



## The effect of 8 weeks high intensity interval training on the expression of PI3K in the left ventricle and insulin resistance of male Wistar rats with type 2 diabetes

Masoud Moeini<sup>1\*</sup>, Naser Behpoor<sup>2</sup>, Vahid Tadibi<sup>2</sup>

1. Ph D Student in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran.
2. Associate Professor, Exercise Physiology Department, Faculty of Sport Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran.

### Abstract

**Background and Aim:** The term of diabetic heart disease has been defined as the term of diabetic heart disease in the presence of a heart problem by the institute of National Health, particularly in some diabetic patient which pathologic left ventricular hypertrophy. However, physical activity can be affect structurally and functionally the myocardium in diabetic patients. Nevertheless; the molecular regulation of physiological heart growth has not been studied well as a supplement therapy protocol against pathologic hypertrophy. Therefore, the present study investigated the effect of 8 weeks of high intensity interval training (HIIT) on phosphatidylinositol kinase 3 (PI3K) gene expression, insulin resistance, heart weight, glucose and serum insulin in male Wistar rats with type 2 diabetes. **Materials and Methods:** Twenty male Wistar rats, 10 weeks old, weight  $120 \pm 20$  gr were randomly divided into two groups including HIIT and control groups. After familiarization, the training group was participated in an 8-week of training protocol, 5 sessions per week, for 30 minutes per session. The gene expression of PI3K, insulin resistance, serum glucose and insulin levels were measured by the RT-PCR, HOMA -IR hemostasis, and ELISA methods respectively. The data were analyzed by the t-test for independent groups at  $p < 0.05$  level. **Results:** The result indicated that in the HIIT group, PI3K expression was significantly higher than control group ( $p < 0.003$ ). The insulin resistance ( $p < 0.0001$ ) and serum glucose index ( $p < 0.0001$ ) were significantly decreased, while serum insulin increased significantly ( $p < 0.04$ ). In addition, heart weight significantly increased in the exercise group ( $p < 0.0001$ ). **Conclusion:** HIIT exercise increases the expression of PI3K gene, stimulates the physiological molecular pathway of hypertrophy and could plays a role in preventing left ventricular hypertrophy as a complementary treatment.

**Keywords:** High intensity interval training, PI3K gene expression, Type 2 diabetes.

\*Corresponding Author, Address: Physical Education Department, Islamic Azad University of Hamadan Branch, Hamadan, Iran;  
E-mail: masoud.moeini@iauh.ac.ir DOI: 10.22077/JPSBS.2019.2681.1506



## تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز-۳ بطن چپ و مقاومت به انسولین در رت های نر ویستار مبتلا به دیابت نوع ۲

مسعود معینی<sup>۱\*</sup>، ناصر بهپور<sup>۲</sup>، وحید تادیبی<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** موسسه ملی بهداشت (NIH) اصطلاح بیماری قلبی-دیابتی را به عنوان بیماری قلبی خاص در بیماران دیابتی تعریف کرده است که هایپرتروفی پاتولوژیک بطن چپ را هم شامل می شود؛ با این وجود فعالیت بدنی در بیماران دیابتی می تواند ساختار و عملکرد میوکارد را تحت تأثیر قرار دهد. با این حال، تنظیم مولکولی رشد فیزیولوژیکی قلب به عنوان یک پروتکل مکمل درمانی در مقابله با هایپرتروفی پاتولوژیک، کمتر درک شده است. از این رو، در تحقیق حاضر اثر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر بیان ژن فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز-۳ (PI3K)، مقاومت به انسولین، گلوکز و انسولین سرمی در رت های نر ویستار مبتلا به دیابت نوع ۲ بررسی گردید. **روش تحقیق:** بیست سر رت نر نژاد ویستار با سن ۱۰ هفته، در دامنه وزنی  $220 \pm 20$  گرم به طور تصادفی به دو گروه شامل گروه تمرینات تناوبی با شدت بالا و گروه کنترل تقسیم شدند. پس از آشناسازی، گروه تمرینی در یک پروتکل ورزشی ۸ هفته ای، ۵ جلسه در هفته، به مدت ۳۰ دقیقه در هر جلسه شرکت داده شدند. برای بررسی بیان ژن PI3K از روش RT-PCR، مقاومت انسولین روش ارزیابی مدل هموستازی HOMA-IR و سطوح سرمی گلوکز و انسولین از روش الایزا استفاده گردید. داده با آزمون t برای گروه های مستقل در سطح معنی داری  $p < 0.05$  مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته ها:** در گروه HIIT افزایش معنی دار بیان ژن PI3K نسبت به گروه کنترل دیابتی تایید شد ( $p < 0.003$ ). همچنین تمرین باعث کاهش معنی دار مقاومت به انسولین ( $p < 0.001$ ) و گلوکز سرم ( $p < 0.001$ ) گردید؛ در حالی که انسولین سرمی افزایش معنی داری داشت ( $p < 0.04$ ). به علاوه، وزن قلب نیز افزایش معنی داری در گروه تمرینی پیدا کرد ( $p < 0.001$ ). **نتیجه گیری:** تمرین HIIT با افزایش بیان ژن PI3K، مسیر مولکولی هایپرتروفی فیزیولوژیک را تحریک کرده و به عنوان یک درمان مکمل، در جلوگیری از هایپرتروفی پاتولوژیک بطن چپ نقش دارد.

**واژه های کلیدی:** تمرین تناوبی با شدت بالا، بیان ژن فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز-۳، دیابت نوع ۲.

