

## الگوی ارتباط بین بیان نسبی TCF7L2 بافت پانکراس با تغییرات انسولین به واسطه تمرین تناوبی در رت‌های دیابتی نوع ۲

مجتبی ایزدی<sup>۱\*</sup>، رحمان سوری<sup>۱</sup>، علی اصغر رواسی<sup>۲</sup>، کاظم باعثی<sup>۳</sup>، سیروس چوبینه<sup>۲</sup>

### چکیده

**مقدمه:** هر دو فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در گسترش دیابت نوع ۲ دخیل هستند. هدف از مطالعه حاضر اندازه‌گیری اثر تمرینات تناوبی شدید بر سطوح گلوکز، انسولین و بیان TCF7L2 در بافت پانکراس رت‌های دیابتی نوع ۲ و تعیین ارتباط بین بیان نسبی TCF7L2 با نسبت تغییرات انسولین در گروه تمرین تناوبی و گروه کنترل است.

**روش بررسی:** در مطالعه تجربی- کاربردی حاضر، رت‌های نر ویستار که قبلاً با تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید-استرپتوزوتوسین به دیابت نوع دو مبتلا شده بودند، به دو گروه کنترل (بدون تمرین) و تمرین تناوبی (۱۲ هفته، هفته‌ای ۵ جلسه) تقسیم شدند. گلوکز ناشتا، انسولین سرم و بیان TCF7L2 در بافت پانکراس هر دو گروه پس از آخرین جلسه تمرین اندازه‌گیری و توسط آزمون تی مستقل با یکدیگر مقایسه شدند. ارتباط بین بیان TCF7L2 و نسبت تغییر انسولین گروه تناوبی به کنترل نیز توسط آزمون همبستگی پیرسون تعیین شد.

**نتایج:** تمرینات تناوبی در گروه تمرین با بهبود گلوکز ناشتا در مقایسه با گروه کنترل همراه بود ( $p < 0.001$ ). افزایش معنی‌داری در سطوح انسولین ( $p < 0.001$ ) و همچنین کاهش معنی‌داری در بیان نسبی TCF7L2 بافت پانکراس گروه تناوبی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ( $p = 0.038$ ). همچنین همبستگی معکوس و معنی‌داری بین بیان نسبی TCF7L2 با نسبت تغییر انسولین گروه تناوبی به کنترل به دست آمد ( $r = -0.84$ ,  $p = 0.034$ ).

**نتیجه‌گیری:** تمرین تناوبی با بهبود سطوح گلوکز و ترشح انسولین در رت‌های دیابتی نوع ۲ همراه است. بر پایه یافته‌های موجود، این بهبود را می‌توان به کاهش بیان TCF7L2 در بافت پانکراس در پاسخ به تمرینات تناوبی نسبت داد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین تناوبی، دیابت نوع ۲، پانکراس، بیان ژن، فاکتور رونویسی TCF7L2

۱- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه

۲- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران

۳- گروه هیپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۹۳۵۵۱۹۶۰، پست الکترونیکی: izadimojtaba2006@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۱

مقدمه

علاوه بر کاهش حساسیت انسولین، آسیب عملکرد سلول‌های بتای پانکراس نیز دارای نقش کلیدی در پاتوژنز دیابت نوع ۲ است (۱). دیابت نوع ۲ نزدیک به ۹۰ درصد از بیماران دیابتی را تشکیل می‌دهد به عنوان شایع‌ترین بیماری مرتبط با اختلال متابولیکی معرفی شده است و انتظار می‌رود تا سال ۲۰۲۵ بیش از ۳۰۰ میلیون نفر را متأثر کند (۱). در پاتوژنز دیابت، تخریب یا اختلال پیش‌رونده عملکرد سلول‌های بتا به ناتوانی در ترشح کافی انسولین جهت جبران و غلبه بر مقاومت انسولین منجر می‌شود (۲). از جمله عوامل مؤثر در این ناهنجاری را می‌توان به نقش گیرنده‌های انسولین در تنظیم عملکرد سلول‌های بتا (۳) و توده سلول‌های بتا و فعل و انفعالات پیچیده بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی مؤثر در سلول‌های پانکراس اشاره نمود (۴).

پاسخ سلول‌های بتا به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در بیماران دیابتی نوع ۲ تا اندازه‌ای است که مطالعات کلینیکی گهگاه کاهش آن را تا ۸۰ درصد نسبت به افراد سالم گزارش نموده‌اند (۵). بین فاکتورهای ژنتیکی، اغلب مطالعات از TCF7L2 به‌عنوان مؤثرترین عامل ژنتیکی محدودکننده ترشح انسولین و میل به دیابت نوع ۲ حمایت نموده‌اند (۶). TCF7L2 یک فاکتور رونویسی مسیره‌ای سیگنالینگ (WTF: Wntsignaling-Associated Transcription Factor) در چندین بافت بدن نظیر دستگاه گوارش و پانکراس (۷) است. تغییرات ژنتیکی در نواحی غیر کد شده TCF7L2 شدیداً با خطر دیابت نوع ۲ مرتبط است (۸). این نواحی غیر کد شونده حاوی عناصر تنظیم‌کننده سیس هستند که TCF7L2 را در انواع متعددی از بافت‌های درگیر در هموستاز گلوکز بیان می‌کنند و به این نکته که واریانت‌های خطر احتمالاً بیان TCF7L2 را تغییر می‌دهند اشاره دارد (۹). مطالعات کلینیکی گزارش نموده‌اند که آلل‌های خطر TCF7L2 در دیابتی‌های زن و مرد به ترتیب ۱/۵۳ و ۱/۳۲ بالاتر از غیر دیابتی‌ها است (۱۰). افزایش بیان آن در پانکراس خطر دیابت نوع ۲ را ۱/۴۶ تا ۲ برابر افزایش می‌دهد. مطالعات کلینیکی آشکار نموده‌اند که

افزایش بیان TCF7L2 در پانکراس به واسطه کاهش تبدیل پروانسولین به انسولین و آسیب رهایی اینکرتین‌ها حتی در غیاب چاقی و مستقل از شاخص توده بدن به کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتا منجر می‌شود (۱۱). بر پایه برخی مطالعات ژنتیکی، افزایش ۵ برابری بیان آن در بافت پانکراس دیابتی‌ها در مقایسه با افراد سالم گزارش شده است (۱۲).

شناخت عملکرد TCF7L2 نقش مهمی را در درمان دیابت و حتی پری دیابتی‌ها بازی می‌کند. عملکرد متقابل TCF7L2 با GLP-1 در ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس قبلاً توسط برخی مطالعات گزارش شده است (۱۳). روی هم رفته، این شواهد به این نکته اشاره می‌کنند که کاهش پیش‌رونده ترشح انسولین وابسته به TCF7L2 بیانگر نقش واریانت‌های TCF7L2 در میل به گسترش دیابت نوع ۲ است (۱۴).

از این رو، مطالعات متعددی با هدف تعیین اثر محرک‌ها یا مداخلات بیرونی به جهت بهبود فاکتورهای تعیین دیابت نوع ۲ در حال اجراست. در این میان، جدا از مداخلات دارویی، نقش اصلاح رژیم غذایی و الگوهای متفاوت تمرین و فعالیت بدنی به عنوان درمان‌های غیر دارویی در پیشگیری از شیوع دیابت و یا کاهش شدت آن در بیماران مبتلا همواره در کانون توجه محققان علوم سلامت و تندرستی معطوف شده است. از طرفی، علیرغم مطالعات متعدد که به نوعی تأثیر برنامه‌های تمرینی متفاوت بر فاکتورهای متابولیکی و هورمونی مؤثر در دیابت نوع ۲ را گزارش نموده‌اند (۱۵)، اما پاسخ فاکتورهای ژنتیکی به ورزش به‌ویژه آنهایی که ترشح انسولین را در دیابت نوع ۲ متأثر می‌کنند کمتر مطالعه شده است.

در زمینه تأثیر تمرینات ورزشی بر فاکتورهای مؤثر در شیوع یا شدت دیابت، شیوه‌های تمرین متفاوتی ارائه شده‌اند و بسته به نوع، شدت و تکرار جلسات تمرینی، نوع جمعیت مورد مطالعه به لحاظ وزن و دامنه سنی و الگوی زندگی قبل از مداخله، پاسخ متناقضی ارائه شده‌اند. برای مثال، محققان بر این باورند که برخی سازگاری‌ها که متعاقب تمرینات استقامتی

رت‌های مورد مطالعه در هر دو گروه HIIT و کنترل، در اتاقی به ابعاد ۵ در ۱۰ متر در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ عصر و شروع خاموشی ۶ صبح) با دمای ( $22 \pm 3$  سانتی‌گراد) و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ۵۰ در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر (۳ سر رت در هر قفس) به گونه‌ای که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند در آزمایشگاه حیوانات فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت‌بدنی دانشگاه تهران نگهداری شدند. جابجایی رت‌ها در طول دوره مطالعه توسط یک نفر انجام می‌گرفت. مدت آشنایی و سازگاری رت‌ها با شرایط محیطی آزمایشگاه ۲ هفته در نظر گرفته شد.

القای دیابت نوع ۲ توسط تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید- استرپتوزوتوسین محلول در بافر سیترات با  $PH=4/5$  انجام گرفت. بطوریکه ابتدا نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن تزریق‌شده و پس از ۱۵ دقیقه استرپتوزوتوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد (۱۹). یک هفته بعد از تزریق، جهت اطمینان از ایجاد دیابت در رت‌ها، قطره‌ای خون از ورید دمی اخذ و میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (Boehringer Mannheim Indianapolis IN) قرائت شد. رت‌های دارای قند خون بالای ۱۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر دیابتی در نظر گرفته شدند (۲۰).

مداخله ورزشی برای گروه HIIT در قالب تمرینات تناوبی شدید به مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته در قالب دویدن روی تردمیل با تکرارهای یک‌دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای (راه رفتن) بین هر تکرار با هدف تعیین اثر آن بر سطوح گلوکز ناشتا، انسولین سرم و بیان نسبی TCF7L2 در بافت پانکراس نسبت به گروه کنترل که در برنامه تمرینی شرکت نداشتند انجام گرفت (۲۱)، تعدیل‌شده برای رت‌های دیابتی نوع ۲). جزئیات برنامه تمرینی در جدول ۱ خلاصه شده است. گروه کنترل در این مدت در برنامه تمرینی شرکت نداشتند. همه موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تشریح شدند.

طولانی مدت حاصل می‌شود در پاسخ به تمرینات تناوبی شدید (HIIT: High Intensity Intermittent Training) با حجم تمرین کمتر به مراتب سریع‌تر حاصل می‌شود (۱۶). در این زمینه، مشخص شده است که ۲ هفته تمرینات HIIT روی دوچرخه کارسنج با کاهش معنی‌دار هایپرگلیسمی در بیماران دیابتی نوع ۲ همراه است (۱۷). همچنین تمرینات HIIT در قالب پیاده‌روی‌های شدید با بهبود عملکرد انسولین و ظرفیت متابولیک عضلات اسکلتی و بهبود عملکرد سلول‌های بتا (۱۸) در این بیماران همراه است.

از طرفی، افزایش عملکرد سلول‌های بتا و ترشح بیشتر انسولین در پاسخ به تمرینات HIIT یا سایر متدهای تمرینی نیز بارها گزارش شده است؛ اما تاکنون مطالعه‌ای که پاسخ یا سازگاری فاکتورهای ژنتیکی مؤثر در ترشح انسولین نظیر TCF7L2 به تمرینات ورزشی مختلف را در بافت پانکراس بیماران دیابتی دنبال نماید به چشم نمی‌خورد. از این رو مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر یک دوره تمرینات HIIT (۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته) بر سطوح گلوکز، انسولین و بیان نسبی TCF7L2 در بافت پانکراس در رت‌های دیابتی شده نوع ۲ انجام می‌گیرد. همچنین برای پاسخ به این سؤال که آیا تغییر در بیان TCF7L2 به‌واسطه تمرینات HIIT با تغییر سطوح انسولین سرم در رت‌های مورد مطالعه مرتبط است ارتباط بین تغییرات انسولین و بیان TCF7L2 در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل اندازه‌گیری خواهد شد.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی-کاربردی، تعداد ۱۶ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای در دامنه وزنی  $20 \pm 220$  گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله خریداری شده و سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه تهران منتقل شدند. در ادامه، پس از آشنایی با محیط آزمایشگاه، کلیه رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید-استرپتوزوتوسین دیابتی نوع ۲ شده و به دو گروه (۱) تمرین HIIT (۱۲ هفته، هفته‌ای ۵ جلسه،  $n = 8$ )، (۲) کنترل (عدم تمرین،  $n = 8$ ) تقسیم شدند.

جدول ۱: الگوی ۱۲ هفته تمرینات HIIT به تفکیک زمان و سرعت دویدن در رت‌های گروه تجربی

هفته	تکرارهای یک دقیقه‌ای (سرعت: متر بر دقیقه)	استراحت فعال (سرعت: متر بر دقیقه)
اول	۱۶	۱۰
دوم و سوم	۲۰	۱۰
چهارم و پنجم	۲۵	۱۲
ششم و هفتم	۳۰	۱۲
هشتم و نهم	۳۳	۱۴
دهم تا دوازدهم	۳۶	۱۴

از RNA توسط کیت (Rneasy protect mini kit QIAGEN) بافت پانکراس مطابق با دستورالعمل شرکت استخراج شد. به طوری که ۲۰ میلی گرم از بافت را با استفاده از اسکالپر خرد نموده و وارد میکروتیوپ می‌کنیم و سپس RNA با استفاده از کیت RNeasy Protect مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده آلمانی استخراج شد (۲۲). تعیین TCF mRNA توسط RT-PCR Real time به وسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا مطابق با دستورالعمل شرکت استفاده گردید. آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام گرفت. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه روتورژن در Real time-PCR شامل:  $42^{\circ}$  به مدت ۲۰ دقیقه،  $95^{\circ}$  به مدت ۲ دقیقه و  $40^{\circ}$  سیکل با  $94^{\circ}$  به مدت ۱۰ ثانیه و  $60^{\circ}$  به مدت ۴۰ ثانیه بود. پس از مرحله PCR، جهت مطالعه ویژگی پرایمرها، از دماهای ۵۰ تا ۹۹ درجه سانتی‌گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از RNA Polymrase II به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان TCF7L2 استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول ۲ بیان شده‌اند. CT های مربوط به واکنش‌ها توسط نرم افزار دستگاه Real time-PCR استخراج و ثبت گردید. جهت کمی‌سازی بیان TCFmRNA، از روش  $\Delta\Delta CT$  مقایسه‌ای استفاده گردید.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، رت‌های هر گروه به واسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شدند و با برش پوست در ناحیه شکم و قفسه سینه، از طریق باز کردن حفره شکمی، حدود ۵ میلی لیتر خون به طور مستقیم از قلب رت‌ها جهت اندازه‌گیری گلوکز و انسولین گرفته شد. بافت پانکراس رت‌ها نیز پس از استخراج و شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlater<sup>TM</sup> با نسبت ۲۰ درصد جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک غوطه‌ور گردید.

غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ‌سنجی با فن‌آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران (TRULAB N-ParsAzmun) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون گلوکز به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۵ میلی گرم بر دسی لیتر بود. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری (Demeditec Diagnostic insulin ELIZA) ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون انسولین به ترتیب ۲/۶ و ۲/۸۸ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۱/۷۶ بود.

جدول ۲: الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Gene Bank	Tm	Product size	Primer sequence	Genes
NM_001191052.1	60	159 bp	For: CGTCCATGGTCCCTTCCTC	TCF7L2
			Rev: ACTTCAATCAAGCAGGGGCAC	
XM_008759265.1	60	164 bp	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC	RNA Polymrase II
			Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	

### نتایج

وزن بدن در شرایط قبل و پس از مطالعه در هر دو گروه اندازه گیری شد. مقادیر مربوط به وزن رت‌ها در دو گروه HIIT و کنترل در جدول شماره ۳ خلاصه شده است. داده‌ها بر اساس انحراف استاندارد  $\pm$  میانگین معرفی شده‌اند. در شرایط پایه یا به عبارتی قبل از اعمال برنامه تمرینی، تفاوت معنی‌داری در وزن رت‌ها بین دو گروه مورد مطالعه وجود نداشت ( $p=0/632$ ). در گروه کنترل، اگرچه وزن رت‌ها پس از مطالعه نسبت به شروع مطالعه افزایش یافت اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $p=0/148$ ). از طرفی، وزن رت‌ها در گروه HIIT به میزان معنی‌داری نسبت به قبل از برنامه تمرینی افزایش یافت ( $p=0/012$ ). با این وجود، تفاوت معنی‌داری بین وزن رت‌ها در شرایط پس از برنامه تمرینی بین دو گروه مشاهده نشد ( $p=0/113$ ).

از آزمون کولموگروف اسمیرنوف جهت اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها استفاده گردید. آنالیز داده با استفاده از آزمون تی مستقل انجام گرفت. به عبارتی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌های گروه HIIT و گروه کنترل قربانی و سطوح گلوکز، انسولین سرم و بیان TCF7L2 اندازه‌گیری شدند و از آزمون آماری تی مستقل برای مقایسه سطوح گلوکز، انسولین سرم و بیان ژن TCF7L2 بین دو گروه استفاده شد. همچنین برای تعیین همبستگی بین سطوح نسبی بیان ژن و سطوح نسبی انسولین بین دو گروه (در شرایط پس از مطالعه) از آزمون همبستگی پیرسون استفاده گردید. سطح معنی‌دار نیز  $\alpha=0/05$  در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS/Win نسخه ۱۶ انجام گرفت.

جدول ۳: تغییرات وزن بدن (گرم) در شرایط قبل و بعد از مداخله تمرینی در گروه‌های مورد مطالعه (انحراف استاندارد  $\pm$  میانگین).

گروه	قبل از مداخله	بعد از مداخله
کنترل	$219 \pm 28$	$255 \pm 42$
تجربی	$218 \pm 21$	$271 \pm 61$

کنترل و HIIT بعد از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا تشریح شده و پس از نمونه‌گیری خون و استخراج پانکراس، متغیرهای وابسته بین دو گروه اندازه‌گیری و توسط آزمون تی مستقل مقایسه شدند. بر پایه یافته‌های حاصل از آزمون آماری، ارائه برنامه تمرینی در

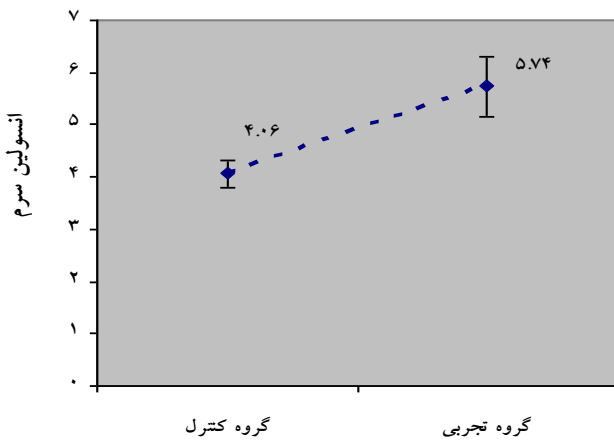
لازم به ذکر است که مقایسه سطوح انسولین، گلوکز و بیان ژن TCF7L2 بین گروه کنترل و HIIT، جملگی در شرایط پس از برنامه تمرینی (پس از تشریح) انجام گرفته است. به عبارتی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، کلیه رت‌های گروه

سرم نسبت به گروه کنترل منجر شد ( $p < 0.001$ )، جدول ۴، نمودار ۲).

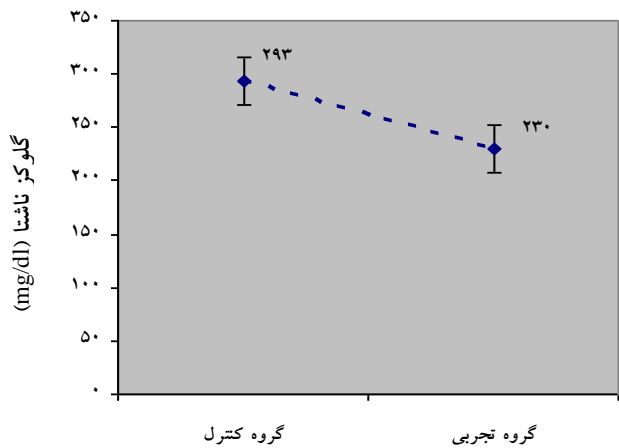
گروه HIIT به کاهش معنی دار سطوح گلوکز ناشتا نسبت به گروه کنترل منجر شد ( $p < 0.001$ )، جدول ۴، نمودار ۱). تمرینات HIIT همچنین به افزایش معنی دار سطوح انسولین

جدول ۴: سطوح گلوکز و انسولین متعاقب مداخله تمرینی در دو گروه تجربی و کنترل

متغیر	گروه کنترل	گروه ورزش	p-value
گلوکز (mg/dl)	293 ± 12	230 ± 12	$p < 0.001$
انسولین سرم (μIU/ml)	4.06 ± 0.25	5.74 ± 0.57	$p < 0.001$



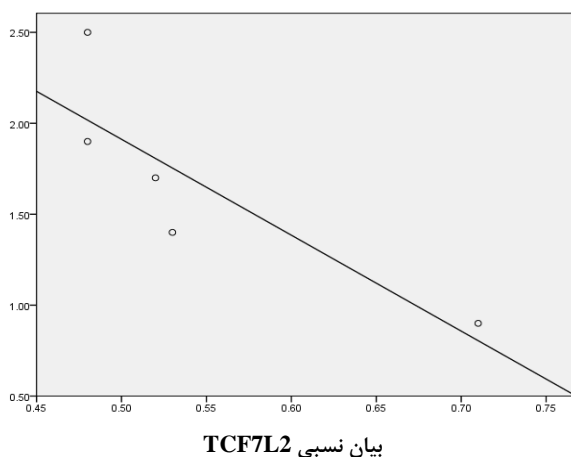
نمودار ۲: سطوح انسولین سرم در گروه‌های HIIT و کنترل. انسولین سرم متعاقب ۱۲ هفته تمرین HIIT نسبت به رت‌های تمرین نکرده به میزان معنی داری افزایش یافت ( $p < 0.001$ ).



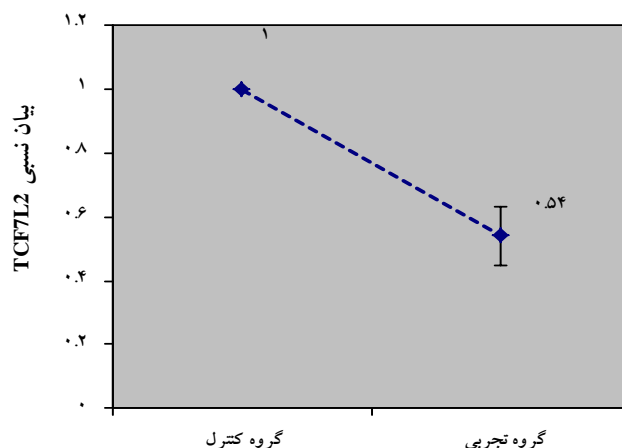
نمودار ۱: سطوح گلوکز ناشتا در گروه‌های ۱۲ هفته تمرین و کنترل. گلوکز ناشتا متعاقب ۱۲ هفته تمرین HIIT نسبت به رت‌های تمرین نکرده به میزان معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.001$ ).

از طرفی، ارتباط معکوس و معنی داری بین سطوح نسبی بیان TCF7L2 و سطوح نسبی انسولین سرم در گروه HIIT نسبت به کنترل مشاهده شد ( $p = 0.034$ ،  $r = -0.84$ )، نمودار ۴).

بیان نسبی ژن TCF7L2 در بافت پانکراس در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل به میزان معنی دار کاهش یافت ( $p = 0.038$ ، نمودار ۳). به عبارتی، پس از تمرینات HIIT، یک کاهش ۴۶ درصدی در بیان TCF7L2 بافت پانکراس گروه HIIT نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.



نمودار ۴: ارتباط بین سطوح نسبی بیان TCF7L2 و انسولین در گروه HIIT به کنترل. ارتباط معکوس و معنی‌داری بین سطوح نسبی بیان TCF7L2 و سطوح نسبی انسولین سرم در گروه HIIT نسبت به کنترل مشاهده شد ( $r = -0/84$ ,  $p = 0/034$ ).



نمودار ۳: بیان نسبی TCF7L2 بافت پانکراس در گروه‌های HIIT و کنترل. بیان نسبی TCF7L2 متعاقب ۱۲ هفته HIIT نسبت به رت‌های تمرین نکرده کاهش معنی‌داری یافت ( $p = 0/038$ ).

### بحث

حاصل از مطالعه آینده‌نگر توسط انجمن دیابت بریتانیا و همچنین مطالعه دیابت بلفاست، مشخص شده است که در دیابت نوع ۲، عملکرد سلول‌های بتا ۵۰ تا ۶۰ درصد کاهش می‌یابد و شروع کاهش عملکرد این سلول‌ها حدوداً به ۱۰ تا ۱۲ سال قبل از ظهور هایپرگلیسمی بر می‌گردد (۲۸). محققان بر این باورند که کاهش ترشح انسولین در دیابتی‌های نوع ۱ و ۲ ریشه در اختلالات ژنتیکی دارد (۵). در این زمینه، اگرچه بر پایه مشاهدات کلینیکی، سهم پلی مورفیسم‌های TCF7L2 یا اختلال بیان آن در پانکراس در شیوع و شدت دیابت نوع ۲ و پیامد آن افزایش سطوح گلوکز خون بارها گزارش شده است (۶،۱۱). از این رو، جدا از سایر عوامل مؤثر، کاهش گلوکز رت‌های دیابتی در پاسخ به تمرینات HIIT در مطالعه حاضر را شاید بتوان به نوعی با کاهش بیان TCF7L2 در بافت پانکراس نسبت داد. چراکه نوعی همبستگی معکوس و معنی‌دار نیز بین بیان نسبی TCF7L2 با میزان تغییرات انسولین در پاسخ به

یافته اصلی مطالعه حاضر، کاهش بیان نسبی TCF7L2 در بافت پانکراس رت‌های دیابتی نوع ۲ متعاقب ۱۲ هفته تمرین HIIT است. کاهش معنی‌دار سطوح گلوکز ناشتا و همچنین افزایش سطوح انسولین سرم از دیگر یافته‌های این مطالعه است. اگرچه برخی مطالعات انسانی عدم تأثیر تمرینات ورزشی هوازی یا مقاومتی روی عملکرد انسولین یا گلوکز را گزارش نموده‌اند (۲۳،۲۴). با این وجود، در مطالعه دیگری، ۸ هفته تمرین HIIT به کاهش معنی‌دار سطوح گلوکز ناشتا و هموگلوبین گلیکوزیله و افزایش معنی‌دار عملکرد سلول‌های بتا و انسولین منجر شد (۲۵). کاهش معنی‌دار گلوکز خون همچنین در پاسخ به ترکیبی از تمرینات طولانی مدت HIIT با مکمل‌های دارویی نیز قبلاً گزارش شده است (۲۶).

مطالعات کلینیکی اشاره نموده‌اند که بیماران دیابتی نوع ۲ از یک کاهش ۴۰ تا ۶۰ درصدی توده سلول‌های بتا نسبت به گروه غیر دیابتی برخوردارند (۲۷). از طرفی، بر پایه یافته‌های

تمرینات HIIT نسبت به گروه کنترل که در برنامه تمرینی شرکت نداشتند، مشاهده شد.

هنگامی که TCF7L2 به عنوان یک ژن مستعد دیابت نوع ۲ شناسایی شد به طور گسترده‌ای بین محققان دیابت ناشناخته بود. در این زمینه، شواهد اولیه زمانی ارائه شد که عدم تحمل گلوکز در موش‌های با نقص سیگنال‌های wnt کانونیکال به واسطه حذف یا برداشت ژنتیکی گیرنده wnt (Irp5) مشاهده شد (۲۹)؛ اما در سال‌های اخیر نقش آن در چندین عملکرد حیاتی در جزایر پانکراس مشخص شده است. اول اینکه TCF7L2 در رشد و گسترش پانکراس اهمیت ویژه‌ای دارد اگرچه چگونگی تأثیر آن روی تشکیل و تکثیر سلول‌های درون ریز پانکراس کاملاً شناخته نشده است (۳۰). علاوه بر این، به نظر می‌رسد TCF7L2 جهت حفظ سیتوزولی وابسته به SDF-1/CXCR4 در سلول‌های بتا مورد نیاز باشد (۳۱) که هر دوی این اثرات وابسته به TCF7L2 در افزایش تکثیر و تعداد سلول‌های بتا دخیل هستند و به نقش این فاکتور رونویسی به عنوان یک تعیین کننده کلیدی توده سلول‌های بتا و ترشح انسولین اشاره دارد. نقش مستقیم TCF7L2 بر سلول‌های بتا توسط مطالعاتی با استفاده از مهار کوتاه مدت RNA الیگونوکلوئوتیدها حمایت شد طوری که آن‌ها آشکار نمودند که بقای سلول‌های بتا و همچنین ترشح انسولین وابسته به گلوکز کاهش می‌یابد (۳۲). اثر دیگر آن را به تنظیم منفی گلوکوکیناز، انسولین و نسبت پروتئین به ژن در فرآیندهای آگزوسیتوز نسبت داده‌اند (۳۳).

عنوان شده است که دیابتی‌های نوع ۲ می‌بایست در طول هفته ۱۵۰ دقیقه ورزش هوازی با شدت متوسط معادل ۵۰ تا ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه را در برنامه‌های کاری خود بگنجانند (۲۳، ۲۷). به نظر می‌رسد که اثرات سودمند تمرینات هوازی با شدت متوسط به تغییرات در وزن بدن وابسته است (۶)، اما مشخص شده است که سطوح گلوکز خون در این بیماران را می‌توان به واسطه تمرینات با شدت بالاتر نیز بهتر کنترل نمود. از طرفی، برخی محققان به اثرات سودمند ورزش‌های نسبتاً شدید با رعایت برخی استراتژی‌ها بر هموستاز

گلوکز در این بیماران اشاره نموده‌اند (۳۲) و مطالعات گسترده‌ای در این زمینه در حال اجراست.

اگرچه هنوز یک تعریف علمی مشخص از HIIT بیان نشده است اما HIIT معمولاً به تکرارهای تمرینی کوتاه‌مدت شدید که در شدت‌های معادل یا نزدیک به اوج اکسیژن مصرفی اعمال می‌گردد اطلاق می‌شود (۳۴). از طرفی، به لحاظ اینکه انرژی سلولی در هر تکرار یا هر جلسه تمرینی تنها به انرژی‌زایی اکسایشی یا غیراکسایشی وابسته نیست به سازگاری‌های فیزیولوژیکی بهینه‌ای منجر می‌شود (۳۴). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که برخی سازگاری‌های فیزیولوژیکی که متعاقب تمرینات استقامتی طولانی مدت به دست می‌آید در پاسخ به تمرینات HIIT با حجم تمرین کمتر به مراتب سریع‌تر حاصل می‌شود (۲۱). برای مثال، مشخص شده است که ۲ هفته تمرینات HIIT روی دوچرخه کارسنج با کاهش شدید هایپرگلیسمی در بیماران دیابتی نوع ۲ همراه است (۱۷). همچنین تمرینات اینتروال در قالب پیاده‌روی‌های شدید با بهبود عملکرد انسولین و ظرفیت متابولیک عضلات اسکلتی و بهبود عملکرد سلول‌های بتا (۱۸) در این بیماران همراه است.

برخی محققان اثرات بهینه تمرینات تناوبی نسبت به تمرینات استقامتی مداوم را به کاهش بیشتر در کل چربی بدن یا توده چربی شکمی نسبت داده‌اند. بطوریکه بهبود قابل ملاحظه‌ای در هر دو عملکرد سلول‌های بتا و مقاومت انسولین در پاسخ به ۸ هفته تمرینات HIIT مشاهده شد (۲۵). در مطالعه حاضر نیز تمرینات HIIT به کاهش معنی‌دار گلوکز خون، افزایش معنی‌دار انسولین سرم و همچنین کاهش بیان نسبی TCF7L2 در بافت پانکراس رت‌های دیابتی نوع ۲ منجر شد. علیرغم یافته‌های مطالعه حاضر و وجود شواهد کافی در خصوص اثرات سودمند متدهای تمرینی متفاوت روی عملکرد سلول‌های بتا و انسولین، بهبود گلوکز و افزایش انسولین سرم را نمی‌توان مستقیماً به کاهش بیان TCF7L2 نسبت داد. چراکه پاسخ‌های مناسب سایر میانجی‌های هورمونی و متابولیکی مؤثر در عملکرد انسولین و کنترل گلیسمیک به فعالیت ورزشی توسط سایر مطالعات نیز بارها گزارش شده است (۱۶)؛ اما در



پایان، اگرچه مطالعات پیشین به افزایش بیان TCF7L2 در پانکراس رت‌های دیابتی نسبت به رت‌های سالم اشاره نموده‌اند اما عدم وجود گروه سالم به جهت مقایسه بیان ژن مذکور یا سایر متغیرهای وابسته با گروه دیابتی به عنوان محدودیت اصلی مطالعه حاضر اشاره می‌شود.

### نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر بیانگر بهبود گلوکز و افزایش سطوح انسولین سرم رت‌های دیابتی نوع ۲ در پاسخ به تمرینات HIIT است. بر پایه شواهد کلینیکی موجود در خصوص نقش TCF7L2 در ترشح انسولین و با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، کاهش گلوکز خون و بهبود سطوح انسولین سرم را شاید بتوان به نوعی به کاهش بیان TCF7L2 در بافت پانکراس در پاسخ به تمرینات HIIT نسبت داد چرا که نوعی همبستگی معکوس و معنی‌دار بین بیان نسبی TCF7L2 و تغییرات انسولین در گروه تمرین نسبت به کنترل مشاهده شد. با این وجود، به مطالعات سلولی-مولکولی بیشتری در این زمینه نیاز است.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از همکاری دکتر کاظم باعنی عضو هیئت علمی انستیتو پاستور ایران و همچنین دکتر اصغر ظریفیان به جهت انجام آزمایش‌های ژنتیکی و الیزا تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### References

- 1- Adegate E, Schattner P, Dunn E. *An update on the etiology and epidemiology of diabetes mellitus*. Ann N Y Acad Sci 2006; 1084:1-29.
- 2- Bergman RN, Finegood DT, Kahn SE. *The evaluation of  $\beta$ -cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes*. Eur J Clin Invest 2002; 32: 35-45.
- 3- Da Silva Xavier GQ, Cullen PJ, Rutter GA. *Distinct roles for insulin and insulin-like growth factor-1 receptors in pancreatic beta-cell glucose sensing revealed by RNA silencing*. Biochem J 2004; 377(1): 149-58.
- 4- Amra C. *The T-Allele of TCF7L2 rs7903146 Associates with a Reduced Compensation of Insulin Secretion for Insulin Resistance Induced by 9 Days of Bed Rest*. DIABETES 2010; 59: 836-43.

کنار شواهد موجود و با استناد به ارتباط معکوس و معنی‌دار بین سطوح نسبی بیان TCF7L2 و سطوح نسبی انسولین سرم در گروه تمرینی نسبت به کنترل در مطالعه حاضر، افزایش ترشح انسولین و کاهش گلوکز خون را می‌توان به نوعی به کاهش بیان TCF7L2 نسبت داد. چرا که مطالعات کلینیکی به شدت از تأثیر بالقوه بیان TCF7L2 و پلی مورفیسم آن در عملکرد سلول‌های بتا و ترشح انسولین حمایت نموده‌اند (۶،۱۱).

از طرفی، افزایش انسولین در پاسخ به تمرین ورزشی را شاید بتوان به تغییر در سایر عوامل محیطی یا ژنتیکی یا مسیرهای غیرمستقیم وابسته به TCF7L2 نسبت داد. چرا که مشخص شده است که TCF7L2 به‌طور غیرمستقیم با تأثیر بر سایر عوامل ژنتیکی، ترشح انسولین از سلول‌های بتا را متأثر می‌کند که آسیب‌رهایی اینکرتین‌ها و همچنین آسیب پروانسولین به انسولین از مهم‌ترین آن‌ها به شمار می‌روند. برای مثال، مطالعات علمی آشکار نموده‌اند که ورزش به افزایش ناقل‌های گلوکز (GLUT2) و بهبود مسیرهای سیگنالینگ AKT و گلوکوکیناز و تنفس میتوکندریایی (۳۵) در بافت پانکراس که جملگی ترشح انسولین را متأثر می‌کنند، منجر می‌شود. از طرفی، مشخص شده است که AKT1، GLUTE2 و FoXo1 که عملکرد سلول‌های بتا و ترشح انسولین را متأثر می‌کنند از ژن‌های هدف TCF7L2 در بافت پانکراس هستند (۳۲،۳۳). در

- 5- Ruchat SM, Rankinen T, Weisnagel SJ, Rice T, Rao DC, Bergman RN, et al. *Improvements in glucose homeostasis in response to regular exercise are influenced by PPARγ Pro12Ala variant: results from the HERITAGE Family Study*. Diabetologia 2010; 53(4): 679-89.
- 6- Anders R, Ola H. *Mechanisms whereby genetic variation in the TCF7L2 gene causes diabetes: novel targets for anti-diabetic therapy?* New grants from Hjelt foundation 2013.
- 7- Parton LE, McMillen PJ, Shen Y. *Limited role for SREBP-1c in defective glucose-induced insulin secretion from Zucker diabetic fatty rat islets: a functional and gene profiling analysis*. Am J Physiol Endocrinol Metab 2006; 291: 982-94.
- 8- Florez JC. *The new type 2 diabetes gene TCF7L2*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2007; 10: 391-6.
- 9- Savic D, Ye H, Aneas I, Park SY, Bell GI, Nobrega A. *Alterations in TCF7L2 expression define its role as a key regulator of glucose metabolism*. Genome Res 2011; 21: 1417-1425.
- 10- Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, Burt NP, de Bakker PI, Chen H, et al. *Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels*. Science 2007; 316: 1331-1336.
- 11- Villareal DT, Robertson H, Bell GI. *TCF7L2 variant rs7903146 affects the risk of type 2 diabetes by modulating incretin action*. Diabetes 2010; 59: 479-485.
- 12- Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Del-Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P, et al. *Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes*. J Clin Invest 2004; 117: 2155-2163.
- 13- Samson S. *Role of Wnt signaling and TCF7L2 for beta cell function and regeneration in mouse models of diabetes*. Baylor College of Medicine, Houston, Texas. 2011.
- 14- Cornelis MC, Qi L, Kraft P, Hu FB. *TCF7L2, dietary carbohydrate, and risk of type 2 diabetes in US women*. Am J Clin Nutr 2009; 89: 1256-62.
- 15- Eizadi M, Behboudi L, Zahedmanesh F, Afsharmand Z. *Effect of Acute and Chronic Exercise on Beta-Cell Function in Diabetic Patients*. Knowledge & Health 2012; 6(4): 15-19.
- 16- Gibala MJ. *High intensity interval training: new insights*. Sports Science Exchange 2007; 20(2): 1-8.
- 17- Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. *Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes*. J Appl Physiol 2011; 111(6): 1554-1560.
- 18- Slentz CA, Tanner CJ, Bateman LA, Durham MT, Huffman KM, Houmard JA, et al. *Effects of exercise training intensity on pancreatic beta-cell function*. Diabetes Care 2009; 32(10): 1807-1811.
- 19- William C, Knowler MD, Elizabeth BC, Sarah E, Richard F, Hamman MD et al. *Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin*. N Engl J Med 2002; 346:393-403.

- 20- Garrow JS. *Obesity: definition, Aetiology and Assessment. Encyclopedia of human nutrition*. Academic press. 1999; 1430-34.
- 21- Mogharnasi M, Gaeini A, Kordi M, Ravasi A, Javadi E, Sheykholeslami D. *The Effect of Four Weeks of Detraining after a Period of Intense Sprint Training on Risk Factors of Atherogenic Inflammatory Damages*. J Sport Biosciences 2011; 3(9): 5-20.
- 22-Coughlin CC, Finck BN, Eagon JC, Halpin VJ, Magkos F, Mohammed BS, et al. *Effect of marked weight loss on adiponectin gene expression and plasma concentrations*. Obesity (Silver Spring) 2007; 15(3): 640-5.
- 23- De Fronzo RA, Sherwin RS, Kraemer N. *Effect of physical training on insulin action in obesity*. Diabetes 1987; 36: 1379–1385.
- 24- Donges CE, Duffield R, Guelfi KJ, Smith GC, Adams DR, Edge JA. *Comparative effects of single-mode vs. duration-matched concurrent exercise training on body composition, low-grade inflammation, and glucose regulation in sedentary, overweight, middle-aged men*. Appl Physiol Nutr Metab 2013; 38(7): 779-88.
- 25- Madsen SM, Thorup AC, Overgaard K, Jeppesen PB. *High Intensity Interval Training Improves Glycaemic Control and Pancreatic  $\beta$  Cell Function of Type 2 Diabetes Patients*. PLoS One 2015;10(8): e0133286.
26. Marquis-Gravel G, Hayami D, Juneau M, Nigam A, Guilbeault V, Latour É, Gayda M. *Intensive lifestyle intervention including high-intensity interval training program improves insulin resistance and fasting plasma glucose in obese patients*. Prev Med Rep 2015; 2: 314-8.
- 27- Westermark P, Wilander E. *The influence of amyloid deposits on the islet volume in maturity onset diabetes mellitus*. Diabetologia 1978; 15: 417–421.
- 28- Levy J. *Beta-cell deterioration determines the onset and rate of progression of secondary dietary failure in type 2 diabetes mellitus: the 10-year follow up of the Belfast Diet Study*. Diabet Med 1998; 15: 290–296.
- 29- Fujino T, Asaba H, Kang MJ. *Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion*. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 229–234.
- 30- Murtaugh LC, Law AC, Dor Y. *Beta-catenin is essential for pancreatic acinar but not islet development*. Development 2005; 132: 4663– 4674.
- 31- Liu Z, Haben er JF. *Stromal cell-derived factor-1 promotes survival of pancreatic beta cells by the stabilisation of beta catenin and activation of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2)*. Diabetologia 2009; 52: 1589–1598.
- 32- Shu L, Sauter NS, Schulthess FT. *Transcription factor 7-like 2 regulates beta-cell survival and function in human pancreatic islets*. Diabetes 2008; 57: 645–653.
- 33- Shu L, Matveyenko AV, Kerr-Conte J. *Decreased TCF7L2 protein levels in type 2 diabetes mellitus correlate with down-regulation of GIP- and GLP-1 receptors and impaired beta-cell function*. Hum Mol Genet 2009; 18: 2388– 2399.

- 34- Ross A, Leveritt M. *Long-term metabolic and skeletal muscle adaptations to short-sprint training: implications for sprint training and tapering*. Sports Med 2001; 31: 1063-1082.
- 35- Delghingaro-Augusto V, Décary S, Peyot ML, Latour MG, Lamontagne J, Paradis-Isler N, et al. *Voluntary running exercise prevents-cell failure in susceptible islets of the Zucker diabetic fatty rat*. Am J Physiol Endocrinol Metab 2012; 302: 254 –264.

## Relationship between TCF7L2 Relative Expression in Pancreas Tissue with Changes in Insulin by High Intensity Interval Training (HIIT) in Type 2 Diabetes Rats

Mojtaba Eizadi<sup>1</sup>, Rahman Soori<sup>2</sup>, Ali Asghar Ravasi<sup>2</sup>, Kazem Baesi<sup>3</sup>, Sirous Choobineh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Exercise Physiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.

<sup>2</sup> Department of Exercise Physiology, College of Physical Education and Sport Sciences, Tehran University, