



تأثیر تمرین تناوبی شدید و عصاره آویشن بیان ژن P53 بافت کبد و مقاومت به انسولین موش‌های دیابتی نوع دو

نادر عفراوی: دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران
حسین عابد نطنزی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (* نویسنده مسئول)
abednazari@gmail.com
معصومه هلالی زاده: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران
ماندانا غلامی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین تناوبی،
دیابت نوع دو،
آویشن،
آپوپتوز،
ژن P53

زمینه و هدف: دیابت نوع دو شایع‌ترین بیماری درون‌ریز است که به دلیل عدم تحمل گلوکز و در اثر برهم‌خوردن تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین رخ می‌دهد. پژوهش‌های اخیر نقش حیاتی P53 را در توسعه دیابت نشان می‌دهد. هدف پژوهش حاضر مطالعه تغییرات بیان ژن P53 بافت کبد و شاخص مقاومت به انسولین پس از انجام تمرین تناوبی و مصرف عصاره آویشن شیرازی در موش‌های چاق دیابتی نوع دو بود.

روش کار: جامعه آماری پژوهش حاضر را ۳۶ موش‌های صحرایی نر تشکیل دادند. جامعه آماری پس از ۲۰ هفته تغذیه با رژیم پرچرب و با تزریق درون صفاقی ۲۵ STZ میلی‌گرم/کیلوگرم دیابتی شدند. گلوکز ناشتای بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی گرم/دسی لیتر ملاک دیابتی نوع دو بود. موش‌های دیابتی در ۴ گروه مجزا قرار گرفتند. پروتکل تمرینی به صورت هشت هفته تمرین تناوبی، پنج جلسه در هفته با تناوب شدید ۲ دقیقه‌ای با ۲ تا ۸ تناوب و با ۸۰ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و تناوب استراحت یک دقیقه‌ای با ۵۰ تا ۵۶ درصد VO_{2max} اجرا شد. عصاره آویشن بصورت گاواژ به میزان ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم برای ۵ روز در هفته داده شد.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوعاملی نشان داد در مقایسه با گروه کنترل، تمرین تناوبی شدید به کاهش معنی‌دار گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. تمرین تناوبی به کاهش بیان ژن P53 در سلول‌های کبدی در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($P < 0/009$). تمرین تناوبی و مصرف عصاره آویشن همچنین به کاهش غیر معنی‌دار بیان ژن P53 در سلول‌های کبدی در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید (High-intensity interval training-HIIT) و مصرف عصاره آویشن می‌تواند به کاهش عوامل آپوپتوز کبد و بهبود وضعیت کبد در موش صحرایی کمک کند. در نتیجه محققان می‌توانند از نتایج این پژوهش در جهت ارزیابی بهبود وضعیت افراد دیابتی نوع دو استفاده کنند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Afravi N, Abednatanzi H, Helalizade M, Gholami M. The Effect of HIIT and Thyme Extract on P53 Gene Expression in Liver Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats. Razi J Med Sci. 2023;29(11):346-361.

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

The Effect of HIIT and Thyme Extract on P53 Gene Expression in Liver Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats

Nader Afravi: PhD Student of Exercise physiology, Science and research branch, Islamic Azad University, Faculty of Humanities, Department of physical education and sport science, Tehran, Iran

Hossein Abednatanzi: Assistant Professor of Exercise Physiology, Science and research branch, Islamic Azad University, Faculty of Humanities, Department physical education and sport science, Tehran, Iran (*Corresponding author) abednazari@gmail.com

Masome Helalizade: Assistant Professor of Exercise Physiology, Sport Sciences Research Institute, Sport Medicine Research Center, Tehran, Iran

Mandana Gholami: Associate Professor of Exercise Physiology, Science and research branch, Islamic Azad University, Faculty of Humanities, Department of physical education and sport science, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Type 2 diabetes is the most common endocrine disease occurs due to glucose intolerance due to imbalance between reserves and insulin demand. Diabetes can also cause damage and cell death or apoptosis (1, 2). Recent research shows the vital role of p53 in the development of diabetes. The aim of this study was to study changes in p53 gene expression in liver tissue and insulin resistance index after HIIT and Zataria multiflora (Thyme) extract in obese type 2 diabetic rats.

Methods: The statistical population of the study consisted of male Wistar rats from Royan Institute. All rats were fed a high-fat diet (45 to 60% fat) for 5 months or 20 weeks. After the rats became obese and reached an average weight of about 407 ± 50 g, to create a type 2 diabetic model, 25mg/kg STZ was injected intraperitoneally. Rats with fasting glucose between 150 to 400 mg/dl was considered as a criterion for diabetes and all rats were diabetic divided into 4 groups control, HIIT, Thyme, HIIT-Thyme. HIIT protocol, performed for five sessions per week with 2-minute alternation of 2 and 8 intervals with 80 to 90% VO_{2max} and a one-minute rest cycle with 50 to 56% vo_{2max} . Running time increased from 16 minutes in the first week to 34 minutes in the eighth week. Thyme extract was given by gavage at a dose of 200 mg / kg 5 days a week for eight week. At the end of the training period and 48 hours after the last training session, the experimental training groups and after 12 hours of fasting, the rats were anesthetized and sacrificed by ether anesthetic. Blood samples were collected from the heart. Glucose was measured using an auto-analyzer. Insulin measured by a special kit of Pars Azmoun Company. The insulin resistance index was calculated using the formula and the expression of liver tissue P53 genes expression was also measured by RT-PCR. Statistical analyze performed with one-way ANOVA and two-factor analysis of variance test for comparison between groups and determination of the effect size and post-hoc method.

Results: According to the results, these findings were observed: The mean weight in the experimental groups of exercise, thyme and HIIT-Thyme groups increased slightly compared to control group. The mean concentration of glucose in the exercise group was significantly lower than the control group ($P = 0.001$) and also in the HIIT-Thyme group, there was no significant difference ($P = 0.99$) compared to the thyme group. Moreover, in the Thyme-HIIT group there was a significant decrease ($P = 0.001$) compared to the control group. Also, HIIT led to a significant reduction in glucose and insulin resistance index ($P < 0.05$). The mean insulin concentration in the HIIT group was significantly higher than the control group ($P = 0.005$) group and in the HIIT-Thyme group was not significantly different compared to the thyme group ($P = 0.218$); however, the Thyme group had a significant increase compared to the control group. The mean insulin resistance index in the HIIT group (2.04) and Thyme-HIIT was significantly lower than the control group but Thyme group was not significantly different from the control group ($P = 0.994$). HIIT reduced P53 gene expression in hepatocytes

Keywords

HIIT,
Type 2 Diabetes,
Thyme,
Apoptosis,
P53 gene

Received: 17/12/2022

Published: 07/02/2023

compared with controls ($P < 0.009$). HIIT and consumption of Thyme extract also significantly reduced P53 gene expression in hepatocytes compared with the control group ($P < 0.05$).

Conclusion: The P53 gene, which is a tumor suppressor gene, is mutated and inactive in a wide range of cancers, this gene has been given the title of "protector of the genome", now new research shows that this gene has profound effects on metabolism and other Its activation can lead to obesity and type 2 diabetes, and for this reason another name was given to this gene "protector against obesity" (11). While the role of this gene is well known during decades of cancer research, little information is available about its role in metabolism. Previous studies have shown that the role of P53 in metabolism and its function is important for tumor suppression (12), this gene also has effects on heart disease, obesity and type 2 diabetes (13). P53 gene regulates glucose transporters. Maintaining proper function of glucose transporters is crucial in glucose homeostasis and suppression of diabetes (11). P53 regulates the function of glucose transporters by influencing their transcription and transport. For example, p53 activated by genotoxic stress can directly bind to GLUT1 and GLUT4 promoters and repress their transcription. P53 also suppresses GLUT3 expression, but this occurs through an indirect mechanism by inhibiting Ikb kinase or IKK (11).