## مقدمه

یکی از رایج ترین اختلالات متابولیکی عصر حاضر، بیماری دیابت نوع ۲ (T2D) می باشد (وایلد<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۴). محققان انتظار دارند که بیشتر از ۳۰۰ میلیون نفر تا سال ۲۰۲۵ درگیر این بیماری شوند (دی لوکا<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۱). دیابت دلایل متعددی دارد که قرار گرفتن طولانی مدت در معرض سطح بالای گلوکز، یکی از اساسی ترین علل آن است (شیخ زاده و دیگران، ۲۰۱۳). عوامل محیطی از جمله عدم فعالیت بدنی که با چاقی همراه گردد، می تواند در بیماران دیابتی ساختار و عملکرد دستگاه های دیگر بدن از جمله قلب و عروق را تحت تأثیر قرار دهد (اسچانفیلد<sup>۴</sup>، ۲۰۱۰). موسسه ملی بهداشت<sup>۵</sup> بیماری قلبی دیابتی<sup>۶</sup> (DHD) را صرفاً به عنوان وجود بیماری قلبی در بیماران دیابتی تعریف کرده است (لیو<sup>۷</sup> و دیگران، ۲۰۱۷).

رشد فیزیولوژیک قلب که با افزایش ضخامت میوکارد همراه است، از دوره جنینی تا بزرگسالی دیده می شود. به شکل غیر پاتولوژیک هایپرتروفی قلب که در ورزشکاران دیده می شود هم، هایپرتروفی فیزیولوژیک می گویند که با سازگاری هایی مانند رگ زایی و تزریق خون بیشتر از قلب همراه است (والش<sup>۸</sup>، ۲۰۰۶). در مقابل، هایپرتروفی پاتولوژیک در بیماران مبتلا به فشار خون بالا یا بیماری های دریچه ای قلبی رخ می دهد (دی بوش<sup>۹</sup> و دیگران، ۲۰۰۶). در دهه ۱۹۹۰ مشخص شد که رخدادهای پیام دهی بیوشیمیایی و تغییرات در بیان ژن ها در پاسخ های هایپرتروفی قلبی بسیار مهم هستند (آختر<sup>۱۰</sup> و دیگران، ۱۹۹۸؛ کی<sup>۱۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). در این میان، نتایج بررسی تأثیر دو نوع تمرین ورزشی تناوبی و تداومی بر میزان هایپرتروفی پاتولوژیک و عملکرد قلبی بیماران قلبی نشان داد که میزان جرم بطن چپ و نسبت ضخامت دیواره به ابعاد پایان دیاستولی بطن چپ و عملکرد قلبی در هر دو گروه تمرین تداومی و تناوبی کاهش پیدا می کند، اما این کاهش ها تنها در گروه تناوبی معنی دار است (زارع کاربیک و دیگران، ۲۰۱۷). در این میان، مقالات محدودی وجود دارند که نقش پیام دهی فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز-۳/پروتئین کیناز B<sup>۱۲</sup> (PI3K/AKT) در ارتقاء رشد فیزیولوژیک و مهار

هایپرتروفی پاتولوژیک را بررسی کرده اند (دی بوش و دیگران، ۲۰۰۶). در هایپرتروفی پاتولوژیک قلب، مسیر پیام دهی پروتئین فسفاتاز ۳/عامل هسته ای سلول های T فعال شده<sup>۱۳</sup> (NFAT) وجود دارد که منجر به بیان ژن هایپرتروفی می شود. در مقابل، در هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب، مسیر PI3K/AKT غالب است که خود توسط PI3K فعال می گردد (شیوجیما<sup>۱۴</sup>، ۲۰۰۶). مشخص گردیده است که PI3K به عنوان یک میانجی پایین دستی در هایپرتروفی قلب، به عنوان یک عامل ضد هایپرتروفی میوسیستی عمل می کند. آنزیم های PI3K دارای کارکرد سلولی متعددی هستند، از جمله این که باعث رشد، تکثیر، تمایز، حرکت، پیشرفت چرخه سلولی، سنتز پروتئین، حیات و تبادلات درون سلولی می شوند که بعضاً در سرطان هم نقش دارند (انگلمن<sup>۱۵</sup> و دیگران، ۲۰۰۶؛ مک مولن<sup>۱۶</sup> و دیگران، ۲۰۰۴).

انجمن دیابت آمریکا<sup>۱۷</sup> (ADA) و برنامه پیشگیری از دیابت<sup>۱۸</sup> (DPP) فعالیت بدنی را به عنوان یک عامل کمک کننده غیردارویی برای بهبود و تقویت مدیریت پیشگیری از DHD توصیه کرده اند (لیو و دیگران، ۲۰۱۷). با وجود پیشرفت های قابل توجه در تحقیقات پزشکی و سابقه طولانی مدت داروهای ضد دیابت، خطر نارسایی قلبی در بیماران دیابتی هرگز کاهش نمی یابد. چندی است که رژیم ورزش پایدار و دراز مدت، به عنوان یک درمان هماهنگ کننده موثر برای مبارزه با عوارض قلبی - عروقی در افراد مبتلا به دیابت، مورد توجه قرار گرفته است. اگرچه مکانیسم مولکولی دقیق موجود در این حفاظت قلبی هنوز معلوم نیست. اما محققین قصد دارند مکانیسم های ترمیم و رشد بافت قلبی را بررسی کنند تا مستندات علمی در مورد نقش تمرینات ورزشی با شدت های متفاوت در افزایش تغییرات مولکولی ارتقا دهنده رشد قلب در افراد دیابتی فراهم گردد. در این میان، مطالعاتی هم وجود دارد که نقش برخی از شاخص های درگیر در عملکرد قلبی، مانند مقاومت به انسولین را بررسی نموده اند. یکی از این تحقیقات که اثر تمرینات هوازی را بر روی شاخص مقاومت انسولین بررسی کرده است، نشان داده که تمرین هوازی مداوم و منظم می تواند در بهبود عوامل خطرزای قلبی - عروقی از جمله

