



مقایسه اثر ۸ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید (HIIT) بر بیان ژن‌های *TIMP-2* و *MMP-2* در میوکارد موش‌های صحرایی نر مدل دیابتی

ندا اکبری: دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
مقصود پیری: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران (مؤنوسنده مسؤل)، m.peeri@iautcb.ac.ir
محمد علی آذربایجانی: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
مریم دلفان: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی تداومی و تناوبی
شدید (HIIT)،
MMP-2
TIMP-2
مقاومت به انسولین

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۰۹

زمینه و هدف: تمرینات ورزشی منظم یکی از راه حل‌های موثر در پیشگیری از بروز بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماران دیابتی نوع دو است. هدف از این مطالعه مقایسه اثر ۸ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید (HIIT) بر بیان ژن‌های *TIMP-2* و *MMP-2* در میوکارد موش‌های صحرایی نر مدل دیابتی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۲۱ سر موش نر دیابتی به سه گروه ۷ تایی؛ تمرین هوازی تداومی (CT)، تناوبی شدید (HIIT) و کنترل (C) تقسیم شدند. القاء دیابت به صورت پلت با رژیم غذایی پرچرب (۳۰ درصد چربی و ۲۵ درصد فروکتوز) به مدت ۲۴ هفته انجام شد. پس از آخرین جلسه تمرین و ریکاوری بعد از آن، آزمودنی‌ها قربانی و بطن چپ آن‌ها استخراج شد. جهت سنجش گلوکز پلاسما از روش گلوکز اکسیداز، برای اندازه گیری مقادیر انسولین از روش الایزا، و برای سنجش شاخص مقاومت به انسولین از روش HOMA-IR استفاده شد. همچنین جهت تعیین بیان ژن‌های *TIMP-2* و *MMP-2* از روش Real time-PCR و مقایسه گروه‌ها توسط آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی Tuckey برای تعیین اختلاف بین گروهی در سطح آلفای ۵٪ استفاده شد.

یافته‌ها: بیان ژن *MMP-2* در گروه HIIT نسبت به دو گروه تمرین CT ($P=0/01$) و کنترل ($P=0/001$) کاهش معناداری را نشان داد. مقدار ژن *TIMP-2* نیز در هر دو گروه تمرین CT ($P=0/03$) و HIIT ($P=0/001$) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری را نشان داد. وزن در گروه‌ها نسبت به گروه کنترل هیچ تغییر معناداری را نشان نداد. گلوکز و انسولین در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل معناداری را نشان داد و HIIT نسبت به گروه تمرین تداومی در این دو فاکتور تفاوت معناداری را نشان نداد.

نتیجه گیری: بر اساس یافته‌های بدست آمده می‌توان چنین نتیجه گیری کرد ۸ هفته تمرین HIIT با تاثیر بالاتر بر کاهش بیان ژن *MMP-2* و افزایش مقدار ژن *TIMP-2* در میوکارد موش‌های صحرایی دیابتی بد تنظیمی ژنی را تعدیل کرده و احتمالا می‌تواند کاردیومیوپاتی دیابتی را بهبود بخشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Akbari N, Peeri M, Azarbayjani MA, Delfan M. Comparison of the effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval training on the gene expression of *TIMP-2* and *MMP-2* in male diabetic rats. *Razi J Med Sci.* 2019;26(10):107-116.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.

Original Article

Comparison of the effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval training on the gene expression of TIMP-2 and MMP-2 in male diabetic rats

Neda Akbari, PhD of Exercise physiology, Department of Exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Maghsoud Peeri, Professor Exercise physiology, Department of Exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (*Corresponding author). m.peeri@iautcb.ac.ir

Mohammad Ali Azarbayjani, Professor Exercise physiology, Department of Exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Maryam Delfan, Assistant professor exercise physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra university, Tehran, Iran

Abstract

Background: Regular aerobic exercise training is one of the most effective methods for the prevention of cardiovascular disease in the patients with type 2 diabetes. The purpose of this study was to compare the effects of continuous and High intensity Interval training (HIIT) on the gene expression of TIMP-2 and MMP-2 genes in diabetic rats.

Methods: This is an experimental study. For this purpose, 21 male diabetic rats were divided into 3 groups of 7; Continuous Aerobic Exercise (CT), High intensity Interval training (HIIT) and Control (C). Diabetes was induced in a pellet with a high-fat diet (30% fat and 25% fructose) for 16 weeks. After the last exercise and recovery session, the subjects were sacrificed and their left ventricle was extracted. Glucose oxidase was used to measure glucose in plasma using ELISA method to measure insulin levels and HOMA-IR method was used to measure insulin resistance index. PCR-Real time was used to determine the expression of TIMP-2 and MMP-2 genes and comparison of the groups by one-way ANOVA and LSD post hoc test to determine the difference between groups at alpha level of 5%.

