

مقاله پژوهشی

تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت بر استرس شبکه آندوپلاسمی بافت کبد در رت‌های چاق مبتلا به دیابت نوع ۲

حدیث بیات^۱، ماندانا غلامی^{۱*}، حمید رجبی^۲، حسین عابد نطنزی^۱

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات علوم انسانی و اجتماعی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

دریافت: ۲۲ آذر ۱۴۰۲

پذیرش: ۱۸ بهمن ۱۴۰۲

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که استرس شبکه آندوپلاسمی در بافت کبد نقش بسزایی در پیشرفت و ایجاد دیابت نوع ۲ دارد. هدف این پژوهش بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت بر استرس شبکه آندوپلاسمی بافت کبد در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.

روش‌ها: برای این منظور، ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و میانگین وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم تهیه شدند. گروه "کنترل سالم" (۸ موش) به مدت ۱۳ هفته دسترسی آزادانه به غذای استاندارد و آب آشامیدنی داشتند. ۱۶ موش دیگر به مدت ۴ هفته تحت رژیم غذای پرچرب قرار گرفتند. سپس این ۱۶ موش را با استرپتوزوتوسین دیابتی نمودیم. بعد از اطمینان از دیابتی شدن، موش‌ها در دو گروه "کنترل دیابتی" (ادامه رژیم پرچرب به مدت ۹ هفته بدون فعالیت ورزشی)، و "ورزش دیابتی" (ادامه رژیم پرچرب، یک هفته آشنایی با دستگاه تردمیل و سپس انجام ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت)، قرار داده شدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین تمرین، میزان بیان فاکتور آغازگر یوکاریوتی ۲- α (eIF-2- α) و فاکتور نکروزه کننده تومور α (TNF- α) در بافت کبد همه موش‌ها با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: میزان قند خون و فاکتورهای α -eIF2 و TNF- α در کبد موش‌های "کنترل دیابتی" به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه "کنترل سالم" بود ($p < 0.05$). در گروه "ورزش دیابتی" میزان قند خون بطور فاحش و معنی‌داری کمتر از گروه "کنترل دیابتی" بود ($p < 0.05$) اما هیچ‌کدام از فاکتورهای α -eIF2 و TNF- α تغییر معنی‌داری نسبت به گروه "کنترل دیابتی" نشان ندادند.

نتیجه‌گیری: تمرین تناوبی شدید با مشخصات بکار رفته در این تحقیق نتوانست دو مارکر استرس شبکه آندوپلاسمی بافت کبد در موش‌های مبتلا به دیابتی نوع ۲ موثر را تغییر دهد.

واژه‌های کلیدی: استرس شبکه آندوپلاسمی، تمرین تناوبی با شدت بالا، دیابت، چاقی

مقدمه

پیشرفت این بیماری نقش دارد [۱]. به‌همین دلیل روش‌های تعدیل استرس شبکه آندوپلاسمی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۱].

شبکه آندوپلاسمی یک ساختار چندمنظوره است که در فرایندهای مختلف مانند سنتز پروتئین، تجزیه و ترمیم پروتئین نقش دارد [۲]. در شرایط طبیعی بدن، شبکه آندوپلاسمی با کنترل مناسب فرایندهای تجزیه و ترمیم پروتئین، تعادل مناسبی را حفظ می‌کند. با این حال، اختلالات متابولیکی مانند چاقی و

دیابت نوع ۲ یک اختلال متابولیکی شایع است که با مقاومت به انسولین و اختلال در متابولیسم گلوکز همراه بوده و چالش‌های مهمی برای سلامت جهانی ایجاد کرده است. هرچند سازوکارهای متفاوتی از جمله مقاومت به انسولین و تراکم پروتئین‌های کژتابیده (اشتباه تاخورد) یا واتابیده (اشتباه باز شده) در شبکه آندوپلاسمی برای پیدایش و پیشرفت بیماری دیابت نوع ۲ بیان شده است اما تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که استرس شبکه آندوپلاسمی نیز به‌عنوان یک مکانیسم حیاتی در ایجاد و

استرس شبکه آندوپلاسمی در ایجاد و پیشرفت بیماری دیابت، بررسی تأثیر HIIT بر استرس شبکه آندوپلاسمی و بیان پروتئین‌های خاص مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمی، از جمله $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ ، در مدل‌های حیوانی دیابت نوع ۲، به‌ویژه موش‌ها، مورد توجه محققین بوده است. هدف این مطالعات درک این موضوع است که چگونه HIIT ممکن است استرس شبکه آندوپلاسمی و پاسخ التهابی ناشی از دیابت نوع ۲ را تعدیل کند. در این راستا، یوان^۵ و همکاران با بررسی اثرات HIIT بر استرس شبکه آندوپلاسمی و بیان پروتئین‌های $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ متوجه کاهش قابل توجهی در نشانگرهای استرس شبکه آندوپلاسمی و کاهش بیان $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ به‌دنبال HIIT شدند که نشان‌دهنده کاهش بالقوه استرس و التهاب شبکه آندوپلاسمی در موش‌های دیابتی تمرین داده شده است [۶]. همچنین دورر^۶ و همکاران در بررسی تأثیر HIIT بر استرس شبکه آندوپلاسمی در مدل موش دیابت نوع ۲ دریافتند که HIIT نشانگرهای استرس شبکه آندوپلاسمی را کاهش می‌دهد و بیان $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ را تعدیل می‌کند [۷]. با توجه به متفاوت بودن نوع پروتکل‌های تمرینی در مطالعات قبلی، در پژوهش حاضر، تأثیر ۱۲ هفته HIIT بر بیان پروتئین‌های $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها

۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و میانگین وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم، از مؤسسه پاستور ایران تهیه شدند. حیوانات به آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه کردستان منتقل شدند تا طبق خط‌مشی انجمن حمایت از حیوانات آزمایشگاهی ایران، برای اهداف علمی و آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرند. موش‌ها در شرایط کنترل‌شده محیطی با میانگین دمای 22 ± 2 درجه سانتیگراد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شده و به‌طور آزادانه به آب و غذای ویژه‌ی موش دسترسی داشتند. در ابتدا، موش‌ها به‌مدت یک هفته در قفس‌های

مقاومت به انسولین می‌توانند عملکرد شبکه آندوپلاسمی را تحت تأثیر قرار داده و باعث تراکم پروتئین‌های کژتابیده یا واتابیده شوند [۲]. استرس شبکه آندوپلاسمی زمانی اتفاق می‌افتد که بین ظرفیت تابیدن شبکه آندوپلاسمی و تقاضا برای سنتز پروتئین و تاخوردگی، عدم تعادل وجود داشته باشد. این عدم تعادل منجر به انباشته شدن پروتئین‌های واتابیده یا کژتابیده می‌شود و باعث ایجاد پاسخ استرس در شبکه آندوپلاسمی می‌شود که مسیرهای متفاوتی را فعال می‌کند [۲]. یکی از مسیرهای مهم سیگنال دهی درگیر در استرس شبکه آندوپلاسمی، مسیر فاکتور آغازگر یوکاریوتی ۲-آلفا^۱ است. $eIF2-\alpha$ یک پروتئین کلیدی است که در شروع ترجمه پروتئین نقش دارد و در تنظیم استرس شبکه آندوپلاسمی و پاسخ پروتئین واتابیده^۲ نقش دارد [۳]. همچنین فاکتور نکروز تومور آلفا^۳ یک سایتوکاین پیش التهابی است که نقش مهمی در التهاب و پاسخ ایمنی دارد که می‌تواند نشانه‌ای برای استرس شبکه آندوپلاسمی باشد. دیابت و چاقی با افزایش سطح $TNF-\alpha$ ، التهاب مزمن خفیف، مقاومت به انسولین و اختلال در متابولیسم گلوکز همراه است [۴]. $TNF-\alpha$ در پاتوژنز دیابت نوع ۲ نقش دارد و به اختلال عملکرد سلول‌های بتا پانکراس و مقاومت به انسولین کمک می‌کند. علاوه بر این، در کبد افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ استرس شبکه آندوپلاسمی مشاهده شده است که می‌تواند به استئاتوز و التهاب کبد کمک کند [۴]. بنابراین، درک مکانیسم‌های مولکولی زمینه‌ساز استرس شبکه آندوپلاسمی در کبد در دیابت نوع ۲، جهت شناسایی اهداف درمانی بالقوه برای درمان این بیماری مهم است.

انجام فعالیت ورزشی با پروتکل‌های مختلف تمرینی به‌عنوان یکی از اساسی‌ترین راه‌های مدیریت دیابت نوع ۲ و اثرات مطلوب در کنترل قند خون و سلامت متابولیک شناخته شده است. هر چند اثربخشی تمرینات تداومی و مقاومتی در بهبود شرایط بیماران دیابتی به‌طور سنتی مورد توجه بوده است [۵]، اما تمرین تناوبی با شدت بالا^۴ به‌دلیل کارایی زمانی و پتانسیل برای ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است [۵]. HIIT شامل دوره‌های کوتاه تمرین با شدت بالا همراه با دوره‌های استراحتی کوتاه است و در بهبود تنظیم گلوکز و حساسیت به انسولین کمک‌کننده است [۵]. با توجه به نقش

^۴ High-Intensity Interval Training (HIIT)

^۵ Yuan

^۶ Durrer

^۱ $eIF2-\alpha$

^۲ Unfolded protein response

^۳ $TNF-\alpha$

پرچرب، انتهای هفته چهارم (قبل از شروع دوره مداخلات پژوهش) و انتهای هفته سیزدهم (انتهای دوره مداخلات پژوهش) اندازه‌گیری شد. موش‌های گروه تمرین ورزشی را به مدت یک هفته با راه رفتن و دویدن بر روی نوار گردان آشنا کردیم تا برآوردی از حداکثر سرعت دویدن، داشته باشیم. سپس آزمون عملکرد ورزشی با افزایش پلکانی شدت را روی موش‌ها اجرا کردیم. بدین‌منظور موش‌ها، به مدت ۸ هفته، هر هفته ۵ جلسه و هر جلسه ۱۰ الی ۱۸ دقیقه به اجرای HIIT روی نوار گردان پرداختند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ناشتایی شبانه، تمامی موش‌ها را با ترکیب کتامین با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم (استروپ^۹، بلژیک) و زایلازین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم (نیکس ژن^{۱۰}، آمریکا) بی‌هوش نموده و از بافت کبد نمونه برداری کردیم.

اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن

در این پژوهش، برای اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن از آزمون فزاینده استاندارد استفاده شد [۵]. برای این منظور، با توجه به ارتباط قوی بین سرعت دویدن روی نوار گردان و حداکثر اکسیژن مصرفی (VO₂max)، میزان VO₂max موش‌ها براساس سرعت دویدن آن‌ها محاسبه شد. این آزمون شامل ۱۰ مرحله ۳ دقیقه‌ای است. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر در ساعت بود و در مراحل بعدی سرعت اولیه به میزان ۰/۳ کیلومتر در ساعت افزایش یافت، درحالی‌که در تمام مراحل شیب صفر بود. در هر مرحله از آزمون که موش‌ها قادر به دویدن نبودند، سرعت در آن مرحله برابر با سرعت رت‌ها در VO₂max یا حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۵].

پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا

تمرینات ورزشی در این پژوهش بر روی تردمیل ۸ خطی انجام شد، زیرا شدت و مدت تمرین به راحتی قابل کنترل بود. حیوانات با دویدن روی تردمیل مجهز به موتور (۵ روز در هفته، هر روز به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) آشنا شدند. تمرینات تناوبی با شدت بالا بر اساس اصل اضافه بار به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته انجام شد (جدول ۱). اضافه بار با افزایش زمان وهله‌های تمرین و کاهش فواصل استراحتی

۴تایی نگهداری شدند تا با محیط جدید آشنا شوند و با آن سازگاری پیدا کنند. این مطالعه مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی-واحد علوم و تحقیقات قرار گرفته است (کد اخلاقی: IR.IAU.SRB.REC.1402.021) و بر اساس استاندارد اعلامیه هلسینکی انجام شده است.

روش اجرای پژوهش

تغذیه پرچرب و دیابتی کردن موش‌ها

موش‌ها در ۳ گروه آزمایشی قرار گرفتند. گروه "کنترل سالم" (۸ موش) به مدت ۱۳ هفته دسترسی آزادانه به غذای استاندارد (۱۰ درصد چربی، ۶۴ درصد کربوهیدرات و ۲۶ درصد پروتئین) و آب آشامیدنی داشتند. ۱۶ موش دیگر به مدت ۴ هفته تحت رژیم غذای پرچرب (۴۵ درصد چربی، ۳۵ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین) قرار گرفتند [۳]. غذای استاندارد و پرچرب از بخش پرورش حیوانات موسسه سرم سازی رازی تهیه گردید. سپس این ۱۶ موش را با استرپتوزوتوسین (شرکت سیگما، آلمان) دیابتی نموده و در دو گروه "کنترل دیابتی" (ادامه رژیم پرچرب به مدت ۹ هفته بدون فعالیت ورزشی)، و "ورزش دیابتی" (ادامه رژیم پرچرب همراه با یک هفته آشنایی با تمرین، و سپس ۸ هفته تمرین تناوبی پرشدت)، قرار دادیم.

دیابتی کردن موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین^۷ محلول در بافر سیترات با غلظت ۰/۱ مول/لیتر انجام شد. پس از تزریق STZ، موش‌ها تا پایان دوره پروتکل، رژیم غذایی پرچربی را مصرف کردند. برای ارزیابی ایجاد دیابت، ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ، سطوح قند خون ناشتای موش‌ها اندازه‌گیری شد. سطح گلوکز خون بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر ملاک ابتلا به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد. سطح سرم گلوکز در موش‌های گروه کنترل سالم در طول مدت مطالعه در محدوده طبیعی (۸۰-۱۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) قرار داشت [۸].

در طول مدت مطالعه، به‌طورمتوسط هر ۲۴ ساعت، ۱۸۲ گرم غذا در هر قفسه گذاشته می‌شد. جهت ارزیابی وضعیت دیابتی موش‌ها، ۷۲ ساعت بعد از تزریق STZ سطوح قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتر شرکت AccuCheck آلمان ارزیابی گردید. میانگین وزن موش‌ها قبل از شروع تغذیه با رژیم

⁹ Nexgen

⁷ Streptozotocin (STZ)

⁸ Strop

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی شدید استفاده شده در پژوهش حاضر

هفته	گرم کردن (۵ دقیقه)	تعداد تناوب شدید	مدت تناوب شدید	سرعت تناوب شدید	زمان تناوب استراحت	شدت تناوب استراحت	سرد کردن (۵ دقیقه)	زمان کل (دقیقه)
۱ و ۲	۱۰ متر /دقیقه	۲	۲ دقیقه	(معادل ۸۰ درصد Vo2max)	۱ دقیقه	۱۶ متر/دقیقه (معادل ۵۰ درصد Vo2max)	۱۰ متر /دقیقه	۱۶
۳ و ۴	۱۰ متر /دقیقه	۴	۲ دقیقه	۳۲ متر /دقیقه	۱ دقیقه	۱۸ متر/دقیقه (معادل ۵۲ درصد Vo2max)	۱۰ متر /دقیقه	۲۲
۵ و ۶	۱۰ متر /دقیقه	۶	۲ دقیقه	۳۴ متر /دقیقه	۱ دقیقه	۲۰ متر/دقیقه (معادل ۵۴ درصد Vo2max)	۱۰ متر /دقیقه	۲۸
۷ و ۸	۱۰ متر /دقیقه	۸	۲ دقیقه	۳۶ متر /دقیقه	۱ دقیقه	۲۲ متر/دقیقه (معادل ۵۶ درصد Vo2max)	۱۰ متر /دقیقه	۳۴

مواد هموژن شده به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دفورس جی (۴ درجه سانتی گراد) سانتریفیوژ شدند. سپس، مواد شناور جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین پروتئین (بیوراد^{۱۱}، آمریکا) و جذب نوری در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری بیان پروتئین α -eFI2 و α -TNF با وسترن بلات

هموژن پروتئین در سمپل لودینگ بافر (۵۰ میلی‌مول تریس-کلرید هیدروژن، pH ۸/۶، ۲ درصد سدیم دودسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) حل شد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند تا از باندهای غیریویژه یا زمینه جلوگیری شود. برای اندازه‌گیری پروتئین‌های α -eFI2 و α -TNF با استفاده از وسترن بلات، مراحل زیر انجام شد: انجام الکتروفورز ژل برای جداسازی پروتئین‌ها بر اساس وزن مولکولی آنها، انتقال پروتئین‌ها روی غشای جامد، مسدود کردن غشا برای

