

## تمرین تناوبی شدید بیان ژن FGF-21 کبدی و TNF- $\alpha$ سرمی را در موش‌های صحرایی دیابتی تغییر داد

ابراهیم فصیحی رامندی<sup>۱</sup>، ندا خالدی<sup>۲\*</sup>

۱. کارشناس ارشد، فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی

۲. استادیار، فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی

شماره صفحات: ۵۷ تا ۶۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۵/۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۲/۵

### چکیده

دیابت یکی از بیماری‌های شایع متابولیکی است. در بدن بیماران دیابتی، برداشت گلوکز کاهش می‌یابد و FGF-21 نقش مؤثری در برداشت گلوکز دارد. همچنین، TNF- $\alpha$  یک عامل التهابی است که دیابت افزایش می‌یابد. هدف این پژوهش، بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن FGF-21 کبدی و میزان سرمی TNF- $\alpha$  در موش‌های صحرایی دیابتی بوده است. به همین منظور، ۴۸ موش صحرایی به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل، دیابت، تمرین تناوبی شدید، و دیابت و تمرین تناوبی شدید تقسیم شدند. القای دیابت به روش تزریق صفاقی محلول استرپتوزوتوسین انجام شد. پروتکل تمرینی شامل ده نوبت یک دقیقه‌ای دویدن (بین هر نوبت دو دقیقه استراحت) روی نوارگردان با سرعت و شیب پیش‌رونده، طی شش هفته و هر هفته سه جلسه تمرینی بود. در نهایت، با استخراج نمونه کبدی، بیان ژن FGF-21 با روش Real time PCR و تغییرات سرمی TNF- $\alpha$  با روش الایزا اندازه‌گیری شد. تغییر معناداری در بیان ژن FGF-21 در هیچ گروهی مشاهده نشد، ولی کاهش سرمی عوامل التهابی نظیر پروتئین TNF- $\alpha$  در سطح معنی‌داری  $p=0.05$  و حفظ و بهبود زمان رسیدن به اماندگی در اثر تمرین تناوبی شدید مشاهده شد ( $p=0.00$ ). احتمالاً، عوامل التهابی ناشی از دیابت نظیر TNF- $\alpha$  در بیان و میزان کوفاکتورهای الزامی FGF-21( $\beta$ -Klotho) اثر مخربی داشته و سبب مقاومت در مقابل ورود FGF-21 به بافت‌های مختلف بدن از جمله کبد می‌شود؛ از طرفی، تمرین می‌تواند التهاب ناشی از دیابت را کاهش دهد. کليدواژه‌ها: دیابت، TNF- $\alpha$ .FGF-21، تمرین تناوبی شدید، زمان رسیدن به اماندگی.

### High intensity interval training induced changes in the hepatic FGF-21 gene expression and serum TNF- $\alpha$ in diabetic male rats

Fasihi Ramandi, E<sup>1</sup>., Khaledi, N<sup>2</sup>.

1. Master of Science, Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences Kharazmi University, Iran
2. Assistant Professor, Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences Kharazmi University, Iran

#### Abstract

Diabetes is a common metabolic disease. In diabetic patients glucose uptake is reduced and FGF-21 plays an important role in glucose uptake, also TNF- $\alpha$  is an inflammatory factor that increases in diabetes. The purpose of this study was to investigate the effect of 6 weeks of HIIT training on the gene expression FGF-21 in the liver and the serum TNF- $\alpha$  level of male diabetic rats. For this purpose, 48 Wistar rats were randomly divided into four groups Control, diabetes, high intensity interval training, and diabetes and high intensity interval training. For the induction of diabetes, peritoneal injection (Streptozotocin 50 mg/kg) was used. Training protocol including 10 set of 1-minute running (between each set of 2 minutes of rest) 3 sessions per week and was completed within 6 weeks. Finally, after the extraction of liver samples, the expression of the FGF-21 gene was measured by Real Time PCR and serum TNF- $\alpha$  level with ELISA kit. There was no significant change in expression of FGF-21 in any group, but the reduction of serum levels of inflammatory factors, such as TNF- $\alpha$  protein at the level of significance ( $p=0.05$ ), and maintaining and improving the time to exhaustion, was shown by high intensity interval training ( $p=0.000$ ). Likely the inflammatory factors of diabetes such as TNF- $\alpha$  have a deleterious effect on the expression and binding of FGF-21 ( $\beta$ -Klotho) cofactors And causes resistance to FGF-21 into various tissues of the body, such as the liver. Exercise can reduce inflammation caused by diabetes.

