*Original Article*

# The effect of a period of swimming training with different temperatures on the expression of β3-AR and ERK2 genes in the visceral adipose tissue of streptozotocin-induced diabetic rats

**Mohammadi K, Khajehlandi A***

Department of Physical Education and Sport Sciences, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, I.R. Iran.

Received: 2021/07/5 | Accepted: 2021/10/31

**Abstract:**

**Background:** β3-AR and ERK2 are key factors in regulating adipose tissue metabolism and its conversion to brown adipose tissue. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of a period of swimming training with different temperatures on the expression of β3-AR and ERK2 genes in the visceral adipose tissue of diabetic rats.
**Materials and Methods:** 28 male 2-month-old Wistar rats with a mean weight of 200±20 g were selected. After diabetic induction through streptozotocin solution, divided into 4 groups: 1) healthy control, 2) diabetic control, 3) diabetic water swimming training 5 °C and 4) diabetic water swimming training 36 °C (n=7 per each group) were divided. The training groups trained aerobic swimming training for 5 days/week for 4 weeks according to Protocol. One-way ANOVA and Tukey Post-hoc tests were used to analyze the data.
**Results**: A significant decrease in β3-AR gene expression was observed (*P*=0.0001), and the results showed that this difference was significant between pairs of healthy control groups compared to other groups (*P*=0.0001). Also, ERK2 gene expression showed a significant increase (*P*=0.0001), and the results showed that this is a significant difference between pairs of healthy control groups with water swimming training 36 °C (*P*=0.001) and diabetic control group with water swimming training 36 °C (*P*=0.001).
**Conclusion:** Four weeks of swimming training decreased β3-AR and increased ERK2, which can be concluded to play an important role in the metabolism of white adipose tissue and its conversion to brown adipose tissue.

**Keywords:** ERK2, Diabetes, Swimming training, Visceral adipose tissue, β3-AR

***Corresponding Author**
**Email**: A.khajehlandi@yahoo.com
**Tel:** 0098 917 148 2667
**Fax:** 0098 743 233 20003

Conflict of Interests: ***No***

***Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, February, 2022; Vol. 25, No 6, Pages 1303-1312***

***Please cite this article as:*** Mohammadi K, Khajehlandi A. The effect of a period of swimming training with different temperatures on the expression of β3-AR and ERK2 genes in the visceral adipose tissue of streptozotocin-induced . ***Feyz*** 2022; 25(6): 1303-12.

# تأثیر یک دوره تمرین شنا با دماهای مختلف بر بیان ژن‌های β3-AR و ERK2 در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین

کیانوش محمّدی[۱]، علی خواجه‌لندی[۱*]

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** β3-AR و ERK2 از عوامل کلیدی در تنظیم متابولیسم بافت چربی و تبدیل آن به بافت چربی قهوه‌ای هستند. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر یک دوره تمرین شنا با دماهای مختلف بر بیان ژن‌های β3-AR و ERK2 در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰±۲۰۰ گرم انتخاب شدند. پس از دیابتی‌شدن ازطریق محلول استرپتوزوتوسین، به ۴ گروه: ۱) کنترل سالم، ۲) کنترل دیابتی، ۳) تمرین شنا دیابتی در آب ۵ درجه سانتی‌گراد و ۴) تمرین شنا دیابتی در آب ۳۶ درجه سانتی‌گراد (هر گروه ۷ سر) تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی ۵ روز در هفته مطابق با برنامه تمرینی به مدت ۴ هفته به تمرین شنا هوازی پرداختند. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از آزمون‌های آنوای - یک‌طرفه و تعقیبی - توکی استفاده شد.

**نتایج:** کاهش معنی‌داری در بیان ژن β3-AR مشاهده شد ($P$=۰/۰۰۰۱) و نتایج نشان دادند که این تفاوت معنی‌دار در بین جفت گروه‌های کنترل سالم نسبت به دیگر گروه‌ها است ($P$=۰/۰۰۰۱). همچنین، بیان ژن ERK2 افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P$=۰/۰۰۰۱)، و نتایج نشان دادند که این تفاوت معنی‌دار در بین جفت گروه‌های کنترل سالم با تمرین در آب ۳۶ درجه ($P$=۰/۰۰۱) و همچنین گروه کنترل دیابتی با تمرین در آب ۳۶ درجه ($P$=۰/۰۰۱) است.

**نتیجه‌گیری:** چهار هفته تمرین شنا منجر به کاهش β3-AR و افزایش ERK2 شد که می‌توان نتیجه گرفت این عوامل، نقش مهمّی در متابولیسم بافت چربی سفید و تبدیل آن به بافت چربی قهوه‌ای ایفا می‌کند.

**واژگان کلیدی:** ERK2، دیابت، تمرین شنا، بافت چربی احشایی، β3-AR

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و پنجم، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۴۰۰، صفحات ۱۳۱۲-۱۳۰۳

**مقدمه**

دیابت، یکی از جدّی‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های متابولیک است که بر ۱۰ تا ۱۵ درصد از جمعیت ایالات متحده و ۳۷۱ میلیون نفر در سراسر جهان تأثیر می‌گذارد. خصوصیات اصلی دیابت شامل نقص در ترشح انسولین در سطح سلول‌های بتای پانکراس و نقص در حساسیت به انسولین در سطح بافت محیطی است [۱]. دیابت نوع ۱ (T1DM)، همچنین به‌عنوان دیابت خودایمنی شناخته می‌شود و یک بیماری مزمن است که به‌علت کمبود انسولین ناشی از کاهش سلول‌های بتای پانکراس ایجاد می‌گردد و منجر به هیپرگلیسمی می‌شود [۲،۳].

