

## **The effect of the continuous aerobic and high-intensity interval training on IRS1 gene expression and its correlation with insulin resistance index of liver tissue in rats with type 2 diabetes mellitus**

**Bahmani M<sup>1</sup>, Peeri M<sup>2\*</sup>, Azarbajani MA<sup>3</sup>, Matinhomae H<sup>4</sup>**

Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2019/11/5 | Accepted: 2020/02/3

### **Abstract:**

**Background:** Physical activity has been recognized, as an effective way to prevent and treat diabetes. This study aimed to determine the effect of the continuous aerobic - versus high - intensity interval training on IRS1 gene expression and its correlation with insulin resistance index in liver tissue with type 2 diabetic rats.

**Materials and Methods:** In an experimental study, 24 male Wistar rats aged 6-5 weeks weighed 160 to 180 g. The rats were randomly divided into three groups of 8 controls, aerobic continuity, and severe periodicity. Each group performed their protocol five days a week for eight weeks. 24 hours after the last training session, blood samples were collected directly from heart of rats. The liver tissue was immediately extracted. Pearson correlation, one-way ANOVA and Tukey post hoc test were used to analyze the data.

**Results:** The results of this research showed that both trainings had a significant effect on the expression of IRS1 gene in the liver of type 2 diabetes mellitus than in the control group ( $P=0.011$ ), but no difference was observed in the two training groups ( $P=0.874$ ). There was a significant correlation between IRS1 gene expression and insulin resistance index in the liver of type 2 diabetic rats after a HIIT and continuous exercise ( $P=-0.634$ ). Increasing the IRS1 gene, reduced the insulin resistance index ( $r= -0.634$ ,  $P=0.005$ ).

**Conclusion:** It seems that both intensive and continuous aerobic exercises could be used to improve the indices studied in subjects with type 2 diabetes.

**Keywords:** Aerobic continuous exercise, HIIT, Type 2 diabetes, IRS1 gene

**\*Corresponding Author:**

**Email:** m.peeri@iauctb.ac.ir

**Tel:** 0098 912 112 4434

**Fax:** 0098 212 248 1622

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2020; Vol. 24, No 2, Pages 142-150*

**Please cite this article as:** Bahmani M, Peeri M, Azarbajani MA, Matinhomae H. The effect of the aerobic continues and high-intensity interval training on IRS1 gene expression and its correlation with insulin resistance index of liver tissue in rats with type 2 diabetes mellitus. *Feyz* 2020; 24(2): 142-50.

## تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید و تداومی هوازی بر بیان ژن IRS1 و همبستگی آن با شاخص مقاومت به انسولین در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲

مهرنوش بهمنی<sup>۱</sup>، مقصود پیری<sup>۲\*</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۲</sup>، حسن متین همایی<sup>۲</sup>

### خلاصه:

سابقه و هدف: فعالیت بدنی به عنوان یک روش مؤثر برای پیشگیری و درمان دیابت شناخته شده است. هدف از این پژوهش، تعیین تأثیر تمرینات تداومی هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن IRS1 و همبستگی آن با شاخص مقاومت به انسولین در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.

**مواد و روش‌ها:** در یک مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن ۱۸۰ - ۱۶۰ گرم) پس از ۷ ماه رژیم غذایی پرچرب و حاوی فروکوتز به صورت تصادفی به سه گروه کنترل، تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید تقسیم شدند. هر گروه، پروتکل مربوط به خود را پنج روز در هفته به مدت هشت هفته انجام داد. نمونه ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، از قلب موش‌ها جمع‌آوری و بافت کبد بلا فاصله استخراج شد. تحلیل داده‌ها با آزمون ANOVA، آزمون تعقیبی توکی و همبستگی پیرسون انجام گرفت.

**نتایج:** هر دو مدل تمرینی، افزایش بیان ژن IRS1 را در کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲، نسبت به گروه کنترل به دنبال داشت ( $P=0.011$ )؛ اما اختلاف معناداری در دو گروه تمرینی مشاهده نشد ( $P=0.874$ ). بین بیان ژن IRS1 و شاخص مقاومت به انسولین در کبد موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲، بعد از یک دوره تمرین ورزشی تناوبی و تداومی، همبستگی ( $P=-0.634$ ) مشاهده شد.

افزایش بیان ژن IRS1 با کاهش شاخص مقاومت به انسولین همراه بود ( $P=0.005$ ,  $t=0.642$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که از هر دو روش تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید، برای بهبود شاخص‌های مورد مطالعه آزمودنی‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌توان استفاده کرد.

