

## 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>, Azarbayjani 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, Azarbayjani 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 به‌عنوان 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 فروکتوز به‌صورت 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 خونی، ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، از قلب موش‌ها جمع‌آوری و بافت کبد بلافاصله 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 ( $P=0/005$ ،  $r=-0/634$ ).

نتیجه‌گیری: به‌نظر 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، ژن IRS1

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

## مقدمه

این دو ایزوفرم بزرگ IRS-1 و IRS-2 به میزان بالا در کبد موش‌های نرمال بیان شده، اما به مقادیر مختلف در کبد حیوانات و انسان‌های دیابتی کاهش یافته است [۶،۵]. از آنجایی که پروتئین IRS یک پیوند مهم در سیگنالینگ انسولین کبدی است، به‌نظر می‌رسد که احتمالاً کاهش بیان پروتئین IRS در کبد، یک آسیب مولکولی کلیدی مقاومت به انسولین کبدی باشد [۷،۳]. در چاقی و دیابت نوع ۲ به‌طور مداوم بیان ژن IRS2 کاهش می‌یابد، اما IRS1 بدون تغییر باقی می‌ماند که در سلول‌های اندوتلیال، کبد و ماکروفاژها، منجر به اختلال جذب گلوکز و سرکوب گلوکونئوز 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

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 تشدید می‌کند [۳]. در شرایط فیزیولوژیکی، انسولین ترشح شده، بلافاصله پس از وعده غذایی، از طریق مسیر سیگنالینگ سوپسترای گیرنده انسولین ۱ و ۲ (Insulin receptor substrates 1 and 2) و نیز به‌تدریج بیان ژن IRS2 برای جلوگیری از افزایش قند خون فعال می‌شود [۴]. مقاومت به انسولین در کبد ممکن است ریشه در سیگنالینگ ناقص پروتئین‌های سوپسترای 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

## \* نشانی نویسنده مسئول:

تهران سوهانک دانشگاه آزاد تهران مرکزی دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی

تلفن: ۰۹۱۲۱۱۲۴۴۳۴ -۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۲ دورنویس: m.peeri@iauctb.ac.ir

پست الکترونیک: m.peeri@iauctb.ac.ir

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

افزایش سطح فعال شدن پروتئین‌هایی که متابولیسم را تغییر می‌دهند، مرتبط باشد [۱۸]. IR، 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 تناوبی 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، ۱۰]؛ با این حال، در مورد انواع مختلف تمرین در تناوب‌ها 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 هوازی و تناوبی 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 ویستار (سن ۶-۵ هفته، وزن ۱۸۰ - ۱۶۰ گرم، تهیه شده از مؤسسه تحقیقات رازی) انجام شد. حیوانات در شرایط استاندارد حیوان‌های آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد؛ رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، سیکل روشنایی - 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 هلیسنکی ۲۰۰۶) با اخذ کد اخلاق IR.SBMU.RETECH.REC.1395.883 تصویب و انجام شد.

#### نحوه القای دیابت در موش‌ها

به منظور القای دیابت، موش‌ها به مدت ۷ ماه با غذای پرچرب و حاوی فروکتوز تغذیه شدند. غذا در انستیتو 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 IR، 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 زیرواحد بتا، گیرنده انسولین Beta-subunit of insulin receptor را به تیروزین؛ و فسفوریلاسیون سوپسترای گیرنده انسولین ۱ (IRS-1) را به تیروزین تحریک شده توسط انسولین افزایش دهد [۱۰]. همچنین ورزش اثر انسولین را در فسفوریلاسیون سوپسترای گیرنده انسولین ۲ (IRS-2) و در نتیجه فعالیت فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز (PI3K-3) افزایش می‌دهد [۱۱]. در بررسی تمرین تداومی و تناوبی 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 تناوبی بهبود یافت [۱۲]. تمرین استقامتی، مقاومت به انسولین، التهاب بافت چربی و بیماری کبد چرب غیرالکلی Non-alcoholic fatty liver disease را کاهش می‌دهد که اغلب با کاهش وزن همراه است. تمرینات با شدت بالا high-intensity interval training به 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 کوآ Acetyl-CoA carboxylase توسط (AMP) پروتئین کیناز فعال شده یا AMPK در بافت عضلانی، بافت چربی و کبد می‌شود. AMPK و ACC 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 تناوبی شدید، گلیسمی را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ کنترل می‌کند [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 تناوبی 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 متناوب 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

تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید و تداومی هوازی بر بیان ژن، ...