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که عواقب مشترک چاقی در جمعیت افراد مبتلا به T1D نیز همانند دیابت نوع ۲ رخ می‌دهد. اختلالات متابولیک مانند مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک رایج هستند، و این اختلالات در حال حاضر در فنوتیپ‌های شایع در بیماران مبتلا به چاقی و $T_1D$ به رسمیت شناخته شده است [۴]. سندرم متابولیک شامل مجموعه‌ای از عوامل مربوط به چاقی و $T_1D$ است که شامل پارامترهایی مانند هیپرگلیسمی، وزن بیش از حد، چاقی مرکزی، هیپرلیپیدمی و فشارخون بالا می‌باشد [۵]. یکی از زمینه‌های تمرکز برای بیش از دو دهه، افزایش هزینه‌های انرژی و مصرف مواد مغذی ازطریق فعال‌شدن گیرنده بتا آدرنرژیک-۳ (β3-AR) β3-Adrenergic Receptor در افراد چاق است که در انسان به‌طور گسترده‌ای بر روی سطوح آدیپوسیت‌های قهوه‌ای (BAT) Brown adipose tissue و سفید (WAT) White adipose tissue و همچنین بافت‌های دیگر، بیان می‌شود و لیپولیز و ترموژنز را افزایش می‌دهد [۶]. فعال‌شدن β3-AR به‌طور قابل‌توجهی بافت‌های چربی قهوه‌ای و بژ را در جوندگان کاهش می‌دهد. کاهش عملکرد β3-AR در بافت چربی سفید می‌تواند لیپولیز را کاهش دهد و به این‌ترتیب باعث حفظ چربی‌ها در آدیپوسیت‌ها شود [۸،۷]. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که

۱. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران

* نشانی نویسنده مسؤول:
گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی
تلفن: ۰۹۱۷۱۴۸۲۶۶۷ دورنویس: ۰۷۴۳۲۳۳۲۰۰۰۳
پست الکترونیک: A.khajehlandi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۱۴ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۸/۹

ترموژنز بافت چربی قهوه‌ای علاوه‌بر درمان با آگونیست β3-AR، قرار گرفتن در معرض سرمای خفیف نیز نقش بسزایی می‌تواند بر آن داشته باشد [۹]. عامل اصلی هر دو - لیپولیز و ترموژنز - سیستم عصبی سمپاتیک است. با این‌حال، سیگنالینگ β3-AR در آدیپوسیت‌ها نیز می‌تواند منجر به شروع آبشار سیگنالینگ MAP-کیناز (فعال‌شدن ERK1/2) شود [۱۰]. پروتئین ERK2 نقش مهمّی در تنظیم لیپولیز بافت چربی ازطریق فسفوریلاسیون مستقیم β3-AR دارد و احتمالاً به مکانیسم‌ها برای مقاومت به انسولین و دیابت کمک می‌کند [۱۱]. مسیر آبشار سیگنالینگ MAP-کیناز، یک مسیر سیگنالینگ کلیدی برای عملکردهای خارج سلولی می‌باشد و نقش مهمّی در فرآیندهای مختلف سلولی مانند تکثیر سلولی، تمایز، چسبندگی، مهاجرت و بقا دارد [۱۵-۱۲]. شواهد ژنتیکی و دارویی نشان می‌دهد که مهار مسیر MEK/ERK2 در بافت چربی انسان و موش‌ها به‌طور مؤثر لیپولیز آدیپوسیت را محدود می‌کند. فعال‌شدن ژنتیکی ERK2 در افراد چاق باعث افزایش لیپولیز در کلّ بدن می‌شود؛ در حالی‌که در بافت خاصّ چربی فعال‌شدن ERK2، در آدیپوسیت‌ها، به‌طور چشمگیری لیپولیز را در این سلول‌ها افزایش می‌دهد و منجر به کاهش بافت چربی می‌شود [۱۶]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که با رعایت درمان‌های غیردارویی همانند فعالیت‌های ورزشی منظم می‌توان از بروز بسیاری از عوارض دیابت جلوگیری نمود [۱۷]. روش‌های تمرینی که توسط عده‌ای از پژوهشگران این عرصه توصیه می‌گردد، شامل تمرین‌های استقامتی، تناوبی و ترکیبی است [۱۹،۱۸]. در این بین نشان داده شده است که تمرین ورزشی شنا مزایای بیشتر و متفاوتی نسبت به فعالیت‌های دیگر دارد [۲۰]. شنا باعث بهبود مقاومت به انسولین ناشی از چربی با تنظیم متابولیسم لیپید و بهینه‌سازی مصرف انرژی و تنظیم مسیر سیگنالینگ انسولین در موش صحرایی می‌شود [۲۲،۲۱]. نشان داده شده است که شنا در آب با دماهای مختلف (سرد، معتدل و گرم) و مشخص هرکدام به‌نوبه خود تأثیرات مفیدی را به دنبال دارد. شنا در آب سرد یک روش طبیعی برای بهبود سلامت و بازسازی قدرت بدن پس از تلاش فیزیکی است که بر سیستم ایمنی تأثیر می‌گذارد و از بیماری‌های عفونی سیستم تنفسی محافظت می‌کند و منجر به کاهش درد و بهبود عملکرد مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. این ورزش همچنین بر بافت چربی و دیابت ازجمله حساسیت و مقاومت به انسولین تأثیرگذار است [۲۳]. محققان تحقیق حاضر تاکنون تحقیقی را که به بررسی تأثیر تمرین ورزشی شنا بر بیان ژن‌های β3-AR و ERK2 پرداخته باشد، مشاهده نکردند و بیشتر مطالعات برروی دیگر تمرین‌های ورزشی متمرکز شده است. در تحقیقی، زنجانی و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که فعالیت ورزشی داوطلبانه برروی چرخ کارسنج منجر به افزایش محتوای فرم فسفریله پروتئین ERK1/2 در موش‌های دیابتی نوع ۱ می‌شود. این محققان بیان کردند که ورزش داوطلبانه در موش‌های صحرایی دیابتی، آنژیوژنز را در عصب سیاتیک افزایش می‌دهد. مکانیسم احتمالی افزایش میزان فسفریله پروتئین ERK1/2 در عصب سیاتیک موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ است [۲۴]. تاکنون به‌درستی تأثیر تمرین ورزشی در تنظیم پروتئین ERK2 در بافت چربی احشایی مشخص نشده است. همچنین نقش این پروتئین در انواع بیماری‌های مرتبط با چاقی مانند دیابت ناشناخته مانده است؛ بنابراین تحقیق‌های بیشتری برروی پروتئین ERK2 در بافت چربی موردنیاز است. ازطرفی محققان حاضر تاکنون پژوهشی که تأثیر فعالیت ورزشی شنا را بر تنظیم پروتئین ERK2 بررسی کرده باشد، مشاهده نکرده‌اند. باتوجه به نقش‌های بسیار مهمّ ذکرشده این پروتئین در تنظیم شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین شنا با دماهای مختلف بر بیان ژن‌های β3-AR و ERK2 در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین است.

## مواد و روش‌ها

### نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی - بنیادی می‌باشد که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۲۸ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوانخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۵-۵۵ درصد و چرخه تاریکی - روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. در این پژوهش غذای موردنیاز آزمودنی‌ها، از خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه شد و به‌صورت نامحدود در اختیار حیوانات قرار گرفت. آب موردنیاز نیز به‌صورت آزاد در بطری‌های ۲۵۰ میلی‌لیتر ویژه حیوانات آزمایشگاهی تأمین شد. اصول اخلاقی (کد اخلاقی IR.IAU.IAUG.REC.1399.018) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران مورد توجه قرار گرفت.