گروه تمرین اعمال شد. در ابتدا و انتهای تمرین، گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۱۶ متر در دقیقه انجام شد. این شدت به میزان ۶۸ درصد از VO2max بود. علاوه بر این، شدت تمرین در محدوده ۹۵ تا ۱۰۰ درصد از VO2max قرار داشت. استراحت فعال با مدت زمان ۶۰ ثانیه و سرعت ۱۶ متر در دقیقه بین فواصل تمرین انجام شد. موش‌ها از طریق شوک‌های الکتریکی در پشت تردمیل و با حرکت ملایم با استفاده از یک اسفنج، انگیزه برای دویدن داشتند. به هر کدام از موش‌ها، خط مشخص اختصاص داده شد و تمام فعالیت‌ها در این خط در طول برنامه تمرینی انجام شد تا اشتباهات احتمالی به حداقل رسیده باشد. موش‌های گروه کنترل روزانه به اتاق تمرین منتقل می‌شدند و در معرض همان محیطی که گروه‌های تمرینی بودند، اما بدون دویدن روی تردمیل، قرار می‌گرفتند.

اندازه‌گیری پروتئین تام بافت کبد

بافت کبد در بافر هموژن‌ساز با دمای زیر صفر (نسبت وزن به حجم ۱:۲۰) (۲۵ میلی‌مول هپس، ۲۵۰ میلی‌مول ساکاروز، ۱ درصد تریتون X-100، ۲ میلی‌مول ادتا، و یک قرص کامل مهارکننده پروتئاز کاتالیتیک (شرکت روش^{۱۰}، آلمان) هموژن شد.

¹¹ BioRad

¹⁰ Roche

انحراف معیار گزارش شد. ابتدا، نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک و همگنی واریانس با استفاده از آزمون لون^{۱۴} بررسی شد. برای مقایسه گروه‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه^{۱۵} استفاده شد. همچنین، برای بررسی تفاوت‌های زوج گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ استفاده شد.

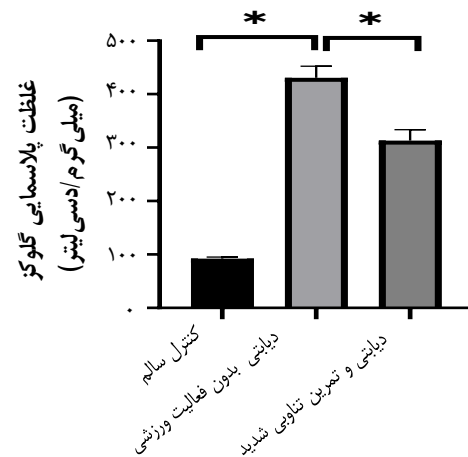
یافته‌ها

سطح پلاسمایی گلوکز

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود تزریق استرپتوزوتوسین به موش‌ها باعث افزایش معنادار سطوح پلاسمایی گلوکز در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم گردید ($p < 0/05$). تمرین تناوبی شدید منجر به کاهش معنادار سطوح پلاسمایی گلوکز در مقایسه با گروه دیابت بدون فعالیت ورزشی شد ($p < 0/05$).

تغییرات وزنی موش‌ها در گروه‌های آزمایشی

باتوجه به جدول ۲ تفاوت معناداری در میانگین وزن بین گروه‌های پژوهش حاضر مشاهده شد ($p = 0/001$, $F = 3/101$, $\eta^2 = 0/92$) بین گروه‌های سالم و دیابتی بدون فعالیت ورزشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما تمرین تناوبی شدید موجب کاهش معنی‌دار وزن موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه دیابتی بدون فعالیت ورزشی گردید.



نمودار ۱- سطح پلاسمایی گلوکز در گروه‌های مطالعه. *: تفاوت معنی‌دار با $p < 0/05$.

جلوگیری از اتصال غیراختصاصی، آنکوبه کردن غشا با آنتی‌بادی‌های اولیه خاص ضد پروتئین‌های $\text{eFI2-}\alpha$ ، $\text{TNF-}\alpha$ و بتا‌اکتین، شستشوی آنتی‌بادی‌های غیرمتصل آنکوبه کردن غشا با آنتی‌بادی‌های ثانویه متصل به پراکسیداز ترب کوهی، ظهور پروتئین‌های هدف با استفاده از نورتابی فلورسانس در اتاق تاریک، و تعیین کمیت باندهای پروتئینی برای اندازه‌گیری سطوح بیان پروتئین‌های $\text{eFI2-}\alpha$ و $\text{TNF-}\alpha$.

تجزیه و تحلیل آماری

از نرم‌افزار اسپ‌اس^{۱۲} 23.0 (آرنومک^{۱۳}، آی‌بی‌ام، آمریکا) برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین و

جدول ۲- تغییرات وزنی موش‌های گروه‌های مختلف آزمایشی در طول پژوهش

گروه	وزن در شروع آزمایشات (گرم)	وزن در انتهای هفته پنجم قبل از شروع تمرین تناوبی شدید (گرم)	وزن در انتهای مطالعه (گرم)
رژیم غذایی استاندارد	$226/2 \pm 8/2$	$298/3 \pm 9/3$	$408/2 \pm 13/4$
رژیم غذایی پرچرب	$224/3 \pm 11/1$	$314/4 \pm 12/2$	$389/3 \pm 15/10$
			(گروه دیابتی بدون فعالیت ورزشی)
			$348/10 \pm 12/1^{*†}$
			(گروه دیابتی همراه با تمرین تناوبی شدید)

*: تفاوت معنی‌دار با گروه رژیم غذایی استاندارد، و †: تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی بدون فعالیت ورزشی و گروه رژیم غذایی استاندارد با $p < 0/05$.