**Keywords:** FGF-21, TNF- $\alpha$ , High Intensity Interval Training, Diabetes, Time to Exhaustion.

\*. N.khaledi@khu.ac.ir

## مقدمه

FGF-21<sup>۱</sup> عضوی از خانواده FGF است که از بافت‌های مختلف بدن مانند کبد، بافت چربی، عضله، پانکراس و تا حد کمتری تیموس آزاد می‌شود (۱). شواهد اخیر نشان می‌دهد که FGF-21 تنظیم‌کننده درون‌زاد مهم گلوکز جریان خونی و متابولیسم چربی است. همچنین، FGF-21 مصرف گلوکز را در روشی وابسته به انسولین افزایش می‌دهد و لیپولیز را در آدیپوسیت‌های انسانی و موشی در محیط آزمایشگاهی کاهش می‌دهد (۲). همچنین، در طی گرسنگی یا روزه‌داری FGF-21 از طریق PPAR $\alpha$  سبب لیپولیز و کتوزیز می‌شود (۳). القای بیان ژن FGF-21 در کبد به وسیله گیرنده فعال‌شده پراکسیزوم آلفا (PPAR- $\alpha$ ) و در بافت چربی توسط گیرنده فعال‌شده پراکسیزوم گاما (PPAR- $\gamma$ ) تنظیم می‌شود (۴،۵). همچنین، مشخص شده که بیان FGF-21 در عضله اسکلتی با فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ PI3 Kinase/Akt همراه است (۶). FGF-21 با گیرنده‌های FGF در بافت چربی قهوه‌ای نیز ارتباط برقرار می‌کند و باعث تحریک اکسیداسیون گلوکز و مکانیزم گرمازا در BAT<sup>۲</sup> می‌شود (۷). از طرفی، افراد مبتلا به دیابت، به دلیل بالابودن قندخون، به التهاب مزمن مبتلا هستند که با اندازه‌گیری نشانگرهای التهابی نظیر CRP<sup>۳</sup>، TNF- $\alpha$ <sup>۴</sup> و IL-6<sup>۵</sup> خونی قابل تشخیص است؛ زیرا TNF- $\alpha$  سبب مقاومت به انسولین و کاهش حساسیت انسولینی می‌شود (۸). TNF- $\alpha$  در انواع مختلفی از سلول‌های خون‌ساز و غیرخون‌ساز و بدخیم تولید می‌شود که این سلول‌ها شامل ماکروفاژها، لنفوسیت‌های T و B سلول‌های کشنده طبیعی، نوتروفیل‌ها، آستروسیت‌ها، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های ماهیچه صاف و... است، ولی اکثر مواقع با ماکروفاژهای فعال‌شده تولید می‌شوند (۹،۱۰). همچنین، در پژوهشی نشان داده شده که سنتز و ترشح TNF- $\alpha$  به وسیله سلول‌های چربی انجام می‌شود. در عین حال، این سایتوکین رابط بین مقاومت به انسولین و چاقی شناخته شده و نشان داده شده که TNF- $\alpha$  احتمالاً با ایجاد اختلال در فسفریلاسیون تیروزینی گیرنده انسولین، در فرآیند سیگنالینگ این هورمون اختلال ایجاد می‌کند و باعث مقاومت در مقابل انسولین و دیابت نوع ۲ می‌شود و دیابت نوع ۲ در اکثر مواقع با چاقی همراه است (۱۱).

مطالعات آزمایشگاهی و *in vitro* در خصوص FGF-21 گزارش کرده‌اند که آبشار سیگنالینگ FGF-21 به گیرنده FGFR<sup>۶</sup> و کوفاکتور  $\beta$ -klotho<sup>۷</sup> نیاز دارد.  $\beta$ -klotho و FGFR1-4 به میزان زیاد در بافت‌های کبد، چربی و پانکراس بیان می‌شوند (۱۲). با این حال، رابطه TNF- $\alpha$  با FGF-21 در بعضی از پژوهش‌ها بررسی شده است که TNF- $\alpha$  یک عامل محوری در التهاب بدن است و بیان کوفاکتور  $\beta$ -Klotho را کاهش می‌دهد و عملکردهای بیولوژیکی FGF-21 را در سلول‌های بدن کم می‌کند. هنگامی که  $\beta$ -klotho به FGF-21 متصل می‌شود، حساسیت انسولین و متابولیسم گلوکز برانگیخته می‌شود؛ در نتیجه، قند خون کنترل می‌شود (۱۳-۱۵). با مطالعه‌هایی که اخیراً انجام شده، روشن شده که FGF-21 اهداف بالقوه

1. Fibroblast Growth Factor 21  
2. Brown Adipose Tissue  
3. C-Reactive Protein

4. Tumor Necrosis Factor Alpha  
5. Interleukin 6

6. Fibroblast Growth Factor Receptors  
7. Beta-Klotho

متابولیسم برای پروتئین **PGC-1 $\alpha$**  دارد. **FGF-21**، یکی از اعضای گروه **FGF** ها شناخته شده و هدفی امیدوارکننده در مدیریت بیماری‌های متابولیسمی است که از چاقی و مقاومت در مقابل انسولین جلوگیری می‌کند، باعث قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید می‌شود و از هیپرتروفی قلب ممانعت می‌کند (۱۶). سازوکار افزایش **FGF-21** بدین صورت است که فعالیت بدنی منظم، اگر بلندمدت و شدید اجرا شود، احتمالاً در افزایش سطوح **FGF-21** مؤثر است (۱۷). در پژوهش‌های صورت گرفته در زمینه تمرین تناوبی شدید، گزارش شده که نسبت به فعالیت‌های ورزشی دیگر، در کاهش چربی زیرپوستی و شکم و تغییر ترکیب بدن مؤثرتر بوده است (۱۸، ۱۹). تمرین تناوبی شدید شکل پیشرفته‌ای از تمرین و استراحت و یک راهکار ورزشی تناوبی با دوره‌های کوتاه فعالیت‌های بی‌هوایی شدید و ریکاوری کوتاه است که در بهبود متابولیسم گلوکز و چربی مؤثر است (۲۰، ۲۱). در مجموع، به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید **PGC-1 $\alpha$**  را تحریک می‌کند و سبب افزایش ظرفیت اکسیداتیو چربی می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که تمرین تناوبی شدید درصد چربی و مقاومت در برابر انسولین را کاهش می‌دهد (۲۲). فعالیت بدنی با شدت و مدت کافی، پاسخ آدرنژیک ایجاد می‌کند و در مطالعات هم‌بستگی مثبت سطوح **FGF-21** با مقدار فعالیت جسمانی گزارش شده است. گزارش شده است که سطوح سرمی **FGF-21** پس از یک دوره فعالیت بدنی در افراد بزرگسال سالم افزایش می‌یابد. افزایش **FGF-21** در سرم سطح **FFA**ها را از طریق مهار لیپولیز کاهش می‌دهد و سازوکاری جبرانی جهت بهبود متابولیسم کربوهیدرات و چربی است (۲۳). اگر فعالیت‌های بدنی از شدت و مدت کافی برخوردار باشد، فراخوانی اسیدهای چرب آزاد بیشتر می‌شود و این عامل می‌تواند سازوکاری جهت افزایش **FGF-21** باشد. از طرف دیگر، مطالعات نشان می‌دهد قند خون با سطوح سرمی **FGF-21** مرتبط است (۲۴). اخیراً، سگسورس و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند سطوح **FGF-21** پس از تمرین ایتروال سرعتی در مقایسه با تمرین تداومی افزایش معنی‌داری داشت و بین **FGF-21** و درصد چربی بدن و توده بدون چربی ارتباط غیرمعنی‌داری وجود دارد. بنابراین، شدت تمرین عامل مهمی برای تعیین افزایش **FGF-21** پلازما است (۲۵). با توجه به اینکه ارتباط بیماری‌های کبدی و دیابت فراتر از آن چیزی است که اکثر مردم تصور می‌کنند، می‌توان به شیوع بیماری‌هایی نظیر سرطان، سیروز و کبد چرب اشاره کرد. در افراد مبتلا به دیابت، کبد نمی‌تواند گلوکز را به گلیکوژن تبدیل کند یا در مواقع لزوم آن را به شکل گلوکز به جریان خون وارد کند و این به چالش کنترل کلوگز خون می‌افزاید. از طرفی، احتمال ایجاد کبد چرب به دلیل مقاومت در برابر انسولین بالاست و **FGF-21** در کاهش مقاومت انسولین و افزایش برداشت گلوکز نقش مهمی دارد، اما تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر تأثیر تمرین تناوبی شدید بر میزان **FGF-21** در بافت کبدی در موش‌های دیابتی وجود ندارد. حال، این سؤال مطرح می‌شود که آیا تمرین تناوبی شدید مستقیماً بر بیان ژن **FGF-21** در بافت کبدی موش‌های