### روش القای دیابت

برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با

(pH=۴/۵) به‌صورت داخل‌صفاقی و فقط یک‌مرتبه با دوز ۵۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید. جهت اطمینان از دیابتی‌شدن موش‌های صحرایی، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ از نمونه‌خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی موش‌ها توسط گلوکومتر اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی‌شدن در نظر گرفته شد [۲۵].

پروتکل تمرینی شنای هوازی

پس از القای دیابت، موش‌های صحرایی به‌روش تصادفی به ۴ گروه: ۱) گروه کنترل سالم (۷ سر) ۲) گروه کنترل دیابتی (۷ سر) ۳) گروه تمرین دیابتی شنا در آب ۵ درجه سانتی‌گراد (۷ سر) و ۴) گروه تمرین دیابتی شنا در آب ۳۶ درجه سانتی‌گراد (۷ سر) تقسیم شدند. جهت آشناسازی و سنجش توانایی موش‌های صحرایی برای انجام تمرین شنای هوازی در استخر ویژه، موش‌های صحرایی در آب با دمای ۵ و ۳۶ درجه سانتی‌گراد شنا کردند. آشناسازی موش‌های صحرایی به‌مدت ۲ دقیقه به‌طور دقیق برای سه‌بار در هفته انجام شد. در ادامه تمرین شنای هوازی به صورت فزاینده در آب با دمای ۲±۵ درجه سانتی‌گراد و ۲±۳۶ درجه سانتی‌گراد انجام شد. به‌طوری‌که در هفته اوّل ۲ دقیقه، ۵ روز در هفته و در هر جلسه تمرین ۳۰ ثانیه به تمرین اضافه می‌شد، انجام شد تا زمانی که تمرین به ۴ دقیقه برسد. در ادامه تا آخر هفته چهارم موش‌های صحرایی در آب با دمای ۲±۵ درجه سانتی‌گراد و ۲±۳۶ سانتی‌گراد به‌مدت ۴ دقیقه تمرین نمودند. استخر شنای موش‌های صحرایی در تانک ویژه شنای موش‌های صحرایی به ابعاد طول ۱۰۰ سانتی‌متر، پهنای ۵۰ سانتی‌متر و عمق ۵۰ سانتی‌متر انجام شد. دمای محیط در کلّ انجام پروتکل تمرینی ثابت و در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد [۲۷،۲۶]. در مدت انجام برنامه تمرینی، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند. وزن و قند خون موش‌های صحرایی در شروع تمرین و همچنین در پایان آخرین جلسه تمرین اندازه‌گیری شده است.

روش بافت‌برداری

برای از بین بردن آثار حادّ تمرین و متغیرهای غیرقابل‌کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت چربی احشایی از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و سپس بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد گردید و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- فریزر شد [۲۸]. درنهایت جهت معدوم‌سازی لاشه حیوانات از روش کوره لاشه‌سوز یا ضدعفونی با مواد شیمیایی و سپس دفن استفاده شد [۲۹].

اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

بافت چربی احشایی گرفته‌شده از موش‌های صحرایی داخل لوله آزمایش فالکون ۱۵ قرار داده شد و به نسبت هر ۰/۵ گرم بافت مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول لیزکننده تک‌فازی روی آن ریخته شد. برای حفظ پروتئین‌های بافت، آپروتینین به آن اضافه شد و با استفاده از هموژنایزر به‌مدت پنج دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه بافت هموژن شد. محلول به‌دست‌آمده به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی توسط سمپلر به داخل میکروتیوب منتقل شد، جهت ارزیابی بیان ژن‌های β3-AR و ERK2 با استفاده از تکنیک Real Time PCR مورداستفاده قرار گرفت. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج شد و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به‌روش PCR تکثیر شد و از نظر بیان ژن‌های ذکرشده موردبررسی قرار گرفت. از ژن Gapdh به‌عنوان ژن رفرنس استفاده شد و اعداد حاصل از نمودار تکثیر برای ژن هدف در هر نمونه نسبت به ژن رفرنس نرمالیز شد. به‌منظور بررسی Efficiency پرایمرها نمودار استاندارد با استفاده از ۵ غلظت لگاریتمی رسم شد و Slop نمودار به‌صورت ۳/۲۳- و کارایی تکنیک E+0.98 به‌دست آمد. در این مطالعه، نتایج با استفاده از فرمول فافل و به‌صورت $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. پرایمرهای استفاده‌شده در این تحقیق در جدول شماره ۱ آورده شده است [۳۰].

روش‌های آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف - اسمیرنوف برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال‌بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک آنوای یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، $P\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

جدول شماره ۱- توالی پرایمری استفاده‌شده در پژوهش حاضر

| Genes | Primer sequence | \ |
|---|---|---|
| β3-AR | Forward: 5'- TAGCAAGGAGCCTGACTTCTG-3' | 133 |
| | Reverse: 5'- TTCTGGAGAGTTGCGGTTCC -3' | |
| ERK2 | Forward: 5'- ATGGAGCTGGACGACTTACC-3' | |
| | Reverse: 5'- GCCCTTGTCCTGACCAATTTA-3' | 105 |

**نتایج**

**وزن موش‌های صحرایی (گرم) در شروع تمرین (هفته اوّل) و همچنین در پایان آخرین جلسه تمرین (هفته چهارم) اندازه‌گیری شده است که به‌صورت توصیفی در جدول شماره ۲ گزارش شده است.**

جدول شماره ۲- آمار توصیفی وزن (گرم)

| متغیر | گروه | میانگین | انحراف استاندارد |
|---|---|---|---|
| وزن هفته اوّل (گرم) | کنترل سالم | ۲۳۲/۰۰ | ۱۶/۹۲ |
| | کنترل دیابتی | ۱۴۷/۵۷ | ۳۰/۱۵ |
| | تمرین در آب ۵ درجه | ۱۵۷/۷۱ | ۴۳/۷۵ |
| | تمرین در آب ۳۶ درجه | ۱۵۵/۱۴ | ۳۱/۱۷ |
| وزن هفته چهارم (گرم) | کنترل سالم | ۲۲۸/۴۳ | ۲۴/۸۱ |
| | کنترل دیابتی | ۱۴۷/۴۳ | ۳۸/۳۳ |
| | تمرین در آب ۵ درجه | ۱۵۵/۰۰ | ۵۴/۴۴ |
| | تمرین در آب ۳۶ درجه | ۱۶۶/۱۴ | ۳۹/۳۷ |

**قند خون موش‌های صحرایی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در شروع تمرین (هفته اوّل) و همچنین در پایان آخرین جلسه تمرین (هفته چهارم) اندازه‌گیری شده است که به‌صورت توصیفی در جدول شماره ۳ گزارش شده است.**

جدول شماره ۳- آمار توصیفی قند خون

| متغیر | گروه | میانگین | انحراف استاندارد |
|---|---|---|---|
| قند خون هفته اوّل (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) | کنترل سالم | ۹۳/۸۵ | ۷/۶۲ |
| | کنترل دیابتی | ۳۱۲/۱۴ | ۶/۱۲ |
| | تمرین در آب ۵ درجه | ۳۴۶/۲۹ | ۱۳/۱۱ |
| | تمرین در آب ۳۶ درجه | ۳۵۰/۴۳ | ۱۳/۱۵ |
| قند خون هفته چهارم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) | کنترل سالم | ۹۶/۸۵ | ۳/۷۱ |
| | کنترل دیابتی | ۳۳۶/۱۴ | ۳۳/۳۲ |
| | تمرین در آب ۵ درجه | ۳۱۱/۸۶ | ۴/۶۷ |
| | تمرین در آب ۳۶ درجه | ۳۱۰/۲۹ | ۶/۴۲ |

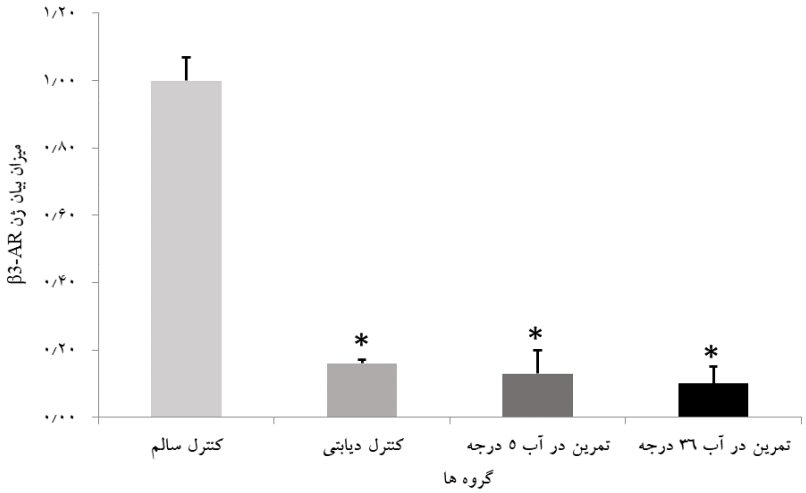
**در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که چهار هفته تمرین شنای هوازی در استخر بر میزان پروتئین β3-AR در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارد ($P$=۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۴). آزمون تعقیبی توکی تفاوت معنی‌داری را در میزان میانگین پروتئین β3-AR، بین جفت گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی ($P$=۰/۰۰۰۱) نشان داد؛ همچنین بین گروه‌های کنترل سالم با تمرین دیابتی در آب ۵ درجه ($P$=۰/۰۰۰۱) و گروه‌های کنترل سالم با تمرین دیابتی در آب ۳۶ درجه ($P$=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. در مقابل بین دیگر جفت گروه‌ها یعنی گروه کنترل دیابتی با گروه‌های تمرین در آب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل شماره ۱). ازطرفی، چهار هفته تمرین شنای هوازی در استخر بر میزان پروتئین ERK2 در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری دارد ($P$=۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۴). آزمون تعقیبی توکی تفاوت معنی‌داری را در میزان میانگین پروتئین ERK2 بین گروه‌های کنترل سالم با تمرین در آب ۳۶ درجه ($P$=۰/۰۰۱) و**

**همچنین گروه‌های کنترل دیابتی با تمرین در آب ۳۶ درجه مشاهده نشد (شکل شماره ۲).**
**($P$=۰/۰۰۱) نشان داد. بین دیگر جفت گروه‌ها تفاوت معنی‌داری**

جدول شماره ۴- آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه میانگین متغیرها در گروه‌های مختلف

| متغیر | گروه | میانگین | انحراف استاندارد | F | سطح معنی‌داری |
|---|---|---|---|---|---|
| پروتئین β3-AR | کنترل سالم | ۱/۰۰ | ۰/۰۷ | ۳۸۰/۳۲ | ۰/۰۰۰۱ |
| | کنترل دیابتی | ۰/۱۶ | ۰/۰۱ | | |
| | تمرین در آب ۵ درجه | ۰/۱۳ | ۰/۰۷ | | |
| | تمرین در آب ۳۶ درجه | ۰/۱۰ | ۰/۰۵ | | |
| پروتئین ERK2 | کنترل سالم | ۱/۰۰ | ۰/۳۶ | ۹/۹۵ | ۰/۰۰۰۱ |
| | کنترل دیابتی | ۰/۹۹ | ۰/۲۷ | | |
| | تمرین در آب ۵ درجه | ۱/۵۵ | ۰/۵۵ | | |
| | تمرین در آب ۳۶ درجه | ۲/۰۵ | ۰/۴۶ | | |

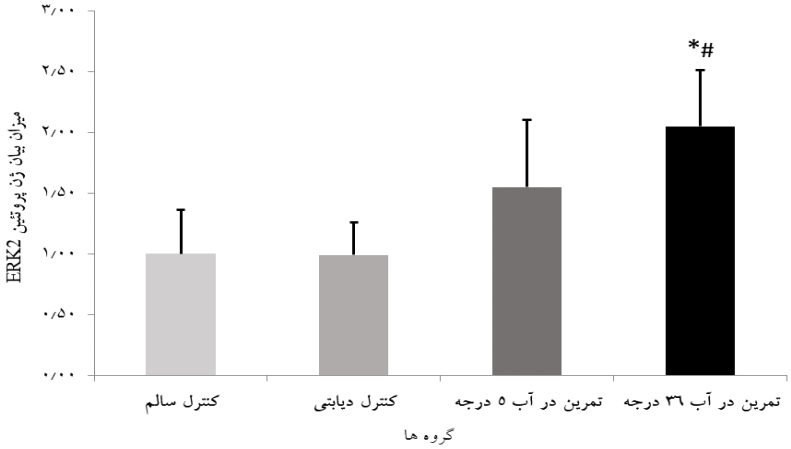
**سطح معنی‌داری $P$≤۰/۰۵**




نمودار شماره ۱- مقایسه (میانگین و انحراف استاندارد) میزان بیان ژن β3-AR در گروه‌های مورد مطالعه.