1. Type 2 diabetes

2. Wild

3. De Luca

4. Schoenfeld

5. National institutes of health

6. Diabetic heart disease

7. Lew

8. Walsh

9. DeBosch

10. Akhter

11. Kee

12. Protein kinase B/Phosphoinositide 3-kinase

13. Protein phosphatase 3/Nuclear factor of activated T-cells

14. Shiojima

15. Engelman

16. McMullen

17. American diabetes association

18. Diabetes prevention program

کاهش مقاومت به انسولین موثر باشد (پور حیدری و رحمانی نیا، ۲۰۱۸). تمرینات بدنی در درجه اول به دو طبقه تمرین مقاومتی و استقامتی تفکیک می‌شوند. این دو روش سنتی همچنین می‌توانند با اصلاحاتی، به شیوه تمرینات با شدت بالا<sup>۱</sup> (HIT) هم اجرا گردند. تمرین HIT به شکل استقامتی که از چرخه‌های متناوب با فازهای شدید و دراز مدت تشکیل شده، به نام HIIT<sup>۲</sup> هم شناخته می‌شود (لنگ<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۵). در یک مقاله با عنوان هایپرتروفی قلبی، مروری بر آسیب شناسی و درمان که توسط روهیلا<sup>۴</sup> و دیگران (۲۰۱۲) صورت پذیرفته است، اشاره شده که از دهه ۱۹۹۰ وقایع پیام دهی بیوشیمیایی و تغییرات بیان ژن و پاسخ هایپرتروفیک به شکل مهمی مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین اشاره شده که عوامل PI3K/IGF1، NFAT، PKB، AKT و mTOR<sup>۵</sup> به عنوان مسیرهای پیام دهی مختلف در بیماری زائی هایپرتروفی قلبی مشارکت دارند. در یک مطالعه مروری دیگر که توسط لیو و دیگران (۲۰۱۷) با عنوان فعالیت بدنی ضامن حفاظت از قلب دیابتی از طریق تغییر و اصلاح در مسیرهای مولکولی به اجرا در آمده، چنین عنوان شده است که عوارضی همچون افزایش قند خون، فشار خون بالا و مقاومت به انسولین؛ به طور مشترک بر میوکارد افراد مبتلا به دیابت تاثیر گذاشته و باعث اختلال مولکولی و ساختاری قلب می‌شوند. در ادامه بررسی‌های مروری این تحقیق آمده است که بحث در مورد نقش شدت‌های مختلف ورزش در کاهش تغییرات مولکولی در قلب دیابتی، نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

مسیر پیام دهی هایپرتروفی فیزیولوژیک بطن چپ را همراه با تمرینات ورزشی کنکاش نموده‌اند (از نظر نوع و شدت تمرینات)، اثرات متفاوتی بر رشد قلب از طریق بیان ژن PI3K گزارش شده و در این بین، به نقش بیماری دیابت در تحقیقات متعدد به عنوان یک مختل کننده مهم در رشد فیزیولوژیک قلب اشاره گردیده است (یو<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). از این رو، هدف تحقیق حاضر مطالعه جامعه بیماران دیابتی است تا به عنوان یک عامل تاثیرگذار در هایپرتروفی بطن چپ، بتوان نقش تمرینات ورزشی را بر بیان ژن PI3K در مسیر پیام دهی مذکور بررسی و روشن نمود.

### روش تحقیق

مطالعه حاضر در طبقه مطالعات تجربی قرار می‌گیرد. جامعه آماری مطالعه حاضر را رت‌های نر ویستار<sup>۷</sup> خریداری شده از انستیتو پاستور ایران تشکیل دادند. نمونه آماری ۲۰ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته ای در دامنه وزنی  $220 \pm 20$  گرم بودند که به دو گروه دیابتی با تمرینات HIIT و گروه دیابتی کنترل (۱۰ سر در هر گروه) تقسیم شدند. در ابتدا رت‌های مورد مطالعه جهت آشنایی و سازگاری با محیط، به مدت ۲ هفته در آزمایشگاه حیوانات نگهداری شدند. در ادامه، پس از یک شب ناشتایی (۱۲ ساعت)، جهت القای دیابت نوع ۲ از تزریق نیکوتین آمید و استرپتوزوتوسین<sup>۸</sup> (STZ) استفاده گردید، به طوری که ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش، به صورت صفاقی تزریق شد. پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سترات با  $PH=4/5$  نیز به صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق گردید. یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه گیری و قند خون بالای ۱۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر، به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (چیس<sup>۹</sup> و دیگران، ۲۰۱۳). کلیه رت‌های مورد مطالعه در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی،

1. High intensity training

2. High intensity interval training

3. Leng

4. Rohilla

5. Insulin like growth factor-1

6. Mammalian target of rapamycin

7. Yu

8. Wistar male rats

9. Streptozotocin

10. Chis

دیگر (دیابتی تمرین نکرده) در هیچ برنامه تمرینی شرکت داده نشدند و همزمان با گروه های تمرین کرده؛ تشریح گردیدند. چهار و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی، رت های مورد مطالعه در هر گروه بواسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، و زایلازین ۲ درصد با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ بیهوش شدند. سپس قفسه سینه حیوان شکافته شد و با استفاده از روش کاردیوتومی<sup>۳</sup> یا روش برش قلبی، عضله قلبی برداشته شد و وزن قلب با ترازوی دیجیتال A&D ساخت ژاپن با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری گردید. در ادامه، بافت قلب رت ها نمونه برداری شد و بطن چپ پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، در میکروتیوب های ۱/۸ حاوی مایع RNAlater<sup>۴</sup> با نسبت ۲۰ درصد غوطه ور شد و جهت انجام آزمایش های ژنتیک به آزمایشگاه منتقل گردید.

