مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۴، شماره ۳
مرداد-شهریور ۱۴۰۰، صفحه ۳۱۴۲-۳۱۳۱

www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 64, No.3 P: 3131-3142
Jul-Sep 2021

مقاله اصلی

مقایسه اثر دو نوع تمرین تناوبی شدید بربیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1α درکاردیومیوسیت موش‌های چاق صحرائی نر مبتلا به دیابت نوع۲

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۹/۲۵- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۲۰

صدیقه بابایی[۱]
مقصود پیری*[۲]
محمد علی آذربایجانی[۳]
مریم دلفان[۴]

[۱] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)
[۳] گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۴] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

Email: m.peeri@iauctb.ac.ir

خلاصه

مقدمه: تمرین تناوبی با حجم مناسب بیان ژن را در بیماران دیابتی تنظیم می‌کند و کاردیومیوپاتی را کاهش می‌دهد. هدف از این مطالعه مقایسه اثر دو نوع تمرین تناوبی شدید بربیان ژن‌هایIRS-1 و IRE-1α درکاردیومیوسیت موش‌های چاق صحرائی نر مبتلا به دیابت نوع۲ بود.

روش کار: ۳۶ سر موش چاق صحرائی نژاد ویستار نر دیابتی به چهارگروه ۹ تایی تقسیم شدند؛ تمرین تناوبی شدید نوع۱(HIIT1:1)، تمرین تناوبی شدید نوع۲(HIIT2:1)، کنترل دیابتی(DC)، کنترل سالم(NC) و به مدت ۴ هفته و هر هفته ۵ روز تمرین داده شدند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین و ریکاوری پس از آن آزمودنی‌ها بیهوش شدند. سپس بطن چپ آنها استخراج شد. گلوکز پلاسما توسط روش گلوکز اکسیداز، مقادیر انسولین با روش الایزا و مقاومت به انسولین با HOMA-IR اندازه‌گیری شد. سنجش بیان ژنهای IRS-1 و IRE-1α با روش Real time-PCR و مقایسه گروه‌ها با آنووای یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی برای تعیین اختلاف بین گروهی در سطح آلفای ۰/۰۵ استفاده شد. در گروه‌های دیابتی، القاءدیابت با استرپتوزوتوسین انجام گرفت.

نتایج: بیان ژن IRS-1 در هر دو گروه تمرین HIIT2:1 (P=۰/۰۰۲) و HIIT1:1 (P=۰/۰۰۶) نسبت به گروه کنترل دیابتی و در گروه HIIT2:1 نسبت به HIIT1:1 (P=۰/۰۴۳) کاهش معناداری داشت. ژن IRE-1α در هر دو گروه تمرین HIIT2:1 (P=۰/۰۰۵) و HIIT1:1 (P=۰/۰۰۷) نسبت به گروه کنترل و در گروه HIIT2:1 (P=۰/۰۰۱) نسبت به HIIT1:1 کاهش معناداری داشت. میانگین مقادیر وزن و شاخص مقاومت به انسولین در گروه HIIT1:1 و گلوکز در گروه HIIT2:1 به صورت معناداری کمتر بود.

نتیجه گیری: یک دوره ۴ هفته‌ای تمرین تناوبی شدید نوع ۲ با شدت ۸۵ درصد سرعت بیشینه با تاثیر بالاتر برکاهش بیان ژن هایIRS-1 و IRE-1α در کاردیومیوسیت موش‌های چاق دیابتی احتمالا می‌تواند بد تنظیمی ژن را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی شدید، IRS-1 و IRE-1α، دیابت نوع۲