**(تعداد آزمودنی‌ها در هر گروه ۷ سر موش، سطح معنی‌داری $P$≤۰/۰۵)**

**(* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم)**




نمودار شماره ۲- مقایسه (میانگین و انحراف استاندارد) میزان بیان ژن پروتئین ERK2 در گروه‌های موردمطالعه.

**(تعداد آزمودنی‌ها در هر گروه ۷ سر موش، سطح معنی‌داری $P$≤۰/۰۵)**

**(* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم)**

**(# نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی)**

## بحث

در تحقیق حاضر، پس از تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در بیان ژن‌های β3-AR و ERK2، مشخص شد، بیان ژن β3-AR در گروه‌های تمرین در آب ۳۶ و ۵ درجه نسبت به گروه کنترل دیابتی تغییر معنی‌داری ندارد؛ اما نسبت به گروه کنترل سالم تغییر معنی‌داری وجود دارد. در مقابل بیان ژن ERK2 افزایش معنی‌داری را در بین گروه‌های تمرین شنا در آب ۳۶ درجه نسبت به گروه‌های کنترل سالم و همچنین گروه کنترل دیابتی نشان داد. تا به امروز چندین نوع بافت چربی شناسایی شده‌اند، یعنی سفید، قهوه‌ای و بژ، که در مکان‌های مختلف آناتومیک خاص در سراسر بدن ساکن هستند [۳۱]. براساس نتایج مطالعات مشاهده می‌شود، یکی از سودمندترین مزایای فعالیت ورزشی به‌جز بهبود شرایط کلّ خود بدن، قهوه‌ای کردن بافت سفید چربی است [۳۲]. لیپیدهای ذخیره‌شده به‌عنوان سوخت متابولیک در بافت چربی سفید می‌تواند به‌سرعت از طریق لیپولیز بسیج شود. در آدیپوسیت‌های جوندگان، فعالیت گیرنده β3-AR منجر به لیپولیز می‌شود. نقش فیزیولوژیکی β3-AR در آدیپوسیت‌های انسانی به‌طور کامل روشن نیست و هنوز بحث‌برانگیز است [۳۳]. تحقیقات بسیار کمی تأثیر تمرین‌های ورزشی را برروی گیرنده β3-AR و بیان ژن آن سنجیده‌اند و بیشتر تمرکز بر روی گیرنده‌های نوع β1-AR و β2-AR بوده است. با این‌حال در تحقیقی De-Matteis و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن β3-AR چربی احشایی در موش‌های صحرایی پرداختند. موش‌های صحرایی به‌مدت ۱۰ هفته بر روی تردمیل دویدند. نتایج تغییر معنی‌داری در گروه تمرین در معرض سرمای ۴ درجه نسبت به گروه کنترل نشان داد. این محققان بیان کردند که به نظر می‌رسد تمرین ورزشی یک محرک ضعیف مؤثر برای ترموژنز بافت چربی قهوه‌ای باشد؛ رنگ قهوه‌ای مشاهده‌شده در بافت چربی احشایی، یک پدیده تغییر بافت سفید به قهوه‌ای است که نشان می‌دهد تمرین ورزش هوازی می‌تواند یک محرک فیزیولوژیکی جدید برای مقابله با چاقی توسط استخدام بافت چربی قهوه‌ای از آدیپوسیت‌های آدرنرژیک باشد [۳۴]. با توجه به نتایج تحقیق حاضر نسبت به تحقیق Matteis و همکاران چندین عامل مهم وجود دارد که در مرحله اوّل نوع و مدت‌زمان فعالیت ورزشی می‌باشد؛ در تحقیق حاضر نوع تمرین ورزشی، تمرین در آب به دماهای ۵ و ۳۶ درجه بود و مدت‌زمان تمرین ۴ هفته بود و این درحالی است که در تحقیق Matteis و همکاران تمرین برروی تردمیل و در دمای ۴ درجه و مدت‌زمان تمرین ۱۰ هفته بود. البته شایان ذکر است که تمرین در محیط سرد در هر دو تحقیق منجر به کاهش بیان ژن β3-AR شده است که در تحقیق حاضر دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و در تحقیق De-Matteis دمای محیط ۴ درجه بوده است. همچنین آزمودنی‌های تحقیق حاضر دیابتی بودند و ما در نتایج تحقیق حاضر شاهد تغییر معنی‌داری در گروه تمرین در آب ۵ درجه نسبت به گروه کنترل سالم بودیم و نسبت به گروه کنترل دیابتی تغییر معنی‌داری مشاهده نشد؛ این درحالی است که در تحقیق De-Matteis و همکاران آزمودنی‌ها سالم بودند و تغییر معنی‌داری در آب ۴ درجه نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. البته گفتنی است که کاهش بیان ژن β3-AR در گروه تمرین دیابتی در آب ۳۶ درجه سانتی‌گراد نیز مشاهده شد. این می‌تواند بدین‌معنی باشد که تمرین در هر دو آب با درجه‌های متفاوت ۵ و ۳۶ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های دیابتی نتایج و تأثیر یکسانی دارد. در تحقیقی دیگر Rodrigues و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تمرینات ورزشی هوازی ازطریق گیرنده‌های بتاآدرنرژیک مسؤول لیپولیز در بافت چربی سفید و ترموژنز در بافت چربی قهوه‌ای هستند. این محققان بیان کردند که تمرین‌های ورزشی باعث افزایش لیپولیز و متابولیسم بافت چربی سفید و قهوه‌ای و بیان سیتوکین‌های مربوط به اکسیداسیون لیپید و التهاب می‌شود. چنین مزایایی در پیشگیری و درمان چاقی مفید هستند [۳۵]. فعالیت بافت چربی قهوه‌ای ازطریق چندین مکانیسم مانند سرما، سیگنالینگ آدرنرژیکی و هورمونی رخ می‌دهد. سرما می‌تواند ازطریق فعال‌کردن سیستم سمپاتیک، هورمون‌های کاتکولامینی (نوراپی‌نفرین و اپی‌نفرین) لیپولیز را ازطریق آدرنورسپتورهای لیپولیتیک β تحریک کند. وقتی کاتکولامین‌ها به رسپتورهای β آدرنرژیک متصل می‌شوند، انتقال‌دهنده‌های غشایی نیز فعال شده و با پروتئین‌های تحریکی G Stimulatory G(Gs) جفت شده، آدنیل سیکلاز فعال شده، غلظت درون‌سلولی cAMP افزایش می‌یابد و به نوبه خود باعث فعال‌شدن پروتئین کیناز A Protein kinase A (PKA) شده، پری لیپین و لیپاز حساس به هورمون Hormone-(HSL) lipase sensitive را فسفریله می‌کند و لیپولیز رخ می‌دهد [۳۶]. در تحقیقی دیگر Stephenson و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تأثیر تمرین استقامتی با شدت کم و شدت بالا بر محتوای پروتئین β3-AR و محتوای تام و فسفوی پروتئین ERK2 در بافت سفید زیرجلدی موش‌های صحرایی پرداختند. بیان ژن β3-AR با تمرینات ورزشی افزایش یافت. محتوای تام و فسفریله پروتئین ERK2 تغییر معنی‌داری را نشان نداد [۳۷]. نتایج تحقیق Stephenson و همکاران با نتایج تحقیق حاضر متناقض است؛ زیرا ما در نتایج تحقیق خود شاهد کاهش بیان ژن β3-AR و افزایش بیان ژن ERK2 بودیم. از عوامل بسیار مهم می‌تواند نوع