P53 gene negatively regulates glycolysis. It affects glucose levels by directly regulating degradation (glycolysis) and synthesis (gluconeogenesis). Following DNA damage, p53 can reprogram the cell's energy production strategies from glycolysis to mitochondrial respiration (or oxidative phosphorylation) in order to suppress tumor progression (11). The first p53 target gene identified to inhibit glycolysis is TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) (30). TIGAR overexpression reduces the level of fructose 2, 6-bisphosphate (Fru-2, 6-P2), which activates the glycolysis promoter PFK1 (6-phosphofructo-1-kinase). P53 also regulates the stability of phosphoglycerate mutase (PGM), another enzyme important for the completion of glycolysis through the conversion of 3-phosphoglycerate (3-PG) to 2-phosphoglycerate (2-PG). It has been shown that the pentose phosphate pathway (PPP), an alternative mechanism for glucose consumption for energy production, is partially blocked by p53 through a direct interaction between p53 and its rate-limiting enzyme, glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD). 30. P53 also negatively regulates pyruvate dehydrogenase kinase-2 (PDK2) through both transcriptional and post-translational mechanisms to activate the PDH complex that converts pyruvate to acetyl-CoA to shift the balance from glycolysis to mitochondrial respiration (28, 31). The results of the present study show a significant decrease in the expression of the P53 gene in the liver tissue in the intense interval training group, and also the decrease in the expression of this gene in the interaction group of interval training - thyme can indicate the effect of interval training on the decrease in the expression of the P53 gene in the liver tissue. According to the mentioned regulatory pathways, but in the thyme group alone, no significant decrease in the expression of this gene was observed, which can be inferred that when using thyme extract to use its medicinal, antioxidant and anti-inflammatory properties, performing periodic exercises its effectiveness can be improved by further reducing the expression of the P53 gene. Suppression of hepatic glucose production by reducing the expression of the P53 gene can effectively improve diabetes and be used to treat it, in a way, it can be said that targeting components in the gluconeogenic pathway can improve hyperglycemia (10, 11).

HIIT with thyme extract in diabetic rats led to improved glycemic profile and changes in glucose and insulin levels, as well as positive and appropriate changes in the expression of P53 gene expression in hepatic tissue.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Afravi N, Abednatanzi H, Helalizade M, Gholami M. The Effect of HIIT and Thyme Extract on P53 Gene Expression in Liver Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats. *Razi J Med Sci.* 2023;29(11):346-361.

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

مقدمه

دیابت نوع دو یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی می‌باشد که به دلیل عدم تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین و عدم تحمل گلوکز رخ می‌دهد. پیش‌بینی می‌شود تعداد افراد دیابتی در دنیا، به ۳۶۶ میلیون در سال ۲۰۳۰ برسد. این بیماری با افزایش گلوکز خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات و لیپید همراه می‌باشد که با افزایش قند ناشی از کمبود ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و یا ترکیبی از هر دو مشخص می‌شود. افزایش قند خون از طریق افزایش تولید محصولات نهایی گلیکوزیله پیشرفته باعث تسهیل در تولید رادیکال‌های آزاد، از طریق اختلال در تولید رادیکال‌های درون زاد آزاد مثل سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌گردد که به آسیب سلول منجر می‌شود (۱). حفظ ثبات سطح گلوکز خون توسط برداشت و ذخیره سازی گلوکز از وظایف کبد به شمار می‌رود. این بیماری متابولیسم درون سلولی اغلب بافت‌ها از جمله کبد را متاثر می‌کند و به عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی نیز محسوب می‌شود. به دلیل این که اندام‌های اصلی بدن برای مصرف سوخت خود که عمدتاً گلوکز می‌باشد به هورمون انسولین نیاز دارند، این کاهش منجر به کاهش مصرف گلوکز توسط اندام‌ها و افزایش قند خون و گلوکونئوز می‌شود. محل ترشح انسولین، سلول‌های بتای پانکراس است. لذا کاهش تولید انسولین می‌تواند مهم‌ترین نشانه بیماری دیابت باشد. دیابت همچنین می‌تواند منجر به آسیب بافتی و مرگ سلولی یا آپوپتوز شود. آپوپتوز مرگ برنامه‌ریزی و حفاظت شده سلولی می‌باشد که نقش مهمی را در هموستاز و رشد و نمو اندام‌ها و از بین بردن سلول‌های فرسوده، ایفا می‌کند (۲). پژوهش‌ها حاکی از این است که اختلال در این مسیر می‌تواند باعث تجمع سلول‌های جهش یافته و در نهایت منجر به مرگ بیمار شود (۳). همچنین پژوهش‌ها افزایش شیوع آپوپتوز در کبد نمونه‌های دیابتی را گزارش می‌کنند.

برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهند فعالیت ورزشی شدید موج - ب آپوپت - وز لنفوس - میت روده‌های موش آزمایشگاهی شده، اما دوییدن اختیاری بر

روی تردمیل آپوپتوز را کاهش می‌دهد، در حالی که تمرین ورزشی اجباری سطوح اکسیدان‌ها را افزایش می‌دهد (۴). بنابراین تأثیر فعالیت ورزشی بر القا یا مهار آپوپتوز هنوز مورد تردید و مطالعه می‌باشد و یکی از راه‌های درمانی و پیشگیرانه، انجام فعالیت بدنی و ورزشی به شکل منظم برای بیماران دیابتی می‌باشد. اما اینکه این فعالیت ورزشی از چه نوع و با چه شدت و پروتکلی انجام شود، سوالی است که محققین همیشه در پی کشف آن هستند. با توجه به نقش انجام فعالیت و تمرین‌های ورزشی در پیشگیری و کنترل چاقی و دیابت، اجرای شیوه‌های مختلف تمرینی مناسب برای پیشگیری و کاهش شیوع چاقی و نیز کمک به کاهش روند اضافه وزن و چاقی و عوارض و عواقب ناشی از آن مانند بیماری‌های قلبی و عروقی و متابولیکی مثل کبد چرب و دیابت و سرطان و مانند این‌ها در جامعه ضرورت پیدا می‌کند. پژوهش‌ها نشان دادند تمرین استقامتی با حجم بالا در دیابت نوع دو، قند خون را در کنترل می‌کند. تمرینات تناوبی شدید (High-intensity interval training: HIT) که معمولاً با شدت‌های بالاتر از ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب و دوره استراحت‌های کم و مدت زمان کمتر از ۲۰ دقیقه انجام می‌شود، با به کارگیری و درگیر کردن بهتر و بیشتر تارهای عضلانی و فراخوانی قوی‌تر دستگاه‌های سوخت و سازی و متابولیکی می‌تواند از طریق سازوکار سلولی و مولکولی، متابولیسم کل بدن را در جهت مثبت تحت تأثیر قرار دهد (۵). از این رو با انجام تمرینات تناوبی شدید، همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد، عضلات بیشتری درگیر خواهد شد.

پژوهش‌ها حاکی از این است تمرین تناوبی با شدت بالا در مجموع یک روش با زمان کارآمد برای ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی می‌باشد، ولی در مورد تأثیر این نوع تمرینات در دیابت نوع دو کمتر مطالعه شده است. لذا، در پاسخ به درگیری بیشتر عضلات اسکلتی، میزان مایوگین‌های ترشح یافته از عضلات اسکلتی افزایش می‌یابد و با فعال کردن متابولیسم عضلانی بسیاری از مسیرهای مربوط به متابولیسم چربی و جذب گلوکز خون را افزایش و باعث بالا رفتن هرچه بهتر متابولیسم می‌شود (۶). با توجه به تولید رادیکال‌های آزاد توسط دیابت و فعالیت ورزشی و

کمی در اختیار است. پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند، نقش P53 در متابولیسم و عملکرد آن برای سرکوب تومور مهم است (۱۲). این ژن همچنین دارای تأثیراتی بر بیماری قلبی، چاقی و دیابت نوع دو می‌باشد (۱۳). در ژن P53، رایج‌ترین SNP در اسید آمینه‌ی ۷۲ رخ می‌دهد جایی که یک توالی نوکلئوتیدی یکی از دو اسید آمینه‌ی پرولین (P72) یا آرژنین (R72) را کد می‌کند. مطالعات گسترده‌ی ژنومی نشان داد که بین واریته‌ی R72 و استعداد افزایش توده‌ی بدنی و ابتلا به دیابت نوع دو ارتباطی وجود دارد. پرفسور مورفی و همکارانش به مطالعه‌ی موش‌هایی پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که دنبال رژیم پرچرب، موش‌های R72 دچار علائم پیش‌دیابت و مقاومت به انسولین می‌شوند. مورفی و همکارانش همچنین دو ژن دیگر را که به وسیله‌ی P53 کنترل می‌شوند، شناسایی نمودند که در کبد موش‌های R72 نسبت به موش‌های P72 به طرز محسوس‌ی متفاوت می‌باشند: ژن Npc1L1 با جذب کلسترول و ژن TNF با مقاومت به انسولین ناشی از چاقی ارتباط دارند (۱۱).

لذا، در این مطالعه در نظر است تأثیرات تمرینی تناوبی هوازی شدید به همراه عصاره آویشن بر بیان ژن P53 بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو گزارش گردد تا شاید بتوان از اثر بخشی و نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آویشن در کنار طراحی برنامه ورزشی تناوبی متناسب با رژیم غذایی برای دیابتی‌ها استفاده کرد. امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه به عنوان راهی نجات بخش در بهبود عوارض ناشی از دیابت مانند قلب دیابتی و آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

روش کار

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های صحرایی نر تشکیل می‌دهند که تعداد ۳۶ سر موش نر با میانگین وزن ۱۱۰ گرم به عنوان نمونه در نظر گرفته شدند. پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و رسیدن به میانگین وزن حدود ۱۹۰ گرم تحت رژیم پر

نهایتاً ایجاد آپوپتوز یکی از مواردی که توجه محققین را به خود جلب کرده است یافتن راه کارهایی برای کاهش عواقب منفی ناشی از دیابت و تولید رادیکال‌های آزاد است. در همین زمینه، مصرف عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند موثر باشد. محققان زیادی در سراسر دنیا در تلاش هستند تا با استفاده از روش‌های گوناگون از بیماری دیابت پیشگیری کنند و یا آن را درمان کنند و یا عوارض بیماری دیابت را کاهش دهند. امروزه استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌ها برای درمان بیماری‌ها افزایش یافته است. گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها اگرچه از دیرباز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آن‌ها تاکنون شواهد معتبری یافت نشده است (۷).

آویشن با نام علمی *vulgaris Thymus* از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان و متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae) و حاوی ترکیبات تانن، فلاونوئید، ساپونین و مواد تلخ و ترکیب فنولی به نام تیمول، کارواکرول، پاراسمین، لینالول، سینیئول، ترپنویید، گلیکوزید، کافئیک و رزمارینیک اسید می‌باشد (۸). این گیاه دارای اثر نیرو دهنده، هضم کننده، ضد اسپاسم، باد شکن، ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد عفونی کننده، ضد تشنج، ضد کرم، ضد رماتیسم، خلط آور و آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۹). هیپرگلیسمی حاد و مزمن موجب القاء استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی خواهد شد (۱۰).

ژن P53 که یک ژن سرکوبگر تومور است در طیف وسیعی از سرطان‌ها دچار جهش شده و غیر فعال می‌گردد. به این ژن لقب "محافظ ژنوم" داده شده است. حال پژوهش‌های جدید نشان می‌دهد که این ژن دارای تأثیرات عمیقی بر متابولیسم است و غیر فعال شدن آن می‌تواند به چاقی و دیابت نوع دو منجر شود و به همین دلیل لقب دیگری به این ژن داده شد "محافظ در برابر چاقی" (۱۱). در حالی که نقش این ژن در طی دهه‌ها تحقیق بروی سرطان کاملاً شناخته شده است، در مورد نقش آن در متابولیسم اطلاعات

مقاومت به انسولین آن‌ها اندازه‌گیری شد که اطلاعات آن در جداول یافته‌ها آمده است (۱۵).

تهیه و روش مصرف آویشن: برگ و سرشاخه‌های جوان گیاه مورد مطالعه از ارتفاعات استان فارس جمع‌آوری و نمونه‌های هر بار یوم در دانشگاه شیراز با کد 24993 مورد تأیید قرار گرفت. پس از خشک کردن نمونه‌های جمع‌آوری شده در سایه، به وسیله آسیاب پودر گردید. سپس در ظروف شیشه‌ای یک لیتری در بسته ریخته و به نسبت ۷۰ درصد الکل طبی و ۳۰ درصد آب مقطر اضافه نموده و به مخلوط ۷۲ ساعت فرصت داده شد تا خوب خیس بخورد. بعد از این مدت از مخلوط به روش عصاره‌گیری تحت فشار انجام شد. آنالیز عصاره‌ی جمع‌آوری شده به وسیله روتاری تغلیظ و سپس با دستگاه انکوباتور تا حد امکان رطوبت‌گیری شد. هنگام استفاده عصاره‌ی جامد با آب مقطر به محلول تبدیل شده و مورد استفاده قرار گرفت در طی دوره آزمایش به موش‌های گروه آویشن، و گروه آویشن و تمرین تناوبی، آویشن با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) رقیق شده در آب مقطر و به روش گاوآژ خورانه شد (۱۶).

پروتکل تمرین تناوبی: برنامه هشت هفته‌ی تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۲۲ الی ۳۸ متر بر دقیقه (۸۰ تا ۹۰ درصد VO_2max) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد VO_2max) طبق جدول ۱ پروتکل انجام شد. موش‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت ۵ متر در دقیقه با شیب صفر درصد با زمان ۱۰ و ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند. برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل رودریگز و همکاران استفاده شد (۱۷). برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max) به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام شده، پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که هر

چرب قرار گرفتند. پس از ۵ ماه تغذیه با رژیم پرچرب و رسیدن به میانگین وزنی حدود ۴۰۷ گرم، در چهار گروه کنترل، تمرین تناوبی، آویشن و گروه تمرین تناوبی-آویشن قرار گرفتند و در پایان ۲۵ سر در چهار گروه با میانگین وزنی حدود ۳۴۷ گرم باقی ماندند. موش‌های صحرایی در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف در دمای حدود ۲۰ تا ۲۴ درجه و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد نگهداری شدند و چرخه روشنایی-تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور تنظیم می‌شد. جهت تغذیه موش‌های صحرایی از رژیم پرچرب استاندارد تهیه شده از پژوهشکده زیست‌فناوری رویان استفاده شد که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از روغن حیوانی (حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم بود. رژیم پرچرب ۴۵ درصد به مدت سه ماه و رژیم پرچرب ۶۰ درصد به مدت دو ماه داده شد. دسترسی موش‌های صحرایی به غذا به صورت نامحدود بود و آب در بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری در تمامی قفس‌ها وجود داشت (۱۴).

روش دیابتی کردن موش‌ها از طریق تزریق استرپتوزتوسین (STZ): برای القای دیابت از رژیم غذایی پرچرب به مدت ۲۰ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ در سرم فیزیولوژیکی قابل تزریق و به صورت داخل صفاقی (۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) استفاده شد. در این مطالعه سعی شد با رژیم پرچرب و دوز حداقل STZ استفاده شود تا سلول‌های پانکراس کمتر تخریب شوند و دیابت نوع دو ایجاد شود. یک هفته پس از تزریق، گلوکز خون ناشتایی با ایجاد جراحی کوچک در دم موش‌ها یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده شد و اندازه‌گیری گردید و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع دو در نظر گرفته شد. برای اطمینان بیشتر از دیابتی شدن موش‌ها و دقت کار از ۷ سر موش به طور تصادفی خون‌گیری از دم به عمل آمد و گلوکز و انسولین و شاخص

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی

Total time protocol(min) زمان کل (دقیقه)	Cold down. 5 min شدت سرد کردن ۵ دقیقه	Velocity of Rest interval شدت تناوب استراحت	Time of Rest interval زمان تناوب استراحت	Velocity of Intense interval سرعت تناوب شدید	Time of Intense interval زمان تناوب شدید	Number of Intense intervals تعداد تناوب شدید	Warm up. 5 min شدت گرم کردن ۵ دقیقه	Weeks هفته
16	10m/min	16 m/min (50%)	1 min	30 m/min (80%)	2min	2 intervals	10m/min	1&2.th
22	10m/min	18 m/min (52%)	1 min	32 m/min (85%)	2min	4 intervals	10m/min	3&4.th
28	10m/min	20 m/min (54%)	1 min	34 m/min (90%)	2min	6 intervals	10m/min	5&6.th
34	10m/min	22 m/min (56%)	1 min	36 m/min (95%)	2min	8 intervals	10m/min	7&8.th

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش

Oligo Name	Genes	Primer Sequence (5' → 3')	Product size
P53		For: CCCAGGGAGTGCAAAGAGA Rev: CAGCTCTCGGAACATCTCGA	133 bp
GapDh		For: GCCTGGAGAAACCTGCCA Rev: GGAAGAATGGGAGTTGCTGT	bp 137

مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول محاسبه شد (۱۸).