شروع روشنایی ۶ عصر و شروع خاموشی ۶ صبح) با دمای ۲۲±۳ سانتی گراد، و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. رت ها در گروه های سه سری در قفس هایی از جنس پلکسی گلاس<sup>۱</sup> با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی متر به گونه ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند.

در خصوص پروتکل تمرینی که از هفته دوازدهم آغاز گردید، بر اساس جمع بندی که از مطالعات پیشین صورت گرفت، گروه HIIT در یک دوره تمرینات تناوبی شدید به مدت ۸ هفته به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه ای در هفته در قالب دویدن روی نوارگردان (با سرعت ۲۵ تا ۳۵ متر بر دقیقه و شیب ۵ تا ۱۰ درصد)، با تکرارهای ۴۰ ثانیه ای و استراحت فعال ۲ دقیقه ای بین هر تکرار، شرکت داده شدند (جدول ۱)، برنامه تمرینی بر اساس پروتکل تمرینی تانیا<sup>۲</sup> و دیگران (۲۰۱۵) طراحی شده است. گروه

جدول ۱. برنامه تمرینی گروه HIIT در طول ۸ هفته و تکرار ۵ جلسه در هفته

هفته ها		هفته های تمرینی			هفته استراحت فعال بین تکرارها	
هفته های تمرینی	تکرار	شیب (درصد)	زمان تمرین (ثانیه)	سرعت (متر / ثانیه)	زمان (دقیقه)	سرعت (متر / ثانیه)
۱	۸	۵	۴۰	۲۵	۲	۱۰
۲	۱۰	۵	۴۰	۲۷	۲	۱۰
۳	۱۰	۱۰	۴۰	۲۷	۲	۱۰
۴	۱۰	۱۰	۴۰	۲۹	۲	۱۰
۵	۱۰	۱۰	۴۰	۳۱	۲	۱۰
۶	۱۰	۱۰	۴۰	۳۳	۲	۱۰
۷	۱۰	۱۰	۴۰	۳۵	۲	۱۰
۸	۱۰	۱۰	۴۰	۳۵	۲	۱۰

1. Plexiglass
2. Tanya
3. Cardiotomy
4. RNA stabilization solution

واریانس ها استفاده گردید. برای توصیف داده و رسم نمودارها از آمار توصیفی، به منظور مقایسه گروه های مستقل در متغیرهای مورد مطالعه از آزمون t مستقل، و برای مقایسه وزن حیوانات از آزمون t همبسته بهره برداری گردید. کلیه بررسی های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS/Win نسخه ۱۶ انجام گرفت و سطح معنی داری  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

#### یافته ها

الگوی تغییرات وزن بدن در شرایط قبل و بعد از مداخله ورزشی در گروه های دیابتی کنترل و تمرین تناوبی دیابتی در جدول ۲ ارائه شده است. همان گونه که مشاهده می گردد، تغییرات وزن بدن در هر گروه با آزمون t وابسته بررسی شد و مشخص گردید که بعد از مداخله، وزن بدن به طور معنی داری افزایش یافته است ( $p < 0/0001$ ). همچنین تغییرات بوجود آمده در وزن دو گروه رت ها از طریق آزمون t مستقل بررسی شد و مشخص گردید که (جدول ۳) که افزایش وزن ایجاد شده در گروه تمرین تناوبی دیابتی، به طور معنی دار بیشتر از گروه کنترل دیابتی می باشد.

به منظور اندازه گیری گلوکز و انسولین سرم، نمونه های خونی جمع آوری شدند. غلظت گلوکز با فن آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون تهران اندازه گیری شد. غلظت سرمی انسولین با استفاده از کیت شرکت مرکودیا<sup>۱</sup>، ساخت کشور سوئد با حساسیت ۱ میلی گرم واحد بین المللی در لیتر و با روش الایزا اندازه گیری شد. با استفاده از مقادیر انسولین و گلوکز ناشتا و قرار دادن آن در فرمول HOMA-IR شاخص مقاومت انسولین نیز محاسبه گردید (والاس<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۴). پس از تهیه پرایمر، RNA توسط کیت کیاژن<sup>۳</sup> یا Rneasy protect mini از بطن چپ موش، مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. تعیین mRNA مربوط به PI3K توسط روش RT-Real time PCR و با کمک سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله ای One Step SYBR TAKARA شرکت تاکارا<sup>۴</sup> مطابق با دستورالعمل مربوطه؛ انجام گردید. جهت کمی سازی بیان PI3K mRNA، از روش  $\Delta\Delta CT$  مقایسه ای استفاده گردید. از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف<sup>۵</sup> جهت اطمینان از توزیع طبیعی داده ها و از آزمون لون<sup>۶</sup> جهت اطمینان از همگن بودن

جدول ۲. بررسی تغییرات وزن بدن موش های شرکت داده شده در تحقیق

اطلاعات آماری		نتایج توصیفی		آزمون t همبسته		آزمون t مستقل	
متغیر	گروه	قبل از مداخله	پس از مداخله	مقدار t	مقدار p	مقدار t	مقدار p
وزن بدن (بر حسب گرم)	دیابتی کنترل	۲۲۳ ± ۴/۵۷	۲۶۹ ± ۶/۳۵	۱۳/۰۰	<0/0001*		
	دیابتی تناوبی	۲۲۵ ± ۵/۷۷	۲۷۸ ± ۴/۵۵	۲۰/۵۲	<0/0001*	۰/۶۱	<0/01*

\*نشانه تفاوت معنی دار با قبل از مداخله ( $p < 0/0001$ ) و تفاوت معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0/01$ ).

1. Mercodia
2. Wallace
3. Qiagen
4. Takara
5. Kolmogorov-Smirnov
6. Leven

بر اساس نتایج آزمون t مستقل (جدول ۳)، بیان PI3K بطن چپ در گروه دیابتی تمرین کرده به طور معنی دار بالاتر از گروه دیابتی کنترل بود ( $p < 0.03$ ). علاوه بر این، مقدار گلوکز ناشتا ( $p < 0.0001$ ) و مقاومت به انسولین ( $p < 0.0001$ ) به طور معنی دار در گروه دیابتی تمرین کرده از گروه دیابتی کنترل پایین تر بود.

از طرف دیگر، انسولین سرم پس از مداخله به طور معنی دار ( $p < 0.04$ ) بیشتر از گروه کنترل بود. هم چنان که در جدول ۳ مشخص است، وزن قلب موش های گروه دیابتی تمرین کرده، به طور معنی دار ( $p < 0.0001$ ) بالاتر از گروه کنترل می باشد.

جدول ۳. مقایسه متغیرهای وابسته بین گروه دیابتی کنترل و گروه دیابتی تمرین کرده

مقدار p	مقدار t	گروه دیابتی تمرین کرده	گروه دیابتی کنترل	متغیرها
0.03*	2/80	2/84 ± 2/07	0/64 ± 0/30	بیان نسبی PI3K
0.0001*	15/07	177 ± 15	291 ± 14	گلوکز (میلی گرم / دسی لیتر)
0.04*	2/20	6/21 ± 0/42	5/67 ± 0/51	انسولین (میکرو یونیت / میلی لیتر)
0.0001*	7/07	2/72 ± 0/32	4/08 ± 0/39	مقاومت به انسولین (HOMA-IR)
0.0001*	8/43	1112 ± 76	811 ± 55	وزن قلب (میلی گرم)

\* نشانه تفاوت معنی دار بین دو گروه در سطح معنی داری  $p < 0.05$ .

#### بحث

قلبی- عروقی پی برده‌اند. مسیر PI3K/AK در حالت مقاومت به انسولین دچار اختلال می‌گردد و یافته های ما از این جهت که کاهش شاخص مقاومت به انسولین همراه با افزایش بیان ژن PI3K در موش های تمرین کرده دیابتی بود، دال بر بهبودی بیماری کلیوی می‌باشد. بر حسب روش های تمرینی مختلف، تفاوت در مدت، شدت و تکرار جلسات تمرینی، نوع جمعیت مورد مطالعه، سن یا تفاوت های فردی و الگوی زندگی؛ نمی توان نتایج مطالعات مختلف را مطابقت یا تعمیم داد. سه دسته PI3K وجود دارد که از میان آنها دسته یک با توجه به نقش آن در هایپرتروفی قلبی، بیشتر مورد توجه است. دسته یک شامل زیر واحدهای کاتالیتیکی<sup>۶</sup> زیادی است که در میان آنها P110 $\alpha$  در قلب بیشتر بیان می‌شود (کسلر<sup>۷</sup> و دیگران، ۲۰۰۱). در برخی مطالعات نشان داده شده است که تمرینات ورزشی باعث افزایش PI3K (P110 $\alpha$ ) در قلب موش ها می شود. ایزوفرم های کلاس 1 $\alpha$  در میانجی گری هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب دخالت دارد، درحالیکه ایزوفرم کلاس 1 $\beta$  انقباض میوکارد را کنترل می نماید (فرومن و رومل<sup>۸</sup>، ۲۰۱۴). نشان داده شده است که هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی با

به عنوان مهم ترین یافته های تحقیق حاضر، تمرین تناوبی با شدت بالا موجب افزایش بیان ژن PI3K و انسولین سرمی و کاهش شاخص مقاومت به انسولین و گلوکز ناشتا در گروه رت های تمرین کرده دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی شد. این یافته ها با نتایج جویس<sup>۱</sup> و دیگران (۲۰۱۵) از این لحاظ همخوانی دارد که پروتکل HIIT را در بهبود آمادگی قلبی- تنفسی<sup>۲</sup> (CRF) بیماران قلبی- عروقی<sup>۳</sup> (CVD) و کاهش مقاومت به انسولین، نسبت به پروتکل هایی با شدت کمتر، موثر دانسته اند. بهبود در عملکرد قلبی پس از تمرینات HIIT، در واقع نتیجه نهایی بهبود عملکرد انقباضی میوکارد است و با افزایش بیان PI3K قابل توجیه می باشد. افزایش بیان ژن PI3K در تحقیق حاضر را می توان با نتایج متاآنالیز صورت گرفته توسط راموس<sup>۴</sup> و دیگران (۲۰۱۵) مقایسه نمود. آن ها مطالعاتی را که اثر دو نوع تمرین HIIT و تمرینات تداومی با شدت متوسط<sup>۵</sup> (MICT) بر CRF و CVD مورد بررسی قرار داده بودند، تحلیل کرده و عمدتاً به اثر بیشتر پروتکل های HIIT بر بهبود بیماری مزمن کلیه و بیماری

1. Joyce

2. Cardiorespiratory fitness

3. Cardiovascular disease

4. Ramos

5. Moderate –intensity continuous training

6. Catalytic subunits

7. Kessler

8. Fruman & Rommel

PI3K دارای عملکرد و کارکردهای متعدد می باشند که از آن دسته می توان به رشد، تکثیر و سنتز سلولی اشاره کرد؛ این تغییرات با توسعه فرآیند تکامل سلولی می توانند حساسیت به انسولین را در جریان رشد و تکثیر سلول های جدید افزایش داده و بدین ترتیب، مقاومت به انسولین را بهبود بخشند.

نتایج تعدادی از تحقیقات روشن ساخته است که کاهش بیان PI3K در کاردیومیوسیت موش ها، باعث کاهش اندازه قلب می شود (لو<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۰۵). افزایش وزن قلب در گروه تمرینی HIIT مطالعه حاضر در راستای افزایش بیان ژن PI3K و تحریک هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب موش های تمرین کرده می باشد. محمدی و دیگران (۲۰۱۷) نیز به نتایج مشابهی دست یافته اند، با این تفاوت که پروتکل تمرینی آن ها مقاومتی بوده است. در تحقیق مذکور، افزایش وزن قلب در گروه تمرینی مقاومتی ۱۴۷ میلی گرم گزارش شده است، در حالی که در مطالعه ما، پروتکل شدیدتر بوده و حدود ۳۰۱ میلی گرم افزایش وزن قلب (تقریباً دو برابر) را ایجاد نموده است. هایپرتروفی پاتولوژیک خود ناشی از بیماری دیابت است و افزایش وزن قلب پس از تمرینات HIIT نشان از هایپرتروفی فیزیولوژیک دارد؛ چرا که شاخص های رشد و تکثیر سلولی مانند انسولین سرمی و مقاومت انسولین هم به موازات آن بهبود یافتند.

**نتیجه گیری:** اجرای ۸ هفته تمرین HIIT موجب افزایش بیان ژن PI3K در موش های دیابتی گردید، تغییری که نشان از بهبود کارکرد قلب و هایپرتروفی فیزیولوژیک بطن چپ دارد. بر این اساس می توان پیشنهاد کرد که تمرینات هفتگی به شیوه HIIT با عوارض قلبی و هایپرتروفی پاتولوژیک ناشی از کاردیومیوپاتی دیابتی، مقابله می نماید. از آنجا که تحقیق حاضر یک مطالعه حیوانی است؛ نتایج حاصل، دیدگاه روشنی پیش روی محققین قرار می دهد که چنین مداخله ای را با رعایت ملاحظات اخلاقی، بر روی نمونه های انسانی به اجرا در آورند.

#### قدردانی و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکترای فیزیولوژی ورزشی دانشگاه رازی کرمانشاه است و محققین از همکاری کلیه مسئولین و متخصصین دانشکده تربیت بدنی دانشگاه رازی کرمانشاه، دانشگاه تهران و انستیتوی پاستور تهران که ما را در این مسیر یاری رساندند؛ تشکر و قدردانی می کنند.

تعامل حضور همزمان IGF-1 و عامل PI3K و از طریق تنظیم مستقیم اجزای کلیدی صفحات Z در ساختار سلول های قلبی صورت می پذیرد (واردنبرگ<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۱). مکانیسم هایی که باعث سفتی زیاد میوکارد در وضعیت دیابت می شوند، ترکیبی از فیبروز بیش از حد و سفتی میوسیت قلبی است (فالکاو<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۱۱) و تحریک مسیرهای پیام دهی و مولکولی بازسازی میوکارد قلب، می تواند بسیار با اهمیت باشد. در مطالعه فالکاو<sup>۲</sup> و دیگران (۲۰۱۱)، مقاومت به انسولین در افراد دیابتی منجر به اختلال در مسیر پیام دهی PI3K/AKT شد که همسو با نتایج تحقیق حاضر است و دیدیم با اجرای پروتکل HIIT، مقاومت به انسولین کاهش یافت؛ تغییری که خود محرکی برای افزایش بیان PI3K و مسیر پیام دهی مربوط به آن (PI3K/AKT) است. در تحقیق اجرا شده توسط ما<sup>۳</sup> و دیگران (۲۰۱۳) نیز نقش تمرینات ورزشی شنا در افزایش ۳۶ درصدی بیان پروتئین های مسیر PI3K/AKT در موش ها تایید شده است. این نتایج نیز با یافته های مطالعه حاضر همسو است، با این تفاوت که شدت تمریناتی که ما اعمال کردیم، بیشتر بوده و بیان PI3K نسبت به سایر تحقیقات، چشمگیرتر می باشد.