تمرین ورزشی هوازی انجام‌شده در هر دو تحقیق باشد که در تحقیق حاضر در استخر مخصوص موش و در تحقیق Stephenson و همکاران برروی تردمیل بود. همچنین باید یادآور شد که آزمودنی‌های تحقیق حاضر مبتلا به دیابت بودند که تمرین شنا را به‌صورت هوازی در آب‌های ۳۶ و ۵ درجه سانتی‌گراد انجام دادند و این در حالی است که در تحقیق Stephenson و همکاران بر روی تردمیل و در دمای معمولی بوده است. در تحقیقی دیگر Heras و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر تمرین طولانی‌مدت بر عوامل دخیل در تنظیم بازسازی میتوکندری و بیوژنز و همچنین توانایی تولید انرژی و بهبود حساسیت به انسولین و جذب گلوکز در بافت چربی قهوه‌ای موش صحرایی پرداختند. محتوای پروتئین ERK2 افزایش چشمگیری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. این محققان بیان کردند که تمرین ورزشی طولانی مدت عملکرد میتوکندری و حساسیت به انسولین را در بافت چربی قهوه‌ای بهبود می‌بخشد [۳۸]. نتایج تحقیق Heras و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در گروه تمرین در آب ۳۶ درجه سانتی‌گراد نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی هم‌راستا است. زیرا در هر دو تحقیق افزایش میزان پروتئین ERK2 مشاهده شد. این می‌تواند نشان‌دهنده این مطلب باشد که تمرین‌های هوازی (روی تردمیل یا در آب) می‌توانند بر میزان پروتئین ERK2 تأثیرگذار باشند. البته شایان ذکر است که این دو مقاله تفاوت‌هایی نیز داشته است که می‌توان به نوع روش آزمایشگاهی که در تحقیق حاضر Real Time-PCR بوده است و بیان ژن پروتئین ERK2 را اندازه‌گیری کرده است و در تحقیق Heras و همکاران روش وسترن بلات بود که محتوای پروتئین ERK2 را درون سلول اندازه‌گیری کرد، اشاره نمود. از تفاوت‌های مهمّ دیگر در تحقیق حاضر شیوه انجام تمرین ورزشی می‌باشد؛ زیرا در تحقیق حاضر تمرین شنا در دو نوع آب با درجه‌های ۵ و ۳۶ درجه سانتی‌گراد انجام شد که نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که محتوای پروتئین ERK2 در آب ۳۶ درجه سانتی‌گراد افزایش بیشتری نسبت به آب ۵ درجه می‌یابد و می‌تواند نشان‌دهنده این مطلب باشد که تمرین در این دما (۳۶ درجه سانتی‌گراد) از آب می‌تواند میزان متابولیسم و چربی‌سوزی را افزایش دهد. همچنین با توجه به این‌که هر دو بر روی بافت چربی انجام شده است؛ اما نوع آن‌ها متفاوت می‌باشد؛ به این‌صورت که در تحقیق حاضر چربی احشایی و از نوع چربی سفید بوده و در تحقیق Heras و همکاران بر روی چربی قهوه‌ای انجام شده است. نکته مهمّی که درباره عملکرد پروتئین ERK2 وجود دارد، نقش آن در تبدیل بافت سفید چربی به قهوه‌ای است که معمولاً این عمل را به کمک پروتئین آیریزین انجام می‌دهد [۴۰،۳۹]. در این‌راستا، Zhang و همکاران مسیرهای انتقال سیگنال این عملکرد از پروتئین‌های آیریزین و ERK2 را به رسمیت شناختند و نشان دادند که پروتئین آیریزین منجر به فعال‌شدن سیگنال‌های مرتبط با ERK2 می‌شود و در تبدیل بافت سفید چربی به بافت چربی قهوه‌ای نقش بسزایی دارد [۴۱]. همچنین نشان داده شده است که آیریزین نوترکیب، فرآیند ترموژنیک را ازطریق مسیرهای ERK2 و P38 تنظیم می‌کند. آیریزین نوترکیب تولیدی گلیکوزیله و فعال‌شده است و این باعث ایجاد فرآیند ترموژنیک در سلول‌های 3T3-L1 و آدیپوسیت‌ها می‌شود [۴۲]. در تحقیقی دیگر Wang و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی هوازی بر محتوا و بیان ژن پروتئین ERK در بافت کبد موش‌های صحرایی پرداختند. تمرین هوازی منجر به افزایش محتوا و بیان ژن پروتئین ERK2 شد [۴۳]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Wang و همکاران هم‌راستا است. زیرا در هر دو تحقیق، ما شاهد افزایش بیان ژن و محتوای پروتئین ERK2 بودیم. از نتایج تحقیقات می‌توان به این نکته پی برد که پروتئین ERK2 به تمرین ورزشی واکنش مناسبی نشان می‌دهد و می‌توان ازطریق فعالیت ورزشی منجر به افزایش آن و دستیابی به نتایج سودمندی شد. درک افزایش مکانیسم متابولیسم لیپید ناشی از فعالیت ورزشی، شواهدی را برای ورزش‌درمانی در افراد دیابتی ارائه می‌دهد. همان‌طور که شناخته شده است، دیابت بیشتر با درجه‌های مختلف متابولیسم غیرطبیعی سلول‌های بافت چربی و لیپیدهای خون همراه است [۴۴]. ورزش‌درمانی روش دیگری برای درمان دیابت ازطریق بهبود بافت چربی است. براساس یک مطالعه اخیر، ورزش‌های هوازی یا مقاومتی می‌تواند ترشح کاتکولامین‌ها را در بدن افزایش دهد و فعالیت آنزیمی لیپاز حساس به هورمون را افزایش داده، موجب شتاب هیدرولیز لیپید شود [۴۵]. در کل نتایج مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی، می‌توانند بیان پروتئین‌های مهمّ متابولیک مانند آیریزین، ERK2، UCP1 و PGC-1α را تغییر دهند. تعدادی از این سازگاری‌های متابولیک برای بافت چربی می‌تواند مستقل از تغییرات معنی‌دار در کاهش وزن رخ دهد. همچنین فعالیت ورزشی با طبیعی نگهداشتن وزن و کاهش بافت چربی می‌تواند عامل مهمّی برای کاهش مقاومت به انسولین باشد [۳۲].