۴۰۵ / (گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر) * انسولین (μUI/ml) = مقاومت به انسولین (HOMA-IR)

روش بیان ژن p53 بافت کبد: به منظور اندازه گیری بیان ژن بافت کبد جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر -۸۰ سانتی گراد منتقل شد. مقداری از بافت کبد برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی -۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation (GeneAll) solution استخراج و در نهایت بررسی کمی و کیفی آن با استفاده از دستگاه نانودارپ و ژل آگارز یک درصد انجام شد. پس از اطمینان از خلوص و کیفیت RNA استخراج شده، cDNA با استفاده از کیت FIRE Script RT cDNA Synthesis (Solis)

دو هفته یکبار موش‌ها در یک وهله تمرینی پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه ۳ متر در دقیقه به سرعت افزوده شد تا اینکه هر کدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد که خلاصه پروتکل در جدول ۱ آمده است (۱۷).

نمونه گیری: با خاتمه دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه‌های تجربی تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها توسط ماده بی هوشی اتر بی هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خونگیری از قلب جمع‌آوری شد و در دمای ۲۰- سانتی گراد نگهداری شد. گلوکز با استفاده از دستگاه اتو آنالیزر و انسولین توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. شاخص

یافته‌ها

میانگین وزن موش‌ها مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳ نشان می‌دهد وزن بعد از اعمال رژیم پرچرب افزایش داشته است. اطلاعات توصیفی گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت انسولین موش‌ها که پس از خون‌گیری از دم اندازه‌گیری شده نیز حاکی از دیابتی شدن موش‌ها می‌باشد.

جدول ۴ هم اطلاعات توصیفی متغیرها را نشان می‌دهد. جدول ۵ نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثر گروه‌ها را نشان می‌دهد. نمودار بیان ژن p53 را در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

با توجه به جداول نتایج زیر به دست می‌آید: میانگین وزن (گرم) در گروه‌های تجربی تمرین (۳۷۳/۱۲) آویشن (۳۳۲/۲۵) و تمرین - آویشن (۳۵۲/۷۱) نسبت به کنترل (۳۱۷) افزایش غیر معنی‌دار داشت. میانگین غلظت گلوکز (میلی گرم بر دسی

BioDyne) ساخته شد و به فریزر ۲۰- سانتی‌گراد انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن p53 بافت کبد، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم‌افزار Primer3 طراحی و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. آزمون کولموگروف - اسمیرنف جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بن‌فرونی جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسه میزان تاثیر هر یک از متغیرهای مستقل استفاده گردید. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 انجام شد و سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

جدول ۳- اطلاعات توصیفی اولیه موش‌های صحرایی پس از رژیم پرچرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع دوم

وزن در شروع پروتکل (گرم)	وزن پس از رژیم پرچرب (گرم)	گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	انسولین (μUI/ml)	شاخص مقاومت به انسولین
۱۹۳/۳۴±۱۹/۴۶	۴۰۹/۰۳±۵۱/۶۹	۳۶۳/۰±۱۲۴/۵	۳/۹۲±۰/۴۹	۳/۵۶±۱/۴۳

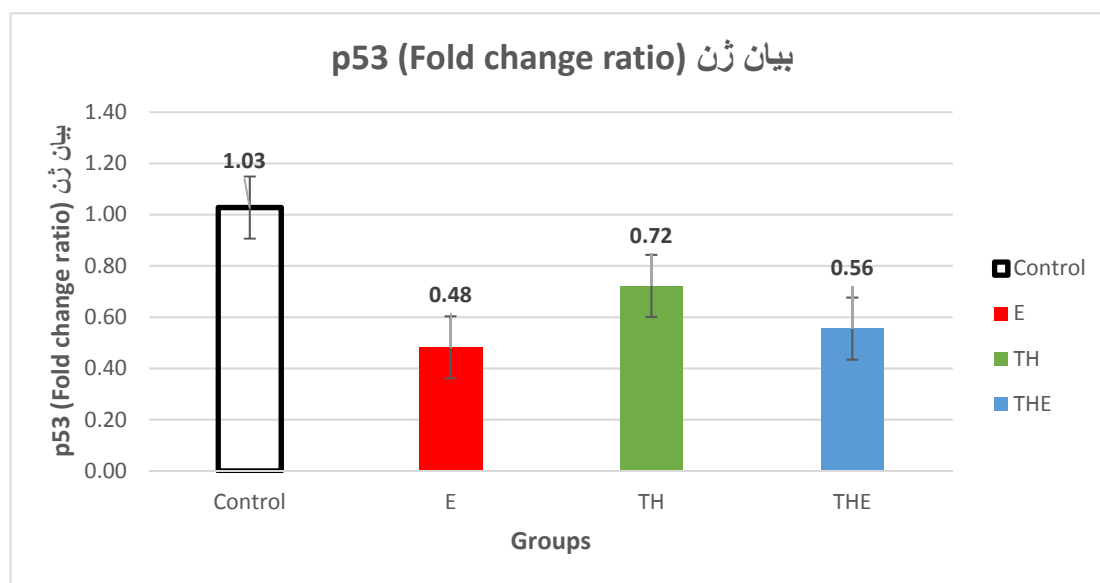
۳/۵۶±۱/۴۳

جدول ۴- اطلاعات توصیفی متغیرهای مختلف در چهار گروه

HIIT&Thyme (n=7)	Thyme Extract(n=4)	Interval training(n=8)	Control(n=6)	Groups /variable متغیر / گروه
۶۵.۵۳±۴۲۱.۸۵	۴۳.۴۹±۴۱۴.۷۵	۶۴.۶۴±۴۰۷.۳۷	۴۸.۴۲±۳۸۶.۶۶	Weight after HFD (گرم) وزن پس از رژیم پرچرب
۳۹.۳۱±۳۵۲.۷۱	۶۷.۷۳±۳۳۲.۲۵	۵۴.۲۸±۳۷۳.۱۲	۷۱.۳±۳۱۷	Weight after Protocol.8w(گرم) وزن پس از هشت هفته پروتکل
۶.۳۹±۱۲۱.۲۸	۱۱۷±۱.۴۱	۴۰.۰۴±۱۳۸.۲۵	۳۳۳.۸۳ ۳۹.۳۹±	Glucose (میلی گرم/دسی لیتر) گلوکز
۱.۵۱±۹.۶۴	۱.۲۵±۱۱.۲۲	۱.۳۵±۶.۲۲	۰.۵۳±۳.۸۹	Insulin (μUI/ml) انسولین
۰.۳۶±۱.۶۹	۰.۳۸±۳.۲۴	۰.۳۵±۲.۰۴	۰.۳۳±۳.۱۸	HOMA.IR شاخص مقاومت به انسولین
۰.۳۱±۰.۵۵	۰.۳۷±۰.۷۲	۰.۲۷±۰.۴۸	۰.۲۵±۱.۰۲	P53.gen.Fold. change

جدول ۵- نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثر گروه ها

Effect. Size	Sig.	F	Group	Group	متغیر/شاخص آماری Variable/Statistical index
۰.۱۱	۰.۱۲	۲.۶۰	HIIT	Control	وزن(گرم)
۰.۰۰۱	۰.۹۱	۰.۰۱۲	Thyme		Weight (گرم)
۰.۰۲۶	۰.۴۶	۰.۵۶	HIIT&Thyme		
۰.۷۳۵	۰.۰۰۰۱	۵۸.۳۶	HIIT	Control	گلوکز(میلی گرم بر دسی لیتر)
۰.۸۰۶	۰.۰۰۰۱	۸۷.۱۷	Thyme		Glucose(میلی گرم/دسی لیتر)
۰.۷۵۲	۰.۰۰۰۱	۶۳.۷۱	HIIT&Thyme		
۰.۰۲۵	۰.۴۷۲	۰.۵۳۷	HIIT	Control	انسولین (میکرو واحد بر میلی لیتر)
۰.۸۳۷	۰.۰۰۰۱	۱۰۸.۰۹	Thyme		Insulin(μUI/ml)
۰.۴۰۴	۰.۰۰۱	۱۴.۲۲	HIIT&Thyme		
۰.۵۱۴	۰.۰۰۰۱	۲۲.۱۷	HIIT	Control	شاخص مقاومت به انسولین
۰.۲۷۵	۰.۰۱	۷.۹۷	Thyme		HOMA.IR
۰.۲۱۹	۰.۰۲۴	۵.۹۰	HIIT&Thyme		
۰.۲۸۱	۰.۰۰۰۹	۸.۲۰	HIIT	Control	بیان ژن P53 (Fold Cheng)
۰.۰۴۱	۰.۳۵	۰.۸۹	Thyme		P53.gen.Fold. change
۰.۱۰	۰.۱۳	۲.۳۹	HIIT&Thyme		



نمودار ۱- بیان ژن p53 در گروه‌های مختلف p53 Gen Fold change ratio

و در گروه تمرین آویشن نسبت به کنترل کاهش معنی دار داشت ($P=0/001$). میانگین غلظت انسولین ($\mu\text{UI/ml}$) در گروه تمرین (۶/۲۲) نسبت به کنترل (۳/۸۹) افزایش معنی دار داشت ($P=0/005$) و در گروه

لیتر) در گروه تمرین (۱۳۸/۲۵) نسبت به کنترل (۳۳۳/۸۳) کاهش معنی دار داشت ($P=0/001$) و در گروه تمرین- آویشن (۱۲۱/۲۸) نسبت به گروه آویشن (۱۱۷) تفاوت معنی داری نداشت داشت ($P=0/992$)

۳۵۴

تمرین - آویشن (۹/۶۴) نسبت به گروه آویشن (۱۱/۲۲) تفاوت معنی داری نداشت ($P=0/218$)، اما گروه آویشن نسبت به کنترل افزایش معنی داری داشت. میانگین شاخص مقاومت به انسولین (HOMA) در گروه تمرین (۲/۰۴) و تمرین آویشن (۱/۶۹) نسبت به گروه کنترل (۳/۱۸) کاهش معنی داری داشت و آویشن (۳/۲۴) نسبت به کنترل تفاوت معنی داری نداشت ($P=0/994$). میانگین نسبت بیان ژن P53 در گروه تمرین تناوبی (۰/۴۸) نسبت به کنترل (۱/۰۲) کاهش معنی دار داشت ($P=0/009$) و گروه تمرین - آویشن (۰/۵۵) و آویشن (۰/۷۲) نسبت به کنترل کاهش غیر معنی دار داشت.

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی شدید و عصاره آویشن منجر به کاهش معنی دار گلوکز و افزایش انسولین و کاهش معنی دار مقاومت به انسولین موش‌های دیابتی نوع دوم تغذیه شده با رژیم پر چرب گردید و بیان ژن سرکوبگر تومور و مرتبط با چاقی P53 را در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل در بافت کبدی کاهش داد.

اولین مدرک مرتبط با P53 و ابتلا به دیابت نوع ۲ در سال ۲۰۰۹ منتشر شد، زمانی که مینا مینو و همکارانش نشان دادند که فعالیت P53 به وسیله حذف siRNA در سلول‌ها و یا به وسیله حذف ژن TP53 در موش‌ها، حساسیت را افزایش داده و باعث کاهش بیان سایتوکاین‌های التهاب‌زا در بافت چربی موش‌ها می‌شود و به طور مناسبی از توسعه مقاومت به انسولین آن‌ها جلوگیری می‌کند (۱۱، ۱۳).

سلول‌های بتا لوزالمعده مسئول ترشح انسولین در جریان خون هستند. این با تحریک جذب گلوکز سطح گلوکز در گردش خون را کاهش می‌دهد (۱). از دست دادن عملکرد سلول‌های بتا در پانکراس، ترشح انسولین را کاهش می‌دهد و منجر به افزایش قند خون و دیابت می‌شود. مسیرهای متعدد سیگنالینگ برای تنظیم عملکرد سلول‌های بتای لوزالمعده بر روی P53 جمع می‌شوند. ورید و همکاران نشان دادند که اسیدهای

چرب آزاد (FFA) از طریق کاهش فعال سازی AKT فسفوریله شده (PKB)، آپوپتوز سلول‌های بتا پانکراس را افزایش می‌دهند (۱۹). کاملاً شناخته شده است که AKT به طور معمول سلول‌ها را در برابر آپوپتوز با واسطه P53 با فسفوریلاسیون و فعال کردن تنظیم کننده اصلی منفی P53، یعنی MDM2 محافظت می‌کند (۲۰). در یک مطالعه ای که از سلول‌های بتا تحت درمان با FFA برای تقلید از چاقی احشایی ناشی از اختلال عملکرد و آپوپتوز پانکراس استفاده شد، فعال شدن P53 منجر به القای microRNA miR34a شد که سلول‌های بتا را به آپوپتوز حساس کرده و مسیر انسولین را مهار کرده و منجر به اختلال در ترشح انسولین می‌شود (۲۰). در سلول‌های بتای لوزالمعده و در سلول‌های جزایر انسولین ساز، نشان داده شده است که سیتوکین‌های پیش التهابی IFN- γ و TNF- α برای افزایش تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) reactive oxygen species، و القای P53 و آپوپتوز به طور هم افزایی عمل می‌کنند (۱۱). سرانجام مشخص شد که ROS در آپوپتوز سلول‌های بتا با واسطه FFA نقش دارد و نشان داده شد که هم تولید ROS و هم فعال شدن P53 اثرات پایین دستی NADPH اکسیداز ۲ (NOX2) است (۲۱). این محققان دریافتند که FFAs، سیتوکین‌های التهابی و ROS می‌توانند در بالادست P53 عمل کنند تا آپوپتوز با واسطه P53 سلول‌های بتا پانکراس را القا کنند. چندین پروتئین تنظیم کننده P53 نیز در مرگ و بقای سلول‌های بتا پانکراس تأثیرگذار هستند. این موارد شامل ARF-BP1، ایزوفریم‌های کوتاه شده N-ترمینال P53، فاکتور رونویسی TCF7L2 و microRNA miR-200 است. ARF-BP1 (همچنین به عنوان MULE یا HUWE1 شناخته می‌شود) یک لیگاز E3 یوبی کویتین از P53 است که عملکرد P53 را در سلول‌های β کنترل می‌کند (۱۱).

کبد نیز نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات دارد زیرا مسئول تعادل سطح گلوکز خون با استفاده از گلیکونئوژنز و گلیکوکولولیز (۲۲). در حضور بیماری کبدی، هموستاز متابولیکی گلوکز در دیابت و اختلالات

نقش P53 در تشکیل مقاومت به انسولین در کبد در بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) - Nonalcoholic fatty liver disease) نیز نشان داده شده است. ناهنجاری های کبدی مانند استئاتوز کبدی و استئو هپاتیت غیر الکلی (Nonalcoholic - NASH steatohepatitis) می تواند به فیروز، سیروز و سرطان سلول های کبدی منجر شود. NAFLD به دلیل تجمع تری گلیسیرید کبدی با افزایش سطح اسیدهای چرب آزاد در گردش، به مقاومت به انسولین مرتبط است. هر دو این عوامل باعث تشدید وضعیت التهاب و در نهایت تشکیل یک چرخه معیوب می شود. نقش P53 برای القا سمیت سلولی که باعث تشدید آسیب کبدی در مدل های مختلف موش NAFLD تایید شد. در مطالعه دیگری تأثیر P53 بر روی آپوپتوز بررسی شد. مکانیسم اساسی که باعث حذف سلول های کبدی در NAFLD می شود نشان داد مقدار P53 به شدت به استئاتوز کبد بستگی دارد و در نتیجه به التهاب مرتبط بود. در حالی که تنظیم مجدد P53 با کاهش تنظیم ضد آپوپتوز Bcl-2 همراه بود (۲۹).

