

علوم زیستی ورزشی - بهار ۱۳۹۷
دوره ۱۰، شماره ۱، ص: ۱۲ - ۱
تاریخ دریافت: ۰۵ / ۰۱ / ۹۴
تاریخ پذیرش: ۲۵ / ۰۲ / ۹۴

تأثیر چهار هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن کانال کلسیمی گیرنده‌های رایانودین (RyR2)، SERCA2a و فسفولامبان قلب رت‌های نر دیابتی

محمد رضا ایزدی^{۱*} - عباسعلی گائینی^۲ - علی اصغر رواسی^۳ - مریم دلفان^۴
۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران ۳۰۳. استاد دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴. استادیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه الزهرا (س)

چکیده

کاردیومیوپاتی دیابتی از مهم‌ترین عوارض دیابت و از علل اصلی مرگ‌ومیر در افراد دیابتی است. این بیماری در سطح مولکولی ریشه در تنظیم نامناسب بیان یا فعالیت پروتئین‌های متعدد درگیر در حفظ یا تنظیم هموستاز کلسیم درون سلولی دارد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر چهار هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن کانال کلسیمی گیرنده‌های رایانودین (RyR2)، SERCA2a و فسفولامبان قلب رت‌های نر دیابتی بود. پژوهش حاضر از نوع تجربی است و بدین منظور ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار به دو گروه کنترل بی‌تحرک و تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. به هر دو گروه از طریق تزریق درون‌صفافی محلول STZ دیابت القا شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها تشریح و بطن چپ استخراج شد. برای بررسی میزان بیان ژن RyR2، SERCA2a و فسفولامبان از روش Real Time-PCR و برای مقایسه دو گروه از آزمون t مستقل در سطح آلفای ۰/۰۵ استفاده شد. نتایج نشان داد چهار هفته تمرین تناوبی خیلی شدید، بیان ژن RyR2 در بطن چپ قلب گروه HIIT را در حد معناداری $P=0/03$ افزایش داد و بیان ژن SERCA2a و فسفولامبان با وجود افزایش، تفاوت معناداری نداشت. براساس این یافته‌ها می‌توان نتیجه‌گیری کرد چهار هفته تمرین تناوبی با شدت بالا می‌تواند با افزایش بیان ژن RyR2 در قلب رت‌های دیابتی، بدتنظیمی‌های ایجادشده در این دو پروتئین مؤثر در چرخه انقباض قلبی را جرح و تعدیل کند و احتمالاً خطر بروز کاردیومیوپاتی دیابتی را بکاهد.

واژه‌های کلیدی

کاردیومیوپاتی دیابتی، RyR2، SERCA2a، PLB.

مقدمه

براساس نتایج مطالعات آترواسکلروز کرونری و کاردیومیوپاتی در اثر متابولیسم غیرطبیعی وابسته به دیابت به وجود می‌آید (۱). کاردیومیوپاتی دیابتی، بدون وجود هیچ علائمی از آسیب عروقی در مدل‌های حیوانی و بالینی دیابت مشاهده شده است (۲). در این بیماری، افزایش غیرعادی گلوکز پلاسما، سلول‌های قلبی را مستعد مرگ سلولی به روش آپوپتوز می‌کند و در نهایت موجب تغییر انقباض عضلانی می‌شود (۳). در سطح مولکولی این تغییرات به احتمال زیاد ریشه در تغییرات بیان یا فعالیت پروتئین‌های متعدد درگیر در حفظ یا تنظیم هموستاز کلسیم درون سلولی دارد (۴). یکی از این گروه پروتئین‌ها، گیرنده‌های رایانودین (RyR2)^۱ نامیده می‌شوند که بخشی از کانال‌های آزادکننده کلسیم درون سلولی‌اند که در غشای شبکه سارکوپلاسمی قرار گرفته‌اند (۵). بازگشت به مقادیر دیاستولی کلسیم برای آرمیدگی عضله قلب در چرخه کلسیم نیز از راه پمپ ATPase کلسیمی شبکه سارکوپلاسمی (SERCA2a)^۲ صورت می‌پذیرد (۶). آرامش عضله قلب متعاقب فرایند تأخیر کلسیم آغاز می‌شود، که به وسیله جمع‌آوری کلسیم و سازوکار انتشار کلسیم کنترل می‌شود. در فرایند جمع‌آوری کلسیم، پمپ SERCA، کلسیم را از سیتوزول به درون شبکه سارکو-اندوپلاسمی پمپ می‌کند (۷). پروتئین فسفولامبان نیز در حالت غیرفسفریله پمپ SERCA2a را مهار می‌کند، اما در حالت فسفریله به عملکرد SERCA2a کمک می‌کند و موجب افزایش استراحت میوکارد می‌شود. هر گونه تغییر در حساسیت RyR2، SERCA2a و PLB فعالیت‌های وابسته به کلسیم (بدتنظیمی این سه پروتئین) در دیابت مزمن، مسئول بخشی از کاهش سرعت عضله قلبی و انقباض قلبی است (۷).