**واژگان کلیدی:** تمرین تداومی هوازی، تمرین تناوبی شدید، دیابت نوع ۲، بیان ژن IRS1

دو ماهنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۹، صفحات ۱۵۰-۱۴۲

این دو ایزوفرم بزرگ IRS-1 و IRS-2 به میزان بالا در کبد موش‌های نرم‌مال بیان شده، اما به مقادیر مختلف در کبد حیوانات و انسان‌های دیابتی کاهش یافته است [۵,۶]. از آنجایی که پروتئین IRS یک پیوند مهم در سیگنالینگ انسولین کبدی است، به نظر می‌رسد که احتمالاً کاهش بیان پروتئین IRS در کبد، یک آسیب مولکولی کلیدی مقاومت به انسولین کبدی باشد [۷,۸]. در چاقی و دیابت نوع ۲ به طور مدام بیان ژن IRS2 کاهش می‌یابد، اما IRS1 بدون تغییر باقی می‌ماند که در سلول‌های اندوتیال، کبد و ماکروفازها، منجر به اختلال جذب گلوکز و سرکوب گلوکونتئوزن می‌شود. در حالی که IRS1 نقش مهمی در مسیر سیگنالینگ انسولین دارد [۴]. محققان، مسیر سیگنالینگ انسولین توسط گیرنده‌های IR، IRS1 و AKT در بافت چربی، کبد و عضله را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که رژیم غذایی با افزایش چربی، مقاومت همه بافت‌ها را افزایش داده، با کاهش فسفریلاسیون IR و IRS1 و نیز بهوسیله فسفریلاسیون AKT به سرین، انتقال سیگنال را کاهش می‌دهد [۸]. برخی از محققان معتقدند که فعالیت بدنی بر مقاومت به انسولین حیواناتی که تحت رژیم غذایی با چربی بالا قرار گرفته‌اند، تأثیر معنی‌داری ندارد؛ اما زمانی که دو گروه چاق مقایسه شدند، فعالیت بدنی

### مقدمه

مقاومت به انسولین در کبد، منجر به توسعه دیابت نوع ۲ می‌شود [۲,۱]. کاهش حساسیت به انسولین کبدی موجب هیپرگلیسمی و افزایش تولید گلوکز کبدی شده، هیپرگلیسمی مزمن در بیماران دیابتی را تشیدید می‌کند [۳]. در شرایط فیزیولوژیکی، انسولین ترشح شده، بلا فاصله پس از وعده غذایی، از طریق مسیر سیگنالینگ سوبسترای گیرنده انسولین او ۲ Insulin receptor substrates 1 and 2 و نیز به تدریج بیان ژن IRS2 برای جلوگیری از افزایش قند خون فعال می‌شود [۴]. مقاومت به انسولین در کبد ممکن است ریشه در سیگنالینگ ناقص پروتئین‌های سوبسترای گیرنده انسولین Insulin receptor substrate، خانواده‌ای از مولکول‌های متصل به گیرنده‌های فعال انسولین داشته باشد.

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

\* لشان نویسنده مسئول،

تهران سوهانک دانشگاه آزاد تهران مرکزی دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی  
تلفن: ۰۹۱۲۱۱۲۴۳۴، دورنوس: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۲۲

پست الکترونیک: m.peeri@iauctb.acir

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۱/۱۴ تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۱۴

افزایش سطح فعال شدن پروتئین‌هایی که متابولیسم را تغییر می‌دهند، مرتبط باشد [۱۸]. IRS و AKT مولکول‌هایی هستند که در جذب و دریافت گلوکز نقش دارند، ولی علی‌رغم مطالعات فیزیولوژیکی و مولکولی، هنوز مشخص نیست که آیا IRS-1 یا IRS-2 نقش منحصر به فردی در فعالیت انسولین کبدی ایفا می‌کند یا خیر؟ آیا تمرین تنابی در مقایسه با تمرین تداومی بر روی شاخص‌های التهاب شبکه آندوپلاسمیک در کبد از جمله بیان ژن IRS و شاخص مقاومت به انسولین می‌تواند مؤثرتر باشد یا خیر؟ اگرچه مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی برای کاهش مقاومت به انسولین در موش‌های دیابتی و چاق کافی است [۱۹،۲۰]؛ با این حال، در مورد انواع مختلف تمرین در تنابوها و حجم‌های مختلف باید تحقیقات بیشتری صورت پذیرد. همچنین ضمن استفاده از حیوانات، برنامه‌های ورزشی همزمان با رژیم‌های غذایی غنی از چربی به منظور ارزیابی فعالیت بدنی و نقش آن در پیشگیری از بیماری‌ها به کار گرفته شود [۹]. بنابراین این مطالعه با هدف تعیین تأثیر تمرینات تداومی هوایی و تنابی و تنابی شدید بر بعضی از عوامل استرس شبکه آندوپلاسمیک (بیان ژن IRS1) و همبستگی آن با شاخص مقاومت به انسولین در بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات و شرایط آزمایشگاهی

تحقیق حاضر از نوع تجربی و بنیادی است. مطالعه بر روی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستان (سن ۵-۶ هفته، وزن ۱۸۰ - ۱۶۰ گرم، تهیه شده از مؤسسه تحقیقات واژی) انجام شد. حیوانات در شرایط استاندارد حیوان‌های آزمایشگاهی (دمای ۲۵ - ۲۳ درجه سانتی‌گراد؛ رطوبت ۴۰-۵۰ درصد، سیکل روشناختی - تاریکی ۱۲:۱۲) نگهداری شدند و همگی در قفس‌های مخصوص، آزادانه به آب و غذای استاندارد که به شکل پلت بود، دسترسی داشتند. تمام مراحل با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (برابر پروتکل هلیسنسگی ۲۰۰۶) با اخذ کد اخلاق IR.SBMU.RETECH.REC.1395.883 نحوه القای دیابت در موش‌ها