دیابتی چاق تأثیر دارد؟ از این رو، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن FGF-21 بافت کبدی و سطوح سرمی فاکتور التهابی TNF- $\alpha$  در موش‌های دیابتی نر نژاد ویستار است.

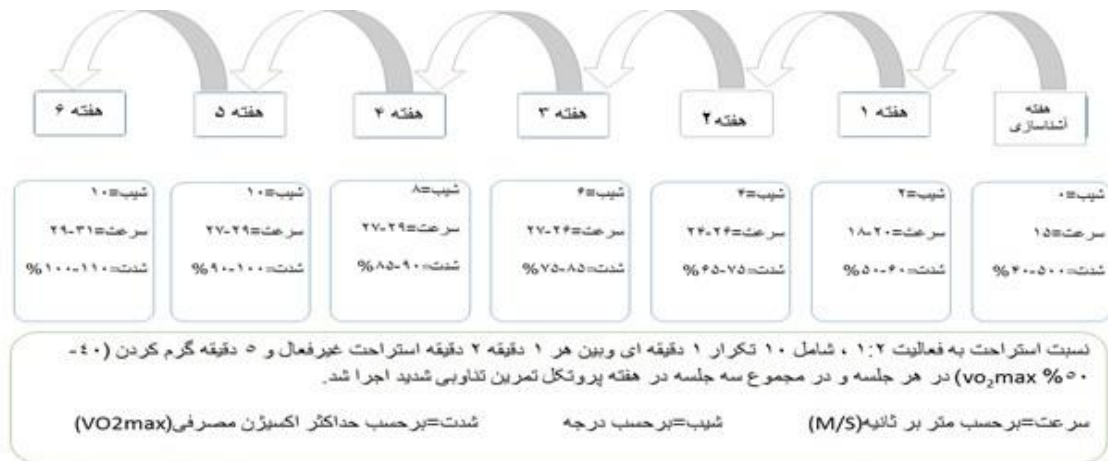
### روش‌شناسی

این پژوهش از نوع تجربی و آزمایشگاهی و با نمونه حیوانی و طرح آن توسعه‌ای است. در پژوهش حاضر ۴۸ موش چهار هفته‌ای نر نژاد ویستار با وزن  $150 \pm 10$  گرم از مؤسسه پژوهشی سرم‌سازی رازی خریداری و به چهار گروه تقسیم شدند: گروه ۱: موش‌های دیابتی (D=12) گروه ۲: دیابت+تمرین (DIIT)=12، گروه ۳: کنترل (C=12) و گروه ۴: کنترل تمرین (HIIT=12). در پژوهش حاضر برای کار با موش‌های صحرائی از آزمایشگاه ورزشی حیوانات و تسهیلات دانشکده علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی و از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا استفاده شد. در تمامی مراحل کار، فرد پژوهش‌گر همواره این موارد را مورد نظر داشت. دمای هوا در آزمایشگاه  $24 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $58 \pm 3$  درصد تنظیم شد. سیکل شبانه‌روزی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم و کنترل شد تا همه موش‌ها از وضعیت یکسان برخوردار باشند. موش‌ها به صورت چهار تا در یک قفس مخصوص نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی استاندارد قرار گرفتند و برای نگهداری آنها از پوشال‌های استریل تهیه شده از مؤسسه پژوهشی سرم‌سازی رازی استفاده شد. برای اطمینان از محیط مناسب و حفظ رطوبت، دما و تهویه مناسب و تعدیل میزان آلودگی موجود در محل و کاهش بوی بد محیط ناشی از آمونیاک حاصل از ادرار حیوانات و کاهش احتمال بیماری‌های تنفسی، از دستگاه تصفیه هوا و برای پایش تغییرات شبانه‌روزی دما و رطوبت از دماسنج و رطوبت‌سنج استفاده شد. ضمناً این طرح در کمیته اخلاق پژوهشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی به شماره IR.SSRI.REC.1397,255 ثبت گردیده است.

**تغذیه موش:** غذای مصرفی موش‌های صحرائی پلت بود که از مؤسسه سرم‌سازی رازی تهیه شد. معمولاً موش‌های صحرائی روزانه به‌ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، ۱۰ گرم پلت نیاز دارند. موش‌های گروه دیابتی جهت اعمال چاقی به مدت دوهفته تحت رژیم غذایی پرچرب شامل ۲۲ درصد چربی، ۴۸ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین تهیه شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی، قرار گرفتند (۲۶). بدین ترتیب، بعد از دوهفته موش‌ها دچار اضافه‌وزن (چاق) شدند و در طول پژوهش از همین فرمول غذایی برای موش دیابتی استفاده شد. برای موش‌های سالم (گروه کنترل و کنترل تمرین) از غذای استاندارد چونندگان آزمایشگاهی (تهیه شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی) استفاده شد.

**القای دیابت:** جهت ایجاد دیابت در هر دو گروه از استرپتوزوتوسین به صورت تک‌دوز و به میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به روش تزریق داخل صفاقی استفاده شد (۲۷). ۴۸ ساعت بعد از تزریق، جهت اطمینان از ایجاد دیابت در موش‌ها، قطره‌های خون از ورید دمی اخذ و میزان قندخون با دستگاه گلوکومتر تعیین شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۲۸). در پژوهش حاضر، برای اطمینان به صورت هفته‌ای یکبار هم مقدار قندخون کنترل می‌شد.

**پروتکل تمرین:** قبل از شروع پروتکل تمرینی، ابتدا آشناسازی موش‌های صحرایی با نوارگردان به مدت یک هفته و سه روز در هفته انجام شد و بلافاصله پس از آن موش‌ها وارد روش تمرینی به مدت شش هفته و سه روز در هفته شدند (۲۹). این روش تمرینی روی نوارگردان مخصوص حیوانات آزمایشگاهی به صورت دقیق برنامه‌ریزی و طبق شکل ۱ انجام شد.



شکل ۱. پروتکل تمرینی پژوهش حاضر

**آزمون عملکرد ورزشی:** آزمون عملکردی موش‌ها در گروه‌های تمرینی روی نوارگردان با شیب صفر درجه و سرعت اولیه ۱۰ متر بر دقیقه انجام شد. به ازای هر ۲ دقیقه، ۲ متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده شد، تا جایی که موش‌ها وامانده شوند و قادر به انجام ادامه آزمون نباشند. داده‌ها براساس میانگین مسافت پیموده شده و سرعت، به منزله شاخص عملکرد ورزشی، هدف تحلیل قرار گرفت.

**نمونه‌گیری و سنجش متغیرهای پژوهش:** ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، ابتدا موش‌های گروه کنترل و تمرین تناوبی شدید نمونه‌گیری شدند و ۲۴ ساعت بعد از آن، موش‌های گروه تمرینی دیابتی و گروه دیابت نمونه‌گیری شدند. ابتدا به موش‌های صحرایی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدنشان ۱/۰ میلی گرم از مخلوط کتامین - زایلوزین (۱۰ میلی گرم کتامین + ۱/۵ میلی گرم زایلوزین) تزریق شد تا بیهوش شوند. سپس، با بازکردن قفسه سینه و شکم، برای اطمینان از کمترین آزاردیدگی حیوان، فوراً خون با سرنگ از داخل قلب گرفته شد و قلب آنان جدا شد. بعد از جداکردن قلب، بافت کبد آنها تحت وضعیت استریل جدا شد و در ترازیومی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن کشتی شد و بلافاصله بعد از قرارگیری در کراتیوب مخصوص، درون مایع ازت قرار گرفت. کراتیوب‌ها تا زمان آماده‌سازی در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری بیان ژن **FGF-21** در پژوهش حاضر از روش **RT-PCR** استفاده شد. **RNA** تام سلولی از سلول‌های تیمار شده توسط کیت **RNX-PLUS** ساخت

1. Real Time Polymeraz Chain Reaction

شرکت CinnaGen و طبق پروتکل شرکت سازنده استخراج شد. برای سنجش کمی RNA از دستگاه نانودراپ استفاده شد که یک اسپکتروفتومتر با طیف نوری ۲۲۰ تا ۷۵۰ نانومتر است. سنتز cDNA هم با استفاده از کیت Easy cDNA synthesis شرکت پارس طوس انجام شد. توالی ژن FGF-21 به منزله ژن هدف و توالی GAPDH<sup>۱</sup> به مثابه ژن مرجع، از سایت <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> دریافت شد. پس از انتخاب پرایمر، توالی آنها با نرم افزار Genruuner طراحی و سنتز شد. جهت ارزیابی کمی بیان ژن FGF-21 واکنش Real time PCR روی cDNAهای سنتز شده با استفاده از Master Mix (SYBR Green) انجام گرفت و از دستگاه Bionner استفاده شد. برنامه زمانی دستگاه به این صورت بود: ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، ۲۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و ۱۵ ثانیه در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد و ۱۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد که واکنش در ۴۰ دوره متوالی تکرار شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ آمده است. در نهایت، بیان ژن بر اساس فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  تحت بررسی قرار گرفت. سنجش میزان تغییرات سرمی TNF- $\alpha$  با روش الایزا از کیت های شرکت Diaclone ساخت کشور فرانسه اندازه گیری شد. تمام مراحل پیش گفته در آزمایشگاه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی تهران و آزمایشگاه بیوتایمز تهران انجام گرفت و قسمتی از هزینه های پژوهش از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی تامین گردید.

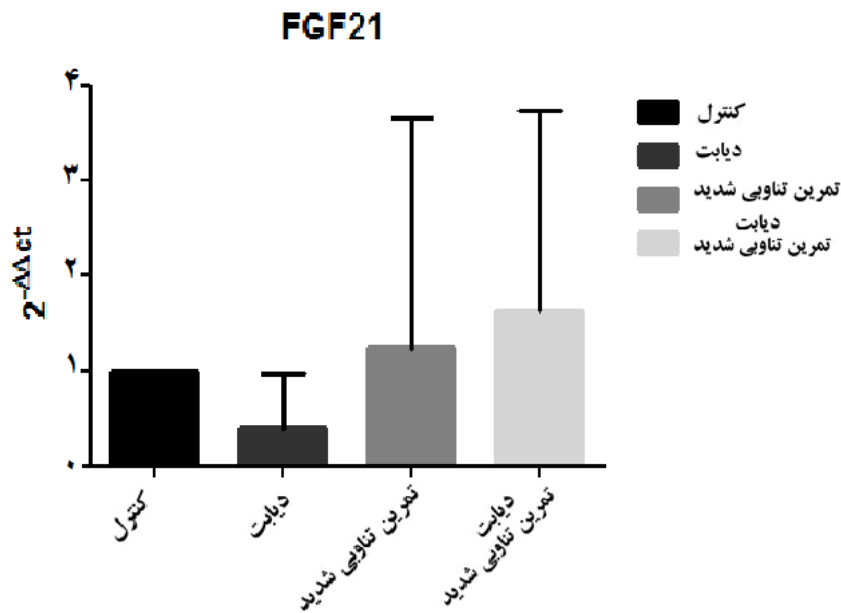
جدول ۱. مشخصات پرایمرهای به کار رفته در این پژوهش

نام پرایمر	توالی پرایمر	دما °
FGF21-F	ACAGATGACGACCAGGACACCG	۶۳/۹۸
FGF21-R	CACTTTCTGGACTGCGGTGTGC	۶۳/۹۸
GAPDH-F	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC	۵۷/۱۸
GAPDH-R	GAAGATGGTGATGGGATTTC	۵۷/۱۸

**تحلیل آماری:** برای تجزیه و تحلیل داده ها، از آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. از آزمون شاپیرو-ویلک برای سنجش هنجار بودن توزیع داده ها استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده ها، برای مقایسه گروه ها در متغیر مطالعه شده، از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. جهت انجام آزمون های تکمیلی، آزمون پی گیر توکی به عمل آمد. سطح معناداری نیز  $P \leq 0/05$  در نظر گرفته شد. تمام بررسی های آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار graph pad prism نسخه ۵ انجام گرفت.

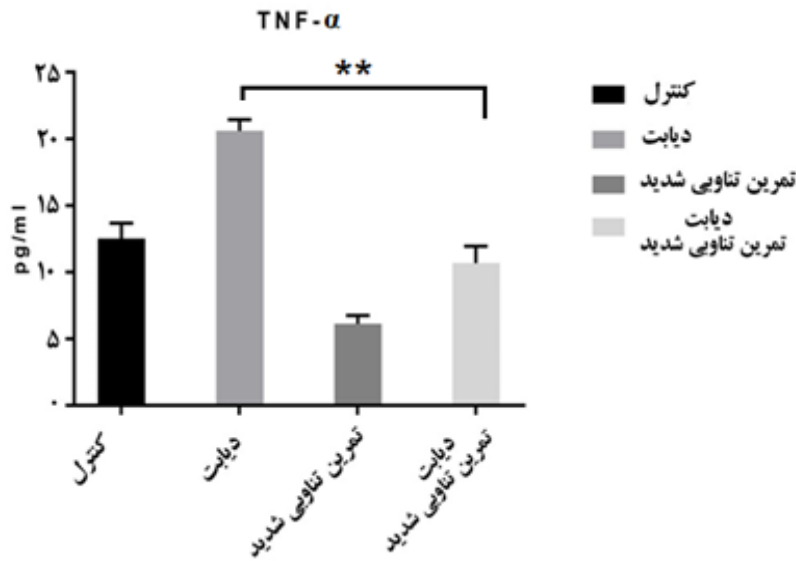
## یافته‌ها

پس از پایان دوره شش هفته‌ای تمرین تناوبی شدید، با توجه به نمودار ۱، میزان FGF-21 در بافت کبدی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش نشان نداد ( $P\text{-value} \geq 0/05$ ). همچنین، همبستگی برای سطح بیان ژن FGF-21 با وزن بافت کبد  $R = -0/078$  برآورد شد که در سطح  $0/05$  معنی‌دار نبود. بنابراین، بین متغیرهای یادشده از نظر آماری همبستگی وجود نداشت.



نمودار ۱. نتایج حاصل از بیان ژن FGF-21 در گروه‌های پژوهش

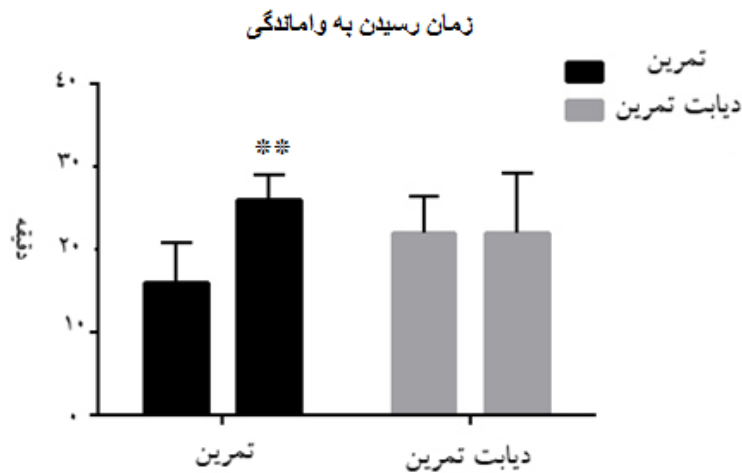
همچنین، پس از شش هفته تمرین تناوبی شدید، سطوح سرمی فاکتور التهابی  $TNF-\alpha$  معنادار بود. با توجه به نمودار ۲، بین دو گروه دیابت و دیابت تناوبی شدید و دو گروه تناوبی شدید و دیابت و تناوبی شدید تفاوت معنی‌داری در میزان بیان  $TNF-\alpha$  مشاهده شد، ولی بین دو گروه کنترل و تمرین تناوبی شدید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این بدان معنی است که میزان پروتئین  $TNF-\alpha$  سرمی در گروه‌های دیابتی افزایش چشمگیری داشته، درحالی‌که در گروه دیابت تناوبی شدید، کمتر افزایش یافته است.



نمودار ۲. تغییرات TNF- $\alpha$  سرمی در گروه‌های پژوهش

\*\* سطح معنی داری بین دو گروه دیابت و دیابت تناوبی شدید ۰/۰۰۰ مشاهده می‌شود.

با توجه به نمودار ۳، پس از شش هفته تمرین تناوبی شدید، بررسی آزمون زمان رسیدن به واماندگی نشان داد که گروه دیابت و تمرین توانسته میانگین زمان رسیدن به واماندگی خود را حفظ کند و گروه تمرین نیز پیشرفت داشته است. نتایج آزمون تی زوجی در بین دو گروه تناوبی شدید و دیابت تناوبی شدید (۰/۰۱۴) تفاوت معنی داری نشان داد.