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 هفته‌های 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.

#### سنجش بیان ژن IRS1

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها به وسیله  
تزیق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (mg/kg)  
(۱۰) بیهوش شدند. نمونه خونی به طور مستقیم از قلب موش‌ها  
جمع‌آوری و جداسازی سرم با سانتریفیوژ کردن در دمای ۱۵ درجه  
سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام  
شد. سپس بافت کبد بلافاصله استخراج و در نیتروژن، منجمد و  
برای سنجش بیان ژن در فریزر ۸۰- نگهداری شد. جهت سنجش  
تغییرات بیان ژن IRS1 از روش (Real time-PCR) استفاده  
شد. بدین منظور ابتدا استخراج RNA تام به وسیله کیت  
(Qiagen miRNeasyMini Kit 50) ساخت آلمان و طبق  
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 الکتروفورز و ژل آگارز ۱  
درصد استفاده شد. پیش از سنتز cDNA برای اطمینان از نبود  
DNA در نمونه استخراج شده از DNase Treatment  
(thermos scientific) ساخت آلمان استفاده شد. سنتز  
cDNA با کیت (Transcriptor first strand cDNA synthesis kit  
roch) ساخت آلمان طبق دستورالعمل کیت‌ها انجام شد. بررسی  
میزان تغییرات ژن IRS1 توسط برنامه Real time PCR به وسیله  
دستگاه Rotogene 6000, corbet ساخت آلمان انجام گرفت.  
این برنامه براساس SYBER Green (ampligon) ساخت  
دانمارک) با دور ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و بلافاصله  
۴۰ سیکل با ۹۵ درجه 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 گلوکز 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 به دلیل  
نرسیدن به معیارهای پژوهش 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 تایی  
کنترل (C)، تداومی هوازی (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 تردمیل ویژه جوندگان و نحوه دویدن بر روی آن آشنا  
شدند. سپس با استفاده از آزمون فزاینده لئوناردو و همکاران  
(۲۰۰۷) سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی  
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 شیب 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 بدونند 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 هوازی و HIIT را انجام دادند.  
برنامه تمرین هوازی 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 هوازی 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  $10/30 \pm 30/50$  میلی گرم / دسی لیتر و در گروه تمرین هوازی تداومی برابر  $18/03 \pm 197/83$  میلی گرم / دسی لیتر بود که تغییر معنادار در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل را نشان داد. همچنین این میانگین در گروه تمرین تناوبی شدید برابر  $13/31 \pm 133/17$  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  $11 \pm 0/565$  میلی گرم / دسی لیتر بود و در گروه های تمرین استقامتی و تناوبی به- ترتیب  $11 \pm 0/693$  و  $11 \pm 0/668$  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 نشان دهنده میزان مقاومت به انسولین است، بررسی گردید و این شاخص در گروه تمرین استقامتی  $2/26 \pm 2/782$  میلی گرم / دسی لیتر، در گروه تمرین تناوبی برابر  $15 \pm 1/530$  و در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل برابر  $19 \pm 0/435$  میلی گرم / دسی لیتر بود که تغییر معنادار داشت. علاوه بر این طبق یافته های پژوهش، تغییر معنادار گروه تناوبی نسبت به گروه تمرین استقامتی نیز دیده شد. میانگین مقادیر بیان ژن IRS1 هر سه گروه پژوهش در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

سنجش گلوکز سرم به روش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس آزمون) و اندازه گیری مقادیر انسولین به روش الیزا (Crystal chem) ساخت کانادا با ضریب تغییر (۰/۰۵) و حساسیت ۱ ml/dl بررسی گردید. شاخص مقاومت به انسولین به روش (HOMA-IR) با فرمول زیر اندازه گیری شد [۲۳]:

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

تحلیل آماری داده ها در نرم افزار SPSS ویرایش ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. طبیعی بودن داده ها با آزمون نرمالیت کولموگروف - اسمیرنوف (K-S) بررسی گردید که با توجه به معنادار نبودن این آزمون ( $P > 0/05$ ) و توزیع نرمال داده ها، برای بررسی تأثیر معناداری بین دو گروه از آزمون آماری T مستقل و برای تعیین رابطه بین متغیرها از همبستگی پیرسون استفاده شد. همچنین جهت تعیین معنادار بودن اختلاف بین سه گروه پژوهش از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One way Anova) و به دنبال آن برای مقایسه دو به دو گروه ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید.

### نتایج

در پژوهش حاضر، ابتدا میانگین وزن موش های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. میانگین وزن موش ها در هفته 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 هفته اول  $357/3 \pm 9/7$  گرم و در هفته هشتم  $379/4 \pm 9/9$  گرم مشاهده شد. همچنین در گروه تمرین تناوبی شدید در هفته اول این میانگین برابر  $355/2 \pm 7/8$  گرم و در هفته هشتم برابر  $374/0 \pm 11/4$  گرم بود که در این جا تغییرات معنادار از لحاظ آماری در گروه تمرینی استقامتی و تناوبی شدید نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. همچنین میانگین گلوکز پلاسما، انسولین پلاسما و شاخص (HOMA) در هر سه گروه تمرین های تناوبی و استقامتی و گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت. میانگین گلوکز

جدول شماره ۲- مقادیر بیان ژن IRS1 در گروه های پژوهش

منغیر	C	CET	HIIT
IRS1	1 ± 0.0000	2/1626 ± 0/48597	2/377 ± 1/15940

نتایج بررسی تأثیر یک دوره تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن IRS1 در کبد موش های 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

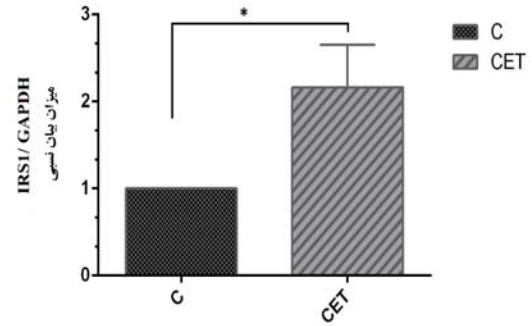
منغیر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	ارزش P
بین گروهی	6/548	2	3/274	6/215	0/011*
درون گروهی	7/902	15	0/527		
کل	14/450	17			

آزمون تحلیل واریانس یک طرفه \*: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل.

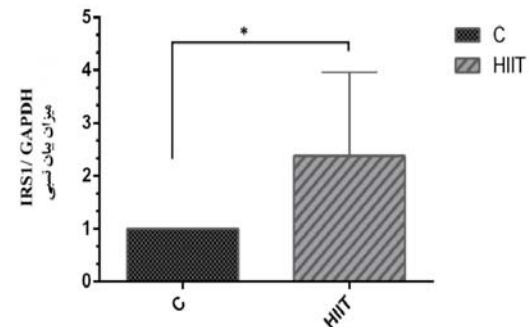


تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید و تداومی هوازی بر بیان ژن، ...

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 حاکی 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 و همچنین بین دو گروه تداومی و تناوبی ( $P < 0.05$ ) 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



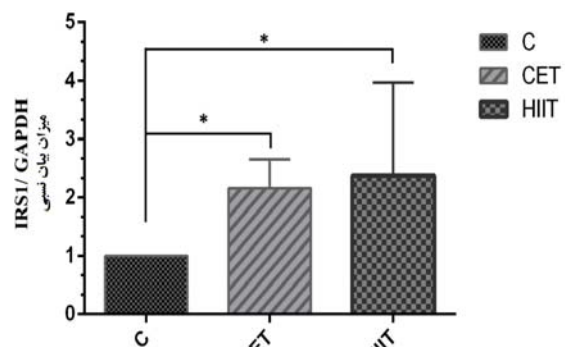
نمودار شماره ۲- تغییرات بیان ژن IRS1 در گروه HIIT و کنترل  
\* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم

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

گروه	گروه	اختلاف میانگین	خطای استاندارد	ارزش P
کنترل	کنترل - CET	-۱/۱۶۲۶۲*	۰/۴۱۹۰۴	۰/۰۳۶
کنترل	کنترل - HIIT	-۱/۳۷۰۷۲*	۰/۴۱۹۰۴	۰/۰۱۳
CET	کنترل - CET	۱/۱۶۲۶۲*	۰/۴۱۹۰۴	۰/۰۳۶
CET	HIIT - CET	-۰/۲۰۸۱۰	۰/۴۱۹۰۴	۰/۸۷۴
HIIT	کنترل - HIIT	۱/۳۷۰۷۲*	۰/۴۱۹۰۴	۰/۰۱۳
HIIT	CET - HIIT	۰/۲۰۸۱۰	۰/۴۱۹۰۴	۰/۸۷۴

نتایج آزمون تعقیبی Tukey \* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین در سطح ۰/۰۵

در بررسی رابطه بین بیان ژن IRS1 و شاخص مقاومت به انسولین، پس از یک دوره تمرین تناوبی شدید و تداومی در کبید موش‌های صحرائی 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 کبید 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 ۸ 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	میزان همبستگی با شاخص مقاومت به انسولین	ارزش P
IRS1	۰/۶۳۴*	۰/۰۰۵

\*\*نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین در سطح ۰/۰۵ یا ( $P < 0.05$ ).

## 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 تمرین تداومی هوازی و تناوبی شدید شرکت کردند؛ در حالی که رژیم غذایی پرچرب را در طول تمرین نیز ادامه دادند. نتایج نشان داد هر دو مدل تمرینی بر بیان ژن IRS1 در کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ نسبت به گروه بی‌تمرین تأثیر معنی‌داری داشت و منجر به افزایش معنی‌داری در سطوح بیان این ژن شد. قابل ذکر است شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) و سطوح پلاسمایی گلوکز نیز بعد از یک دوره تمرین ورزشی تناوبی و تداومی، با کاهش معناداری روبه‌رو شد که این روند کاهش در تمرینات تناوبی با بهبود بیشتری همراه بود. از نتایج همبستگی منفی در بیان ژن IRS1 و شاخص مقاومت به انسولین می‌توان 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 تمرین تناوبی و تداومی بود، با یافته‌های تحقیقات Deldicque و Farias, Kim, Pauli, Estébanez و Marcinko همخوانی داشت که نشان داده بودند فعالیت بدنی بهبود قابل ملاحظه‌ای را در فسفوریلاسیون IR, IRS1 و Akt در بافت‌های چربی، عضله و کبد به دنبال دارد [۸]. ولی با تحقیقات Ropelle و Marcinko همخوانی نداشت؛ زیرا یافته‌های آن‌ها حاکی از این بود که فعالیت شدید ورزشی می‌تواند فسفوریلاسیون زیرواحد بتا گیرنده انسولین ( $IR\beta$ ) به تیروزین را افزایش و فسفوریلاسیون سوپسترای گیرنده انسولین ۱ (IRS-1) به تیروزین تحریک شده توسط انسولین را افزایش دهد [۱۱]. همچنین فعالیت بدنی شدید باعث افزایش فسفوریلاسیون و مهار کراتین‌های استیل‌کوا (ACC) توسط (AMP) پروتئین کیناز فعال شده (AMPK) در بافت عضلانی، بافت چربی و کبد می‌شود [۱۳]. علاوه بر این، روند کاهش و بهبود سطوح پلاسمایی گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) طی تمرینات تناوبی در پژوهش حاضر با یافته‌های تحقیقات Lee, Mangiamarchi, Wormgoor, Gillen و Karstoft همخوانی دارد، زیرا نتایج آن‌ها نشان داد که استفاده از تمرینات شدید تناوبی به‌عنوان یک روش درمانی مناسب نسبت به تمرین تداومی متوسط در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲

فایده بیشتری دارد [۱۶]. در نتایج تحقیقات آن‌ها کنترل گلیسمی در تمرینات تناوبی، پیشرفت بیشتری داشت [۱۲]. تمرینات تناوبی شدید، گلیسمی را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ کنترل کرد و باعث کاهش هیپرگلیسمی و بهبود عوامل استرس متابولیک شد [۱۵، ۱۴]. همچنین تمرینات ورزشی با شدت بالا، ممکن است منجر به کنترل گلیکوزمی، بهبود استرس شبکه اندوپلاسمی و پپتید شبه گلوکاگون ۱ در دیابت نوع ۲ شود [۱۷]. در پژوهش حاضر، تمرین تناوبی شدید و تداومی هوازی هر دو افزایش بیان ژن IRS1 را به دنبال داشتند، ولی تفاوت معنی‌داری در دو مدل تمرین تناوبی و تداومی و میزان پاسخ‌ها دیده نشد، با این وجود از طریق مقادیر وزن آزمودنی‌ها قبل و بعد از انجام پروتکل تمرینی تا حدودی می‌توان دریافت که با توجه به تغییرات وزن موش‌ها و ترکیب بدنی آن‌ها، ممکن است میزان بیان ژن IRS1 نیز تغییر کرده باشد و با مشاهده عدم تفاوت معنی‌دار در وزن و ترکیب بدنی موش‌های صحرایی در دو گروه تمرینی، ممکن است تفاوت بیان ژن IRS1 در دو مدل تمرین تداومی و تناوبی معنی‌دار نباشد. بنابراین در پژوهش حاضر، با توجه به این‌که تمرینات تناوبی و تداومی، نتایج تقریباً مشابه و یکسانی روی مقادیر بیان ژن IRS1 داشتند و نیز وجود تحقیقاتی که برخی بر تمرینات تداومی و تعدادی نیز بر تمرینات تناوبی و روند بهبود بیشتر در این تمرینات تأکید کرده بودند، می‌توان گفت انواع مختلف تمرین در تناوب‌ها و حجم‌های متفاوت، روند تغییرات وزن، ترکیب بدن، توده چربی کل بدن و گلوکز خون در طول تمرینات و نیز مدل مورد مطالعه می‌تواند علت اختلاف نتایج باشد. اگرچه روشن شدن مسیرهای دقیق مولکولی که مبتنی 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 مکانیزم‌های مولکولی درگیر در حساسیت به انسولین می‌باشد، تمرکز نموده‌اند. با توجه به این‌که تحقیقات کمی روی تأثیر تمرین بر مسیرهای مختلف مولکولی درگیر با التهاب شبکه اندوپلاسمی کبد در بیماران دیابت نوع ۲ صورت گرفته است و علی‌رغم مستندات محدود، این پژوهش به بررسی تأثیر تمرینات تناوبی و تداومی روی بیان ژن IRS1 به‌عنوان سوپسترای گیرنده‌های انسولین در شبکه اندوپلاسمی کبد پرداخته است. از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر، عدم اندازه‌گیری دیگر ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با التهاب شبکه

تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید و تداومی هوازی بر بیان ژن، ...

افزایش محسوس نبود. به نظر 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 اساتید 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, Ahlqvist 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, Kadowaki 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 $\beta$  1/PI3 $\beta$  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

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 هوازی 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 ژن IRS1 در تمرین تناوبی نسبت به تداومی هوازی با افزایش بیشتری روبه‌رو شد که این

protein kinase B/Akt in diet-induced obese Wistar rats. *J Physio* 2008; 586(2): 659-71.

[9] Farias JMd. Effects of physical exercise in molecular parameters of the route of obesity and insulin signaling. *BJKHP* 2014; 16(5): 588-95.

[10] Henriksen EJ. Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *J Appl Physio* 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

- 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* 1999; 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.