به منظور القای دیابت، موش‌ها به مدت ۷ ماه با غذای پرچرب و حاوی فروکتوز تغذیه شدند. غذا در انتیتو رازی تهیه شد که برای ساخت ۱۰۰ کیلوگرم پلت پرچرب، از ۴۵ کیلوگرم پودر پلت استاندارد، ۳۰ کیلوگرم چربی حیوانی حاصل از آب کردن دنبه گاو و ۲۵ کیلوگرم فروکتوز استفاده و به شکل پلت استاندارد قالب زده شد. به منظور تأیید القای دیابت نوع ۲، میزان

شدید در فسفوریلاسیون IRS1 و AKT در بافت‌های چربی، عضله و کبد افزایش قابل ملاحظه‌ای ایجاد کرد [۸]. در بررسی تأثیر فعالیت‌های بدنی بر پارامترهای مولکولی مسیر چاقی و سیگنالینگ انسولین روشن شد [۹] که فعالیت بدنی شدید می‌تواند فسفوریلاسیون زیر واحد بتا، گیرنده انسولین Beta-subunit of insulin receptor insulin receptor ۱ (IRS1) را به تیروزین؛ و فسفوریلاسیون سویستراپ گیرنده انسولین ۲ (IRS2) را به تیروزین؛ و فسفوریلاسیون سویستراپ گیرنده انسولین ۲ (PI3K-3) افزایش می‌دهد [۱۰]. همچنین ورزش اثر انسولین را در فعالیت فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز (PI3K-3) افزایش می‌دهد [۱۱]. در بررسی تمرین تداومی و تنابی بر کنترل گلیسمی افراد مبتلا به دیابت نوع ۲، بهبود سیگنالینگ انسولین در عضلات اسکلتی و عدم تغییر در ترشح انسولین به دنبال تمرینات تداومی مشاهده شد؛ ولی کنترل گلیسمی فقط در تمرین تنابی بهبود یافت [۱۲]. تمرین استقامتی، مقاومت به انسولین، التهاب بافت چربی و بیماری کبد چرب غیرالکلی disease را کاهش می‌دهد که اغلب با کاهش وزن همراه است. تمرینات با شدت بالا high-intensity interval training غیر از کاهش وزن، باعث کاهش قند خون در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌شود؛ با این حال، اندام‌هایی که تحت تأثیر قرار می‌گیرند و مکانیسم‌های میانجی‌گر در کاهش سطوح گلوکز هنوز شناخته نشده‌اند [۱۳]. فعالیت بدنی شدید باعث افزایش فسفوریلاسیون و مهار کراتین‌های استیل کوآکسی‌کربوکسی‌لیز (Acetyl-CoA carboxylase) پروتئین کیناز اینوسیتول شده یا AMPK در بافت عضلانی، بافت چربی و کبد می‌شود. ACC و AMPK آنزیم‌های کلیدی هستند که متابولیسم اسیدهای چرب، چربی کبد، التهاب بافت چربی و حساسیت انسولین را تنظیم می‌کنند؛ اما مسیرهای تنظیم حساسیت به انسولین با تمرینات HIIT ناشناخته است [۱۳]. برخی یافته‌ها نشان داده‌اند تمرینات تنابی شدید، گلیسمی را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ کنترل می‌کنند [۱۴] و به همراه آموزش تغذیه، شاخص‌های قلبی و متابولیک را در این افراد بهبود می‌بخشد [۱۵]. برخی محققان معتقدند روش درمانی با استفاده از تمرینات شدید تنابی نسبت به تداومی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ تأثیر بیشتری دارد و تمرینات HIIT را برای درمان این افراد تجویز می‌کنند [۱۶]. همچنین تمرینات متنابه با شدت بالا ممکن است یک گزینه جذاب در اجرای یک برنامه تمرینی باشد؛ با این حال، مزایای بالقوه این تمرینات در مورد پارامترهای بیماری در دیابت نوع ۲ هنوز به طور کامل شناخته نشده است [۱۷]. مکانیزم مولکولی درگیر در حساسیت انسولین نسبت به ورزش ممکن است به

بیشینه (۵ متر بر دقیقه) و تناوب تمرین با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه (۱۲ متر بر دقیقه) در هفته اول و ۹۰ درصد سرعت بیشینه (۱۶ متر بر دقیقه) از هفته دوم تا پایان هفته هشتم اجرا شد. لازم به ذکر است با توجه به سازگاری ایجاد شده، حداکثر سرعت بیشینه به ۲۸ متر بر دقیقه رسید. تناوب با شدت پایین ۳۰ درصد سرعت بیشینه (۱۰ متر بر دقیقه) و تعداد تناوب با شدت بالا در هفته اول با ۲ تکرار و در هفته های دوم و سوم با ۳ تکرار و از هفته چهارم تا هفته هشتم ۴ تکرار بود. زمان تناوب با هر دو شدت بالا و پایین ۲ دقیقه بود.