¹⁴ Levene

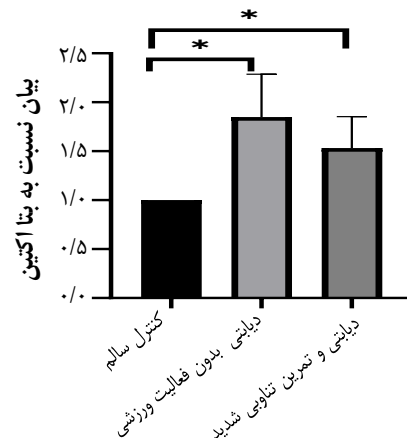
¹⁵ Analysis of Variance (ANOVA)

¹² SPS

¹³ Armonk

کاهش میزان بیان این دو نشانگر در بافت کبد نبود. همسو با نتایج مطالعه حاضر، قاسمپور و همکاران در مطالعه‌ای با هدف بررسی تأثیر سه ماه تمرین هوازی بر میزان $TNF-\alpha$ ، به عنوان یک سایتوکین التهابی در مردان مبتلا به دیابت نوع دو دریافتند که اجرای برنامه تمرینی هوازی تغییری در میزان سرمی $TNF-\alpha$ در این افراد ایجاد نکرد [۹]. دیابت نوع ۲ یک اختلال متابولیک است که با مقاومت به انسولین، اختلال در هموستاز گلوکز و التهاب مزمن خفیف همراه بوده و $TNF-\alpha$ به دلیل نقش آن در اختلال سیگنال دهی انسولین و ترویج التهاب سیستمیک، در پاتوژنز دیابت نوع ۲ نقش دارد [۴]. نشان داده شده است که فعالیت ورزشی باعث تحریک ترشح سایتوکین ها و عوامل ضدالتهابی مانند اینترلوکین ۱۰ و آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین ۱۱ می‌شود. این عوامل ضدالتهابی ممکن است اثرات پیش التهابی $TNF-\alpha$ را خنثی کنند و عدم تغییر قابل توجه در سطوح $TNF-\alpha$ را موجب شوند [۱۰]. همچنین آلن^{۱۶} و همکاران با بررسی اثرات تمرین تناوبی هوازی با شدت زیاد بر نشانگرهای التهابی سیستمیک در جمعیت های کم تحرک هیچ تغییر

معنی داری در سطوح پروتئین واکنشی $TNF-\alpha$ و CRP پس از مداخله تمرینی مشاهده نکردند [۱۱]. از طرف دیگر یوان و همکاران با بررسی اثرات HIIT بر استرس شبکه آندوپلاسمی و بیان پروتئین های $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ در موش های مبتلا به دیابت نوع ۲ متوجه کاهش قابل توجهی در نشانگرهای استرس شبکه آندوپلاسمی و کاهش بیان $TNF-\alpha$ و $eIF2-\alpha$ به دنبال HIIT شدند [۶]. همچنین دورر و همکاران در بررسی تأثیر HIIT بر استرس شبکه آندوپلاسمی در مدل موش دیابت نوع ۲ دریافتند که HIIT نشانگرهای استرس شبکه آندوپلاسمی را کاهش می‌دهد و بیان $TNF-\alpha$ و $eIF2-\alpha$ را تعدیل می‌کند [۷]. این یافته‌های متناقض، پیچیدگی رابطه بین تمرینات تناوبی با شدت بالا و نشانگرهای التهابی و نیاز به تحقیقات بیشتر را برجسته می‌کند. نتایج متناقض به دست آمده از مطالعات مختلف در مورد بررسی تأثیر HIIT بر سطوح پروتئین $eIF2-\alpha$ و سطوح پروتئین $TNF-\alpha$ را می‌توان به عوامل متعددی مانند؛ سن، جنس، سطح آمادگی جسمانی، و وجود بیماری‌ها نسبت داد [۱۷-۱۱]. همینطور، شرایط پاتوفیزیولوژی زمینه‌ای جمعیت مورد



نمودار ۲- میزان بیان پروتئین $eIF2-\alpha$ در گروه‌های مطالعه. *: تفاوت معنی دار با $p < 0.05$

میزان بیان پروتئین $eIF2-\alpha$

دیابت باعث افزایش معنی دار بیان نسبی پروتئین $eIF2-\alpha$ در مقایسه با موش های سالم شد $F(2, 14) = 9.29$, $p = 0.004$. با این حال بین گروه های دیابتی بدون فعالیت ورزشی و دیابتی همراه با فعالیت ورزشی تفاوت معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۲).

میزان بیان پروتئین $TNF-\alpha$

با توجه به نمودار ۳ مشاهده می‌شود که دیابت باعث موش های سالم شد $F(1, 14) = 7.65$, $p = 0.007$. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در گروه دیابتی همراه با فعالیت ورزشی در مقایسه با هر دو گروه دیابتی بدون فعالیت ورزشی و سالم تفاوت معنی داری نداشت اما بین گروه کنترل سالم و گروه دیابتی بدون فعالیت ورزشی تفاوت معنی داری مشاهده شد ($p = 0.006$).