Results: The results showed that gene expression of MMP-2 in both groups of CT ($p=0.01$) and HIIT ($p=0.001$) showed a significant decrease compared to the control group. The TIMP-2 gene expression in both CT ($p=0.03$) and HIIT ($p=0.001$) groups was significantly higher than the control group. Weight in the groups did not show any significant changes compared to the control group. Glucose and insulin in the training groups showed a significant difference compared to the control group, and the HIIT did not show a significant difference between the two groups in terms of continuation training group.

Conclusion: It can be concluded 8 weeks of HIIT training with a greater effect on reducing the expression of MMP-2 gene and modifying the expression of TIMP-2 gene in myocardium in a poorly regulated diabetic rats and possibly reducing the risk of diabetic cardiomyopathy.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Keywords

Continuous training,
High intensity Interval
training (HIIT),
MMP-2,
TIMP-2,
Insulin resistance

Received: 13/07/2019

Accepted: 30/11/2019

Cite this article as:

Akbari N, Peeri M, Azarbayjani MA, Delfan M. Comparison of the effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval training on the gene expression of TIMP-2 and MMP-2 in male diabetic rats. Razi J Med Sci. 2019;26(10):107-116.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.



به TIMP-2 افزایش می‌یابد که نشان دهنده فیبروز در بافت قلب است (۱۱). نتایج پژوهشی نشان داد تمرین منظم هوازی به وسیله جذب بالاتر اکسیژن استقامت قلبی بالاتری ایجاد می‌کند (۱۲). گزارش شده است در پاسخ به تمرین هوازی تداومی تولید و رهایش نیتریک اکساید (NO) افزایش می‌یابد و باعث کاهش MMP-2 به نفع TIMP-2 می‌شود (۸). تمرین تناوبی شدید (HIIT) که شامل فعالیتهای کوتاه مدت تکراری با حجم کاری بیشینه، فوق بیشینه و یا استراحت فعال با شدت پایین است هنگام اجرای آن هایپوکسی دوره ای ایجاد می‌شود و پس از آن خون و اکسیژن رسانی افزایش می‌یابد (۱۳). بعد از اجرا به دلیل بهبود در خون رسانی حجم پایان دیاستولی بیشتر و بهتری می‌شود (۱۴). در این خصوص گزارش شده است، تمرین از هر نوع باعث مصرف گلوکز می‌شود هر چند تأثیر تمرینات تناوبی پر شدت بیشتر است اما هر دو تمرین تناوبی کم شدت و شدید، با افزایش آنزیم‌های میتوکندریایی ساختار و عملکرد قلب را بهبود می‌بخشند (۱۵). در مورد اثر تمرین برفاکتورهای مختلف فیبروز قلبی پژوهش‌های ضد و نقیضی وجود دارد (۱۶)، (۱۷). در مطالعه ای که توسط کواک و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد نتایج نشان داد ۱۲ هفته تمرین استقامتی موجب کاهش فیبروز به دلیل کاهش ماتریکس های متالوپروتئیناز از طریق فعال سازی AMPK گردید (۱۶). در حالی که در مطالعه لیت و همکاران ۱۲ هفته تمرین مقاومتی موجب افزایش MMP-2 شد (۱۷). اما شون و همکاران (۲۰۱۱) و پوسا و همکاران در مطالعه خود نشان دادند ۸ هفته تمرین هوازی باعث کاهش مقادیر MMP-2 شد (۱۸، ۱۹). با این حال اثر تمرینات ورزشی تناوبی هنوز در مورد بیماران دیابتی محدود و مقایسه اثر شیوه های تمرینی سنتی و تناوبی در طراحی برنامه‌های تمرین برای بیماران دیابتی نوع ۲ که در خطر ابتلا به کاردیومیوپاتی هستند می‌تواند ضروری باشد. با این حال ارتباط بین تأثیر روش های مختلف تمرینات ورزشی و فیبروز عضله قلب در دیابت نوع ۲ هنوز به