در مطالعه حاضر القای دیابت نوع ۲ در دو گروه مداخله، به افزایش معنی دار گلوکز و انسولین سرم منجر شد. افزایش انسولین خود نتیجه بهبود ترشح انسولین از سلول های بتا است و به عنوان یکی از عوامل تاثیرگذار در فرآیند رشد سلولی، شناخته می شود. این افزایش زمانی که با سیگنال های رشد میوسیتی (همچون بیان ژن PI3K) همراه باشد، می تواند در توانبخشی میوکارد افراد دیابتی (هایپرتروفی فیزیولوژیک) تغییرات قابل توجهی را ایجاد نماید. علاوه بر این، کاهش مقاومت انسولین به همراه افزایش گلوکز سرمی پس از تمرینات HIIT، از نشانه های کنترل بهتر علائم دیابت نوع ۲ بشمار می روند و نشان از تاثیر مثبت افزایش شدت تمرین بر بهبود این بیماری دارد. می توان اشاره کرد که تغییرات در سطح سرمی انسولین در گروه دیابتی (در تحقیق حاضر)، احتمالاً ناشی از بهبود عملکرد سلول های بتای پانکراس می باشد. فعالیت ورزشی همواره به عنوان یک عامل تاثیرگذار در افزایش حساسیت انسولین و بهبود عملکرد انسولین در نمونه های انسانی و حیوانی مقاوم به انسولین مانند بیماران دیابتی، مطرح بوده است (امیدی و مقدسی، ۲۰۱۸). آنزیم های



## منابع

- Akhter, S. A., Luttrell, L. M., Rockman, H. A., Iaccarino, G., Lefkowitz, R. J., & Koch, W. J. (1998). Targeting the receptor-Gq interface to inhibit in vivo pressure overload myocardial hypertrophy. *Science*, 280(5363), 577-574.
- Alessi, D. R., James, S. R., Downes, C. P., Holmes, A. B., Gaffney, P. R., Reese, C. B., & Cohen, P. (1997). Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase B $\alpha$ . *Current Biology*, 7(4), 261-269.
- Bradley, T. J., Slorach, C., Mahmud, F. H., Dunger, D. B., Deanfield, J., Deda, L., ... & Moineddin, R. (2016). Early changes in cardiovascular structure and function in adolescents with type 1 diabetes. *Cardiovascular Diabetology*, 15(1), 31.
- Buss, S. J., Riffel, J. H., Malekar, P., Hagenmueller, M., Asel, C., Zhang, M., ... & Hardt, S. E. (2011). Chronic Akt blockade aggravates pathological hypertrophy and inhibits physiological hypertrophy. *American Journal of Physiology -Heart and Circulatory Physiology*, 302(2), H420-H430.
- Chis, I. C., Baltaru, D., Maier, M., Muresan, A., & Clichici, S. (2013). Effects of quercetin and chronic (training) exercise on oxidative stress status in animals with streptozotocin-induced diabetes. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 70(1), 31-39.
- DeBosch, B., Treskov, I., Lupu, T. S., Weinheimer, C., Kovacs, A., Courtois, M., & Muslin, A. J. (2006). Akt1 is required for physiological cardiac growth. *Circulation*, 113(17), 2097-2104.
- De Luca, A., Stefani, L., Pedrizzetti, G., Pedri, S., & Galanti, G. (2011). The effect of exercise training on left ventricular function in young elite athletes. *Cardiovascular Ultrasound*, 9(1), 27.
- De Nigris, V., Pujadas, G., La Sala, L., Testa, R., Genovese, S., & Ceriello, A. (2015). Short-term high glucose exposure impairs insulin signaling in endothelial cells. *Cardiovascular Diabetology*, 14(1), 1-7.
- Deshmukh, A., Coffey, V. G., Zhong, Z., Chibalin, A. V., Hawley, J. A., & Zierath, J. R. (2006). Exercise-induced phosphorylation of the novel Akt substrates AS160 and filamin A in human skeletal muscle. *Diabetes*, 55(6), 1776-1782.
- Dillmann, W. (2010). Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. *Heart Failure Reviews*, 15(2), 125-132.
- Dorn, G. W., & Force, T. (2005). Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(3), 527-537.
- Engelman, J. A., Luo, J., & Cantley, L. C. (2006). The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nature Reviews Genetics*, 7(8), 606-619.
- Falcao-Pires, I., Hamdani, N., Borbély, A., Gavina, C., Schalkwijk, C. G., Van Der Velden, J., ... & Leite-Moreira, A. F. (2011). Diabetes mellitus worsens diastolic left ventricular dysfunction in aortic stenosis through altered myocardial structure and cardiomyocyte stiffness. *Circulation*, 124(10), 1151-1159.
- Fruman, D. A., & Rommel, C. (2014). PI3K and cancer: lessons, challenges and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(2), 140-156.
- Henriksen, E. J. (2002). Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *Journal of Applied Physiology*, 93(2), 788-796.

