

## تأثیر چهار هفته تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل یاری کورکومین بر بیان ژن‌های IRE-1 $\alpha$ و IRS-I در بطن چپ موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو

صدیقه بابائی<sup>۱</sup>، مقصود پیری<sup>۱\*</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۱</sup>، مریم دلفان<sup>۲</sup>

### چکیده

مقدمه: نقص در عملکرد انسولین با تغییرات آگروژنی عامل مهم ایجاد اختلال در بافت قلب است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل یاری کورکومین بر ژن‌های IRE-1 $\alpha$  و IRS-I در بطن چپ موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو بود.

روش‌ها: در مطالعه‌ی تجربی حاضر ۳۰ سر موش نر مبتلا شده به دیابت به پنج گروه ۶ تایی تقسیم شدند؛ تمرین تناوبی شدید (HIIT)، تمرین تناوبی شدید + کورکومین (S+HIIT)، کنترل دیابتی + کورکومین (S+DC)، کنترل دیابتی (DC)، کنترل سالم (NC). پروتکل تمرین تناوبی شدید، پنج روز در هفته و به مدت چهار هفته اجرا شد. کورکومین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه گاوژ شد. بیان ژن‌های IRE-1 $\alpha$  و IRS-I با روش qReal time-PCR و تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه در سطح آلفای ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: بیان ژن IRS-1 در گروه S+HIIT نسبت به گروه‌های DC (003/0P=) و S+DC (001/0P=) و در گروه HIIT نسبت به گروه‌های DC (002/0P=) و S+DC (019/0P=) کاهش معناداری داشت. ژن IRE-1 $\alpha$  در گروه S+HIIT نسبت به گروه‌های DC (003/0P=)، DC (001/0P=) و S+DC (008/0P=) کاهش معناداری داشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل یاری کورکومین با بهبود شرایط متابولیکی و عوامل ژنی می‌تواند روند آپوپتوز میوکارد در بیماران دیابتی را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: آپوپتوز میوسیت، تمرین تناوبی شدید، کاردیومیوپاتی دیابتی، مکمل کورکومین

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

\* نشانی: تهران، میدان سوهانک، مجتمع ولایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، صندوق

پستی ۱۴۶۵۶۱۳۱۱۱، تلفن: ۰۹۱۲۱۱۲۴۴۳۴، پست الکترونیک: m.peeri@iauctb.ac.ir

## مقدمه

بیان شده بر ترشح و فعالیت انسولین مؤثر بوده و باعث کاهش ابتلاء به بیماری‌های مزمن می‌شود [۱۶، ۱۵]. زیرا در تناوب‌های شدید با تنش برشی بالاتر در عضله در حال انقباض، محرک تولید فاکتور القاء هایپوکسی ( $HIF-1\alpha$ ) بوده و پس از آن در انجام استراحت فعال با تناوب‌های با شدت کمتر، با تحریک گیرنده‌های آنژیوژنین ( $VEGF-R$ ) [۱۷] و نیز با تنظیم متابولیسم سلولی و راه اندازی آنزیم‌های هوازی فعالیت پمپاژی بطن را بهبود می‌دهد [۱۷]. شواهد حاکی از آن است که انجام این نوع تمرین همراه با مداخلات غذایی در بهبود کیفیت زندگی و پیشگیری از اختلالات قلبی عروقی تأثیر به‌سزایی دارد [۱۹، ۱۸]. در سال‌های اخیر مصرف گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و خواص ضد دیابتی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۲۰]. کورکومین به عنوان ترکیب ضد التهاب اصلی دی‌فرولونیل‌متان در گیاه زردچوبه و مواد مؤثر پلی‌فنولی موجود در آن به‌وسیله‌ی اتصال به پیوندهای هیدروژنی در داخل هسته‌ی سلول از جهش ژن پیشگیری می‌کند [۲۱] و با مهار عملکرد رادیکال‌های آزاد از تخریب غشاء میتوکندری جلوگیری می‌کند [۲۳، ۲۲]. همچنین کورکومین با تأثیر بر سیگنال‌دهی پروتئین کینازی فعال شده با میتوفیوژن ( $AMPK$ )، موجب حرکت حامل شماره‌ی ۴ گلوکز وابسته به انسولین ( $GLUT-4$ ) از داخل غشاء به سطح سلول شده و در کاهش مقاومت انسولینی، تحمل گلوکز را بهبود می‌بخشد [۲۴]. لازم به ذکر است که دوز مجاز مصرف روزانه کورکومین به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با تأثیر ضد ایسکمی از مرگ سلول‌های میوسیت قلب جلوگیری می‌کند [۲۱]. تأثیر مفید تمرین تناوبی شدید بر بهبود عملکرد انسولین [۲۵] و آثار آنتی‌دیابتی [۲۶، ۲۴] و ضد ایسکمی کورکومین به تأیید رسیده است [۲۳، ۲۱]. اما هنوز بررسی‌ها در زمینه‌ی ایجاد تغییرات مخرب دیابت بر ایجاد پاتوژن قلب، محدود است [۲۷]. همچنین در خصوص تأثیر هم‌زمان تمرین تناوبی شدید و مصرف کورکومین بر تنظیم بیان ژن در بافت بطن چپ بیماران دیابتی مطالعات بسیار اندکی در دسترس است، لذا پژوهش حاضر برای اولین بار به بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل یاری کورکومین بر ژن‌های  $IRS-I$  و  $IRE-1\alpha$  در بطن چپ موش‌های صحرائی نر مبتلا به دیابت نوع دو پرداخت.