#### سنجهش بیان ژن IRS1

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها به وسیله تزریق درون‌صفاقی کاتامین (۹۰ mg/kg) و زایلazین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند. نمونه خونی به طور مستقیم از قلب موش‌ها جمع‌آوری و جداسازی سرم با سانترفیوژ کردن در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام شد. سپس بافت کبد پلافالاصله استخراج و در نیتروژن، منجمد و برای سنجهش بیان ژن در فریزر -۸۰ نگهداری شد. جهت سنجهش تغییرات بیان ژن IRS1 از روش (Real time-PCR) استفاده شد. بدین‌منظور ابتدا استخراج RNA تام به وسیله کیت دستورالعمل کیت انجام شد. نسبت جذبی ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌های استخراج شده بین ۱/۸ تا ۲ بود. جهت بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفروزو و ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. پیش از سنتز cDNA برای اطمینان از نبود DNase Treatment DNA در نمونه استخراج شده از (thermos scientific) Transecriptor first strand cDNA synthesis kit با کیت (roch)، ساخت آلمان طبق دستورالعمل کیت‌ها انجام شد. بررسی میزان تغییرات ژن IRS1 توسط برنامه Real time PCR به وسیله دستگاه Rotrogene 6000، corbet (ampligon). ساخت SYBER Green (ampligon) در دوره ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و پلافالاصله دانمارک) با دوره ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه ۴۰ سیکل با سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه با پرایمر طراحی شده (ساخت نیکا زیست ژن ایران) انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده نیز در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

قند خون ناشتا با گلوکومتر 01-mini ARKRAY (ساخت کشور ژاپن) و با نمونه‌گیری خون از دم موش‌ها اندازه‌گیری شد و سطوح گلوکوز بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان مشخصه القای دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد [۲۰]. پس از تأیید القای دیابت، موش‌ها هیچ‌گونه درمان با انسولین را در دوره پژوهش نداشتند و در انتهای پژوهش سه سر از موش‌های صحرایی بدليل نرسیدن به معیارهای پژوهش سه کنار گذاشته شدند. پس از القای دیابت، پروتکل پژوهشی تمرین آغاز گردید. لازم به ذکر است که در تمامی دوره تمرینی نیز رژیم غذایی پر چرب مورد استفاده قرار گرفت.

#### گروه‌بندی و پروتکل تمرینی

موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به سه گروه ۷ تابی کنترل (C)، تداومی هوایی (CT) و تناوبی شدید (HIIT) تقسیم و طی یک هفته به مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۶ تا ۱۰ متر در دقیقه با تردیمیل ویژه جوندگان و نحوه دویدن بر روی آن آشنا شدند. سپس با استفاده از آزمون فراینده لثوناردو و همکاران (۲۰۰۷) سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصارفی محاسبه و برای تعیین شدت تمرین استفاده شد؛ به این صورت که پس از ۳ دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه و شبیه صفر درجه، سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یکبار به میزان ۴ متر بر دقیقه افزایش یافت. حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که موش‌ها حداقل ۱ تا ۳ دقیقه نتوانند با سرعت ثابت بدوند و پس از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نباشند [۲۱]. بعد از یک هفته آشناسازی، هر دو گروه تمرینی ۵ روز در هفته، به مدت هشت هفته به ترتیب تمرینات تداومی هوایی و HIIT را انجام دادند. برنامه تمرین هوایی تداومی عبارت بود از ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با ۳۰ درصد سرعت بیشینه، ۶ دقیقه دویدن با ۶۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول (۹ متر بر دقیقه) که به ۲۱ دقیقه دویدن با شدت ۶۰ درصد سرعت بیشینه (۱۵ متر بر دقیقه) در پایان هفته هشتم رسید. در مجموع، زمان کل تمرین هوایی تداومی در دو هفته آخر ۳۰ دقیقه بود [۲۲]. در روز ششم هر دو هفته یکبار سرعت بیشینه موش‌ها اندازه‌گیری و شدت تمرین براساس آن تعیین گردید [۲۱-۲۲]. در این مدت جهت ایجاد شرایط کاملاً یکسان، گروه کنترل نیز ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه بر روی نوار گردان بی‌حرکت قرار گرفتند. پروتکل HIIT شامل ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با شدت ۳۰ درصد سرعت

جدول شماره ۱- توالی پرایمر ژن IRS1

پرایمرها	توالی پرایمرها	اندازه محصول	Tm
IRS1-F	AGCACCTATGCCAGCATCAAC	۱۳۰	۶۳/۴۲
IRS1-R	GTGAGGTCCTGGTTGTGAATCG	۱۶۸/۹	۶۱/۰۱

در گروه کنترل برابر  $30.5/50 \pm 10/30$  میلی گرم / دسی لیتر و در گروه تمرین هوازی تداومی برابر  $19.7/83 \pm 18/03$  میلی گرم / دسی لیتر بود که تغییر معنادار در گروه تمرین استقاماتی نسبت به گروه کنترل را نشان داد. همچنین این میانگین در گروه تمرین تناوبی شدید برابر  $13.3/17 \pm 12/31$  میلی گرم / دسی لیتر بود که نسبت به هر دو گروه کنترل و تمرین هوازی تداومی، تغییر معنادار مشاهده شد. میزان انسولین نیز همانند گلوکز بررسی شد که نتایج مشابهی داشت. در گروه کنترل میزان انسولین برابر  $8/565 \pm 0/11$  میلی گرم / دسی لیتر بود و در گروه های تمرین استقاماتی و تناوبی به ترتیب  $5/693 \pm 0/08$  و  $4/668 \pm 0/11$  میلی گرم / دسی لیتر بود. تغییر معنادار در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل دیده شد. در انتها تغییرات شاخص (HOMA-IR) که نشان‌دهنده میزان مقاومت به انسولین است، بررسی گردید و این شاخص در گروه تمرین استقاماتی  $2/782 \pm 0/26$  میلی گرم / دسی لیتر، در گروه تمرین تناوبی برابر  $1/530 \pm 0/15$  و در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل برابر  $1/19$  میلی گرم / دسی لیتر بود که تغییر معنادار داشت. علاوه بر این طبق یافته‌های پژوهش، تغییر معنادار گروه تناوبی نسبت به گروه تمرین استقاماتی نیز دیده شد. میانگین مقادیر بیان ژن IRS1 هر سه گروه پژوهش در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

جدول شماره ۲- مقادیر بیان ژن IRS1 در گروههای پژوهش

HIIT	CET	C	متغیر
$2/377 \pm 1/15940$	$2/1626 \pm 0/48597$	$1 \pm 0.0000$	IRS1

نتایج بررسی تأثیر یک دوره تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن IRS1 در کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ در جدول شماره ۳، نشان داد که با توجه به  $F=6/215$  و  $P=0/011$ ، اختلاف معناداری بین دو گروه تمرین تداومی و تناوبی شدید با گروه کنترل وجود دارد و هر دو مدل تمرین تداومی و تناوبی شدید موجب افزایش معنادار بیان ژن IRS1 نسبت به گروه کنترل شد ( $P<0/05$ ).

جدول شماره ۳- بررسی بین گروهی و درون گروهی بیان ژن IRS1

متغیر	مجموع مربعات	درجه آزادی	ارزش P
بین گروهی	۶/۵۴۸	۲	$0/011*$
درون گروهی	۷/۹۰۲	۱۵	$0/527$
کل	۱۴/۴۵۰	۱۷	

آزمون تحلیل واریانس یک طرفه: نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل.

سنجهش گلوکز سرم به روش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس آزمون) و اندازه‌گیری مقادیر انسولین به روش الایزا (Crystal chem) ساخت کانادا با ضریب تغییر  $0/05$  و حساسیت  $1 \mu\text{U/mL}$  بررسی گردید. شاخص مقاومت به انسولین به روش (HOMA-IR) با فرمول زیر اندازه‌گیری شد [۲۳]:

$$\text{HOMA-IR} = [\mu\text{U/mL}]^{22.5} \times (\text{انسولین ناشتا} \text{ گلوکز})$$

تحلیل آماری داده‌ها

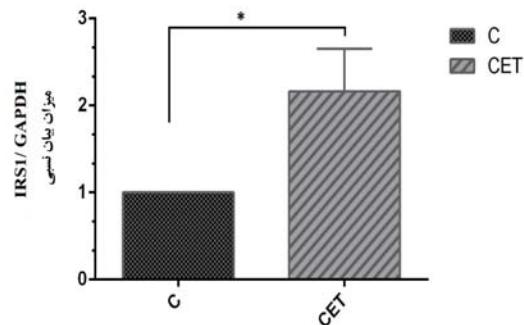
داده‌ها در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. طبیعی‌بودن داده‌ها با آزمون نرمالیته کولموگروف - اسپیرنوف (K-S) بررسی گردید که با توجه به معنادار نبودن این آزمون ( $P>0/05$ ) و توزیع نرمال داده‌ها، برای بررسی تأثیر معناداری بین دو گروه از آزمون آماری T مستقل و برای تعیین رابطه بین متغیرها از همبستگی پرسون استفاده شد. همچنین جهت تعیین معنادار بودن اختلاف بین سه گروه پژوهش از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way Anova) و به دنبال آن برای مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید.

### نتایج

در پژوهش حاضر، ابتدا میانگین وزن موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. میانگین وزن موش‌ها در هفته‌ی اول تمرین در گروه کنترل برابر  $352/5 \pm 12/3$  گرم و پس از هشت هفته برابر  $351/7 \pm 15/5$  گرم بود. در گروه تمرین هوازی تداومی در هفته‌ی اول  $357/3 \pm 9/7$  گرم و در هفته‌ی هشتم  $379/4 \pm 9/9$  گرم مشاهده شد. همچنین در گروه تمرین تناوبی شدید در هفته‌ی اول این میانگین برابر  $355/2 \pm 7/8$  گرم و در هفته‌ی هشتم برابر  $374/0 \pm 11/4$  گرم بود که در اینجا تغییرات معنادار از لحظه آماری در گروه تمرینی استقاماتی و تناوبی شدید نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. همچنین میانگین گلوکز پلاسمما، انسولین پلاسمما و شاخص (HOMA) در هر سه گروه تمرین‌های تناوبی و استقاماتی و گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت. میانگین گلوکز