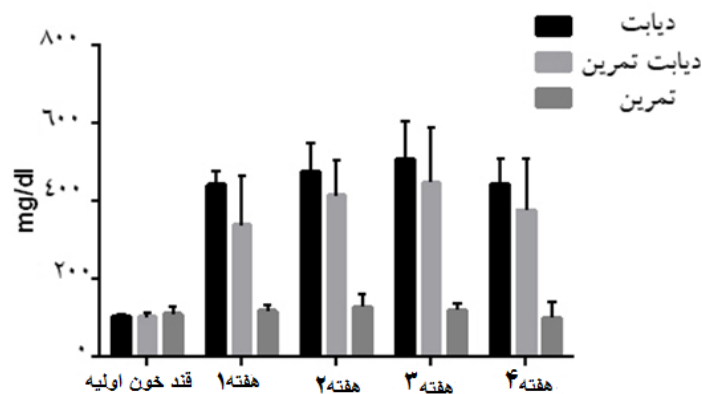
نمودار ۳. میانگین زمان رسیدن به واماندگی آزمون عملکردی در گروه دیابت تناوبی شدید و تناوبی شدید

\*\* بین دو گروه تناوبی شدید و دیابت تناوبی شدید تفاوت معنی داری (۰/۰۱۴) مشاهده شد.

با توجه به نتایج، قندخون قبل و بعد از ناشتایی، در نمودار در چهار گروه پژوهش، بین دو گروه دیابت و دیابت تناوبی شدید تفاوت معنی داری نداشته است (۰/۲۶۷).



تغییرات قند خون



نمودار ۱. میانگین تغییرات قندخون در سه گروه در طول پژوهش

## بحث

هدف ما در این پژوهش بررسی یک دوره شش هفته‌ای تمرین شدید تناوبی بر بیان ژن  $FGF-21$  کبدی، میزان تغییرات سرمی فاکتور التهابی  $TNF-\alpha$ ، بررسی زمان رسیدن به واماندگی و تغییرات قندخون در موش‌های صحرایی دیابتی نر نوع ویستار بود که پس از تحلیل‌های سلولی-مولکولی و آزمون فرضیه‌ها، تغییرات معناداری در میزان  $FGF-21$  کبدی بین گروه‌ها مشاهده نشد. از پژوهش‌های هم‌سو می‌توان به پژوهش یانگ و همکاران (۲۰۱۷) اشاره کرد که انجام سه‌ماه تمرین ترکیبی (هوازی-قدرتی) برای پنج روز در هفته، به کاهش معنی‌دار دور کمر و  $BMI$  و افزایش معنی‌دار سطوح  $FGF-21$  منجر نشد (۳۰). از نتایج ناهم‌سو در این زمینه می‌توان به پژوهش‌های هی جی کیمو و وک سونگ (۲۰۱۷) اشاره کرد که به اثر بررسی تمرین مقاومتی بر افزایش میزان  $FGF-21$  و آیرزین در عضلات اسکلتی موش‌های چاق دیابتی نر پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد سطوح  $FGF-21$  در گروه تمرینی در مقایسه با گروه کنترل بالاتر است. علاوه بر این، مشخص شد که سطوح  $FGF-21$  و آیرزین هم‌بستگی معنی‌داری با قدرت گرفتن دارد (۳۱). در پژوهش دیگری که دو نمونه انسان و موش را بررسی کردند، موش‌ها با سرعت ۵ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه گرم و هر ۵ دقیقه بعدی، سرعت ۵ متر بر دقیقه افزایش یافت. سپس، موش‌ها با حداکثر سرعت ۲۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه یا تا خستگی فعالیت را انجام دادند. همچنین، ۱۳ نوجوان با شدت ۵۰-۸۰ درصد  $VO_{2max}$  به مدت سه‌روز در یک هفته روی تردمیل دویدند. یافته‌ها نشان داد که یک وهله تمرین، سطح سرمی  $FGF-21$  را در موش و مردان سالم افزایش می‌دهد. همچنین مشخص شد که همکاری  $PPAR\alpha$  و  $ATF4$  باعث بیان ژن  $FGF-21$  در کبد موش‌هایی می‌شود که یک وهله ورزش می‌کنند. گزارش شد که القای کبدی  $FGF-21$  پس از یک وهله ورزش ممکن است به افزایش سطح سرمی  $FGF-21$  کمک کند (۳۲).

اما در رابطه  $TNF-\alpha$  با  $FGF-21$  بعضی پژوهش‌ها گزارش کرده‌اند که  $TNF-\alpha$  یک عامل محوری در التهاب بدن است و بیان کوفاکتور  $\beta-Klotho$  را کاهش می‌دهد و عملکردهای بیولوژیکی  $FGF-21$  را نیز

در سلول‌های بدن کاهش می‌دهد. در این زمینه، پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد کاهش بیان  $\beta$ -Klotho ناشی از TNF- $\alpha$  در موش صحرایی با اختلال عملکرد FGF-21 در جذب گلوکز همراه است.  $\beta$ -Klotho یک کوفاکتور ضروری برای فعالیت FGF-21 است. اتصال  $\beta$ -Klotho با FGF-21 سبب افزایش حساسیت انسولینی و متابولیسم گلوکز می‌شود، در نتیجه باعث کنترل قند خون خواهد شد (۳۳-۳۵). پس، باتوجه به موارد گفته شده احتمالاً پس از انجام فعالیت ورزشی FGF-21 افزایش می‌یابد، ولی ورود FGF-21 به بافت‌های مختلف بدن مختل می‌شود یعنی میزان سرمی آن افزایش بیشتری نسبت به بافت‌های مختلف بدن دارد که احتمالاً می‌تواند مربوط به تأثیر فاکتور التهابی TNF- $\alpha$  بر بیان ژن  $\beta$ -Klotho باشد.

در پژوهش حاضر نشان داده شد که شش هفته تمرین شدید تناوبی تأثیر معناداری بر فاکتور التهابی TNF- $\alpha$  سرمی موش‌های صحرایی دیابتی داشت. با مقایسه دو گروه دیابت و دیابت و تناوبی شدید مشاهده می‌شود که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود دارد. همچنین، مقادیر سرمی TNF- $\alpha$  در گروه دیابت بیشتر از گروه دیابت و تناوبی شدید است. پژوهش‌های زیادی درباره این موضوع صورت گرفته که در اینجا به چند مورد اشاره می‌شود: از نتایج هم‌سو می‌توان به پژوهش سیلوا و همکاران (۲۰۱۷) اشاره کرد که تمرین هوازی و مقاومتی طولانی مدت را به مدت شانزده هفته درباره موش صحرایی دیابتی انجام دادند و نتایج در زمینه سطوح TNF- $\alpha$  در گروه کنترل دیابتی بهتر از گروه‌های تمرینی مقاومتی و هوازی بود (۳۶). از پژوهش‌های ناهم‌سو با پژوهش حاضر می‌توان به پژوهش صفرزاده و همکاران اشاره کرد که به بررسی تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی بر موش‌های صحرایی پرداختند و تغییرات معنی‌داری در میزان سرمی IL-6 و TNF- $\alpha$  مشاهده نکردند (۳۷). با توجه به موارد گفته شده و پژوهش‌های هم‌سو و ناهم‌سو، پژوهشگر احتمال می‌دهد که نوع تمرین انجام شده، مدت زمان آن، بیمار بودن یا نبودن آزمودنی‌های داخل پژوهش، مقادیر اولیه فاکتورهای التهابی سرمی آزمودنی و مدت زمان انجام فعالیت ورزشی بر غلظت سرمی فاکتورهای التهابی تأثیرگذار باشد. با این حال، طبق نتایج پژوهش‌های دیگر می‌توان احتمال داد که مدت زمان بیشتر انجام فعالیت ورزشی و همچنین شدت آن تأثیر بیشتری بر کاهش التهاب داشته باشد. در نهایت، پژوهش‌هایی بیشتری باید انجام شود تا صحت موارد گفته شده تأیید شود.

با توجه به نتایج پژوهش حاضر و در نظر گرفتن اینکه در بیماران دیابتی، به علت مشکلات قندخون و برهم خوردن فعالیت‌های متابولیکی بدن، حفظ توان و عملکرد مشکل است، انجام تمرین تناوبی شدید می‌تواند بر زمان رسیدن به درماندگی مؤثر واقع شود. در نهایت، با توجه به نتایج این پژوهش و موارد هم‌سو، پژوهشگر احتمال می‌دهد تمرین تناوبی شدید، به‌منزله یک محرک فیزیولوژیکی، به بهبود عوامل مرتبط با سلامت متابولیکی، قلب و عروق، ظرفیت هوازی، بهبود توان و عملکرد و در نهایت کاهش عوامل التهابی و التهاب در بیماران دیابتی منجر می‌شود.

## نتیجه گیری

با استناد به پژوهش حاضر و نتایج آن، تمرین تناوبی شدید از طریق فعال کردن مسیر و سازوکارهای سلولی و مولکولی مختلف، سبب کاهش اثر منفی ناشی از بیماری دیابت بر متابولیسم بدن و سلامتی می‌شود. همچنین، نشان داده شد که تمرین تناوبی شدید در کاهش التهاب و عوامل التهابی مانند  $TNF-\alpha$  می‌تواند مؤثر واقع شود یا از افت عملکرد ناشی از دیابت جلوگیری کند، ولی تأثیر معناداری بر افزایش بیان ژن  $FGF-21$  به‌منزله یکی از فاکتورهای متابولیکی در بافت‌های بدن (کبد، چربی، پانکراس و عضله) ندارد که می‌توان احتمال داد که به عوامل و سازوکارهای التهابی (نظیر  $TNF-\alpha$ ) ایجادشده در اثر هایپرگلیسمی ناشی از دیابت مربوط باشد که سبب کاهش بیان ژن کوفاکتورهای انتقالی  $FGF-21$  نظیر (B-KELOT) می‌شود و حساسیت به  $FGF-21$  را در بافت کاهش می‌دهد.

## تشکر و قدردانی

مقاله حاضر، مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد گرایش فیزیولوژی ورزشی دانشگاه خوارزمی، به‌راهنمایی سرکار خانم دکتر خالدی تهیه شده است. محققان از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی برای حمایت و تأمین بخشی از هزینه‌های پژوهش تقدیم و تشکر می‌نمایند. نویسندگان پژوهش حاضر منافع متقابلی در پژوهش انجام شده و به تبع آن در انتشار مقاله نداشتند. نویسندگان از دکتر ح. عسگری و م. شیرزادی به‌دلیل همکاری و نیز کسانی که در مسیر این پژوهش ما را یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

## منابع

1. Pedersen, B.K., Febbraio, M.A. (2012). Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology*. 8(8):457-65.
2. Izumiya, Y., Bina, H.A., Ouchi, N., Akasaki, Y., Kharitononkov, A., Walsh, K. (2008). FGF21 is an Akt-regulated myokine. *Federation of European Biochemical Societies*. 582(27):3805-10.
3. Goedecke, J.H., Micklesfield, L.K. (2014). The effect of exercise on obesity, body fat distribution and risk for type 2 diabetes. *Medicine and Sport Science*. 60:82-93.
4. Inagaki, T., Dutchak, P., Zhao, G., Ding, X., Gautron, L., Parameswara, V., Li, Y., Goetz, R., Mohammadi, M., Esser, V., Elmquist, J.K., Gerard, R.D., Burgess, S.C., Hammer, R.E., Mangelsdorf, D.J., Kliewer, S.A. (2007). Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metabolism*. 5(6):415-25.
5. Dutchak, P.A., Katafuchi, T., Bookout, A.L., Choi, J.H., Yu, R.T., Mangelsdorf, D.J., Kliewer, S.A. (2012). Fibroblast growth factor-21 regulates PPARgamma activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell Metabolism*. 148(3):556-67.
6. Beenken, A., Mohammadi, M. (2009). The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*. 8(3):235-53.
7. Virtanen, K.A. (2014). BAT thermogenesis: Linking shivering to exercise. *Cell Metabolism*. 19(3):352-4.
8. Moller, D.E. (2000). Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 11(6):212-7.
9. Waters, J.P., Pober, J.S., Bradley, J.R. (2013). Tumour necrosis factor and cancer. *The Journal of Pathology*. 230(3):241-8.
10. Idriss, H.T., Naismith, J.H. (2000). TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microscopy Research and Technique*. 50(3):184-95.
11. Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S., Spiegelman, B.M. (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 259(5091):87-91.
12. Iizuka, K., Takeda, J., Horikawa, Y. (2009). Glucose induces FGF21 mRNA expression through ChREBP activation in rat hepatocytes. *FEBS Letters*. 583(17):2882-6.
13. Suzuki, M., Uehara, Y., Motomura-Matsuzaka, K., Oki, J., Koyama, Y., Kimura, M., Asada, M., Komi-Kuramochi, A., Oka, S., Imamura, T. (2008). BetaKlotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Molecular Endocrinology*. 22(4):1006-14.
14. Ogawa, Y., Kurosu, H., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K.P., Goetz, R., Eliseenkova, A.V., Mohammadi, M., Kuro-o, M. (2007). BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104(18):7432-7.