مقدمه

بیماری دیابت با افزایش قند خون سیستمیک مشخص می‌شود که از دلایل اصلی آن ایجاد مقاومت به انسولین است(۱). در این سندرم متابولیکی اتصال انسولین به گیرنده سرین سوبسترای۱(IRS-1)[1]کاهش می‌یابد(۲) و موجب هایپرگلایسمی می‌شود(۱). تولید محصولات پیشرفته حاصل از سوخت ناقص قندها رادیکال آزاد تولید می‌کند(۳). همراه با نقصان در متابولیسم گلوکز، سوخت چربی و پروتئین‌ها مختل می‌شود(۴) و استرس سلولی افزایش می‌یابد(۵). سپس تغییرات پاتولوژیکی متعاقب تولید محصولات گلوکزی با ریشه آمینواسید و لیپیدی باعث می‌شود DNA سلول با قندهای گلوکز و فروکتوز طی واکنشی اگزوژنی التهاب(۶) و تخریب سلول ایجاد کند(۷). در این زمان التهاب و فشار اکسیداتیو با هم همکاری می‌کنند(۶). افزایش فشار اکسایشی همراه با تخریب آهسته مواد قندی آنزیم حساسگر اینوزیتول آلفای۱(IRE-1α)[2]را فعال می‌کند(۵)، این فاکتور در شرایط نرمال غیر فعال است(۸). اما در استرس اکسایشی با واکنشی سریع وارد شبکه سلول‌های میتوکندری می‌شود(۵) و به دنبال آن فاکتور هسته‌ای کاپایβ (NF-Kβ) مسیرهای پیش آپوپتوز و آپوپتوزی را با سنتز پروتئین‌های هموسیستئینی مانند کاسپازها سازماندهی می‌کند(۹). به این دلیل عنوان شده تولید (IRE-1α) در بیماران دیابتی با تضعیف عملکرد انسولین در تولید بیش از حد (IRS-1) تخریب سلولی را پشتیبانی می‌کند(۵). از طرفی همراه با مقاومت انسولینی، خون و اکسیژن‌رسانی به قلب محدود شده و باعث ایجاد آسیب ایسکمی می‌شود(۱۰). طبق برخی پژوهش‌ها گسترش تغییرات پاتولوژی در میوسیت بیماران دیابتی به دلیل ضعف در اتصال انسولین است(۱۱) و(۱۰). ضعف عملکرد قلب موجب کاهش در ظرفیت هوازی می‌شود(۱۲)، در نتیجه خطر ابتلاء به بیماری‌های قلبی عروقی که اصلی‌ترین علت مرگ و میر در بیماران دیابتی است ایجاد می‌شود(۱۳). بر این اساس تولید بیش از حد (IRS-1) نشان دهنده افزایش استرس اکسیداتیو(۲) و سنتز (IRE-1α) به عنوان عامل مهم نمایانگر مرگ سلولی معرفی می‌شود(۵). با این حال مسیر شارژ انرژی و بهبود متابولیسم سلولی با اجرای تمرین منظم مورد توجه قرار گرفته است(۱۴). زیرا در در حین اجرای تمرین پروتئین مونوفسفات حلقوی (AMPK) [3]با راه اندازی مسیر کلسیم-فسفات موجب افزایش فعالیت انسولین می‌شود(۱۵). در خصوص نوع تمرین عنوان شده، تمرینات تناوبی شدید (HIIT) عملکرد گیرنده‌های آنژیوژنز را تنظیم و فعالیت پمپاژی قلب را تعدیل می‌کند(۱۶). راه اندازی متابولیسم از راه تمرین با شدت متوسط به وسیله عملکرد کلسیم و اتصال آن به کالمودولین[4]و افزایش فعالیت پروتئین مونوفسفات کینازی باعث انتقال ناقل گلوکز (GLUT-4) به سمت خارج غشاء سلول و بهبود در مصرف گلوکز می‌شود(۱۷). از طرف دیگر تمرین تناوبی شدید با تنش برشی بالاتر بر تنظیم سوخت و ساز سلول تاثیر بیشتری می‌گذارد(۱۸) و در استراحت‌های فعال با شدت کم که در بین تناوب‌های شدید اجرا می‌شود، به وسیله راه اندازی آنزیم‌های هوازی از جمله گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، خون و اکسیژن بیشتری به قلب ارسال می‌شود(۱۹). از طرف دیگر با افزایش تولید فاکتور رشد عروق اندوتلیال (VEGF) با راه اندازی انسولین عملکرد پمپاژی قلب را تنظیم(۱۸) و از ساختار قلب محافظت می‌کند(۱۹). طبق برخی مطالعات شدت تمرین عامل مهمتری در تنظیم بیان ژن می‌باشد(۲۰)، درحالیکه برخی دیگر استراحت فعال که در بین تناوب‌های با شدت بالا اجرا می‌شود را موثرتر می‌دانند(۲۱). هر چند تا به حال مسیرهای مختلف در ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی به طور کامل شناسایی نشده‌اند(۱۵)، اما آثار تمرین منظم با شدت متناوب در بهبود بیان ژن(۲۰)، راه اندازی مصرف گلوکز(۱۵) و کاهش خطر ابتلاء به اختلال قلب در بیماران دیابتی تایید شده(۲۱) و به انجام تمرین تناوبی شدید به عنوان راهکار موثر در

[1] - Insulin receptor supstracte proteins
[2] - Inositol- requiring enzyme-1α
[3] - Adenosine monophosphate- activated protein kinase
[4] - Kalmoduline
[5] - Glucose transporter

کنار سایر مراحل درمانی و اصلاح سبک زندگی توصیه می-شود(۱۵, ۱۹, ۲۰)، اما هنوز مطالعات در این خصوص محدود(۲۰) و متناقض است(۱۵). بر این اساس پژوهش حاضر در مقایسه اثر دو نوع تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1α درکاردیومیوسیت موش‌های چاق صحرائی نر مبتلا به دیابت نوع۲ انجام شد.

روش کار

درپژوهش تجربی حاضر که با مدل حیوانی انجام شد، ۳۶ سر موش چاق صحرائی نر نژاد ویستار از مرکز تحقیقات رازی تهیه و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شدند (جدول۱). حیوانات از ماه دوم تولد در مرکز تحقیقات رازی بوسیله‌ی رژیم غذایی پر کالری (رژیم با ۴۱۶ کالری در هر صد گرم مواد) تغذیه و چاق شدند. سن حیوانات ۵ تا۶ هفته و در محدوده وزن ۲۸۰ تا ۳۵۰ گرم بود. همه مراحل مختلف پژوهش با رعایت مسائل اخلاقی، مطابق با کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مستخرج شده از دستور العمل هلیسنگی و تصویب کد اخلاق IR.SSRC.REC.1398.548 اخذ شده از دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید. حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند،۱- گروه کنترل سالم NC (n=۹)، ۲- گروه کنترل دیابتی DC (n=۹)، ۳- گروه تمرین تناوبی شدید نوع۱(HIIT1:1) (n=۹)، ۴- گروه تمرین تناوبی شدید نوع۲(HIIT2:1) (n=۹). حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف ساخت شرکت رازی راد و در محیط با دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد و چرخه روشنائی تاریکی ۱۲:۱۲ با دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص حیوانات(پلت) نگهداری شدند.