## نتیجه‌گیری

درنهایت نتایج تحقیق حاضر، کاهش بیان ژن β3-AR و افزایش بیان ژن ERK2 را نشان داد؛ باتوجه به نقش مهمّ این عوامل در تنظیم سوخت‌وساز و ترموژنز بافت چربی، تمرین شنا به

صورت هوازی می‌تواند راهکار مناسب درمانی برای افراد چاق یا دیابتی باشد. همچنین در تحقیق حاضر محققان دریافتند که تمرین شنا در آب‌های ۵ درجه و ۳۶ درجه تأثیر بسزایی در تنظیم بیان ژن‌های β3-AR و ERK2 دارد. براساس نتایج تحقیق حاضر مشخص شد که تمرین در آب ۵ درجه و ۳۶ درجه سبب کاهش بیان ژن β3-AR و درمقابل منجر به افزایش بیان ژن ERK2 می‌شود. بنابراین این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت دمای آب برای تنظیم سوخت‌وساز بافت چربی باشد.

**تشکر و قدردانی**

بدین‌وسیله از زحمات کلیه همکارانی که در انجام این پژوهش ما را یاری رسانده‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

## *References:*

[1] Gunawardana SC. Benefits of healthy adipose tissue in the treatment of diabetes. ***World J Diabetes*** 2014; 5(4): 420-30.

[2] Katsarou A, Gudbjörnsdottir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, et al. Type 1 diabetes mellitus. ***Nat Rev Dis Primers*** 2017; 3(1): 1-7.

[3] DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. ***Lancet*** 2018; 391(10138): 2449-62.

[4] Corbin KD, Driscoll KA, Pratley RE, Smith SR, Maahs DM, Mayer-Davis EJ. Obesity in type 1 diabetes: pathophysiology, clinical impact, and mechanisms. ***Endocr Rev*** 2018; 39(5): 629-63.

[5] Polsky S, Ellis SL. Obesity, insulin resistance, and type 1 diabetes mellitus. ***Curr Opin Endocrinol Diabetes and Obes*** 2015; 22(4): 277-82.

[6] Cypess AM, White AP, Vernochet C, Schulz TJ, Xue R, Sass CA, et al. Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. ***Nat Med*** 2013; 19(5):635-9.

[7] Liu P, Huang S, Ling S, Xu S, Wang F, Zhang W, et al. Foxp1 controls brown/beige adipocyte differentiation and thermogenesis through regulating β3-AR desensitization. ***Nat commun*** 2019; 10(1):1-10.

[8] Cypess AM, Weiner LS, Roberts-Toler C, Elía EF, Kessler SH, Kahn PA, et al. Activation of human brown adipose tissue by a β3-adrenergic receptor agonist. ***Cell Metabol*** 2015; 21(1): 33-8.

[9] Chen KY, Brychta RJ, Linderman JD, Smith S, Courville A, Dieckmann W, et al. Brown fat activation mediates cold-induced thermogenesis in adult humans in response to a mild decrease in ambient temperature. ***J Clin Endocrinol Metabol*** 2013; 98(7): E1218-23.

[10] Hodis J, Vaclavíková R, Farghali H. Beta-3 agonist-induced lipolysis and nitric oxide production: relationship to PPARgamma agonist/antagonist and AMP kinase modulation. ***Gen Physiol Biophys*** 2011; 30(1): 90-9.

[11] Hong S, Song W, Zushin PJ, Liu B, Jedrychowski MP, Mina AI, et al. Phosphorylation of Beta-3 adrenergic receptor at serine 247 by ERK MAP kinase drives lipolysis in obese adipocytes. ***Mol Metab*** 2018; 12: 25-38.

[12] Pouysségur J, Lenormand P. ERK1 and ERK2 map kinases: specific roles or functional redundancy?. ***Front Cell Dev Biol*** 2016; 4: 53.

[13] Jafari S, Farsani FM, Ganji M, Ganjalikhany MR. The functional regulatory details of ERK2 in complex with RSK1: an in silico insight. ***RSC Advances*** 2021; 11(19): 11048-56.

[14] Hill-Briggs F, Adler NE, Berkowitz SA, Chin MH, Gary-Webb TL, Navas-Acien A, et al. Social determinants of health and diabetes: a scientific review. ***Diabetes Care*** 2021; 44(1): 258-79.

[15] Wang C, Liu W, Zhang X, Wang Y, Liu H, Li H. MEK/ERK signaling is involved in the role of VEGF and IGF1 in cardiomyocyte differentiation of mouse adipose tissue-derived stromal cells. ***Int J Cardiol*** 2017; 228:427-34.

[16] Hong S, Song W, Zushin PJ, Liu B, Jedrychowski MP, Mina AI, et al. Phosphorylation of Beta-3 adrenergic receptor at serine 247 by ERK MAP kinase drives lipolysis in obese adipocytes. ***Mol Metab*** 2018; 12: 25-38.

[17] Zarei F, Sherafati Moghadam M, Shabani M, Jokar M. The effects of 4 weeks high intensity interval training on mammalian rapamycin target protein (mtor) and sterol transcription factor regulatory protein-1 (srebp1) proteins content in diabetic obese rats adipose tissue. ***IJDLD*** 2020; 19(1): 26-35. [in Persian]

[18] Jokar M, Zarei F, Sherafati Moghadam M, Alizadeh Palavani H. Effect of 8-Week Endurance Training on the Content of Mtor and SREBP1 Proteins in Subcutaneous Fat Tissue in Obese Type 2 Diabetic Male Sprague-Dawley Rats. ***JSSU*** 2020; 28(6): 2755-65. [in Persian]

[19] Zarei F, Shadmehri S, Daryanoosh F, Sherafati Moghadam M, Mahmoodi M T. The effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on the serum levels of chemerin, omentin-1 and apelin on overweight female Sprague-Dawley rats. ***JSSU*** 2018; 26 (6) :473-82. [in Persian]

[20] Arshadi S, Peeri M, Bakhtiyari S. The effect of 6 weeks swimming training on plasma antioxidants activity in diabetic rats. ***Eur J Exper Biol*** 2013; 3(4): 230-5.