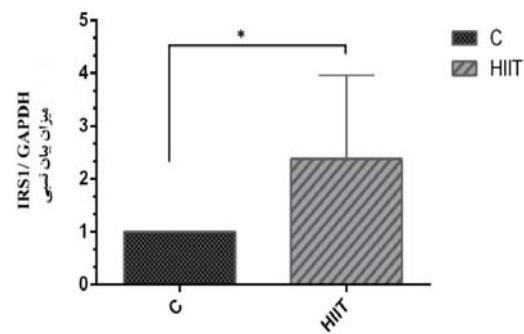


همچنین برای مقایسه دو به دو گروه‌ها با فراوانی یکسان، از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. در جدول شماره ۴ نتایج بررسی بین گروهی حاصل از آزمون Tukey حاکمی از این بود که جایگاه معنی‌داری بین گروه تمرین تناوبی شدید و گروه کنترل ( $P<0.05$ ) و همچنین بین گروه کنترل و گروه تمرین تداومی هوازی ( $P<0.05$ ) وجود دارد؛ اما بین دو گروه تمرین تداومی و تناوبی شدید ( $P<0.05$ ) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اگرچه میزان افزایش ژن IRS1 در تمرین تناوبی شدید بیشتر بود، ولی مقدار این افزایش معنی‌دار نشد.



نمودار شماره ۱- تغییرات بیان ژن IRS1 در گروه CET و کنترل

\* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم



نمودار شماره ۲- تغییرات بیان ژن IRS1 در گروه HIIT و کنترل

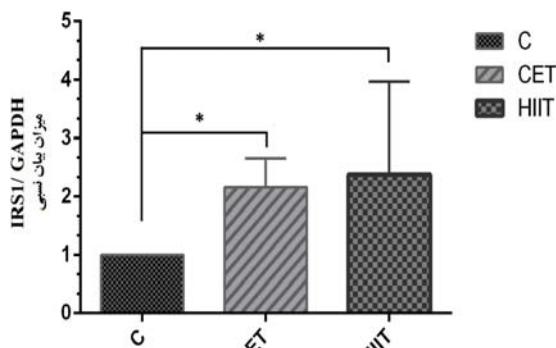
\* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم

جدول شماره ۴- بررسی اختلاف دو روش تمرین تناوبی و تداومی هوازی برای بیان ژن IRS1

گروه	CET - کنترل	HIIT - کنترل	CET - CET	HIIT - کنترل	HIIT - CET
ارزش P	0.036	0.013	0.036	0.074	0.013
خطای استاندارد	0.41904	0.41904	0.41904	0.41904	0.41904
اختلاف میانگین	-1/16262*	-1/37072*	1/16262*	-0/20810	1/37072*
نسبت IRS1/GAPDH	~1.0	~1.0	~1.0	~1.0	~1.0

نتایج آزمون تعقیبی Tukey \* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین در سطح  $0.05$

در بررسی رابطه بین بیان ژن IRS1 و شاخص مقاومت به انسولین، پس از یک دوره تمرین تناوبی شدید و تداومی در کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲، نتایج آزمون همبستگی پیرسون در جدول ۵ نشان داد که همبستگی منفی معناداری بین بیان ژن IRS1 با شاخص مقاومت به انسولین ( $r=-0.634$ ) در کبد موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ وجود دارد ( $P=0.005$ )؛ در نتیجه افزایش ژن IRS1، کاهش مقاومت به انسولین را در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ بعد از یک دوره فعالیت ورزشی یا هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی در پی دارد.



نمودار شماره ۳- تغییرات بیان ژن IRS1 در گروه‌های تمرین تناوبی شدید و تداومی

\* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم

جدول شماره ۵- نتایج آزمون همبستگی پیرسون بین بیان ژن IRS1 و شاخص مقاومت به انسولین

متغیر	IRS1	میزان همبستگی با شاخص مقاومت به انسولین	ارزش P
-.۰۶۳۴**	.۰۰۵		

\* نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف میانگین در سطح  $0/05$  یا ( $P < 0/05$ ).

فایده بیشتری دارد [۱۶]. در نتایج تحقیقات آنها کترول گلیسمی در تمرينات تناوبی، پیشرفت بیشتری داشت [۱۲]. تمرينات تناوبی شدید، گلیسمی را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ کترول کرد و باعث کاهش هیپر گلیسمی و بهبود عوامل استرس متابولیک شد [۱۵، ۱۴]. همچنین تمرينات ورزشی با شدت بالا، ممکن است منجر به کترول گلیکوزمی، بهبود استرس شبکه آندوپلاسمی و پیتید شبه گلوکاگون ۱ در دیابت نوع ۲ شود [۱۷]. در پژوهش حاضر، تمرين تناوبی شدید و تداومی هوازی هر دو افزایش بیان ژن IRS1 را به دنبال داشتند، ولی تفاوت معنی داری در دو مدل تمرين تناوبی و تداومی و میزان پاسخها دیده نشد، با این وجود از طریق مقادیر وزن آزمودنی ها قبل و بعد از انجم پروتکل تمرينی تا حدودی می توان دریافت که با توجه به تغییرات وزن موشها و ترکیب بدنه آنها، ممکن است میزان بیان ژن IRS1 نیز تغییر کرده باشد و با مشاهده عدم تفاوت معنی دار در وزن و ترکیب بدنه موش های صحرایی در دو گروه تمرينی، ممکن است تفاوت بیان ژن IRS1 در دو مدل تمرين تداومی و تناوبی معنی دار نباشد. بنابراین در پژوهش حاضر، با توجه به این که تمرينات تناوبی و تداومی، نتایج تقریباً مشابه و یکسانی روی مقادیر بیان ژن IRS1 داشتند و نیز وجود تحقیقاتی که برخی بر تمرينات تداومی و تعدادی نیز بر تمرينات تناوبی و روند بهبود بیشتر در این تمرينات تأکید کرده بودند، می توان گفت انواع مختلف تمرين در تناوبها و حجم های متفاوت، روند تغییرات وزن، ترکیب بدنه، توده چربی کل بدن و گلوکز خون در طول تمرينات و نیز مدل مورد مطالعه می تواند علت اختلاف نتایج باشد. اگرچه روش شدن مسیرهای دقیق مولکولی که مبنی بر توسعه و پیشرفت دیابت نوع ۲ هستند، مهم است؛ ولی تعداد محدودی از تحقیقات، روی مسیرهای سیگنالینگ خاص و سطوح بیان ژن IRS1 که یکی از مکانیزم های مولکولی درگیر در حساسیت به انسولین می باشد، تمکر نموده اند. با توجه به این که تحقیقات کمی روی تأثیر تمرين بر مسیرهای مختلف مولکولی درگیر با التهاب شبکه آندوپلاسمی کبد در بیماران دیابت نوع ۲ صورت گرفته است و علی رغم مستندات محدود، این پژوهش به بررسی تأثیر تمرينات تناوبی و تداومی روی بیان ژن IRS1 به عنوان سوبیستای گیرنده های انسولین در شبکه آندوپلاسمی کبد پرداخته است. از جمله محدودیت های پژوهش حاضر، عدم اندازه گیری دیگر ژن ها و پروتئین های مرتبط با التهاب شبکه