کاردیومیوپاتی دیابتی مستقل از پرفشارخونی یا بیماری‌های عروقی کرونر از طریق چندین فرآیند، به وسیله طیف وسیعی از تغییرات سیستمیک در مدل‌های بالینی و حیوانی حادث می‌شود (۱). از جمله عوامل ایجاد کننده اختلال قلبی تشکیل محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته است (AGE) Advance Glication end products (۲). پاتوژنز از این نوع پیچیده و چند فاکتوری بوده و در نهایت منجر به کاهش ظرفیت قلبی به دلیل اختلال در عمل سیستول و دیاستول می‌گردد (۳) و به دنبال آن حساسیت به آسیب ایسکمی افزایش می‌یابد (۴). محدودیت در خون‌رسانی و مختل شدن پمپاژ قلب در ابتدا نکرور ایجاد می‌کند اما به سرعت بهبود می‌یابد سپس ضایعاتی شبیه به کیست به نام فیبروز در سلول‌های بینابینی میوسیت نمایان می‌شود (۵). مقادیر افزایش یافته گلوکز باعث جهش ژنی بالا در غشاء فیبریلی بافت قلب می‌شود (۶). از این رو متالو پروتئینازها به عنوان خانواده آندروژنز از آنزیم‌های پرتئولیتیک در بازگرداندن ماتریکس خارج سلول و تغییر ساختار قلب نقش مهمی ایفا می‌کنند (۷). از میان متالوپروتئینازها (MMP-2) Metolo proteinase 2 مهم‌تر است که به ژلاتیناز A معروف می‌باشد و با محرک‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیکی مختلف دچار بیش تنظیمی شده باعث فعال سازی مولکول‌های سیگنالینگ حرکت، هضم غشاء پایه، تمایز و تولید مجدد میوفیبریل‌ها، فنوتیپ سلولی را تغییر می‌دهد (۸). براساس نتایج مطالعات مختلف افزایش سطوح پلاسمایی MMP-2 در بیماران دیابت نوع ۲ و آترواسکروز مشاهده شده است (۸، ۹). بازدارنده بافتی متالو پروتئیناز (TIMP) از خانواده میکروگلوبولین ۲ α از اصلی‌ترین مهار کنندگان MMPS به شمار می‌رود (۱۰). به طوری که عنوان شده تنظیم و تعادل سطوح (TIMP-2) Tissue inhibitors of metoloproteinase 2 موجب کاهش بیان ژن MMP-2 می‌شود (۱۱). شواهد نشان می‌دهد در افراد دیابتی به دلیل هایپرگلیسمی نسبت MMP-2

خوبی بررسی نشده است، همچنین مطالعاتی که به بررسی مدت و شدت تمرین و نیز آثار تنظیمی آن بر ساختار و عملکرد قلب دیابتی بپردازد محدود و پراکنده اند. از آنجائی که در تاثیر تمرین بر نسبت TIMP-2 به MMP-2 عوامل مختلفی از جمله نوع تمرین، شدت و مدت آن، نیز حجم عضلات درگیر دخالت دارند (۲۰)، لذا مطالعه حاضر در خصوص مقایسه اثر تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید طی دوره ۸ هفته ای بر نسبت TIMP-2 به MMP-2 در موش های نر مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی - بنیادی می باشد. جهت انجام پژوهش ۲۴ سر موش صحرایی نر سن ۵ تا ۶ هفته، وزن ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم از مؤسسه تحقیقات رازی تهیه و به آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی ایران انتقال داده شدند و نگهداری آنها در دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۰ درصد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲، در قفس های مخصوص با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد حیوانات به صورت پلت بود. تمام مراحل با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (برابر پروتکل هلیسنکی ۲۰۰۶) مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با اخذ کد اخلاق (IR.SBMU.RETECH.REC.) تصویب و انجام شد.

نحوه القاء دیابت: موش ها به مدت ۲۴ هفته (۷ ماه) با غذای پر چرب و حاوی فروکتوز تغذیه شدند. قبل از این مدت با پلت استاندارد تغذیه می شدند و در طول دوره تمرین نیز با رژیم غذایی پر چرب تغذیه می شدند. تهیه غذا در انستیتوی رازی برای ساخت ۱۰۰ کیلوگرم پلت پرچرب بدین صورت بود: ۴۵ کیلوگرم پودر پلت استاندارد، ۳۰ کیلوگرم چربی حیوانی حاصل از آب کردن دنبه گاو و ۲۵ کیلوگرم فروکتوز که به شکل پلت استاندارد قالب زده شد. به منظور تایید القای دیابت نوع ۲، میزان قند خون ناشتا با گلوکومتر 01-mini ARKRAY (ساخت کشور ژاپن) و با نمونه گیری خون از دم موش ها اندازه گیری شد و سطوح گلوکز بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان مشخصه القای دیابت نوع ۲ در نظر گرفته

شد (۱۵). پس از تایید القای دیابت، موش ها هیچگونه درمان با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند و در انتهای پژوهش سه سر موش تلف شدند.

برنامه تمرین: پس از القاء دیابت به شیوه ذکر شده، موش ها به شکل تصادفی به ۳ گروه ۷ تایی: ۱- تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، ۲- تمرین هوازی تداومی (CT) و ۳- کنترل (C) تقسیم بندی شدند. سپس آزمودنی ها یک هفته به مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۶ تا ۱۰ متر بر دقیقه با تردمیل ویژه جوندگان آشنا شدند. برای ارزیابی توان هوازی محاسبه سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حد اکثر اکسیژن مصرفی و محاسبه تعیین شدت تمرین با استفاده از آزمون فزاینده لئوناردو و همکاران (۲۰۰۷) بدین صورت انجام شد: پس از ۳ دقیقه گرم با سرعت ۵ متر بر دقیقه توسط تغییر در سرعت نوار گردان با شیب صفر درجه در هر دو دقیقه یکبار و به مقدار ۴ متر بر دقیقه افزایش یافت. بر این اساس تعیین حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که موش ها حد اقل ۱ تا ۳ دقیقه نتوانند با سرعت ثابت بدوند پس از آن با بالا بردن سرعت قادر به دویدن نباشند (۲۱). بعد از یک هفته آشنا سازی هر دو گروه تمرین به مدت ۸ هفته برنامه تمرین خود را اجرا کردند. در این مطالعه قبل از اجرای برنامه تمرینی، پروتکل های تمرینی تناوبی شدید و هوازی تداومی از لحاظ بارحجمی تمرینی یکسان سازی شدند که برای این همسان سازی به مولفه های زمان تمرین و شدت تمرین در دو گروه توجه شد و نهایتا با محاسبات عددی، حجم تمرین همسان سازی شد پروتکل (HIIT) شامل ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه (۵ متر بر دقیقه) و تناوب تمرین با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه (۱۲ متر بر دقیقه) در هفته اول، ۹۰ درصد سرعت بیشینه (۱۶ متر بر دقیقه) از هفته دوم تا پایان هفته هشتم اجرا شد. لازم به ذکر است با توجه به سازگاری ایجاد شده حد اکثر سرعت بیشینه به ۲۸ متر بر دقیقه رسید. تناوب با شدت پائین ۳۰ درصد سرعت بیشینه (۱۰ متر بر دقیقه)، تعداد تناوب با شدت بالا در هفته اول با ۲ تکرار و در هفته های دوم و سوم با ۳ تکرار و از هفته چهارم تا هفته هشتم ۴ تکرار بود. زمان تناوب با هر دو شدت بالا و پائین ۲ دقیقه بود (جدول ۲). برنامه تمرین

جدول ۱- توالی پرایمری ژن‌های مورد مطالعه حاضر

Gene	Primer F	Primer R
<i>MMP-2</i>	AAGGACAAGTGGTCCGAGTAAAG	AGCCATATTTGCCGTCCTTCTC
<i>TIMP-2</i>	GCAAGATGCACATTACCCTCTG	CAGCGTGTGATCTTGCACTC

و برای سنجش بیان ژن در فریزر ۸۰- نگه داری شد. جهت سنجش بیان ژن *TIMP-2* و *MMP-2* از روش Realtime-PCR با Premix Extaqit و از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید و اندازه گیری مقدار بیان این ژن به صورت توأمان با هر یک از ژن‌ها به وسیله کیت 50 Mir nasy mini kit (qiagen) ساخت آلمان) و طبق دستورالعمل انجام شد. برای استخراج RNA میزان ۵۰ میلی گرم بافت منجمد قلب موش هموژن کرده و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت محلول RNA از آن استخراج شد، و با آنزیم DNaseI از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب کننده RNA پاکسازی شد. از هرکدام از نمونه‌ها ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA استفاده شد. مقدار نسبی بیان ژنی ژن‌های مورد مطالعه در قلب با کمک پرایمرهای اختصاصی آن‌ها اندازه گیری شد. نسبت جذبی ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانوگرمی برای تمام نمونه‌های استخراج شده ۱/۸ تا ۲ بود. جهت بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز و ژل آگاروز ۱ درصد استفاده شد. قبل از سنجش cDNA برای اطمینان از نبود DNA در نمونه استخراج شده DNAs treatment (thermos scientific) ساخت آلمان) انجام شد. سنتز cDNA با کیت transe criptor (roch) first strand cDNAsynthesis kit ساخت

هوازی تداومی عبارت بود از ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با ۳۰ درصد سرعت بیشینه، ۶ دقیقه دوییدن با ۶۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول (۹ متر بر دقیقه) که به ۲۱ دقیقه دوییدن با شدت ۶۰ درصد سرعت بیشینه در پایان هفته هشتم رسید. شایان ذکر است سرعت در هفته آخر ۱۵ متر بر دقیقه بود. در مجموع زمان کل تمرین هوازی تداومی در دو هفته آخر ۳۰ دقیقه بود (جدول ۲) (۲۰). در روز ششم هر دو هفته یک بار سرعت بیشینه موش‌ها اندازه گیری و شدت تمرین بر اساس آن تعیین گردید (۲۰، ۲۱). در این مدت جهت ایجاد شرایط کاملاً یکسان، گروه کنترل نیز ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه بر روی نوار گردان بی حرکت قرار می گرفتند. در همه دوره‌های تمرین موش‌ها همچنان تغذیه پر چرب را دریافت می نمودند.

سنجش متغیرهای پژوهش: بعد از آخرین جلسه تمرینی و ریکآوری پس از آن، موش‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۹۰ mg/kg) بی‌هوش شدند. نمونه خونی به طور مستقیم از قلب موش‌ها جمع‌آوری و جداسازی پلاسما با سانتریفیوژ کردن در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام شد. سپس بافت بطن چپ بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۲۰- منجمد

جدول ۲- برنامه تمرین گروه HIIT و تداومی (CT) را طی دوره ۸ هفته‌ای

HIIT								هفته‌های تمرین
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	
۳	۳	۳	۴	۳	۳	۴	۳	تعداد شدت تناوب در هر جلسه
۱۲	۱۶	۱۸	۱۸	۲۱	۲۳/۵	۲۳/۵	۲۶	تناوب با شدت بالا (m/min)
۵	۶	۶	۶	۸	۸	۸	۱۰	تناوب با شدت پائین (m/min)
۱۵	۱۸	۲۰	۲۰	۲۳	۲۶	۲۶	۲۹	سرعت بیشینه در زمان رسیدن به VO2max (ml/min)
CT								زمان تمرین (min)
۶	۸	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۱	
۹	۱۰	۱۲	۱۲	۱۴	۱۴	۱۴	۱۵	سرعت (m/min)

برنامه تمرین هوازی تداومی عبارت بود از ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با ۳۰ درصد سرعت بیشینه، ۶ دقیقه دوییدن با ۶۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول (۹ متر بر دقیقه) که به ۲۱ دقیقه دوییدن با شدت ۶۰ درصد سرعت بیشینه در پایان هفته هشتم رسید. شایان ذکر است سرعت در هفته آخر ۱۵ متر بر دقیقه بود. در مجموع زمان کل تمرین هوازی تداومی در دو هفته آخر به انضمام گرم کردن و سرد کردن ۳۰ دقیقه بود.

استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ محاسبه شد.

یافته‌ها

تغییرات وزن، گلوکز و مقادیر انسولین در جدول ۳ نشان داده شده است. تغییرات مقدار وزن بعد از گذشت هشت هفته تمرین به لحاظ آماری معنادار نشد. اما تغییرات مقادیر گلوکز و انسولین در هردو گروه تمرین تداومی هوازی و تمرین HIIT نسبت به گروه کنترل معنا دار بود.

تغییرات بیان ژنی MMP-2 در گروه تمرین HIIT کاهش معناداری را نسبت به دو گروه CT و کنترل به ترتیب ($p=0/01$) و ($p=0/001$) نشان داد. مقادیر بیان ژنی TIMP-2 نیز در هر دو گروه تمرین CT ($p=0/03$) و HIIT ($p=0/001$) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری را نشان داد. بر این اساس می توان اظهار داشت هر دو نوع تمرین و به خصوص تمرین HIIT تاثیر بالاتری در تنظیم بیان ژن در عضله بطن چپ موش های مبتلا به دیابت دارد. جدول ۴ اندازه اثر تمرین HIIT را بر افزایش بیان ژن TIMP-2 ($0/644$) نشان می دهد.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر به مقایسه اثر ۸ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید به نسبت TIMP-2 به MMP-2 در بافت قلب موش های نر مبتلا به دیابت نوع ۲

آلمان) طبق دستورالعمل کیت ها انجام شد. برنامه Real time PCR به وسیله دستگاه Rotrogene 6000, SYBER Green (ampligon, ساخت دانمارک) با دور ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و بلافاصله ۴۰ چرخه با ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه با پرایمر طراحی شده (ساخت نیکا زیست ژن ایران) انجام شد. سنجش گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس آزمون) و اندازه گیری مقادیر انسولین از روش الایزا (Crystal chem ساخت کانادا) با ضریب تغییر ۰/۰۵ و حساسیت ۱ ml/dl بررسی گردید. شاخص مقاومت به انسولین به روش HOMA-IR با فرمول زیر اندازه گیری شد (۱۹):

$$\times \text{ناشتا } [\mu\text{U/mL}] = (\text{انسولین ناشتا}) \text{ HOMA-IR} \\ /22.5 \text{ [mmol/L گلوکز]}$$

تجزیه و تحلیل آماری: کمی سازی بیان ژن های مورد نظر توسط فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ و مقادیر change Fold محاسبه شد. نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون شاپیرووویلک مشخص شد. تعیین اختلاف درون گروهی توسط آزمون (ANOVA One way) و از آزمون تعقیبی Tuckey برای تعیین اختلاف بین گروهی استفاده شد. همه تحلیل ها با نرم افزار Graph pad prism نسخه ۸ در سطح معنی داری $P \leq 0/05$ و حجم نمونه با در نظر گرفتن $\alpha = 0/05$ و $\beta = 0/1$

جدول ۳- تغییرات وزن، مقادیر گلوکز و انسولین را به تفکیک گروه‌ها

متغیر	HIIT	گروه استقامتی	گروه بی تمرین
وزن (گرم)	۳۷۳±۲۵	۳۸۴±۳۴	۳۵۱±۳۵
گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	۷۴±۱۴۵*	۱۹۹±۴۰*	۳۰۵±۲۵
انسولین	۸۰/۰±۴۲/۴*	۶۶/۰±۲۱/۵*	۵۶/۰±۲۸/۸

اعداد به شکل میانگین± انحراف استاندارد بیان شده اند.

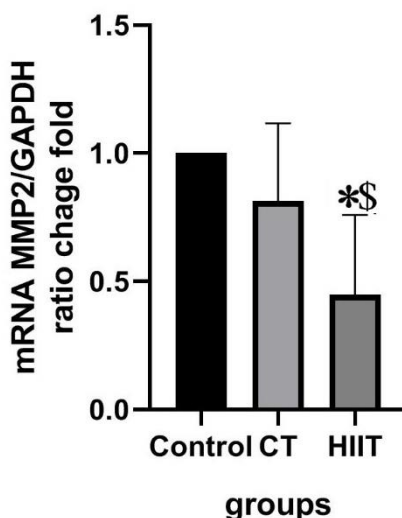
* نشانه معناداری نسبت به گروه بی تمرین.

¥ نشانه معناداری نسبت به گروه استقامتی.

جدول ۴- اندازه اثر تمرین HIIT در افزایش بیان ژن TIMP-2

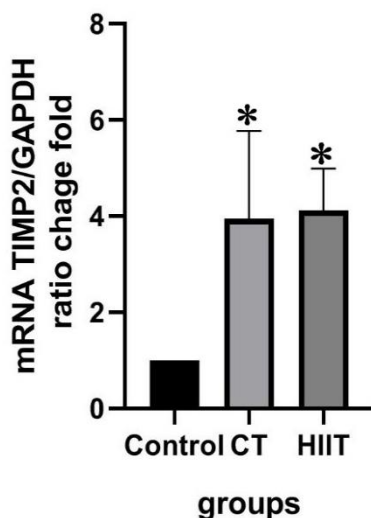
ضریب اتا	سطح معناداری	درجه آزادی	میانگین مربعات	دامنه تغییرات	مجموع مربعات
۰/۶۴۴	۰/۰۰۱	۱۳/۵۶۸	۱۸/۴۵۷	۲	۳۶/۹۱۴
			۱/۳۶۰	۱۵	۲۰/۴۰۵

One-way ANOVA data



شکل ۱- نسبت بیان ژن *MMP-2* به *GAPDH* را به تفکیک در سه گروه نشان می دهد. (* نشان تفاوت معنادار با گروه کنترل و (\$) نشانه تفاوت معنا دار با گروه CT در سطح معناداری (۰/۰۵) است.

One-way ANOVA data



شکل ۲- نسبت بیان ژن *TIMP-2* به *GAPDH* را به تفکیک در سه گروه نشان می دهد.

با شدت متوسط و تناوبی شدید، بیشتر کاهش وزن را در حیوان نتیجه می دهد و کمتر موجب هایپرتروفی عضلانی و افزایش وزن ناشی از آن می شود. از نگاه دیگر شاید بتوان عدم کاهش وزن معنادار دو گروه تمرینی را مصرف آزادانه غذا در زمان تمرین دانست. درخصوص عوارض قند خون بالا عنوان شده، بیماران مبتلا به دیابت به دلیل واکنش های گلیکوزیله، دریافت همبند شبکه میوسیت های بینابینی عضله قلب سنتز پروتئین

پرداخت. بر طبق یافته های به دست آمده در نسبت ژن *TIMP-2* به *MMP-2* در گروه تمرین HIIT افزایش بیشتری نسبت به تمرین هوازی تداومی مشاهده شد. همچنین مقادیر انسولین و گلوکز خون در هر دو گروه تمرین کاهش یافتند. مقدار وزن در هر دو گروه تمرین ثابت باقی ماند. شاید بتوان عدم تغییر در وزن گروه های تمرینی نسبت به گروه کنترل را به نوع برنامه تمرینی نسبت داد. چرا که ماهیت خاص دو نوع تمرین تداومی

در مقابل تجزیه بیشتر می‌شود و ماتریکس خارج غشاء سلول کاهش می‌یابد که در نهایت تغییرات ساختاری در سطح سلول باعث القای آریتمی و نارسایی در فعالیت انقباضی قلب می‌شود (۵). در این مسیر نقصان در کارکرد سیستم قلب مشاهده می‌شود و دلیل آن آبشارهای پیام رسان گلیکاسیونی در افزایش سطوح فاکتورهای میتوژن فعال شده توسط پروتئین کیناز (MAPK)، پروتئین کیناز C (PKC)، فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز ۳ (PI3K) عنوان شده است. سپس وازودیلاتاسیون کاهش می‌یابد زیرا افزایش سنتز ATP نسبت به مصرف آن موجب افزایش MMP-2 در غشاء سلول می‌شود بر این اساس در دیابت ساختار و عملکرد قلب مختل می‌گردد (۳، ۸). امروزه به انجام برنامه‌های مختلف تمرین منظم به عنوان شیوه‌ای موثر در بهبود نارسایی‌های مختلف قلب با علل گوناگون توجه می‌شود (۱۲). در این خصوص عنوان شده تمرین باعث فعال‌سازی گیرنده‌های در دسترس و افزایش بیان ژن پروتئین‌های حامل گلوکز در عضلات فعال می‌گردد (۱۱، ۱۳). مکانیسم اثر تمرین با رها سازی کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی و پیوند آن با کالمودولین (CAMC-II) است که موجب حرکت ناقل گلوکز (GLUT-4) به سطح غشاء سلول در عضله فعال می‌شود (۱۱-۱۳، ۲۰). از دلایل آن بحران انرژی در تمرین به دلیل راه اندازی بالاتر مقدار (CAMP) در مقابل ATP است که با کاهش سنتز پروتئین در سطح غشاء سلول‌های بینابینی فیبروز و سختی بافت قلب را کاهش می‌دهد (۱۳). از راه دیگر عنوان شده تمرین هوازی تداومی با هر دو شدت متوسط و بالا با جذب بالاتر اکسیژن و ترشح مواد متسع کننده عروقی متابولیسم را تعدیل کرده از این رو استقامت قلبی بالاتری ایجاد می‌کند (۷، ۱۲). سطح مقطع عرضی ماکرومولکول‌های سلول‌های فیبروزی در بطن چپ با تمرین استقامتی در شدت متوسط و بالا کاهش می‌یابد (۱۳). از طرفی خون رسانی بالاتر پس از اینگونه تمرینات افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را به همراه دارد (۱۳). فسفریلاسیون پروتئین‌ها در انقباض عضلانی ناشی از تمرین موجب می‌شود خون و اکسیژن بیشتری به میوسیت برسد و از ساختار قلب در برابر آسیب‌های اکسایشی محافظت شود (۱۳). نتایج به

دست آمده از مطالعه-ای نشان داد ۱۰ هفته تمرین هوازی تداومی بر روی موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ با افزایش فعالیت میکرو RNA شماره ۱۳۳ (mir-133) در خارج سلول و فعال سازی راپامایسین (Rapamycin) اوتوفاژی را در مسیر لیپوژنز کبد مهار کرده و با تنظیم آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALP) در راه اندازی متابولیسم چربی، کلسترول و گلوکز خون را کاهش می‌دهد (۲۲). اثر تمرین تناوبی شدید در مقایسه با تمرین تداومی هوازی به دلیل بازی با شدت در وهله‌های کوتاه مدت تکراری است که در مصرف گلوکز نوسان ایجاد می‌کند و با کاهش بد تنظیمی در بیان ژن، فیبروز را در بافت قلب کاهش می‌دهد به این دلیل در بهبود عوارض بالینی در قلب افراد مبتلا به دیابت مفید است (۱۵). سیلوا و همکاران در مطالعه خود بر روی موش‌های دیابتی شده به این نتیجه رسیدند ۴ هفته تمرین هوازی تداومی MMP-2 را کاهش می‌دهد (۲۳) که با یافته‌های پژوهش حاضر همسو است. در پژوهشی که توسط شون و همکاران بر روی موش‌هایی که تحت رژیم غذایی پر چرب قرار گرفته بودند انجام شد آنها دریافتند ۱۰ هفته تمرین هوازی تداومی با شدت کم و متوسط مقدار MMP-2 را در هردو گروه شبیه به هم کاهش داد (۱۶). در حالیکه در مطالعه لیت و همکاران، بر روی موش‌هایی که تحت رژیم غذایی پرچرب به مدت ۲۴ هفته قرار داشتند به همراه ۱۲ هفته تمرین مقاومتی مقدار MMP-2 افزایش یافت (۱۵). که با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو می‌باشد. کادوگلو و همکاران اظهار داشتند یک دوره ۶ هفته‌ای تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط بر موش‌های مبتلا به دیابت با تغذیه پرچرب MMP-2 را کاهش داد در حالیکه TIMP-2 افزایش معنی داری داشت (۱۸). اولاه و همکاران عنوان کردند یک وهله فعالیت شنا با تحمل وزنه‌ای به مقدار ۵ درصد از وزن بدن موش‌ها تفاوت معنی داری در سطح MMP-2 ایجاد نمی‌کند، در حالیکه بیان TIMP-2 کاهش یافت (۲۶). که این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر همسو است. علت تناقض در نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات در رابطه با تاثیر تمرین بر کاردیومیوپاتی دیابتی می‌تواند به تفاوت در شیوه‌های مختلف تمرینی (شدت و

7. Signorelli SS, Malaponte G, Libra M, Pino LD, Celotta G, Bevelacqua V, et al. Plasma levels and zymographic activities of matrix metalloproteinases 2 and 9 in type II diabetics with peripheral arterial disease. *Vasc Med*. 2005;10(1):1-6.

8. Sullivan BE, Carroll CC, Jemiolo B, Trappe SW, Magnusson SP, Døssing S, et al. Effect of acute resistance exercise and sex on human patellar tendon structural and regulatory mRNA expression. *J Appl Physiol*. 2009;106(2):468-75.

9. Daoud S, Schinzel R, Neumann A, Loske C, Fraccarollo D, Diez C, et al. Advanced glycation endproducts: activators of cardiac remodeling in primary fibroblasts from adult rat hearts. *Mol Med*. 2001;7(8):543.

10. Van Linthout S, Seeland U, Riad A, Eckhardt O, Hohl M, Dhayat N, et al. Reduced MMP-2 activity contributes to cardiac fibrosis in experimental diabetic cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol*. 2008;103(4):319-27.

11. Schram K, De Girolamo S, Madani S, Munoz D, Thong F, Sweeney G. Leptin regulates MMP-2, TIMP-1 and collagen synthesis via p38 MAPK in HL-1 murine cardiomyocytes. *Cell Mol Biol Lett*. 2010;15(4):551.

12. Santos MMH, Higuchi MdL, Tucci PJ, Garavelo SM, Reis MM, Antonio EL, et al. Previous exercise training increases levels of PPAR- α in long-term post-myocardial infarction in rats, which is correlated with better inflammatory response. *Clinics*. 2016;71(3):163-8.

13. Holloway TM, Bloemberg D, da Silva ML, Simpson JA, Quadriatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. *PloS One*. 2015;10(3):e0121138.

14. Young WB, Behm DG. Should static stretching be used during a warm-up for strength and power activities? *Strength Condition J*. 2002;24(6):33-7.

15. 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. *Arch Pphysiol Biochem*. 2018;1-8.

16. Kwak HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *FASEB J*. 2011;25(3):1106-17.

17. Leite RD, Durigan RdCM, de Souza Lino AD, de Souza Campos MV, das Graças Souza M, Selistred-Araújo HS, et al. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. *Metabolism*. 2013;62(10):1477-84.

مدت) و سایر عوامل چون سلامت آزمودنی ها , مقدار عضلات درگیر در فعالیت و مصرف تغذیه اشاره کرد. همچنین عوامل متعددی در بروز و پیشگیری از کاردیومیوپاتی دیابتی موثرند و احتمالاً تمرین تناوبی شدید با راه اندازی بالاتر متابولیسم انرژی در بهبود فیبروز می تواند از شاخص‌های موثر در پیشگیری از پیشرفت اختلال قلب ناشی از دیابت باشد. با این حال هنوز به مطالعات بیشتری نیاز است تا هر یک از این عوامل اثبات شود. از محدودیت های مطالعه حاضر می توان به عدم دسترسی به نمونه های انسانی نام برد. از دیگر محدودیت های پژوهش حاضر عدم استفاده از روش وسترن بلات برای اطمینان از سنتز پروتئین ژن های مورد مطالعه بود که علت عدم بررسی کمبود بودجه پژوهش بوده است.

به طورکل نتایج به دست آمده حاکی از آن است که تمرین HIIT تاثیر بیشتری نسبت به تمرین هوازی تداومی در کاهش فیبروز قلب دیابتی دارد. با این حال جهت ارائه نتایج قطعی تر در این زمینه نیازمند مطالعات گسترده تری می باشد.

References

1. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 1999;100(10):1134-46.
2. Zhao YT, Wang H, Zhang S, Du J, Zhuang S, Zhao TC. Irisin ameliorates hypoxia/reoxygenation-induced injury through modulation of histone deacetylase 4. *PloS One*. 2016;11(11):e0166182.
3. Fang ZY, Prins JB, Marwick TH. Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications. *Endocrine Rev*. 2004;25(4):543-67.
4. Kavanagh T, Mertens DJ, Hamm LF, Beyene J, Kennedy J, Corey P, et al. Prediction of long-term prognosis in 12 169 men referred for cardiac rehabilitation. *Circulation*. 2002;106(6):666-71.
5. Sirish P, Li N, Liu JY, Lee KSS, Hwang SH, Qiu H, et al. Unique mechanistic insights into the beneficial effects of soluble epoxide hydrolase inhibitors in the prevention of cardiac fibrosis. *Proceed National Acad Sci*. 2013;110(14):5618-23.
6. Lu K, Shen Y, He J, Liu G, Song W. Berberine inhibits cardiac fibrosis of diabetic rats. *Chin J Cell Mol Immunol*. 2016;32(10):1352-5.

18. Shon SM, Park JH, Nahrendorf M, Schellingerhout D, Kim JY, Kang BT, et al. Exercise attenuates matrix metalloproteinase activity in preexisting atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis*. 2011;216(1):67-73.
19. Pósa A, Szabó R, Kupai K, Baráth Z, Szalai Z, Csonka A, et al. Cardioprotective effects of voluntary exercise in a rat model: role of matrix metalloproteinase-2. *Oxid Med Cell Long*. 2015;2015.
20. Kadoglou N, Vrabas I, Sailer N, Kapelouzou A, Fotiadis G, Noussios G, et al. Exercise ameliorates serum MMP-9 and TIMP-2 levels in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metabol*. 2010;36(2):144-51.
21. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Condition Res*. 2007;21(3):751.
22. Ghareghani P, Shanaki M, Ahmadi S, Khoshdel AR, Rezvan N, Meshkani R, et al. Aerobic endurance training improves nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) features via miR-33 dependent autophagy induction in high fat diet fed mice. *Obes Res Clin Pract*. 2018;12(1):80-9.
23. Silva FS, Bortolin RH, Araújo DN, Marques DE, Lima JPM, Rezende AA, et al. Exercise training ameliorates matrix metalloproteinases 2 and 9 messenger RNA expression and mitigates adverse left ventricular remodeling in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Pathol*. 2017;29:37-44.