- Holloway, T. M., Bloemberg, D., Da Silva, M. L., Simpson, J. A., Quadrilatero, J., & Spriet, L. L. (2015). High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. *PLoS One*, 10(3), e0121138.
- Howlett, K. F., Sakamoto, K., Yu, H., Goodyear, L. J., & Hargreaves, M. (2006). Insulin-stimulated insulin receptor substrate-2-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity is enhanced in human skeletal muscle after exercise. *Metabolism*, 55(8), 1046-1052.
- James, S. R., Peter Downes, C., Gigg, R., Grove, S. J., Holmes, A. B., & Alessi, D. R. (1996). Specific binding of the Akt-1 protein kinase to phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate without subsequent activation. *Biochemical Journal*, 315(3), 709-713.
- Kee, H. J., & Kook, H. (2010). Roles and targets of class I and IIa histone deacetylases in cardiac hypertrophy. *BioMed Research International*, 2011, 1-10.
- Kessler, A., Uphues, I., Ouwens, D. M., Till, M., & Eckel, J. R. (2001). Diversification of cardiac insulin signaling involves the p85 $\alpha$ / $\beta$  subunits of phosphatidylinositol 3-kinase. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 280(1), E65-E74.
- Leng, Y., Wang, Z., Tsai, L. K., Leeds, P., Fessler, E. B., Wang, J., & Chuang, D. M. (2015). FGF-21, a novel metabolic regulator, has a robust neuroprotective role and is markedly elevated in neurons by mood stabilizers. *Molecular Psychiatry*, 20(2), 215-223.
- Lew, J. K. S., Pearson, J. T., Schwenke, D. O., & Katare, R. (2017). Exercise mediated protection of diabetic heart through modulation of microRNA mediated molecular pathways. *Cardiovascular Diabetology*, 16(1), 10.
- Li, J., & Brooks, G. (1997). Downregulation of cyclin-dependent kinase inhibitors p21 and p27 in pressure-overload hypertrophy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 273(3), H1358-H1367.
- Luo, J., McMullen, J. R., Sobkiw, C. L., Zhang, L., Dorfman, A. L., Sherwood, M. C., ... & Cantley, L. C. (2005). Class IA phosphoinositide 3-kinase regulates heart size and physiological cardiac hypertrophy. *Molecular and Cellular Biology*, 25(21), 9491-9502.
- Ma, Z., Qi, J., Meng, S., Wen, B., & Zhang, J. (2013). Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *European Journal of Applied Physiology*, 113(10), 2473-2486.
- McMullen, J. R., Shioi, T., Huang, W. Y., Zhang, L., Tarnavski, O., Bisping, E., ... & Riggi, L. (2004). The insulin-like growth factor 1 receptor induces physiological heart growth via the phosphoinositide 3-kinase (p110 $\alpha$ ) pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 279(6), 4782-4793.
- Mohammadi, R., Homaee, H., Azarbayjani, M. A., & Baesi, K. (2013). The effect of 12-week resistance training on cardiac hypertrophy, glucose level, insulin, and insulin resistance index in STZ-induced diabetic rats. *Qom University of Medical Science*, 11(2), 38-45. [Persian]
- Omidi, M., & Moghadasi, M. (2018). Effect of 8 weeks aerobic training on pancreatic  $\beta$ -cells function and insulin resistance of female patients with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 17(2), 79-86.

- Pour Haydari, A., & Rahmani Nia, F. (2018). Effects of aerobic training and detraining on body composition, lipid profile and insulin resistance in overweight policemen. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 6(11), 85-93. [Persain]
- Ramos, J. S., Dalleck, L. C., Tjonna, A. E., Beetham, K. S., & Coombes, J. S. (2015). The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 45(5), 679-692.
- Rohilla, A., Kumar, P., Rohilla, S., & Kushnoor, A. (2012). Cardiac hypertrophy: a review on pathogenesis and treatment. *International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research*, 4, 164-167.
- Röhling, M., Herder, C., Stemper, T., & Müssig, K. (2016). Influence of acute and chronic exercise on glucose uptake. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 1-33.
- Schoenfeld, B. J. (2010). The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24(10), 2857-2872.
- Shah, A. M., Uno, H., Køber, L., Velazquez, E. J., Maggioni, A. P., MacDonald, M. R., ... & Solomon, S. D. (2010). The inter-relationship of diabetes and left ventricular systolic function on outcome after high-risk myocardial infarction. *European Journal of Heart Failure*, 12(11), 1229-1237.
- Sheikhzadeh, F., Khajehnasiri, N., Banan Khojasteh, S. M., GhadiriSoufi, F., Dastranj, A., & Taati, M. (2013). The effect of regular moderate exercise, on cardiac hypertrophy and blood glucose level in diabetic adult male rats. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences in Sport*, 6(4), 499-503
- Shiojima, I., & Walsh, K. (2006). Regulation of cardiac growth and coronary angiogenesis by the Akt/PKB signaling pathway. *Genes & Development*, 20(24), 3347-3365.
- van Heerebeek, L., Hamdani, N., Handoko, M. L., Falcao-Pires, I., Musters, R. J., Borbély, A., ... & Diamant, M. (2008). Response to letter regarding article, Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products, and myocyte resting tension. *Circulation*, 117(23), e484-e484.
- Waardenberg, A. J., Bernardo, B. C., Ng, D. C., Shepherd, P. R., Cemerlang, N., Sbroggio, M., ... & McMullen, J. R. (2011). Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) (p110 $\alpha$ ) directly regulates key components of the Z-disc and cardiac structure. *Journal of Biological Chemistry*, 286(35), 30837-30846.
- Wallace, T. M., Levy, J. C., & Matthews, D. R. (2004). Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*, 27(6), 1487-1495.
- Walsh, K. (2006). Akt signaling and growth of the heart. *Circulation*, 113(17), 2032-2034.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., & King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27(5), 1047-1053.
- Yu, W., Chen, C., Fu, Y., Wang, X., & Wang, W. (2010). Insulin signaling: a possible pathogenesis of cardiac hypertrophy. *Cardiovascular Therapeutics*, 28(2), 101-105.
- Zare Karizak, S., Kashef, M., Gaeini, A., Nejatian, M. (2017). The comparison of two protocol of interval and continues aerobic training on level of concentric pathologic hypertrophy and cardiac function in patients after coronary artery bypass grafting surgery. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 5(9), 9-20. [Persain]