## بحث

در پژوهش حاضر، ۲۴ سر موش صحرایی پس از ۷ ماه تغذیه با رژیم غذایی پرچرب حاوی فروکتوز و القای دیابت، به مدت ۸ هفته / ۵ روز در هفته در پروتکل تمرين تداومی هوازی و تناوبی شدید شرکت کردند؛ در حالی که رژیم غذایی پرچرب را در طول تمرين نیز ادامه دادند. نتایج نشان داد هر دو مدل تمرينی بر بیان ژن IRS1 در کبد موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ نسبت به گروه بی تمرين تأثیر معنی داری داشت و منجر به افزایش معنی داری در سطوح بیان این ژن شد. قابل ذکر است شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) و سطوح پلاسمایی گلوکز نیز بعد از یک دوره تمرين ورزشی تناوبی و تداومی، با کاهش معناداری روبرو شد که این روند کاهش در تمرينات تناوبی با بهبود بیشتری همراه بود. از نتایج همبستگی منفی در بیان ژن IRS1 و شاخص مقاومت به انسولین می توان دریافت که افزایش سطوح بیان ژن IRS1، کاهش شاخص مقاومت به انسولین را در پی دارد. بخشی از این نتایج که در رابطه با افزایش سطوح بیان ژن IRS1 در دو مدل تمرين تناوبی و تداومی بود، با یافته های Deldicque و Farias، Kim، Pauli، Estébanez و Ropelle، چربی، عضله و کبد به دنبال دارد [۸]. ولی با تحقیقات Marcinko همخوانی نداشت؛ زیرا یافته های آنها حاکی از این بود که فعالیت شدید ورزشی می تواند فسفوریلاسیون زیرو واحد بتا گیرنده انسولین (IR $\beta$ ) به تیروزین را افزایش و فسفوریلاسیون سوبیستای گیرنده انسولین ۱ (IRS-1) به تیروزین تحریک شده توسط انسولین را افزایش دهد [۱۱]. همچنین فعالیت بدنه شدید باعث افزایش فسفوریلاسیون و مهار کراتین های استیل کوا (AMPK) توسط (ACC) پروتئین کیناز فعال شده (AMPK) در بافت عضلانی، بافت چربی و کبد می شود [۱۳]. علاوه بر این، روند کاهشی و بهبود سطوح پلاسمایی گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) طی تمرينات تناوبی در پژوهش حاضر با یافته های Wormgoor، Mangiamarchi، Lee، Gillen و Karstoft همخوانی دارد، زیرا نتایج آنها نشان داد که استفاده از تمرينات شدید تناوبی به عنوان یک روش درمانی مناسب نسبت به تمرين تداومی متوسط در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲

افزایش محسوس نبود. بهنظر می‌رسد اجرای تمرینات HIIT به سبب شدت بالاتر و اختصاص زمان کمتر نسبت به تمرینات تداومی می‌تواند جایگزین مناسبی باشد.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز می‌باشد. بدین‌وسیله از زحمات و راهنمایی‌های ارزنده استادی محترم و کلیه عوامل آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی ایران که در اجرای این پژوهش همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