القای دیابت: به حیواناتی که در مرکز تحقیقات رازی با رژیم پر کالری تغذیه شده بودند از طریق تزریق و گاواژ همزمان نیکوتین آمید و استرپتوزوتوسین، دیابت نوع دو القاء شد. دیابت به همه حیوانات به جز گروه کنترل سالم بدین صورت القاء شد، پس از یک شب ناشتایی ابتدا محلول نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق شد. پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده استرپتوزوتوسین(STZ) در بافر سیترات با pH ۴/۵ با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بافر ۰/۰۵ مول سیترات حل شده به صورت داخل صفاقی گاواژ شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق با دریافت خون از ورید دم حیوانات شاخص دیابتی شدن با در نظر گرفتن قند خون بالاتر از ۱۲۶ تا ۱۸۰ میلی گرم بر دسی لیتر تائید شد(۲۲). گروه کنترل سالم فقط بافر سیترات را با همان حجم ذکر شده دریافت کردند.

اجرای پروتکل‌های تمرینی

بعد از یک هفته آشناسازی حیوانات با راه رفتن بر روی تردمیل مخصوص جوندگان با سرعت ۶ متر بر دقیقه، قبل از اجرای پروتکل‌های تمرین، ابتدا ارزیابی توان هوازی با محاسبه سرعت بیشینه در زمان رسیدن به VO2 max و محاسبه شدت تمرین با استفاده از آزمون فزاینده لئاندرو و همکاران(۲۰۰۷) بدین صورت انجام شد: پس از ۳ دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه توسط تغییر در سرعت نوار گردان که در هر ۲ دقیقه یکبار ۰/۲ m/mim افزایش یافت و در آن تعیین حد اکثر سرعت بیشینه زمانی بود که حیوانات حداقل ۱ تا ۳ دقیقه نتوانستند با یک سرعت ثابت بدوند و بلافاصله با افزایش از دویدن واماندند(۲۳). در این مطالعه قبل از انجام برنامه‌های تمرین، هر دو مدل تمرین تناوبی شدید از لحاظ بار حجم یکسان‌سازی شدند. در این راستا به مولفه‌های زمان و شدت تمرین توجه شد و نهایتا با محاسبات عددی، حجم دو نوع تمرین بدین صورت همسان و تنظیم شدند؛ تمرین تناوبی شدید نوع۱(HIIT1:1) شامل ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه(۵ متر بر دقیقه) و ۶ دقیقه تناوب تمرین با شدت ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول که به ۲۰ دقیقه دویدن با شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه در پایان هفته چهارم رسید. تعداد تکرار تناوب با شدت بالا در دو هفته اول چهار تکرار و در هفته‌های سوم و چهارم به پنج تکرار رسید، زمان تناوب با شدت بالا دو دقیقه و تناوب با شدت

پائین نیز دو دقیقه در نظر گرفته شد. اجرای تمرین تناوبی شدید نوع ۲(HIIT2:1) نیز شامل ۶ دقیقه با شدت ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول و ۹۰ درصد سرعت بیشینه از هفته دوم تا پایان هفته چهارم انجام شد. تناوب با شدت پائین به۳۰ درصد سرعت بیشینه رسید. تعداد تکرار تناوب با شدت بالا در هفته اول و دوم پنج تکرار و در هفته سوم و چهارم به هفت تکرار رسید. زمان تناوب با شدت بالا دو دقیقه و تناوب با شدت پائین ۱ دقیقه بود(۲۳) (جدول۱). همچنین بر طبق الگوی برنامه تمرین، سنجش VO2max در روز ششم هفته دوم بررسی شد و سرعت تمرین بر اساس آن تا پایان هفته چهارم تعیین گردید. همینطور یک روز در هفته برای استراحت در تعیین شد. گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی، در هیچگونه تمرینی شرکت نداشتند، اما جهت ایجاد شرایط کاملا یکسان ۵ بار در هفته و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در هر جلسه بر روی نوار گردان کاملا بی‌حرکت قرار داده شدند.

جدول۱ – برنامه تمرین تناوبی با دو شدت متفاوت

تمرین تناوبی شدید نوع ۱			HIIT1:1	
هفته های تمرین		*اول*	*دوم*	*سوم*	*چهارم*
تناوب با شدت بالا(m/min)		۱۲	۱۶	۱۸	۱۸
تناوب با شدت پائین(m/min)		۵	۶	۶	۶
سرعت بیشینه در زمان رسیدن به VO2max(ml/min)		۱۵	۱۸	۲۰	۲۰
تمرین تناوبی شدید نوع۲			HIIT2:1		
زمان تمرین (min)		۶	۸	۱۰	۱۲
سرعت (m/min)		۹	۱۰	۱۰	۱۲
متغیر	نوع تمرین	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
سرعت بیشینه در زمان رسیدن به VO2max(ml/min)	تمرین تناوبی شدید نوع ۱	۱۵	۱۸	۲۰	۲۰
	تمرین تناوبی شدید نوع۲	۱۲	۱۶	۱۸	۱۸
زمان تمرین (min)	تمرین تناوبی شدید نوع ۱	۶	۸	۱۰	۱۲
	تمرین تناوبی شدید نوع۲	۶	۸	۱۰	۱۲
سرعت (m/min)	تمرین تناوبی شدید نوع ۱	۱۲	۱۶	۱۸	۱۸
	تمرین تناوبی شدید نوع۲	۹	۱۰	۱۰	۱۲

استخراج نمونه و سنجش ژن‌های IRS-1 و IRE-1α :

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین موش‌های چاق توسط تزریق درون صفاقی کتامین ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس خون به طور

مستقیم از بطن چپ حیوانات دریافت و در لوله های حاوی هپارین ریخته شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰ متر بر دقیقه با دمای ۱۵ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. بافت بطن چپ بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۲۰- منجمد و جهت سنجش بیان ژن در فریزر ۸۰- نگه‌داری شد. جهت سنجش بیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1α از روش Realtime-PCR با Premix Extaqit و از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. اندازه‌گیری مقدار بیان این ژن به صورت توأمان با هر یک از ژن‌ها به وسیله کیت Mir nasy mini kit 50 (qiagene ساخت آلمان) و طبق دستورالعمل Vandesompele و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد(۲۴). جهت استخراج RNA میزان ۵۰ میلی گرم بافت منجمد قلب حیوان هموژن شد و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت محلول RNAاز آن استخراج شد و با آنزیم DNaseI ازهرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب کننده RNA پاکسازی شد. از هرکدام از نمونه‌ها ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNAاستفاده شد. مقدار نسبی بیان ژن، ژن‌های مورد مطالعه در بافت قلب با کمک پرایمرهای اختصاصی آن‌ها اندازه‌گیری شد. نسبت جذبی ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانوگرمی برای تمام نمونه‌های استخراج شده ۱/۸ تا ۲ بود. جهت بررسی کیفیتRNA استخراج شده از روش الکتروفروز و ژل آگارز۱ درصد استفاده شد. قبل از سنجش cDNA برای اطمینان از نبود DNA در نمونه استخراج شده DNAs treatment (thermos scientific، ساخت آلمان) انجام شد. سنتز cDNA با کیت transe criptor first strand cDNAsinthesis kit (roch، ساخت آلمان) انجام شد(۲۵). برنامه Real time PCR به وسیله دستگاه (Rotrogene 6000, corbet") ساخت آلمان انجام شد و برنامه آن بر اساس SYBER Green (ampligon , ساخت دانمارک) با دور ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و بلافاصله ۴۰ چرخه 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 گردید. اندازه‌گیری گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس آزمون) و سنجش انسولین با روش الایزا (Crystal chem ساخت کانادا) با ضریب تغییر۰/۰۵ و حساسیت ۱ ml/dl انجام شد. مقدار مقاومت به انسولین به روش HOMA-IR با فرمول زیر اندازه‌گیری شد (جدول۲).

HOMA-IR=Blood Sugar (mmol/lit)×insulin(microunit/lit)/22.5

جدول ۲. توالی پرایمری ژن‌های **IRS-1** و **IRE-1α**

ژن‌ها		توالی پرایمر(′3 → ′5)
IRS-1	Forward	GCAAGATGCACATTACCCTCTG
	Reserve	CAGCGTGTGATCTTGCACTC
IRE-1α	Forward	ATTACCCTCTGGCAAGATGCAC
	Reserve	TGATCTTGCACTCCAGCGTG
GAPDH	Forward	GAGATGCACATTACCACCTCTG
	Reserve	ACTCCGTGTGATCAGCTTGC

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

کمی سازی بیان ژن‌ها توسط فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ و مقادیر fold change محاسبه شد. در بخش مربوط به آمار توصیفی شاخص پراکندگی، انحراف معیار و نمودار استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیروویلک بررسی شد. تعیین اختلافات بین گروهی به وسیله آزمون آنووای یک راهه و آزمون تعقیبی توکی، در سطح معناداری ۰/۰۵انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار Graph pad prism نسخه ۸ انجام گردید.

نتایج

مقادیر شاخص گلوکز در گروه HIIT2:1 به طور معناداری کمتر بود، وزن و مقاومت به انسولین در گروه HIIT1:1 نسبت به سایر گروه‌ها به طور معناداری کمتر بود.

جدول ۳. تغییرات وزن، شاخص گلوکز و مقاومت به انسولین به تفکیک گروه‌ها

متغیر	گروه‌ها			
	NC	DC	HIIT1:1	HIIT2:1
وزن اول (گرم)	۳۱۷/۴±۲۳/۰۰	۳۲۰/۷±۱۳/۳۱	۳۳۰/۷±۱۶/۳۳	۳۲۴/۵±۲۲/۰۴
وزن آخر(گرم)	۲۸۸/۴±۳۱/۳۴	۳۷۰/۳±۳۹/۸۰	۲۶۶/۶±۴۱/۵۹#	۲۷۸/۵±۴۸/۱۴
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۲۲/۳۰±۰/۶۸	۱۴۰/۵۰±۵/۴۷	۱۲۸/۱۱±۰/۸۷	۱۲۲/۲۳±۲/۱۸Y*
مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	۱,۹۰±۰/۴۶	۷/۳۲±۲/۰۴	۵/۱۰±۳/۲#*	۶/۰±۳/۰۴