دیابت نوع دو سندروم متابولیکی است که به‌دلیل کاهش در تولید انسولین و یا نقص در عملکرد آن در عدم اتصال به گیرنده‌ی سرین سوبسترای ۱ ( $IRS-1$ )، باعث افزایش در مقادیر قند خون سیستمی می‌شود [۱]. در صورت افزایش مقاومت به انسولین و سوخت ناقص قندها، متابولیسم پروتئین مختل شده و استرس سلولی حادث می‌شود [۲]. در زمان افزایش تولید رادیکال‌های آزاد به‌دلیل تولید محصولات گلیکوزیله فشار اکسایشی افزایش می‌یابد و منجر به تولید نشانگر حساس به استرس می‌شود [۳]. متعاقب افزایش  $IRS-1$  به‌عنوان نشانگر مهم کاهش انسولین، آنزیم حسگر اینوزیتول ۱ آلفا ( $IRE-1\alpha$ ) فعال می‌شود و تخریب سلول را پشتیبانی می‌کند [۴]. همین‌طور در زمان مقاومت به انسولین و سوخت ناقص انرژی تولید  $IRE-1\alpha$  تغییرات فیروزی را از مسیر عوامل التهابی فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا ( $TNF-\alpha$ ) راه‌اندازی می‌کند [۵]. به این دلیل در پاتوژنز طیف وسیعی از بیماری‌های قلبی عروقی مانند کاردیومیوپاتی ناشی از دیابت دخالت دارد [۷، ۶]. همراه با کاهش حساسیت به انسولین، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یافته [۸] و اکسیژن‌رسانی به قلب مختل می‌شود [۹]. متعاقب آن، عملکرد پمپاژی بطن چپ تضعیف می‌گردد [۱۰]. بر این اساس در بیماران متابولیکی به‌دلیل بر هم خوردن هم‌مستاز انرژی، فاکتور  $IRE-1\alpha$  از شبکه‌ی اندوپلاسمی سلول‌های میوسیت تولید شده و آپوپتوز ایجاد می‌کند [۱۱] و در نهایت باعث تشدید کاردیومیوپاتی می‌شود، اگرچه هنوز به‌طور دقیق دلیل اصلی ایجاد کاردیومیوپاتی در بیماران دیابتی شناسایی نشده است اما به‌نظر می‌رسد استفاده از مداخلات ورزشی در کنار سایر مراحل درمانی عاملی مؤثر در کاهش عوارض دارد [۱۲، ۷]. به‌نظر می‌رسد، انجام تمرین تناوبی شدید ( $HIIT$ ) با به‌کارگیری تارهای تند انقباض در اجرای تناوب شدید و نیز با به‌کارگیری تارهای کند انقباض در انجام استراحت فعال ما بین تناوب‌های شدید تمرینی، از طریق راه اندازی کلسیم درون سلولی و اتصال آن به کالمودولین، متابولیسم سلول را افزایش داده و با فعال کردن مسیر پروتئین کیناز بتا ( $AKT$ ) و پروتئین میتوفیوژن شماره ۳۸ ( $MAPK-38$ ) عملکرد ژن را تنظیم کند [۱۴، ۱۳]. هر دو مسیر

## روش‌ها

در این پژوهش تجربی- آزمایشگاهی ۳۰ سر موش نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور رازی تهیه شدند و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شدند. سن حیوانات ۸ تا ۹ هفته و میانگین وزن آنها بین  $270 \pm 10$  گرم بود. کلیه‌ی مراحل مختلف پژوهش با رعایت مسائل اخلاقی، مطابق دستور العمل کمیته‌ی اخلاق، کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران با تصویب کُد اخلاق به شماره IR.SBMU.RETECH.REC.1398.548 تصویب و انجام شد. حیوانات به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند؛ ۱- گروه کنترل سالم (NC)، ۲- گروه کنترل دیابتی (DC)، ۳- گروه کورکومین+ دیابت (S+DC)، ۴- گروه تمرین تناوبی شدید (HIIT)، ۵- گروه تمرین تناوبی شدید+کورکومین (S+HIIT). حیوانات در قفس‌های جنس پلی‌کربنات شفاف ساخت شرکت رازی راد و در دمای محیط ۲۲ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ با دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص حیوانات (پلت) نگهداری شدند.

القاء دیابت: القاء دیابت با استرپتوزتوسین بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی به هم‌هی موش‌ها به جز گروه کنترل سالم به این صورت القاء شد؛ پس از یک شب ناشتایی ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی تزریق و بعد از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده استرپتوزتوسین (STZ) در بافر سیترات با  $PH \ 4/5$  به‌صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بافر ۰/۰۵ مول سیترات به‌صورت حل شده گاوآژ شد [۲۳]. پس از گذشت ۷۲ ساعت از انجام تزریق، شاخص دیابتی شدن با سنجش قند خون ناشتا به وسیله گلوکومتر (۰۱ ساخت ژاپن) از ورید دم موش‌ها اندازه‌گیری شد. سطح قند خون ناشتا بالاتر از ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در نظر گرفته [۲۳] و تأیید شد، گروه کنترل سالم فقط بافر سیترات را با همان حجم بیان شده دریافت نمودند.

**مکمل‌سازی کورکومین:** مکمل کورکومین به‌صورت محلول خوراکی، در حلال کربوکسی متیل اولئات ۴ درصد و به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن، یک ساعت قبل از انجام

تمرین به گروه‌های دیابتی کنترل+ مکمل (S+DC) و مکمل با تمرین (S+HIIT) گاوآژ شد.