15. Diaz-Delfin, J., Hondares, E., Iglesias, R., Giralt, M., Caelles, C., Villarroya, F. (2012). TNF-alpha represses beta-Klotho expression and impairs FGF21 action in adipose cells: involvement of JNK1 in the FGF21 pathway. *Endocrinology*. 153(9):4238-45.
16. Hosseinian, M., Banitalebi, E., Amirhosseini, S.E. (2016). Effect of 12 Weeks of Intensive Interval and Combined Training on Apolipoprotein A and B, Visfatin and Insulin Resistance in Overweight Middle-Aged Women with Type 2 Diabetes. *Quarterly of Horizon of Medical Sciences*. 22(3):237-45. (Persian)
17. Karami, M., Banitalebi, E. (2017). The comparison of effect of 8 weeks of intense interval training and combined strength-endurance training on fibroblast growth factor-21 (FGF-21) levels in women with type 2 diabetes. *Journal of Nursing Education*. 6(3):37-46.
18. Wu, T., Gao, X., Chen, M., van Dam, R.M. (2009). Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obesity Reviews*. 10(3):313-23.
19. Shaw, K., Gennat, H., O'Rourke, P., Del Mar, C. (2006). Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. (4):CD003817.
20. Talanian, J.L., Galloway, S.D., Heigenhauser, G.J., Bonen, A., Spriet, L.L. (2007). Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *Journal of Applied Physiology* (1985). 102(4):1439-47.
21. Laursen, P.B., Jenkins, D.G. (2002). The scientific basis for high-intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports Medicine*. 32(1):53-73.
22. Hemmatinifar, M., Kordi, M., Choopani, S., Choobineh, S., Arefi, R. (2013). The effect of high intensity interval training (HIIT) on plasma adiponectin levels, insulin sensitivity and resistance in sedentary young men. *Journal of Zanzan University of Medical Sciences*. 21(84):1-12. (Persian)
23. Cuevas-Ramos, D., Almeda-Valdes, P., Meza-Arana, C.E., Brito-Cordova, G., Gomez-Perez, F.J., Mehta, R., Oseguera-Moguel, J., Aguilar-Salinas, C.A. (2012). Exercise increases serum fibroblast growth factor 21 (FGF21) levels. *PLoS One*. 7(5):e38022.
24. Cuevas-Ramos, D., Almeda-Valdes, P., Gomez-Perez, F.J., Meza-Arana, C.E., Cruz-Bautista, I., Arellano-Campos, O., Navarrete-Lopez, M., Aguilar-Salinas, C.A. (2010). Daily physical activity, fasting glucose, uric acid, and body mass index are independent factors associated with serum fibroblast growth factor 21 levels. *European Journal of Endocrinology*. 163(3):469-77.
25. Segsworth, B.M. (2015). Acute sprint interval exercise induces a greater FGF-21 response in comparison to work-matched continuous exercise. *The University of Western Ontario*. 3254
26. Zhang, M., Lv, X.Y., Li, J., Xu, Z.G., Chen, L. (2008). The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Experimental Diabetes Research*. 2008:704045.
27. Rajasekar, R., Manokaran, K., Rajasekaran, N., Duraisamy, G., Kanakasabapathi, D. (2014). Effect of *Alpinia calcarata* on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 13(1):33.
28. Calcutt, N.A. (2004). Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Methods in Molecular Medicine*. 99:55-65.
29. Songstad, N.T., Kaspersen, K.H., Hafstad, A.D., Basnet, P., Ytrehus, K., Acharya, G. (2015). Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. *Public Library of Science*. 10(11):e0143095.
30. Yang, S.J., Hong, H.C., Choi, H.Y., Yoo, H.J., Cho, G.J., Hwang, T.G., Baik, S.H., Choi, D.S., Kim, S.M., Choi, K.M. (2011). Effects of a three-month combined exercise programme on fibroblast growth factor 21 and fetuin-A levels and arterial stiffness in obese women. *Clinical Endocrinology (Oxford)*. 75(4):464-9.
31. Kim, H.J., Song, W. (2017). Resistance training increases fibroblast growth factor-21 and irisin levels in the skeletal muscle of Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*. 21(3):50-4.
32. Kim, K.H., Kim, S.H., Min, Y.K., Yang, H.M., Lee, J.B., Lee, M.S. (2013). Acute exercise induces FGF21 expression in mice and in healthy humans. *Public Library of Science*. (5)8:e63517.
33. Suzuki, M., Uehara, Y., Motomura-Matsuzaka, K., Oki, J., Koyama, Y., Kimura, M., Asada, M., Komi-Kuramochi, A., Oka, S., Imamura, T. (2008). betaKlotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Molecular Endocrinology*. 22(4):1006-14.
34. Ogawa, Y., Kurosu, H., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K.P., Goetz, R., Eliseenkova, A.V., Mohammadi, M., Kuro-o, M. (2007). BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104(18):7432-7.
35. Díaz-Delfín, J., Hondares, E., Iglesias, R., Giralt, M., Caelles, C., Villarroya, F. (2012). TNF-a represses -Klotho Expression and Impairs FGF21 Action in Adipose Cells Involvement of JNK1 in the FGF21 Pathway. *Endocrinology*. 153(9):4238-45.
36. Silva, C.M.S., Vieira-Junior R, C., Trombeta, J.C.R., Lima, T.R., Frag, G.A., Se, M.S. (2017). Effects of aerobic and resistance training of long duration on pro- and anti-inflammatory cytokines in rats. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*. (4):170-5.
37. Safarzade, A., Gharakhanlou, R., Hedayati, M., Talebi-Garakani, E. (2012). The effect of 4 weeks resistance training on serum vaspin, IL-6, CRP and TNF-A concentrations in diabetic rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 14(1):68-74. (Persian)