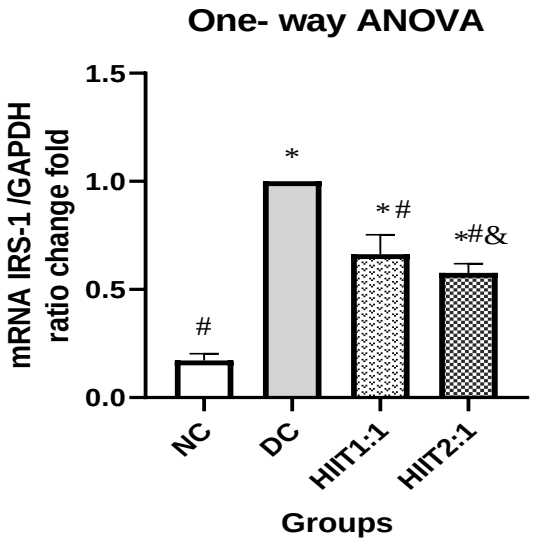
اعداد به شکل میانگین± انحراف استاندارد بیان شده اند، * نشانهٔ معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی و Yنشانه تفاوت معنادار با گروه تمرین تناوبی شدید نوع۱،# نشانه تفاوت معنادار با گروه تمرین تناوبی شدید نوع۲.

بیان ژن IRS-1 در هر دو گروه تمرین HIIT2:1 (P=۰/۰۰۲) و HIIT1:1 (P=۰/۰۰۶) نسبت به گروه DC کاهش معناداری داشت و در گروه تمرین HIIT2:1 (P=۰/۰۴۳) نسبت به گروه تمرین HIIT1:1 کاهش معناداری داشت. نمودار(۱). بیان ژن IRE-1α در هر دو گروه تمرین HIIT2:1 **(P=۰/۰۰۵) و** HIIT1:1 **(P=۰/۰۰۷)** نسبت به گروهDC کاهش معناداری داشت و در گروه HIIT2:1 نسبت به HIIT1:1 (P=۰/۰۰۱) کاهش معناداری نشان داد. نمودار(۲). براین اساس می‌توان اظهار داشت هر دو نوع تمرین و بخصوص تمرین HIIT2:1 تاثیر بالاتری در تنظیم بیان ژن در میوکارد موش‌های صحرائی چاق نر مبتلا به دیابت دارد. جدول۴ نتایج آزمون توکی در تفاوت بین گروه‌های پژوهش را نشان می‌دهد.

جدول٤. یافته‌های آزمون توکی به منظور بررسی جایگاه تفاوت‌های بین‌گروهی

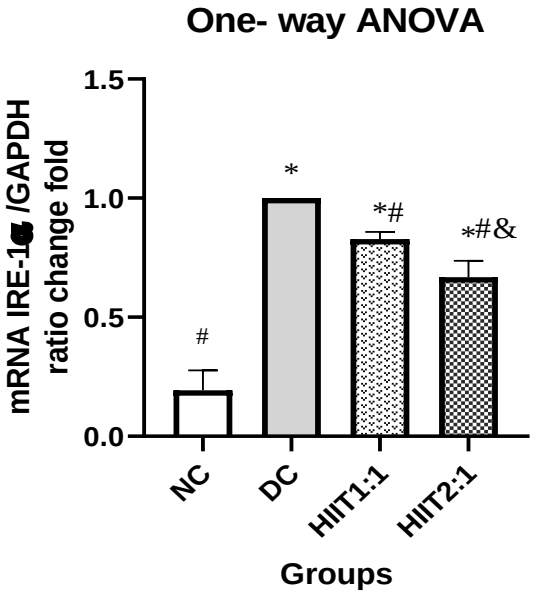
متغیر	گروه (I)	گروه (J)	سطح معنی داری
IRS-1	NC	DC	**۰/۰۰۱**
		HIIT:1	**۰/۰۰۳**
		HIIT:2	**۰/۰۰۰**
	DC	HIIT:1	۰/۰۰۶
		HIIT:2	۰/۰۰۲
	HIIT:1	HIIT:2	۰/۰۴۳
IRE-1α	NC	DC	**۰/۰۰۰**
		HIIT:1	**۰/۰۰۲**
		HIIT:2	**۰/۰۰۰**
	DC	HIIT:1	**۰/۰۰۷**
		HIIT:2	۰/۰۰۵
	HIIT:1	HIIT:2	۰/۰۰۱

NC: گروه کنترل سالم، DC: گروه کنترل دیابتی، HIIT1:1 : گروه تمرین تناوبی شدید نوع ۱، HIIT2:1 : گروه تمرین تناوبی شدید نوع



نمودار۱ . میانگین مقادیر بیان ژن **IRS-1** نسبت به **GAPDH** در گروه های پژوهش

*معناداری نسبت به گروه کنترل سالم،#معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی، & معناداری نسبت به گروه HIIT1:1



نمودار ۲-میانگین مقادیر بیان ژن **IRE-1α** نسبت به **GAPDH** در گروه های پژوهش

HIIT1:1معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی، &معناداری نسبت به گروه #*معناداری نسبت به گروه کنترل سالم،

بحث ونتیجه گیری

پژوهش حاضر به مقایسه اثر دو نوع تمرین تناوبی شدید بربیان ژن‌هایIRS-1 و IRE-1α درکاردیومیوسیت موش‌های چاق صحرائی نر مبتلا به دیابت نوع۲ پرداخت. طبق یافته‌های بدست آمده بیان ژن‌های IRS-1 وIRE-1α در هر دو گروه تمرین HIIT1:1 وHIIT2:1 کاهش معناداری داشت و در گروه HIIT2:1 به صورت معناداری کمتر از تمرین HIIT1:1 بود. وزن و شاخص مقاومت به انسولین در گروه HIIT1:1 و گلوکز در گروه HIIT2:1 به صورت معناداری کمتر بود. نتایج مطالعه‌ی بهمنی و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد همبستگی منفی در بیان ژن و شاخص مقاومت به انسولین وجود دارد که می‌توان دریافت که افزایش سطوح بیان ژنی IRS-1 در بافت قلب موش‌های دیابتی شده، کاهش شاخص مقاومت به انسولین را در پی دارد (۲۶). همچنین بیان شده است کاهش مقادیر مقاومت به انسولین بر اثر انجام تمرینات ورزشی، ممکن است منجر به کنترل گلیکوزمی، بهبود استرس شبکه اندوپلاسمی سلول‌های عضله قلب و پپتید شبه گلوکاگون ۱ در دیابت نوع ۲ شود. اما نمی‌توان گفت که صرفا تغییرات در مقاومت انسولین کل بدن در پاسخ به ورزش بازتابی از تغییرات در بیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1α در بافت قلب است (۲۷).

در رابطه با مکانیسم اثر اجرای تمرین HIIT بر بهبود هومئوستاز گلوکز، دو مسیر مستقیم و غیر بیان شده است;۱- از مسیر مستقیم مصرف گلوکز در اجرای استراحت با فعال با شدت کم می‌باشد که در بکارگیری تارهای کند گلیکولیز با افزایش عملکرد پروتئین کینازی β (AKT) باعث افزایش فعالیت انسولین می-شود(۲۱)، ۲- از مسیر غیر مستقیم از راه بکارگیری تارهای تند گلیکولیز در اجراهای متناوب شدید به وسیله راه اندازی مسیر کلسیم و فراخوانی فسفات‌های کینازی (P-38 MAPK) و (PI3-K) باعث حرکت GLUT-4 از داخل به سمت غشاء بیرونی سلول می‌شود(۱۷, ۲۸). همینطور تناوب‌های شدید در تمرین موجب افزایش در تولید IGF-1 شده و اتصال انسولین را به IRS-1 افزایش می‌دهد(۲۹). بنابر این اثر گذاری تمرین HIIT بر مصرف گلوکز تا ۲۴ ساعت بعد(۱۵) و راه اندازی فعالیت انسولین تا ۴۸ ساعت پس از تمرین روند افزایشی دارد(۲۹). لاپلانت و همکاران (۲۰۱۲) سازوکار تاثیر تمرین و فعالیت گیرنده های انسولینی را بدین شرح بسط داده‌اند که در شرایط طبیعی، سیگنالینگ S6K1/mTORC1منجر به عملکرد مثبت سلولهای β میشود و ترشح انسولین را تنظیم میکند. با این حال، فعال شدن مزمن سیگنال S6K1/mTORC1 از طریق اجرای وهله‌های تمرینی با شدت بالا، مقاومت به انسولین را از طریق مهار بازخورد IRS ۱- و IRS ۲-افزایش میدهد که بقای سلول β را کاهش و آپوپتوز را افزایش میدهد (۳۰)

متعاقب کاهش عملکرد هر دو گیرنده های انسولینی IRS-1 و IRE-1α بر اثر دیابت در انواع سلول‌ها و بخصوص سلول‌های میوکارد، کاهش تولی نیتریک اکساید اتفاق می‌افتد. یکی از راه-های اصلی تامین نیتریک اکساید اندوتلیالی ناشی از این ضعف، ایجاد تنش برشی و افزایش بیوشیمیایی محرک مسیر فاکتور القاء کننده هایپوکسی با اجرای تمرینات با شدت‌های بالا است(۳۱). این نوع تمرینات همزمان با افزایش در عمق و تعداد تنفس در پاسخ به تمرین موجب می‌شود پس از آن عروق اندوتلیال با تولید NO، PGC-1α و تولید فاکتور رشدی عروق FGF و VEGF خون و اکسیژن رسانی به قلب را افزایش دهند و از ساختار آن حافظت کنند(۱۹) (۳۲). همینطور با بکارگیری هر دو نوع تار تند و کند انقباض در انجام وهله‌های تمرینی با شدت بالادر افزایش متابولیسم سلولی(۱۸)، با تولید آنزیم‌های هوازی در مسیر تری کربوکسیلیک اسید بر بهبود متابولیسم چربی(۱۸, ۲۸) و کاهش وزن موثر است(۱۴, ۱۷). هالووی و همکاران (۲۰۱۵) به مقایسه شدت تمرین HIIT وMIT به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته پرداختند، چنین اظهار داشتند که تمرین با شدت متوسط با افزایش سطوح پروتئین‌های مرتبط با مسیر سیگنالینگ بیوژنز میتوکندری تاثیر بیشتری بر آپوپتوز و کاهش بافت فیبروزی در بطن چپ موش‌های دیابتی ایجاد می کند(۳۱). همینطور سالیم و همکاران (۲۰۰۹) که به بررسی یک وهله فعالیت سرعتی تناوبی SIT در۴ ست با ۷ تکرار ۳۰ ثانیه‌ای پرداختند، چنین بیان داشتندکه آپوپتوز