ژن P53 ناقل های گلوکز را تنظیم می کند. حفظ عملکرد مناسب ناقلین گلوکز در هموستاز گلوکز و سرکوب دیابت بسیار حیاتی است (۱۱). P53 با تأثیرگذاری بر رونویسی و انتقال آن ها، عملکرد ناقلین گلوکز را تنظیم می کند. به عنوان مثال، P53 که توسط استرس ژنوتوکسیک فعال می شود می تواند مستقیماً به پروموتورهای GLUT1 و GLUT4 متصل شود و رونویسی آن ها را سرکوب کند. P53 همچنین بیان GLUT3 را سرکوب می کند، اما این از طریق مکانیسم غیر مستقیم با مهار IκB کیناز یا IKK اتفاق می افتد (۱۱).

ژن P53 به طور منفی گلیکولیز را تنظیم می کند. با تنظیم مستقیم تخریب (گلیکولیز) و سنتز (گلوکونئوز) بر سطح گلوکز تأثیر می گذارد. به دنبال آسیب DNA، P53 می تواند استراتژی های تولید انرژی سلول را از گلیکولیز تا تنفس میتوکندری (یا فسفوریلاسیون اکسیداتیو) به منظور سرکوب پیشرفت تومور، دوباره برنامه ریزی کند (۱۱). اولین ژن هدف

متابولیکی، مختل می شود (۲۳). چندین مطالعه نشان داده است که P53 مسیرهای متابولیکی اولیه را هم به عنوان بخشی از نقش ضد توموری و هم به عنوان پروتئینی مسئول حفظ هموستاز گلوکز تنظیم می کند (۲۱). در یک مطالعه تحقیقاتی، جوندگانی که با رژیم غذایی پرچرب، ساکارز بالا تغذیه می شدند و یا با چاقی همراه بودند، میزان فراوانی پروتئین P53 در کبد افزایش یافت، در حالی که AMPK و SIRT1 تنظیم منفی داشتند (۲۴). در مطالعه دیگری گزارش شده است که P53 باعث تنظیم مجموعه ای از ژن های گلوکونئوزیک و ژن های تنظیمی گلوکونئوز در سلول های کبدی اولیه کشت شده و سلول های کبدی فاقد P53 که با اختلال در تولید گلوکز مشاهده شدند می شود (۲۵). با این حال، در شرایط دیابتی، افزایش قند خون بیان P53 را از طریق مهار سیگنالینگ AMPK / SIRT1 افزایش می دهد مسیرهایی در سلول های کبدی، که باعث تجمع چربی و مقاومت به انسولین می شود (۱۱). استفاده از متفورمین برای فعال کردن مسیر سیگنالینگ AMPK / SIRT1 نیز به مهار گلوکز بالا منجر شد که قاعداً بیان پروتئین P53 را کاهش می دهد؛ هرچند بیان بیش از حد P53 باعث کاهش بیان SIRT1 می شود و سیگنالینگ AMPK فعال شده با متفورمین را که با کاهش تری گلیسیریدها همراه هست را مهار می کند (۲۶).

سلول های هپاتومای انسانی (HepG2) در معرض غلظت های بالای گلوکز هستند که نشان داده شده است AMPK و SIRT1 را مهار می کنند، تجمع چربی را القا می کنند و باعث مقاومت به انسولین می شود و فعال شدن AMPK و SIRT1 توسط متفورمین منجر به کاهش فراوانی پروتئین P53 می شود (۲۷). بیان بیش از حد P53 باعث کاهش فراوانی SIRT1 می شود و توانایی متفورمین برای فعال کردن AMPK و کاهش تری گلیسیریدهای سلولی محدود می کند. این ها یافته ها حاکی از وجود یک رابطه متقابل بین سیگنالینگ AMPK-SIRT1 کبدی و پروتئین P53 در شرایط مصرف مواد مغذی اضافی و در پاسخ به متفورمین وجود دارد (۲۸).

واسطه p53 در کبد نیز در مدل موش تراریخته ay نشان داده شد که چاقی و دیابت را ایجاد می کند و ارتباط فیزیولوژیکی برای گلوکونئوز تنظیم شده با p53 در توسعه دیابت فراهم می کند (۲۵). به خوبی شناخته شده است که افزایش بیان و فعالیت p53 در سلول های چربی موش های چاق اتفاق می افتد (۳۲). همان طور که در بالا ذکر شد، در موش های تراریخته Ay که با رژیم غذایی پرچرب / ساکارز تغذیه می شوند، پیری با واسطه p53 در بافت چربی برای ایجاد فنوتیپ های دیابت مانند و مقاومت به انسولین بسیار مهم است (۳۳). پیری با واسطه p53 در بافت چربی با افزایش بیان p21 / Cdkn1A و سیتوکین های پیش التهابی و همچنین کاهش بیان سیتوکین های ضد التهابی ارتباط دارد. این گروه نشان داد که بیان بیش از حد p53 مخصوص بافت چربی با تنظیم بیان آنزیم های گلوکونئوزنیک به روش پاراکرین بر عملکرد کبد تأثیر می گذارد. بعداً همان گروه دریافتند که التهاب مزمن با واسطه p53 در بافت چربی منجر به نارسایی قلبی می شود و این نشان دهنده ارتباط بین مقاومت به انسولین / دیابت و بیماری های قلبی عروقی است (۱۱، ۳۴).

پژوهش ها نشان می دهد روش های مختلف تمرینی، تأثیر مثبتی بر حساسیت به انسولین، کنترل گلیسمی و سایر عوامل خطر مرتبط با دیابت نوع دو دارد و حتی تمرین کوتاه مدت حاد توانسته حساسیت به انسولین در عضله موش های چاق را بهبود بخشد. در رابطه به مکانیسم های سلولی - مولکولی برای افزایش برداشت گلوکز توسط انسولین با تمرین ورزشی می توان گفت تا حدودی به افزایش بیان و فعالیت پروتئین های کلیدی شناخته شده برای تنظیم متابولیسم گلوکز در عضلات و کبد می تواند مربوط باشد. در خصوص اثرات مفید تمرین ورزشی هوازی بر دیابت می توان گفت فعالیت ورزشی می تواند بر متابولیسم گلوکز در افراد دیابتی به وسیله دو مکانیسم مجزا اثر داشته باشد، یکی افزایش ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری در بافت های محیطی و کبد و دومی سرکوب تولید گلوکز کبدی است (۱۰).

p53 که برای مهار گلیکولیز شناسایی شد، TIGAR است (تنظیم کننده گلیکولیز و آپوپتوز ناشی از TP53) (۳۰). بیان بیش از حد TIGAR باعث کاهش سطح فروکتوز ۲، ۶-بیس فسفات (Fru-2، P2-6) می شود که محرک گلیکولیز (PFK1-6 فسفوفروکتو-۱-کیناز) را فعال می کند. p53 همچنین ثابت فسفوگلیسیرات موتاز (PGM)، آنزیم دیگری را که برای تکمیل گلیکولیز از طریق تبدیل ۳-فسفوگلیسیرات (PG-۳) به ۲-فسفوگلیسیرات (PG-۲) مهم است، تنظیم می کند. نشان داد شده که مسیر پنتوز فسفات (PPP)، یک مکانیسم جایگزین برای مصرف گلوکز برای تولید انرژی، تا حدی از طریق تعامل مستقیم بین p53 و آنزیم محدود کننده سرعت آن، گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز (G6PD) توسط p53 مسدود شده است (30). p53 همچنین پیرووات دهیدروژناز کیناز ۲- (PDK2) را از طریق هر دو روش رونویسی و پس از ترجمه برای فعال کردن کمپلکس PDH که پیرووات را به استیل-CoA تبدیل می کند تا تعادل را از گلیکولیز به تنفس میتوکندری تغییر دهد به طور منفی تنظیم می کند (۲۸، ۳۱).