در رت‌هایی که دیابت از راه STZ^۳ القا شده است نیز علاوه بر کاهش در بیان ژن و پروتئین‌های تنظیم‌کننده چرخه کلسیم عضله قلب، یکپارچگی و درستی عملکردی گیرنده‌های رایانودین با ابتلای به این بیماری کاهش یافته است که کاهش معناداری در بیان ژن و پروتئین‌های تنظیم‌کننده مانند PLB^۴، SERCA2a، RyR2^۵، NCX^۵ گزارش شده است (۴،۶).

-
1. Ryanodine receptor calcium channel
 2. Sarco/Endoplasmic reticulum calcium pump
 3. Streptozotocin
 4. Phospholamban
 5. Natrium/Calcium exchanger

برنامه تمرینی از مؤثرترین راهبردهای کاهش پیشرفت کاردیومیوپاتی و کاهش دهنده بروز عوارض قلبی-عروقی و مرگ‌ومیرهای ناشی از دیابت است (۸). مطالعات انجام‌گرفته در رت‌های دیابتی نوع ۱ نشان داده است در اختلالات قلبی ناشی از دیابت، بیشترین تأثیر برنامه‌های تمرینی بر عواملی چون کسر تزریقی و حجم ضربه‌ای رت‌هاست (۹، ۵).

تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)^۱ در توسعه ظرفیت هوازی ورزشی و عملکردهای قلبی-عروقی افراد سالم و بیماران قلبی-عروقی در مقایسه با تمرین‌های تداومی با شدت متوسط مؤثرتر و مفیدتر است (۱۱، ۱۰، ۶). همچنین این نوع تمرین در مقایسه با شیوه سنتی تمرین (شدت پایین تا متوسط و با حجم بالا)، به سبب شدت خیلی زیاد در وهله‌های کوتاه تکراری، در نوسازی قلبی، کنترل گلوکز خون و خیلی از عوارض بالینی دیگر بیماری دیابت و همچنین بهبود عوامل خطر بیماران قلبی، مؤثر بوده است (۱۲، ۷). توماس استولن^۲ و همکاران (۲۰۰۹) سازوکارهای پنهان اختلال عملکرد عضله قلبی را بررسی و سپس یک برنامه تمرینی هوازی اینتروال را به مدت ۱۳ هفته در موش‌های دیابتی بازآزمایی کردند. آنها نتیجه گرفتند یک برنامه منظم تمرینی، انقباضات غیرطبیعی همراه با کاردیومیوپاتی دیابتی را از بین می‌برد و کنترل کلسیم عضله قلبی را ترمیم می‌کند و قدرت انقباض به‌طور عمده توسط فسفوریلاسیون کالمودولین و فسفوریلاسیون جبرانی وابسته به PKA^۳ به سطوح قابل مقایسه با موش‌های سالم گروه کنترل بی تمرین می‌رسد (۱۲). آنه‌افستاد^۴ و همکاران (۲۰۱۳) نیز با اجرای ۸ تا ۱۰ هفته تمرین تناوبی با شدت‌های متوسط و بسیار شدید در موش‌های دیابتی چاق در هر دو نوع تمرین تناوبی خیلی شدید و متوسط شاهد کاهش چاقی و طبیعی شدن عملکرد و ساختار بطن چپ در این موش‌ها بودند (۱۳).

گیرنده‌های RyR2 در اثر دیابت نسبت به عمل کلسیم حساس‌تر می‌شوند و کلسیم بیشتری برای غیرفعال شدن کانال‌ها مورد نیاز است. برنامه تمرین ورزشی این تغییرات کلسیم را کند می‌کند. تا به امروز، مکانیسم‌های زیربنایی حساسیت RyR2 به فعالیت کلسیم یا غیرفعال ماندن آنها به‌صورت محدود بررسی شده است (۸). سازوکارهای پنهان آثار مفید تمرینات ورزشی بر قلب‌های دیابتی هنوز به‌خوبی معلوم نشده است؛ علاوه بر این هرچند در حیوانات سالم به‌خوبی اثبات شده است که سازگاری عضله

1 . High intensity interval training
2 . Tomas O. Stølen
3 . Protein Kinase A
4. AnneD.Hafsta

قلبی به تمرینات، به شدت برنامه تمرینی بستگی دارد، اما مطالعات جامع که مدت زمان و شدت تمرینات و آثار تنظیمی ناشی از آن را برای رسیدن به آثار مطلوب مورد نیاز در عملکرد قلب دیابتی را بیازماید، کم و پراکنده است (۱۴). در این مطالعه بیان ژنی کانال‌های کلسیمی گیرنده‌های رایانودین، پمپ کلسیمی SERCA2a و فسفولامبان در پاسخ به اینکه آیا یک دوره ۴ هفته‌ای تمرین تناوبی باشدت بالا می‌تواند در بیان ژنی این پروتئین‌ها در رت‌هایی که به دیابت مبتلا شده‌اند مؤثر باشد، بررسی شد.

روش‌شناسی

آشنایی حیوانات با محیط و فعالیت ورزشی

در این پژوهش، رت‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران به مدت یک هفته برای سازگاری با محیط نگهداری شدند. آشناسازی رت‌ها با برنامه تمرینی تناوبی با شدت بالا، پس از القای دیابت با پنج جلسه تمرین در یک هفته انجام گرفت؛ به این شکل که در روز اول تمرین، رت‌ها با نهایت دقت و آرامش روی نوار گردان قرار گرفتند و با سرعت خیلی کم و یکنواخت شروع به تمرین کردند و برای آشنایی با برنامه تمرین تناوبی مورد نظر با سرعت‌های کمتر از تمرین تناوبی استفاده شد تا رت‌ها به نوع تمرین عادت کنند و با برنامه تمرینی آشنا شوند. هفته بعد از آشنایی، تمرین اصلی به مدت چهار هفته شروع شد و به پایان رسید.

آزمودنی‌ها و نحوه القای دیابت

مطالعه بر روی ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین وزن 245 ± 10 انجام گرفت. رت‌ها به صورت تصادفی به دو گروه ۱۲ تایی: کنترل (C)، تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن استرپتوزوتوسین (STZ) محلول در بافر سیترات (PH: ۴/۵) و به صورت تک‌دوز و داخل‌صفاقی به رت‌ها تزریق شد. برای تأیید ایجاد دیابت، چهار روز پس از تزریق STZ میزان قند خون به وسیله گلوکومتر صفر-یک (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری و سطح گلوکز ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد.

برنامه تمرین

دو هفته پس از القای دیابت، رت‌ها به صورت تصادفی به دو گروه ۱۲ تایی: کنترل (C)، تناوبی باشدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. در همین زمان رت‌ها با نوار گردان آشنا شدند (چهار سر به‌عنوان

پایلوت پروتکل‌ها انتخاب شدند). رت‌های گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه‌ی فعالیت ورزشی شرکت نکردند. برنامه‌ی تمرینی گروه HIIT شامل ۲۴ دقیقه فعالیت ورزشی دویدن بر روی نوار گردان بود. رت‌ها برنامه‌ی تمرینی خود را بدین شرح شروع کردند: ۵ دقیقه گرم کردن (با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد VO_{2max}) با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه، ۴ تناوب (۳ دقیقه با شدت ۸۵ تا ۹۰٪ VO_{2max} با سرعت ۱۸ تا ۲۲ متر بر دقیقه و ۱ دقیقه بازیافت با شدت ۳۰ تا ۳۵ درصد VO_{2max})، ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد VO_{2max} با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه. گروه HIIT پروتکل مربوط به خود را پنج روز در هفته به مدت چهار هفته انجام دادند (۶).

استخراج RNA از بافت و سنتز cDNA

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی، رت‌ها به وسیله‌ی تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شده، سپس بافت بطن چپ قلب بلافاصله استخراج و در نیتروژن -۸۰ منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شد. برای سنجش بیان ژنی از روش Real time - PCR با Premix Ex Taq II و از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده شد و میزان بیان این ژن به صورت توأمان با هر ژن اندازه‌گیری شد؛ بدین منظور ابتدا RNA سلول‌ها استخراج شد و سپس طی مراحل به نام DNase I treatment، با DNase I تیمار شد. در این روش در صورت وجود DNA اضافی در نمونه، DNA حذف می‌شود. cDNA سنتز شده برای RyR2 و SERCA2a با ۴۰ میکرو لیتر RNase & DNase free water - رقیق شد. ۱/۵ میکرو لیتر از هر یک از رت‌ها به همراه ۷/۵ میکرو لیتر Master Mix تولیدی ampliqon (دانمارک) و یک میکرو لیتر از پرایمرها Forward و یک میکرو لیتر از پرایمر backward در چهار میکرو لیتر آب فاقد نوکلئاز (Nuclease-free Water) برای رسیدن به حجم نهایی ۱۵ میکرو لیتر به خوبی حل و مخلوط شد. تمام واکنش‌ها به شکل دوتایی (دابلیکیت) انجام گرفت. در نهایت میکرو تیوپ‌ها در محل مخصوص خود در دستگاه قرار داده شد و واکنش‌های تکثیر طی ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده‌ی کیت انجام گرفت. در نهایت منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها توسط نرم‌افزار موجود در سیستم آنالیز و رسم شد. برای اطمینان از اختصاصی بودن محصول واکنش منحنی دمای ذوب Melting Curve نیز رسم شد. به منظور بررسی تغییرات بیان ژن‌های مورد نظر نیز واکنش qRT-PCR به ترتیب ذکر شده انجام گرفت. برای کنترل داخلی از ژن GAPDH استفاده شد و جهت کنترل کیفی محصول واکنش GAPDH مربوط به نمونه بر روی ژل دو درصد انتقال داده شد و از نظر وجود یا نبود محصول بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری

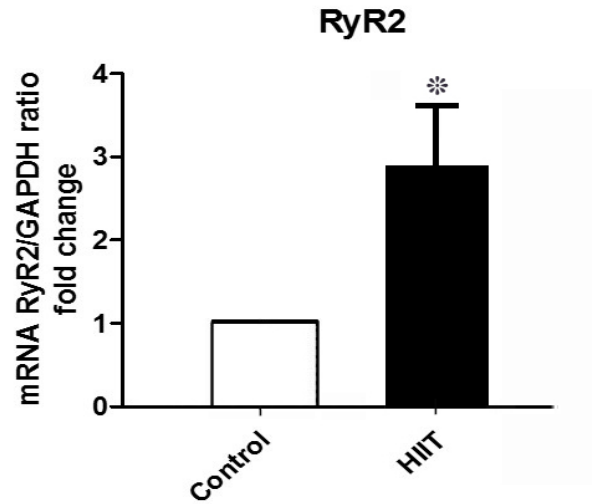
برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژنی ژن مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد و مقادیر fold change محاسبه شد. طبیعی بودن توزیع‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک ارزیابی و مشخص شد، سپس برای تعیین اختلاف میانگین مشخصه‌های رت‌ها و بیان ژنی عضله قلبی رت‌ها با استفاده از آزمون t مستقل در دو گروه مقایسه شد. همه تحلیل‌ها با نرم‌افزار Graph Pad (نسخه ۵) در سطح معناداری $P \leq 0.05$ انجام گرفت. حجم نمونه با در نظر گرفتن $\alpha = 0.05$ و $\beta = 0.01$ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ محاسبه شد.

نتایج

مشخصه‌های عمومی رت‌های دو گروه شامل دو متغیر وزن و گلوکز موجود در خون در جدول ۱ آمده است. همان‌طور که انتظار می‌رود، سطح گلوکز خون در گروه دیابتی کنترل نسبت به گروه تمرین کرده بالاتر است که نشان می‌دهد تمرین، سطوح گلوکز خون را پایین آورده است. در پایان مطالعه میانگین وزنی رت‌ها در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. در عضله بطن چپ گروه تمرین کرده میزان بیان ژن در RyR2، SERCA2a و PLB به ترتیب $1/2, 20/86$ و $1/14$ برابر نسبت به سطح پایه بیان ژن افزایش یافت (شکل‌های ۱ تا ۳). میزان تفاوت در میانگین بیان ژن در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل در RyR2 معنادار $P = 0.03$ ، ولی این میزان در SERCA2a و PLB معنادار نبود (به ترتیب $P = 0.14$ و $P = 0.19$).

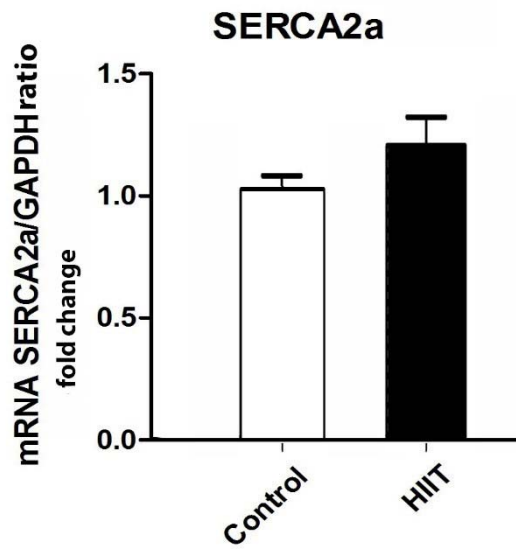
جدول ۱. مشخصات عمومی وزن و گلوکز خون رت‌ها

متغیرها	گروه HIIT	گروه کنترل
وزن (گرم)	$276/4 \pm 16/5$	$238/1 \pm 17/9$
گلوکز خون (میلی‌گرم)	$502/8 \pm 13/4$	$577/6 \pm 11/5$

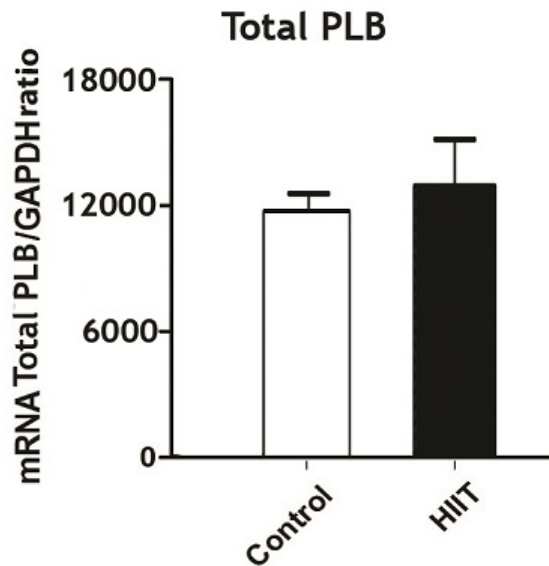


شکل ۱. نسبت بیان ژنی RyR2 به GAPDH

*نشانه تفاوت معنادار با گروه کنترل در سطح معناداری $P \leq 0.05$



شکل ۲. نسبت بیان ژنی SERCA2a به GAPDH



شکل ۳. نسبت بیان ژنی PLB به GAPDH

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر چهار هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر بیان ژن کانال کلسیمی گیرنده‌های رایانودین (RyR2)، SERCA2a و PLB قلب رت‌های دیابتی بود. بیان ژن در RyR2 و SERCA2a و PLB به ترتیب ۲/۸۶، ۱/۲۰ و ۱/۱۴ برابر نسبت به سطح پایه بیان ژن افزایش یافت. میزان تفاوت در میانگین بیان ژن در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل در RyR2 معنادار $P=0/03$ ولی این میزان در SERCA2a و PLB معنادار نبود ($P=0/14$ و $P=0/19$).

دیابت‌های نوع ۱ و ۲ با نقص انقباض‌پذیری عضله قلبی همراهند. مطالعات بالینی به بررسی عواملی که موجب کاهش و بهبود این نقص می‌شود پرداخته‌اند. یکی از مهم‌ترین این عوامل، فعالیت ورزشی است که می‌تواند فرایندهای نقصان‌پذیر ناشی از این نقیصه را جبران کند. با اینکه تأثیر برنامه تمرینی بر کندی یا تأخیر کاهش انقباض عضله قلبی ناشی از دیابت پذیرفته شده است، سازوکارهای مولکولی درگیر در برنامه تمرینی، سازگاری خاصی را ایجاد می‌کند که به‌عنوان روشی برای درمان دیابت پذیرفته می‌شود. بیماران مبتلا به دیابت به مرور زمان دچار بدکاری سیستمی شدید می‌شوند که این همان کاردیومیوپاتی دیابتی است و به‌دلیل تغییرات در بیان و عملکرد ژن‌ها و پروتئین‌های متعددی که در

تنظیم یا حفظ هموستاز کلسیم درون سلولی دخیل‌اند، اتفاق می‌افتد (۱۵، ۱). در این مطالعه از یک رویکرد چندجانبه استفاده شده است تا برای اولین بار نشان داده شود که تمرین تناوبی با شدت بالا در رت‌هایی که مبتلا به دیابت القا شده‌اند، تنظیم نامناسب RyR2 را به وسیله یک سازوکار که شدت و مدت تمرین را هدف قرار داده است، بهبود می‌بخشد. این نوع تمرین اثر کاهشی بیان ژن RyR2 و SERCA2a و بدکاری آنها را که از کاردیومیوپاتی دیابتی ناشی می‌شود، طبیعی می‌سازد یا کاهش می‌دهد. در این زمینه نتایج ضد و نقیضی وجود دارد. در پژوهش‌های سالم^۱ و همکاران (۲۰۱۳) و شائو^۲ و همکاران (۲۰۰۹) که تأثیرات تمرینات ورزشی بر میزان بیان پروتئین و ژن RyR2 و SERCA2a را سنجیده‌اند، به ترتیب عدم تغییر در بیان دو ژن و افزایش سنتز پروتئین صرفاً در فرم فسفریله RyR2 را گزارش کرده‌اند. برنامه تمرینی هر دو پژوهش از نوع تداومی با شدت صعودی بوده است.

تغییرات در RyR2 و فسفولامبان (PLB) می‌تواند عملکرد پمپ کلسیمی SERCA2a را در قلب تنظیم کند که به کنترل بارگذاری کلسیم و میزان دقیق جابه‌جایی و پمپاژ کلسیم منجر می‌شود. بیان افزایش‌یافته RyR2 و افزایش فعالیت آن به کاهش ناپایداری‌های کلسیم و سپس تنظیم انقباض‌پذیری عضله قلبی از طریق تنظیم بیان PLB و SERCA2a منجر می‌شود (۱۶). نتایج نشان داد که فرم غیرفسفریله پروتئین PLB در مدت چهار هفته تمرین تناوبی بیان نشد که خود با معنادار نشدن بیان SERCA2a هماهنگ است. البته می‌توان معنادار نشدن سطح بیان ژن SERCA2a و PLB را در این پژوهش به برنامه تمرینی چهار هفته‌ای نسبت داد، چراکه هرچه این مدت زمان افزایش یابد، احتمال می‌رود سطوح بیان ژن این پروتئین افزایش یابد. پس از شروع دیابت غیرهمزمانی در آزادسازی کلسیم دیاستولی مستقیماً به بدتنظیمی RyR2 نسبت داده شده است، اما هنوز تشخیص سازوکار غیرهمزمانی آزادسازی کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی ضعیف باقی مانده است (۱۷). مطالعاتی اظهار کرده‌اند که تأثیرات ورزش بر سیستم قلبی-عروقی به شدت یا میزان ورزش بستگی دارد (۱۸، ۱۹، ۱۱). شدت و مدت فعالیت ورزشی به کاررفته در این مطالعه در مقایسه با مطالعات مشابه که تأثیرات فعالیت ورزشی بر کاردیومیوپاتی دیابتی را نشان داده‌اند، متفاوت است و این تفاوت در تدوین یک برنامه تمرینی تعدیل‌شده تناوبی با شدت بالا براساس VO2max رت‌ها و زمان چهار هفته‌ای آن مشهود است. مطالعاتی تأثیرات مفید فعالیت ورزشی را بر هموستازی گلوکز عضله قلبی را نشان داده‌اند (۹). درحالی‌که شدت

1 . Salem

2 . Chung Hong Shao

فعالیت ورزشی در این مطالعه در محدوده‌ای قرار دارد که در گذشته توضیح داده نشده است، بنابراین می‌توان فرض کرد که مدت کوتاه تمرین ورزشی و شدت‌های خیلی بالا و دوره‌های بازیافت کوتاه نقش اصلی را در این نتایج ایفا کرده است. چهار هفته تمرین تناوبی با شدت بالا میزان گلوکز خون را به مقدار کم در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل کاهش داده است که می‌توان این کاهش را به اثرات عمومی تمرین در کاهش مقادیر گلوکز در بیماران دیابتی و میزان پایین افت گلوکز خون را به عدم انسولین‌درمانی رت‌ها در مدت زمان اجرای برنامه تمرینی نسبت داد، چراکه مطالعاتی که در کنار انسولین، برنامه تمرینی با شدت متوسط را اجرا کرده‌اند، به تأثیرات مفیدش بر کنترل گلوکز و توانایی آن در به افت قابل توجه گلوکز خون، تأخیر پیشرفت عوارض ناشی از دیابت از جمله کاردیومیوپاتی دیابتی اذعان کرده‌اند (۵). همچنین داده‌های وزن از افزایش اندک و غیرمعنادار وزن در رت‌های گروه تمرین HIIT نسبت به گروه کنترل خبر می‌دهد. این افزایش را می‌توان به دسترس آزادانه و دائمی رت‌ها به آب و غذا توجه کرد. از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم سنجش سنتز پروتئینی و نیز عدم سنجش فرم‌های فسفریله پروتئین‌ها اشاره داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌طور کلی حاکی از آن است که تمرین تناوبی با شدت بالا در مدت چهار هفته سطوح mRNA پروتئین RyR2 را افزایش می‌دهد که بیانگر آن است که روند تخریب یا بدعملکردی این پروتئین کاهش یافته یا به تأخیر افتاده است. نتایج ضدونقیض با پژوهش حاضر نیز در پژوهش‌های سالم و همکاران (۲۰۱۳) و چانگ‌هانگ شائو و همکاران (۲۰۰۹) که به ترتیب عدم تغییر در بیان دو ژن و افزایش سنتز پروتئین صرفاً در فرم فسفریله RyR2 را گزارش کرده‌اند، مشهود است که علت را می‌توان به نوع و خواص برنامه تمرینی HIIT نسبت به تمرینات تداومی نسبت داد. با انجام پژوهش‌های تکمیلی در مورد پروتئین‌های دخیل در حفظ و هموستاز کلسیم عضله قلبی و با سنجش سطوح سنتز این پروتئین‌ها می‌توان با قطعیت بیشتری درباره تأثیرات تمرینات HIIT در پیشگیری یا جلوگیری ابتلای بیماران دیابتی به عوارض قلبی-عروقی ناشی از دیابت اظهار نظر کرد.

منابع و مأخذ

1. Bidasee KR, Nallani K, Yu Y, Cocklin RR, Zhang Y, Wang M, et al. Chronic diabetes increases advanced glycation end products on cardiac ryanodine receptors/calcium-release channels. *Diabetes*. 2003;52(7):1825-36.
2. Dincer UD. Cardiac ryanodine receptor in metabolic syndrome: is JTV519 (K201) future therapy? *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 2012;5:89.
3. Duan J, Zhang H-Y, Adkins SD, Ren BH, Norby FL, Zhang X, et al. Impaired cardiac function and IGF-I response in myocytes from calmodulin-diabetic mice: role of Akt and RhoA. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 2003;284(2):E366-E76.
4. Shao C-H, Wehrens XH, Wyatt TA, Parbhu S, Rozanski GJ, Patel KP, et al. Exercise training during diabetes attenuates cardiac ryanodine receptor dysregulation. *Journal of applied physiology*. 2009;106(4):1280-92.
5. Pereira L, Matthes J, Schuster I, Valdivia HH, Herzig S, Richard S, et al. Mechanisms of $[Ca^{2+}]_i$ transient decrease in cardiomyopathy of db/db type 2 diabetic mice. *Diabetes*. 2006;55(3):608-15.
6. Wisløff U, Støylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognum Ø, Haram PM, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation*. 2007;115(24):3086-94.
7. Meyer P, Normandin E, Gayda M, Billon G, Guiraud T, Bosquet L, et al. High-intensity interval exercise in chronic heart failure: protocol optimization. *Journal of cardiac failure*. 2012;18(2):126-33.
8. Lahaye SLD, Rebillard A, Zguira MS, Malardé L, Saïag B, Gratas-Delamarche A, et al. Effects of exercise training combined with insulin treatment on cardiac NOS1 signaling pathways in type 1 diabetic rats. *Molecular and cellular biochemistry*. 2011;347(1-2):53-62.
9. Howarth FC, Almugaddum F, Qureshi M, Ljubisavijevic M. Effects of varying intensity exercise on shortening and intracellular calcium in ventricular myocytes from streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Molecular and cellular biochemistry*. 2008;317(1-2):161.
10. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular research*. 2008;81:723-32(4).

11. Guimaraes GV, Ciolac EG, Carvalho VO, D'Avila VM, Bortolotto LA, Bocchi EA. Effects of continuous vs. interval exercise training on blood pressure and arterial stiffness in treated hypertension. *Hypertension Research*. 2010;33(6):627.
12. Stølen TO, Høydal MA, Kemi OJ, Catalucci D, Ceci M, Aasum E, et al. Interval training normalizes cardiomyocyte function, diastolic Ca²⁺ control, and SR Ca²⁺ release synchronicity in a mouse model of diabetic cardiomyopathy. *Circulation research*. 2009;105; (527-636).
13. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*. 2013;62(7):2287-94.
14. Amatyakul S, Chakraphan D, Chotipaibulpan S, Patumraj S. Role of exercise training on pulpal blood flow in diabetic rats. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2006;34(1-2):295-301.
15. Sheikh AQ, Hurley JR, Huang W, Taghian T, Kogan A, Cho H, et al. Diabetes alters intracellular calcium transients in cardiac endothelial cells. *PloS one*. 2012;7(5):e36840.
16. Wang M, Zhang W-b, Zhu J-h, Fu G-s, Zhou B-q. Breviscapine ameliorates cardiac dysfunction and regulates the myocardial Ca²⁺-cycling proteins in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta diabetologica*. 2010;47(1):209-18.
17. Rodrigues B, Cam MC, McNeill JH. Myocardial substrate metabolism: implications for diabetic cardiomyopathy. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1995;27(1):169-79.
18. Loganathan R, Bilgen M, Al-Hafez B, Zhero SV, Alenezy MD, Smirnova IV. Exercise training improves cardiac performance in diabetes: in vivo demonstration with quantitative cine-MRI analyses. *Journal of Applied Physiology*. 2007;102(2):665-72.
19. Harthmann AD, De Angelis K, Costa LP, Senador D, Schaan BD, Krieger EM, et al. Exercise training improves arterial baro-and chemoreflex in control and diabetic rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*. 2007;133(2):115-20.

The Effect of 4 Weeks of High Intensity Interval Training on Gene Expression of Calcium Channels of Ryanodine Receptors (RyR2), SERCA2a and Phospholamban in Heart of Diabetic Male Rats

Mohammad Reza Izadi^{*1} - Abbas Ali Gaeini² - Ali Asghar Ravasi³ - Maryam Delfan⁴

**1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran 2, 3. Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 4. Assistant Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
(Received:2015/3/25;Accepted:2015/5/15)**

Diabetic cardiomyopathy (DCM) is one of the most important complications of diabetes and is one of the major causes of death in diabetic patients. DCM at the molecular level is rooted in down regulation of expression or activity of those various proteins involved in maintenance or regulation of intracellular calcium homeostasis. The aim of this study was to investigate the effect of 4 weeks of high intensity interval training (HIIT) on gene expression of calcium channel of ryanodine receptors (RyR2), SERCA2a and phospholamban (PLB) in the heart of diabetic male rats. In this experimental study, 24 male Wistar rats were divided into two groups: sedentary control and HIIT. Diabetes was induced in both groups by intraperitoneal injection of Streptozotocin (STZ) solution. 24 hours after the last training session, the rats were euthanized and their left ventricle was extracted. Real Time-PCR technique was used to determine the gene expression of RyR2, SERCA2a and PLB. To compare the two groups, independent t test was used at alpha level of 0.05. The results revealed that 4 weeks of HIIT significantly increased gene expression of RyR2 in the left ventricle of the heart of HIIT group ($P=0.03$). Although gene expression of SERCA2a and phospholamban increased, they were not significantly different. Based on these findings, it can be concluded that 4 weeks of HIIT could prevent and minimize the maladjustments in these 2 proteins affecting cycle of cardiac contraction and reduce the risk of diabetic cardiomyopathy through increased RyR2 gene expression in the heart of diabetic rats.

Keywords

Diabetic cardiomyopathy, PLB, RyR2, SERCA2a.

* Corresponding Author: Email: Izadi.mreza@gmail.com, Tel: +989102099033