HIIT نسبت داد. با این وجود، شناخت مکانیسم‌های عهده‌دار اثر فعالیت ورزشی بر سنتز و ترشح انسولین نیازمند مطالعات بیشتری است [۱۷].

اهمیت Foxo1 در سلول‌های کبدی بیماران دیابتی به اندازه‌ای است که برخی محققان علوم آزمایشگاهی به نقش موثر آن در سطوح بالای گلوکز یا هایپرگلیسمی ناشتایی وابسته به گلوکوتوژنز کبدی اشاره نموده‌اند. در این زمینه، کیتامورا و همکاران با استناد به یافته‌های خود به نقش موثر پروتئین Foxo1 در کنترل و تنظیم ژن‌های گلوکوتوژنیک کبدی وابسته به انسولین و پیامد آن کاهش رهایی گلوکز کبدی اشاره نموده‌اند [۲۷]. Foxo1 از مهمترین عوامل کلیدی موثر در تنظیم و تعادل هموستاز انرژی است که برخی عملکردهای آن بواسطه کنترل جریان گلیکولیتی و لیپولیتیک و متابولیسم میتوکندری همچنین تنظیم تجزیه پروتئین‌ها نمایان می‌شود که بواسطه فعالیت چندین عامل مهم از جمله مسیر میتوفاژی تسهیل می‌شود [۲۸]. اثرات Foxo1 روی رهایی گلوکز کبدی همچنین بواسطه تنظیم سطوح پروتئین یا بیان برخی ژن‌های گلوکوتوژنیک کبدی نظیر G6Pase و PEPCK حائز اهمیت است [۲۹]. بطوری که کاهش سطوح پروتئین یا بیان آن در سلول‌های کبدی با تغییر در بیان G6Pase و PEPCK همراه است که کاهش رهایی گلوکز کبدی وابسته به گلوکوتوژنز از پیامدهای آن می‌باشد [۲۹].

مطالعات ژنتیکی آشکار نموده‌اند که موش‌های دارای نقص Foxo1 از سطوح گلوکز کمتری نسبت به موش‌های سالم برخوردارند [۳۰]. تنظیم رونویسی Foxo1 توسط انسولین از طریق فسفوریلاسیون و توسط Akt و ممانعت هسته‌ای انجام می‌گیرد [۳۱]. به عبارتی، انسولین فعالیت رونویسی Foxo1 را از طریق ممانعت هسته‌ای مهار می‌کند، که با کاهش

رهایی تولید گلوکز همراه است [۲۷]. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که Foxo1 با بیان ژن فاکتور هسته‌ای کبدی (Hepatocyte Nuclear Factor 4 α) نقش مهمی در تنظیم ژن‌های گلوکوکیناز و گلوکوز ۶ فسفاتاز در واکنش به ناشتایی و غذا خوردن دارد [۳۲].

در مدل‌های مقاوم به انسولین، هم در شرایط نرمال و هم بعد از تحریک انسولین سطوح پروتئین‌های Foxo1 و HNF-4 α افزایش یافت. بنابراین تعامل ویژه Foxo1 و HNF-4 α می‌تواند همزمان ژن‌های گلوکوتوژنز و گلیکولیز را غیرفعال نماید [۲۹]. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که Foxo1 از طریق HNF-4 بیان ژن گلوکوکیناز را مهار و در بیان ژن گلوکز ۶-فسفات همکاری می‌کند [۳۳]. در یک جمع‌بندی، بیان Foxo1 در سلول‌های کبدی بطور مستقیم یا با تاثیر بر سایر مکانیسم‌های واسطه‌ای به افزایش سرعت فرآیند گلوکوتوژنز کبدی که پیامد آن افزایش رهایی گلوکز کبدی و هایپرگلیسمی است، منجر می‌شود و این پدیده در بیماران دیابتی نوع ۲ بارها گزارش شده است [۳۳].

محدودیت‌های پژوهش در این تحقیق، عدم سنجش ترکیب بدنی (عدم سنجش چربی احشائی و چربی زیر پوست) موش‌های صحرایی بود.

در پایان، بر پایه یافته‌های مطالعه حاضر، با تاکید بر کاهش بیان Foxo1 در سلول‌های کبدی در پاسخ به تمرینات مقاومتی، اجرای این روش تمرینی به جهت کاهش سطوح گلوکز خون در موش‌های دیابتی نوع ۲ پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

تمرینات مقاومتی به کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا در موش‌های صحرایی چاق دیابتی نوع ۲ منجر می‌شود. بر پایه شواهد آزمایشگاهی، این کاهش را می‌توان به نوعی به کاهش بیان Foxo1 در سلول‌های کبدی در پاسخ به تمرینات مقاومتی نسبت داد، بطوری که

ع. شرایط نگهداری و دفع لاشه حیوانات مورد آزمایش منجر به آلودگی‌های زیست محیطی نشد. کد اخلاق مصوب پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی IR.SSRI.REC.1399.645 می‌باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر با کد تصویب ۱۰۷۲۱۴۳۵۹۷۲۰۰۳ می‌باشد. بدینوسیله از همکاری کارکنان انستیتو پاستور که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافع را برای نویسندگان به دنبال نداشته است.