[21] Song A, Wang C, Ren L, Zhao J. Swimming improves high-fat induced insulin resistance by regulating lipid and energy metabolism and the insulin pathway in rats. ***Int J Mol Med*** 2014; 33(6): 1671-9.

[22] Lu Y, Li H, Shen SW, Shen ZH, Xu M, Yang CJ, et al. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. ***Lipids Health Dis*** 2016; 15(1):1-8.

[23] Gibas-Dorna M, Chęcińska Z, Korek E, Kupsz J, Sowińska A, Krauss H. Cold water swimming beneficially modulates insulin sensitivity in middle-aged individuals. ***J Aging Phys Act*** 2016; 24(4): 547-54.

[24] Zanjani SB, Chodari L, Bavil FM, Sadeghzadeh P, Shahabi P. Effect of voluntary exercise on

intracellular signalling pathways of angiogenesis in the sciatic nerve of type 1 diabetic castrated male rats. ***Physiol Int*** 2019; 106(1): 39-47.
[25] Aghaei N, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Shadmehri S, Jahani Golbar S. The effect of 4 weeks' aerobic training on the content of mtorc1 signaling pathway proteins in heart tissue of type 1 diabetes rats. ***IJDLD*** 2019; 18(3): 116-25. [in Persian]
[26] Lubkowska A, Bryczkowska I, Gutowska I, Rotter I, Marczuk N, Baranowska-Bosiacka I, et al. The effects of swimming training in cold water on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in erythrocytes of male and female aged rats. ***Int J Environl Res Public Health*** 2019; 16(4): 647.
[27] Bryczkowska I, Baranowska-Bosiacka I, Lubkowska A. Effect of repeated cold water swimming exercise on adaptive changes in body weight in older rats. ***Cent Eur J Sport Scie Med*** 2017; 18(2): 77-87.
[28] Jokar M, Sherafati Moghadam M, Salesi M. The effect of endurance exercise on the content of ampk and pgc-1α proteins in the left ventricular heart tissue of rats with type 2 diabetes. ***IJDLD*** 2020; 19(5): 252-60. [in Persian]
[29] Ahmadi-Noorbakhsh S, Mirabzadeh Ardakani E, Aldavood J, Mobasher M, Zahedi L, Mazaheri NezhadFard R. A comprehensive guide for the care and use of laboratory animals. ***Daneshvar Med*** 2015; 23(3): 1-10. [in Persian]
[30] Miri M, Bahaoddini A, Koushkie Jahromi M, Daryanosh F, Gholampour F. The effect of swimming exercise on the expression of CYP17A1 and CYP19A1 genes in ovary tissue of healthy Wistar rats. ***Pars J Jahrom Uni Med Scie*** 2018; 16(1): 16-23. [in Persian]
[31] Chait A, Den Hartigh LJ. Adipose tissue distribution, inflammation and its metabolic consequences, including diabetes and cardiovascular disease. ***Front Cardiovas Med*** 2020; 7: 22.
[32] Shabani M, Daryanoosh F, Salesi M, Kooshki Jahromi M, Fallahi AA. Effect of continuous training on the level of PPAR-γ and PRDM16 proteins in adipose tissue in overweight diabetes rats. ***J Inflam Dis*** 2018; 22(3): 4-12. [in Persian]
[33] Cero C, Johnson JW, O'MARA AL, Linderman JD, Cypess AM. The Selective Human Beta 3 Adrenergic Receptor Mirabegron Potently Activates Lipolysis in Human White Adipocytes. ***Am Diabetes Assoc*** 2019; 68.1-10.
[34] De-Matteis R, Lucertini F, Guescini M, Polidori E, Zeppa S, Stocchi V, et al. Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. ***Nutr Metab Cardiovas Dis*** 2013; 23(6): 582-90.
[35] Rodrigues AC, Prímola-Gomes TN, Peluzio MC, Hermsdorff HH, Natali AJ. Aerobic exercise and lipolysis: A review of the β-adrenergic signaling pathways in adipose tissue. ***Sci Sports*** 2020; 36(1): 16-26.
[36] Sharifian S, Shabani R, Azarbayjani MA, Elmieh A. Effect of kind of exercise training on gene expression of β3-ARs and A2ARs receptors of brown adipose tissue in obese male rats. ***Med Scie J Islamic Azad Uni Tehran Med Branch*** 2019; 29(1): 27-36. [in Persian]
[37] Stephenson EJ, Lessard SJ, Rivas DA, Watt MJ, Yaspelkis III BB, Koch LG, et al. Exercise training enhances white adipose tissue metabolism in rats selectively bred for low-or high-endurance running capacity. ***Am J Physiol Endocrinol Metab*** 2013; 429-38.
[38] Heras De Las N, Klett-Mingo M, Ballesteros S, Martín-Fernández B, Escribano Ó, Blanco-Rivero J, et al. Chronic exercise improves mitochondrial function and insulin sensitivity in brown adipose tissue. ***Front Physiol*** 2018; 9: 1122.
[39] Bordicchia M, Liu D, Amri EZ, Ailhaud G, Dessì-Fulgheri P, Zhang C, et al. Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. ***J Clin Invest*** 2012; 122(3): 1022-36.
[40] Ye L, Kleiner S, Wu J, Sah R, Gupta RK, Banks AS, et al. TRPV4 is a regulator of adipose oxidative metabolism, inflammation, and energy homeostasis. ***Cell*** 2012; 151(1): 96-110.
[41] Zhang Y, Li R, Meng Y, Li S, Donelan W, Zhao Y, et al. Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling. ***Diabetes*** 2014; 63(2): 514-25.
[42] Wu J, Spiegelman BM. Irisin ERKs the fat. ***Diabetes*** 2014; 63(2): 381-3.
[43] Wang M, Li S, Wang F, Zou J, Zhang Y. Aerobic exercise regulates blood lipid and insulin resistance via the toll-like receptor 4-mediated extracellular signal-regulated kinases/AMP- activated protein kinases signaling pathway. ***Mol Med Rep*** 2018; 17(6): 8339-48.
[44] Yang D, Yang Y, Li Y, Han R. Physical exercise as therapy for type 2 diabetes mellitus: from mechanism to orientation. ***Ann Nutr Metabol*** 2019; 74(4): 313-21.
[45] Wu Y, Wu JF. Research progress in the mechanism of exercise therapy for prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus. ***Chin J Diabetes*** 2015; 184–6.