محاسبه‌ی سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی ( $vVo2max$ ) پس از ۳ دقیقه گرم‌کردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه، با شیب صفر درجه با تغییر در سرعت نوار گردان در هر ۲ دقیقه یکبار، ۴ متر بر دقیقه، افزایش یافت. لذا  $vVo2max$  زمانی بود که موش‌ها حداقل ۱ تا ۳ دقیقه نتوانند با یک سرعت ثابت بدوند و بلافاصله با افزایش سرعت قادر به دویدن نباشند. ارزیابی  $vVo2max$  هر دو هفته یک بار انجام شد [۲۸].

**پروتکل تمرین تناوبی شدید (HIIT):** شامل ۳ دقیقه گرم و سرد کردن با شدت ۳۰ درصد  $vVo2max$  (۵ متر بر دقیقه) و سپس تناوب با شدت درصد  $vVo2max$  در هفته‌ی اول، ۸۵ درصد  $vVo2max$  در هفته‌ی دوم و ۹۰ درصد  $vVo2max$  در هفته‌ی سوم و چهارم بود. تناوب با شدت پایین ۳۰ درصد  $vVo2max$  بود. تعداد تکرار تناوب با شدت بالا در دو هفته‌ی اول چهار تکرار بود که در هفته‌های سوم و چهارم به پنج تکرار افزایش یافت. زمان تناوب با شدت بالا دو دقیقه و تناوب با شدت پائین نیز دو دقیقه بود [۲۸].

لازم به ذکر است که گروه‌های DC، NC و SDC، در برنامه‌ی تمرین شرکت نداشتند، اما برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان و سازگاری با محیط ۵ بار در هفته و به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در هر جلسه بر روی نوار گردان کاملاً بی‌حرکت قرار داده شدند.

**نمونه‌گیری و سنجش متغیرهای پژوهش:** ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین موش‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شدند. سپس خون به‌طور مستقیم از بطن چپ رت‌ها دریافت و در لوله‌های حاوی هپارین ریخته شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰ متر بر دقیقه در دمای ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس بافت بطن چپ بلافاصله استخراج و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، در نیتروژن ۲۰- منجمد و برای سنجش بیان ژن در فریزر ۸۰- نگهداری شد.

گلوکز پلازما با سنجش قند خون ناشتایی به‌وسیله‌ی خون‌گیری از رگ دم موش‌ها با گلوکومتر ۱-۰ (ساخت کشور ژاپن) انجام شد. مقادیر انسولین با روش الایزا با ضریب تغییر ۰/۰۵ و

معناداری ۰/۰۵ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار معناداری Graph pad prism نسخه‌ی ۸ انجام شد.

### یافته‌ها

تفاوت معنادار میان گلوکز و انسولین پلازما بین گروه NC و DC می‌تواند حاکی از موثر بودن شیوه القاء دیابت بوده است ( $P < 0/001$ ). مقادیر گلوکز در گروه HIIT نسبت به گروه DC و S+DC به ترتیب ( $P = 0/001$ ) و ( $P = 0/003$ ) و در در گروه S+HIIT نسبت به گروه‌های S+DC، DC ( $P = 0/006$ ) و ( $P = 0/011$ ) کاهش معناداری داشتند، انسولین در گروه HIIT نسبت به گروه DC و S+DC به ترتیب ( $P = 0/012$ ) و ( $P = 0/042$ ) و در گروه S+HIIT نسبت به گروه‌های DC ( $P = 0/002$ )، S+DC ( $P = 0/001$ ) و HIIT ( $P = 0/009$ ) افزایش معناداری نشان داد. در (جدول ۲) وزن، مقادیر گلوکز و انسولین در همه‌ی گروه‌ها نشان داده شده است. بیان ژن IRS-1 در گروه HIIT نسبت به گروه‌های S+DC، DC به ترتیب ( $P = 0/002$ )، ( $P = 0/019$ )، و در گروه HIIT نسبت به گروه‌های DC ( $P = 0/003$ )، S+DC ( $P = 0/001$ ) و نسبت به گروه HIIT ( $P = 0/008$ ) کاهش معناداری داشت (شکل ۱). بیان ژن IRE-1 $\alpha$  در گروه HIIT نسبت به گروه‌های S+DC، DC به ترتیب ( $P = 0/099$ )، ( $P = 0/816$ ) تفاوت معناداری نداشت. اما در گروه S+HIIT نسبت به گروه‌های DC ( $P = 0/026$ )، S+DC ( $P = 0/002$ ) و HIIT ( $P = 0/029$ ) کاهش معناداری داشت (شکل ۲). تغییرات بیان ژن‌های مذکور در مطالعه‌ی حاضر با نسبت GAPDH، توسط آزمون آنوای یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی نشان داده شده است.

حساسیت  $\mu\text{g/dl}$  (MercoDia، سوئد) اندازه‌گیری شد. برای سنجش بیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1 $\alpha$  از روش qRealtime-PCR، از GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده گردید. در این بررسی بافت منجمد بطن چپ موش هموزن شد و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، محلول RNA از آن استخراج شد. سپس با آنزیم DNaseI از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌گر RNA پاکسازی شد و از هر یک از نمونه‌ها ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA استفاده شد. نسبت جذبی ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانوگرم برای همه‌ی نمونه‌های استخراج شده ۱/۸ تا ۲ بود. سنتز cDNA به وسیله‌ی کیت transe criptor first strand cDNAsynthesis kit (roch، ساخت کشور آلمان) بر طبق دستورالعمل انجام شد. برنامه‌ی Real time PCR به وسیله‌ی دستگاه (Rotrogene 6000, corbet") ساخت کشور آلمان انجام شد. طبق برنامه‌ی مذکور که براساس SYBER Green (ampligon) ساخت کشور دانمارک) با دور ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و بلافاصله ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه با پرایمر طراحی شده (ساخت نیکا زیست ژن ایران) استفاده شد. از فرمول  $-\Delta\Delta\text{ct}2$  برای کمی سازی مقادیر بیان ژن استفاده شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** برای آمار توصیفی از شاخص پراکندگی میانگین و انحراف معیار از نمودار استفاده گردید. نرمال بودن داده‌ها به وسیله‌ی آزمون شاپیرو ویلک مشخص شد. جهت تعیین اختلاف بین گروه NC و DC از آزمون آماری T مستقل و بین گروه‌های دیابتی از آزمون آنوای یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح

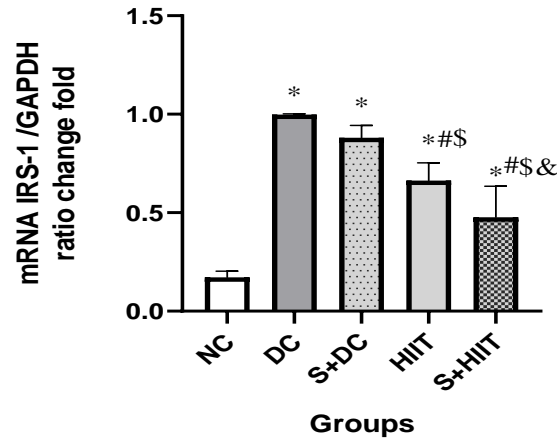
جدول ۲- تغییرات وزن، گلوکز و انسولین پلازما در گروه‌های پژوهش

متغیر	گروه‌ها				
	S+HIIT	HIIT	S+DC	DC	NC
وزن (گرم)	۳۶۱/۲±۱۱/۸	۳۷۴/۶±۱۶/۳	۳۶۰/۰±۱۰/۷	۳۶۹/۱±۱۶/۹	۳۷۶/۱±۳۳/۸
گلوکز (میلی مول در لیتر)	۱۹/۷±۱/۱*	۲۳/۰±۱/۱*	۲۹/۲±۱/۸	۴۲/۳۶±۲۲/۱	۱۰/۱۶±۰/۴
انسولین (نانوگرم بر میکرولیتر)	۱/۱±۰/۳**\$	۱/۹۳±۰/۲**	۰/۷±۰/۵	۰/۴±۰/۱	۱/۹±۰/۱

\* نشانه معناداری نسبت به گروه دیابتی، # معناداری نسبت به گروه مکمل دیابتی، \$ نشانه معناداری نسبت به گروه تمرین.

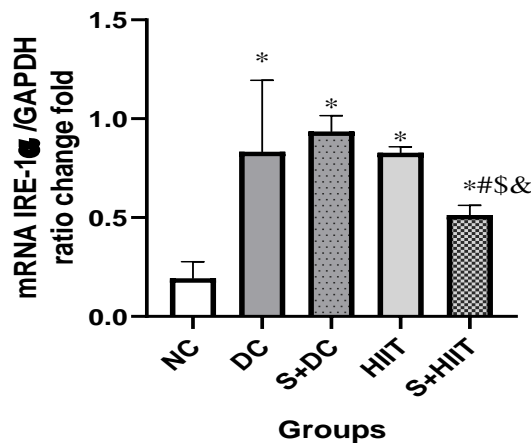
اعداد به شکل میانگین±انحراف استاندارد گزارش شده‌اند، تعداد حیوانات هر گروه، ۶ سر است. NC: گروه کنترل سالم، DC: گروه کنترل دیابتی،

S+DC: گروه کنترل دیابتی + مکمل، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید، S+HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید+مکمل



شکل ۱- میانگین مقادیر بیان ژن IRS-1 نسبت به GAPDH در گروه‌های پژوهش

تعداد حیوانات هر گروه، ۶ سر است. NC: گروه کنترل سالم، DC: گروه کنترل دیابتی، S+DC: گروه کنترل دیابتی + مکمل، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید، S+HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید + مکمل. \* نشانه معناداری نسبت به گروه سالم، # معناداری نسبت به گروه دیابتی، \\$ معناداری نسبت به گروه مکمل دیابتی، & معناداری نسبت به گروه تمرین تناوبی شدید



شکل ۲- میانگین مقادیر بیان ژن IRE-1α نسبت به GAPDH در گروه‌های پژوهش

تعداد حیوانات هر گروه، ۶ سر می باشد. NC: گروه کنترل سالم، DC: گروه کنترل دیابتی، S+DC: گروه کنترل دیابتی + مکمل، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید، S+HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید + مکمل. \* نشانه معناداری نسبت به گروه سالم، # معناداری نسبت به گروه دیابتی، \\$ معناداری نسبت به گروه مکمل دیابتی، & معناداری نسبت به گروه تمرین تناوبی شدید

## بحث

گروه HIIT و S+HIIT نسبت به گروه‌های DC و S+DC و در گروه S+HIIT نسبت به HIIT افزایش معناداری نشان داد. در خصوص سازگار اثرگذاری تمرین بر بهبود هومئوستاز سوخت و ساز سلول و مصرف گلوکز دو مسیر بیان شده است؛ اولین مسیر از طریق سیگنال‌دهی پروتئین کیناز  $\beta$  و افزایش در فعالیت گیرنده‌های انسولین است [۲۹] و دومین مسیر از طریق سیگنالینگ فسفات‌های کینازی فسفو اینوزیتول کیناز بتا شماره

پژوهش حاضر به بررسی تأثیر هفت‌گانه تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل یاری کورکومین بر ژن‌های IRS-1 و IRE-1α در بطن چپ موش‌های صحرائی مبتلا به دیابت نوع دو پرداخت. براساس یافته‌های به دست آمده، در مقادیر گلوکز در گروه HIIT و S+HIIT نسبت به گروه‌های DC و S+DC کاهش معناداری مشاهده شد. همین‌طور مقادیر انسولین در

داشتند که تمرین HIIT با تأثیر بالاتر بر کاهش فسفوریلاسیون JUN/IRS-1 موجب افزایش عملکرد انسولین شد که این مسیر به دلیل به کارگیری لیپوژن کبد با راه اندازی پروکسی زوم آلفا و کاهش التهاب سیستمی بود [۳۴]. این نتایج با نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر همسو است.

طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر بر بهبود تنظیم بیان ژن، در بیان ژن IRS-1 در گروه HIIT و S+HIIT نسبت به گروه‌های DC و S+DC و نیز در گروه S+HIIT نسبت به گروه HIIT کاهش معناداری مشاهده شد. همین‌طور در بیان ژن IRE-1 $\alpha$  در گروه S+HIIT نسبت به گروه‌های S+DC, DC و HIIT کاهش معناداری مشاهده شد. همان‌طوری‌که ملاحظه شد، تمرین و مصرف مکمل کورکومین باعث تعدیل شاخص گلوکز و پیشگیری از جهش ژن شد. در این خصوص اثر آنتی‌ژنیک کورکومین در بهبود همئوستاز بیان ژن می‌تواند به فاکتور دی میتوکسی کورکومین اشاره کرد که این ماده مؤثره به اسید نولکتیک در هسته‌ی سلول متصل شده و از جهش ژن جلوگیری می‌کند [۲۲].

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر با کاهش بیان ژن IRE-1 $\alpha$  مسیر مرگ سلولی بافت بطن چپ کاهش یافته است. همچنین با تأثیر بر میتوژن انتهایی تار در سلول‌های میوسیت از ایجاد تغییرات فیروز و ایسکمی قلب پیشگیری می‌کند [۲۱]. مسیر اصلی و مشترک در اثرگذاری تمرین تناوبی شدید [۱۵] و نیز مصرف کورکومین می‌تواند در راه‌اندازی پروتئین کیناز و از طریق مونوفسفات و تنظیم جانوس کیناز انتهایی تار باشد که مسیر آنتی‌اکسیدانی را در بهبود حساسیت به انسولین [۲۲] و تنظیم عملکرد ژن ایجاد می‌کند [۲۱]. نتایج مطالعه‌ی دیگری نیز چنین بیان داشت که، پس از تمرین HIT در شدت ۹۰ درصد VO<sub>2</sub>max با ۳ ست در ۶ تکرار و استراحت فعال با شدت ۷۰ درصد حد اکثر اکسیژن مصرفی بیان ژن PGC1- $\alpha$  افزایش و مقادیر P-53 کاهش یافت و مرگ سلولی مهار شد [۳۵]. این نتایج نیز با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو نیست. از دلایل تأثیر بالاتر تمرین تناوبی با شدت کمتر، تولید پروتئین شوک گرمایی و آثار محافظتی آن بر ساختار میتوکندری میوسیت بیان شده است. به این دلیل در اثرگذاری تناوب‌های

ی ۳ (PI3-K) و (P-38MAPK) موجب انتقال GLUT-4 داخل سلولی شده، مصرف قند را افزایش می‌دهد [۱۵]. همچنین به این دلیل با انجام تمرین HIIT و راه‌اندازی فاکتور رشد شبه انسولینی شماره‌ی ۱ (IGF-1) تا مدت زمان ۴۸ ساعت بعد بر بهبود حساسیت به انسولین اثرگذار بوده و پیوند انسولین به گیرنده IRS-1 را افزایش می‌دهد [۳۰]. همچنین در اجراهای استراحت فعال متناوب با شدت کم، با تولید نیتریک اکساید، خون‌رسانی [۱۷] و در تولید پراکسی‌زوم آلفای ۱ (PGC-1 $\alpha$ ), اکسیژن‌رسانی به قلب را بهبود می‌دهد [۳۱]. به این دلیل از سلول‌های میوسیت در برابر حمله‌ی رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند [۲۵]. سازگار اثرگذاری کورکومین بر تنظیم مصرف گلوکز تأثیر فاکتور دی میتوکسی کورکومین موجود در آن است که با راه‌اندازی پروتئین کینازی مونوفسفات دایره‌ای (AMP-K)، موجب تعدیل متابولیسم سلول به‌وسیله‌ی حرکت GLUT-4 می‌گردد [۲۲]. نتایج مطالعه‌ی نشان داد، تأثیر ۸ هفته تمرین HIIT به مدت ۳ روز در هفته با شدت ۸۰ درصد VO<sub>2</sub> max با تأثیر بر فراخوانی IGF-1 از مسیر پروتئین کیناز AKT/mTORC-1 باعث افزایش عملکرد انسولین و کاهش مرگ سلولی شد [۲۹]. این نتایج با نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر همسو است. اما نتایج مطالعه‌ی دیگری در خصوص مقایسه‌ی شدت تمرین نشان داد که، ۸ هفته تمرین HIT که با شدت کمتر از تمرین HIIT انجام شده، به دلیل فعال سازی آنزیم سیترات سینتاز (Citrate Synthase) در میتوکندری به‌وسیله‌ی تأثیر بر پروتئین میتوفیوژن بر انتقال GLUT-4 و افزایش در مصرف گلوکز اثر بالاتری داشت [۳۲]. این نتایج با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو نیست. درحالی‌که بعضی از مطالعات دیگر چنین اظهار داشته‌اند که، تمرین اینتروال تناوبی شدید به دلیل ایجاد تنش برشی و ایجاد اصطحکاک در عبور خون موجب تولید بیشتر فاکتورهای متسع کننده در عروق اندوتلیال شده و با افزایش خون [۲۵] و اکسیژن‌رسانی به قلب از مرگ سلول میوسیت جلوگیری می‌کند [۱۷]. همچنین تنش برشی بالاتر بر اتصال انسولین به گیرنده IRS-1 اثر بیشتری داشته و باعث بهبود عملکرد انسولین می‌شود [۳۳]. در مطالعه‌ی Wang و همکاران (۲۰۱۷) مقایسه‌ی اثر ۸ هفته تمرین HIIT با MIT، که با شدت کمتر و به مدت ۵ روز در هفته بر روی موش‌های چاق انجام شد، چنین اظهار

و نیز پیشگیری از راه‌اندازی پروکاسپاز ۳ و کاسپاز ۸ جهت پیشگیری از ایجاد آپوپتوز میوسیت اشاره کرد [۳۸]. همچنین از جمله آثار محافظتی کورکومین بر جلوگیری از مرگ سلولی در بطن چپ می‌توان به سیگنال‌دهی مسیر پروتئین کینازی بتا AKT در غیر فعال نمودن مسیر وابسته به پروتئین رساننده پیام و فعال کننده‌ی رونویسی شماره‌ی ۳ (STAT-3) اشاره نمود [۳۹]. در کل انجام تمرین HIIT علاوه بر اینکه به تنهایی می‌تواند راهبرد کمک درمانی مفیدی جهت کاهش عوارض دیابت در نظر گرفته شود، لذا در کنار این نوع تمرین به استفاده از مشتقات آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی از جمله کورکومین به دلیل اثر هم‌افزایی بر پیشگیری از اختلال قلب دیابتی توصیه می‌شود. از محدودیت‌های این مطالعه به عدم دسترسی به نمونه‌های انسانی و محدودیت دیگر عدم استفاده از روش وسترن بلات برای اندازه‌گیری پروتئین ژن‌های مذکور است که از دلایل آن کمبود بودجه‌ی پژوهش است.

### نتیجه‌گیری

بر طبق نتایج به‌دست آمده، تمرین تناوبی شدید با مکمل کورکومین دارای اثر هم‌افزایی بر کاهش مقادیر گلوکز و مقاومت به انسولین در موش‌های دیابتی ماست و با کاهش بیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1 $\alpha$ ، احتمالاً آپوپتوز میوکارد را در بیماران دیابتی بهبود می‌دهد.

### سپاسگزاری

مطالعه‌ی حاضر حاصل طرح تحقیقاتی رساله‌ی مقطع دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی است، که با تصویب کد اخلاق IR.SSRC.REC.1398.548 تأیید و به ثبت رسید. بدین‌وسیله از اساتید گرانقدری که در انجام آن ما را یاری رساندند سپاسگزاری می‌شود.

### تعارض منافع

طبق اظهار نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

شدید در تمرین تناوبی بر پیشگیری از تخریب ساختار و عملکرد بافت قلب به تأثیر بالاتر استراحت فعال ما بین اجراهای متناوب توجه شده است [۳۲]. از دلایل تناقض نتایج بعضی مطالعات با نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر می‌توان به نوع، شدت، مدت تمرین و نیز سطح سلامت آزمودنی‌ها اشاره کرد [۲۹]. در مطالعه‌ی دیگری که توسط Ray و همکاران (۲۰۱۵) و در بررسی اثر ترکیبی تمرین استقامتی همراه با مکمل‌یاری کورکومین به مدت ۲۸ روز با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن بر بیوژنز میتوکندری در عضله‌ی نعلی موش‌های نر نژاد اسپیراگوداولی پرداخته شد؛ چنین نتیجه‌گیری کردند که، تمرین همراه با مکمل‌یاری کورکومین نسبت به کورکومین، با راه‌اندازی مسیر CAMP بر فسفوریلاسیون نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید و افزایش نسبت NADH/NAD با راه‌اندازی مسیر سیرتوئین شماره‌ی ۱ (SIRT-1) بیوژنز میتوکندری را در عضله‌ی اسکلتی افزایش داد [۳۶]. در مطالعه‌ای که توسط Fattahi Bafghi و همکاران (۲۰۱۶) بر موش‌های مبتلا به دیابت در بررسی اثر ۴ هفته تمرین HIIT با مکمل‌یاری کورکومین بر کاهش استرس اکسایشی در بافت قلب موش‌های دیابتی انجام شد، نتایج نشان داد که تمرین و مکمل کورکومین به تنهایی بر کاهش مالون دی آلدئید (MDA) و افزایش مقادیر گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) اثرگذار بود، اما بین تمرین همراه با مکمل تفاوت معناداری گزارش نشد [۳۷]. این نتایج با نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی حاضر ناهمسو است. براساس نتایج احتمالی به‌دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، به نظر می‌رسد که مکمل‌یاری کورکومین همراه با تمرین HIIT با اثر هم‌افزایی بر تنظیم بیان ژن و افزایش فراخوانی مسیر وابسته به حساسیت انسولین بر کاهش بیان ژن‌های IRS-1 و IRE-1 $\alpha$  در بطن چپ موش‌های چاق دیابتی در بهبود متابولیسم گلوکز و پیشگیری از آپوپتوز سلول‌های میوسیت مؤثر باشد. در رابطه با اثر تمرین با حجم مناسب بر جلوگیری از مرگ سلولی بافت قلب در مدل‌های بالینی می‌توان به اثر ضد التهابی تمرین در مهار مسیرهای آپوپتوزی از جمله غیرفعال نمودن گیرنده‌ی TNRF-1 و جلوگیری از تولید فاکتور نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (TNF- $\alpha$ )

## مآخذ

- 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.
- Hetz C, Martinon F, Rodriguez D, Glimcher LH. The unfolded protein response: integrating stress signals through the stress sensor IRE1 $\alpha$ . *Physiological reviews*, 2011; 91(4):1219-43.
- 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.
- Lai CH, Ho TJ, Kuo WW, Day CH, Pai Py, Chung LC, et al. Exercise training enhanced SIRT1 longevity signaling replaces the IGF1 survival pathway to attenuate aging-induced rat heart apoptosis. *Age*, 2014; 36(5):9706.
- Sundar Rajan S, Srinivasan V, Balasubramanyam M, Tatu U. Endoplasmic reticulum (ER) stress & diabetes. *Indian J Med Res*, 2007; 125(3):411-24.
- Martindale JJ, Fernandez R, Thuerauf D, Whittaker R, Gude N, Sussman MA, et al. Endoplasmic reticulum stress gene induction and protection from ischemia/reperfusion injury in the hearts of transgenic mice with a tamoxifen-regulated form of ATF6. *Circ Res*, 2006; 98(9):1186-93.
- Khakdan S, Delfan M, Heydarpour Meymeh M, Kazerouni F, Ghaedi H, Shanaki M, et al. High-intensity interval training (HIIT) effectively enhances heart function via miR-195 dependent cardiomyopathy reduction in high-fat high-fructose diet-induced diabetic rats. *Archives of physiology and biochemistry*, 2020; 126(3):250-7.
- Ehrlich P. Ueber das Vorkommen von Glykogen im diabetischen und im normalen Organismus. *Z klin Med*, 1883; 6:33.
- Xu X, Wan W, Ji L, Lao S, Powers AS, Zhao W, et al. Exercise training combined with angiotensin II receptor blockade limits post-infarct ventricular remodeling in rats. *Cardiovascular research*, 2008; 78(3):523-32.
- Kraemer WJ, Ratamess NA. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports medicine*, 2005; 35(4):339-61.
- Tang WH, Cheng WT, Kravtsov GM, Tong XY, Hou XY, Chung SK, et al. Cardiac contractile dysfunction during acute hyperglycemia due to impairment of SERCA by polyol pathway-mediated oxidative stress. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2010; 299(3):C643-C53.
- Guiraud T, Nigam A, Gremeaux V, Meyer P, Juneau M, Bosquet L. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Sports medicine*, 2012; 42(7):587-605.
- 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.
- Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low- volume, high- intensity interval training in health and disease. *The Journal of physiology*, 2012; 590(5):1077-84.
- 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.
- Agha Alinejad H, Safarzadeh A, Isanejad A, Molanouri Shamsi M, Delfan M, Mirakhori ZT. Immune function in sport and exercise. Tehran: *Donyaye Harekat*, 2006:1-464.
- 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.
- Maherinia H, Peeri M, Azarbayjani M, Delfan M. Aerobic exercise training combined with probiotic supplement improves antioxidant defence of cardiomyocytes by regulating Nrf2 and caspase3 gene expression in type 2 diabetic rats. *Comparative Exercise Physiology*, 2022; 1-10.
- Jiang S, Han J, Li T, Xin Z, Ma Z, Di W, et al. Curcumin as a potential protective compound against cardiac diseases. *Pharmacological research*, 2017; 119:373-83.
- Soudamini K, Unnikrishnan M, Soni K, Kuttan R. Inhibition of lipid peroxidation and cholesterol levels in mice by curcumin. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 1992; 36:239-.
- Maithilikarpagaselvi N, Sridhar MG, Swaminathan RP, Zachariah B. Curcumin prevents inflammatory response, oxidative stress and insulin resistance in high fructose fed male Wistar rats: Potential role of serine kinases. *Chemico-biological interactions*, 2016; 244:187-94.
- Kang C, Kim E. Synergistic effect of curcumin and insulin on muscle cell glucose metabolism. *Food and chemical toxicology*. 2010; 48(8-9):2366-73.
- Delfan M, Rabiee M, Amadeh Juybari R. Synergistic Effect of High Intensity Interval Training (Hiit) Combined with Curcumin on Bax And Bcl-2 Gene Expression In Soleus Muscle of Diabetic Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 2021; 20(3):210-9.
- Na L-X, Zhang Y-L, Li Y, Liu L-Y, Li R, Kong T, et al. Curcumin improves insulin resistance in skeletal muscle of rats. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2011; 21(7):526-33.
- Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Reply from MJ Gibala, JP Little, MJ MacDonald and JA Hawley. *The Journal of Physiology*, 2012; 590(14):3391-.



26. Shanaki M, Khosravi M, Khoshdooni-Farahani A, Dadashi A, Heydari MF, Delfan M, et al. High-intensity interval training reversed high-fat diet-induced M1-macrophage polarization in rat adipose tissue via inhibition of NOTCH signaling. *Journal of Inflammation Research*, 2020; 13:165.
27. Castellar A, Remedio R, Barbosa R, Gomes RJ, Caetano FH. Collagen and reticular fibers in left ventricular muscle in diabetic rats: Physical exercise prevents its changes? *Tissue and Cell*, 2011; 43(1):24-8.
28. Delfan M, Vahed A, Bishop DJ, Amadeh Juybari R, Laher I, Saeidi A, et al. Effects of two workload-matched high intensity interval training protocols on regulatory factors associated with mitochondrial biogenesis in the soleus muscle of diabetic rats. *Frontiers in Physiology*, 2022; 1730.
29. Launay T, Momken I, Carreira S, Mougnot N, Zhou XL, 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.
30. 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.
31. Wisløff U, Støylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognum Ø, Haram PM, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation*, 2007; 115(24):3086-94.
32. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 $\alpha$  and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*, 2011; 300(6): R1303-10.
33. Estes RR, Malinowski A, Piacentini M, Thrush D, Salley E, Losey C, et al. The Effect of High Intensity Interval Run Training on Cross-sectional Area of the Vastus Lateralis in Untrained College Students. *International Journal of Exercise Science*, 2017; 10(1):137-45.
34. Wang N, Liu Y, Ma Y, Wen D. High-intensity interval versus moderate-intensity continuous training: Superior metabolic benefits in diet-induced obesity mice. *Life Sci*, 2017; 191:122-31.
35. Bartlett JD, Hwa Joo C, Jeong T-S, Louhelainen J, Cochran AJ, Gibala MJ, et al. Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1 $\alpha$  mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*, 2012; 112(7):1135-43.
36. Ray Hamidie RD, Yamada T, Ishizawa R, Saito Y, Masuda K. Curcumin treatment enhances the effect of exercise on mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by increasing cAMP levels. *Metabolism*, 2015; 64(10):1334-47.
37. Fattahi Bafghi A, Homaei HM, Azarbayjani M-A. The Effects of High-Intensity Interval Training and Curcumin Supplement on Concentrations of Antioxidant Enzyme and Oxidative Stress in Heart Tissue of Diabetic Rats. *Iranian journal of diabetes and obesity*, 2016; 8(4):196-202.
38. Huang CY, Lin YY, Hsu CC, Cheng SM, Shyu WC, Ting H, et al. Antiapoptotic effect of exercise training on ovariectomized rat hearts. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md: 1985)*, 2016; 121(2):457-65.
39. Jiang S, Han J, Li T, Xin Z, Ma Z, Di W, et al. Curcumin as a potential protective compound against cardiac diseases. *Pharmacol Res*, 2017; 119:373-83.

## The Effect of Four Weeks of High Intensity Interval Training with Curcumin Supplement on the Expression of IRS-1 and IRE-1 $\alpha$ Genes in the Left Ventricle of Type 2 Diabetic Rats

Sedigheh Babae<sup>1</sup>, Maghsoud Peeri<sup>1\*</sup>, Mohammad Ali Azarbayjani<sup>1</sup>, Maryam Delfan<sup>2</sup>

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Science, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of exercise physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

### ABSTRACT

**Background:** Impaired insulin function with exogenous changes is a major cause of heart failure. The purpose of this study was to investigate the effect of four weeks of high intensity interval training with curcumin supplement on the expression of IRS-1 and IRE-1 $\alpha$  gene in the Left ventricle of type 2 diabetic rats.

**Methods:** In the present experimental study, 30 male mice with diabetes were divided into five groups of 6; high intensity interval training (HIIT), High intensity interval Training+Curcumin(S+HIIT), Diabetic control+curcumin(S+DC), Diabetic Control (DC), Normal control (NC). The High intensity interval training protocol was performed five days a week for four weeks. Curcumin gavage at a dose of 100 mg/kg was performed daily. The expression of IRS-1 and IRE-1 $\alpha$  were measured by the qReal-TimePCR method, and data were analyzed by one-way ANOVA at the alpha level of 0.05.

**Results:** IRS-1 gene expression in the S+HIIT group compared to the DC (P=0.003) and S+DC (P=0.001) groups and in the HIIT group compared to the DC (P=0.002), and S groups +DC had a significant decrease (P=0.019). IRE-1 $\alpha$  gene was significantly decreased in S+HIIT group compared to DC (P=0.003), S+DC (P=0.001) and HIIT (P=0.008) groups.

**Conclusion:** It seems that HIIT with curcumin supplement can reduce the process of myocardial apoptosis in diabetic patients by improving metabolic conditions and genetic factors.

**Keywords:** Myocardial Apoptosis, Cardiomyopathy, Curcumin Supplement, High Intensity Interval Training

\* Iran, Tehran, Sohank square, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Faculty of Physical Education and Sports Science; Tel: 09121124434, P.O.BOX: 1465613111, email: m.peeri@iauctb.ac.ir