بحث

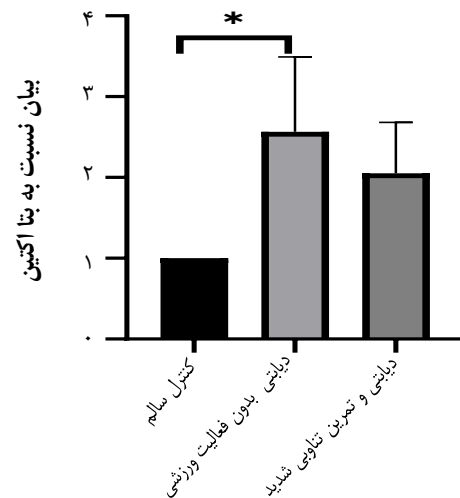
پژوهش حاضر نشان داد که متعاقب رژیم غذایی پرچرب و ابتلا به دیابت در موش ها، دو نشانگر اختصاصی استرس شبکه آندوپلاسمی یعنی $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ به میزان فاحشی در بافت کبد افزایش یافت. با این حال انجام هشت هفته تمرین تناوبی شدید با مشخصه های استفاده شده در مطالعه حاضر قادر به

¹⁸ CRP

¹⁶ IL-1ra

¹⁷ Allen

مطالعه ممکن است در این مورد نقش داشته باشد. به عنوان مثال،



نمودار ۳- میزان نشانگر TNF-α در گروه‌های مطالعه. *: تفاوت معنی دار با $p < 0.05$

(۴ نفر) تقسیم شدند. پروتکل تمرینی شامل ۲۴ جلسه دویدن روی تردمیل با ۶۰ تا ۸۰ درصد VO2max برای MIT و بیش از ۸۰ درصد VO2max برای HIIT بود. تحت شرایط سالم، تمرین مزمن سطح TNF-α پلاسمایی را کاهش داد و به همان اندازه، بسته به شدت تمرین، اندازه جزایر لانگرهانس را افزایش داد [۱۵]. فعالیت ورزشی می‌تواند چندین مسیر سیگنال دهی ضدالتهابی، مانند مسیر کیناز پروتئین فعال شده با آدنوزین مونوفسفات^{۲۲} و مسیر فاکتور ۲ مرتبط با فاکتور هسته‌ای (Nrf2) را فعال نموده و در عین حال مسیرهای سیگنال دهی پیش‌التهابی، از جمله فعال‌سازی فاکتور هسته‌ای-کاپایی (NF-κB) را مهار کند و در نهایت منجر به کاهش تولید TNF-α شود [۶]. خلفی و همکاران در مطالعه تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر نشانگرهای التهابی در افراد مبتلا به اختلالات متابولیک، از جمله دیابت نوع ۲ نشان دادند که تمرین تناوبی با شدت بالا تأثیر مطلوبی بر کاهش نشانگرهای التهابی از جمله TNF-α در افراد مبتلا به اختلالات متابولیک دارد [۱۶]. با این حال، نتایج پژوهش ما نشان می‌دهد که تمرین تناوبی با شدت بالا تأثیر قابل توجهی بر سطوح TNF-α در موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع ۲ ندارد. توجه به این نکته مهم است که TNF-α یک سایتوکین پیش‌التهابی است که با مقاومت به انسولین و التهاب مرتبط است [۱۹]. عدم افزایش قابل توجه سطح TNF-α در گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل دیابتی می‌تواند به عنوان یک پیامد مثبت تعبیر شود. در این میان، لویا والدراما^{۲۳} و همکاران اثرات تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیومارکرهای التهابی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ را بررسی کردند. این بررسی نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا به طور بالقوه می‌تواند نشانگرهای التهابی را در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ کاهش دهد [۱۷]. انتخاب نشانگرهای زیستی و روش‌های مورد استفاده برای ارزیابی آن‌ها می‌تواند منجر به نتایج متفاوت شود [۲۰].

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد میزان بیان پروتئین eIF2-α پس از ۸ هفته تمرین با شدت بالا در موش‌های دیابتی نوع ۲ در مقایسه با گروه‌های کنترل دیابتی و کنترل سالم تغییر قابل توجهی نداشت. eIF2-α یک تنظیم‌کننده کلیدی برای

افراد مبتلا به دیابت، فرآیندهای متابولیک نامنظم، مسیرهای سیگنال‌دهی تغییر یافته و افزایش استرس اکسیداتیو را نشان می‌دهند. این عوامل می‌توانند بر پاسخ به تمرینات تناوبی با شدت بالا تأثیر بگذارند و به طور بالقوه به تفاوت‌های مشاهده شده در سطوح پروتئین eIF2-α و TNF-α منجر شود [۱۶]. ماسدو سانتیاگو^{۱۹} و همکاران با هدف تعیین اثرات تمرین مقاومتی بر پاسخ ایمنی، ترکیب بدن، و بیان ژن TNF-α، یک کارآزمایی تصادفی کنترل شده با استفاده از روش تمرین دو مرحله ای به مدت هشت هفته بر روی ۱۹ زن سالمند انجام دادند. نتایج نشان داد تمرین مقاومتی موجب تغییر بیان ژن و کاهش سطوح سرمی TNF-α در زنان مسن می‌شود [۱۴]. چنین شرایطی ممکن است به تعدیل ایمنی و اثرات ضدالتهابی مربوط باشد زیرا تمرین مقاومتی سایتوکین‌ها را آزاد می‌کند، به‌ویژه اینترلوکین-۶ که به عنوان یک آنتاگونیست TNF-α در طول تمرین عمل می‌کند [۱۸]. در پژوهش دیگری جیمenez^{۲۰} همکاران به بررسی تأثیر مزمن تمرینات با شدت متوسط^{۲۱} و HIIT بر سطح پلاسمایی TNF-α و تأثیر آن بر مورفولوژی جزایر لانگرهانس در موش‌های صحرایی سالم پرداختند [۱۵]. موش‌های صحرایی نر دوماهه ویستار به سه گروه کنترل (۶ نفر)، MIT (۶ نفر) و HIIT