همراه با افزایش پروتئین P-53 در میوسیت موش‌های مبتلا به دیابت در پاسخ به این نوع تمرین افزایش می‌یابد(۳۳). این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر ناهمسو است. تناقض در نتایج برخی مطالعات با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر به نوع، شدت، مدت تمرین، شدت بیماری و مصرف دارو نسبت داده می‌شود((۳۱, ۳۳, ۳۴). 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 IRS-1 و IRE-1α که یکی از مکانیزم های مولکولی درگیر در کنترل متابولیسم کاردیوسیت‌ها و حساسیت به انسولین می‌باشد، تمرکز نموده اند. با توجه به این که تحقیقات کمی روی تأثیر تمرین بر مسیرهای مختلف مولکولی درگیر با متابولیسم کاردیوسیت در بیماران دیابت نوع ۲ صورت گرفته است و علی رغم مستندات محدود، این پژوهش به بررسی تأثیر تمرینات تناوبی بر روی بیان ژن‌هایIRS-1 و IRE-1α به عنوان تنظیم کننده‌های فعالیت انسولین در سلول عضله قلب پرداخته است. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم دسترسی به نمونه‌های انسانی، عدم بررسی پروتئین ژن‌های مذکور و نیز عدم انجام اکوکاردیوگرافی اشاره کرد، که از دلایل آن کمبود بودجه پژوهش می‌باشد. در آخر پیشنهاد می‌شود مدل‌های تمرینی مذکور با تمرین تداومی به طور گسترده‌تری بررسی شود. **نتیجه-گیری:** بر طبق نتایج مطالعه حاضر تمرین تناوبی شدید نوع۲ با کاهش گلوکز خون و کاهش بیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1α در کاردیومیوسیت موش‌های چاق دیابتی احتمالا می‌تواند بدتنظیمی ژن را بهبود بخشد. از آنجایی که در بیماران دیابتی دو مسیر سیگنالدهی (مقاومت به انسولین و جهش ژن) در کاردیومیوپاتی دیابتی نقش اصلی را بر عهده دارند، احتمالا انجام این نوع تمرینات برکاهش اختلال قلب ناشی از دیابت موثر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی می‌باشد، لذا از همه اساتیدگرانقدر که در اجرای آن به ما یاری رساندند سپاسگذاریم.

تعارض منافع

این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

References

1. Liu Q, Wang S, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: role of oxidative stress and damage. Journal of diabetes investigation. 2014;5(6):623-34.
2. de Oliveira Sá G, dos Santos Neves V, de Oliveira Fraga SR, Souza-Mello V, Barbosa-da-Silva S .High-intensity interval training has beneficial effects on cardiac remodeling through local renin-angiotensin system modulation in mice fed high-fat or high-fructose diets. Life sciences. 2017;189:8-17.
3. Ehrlich P. Ueber das Vorkommen von Glykogen im diabetischen und im normalen Organismus. Z klin Med. 1883;6:33.
4. Feng Y, Chao W. Toll-like receptors and myocardial inflammation. International journal of inflammation. 2011;2011.
5. Kim S-J, Choi Y, Choi Y-H, Park T. Obesity activates toll-like receptor-mediated proinflammatory signaling cascades in the adipose tissue of mice. The Journal of nutritional biochemistry. 2012;23(2):113-22.
6. Corr SC, O'Neill LA. Genetic variation in Toll-like receptor signalling and the risk of inflammatory and immune diseases. Journal of innate immunity. 2009;1(4):350-7.
7. Srivastava G, Mehta JL. Currying the heart: curcumin and cardioprotection. Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics. 2009;14(1):22-7.

8. Alencar AK, Montes GC, Montagnoli T, Silva AM, Martinez ST, Fraga AG, et al. Activation of GPER ameliorates experimental pulmonary hypertension in male rats. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017;97:208-17.
9. Hetz C, Martinon F, Rodriguez D, Glimcher LH. The unfolded protein response: integrating stress signals through the stress sensor IRE1α. Physiological reviews. 2011;91(4):1219-43.
10. Russell RR, Li J, Coven DL, Pypaert M, Zechner C, Palmeri M, et al. AMP-activated protein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents postischemic cardiac dysfunction, apoptosis, and injury. The Journal of clinical investigation. 2004;114(4):495-503.
11. Junyent Herena F, Verdaguer Cardona E, Folch López J, Beas Zárate C, Pallās i Llibería M, Auladell i Costa MC, et al. Role of JNK in neurodegenerative diseases. Recent Advances in Pharmaceutical Sciences II, 2012, Editor: Diego Muņoz-Torrero, Diego Haro and Joan Vallčs, Chapter 2, p 15-28. 2012.
12. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2010;20(8):608-17.
13. Cai L, Wang Y, Zhou G, Chen T, Song Y, Li X, et al. Attenuation by metallothionein of early cardiac cell death via suppression of mitochondrial oxidative stress results in a prevention of diabetic cardiomyopathy. Journal of the American College of Cardiology. 2006;48(8):1688-97.
14. Gibala MJ, Little JP, Van Essen M, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. The Journal of physiology. 20.۹۰۱-۱۱:(۳)۵۷۵;۰۶
15. Hadiono M, Kushartanti BW, editors. High Intensity Interval Training (HIIT) and Moderate Intensity Training (MIT) Against TNF-α and IL-6 levels In Rats. 2nd International Conference on Sports Sciences and Health 2018 (2nd ICSSH 2018) :۲۰۱۹ ;Atlantis Press.
16. Zwagerman N, Sprague S, Davis MD, Daniels B, Goel G, Ding Y. Pre-ischemic exercise preserves cerebral blood flow during reperfusion in stroke. Neurological research. 2010;32(5):523-9.
17. Wu Y, Dey R, Han A, Jayathilaka N, Philips M, Ye J, et al. Structure of the MADS-box/MEF2 domain of MEF2A bound to DNA and its implication for myocardin recruitment. Journal of molecular biology. 2010;397(2):520-33.
18. Xu X, Wan W, Powers AS, Li J, Ji LL, Lao S, et al. Effects of exercise training on cardiac function and myocardial remodeling in post myocardial infarction rats. Journal of molecular and cellular cardiology. 2008;44(1):114-22.
19. Wisløff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca2+ sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. Cardiovascular research. 2002;54(1):162-74.
20. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. Cardiovascular research. 2013;99(1):55-64.
21. Launay T, Momken I, Carreira S, Mougenot N, Zhou X-L, De Koning L, et al. Acceleration-based training: A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions. Experimental gerontology. 2017;95:71-6.
22. Pierre W, Gildas AJH, Ulrich MC, Modeste W-N, azTélesphore Benoît N, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Bersama engleriana leaves in nicotinamide/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. BMC complementary and alternative medicine. 2012;12(1):264.
23. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. Journal of strength and conditioning research. 2007;21(3):751.
24. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome biology. 2002;3(7):research0034. 1.
25. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shen M, Shah NK, et al. IFN-λs mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. Nature immunology. 2003;4(1):69-77.