### References:

- [1] Tripathy D, Eriksson KF, Orho-Melander M, Fredriksson J, Ahlvist G, Groop L. Parallel manifestation of insulin resistance and beta cell decompensation is compatible with a common defect in Type 2 diabetes. *Diabetologia* 2004; 47(5): 782-93.
- [2] Fisher SJ, Kahn CR. Insulin signaling is required for insulin's direct and indirect action on hepatic glucose production. *J Clin Invest* 2003; 111(4): 463-8.
- [3] Shimomura I, Matsuda M, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS, Goldstein JL. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol Cell* 2000; 6(1): 77-86.
- [4] Kubota T, Kubota N, Kadokawa T. Imbalanced insulin actions in obesity and type 2 diabetes: key mouse models of insulin signaling pathway. *Cell Metab* 2017; 25(4): 797-810.
- [5] Kerouz NJ, Hörsch D, Pons S, Kahn CR. Differential regulation of insulin receptor substrates-1 and-2 (IRS-1 and IRS-2) and phosphatidylinositol 3-kinase isoforms in liver and muscle of the obese diabetic (ob/ob) mouse. *J Clin Invest* 1997; 100(12): 3164-72.
- [6] Aytug S, Reich D, Sapiro LE, Bernstein D, Begum N. Impaired IRS $\downarrow$  1/PI3 $\downarrow$  kinase signaling in patients with HCV: a mechanism for increased prevalence of type 2 diabetes. *Hepatology* 2003; 38(6): 1384-92.
- [7] Sun Y, Liu S, Ferguson S, Wang L, Klepcyk P, Yun JS, Friedman JE. Phosphoenolpyruvate carboxykinase overexpression selectively attenuates insulin signaling and hepatic insulin sensitivity in transgenic mice. *J Biol Chem* 2002; 277(26): 23301-7.
- [8] Pauli JR, Ropelle ER, Cintra DE, Carvalho-Filho MA, Moraes JC, De Souza CT, et al. Acute physical exercise reverses S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1 and protein kinase B/Akt in diet-induced obese Wistar rats. *J Physiol* 2008; 586(2): 659-71.
- [9] Farias JMD. Effects of physical exercise in molecular parameters of the route of obesity and insulin signaling. *B JKHP* 2014; 16(5): 588-95.
- [10] Henriksen EJ. Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *J Appl Physiol* 2002; 93(2): 788-96.
- [11] Ropelle ER, Pauli JR, Fernandes MFA, Rocco SA, Marin RM, Morari J, et al. A central role for neuronal AMP-activated protein kinase (AMPK) and mammalian target of rapamycin (mTOR) in high-protein diet-induced weight loss. *Diabetes* 2008; 57(3): 594-605.
- [12] 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(10): 2081-93.
- [13] Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol Metab* 2015; 4(12): 903-15.
- [14] Gillen J, Little J, Punthakee Z, Tarnopolsky M, Riddell M, Gibala M. Acute high intensity interval exercise reduces the postprandial glucose response and prevalence of hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2012; 14(6): 575-7.
- [15] Mangiamarchi P, Caniuqueo A, Ramirez-Campillo R, Cardenas P, Morales S, Cano-Montoya J, et al. Effects of high-intensity interval training and nutritional education in patients with type 2 diabetes. *Rev Med Chile* 2017; 145(7): 845-53.
- [16] Wormgoor SG, Dalleck LC, Zinn C, Harris NK. Effects of high-intensity interval training on people living with type 2 diabetes: a narrative review. *Can J Diabetes* 2017; 41(5): 536-47.
- [17] Lee SS, Yoo JH, So YS. Effect of the low-versus high-intensity exercise training on آندوپلاسمی کبد و مقاومت به انسولین و همچنین عدم اندازه‌گیری سطوح شاخص‌های خود بافت بود که پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده محققان در نظر گرفته شود.

### نتیجه‌گیری

هرچند هر دو مدل تمرین تناوبی شدید و تداومی هوایی سبب بهبود شاخص‌های مرتبط با التهاب شبکه آندوپلاسمی در کبد بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ شد، اما روش تمرین HIIT تأثیر بیشتری روی سطوح پلاسمایی گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین داشت. همچنین سطوح بیان ظن IRS1 در تمرین تناوبی نسبت به تداومی هوایی با افزایش بیشتری روبرو شد که این

- endoplasmic reticulum stress and GLP-1 in adolescents with type 2 diabetes mellitus. *J Phys Ther Sci* 2015; 27(10): 3063-8.
- [18] Houmard JA, Shaw CD, Hickey MS, Tanner CJ. Effect of short-term exercise training on insulin-stimulated PI 3-kinase activity in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 199.9; 277(6): E1055-E60.
- [19] Bajpeyi S, Tanner CJ, Slentz CA, Duscha BD, McCartney JS, Hickner RC, et al. Effect of exercise intensity and volume on the persistence of insulin sensitivity during training cessation. *J Appl Physiol* 2009.
- [20] Khakdan S, Delfan M, Heydarpour Meymeh M, Kazerouni F, Ghaedi H, Shanaki M, et al. High-intensity interval training (HIIT) effectively enhances heart function via miR-195 dependent cardiomyopathy reduction in high-fat high-fructose diet-induced diabetic rats. *Arch Physiol Biochem* 2018; 1-8.
- [21] Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; 21(3): 751.
- [22] Kadoglou N, Vrabas I, Sailer N, Kapelouzou A, Fotiadis G, Noussios G, et al. Exercise ameliorates serum MMP-9 and TIMP-2 levels in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2010; 36(2): 144-51.
- [23] Pósa A, Szabó R, Kupai K, Baráth Z, Szalai Z, Csonka A, et al. Cardioprotective effects of voluntary exercise in a rat model: role of matrix metalloproteinase-2. *Oxid Med Cell Longevity* 2015; 2015.