کاهش سطوح پروتئین و بیان FoxO1 بواسطه تاثیر بر مسیرهای سیگنالینگ منتهی بر رهایی گلوکز کبدی به کاهش سطوح گلوکز خون منجر می‌شود. کاهش گلوکز ناشتا را همچنین می‌توان به افزایش سطوح انسولین سرم در پاسخ به تمرینات مقاومتی نسبت داد.

ملاحظات اخلاقی

۱. حداقل حیوان مورد نیاز برای صحت آماری و حقیقی پژوهش استفاده شد.
۲. استفاده شایسته از حیوانات از جمله اجتناب یا کاهش فشار، استرس، رنج و درد وارده به حیوان اعمال شد.
۳. کشتن حیوانات طبق اصول اخلاقی با کمترین درد و آزار صورت گرفت (استفاده از دوز بیشتر داروی بیهوشی).

References

- 1- Lazar MA. How obesity causes diabetes: not a tall tale. *Science*. 2005 Jan;307(5708):373-5.
- 2- Ruchat SM, Rankinen T, Weisnagel SJ, Rice T, Rao DC, Bergman RN, et al. Improvements in glucose homeostasis in response to regular exercise are influenced by PPARG Pro12Ala variant: results from the HERITAGE Family Study. *Diabetologia*. 2010 Apr;53(4):679-89.
- 3- Kamagate A, Kim DH, Zhang T, Slusher S, Gramignoli R, Strom SC, et al. FoxO1 links hepatic insulin action to endoplasmic reticulum stress. *Endocrinology*. 2010 Aug;151(8):3521-35.
- 4- Kawano Y, Nakae J, Watanabe N, Fujisaka S, Iskandar K, Sekioka R, et al. Loss of Pdk1-Foxo1 signaling in myeloid cells predisposes to adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Diabetes*. 2012 Aug;61(8):1935-48.
- 5- Karim MA, Craig RL, Wang X, Hale TC, Elbein SC. Analysis of FOXO1A as a candidate gene for type 2 diabetes. *Mol Genet Metab*. 2006 Feb;88(2):171-7.
- 6- Schick EE. The effect of FoxO1 on glycemic control and skeletal muscle glucose uptake and lipid metabolism. *Theses and Dissertations*. 2014 Aug; Paper 1642.
- 7- Xiong X, Tao R, DePinho RA, Dong XC. Deletion of hepatic FoxO1/3/4 genes in mice significantly impacts on glucose metabolism through downregulation of gluconeogenesis and upregulation of glycolysis. *PLoS One*. 2013 Aug;8(8):e74340.
- 8- Nakae J, Kitamura T, Silver DL, Accili D. The forkhead transcription factor Foxo1 (Fkhr) confers insulin sensitivity onto glucose-6-phosphatase expression. *J Clin Invest*. 2001 Nov;108(9):1359-67.
- 9- Nakae J, Biggs WH, Kitamura T, Cavenee WK, Wright CV, Arden KC, et al. Regulation of insulin action and pancreatic beta-cell function by mutated alleles of the gene encoding forkhead transcription factor Foxo1. *Nat Genet*. 2002 Oct;32(2):245-53.
- 10- Haeusler RA, Hartil K, Vaitheesvaran B, Arrieta-Cruz I, Knight CM, Cook JR, et al. Integrated control of hepatic lipogenesis versus glucose production requires FoxO transcription factors. *Nat Commun*. 2014 Oct;5:5190:1-15.
- 11- O-Sullivan I, Zhang W, Wasserman DH, Liew CW, Liu J, Paik J, et al. FoxO1 integrates direct and indirect effects of insulin on hepatic glucose production and glucose utilization. *Nat Commun*. 2015 May;6:7079:1-12.

- 12- Puigserver P, Rhee J, Donovan J, Walkey CJ, Yoon JC, Oriente F, et al. Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through Foxo1-PGC-1 α interaction. *Nature*. 2003 May;423, 550–5.
- 13- Schmoll D, Walker KS, Alessi DR, Grempler R, Burchell A, Guo S, et al. Regulation of glucose-6-phosphatase gene expression by protein kinase B α and the forkhead transcription factor FKHR. Evidence for insulin response unit-dependent and –independent effects of insulin on promoter activity. *J Biol Chem*. 2000 Nov;275(46):36324-33.
- 14- Azad M, Khaledi N, Hedayati M. Effect of acute and chronic eccentric exercise on FOXO1 mRNA expression as fiber type transition factor in rat skeletal muscles. *Gene*. 2016 Jun;584 (2):180-4.
- 15- Sohaily S, Eizadi M, Tarmast D. Effect of resistance training on FOXO1 gene expression in subcutaneous fatty tissue in diabetic wistar rats. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2020;21(4):53-59. [Full text in Persian]
- 16- Almasi A, Behboudi tabrizi L, Izadi M. Investigation effect of 12-week High-Intensity Interval Training FOXO1 Gene Expression of Subcutaneous Adipose Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats. *J Neyshabur Univ Med Sci*. 2018;6(2):12-20. [Full text in Persian]
- 17- Karimi M, Eizadi M. The effect of interval training on FOXO1 expression in pancreas tissue of diabetic rats with high fat diet and STZ. *Razi J Med Sci*. 2019;26(6):95-104. [Full text in Persian]
- 18- Stephanie-May R, Weisnagel SJ, Tuomo R, Bouchard C, Vohl M.C, Perusse L. Interaction between HNF4A polymorphisms and physical activity in relation to type 2 diabetes-related traits: Results from the Quebec Family Study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009 Jun;84(3):211-8.
- 19- Sun YP, Lu NC, Parmley WW, Hollenbeck CB. Effect of cholesterol diets on vascular function and Atherogenesis in rabbits. *Proc Soc Exp Bio Med*. 2008 July;224(3):166-171.
- 20- Kalthor H, Peeri M, Matin Homae H, Izadi M. The effect of 6 weeks resistance training and HIT on GLP-1 gene expression of diabetic rats. *IJDO*. 2018 Apr;10(1):42-49. [Full text in Persian]
- 21- Coughlin CC, Finck BN, Eagon JC, Halpin VJ, Magkos F, Mohammed BS, et al. Effect of marked weight loss on adiponectin gene expression and plasma concentrations. *Obesity (Silver Spring)* 2007 Mar;15(3):640-5.
- 22- Molanouri Shamsi M. The effect of resistance training with skeletal muscle hypertrophy on calcineurin activation and expression of IL-6 myokine in fast twitch skeletal muscle of diabetic rats. *Sport Physiology*. 2017 winter;8(32):201-14. [Full text in Persian]
- 23- Souza Pauli LS, Ropelle EC, de Souza CT, Cintra DE, da Silva AS, de Almeida Rodrigues B, et al. Exercise training decreases mitogen-activated protein kinase phosphatase-3 expression and suppresses hepatic gluconeogenesis in obese mice. *J Physiol*. 2014 Mar;592(6):1325-40.
- 24- Li M, LW, Yoon JH, Jeon BH, Lee SK. Resistance exercise training increase activation of AKT-eNOS and Ref-1 expression by FOXO-1 activation in aorta of F344 rats. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2015 Sep;19(3):165–71.
- 25- Sanchez AM. FoxO transcription factors and endurance training: a role for FoxO1 and FoxO3 in exercise-induced angiogenesis. *J Physiol*. 2015 Jan;593(2):363-4.
- 26- Slopack D, Roudier E, Liu ST, Nwadozi E, Birot O, Haas TL. Forkhead BoxO transcription factors restrain exercise-induced angiogenesis. *J Physiol*. 2014 Sep;592(18):4069-82.
- 27- Kitamura T, Feng Y, Ido Kitamura Y, Chua SC, Xu AW, Barsh GS, et al. Forkhead protein FoxO1 mediates Agrp-dependent effects of leptin on food intake. *Nature Medicine*. 2006 Apr;12:534–40.
- 28- Sanchez AM, Candau RB, Bernardi H. FoxO transcription factors: their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *Cell Mol Life Sci*. 2014 May;71(9):1657-71.
- 29- Matsumoto M, Pocai A, Rossetti L, Depinho RA, Accili D. Impaired regulation of hepatic glucose production in mice lacking the forkhead transcription factor Foxo1 in liver. *Cell Metab*. 2007 Sep;6(3):208-16.
- 30- Haeusler RA, Han S, Accili D. Hepatic FoxO1 ablation exacerbates lipid abnormalities during hyperglycemia. *J Biol Chem*. 2010 Aug;285:26861-68.
- 31- Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, Lin MZ, Juo P, Hu LS, et al. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a forkhead transcription factor. *Cell*. 1999 Mar; 96(6):857-68.

- 32- Hirota K, Sakamaki J, Ishida J, Shimamoto Y, Nishihara S, Kodama N, et al. A combination of HNF-4 and Foxo1 is required for reciprocal transcriptional regulation of glucokinase and glucose-6-phosphatase genes in response to fasting and feeding. *J Biol Chem.* 2008 Nov;47, 32432–41.
- 33- Ganjam GK, Dimova EY, Unterman TG, Kietzmann T. FoxO1 and HNF-4 are involved in regulation of hepatic glucokinase gene expression by resveratrol. *J Biol Chem.* 2009 Nov;284, 30783–97.