26. Bahmani M, Peeri M, Azarbayjani MA, Matinhomaee H. 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. KAUMS Journal (FEYZ). 2020;24(2):142-50.
27. Salvado L, Palomer X, Barroso E, Vázquez-Carrera M. Targeting endoplasmic reticulum stress in insulin resistance. Trends in Endocrinology & Metabolism. 2.۴۳۸-۴۸:(۸)۲۶;۰۱۵
28. De Waard MC, Van Der Velden J, Bito V, Ozdemir S, Biesmans L, Boontje NM, et al. Early exercise training normalizes myofilament function and attenuates left ventricular pump dysfunction in mice with a large myocardial infarction. Circulation research. 2007;100(7):1079-88.
29. Machida S, Booth FW. Insulin-like growth factor 1 and muscle growth: implication for satellite cell proliferation. Proceedings of the Nutrition Society. 2004;63(2):337-40.
30. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. Cell. 2012;149(2):274-93.
31. Holloway TM, Bloemberg D, Da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. PloS one. 2015;10(3):e0121138.
32. Hamilton SJ, Watts GF. Endothelial dysfunction in diabetes: pathogenesis, significance, and treatment. The review of diabetic studies: RDS. 2013;10(2-3):133.
33. Saleem A, Adhihetty PJ, Hood DA. Role of p53 in mitochondrial biogenesis and apoptosis in skeletal muscle. Physiological genomics. 2009;37(1):58-66.
34. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. Journal of applied physiology. 2011;111(6):1554-60.

Original Article

Comparison of the Effect of Two type of High Intensity Interval Training on the Expression Genes of IRS-1 and IRE-1α in the Cardiomyosytes type 2 diabetes of Obes Male Rats

Received: 15/12/2020 - Accepted: 11/08/2021

Sedigheh Babaee [1]
Maghsoud Peeri [2*]
Mohammad Ali Azarbayjani[3]
Maryam Delfan [4]

[1] *Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.*
[2] *Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. (Corresponding Author)*
[3] *Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[4] *Department of exercise physiology, Alzahra University Sport Sciences, Tehran, Iran*

Email: m.peeri@iauctb.ac.ir

Abstract

Introduction: Regular interval training with adaption volume regulated genes expression in diabetic pations and reduced cardiomyopathy. Background: The purpose of this study was Comparison Comparison the Effect of Two types of High-Intensity Interval Training on the Expression Genes of IRS-1 and IRE-1α in the Cardiomyocytes type 2 diabetes of Obes Male Rats.

Methods: 36 male Wistar rats were divided into 4 groups: type1 high-intensity interval training (HIIT1:1), type2 high-intensity interval training (HIIT2:1), diabetic control (DC), and nondiabetic control (NC) trained fo 4 weeks and 5 days/week. Plasma glucose concentration was measured by the glucose oxidase method. ELISA method was used to measure the insulin levels and the HOMA-IR method was used to measure insulin resistance index. A real-time PCR technique was used to evaluate the gene expression of the IRS-1 and IRE-1α genes. Results were analyzed with one-way ANOVA and Tukey post hoc tests at the alpha level of 0/05**.** Diabetes induced by STZ in diabetic groups.

Results: gene expression of IRS-1 in both groups of HIIT2:1(p= 0.002) and HIIT1:1(p= 0.006) showed a significant decrease compared to the DC group and in HIIT2:1(P=0/043) showed a significant decrease compared to the HIIT1:1 group. a gene of IRE-1α in both groups of HIIT2:1(p= 0.005) and HIIT1:1(p= 0.007) showed a significant decrease compared to the DC group and in HIIT2:1(P=0/001) showed a significant decrease compared to the HIIT1:1 group. The mean weight values and insulin resistance index in the HIIT1:1 group and glucose were significantly lower in the HIIT2: 1 group.

Conclusion: 4 weeks High-intensity interval training type 2 with a higher effect on decreasing IRS-1 and IRE-1α genes expression in cardiomyocytes of obese diabetic rats may it can improve gene dysregulation

Keywords: High Intensity Interval Training, IRS-1, IRE-1α, Type 2 Diabetes