²² AMP-activated protein kinase (AMPK)

²³ Leiva-Valderrama

¹⁹ Macêdo Santiago

²⁰ Jiménez-Maldonado

²¹ Medium intensity training (MIT)

انسولین شود [۷]. تعدیل مسیر $eIF2-\alpha$ و سیگنال‌دهی پایین دستی به‌عنوان یک استراتژی درمانی بالقوه برای مدیریت بیماری‌های مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمی، از جمله دیابت، مطرح شده است [۲۳]. رویکردهای مختلفی از جمله مهار و دستکاری ژنتیکی فسفوریلاسیون $eIF2-\alpha$ مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۲۴].

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که اجرای تمرینات تناوبی پرشدت باعث کاهش معنی‌دار در مقادیر $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ نشد.

ملاحظات مالی

ندارد.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ح. ب؛ م. غ: طراحی، اجرای طرح پژوهشی و جمع‌آوری داده‌ها؛ ح. ب؛ م. غ؛ ح. ر؛ ح. ع: آنالیز داده‌ها و نگارش مقاله.

فهرست منابع

- [1] Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Görgün C, Glimcher LH, Hotamisligil GS, Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 306 (2004) 457-461.
- [2] Cnop M, Foufelle F, Velloso LA, Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends Mol Med* 18 (2012) 59-68.
- [3] Tian RD, Chen YQ, He YH, Tang YJ, Chen GM, Yang FW, Li Y, Huang WG, Chen H, Liu X, Lin SD, Phosphorylation of $eIF2\alpha$ mitigates endoplasmic reticulum stress and hepatocyte necroptosis in acute liver injury. *Ann Hepatol* 19 (2020) 79-87.
- [4] Hotamisligil GS, Spiegelman BM, Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 43 (1994) 1271-1278.
- [5] Madsen SM, Thorup AC, Overgaard K, Jeppesen PB, High intensity interval training improves glycaemic control and pancreatic β cell function of type 2 diabetes

شروع سنتز پروتئین است. تحت شرایط استرس شبکه آندوپلاسمی، $eIF2-\alpha$ فسفریله می‌شود که منجر به کاهش سنتز پروتئین و تنظیم مثبت ژن‌های خاص پاسخگو به استرس می‌شود [۲۱]. استرس شبکه آندوپلاسمی زمانی اتفاق می‌افتد که پروتئین‌های نادرست تاجورده یا باز شده در شبکه آندوپلاسمی وجود داشته باشد و در ایجاد و پیشرفت اختلالات متابولیک مختلف از جمله دیابت نقش داشته باشد. در دیابت، هیپرگلیسمی مزمن و متابولیسم لیپید نامنظم می‌تواند منجر به افزایش استرس شبکه آندوپلاسمی در بافت کبد شود [۲۲]. یوان و همکاران با بررسی اثر تمرین تناوبی با شدت زیاد را بر استرس شبکه آندوپلاسمی و بیان پروتئین‌های $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ کاهش قابل‌توجهی در بیان $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ مشاهده کردند که نشان‌دهنده کاهش بالقوه استرس و التهاب شبکه آندوپلاسمی در موش‌های تمرین داده شده است [۶]. در مطالعه مشابهی، دورر و همکاران با بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت زیاد بر استرس شبکه آندوپلاسمی در مدل موش دیابت نوع ۲ دریافتند که تمرین تناوبی با شدت زیاد نشانگرهای استرس شبکه آندوپلاسمی را کاهش می‌دهد و بیان $eIF2-\alpha$ و $TNF-\alpha$ را تعدیل می‌کند [۷]. استرس شبکه آندوپلاسمی پاسخ پروتئین باز شده را از طریق یک آبشار سیگنالینگ پیچیده با هدف بازبانی هموستاز شبکه آندوپلاسمی تحریک می‌کند. با این حال، استرس طولانی مدت یا شدید شبکه آندوپلاسمی می‌تواند منجر به اختلال عملکرد کبد و مقاومت به

- patients. *PLoS One* 10 (2015) e0133286.
- [6] Yuan Z, Xiao-Wei L, Juan W, Xiu-Juan L, Nian-Yun Z, Lei S. HIIT and MICT attenuate high-fat diet-induced hepatic lipid accumulation and ER stress via the PERK-ATF4-CHOP signaling pathway. *J Physiol Biochem* 78 (2022) 641-652.
- [7] Durrer C, Francois M, Neudorf H, Little JP. Acute high-intensity interval exercise reduces human monocyte Toll-like receptor 2 expression in type 2 diabetes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 312 (2017) R529-R538.
- [8] Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res* (2008) 704045.
- [9] Ghasemalipour H, Eizadi M, Hajirasouli M, The effect of regular aerobic Training on Tumor Necrosis Factor-Alpha ($TNF-\alpha$) in males with type ii diabetes. *Avicenna J Med Biochem* 3 (2015) e26908.
- [10] Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN, The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med* 31 (2001) 115-144.
- [11] Allen NG, Higham SM, Mendham AE, Kastelein TE, Larsen PS, Duffield R, The effect of high-intensity

- aerobic interval training on markers of systemic inflammation in sedentary populations. *Eur J Appl Physiol* 117 (2017) 1249-1256.
- [12] Pertiwi KR, Yulianti E, Rustiasari UJ, Physical exercise as cytokine modulator in inflammatory immune response: a systematic review. *J Keolahragaan* 10 (2022) 247-257.
- [13] Contreras-Zentella ML, Hernández-Muñoz R, Possible gender influence in the mechanisms underlying the oxidative stress, inflammatory response, and the metabolic alterations in patients with obesity and/or type 2 diabetes. *Antioxidants (Basel)* 10 (2021) 1729.
- [14] Macêdo Santiago LÂ, Neto LGL, Borges Pereira G, Leite RD, Mostarda CT, de Oliveira Brito Monzani J, Sousa WR, Rodrigues Pinheiro AJM, Navarro F, Effects of resistance training on immunoinflammatory response, TNF-Alpha gene expression, and body composition in elderly women. *J Aging Res* (2018) 1467025.
- [15] Jiménez-Maldonado A, Montero S, Lemus M, Cerna-Cortés J, Rodríguez-Hernández A, Mendoza MA, Melnikov V, Gamboa-Domínguez A, Muñiz J, Virgen-Ortiz A, Rocas de Alvarez-Buylla E, Moderate and high intensity chronic exercise reduces plasma tumor necrosis factor alpha and increases the Langerhans islet area in healthy rats. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 19(2019) 354-361.
- [16] Khalafi M, Symonds ME, The impact of high-intensity interval training on inflammatory markers in metabolic disorders: A meta-analysis. *Scand J Med Sci Sports* 30 (2020) 2020-2036.
- [17] Leiva-Valderrama JM, Montes-de-Oca-Garcia A, Opazo-Diaz E, Ponce-Gonzalez JG, Molina-Torres G, Velázquez-Díaz D, Galán-Mercant A, Effects of high-intensity interval training on inflammatory biomarkers in patients with type 2 diabetes. A systematic review. *Int J Environ Res Public Health* 18 (2021) 12644.
- [18] Hadiono MR, Kushartanti BW, High intensity interval training (HIIT) and moderate intensity training (MIT) against TNF- α and IL-6 levels in rats. *Proceedings of the second International conference on sports sciences and health*, 2018, September 16, Malang, Indonesia.
- [19] Borst SE, The role of TNF-alpha in insulin resistance. *Endocrine* 23 (2004) 177-182.
- [20] Cook NR, Methods for evaluating novel biomarkers - a new paradigm. *Int J Clin Pract* 64 (2010) 1723-1727.
- [21] Back SH, Scheuner D, Han J, Song B, Ribick M, Wang J, Gildersleeve RD, Pennathur S, Kaufman RJ, Translation attenuation through eIF2alpha phosphorylation prevents oxidative stress and maintains the differentiated state in beta cells. *Cell Metab* 10 (2009) 13-26.
- [22] Rutkowski DT, Liver function and dysfunction - a unique window into the physiological reach of ER stress and the unfolded protein response. *FEBS J* 286 (2019) 356-378.
- [23] Sarvani C, Sireesh D, Ramkumar KM, Unraveling the role of ER stress inhibitors in the context of metabolic diseases. *Pharmacol Res* 119 (2017) 412-421.
- [24] Dey S, Savant S, Teske BF, Hatzoglou M, Calkhoven CF, Wek RC. Transcriptional repression of ATF4 gene by CCAAT/enhancer-binding protein β (C/EBP β) differentially regulates integrated stress response. *J Biol Chem* 287 (2012) 21936-21949.

Research paper

Effect of 8 weeks high-intensity interval training on the stress of liver endoplasmic reticulum in obese rats with type 2 diabetes

Hadis Bayat¹, Mandana Gholami^{1*}, Hamid Rajabi², Hossein Abed Natanzi¹

1. Department of physical education and sport science, Faculty of Literature, Humanities and Social Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Professional Physical Education and Sport Science, Kharazmi University, Tehran, Iran

Received: 13 December 2023

Accepted: 7 February 2024

Abstract

Background and Aim: Recent research has shown that stress of endoplasmic reticulum (ER) in liver tissue plays a significant role in development of type 2 diabetes. The aim of this study was to investigate the effect of 8 weeks high-intensity interval training on two known markers of liver ER stress in rats with type 2 diabetes.

Methods: Twenty four male Wistar rats (8 weeks age and 200-250 g weight) were used. The "healthy control" group (8 mice) had free access to standard food and drinking water for 13 weeks. Another 16 mice were fed a high-fat diet for 4 weeks. Then these 16 rats were made diabetic with streptozotocin and allocated in two groups: "diabetic control" (maintenance of a high-fat diet for 9 weeks without exercise) and "diabetic exercise" (maintenance of a high-fat diet, one week familiarization with treadmill and then 8 weeks high intensity interval training). Then, the expression levels of eukaryotic initiator factor 2- α (eIF-2- α) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in the liver tissue of all rats were measured by western blot method.

Results: Blood glucose level and expression of both eIF2- α and TNF- α were significantly higher in the "diabetic control" than the "healthy control" ($P \leq 0.05$). The "diabetic exercise" group showed significantly lower glucose level than the "diabetic control" group ($P \leq 0.05$). However, neither eIF-2- α nor TNF- α showed significant change in "diabetic exercise" compared to the "diabetic control" group.

Conclusion: Intense intermittent exercise with the parameters used in this research could not change two stress markers of liver ER in type 2 diabetic rats.

Keywords: endoplasmic reticulum stress, high-intensity interval training, diabetes, obesity

Please cite this article as follows:

Bayat H, Gholami M, Rajabi H, Natanzi HA, Effect of 8 weeks high-intensity interval training on the stress of liver endoplasmic reticulum in obese rats with type 2 diabetes. *Iran J Physiol Pharmacol* 7 (2023) 219-228.

*Corresponding author: gholami_man@yahoo.com (ORCID ID: 0000-0001-7366-5167)