همچنین ژن p53 به طور مثبت گلوکونئوز را تنظیم می کند. مطالعات اخیر در مورد گلوکونئوز، راهی مستقیم برای p53 برای افزایش سطح گلوکز کشف کرده است. در تلاش برای تعریف مسیرهای متابولیکی تنظیم شده با p53 در سلول های HepG2 مشتق از کبد با استفاده از تجزیه و تحلیل، گلدشتاین و همکاران چندین ژن هدف p53 را که در سنتز گلوکز نقش دارند را شناسایی کردند (۲۵). آن ها نشان دادند که فعال شدن p53 توسط nutlin-3a، ترکیبی که باعث تثبیت p53 می شود به دلیل توانایی آن در مهار MDM2، باعث افزایش بیان ژن های درگیر در گلوکونئوز (PCK2، G6PC) و در تامین پیش سازهای گلوکوزنیک (GK، AQP3، AQP9 و GOT1) می شود. علاوه بر این، این گروه دریافتند که p53 فعال باعث افزایش تولید گلوکز کبدی در سلول های HepG2 و سلول های کبدی موش در محیط گلوکوزنیک می شود. القای آنزیم های گلوکونئوزنیک با

پراکسیداسیون لیپیدی خواهد شد و عصاره آویشن در جلوگیری از استرس اکسیداتیو کمک می کند (۳۷، ۳۸). بنابراین ممکن است آویشن با محتوای فلاونوئیدی خود از کاهش وزن موش های دیابتی در مطالعه حاضر جلوگیری کرده باشد و حتی افزایش غیر معنی دار وزن هم در گروه تمرین و آویشن داشتیم و در گروه تمرین هم احتمالاً به دلیل افزایش اشتها در نتیجه افزایش فعالیت هورمون ها و نروپیتاید های اشتها در نتیجه انجام فعالیت های ورزشی میزان و رفتار دریافت غذا توسط موش ها افزایش یافته و احتمالاً گروه تمرین و نیز آویشن بیشتر غذا مصرف می کردند که لازم است در پژوهش های آتی و تکمیلی هورمون ها و نروپیتاید های مرتبط با چاقی و اشتها اندازه گیری و ارتباط سنجی شود و نیز میزان غذای مصرفی هر یک از موش ها به طریقی اندازه گیری شود که جزو محدودیت های این پژوهش بود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته تمرین تناوبی و آویشن در موش های صحرایی نر دیابتی باعث کاهش معنی دار گلوکز ناشتا و افزایش معنی دار میزان انسولین سرم موش های صحرایی دیابتی شد اما در مورد تغییرات انسولین در تمرینات تناوبی در این زمینه، ایزدی و همکاران، افزایش انسولین سرم همراه با کاهش گلوکز خون را در پاسخ به تمرینات HIIT طولانی مدت در موش های دیابتی نوع دو گزارش نموده اند (۳۹). با این حال، موافق با پژوهش حاضر، رشیدی و همکارانش در سال ۲۰۱۶ در مطالعه ای روی موش های صحرایی دیابتی که با دیابتی شده بودند، تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی STZ نیکوتین آمید و به صورت دویدن روی تردمیل را روی موش های صحرایی دیابتی برر سی کردند و گزارش کردند برنامه تمرینی به کاهش معنی دار سطوح گلوکز ناشتا در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه دیابتی کنترل منجر شد و سطوح انسولین سرم در گروه دیابتی هوازی بالاتر از گروه دیابتی کنترل بود، اما این تفاوت به لحاظ آماری معنی دار نبود (۴۰). از این رو، بر پایه یافته های مطالعه حاضر و سایر مطالعات پیشین، جدا از تغییرات ژنتیکی مذکور، کاهش گلوکز خون را می توان به نوعی به

نتایج پژوهش حاضر، کاهش معنی دار بیان ژن P53 را در بافت کبد در گروه تمرین تناوبی شدید نشان می دهد. همچنین کاهش بیان این ژن در گروه تعاملی تمرین تناوبی - آویشن می تواند اثر گذاری انجام تمرین تناوبی را بر کاهش بیان ژن P53 بافت کبدی بر طبق مسیر های تنظیمی اشاره شده نشان دهد ولی در گروه آویشن تنها، کاهش معنی داری در بیان این ژن مشاهده نشد که می توان استنباط کرد در هنگام استفاده از عصاره آویشن جهت استفاده از خواص دارویی و آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن انجام تمرینات تناوبی می توان اثر بخشی آن را از طریق کاهش بیشتر بیان ژن P53 بهبود بخشید. سرکوب تولید گلوکز کبدی همراه با کاهش بیان ژن P53 می تواند به طور موثر دیابت را بهبود بخشد، برای درمان آن مورد سوء استفاده قرار گیرد، به نوعی می توان گفت هدف قرار دادن اجزای موجود در مسیر گلوکونئوزنیک می تواند هیپرگلیسمی را بهبود بخشد (۱۰، ۱۱).

در پژوهش حاضر نتایج نشان داد که عصاره هیدرو الکلی گیاه آویشن شیرازی به لحاظ داشتن ترکیبات ترپنوئید و فلاونوئید همانند سایر گیاهان تیره نعناع اثر هیپوگلیسمیک داشت. در تحقیقی که توسط لی و همکاران انجام شد اثر آنتی اکسیدانی عصاره آویشن به اثبات رسید (۳۵). دورمانا و همکاران در پژوهشی بیان کردند یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان های طبیعی، ترکیبات فنولی موجود در اسانس های گیاهی است و خاصیت ضد دیابتی با خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه ارتباط دارد (۳۶).

آویشن دارای مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است. فلاونوئیدها از چند جهت بر دیابت تأثیر می گذارند. این ترکیبات موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات و لیپید و کاهش هیپرگلیسمی، دیس لیپیدمی و مقاومت به انسولین می شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ های التهابی ممانعت می کنند. فلاونوئیدها (به خصوص کوئرستین) از کاهش وزن در دیابت نیز جلوگیری می کنند. هیپرگلیسمی حاد و مزمن موجب القاء استرس اکسیداتیو و افزایش

هوای از نوع تمرینات تناوبی می‌تواند اثر بخشی آن را بهبود بخشد.

محدودیت‌ها و پیشنهادات: با توجه به این که این مطالعه از نوع مطالعات حیوانی می‌باشد و به پیشنهادات کاربردی منتهی نمی‌شود و تنها اثر بخشی متغیرهای مستقل را گزارش و بحث می‌کند، انجام مطالعات بیشتر و تکمیلی در این زمینه ضروری می‌باشد. از جمله محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به عدم کنترل دقیق تأثیر احتمالی استرس ناشی از شوک دستگاه نوارگردان و عدم اندازه‌گیری میزان کالری مصرفی توسط موش‌ها و نیز عدم اندازه‌گیری همزمان عوامل بیشتری از شاخص‌های آپوتوزی و آنتی آپوتوزی و نیز شاخص‌های پیش التهابی و التهابی و ضد التهابی و شاخص‌های اکسیدانی و آنتی اکسیدانی مرتبط با سازوکارهای ارائه شده با توجه به هزینه بودن آن‌ها اشاره کرد. البته در این مقاله بخشی از دیتاها گزارش شده و اطلاعات بیشتری دریافت شده و با توجه به یافته‌های ارائه شده، به محققان دیگر پیشنهاد می‌شود که در کنار اندازه‌گیری عوامل آپوتوزی و آنتی آپوتوزی اندازه‌گیری این شاخص‌ها و کنترل این عوامل را مد نظر قرار دهند.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری نادر عفرای بود و با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1399.004 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تایید شد. لذا، از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Monzemi AH, Etemad Z, Nazari A, Mohammadi M. The effect of eight weeks of endurance training along with cinnamon extract consumption on expression of angiogenic markers in endothelial dysfunction of the coronary arteries in streptozotocin-diabetic male rats. *J Sport Exerc Physiol*. 2022;11-20.
2. Rajabi A, Akbarnejad A, Siahkohian M, Yari M. The response of TNF- α , IL-6 serum levels and lipid profiles to two aerobic training frequencies with the same volume in obese middle-aged women with type

افزایش سنتز و ترشح انسولین از سلول‌های بتا و کاهش مقاومت به انسولین و افزایش حساسیت انسولینی و در نتیجه بهبود عملکرد سلول‌های بتا نسبت داد.

به‌طور کلی با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به اینکه اثر بخشی تمرینات تناوبی شدید بر روی افراد و آزمودنی‌های دیابتی توسط محققین قبلی هم مطالعه شده و با نقد و چالش‌های متعدد روبرو بوده از جمله اینکه خود این تمرینات می‌تواند منجر به افزایش التهاب و شاخص‌های التهابی در آزمودنی‌های دیابتی گردد (۳۹، ۴۰). اما با توجه به نتایج پژوهش حاضر در مورد تأثیر آن بر کاهش بیان ژن شاخص آپوتوزی ژن P53 می‌توان استنباط کرد در هنگام استفاده این نوع برنامه‌های تمرینی استفاده از عصاره آویشن جهت استفاده از خواص دارویی و آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن و تأثیر احتمالی آن در بهبود این شاخص‌ها می‌تواند اثر بخشی آن را از طریق کاهش بیشتر بیان ژن P53 نیز بهبود بخشد. لذا، برای افراد دیابتی انجام این تمرینات به ویژه همراه با آویشن می‌تواند باعث کاهش بیان ژن P53 گردد و در بهبود سطوح گلوکز به واسطه تأثیر مولفه‌های ژنتیکی موثر در رهایی گلوکز کبدی و در بیماران دیابتی نوع دو موثر می‌باشد و آویشن هم به دلیل ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی و جایگزین خوب برای نقش گلوکز و نیز نقش‌های متعدد آنتی اکسیدانی و ضد التهابی و ... موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات‌ها به ویژه گلوکز و نیز تنظیم متابولیسم لیپید و کاهش هیپرگلیسمی و دیس لیپیدمی و کاهش مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی افراد دیابتی نوع دو که دیابت مرتبط با ورزش و معمولاً همراه با اضافه وزن و چاقی نیز می‌باشد، ممانعت می‌کنند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر مصرف آویشن به تنهایی نمی‌تواند در این زمینه‌ها و تغییرات ژن P53 موثر باشد و استفاده از برنامه‌های تمرینی ورزشی

- 2 diabetic. *J Sport Exerc Physiol.* 2021;14(1):59–72.
3. Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, et al. Myocardial cell death in human diabetes. *Circul Res.* 2000;87(12):1123–32.
4. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000;15(7):718–24.
5. Godin G, Desharnais R, Valois P, Lepage L, Jobin J, Bradet R. Differences in perceived barriers to exercise between high and low intenders: observations among different populations. *Am J Health Prom.* 1994;8(4):279–85.
6. Khajehlandi A, Abednatanzi H, Nikbakht H. The effect of swimming training and aloe vera extract on lipid profile of male diabetic rats. *J Isfahan Med School.* 2017;34(411):1515–22.
7. Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. *J Am Pharma Assoc* (1996). 2002;42(2):217–26.
8. Naghdi Badi H, Makkizadeh M. Review of common Thyme. *J Med Plants.* 2003;2(7):1–12.
9. Rana P, Soni G. Antioxidant potential of thyme extract: alleviation of N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress. *Hum Experim Toxicol.* 2008;27(3):215–21.
10. Poblete-Aro C, Russell-Guzman J, Parra P, Soto-Munoz M, Villegas-Gonzalez B, Cofre-Bolados C, et al. Exercise and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Revista medica de Chile.* 2018;146(3):362–72.
11. Kung CP, Murphy ME. The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes. *J Endocrinol.* 2016;231(2):R61.
12. Beyfuss K, Hood DA. A systematic review of p53 regulation of oxidative stress in skeletal muscle. *Redox Rep.* 2018;23(1):100–17.
13. Lacroix M, Riscal R, Arena G, Linares LK, Le Cam L. Metabolic functions of the tumor suppressor p53: Implications in normal physiology, metabolic disorders, and cancer. *Mol Metab.* 2020;33:2–22.
14. Zou F, Mao X qing, Wang N, Liu J, Ou-Yang J ping. Astragalus polysaccharides alleviates glucose toxicity and restores glucose homeostasis in diabetic states via activation of AMPK. *Acta Pharmacol Sinica.* 2009;30(12):1607–15.
15. Gheibi S, Bakhtiarzadeh F, Ghasemi A. A review of high fat diet-streptozotocin model for induction of type 2 diabetes in rat. *Iran J Endocrinol Metab.* 2016;18(2):135–48.
16. Mehran M, Hoseini H, Hatami A, Taghizade M. Investigation of components of seven Species of Thyme Essential oils and comparison of their antioxidant properties. *J Med Plants.* 2016;15(58):134–40.
17. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.* 2007;6(1):1–7.
18. Shidfar F, Jazayeri S, Mousavi SN, Malek M, fateme Hosseini A, Khoshpey B. Does supplementation with royal jelly improve oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetic patients? *Iran J Public Health.* 2015;44(6):797.
19. Wrede CE, Dickson LM, Lingohr MK, Briaud I, Rhodes CJ. Protein kinase B/Akt prevents fatty acid-induced apoptosis in pancreatic β -cells (INS-1). *J Biol Chem.* 2002;277(51):49676–84.
20. Liu R, Chen Y, Liu G, Li C, Song Y, Cao Z, et al. PI3K/AKT pathway as a key link modulates the multidrug resistance of cancers. *Cell Death Dis.* 2020;11(9):1–12.
21. Pitolli C, Wang Y, Candi E, Shi Y, Melino G, Amelio I. p53-mediated tumor suppression: DNA-damage response and alternative mechanisms. *Cancers.* 2019;11(12):1983.
22. Wang SZ, Yu YJ, Adeli K. Role of gut microbiota in neuroendocrine regulation of carbohydrate and lipid metabolism via the microbiota-gut-brain-liver axis. *Microorganisms.* 2020;8(4):527.
23. Wewer Albrechtsen NJ, Pedersen J, Galsgaard KD, Winther-Sørensen M, Suppli MP, Janah L, et al. The liver- α -cell axis and type 2 diabetes. *Endocrine Rev.* 2019;40(5):1353–66.
24. Gotoh T, Vila-Caballer M, Santos CS, Liu J, Yang J, Finkielstein CV. The circadian factor Period 2 modulates p53 stability and transcriptional activity in unstressed cells. *Mol Biol Cell.* 2014;25(19):3081–93.
25. Goldstein M, Kastan MB. The DNA damage response: implications for tumor responses to radiation and chemotherapy. *Ann Rev Med.* 2015;66(1):129–43.
26. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK, Lum JJ, DeBerardinis RJ, Zhao F, et al. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. *Cancer Res.* 2007;67(14):6745–52.
27. Nelson LE, Valentine RJ, Cacicedo JM, Gauthier MS, Ido Y, Ruderman NB. A novel inverse relationship between metformin-triggered AMPK-SIRT1 signaling and p53 protein abundance in high glucose-exposed HepG2 cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;303(1):C4–13.
28. Murtaza I, Laila O. P53 transcription factor and diabetes: is there any link. *J Adv Biol.* 2016;9:1825–33.
29. Strycharz J, Drzewoski J, Szemraj J, Sliwiska A. Is p53 involved in tissue-specific insulin resistance formation? *Oxid Med Cell Long.* 2017;2017.
30. Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MNC, Nakano K, Bartrons R, et al. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell.* 2006;126(1):107–20.
31. Cheung EC, Vousden KH. The role of p53 in glucose metabolism. *Curr Opin Cell Biol.*

2010;22(2):186–91.

32. Homayounfar R, Jeddi-Tehrani M, Cheraghpour M, Ghorbani A, Zand H. Relationship of p53 accumulation in peripheral tissues of high-fat diet-induced obese rats with decrease in metabolic and oncogenic signaling of insulin. *General Compar Endocrinol.* 2015;214:134–9.

33. Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, et al. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nature Med.* 2009;15(9):1082–7.

34. Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Tateno K, Okada S, Moriya J, et al. p53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure. *Cell Metab.* 2012;15(1):51–64.

35. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005;91(1):131–7.

36. Dorman HJD, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkanen MJ. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food chemistry.* 2003;83(2):255–62.

37. Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, De Nigris V, Ceriello A. The possible role of flavonoids in the prevention of diabetic complications. *Nutrients.* 2016;8(5):310.

38. Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. *Razi J Med Sci.* 2020;27(10):135–50.

39. Eizadi M, Soory R, Ravasi A, Baesy K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 Relative Expression in Pancreas Tissue with Changes in Insulin by High Intensity Interval Training (HIIT) in Type 2 Diabetes Rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci.* 2017;24(12):981–93.

40. Rashidi M, Soori R, Choobineh S, Ravasi AA, Baesi K. The effect of an aerobic exercise on MTNR1B gene expression, insulin and glucose levels in pancreas of induced diabetic rat with streptozotocin-nicotinamide. *Koomesh.* 2016.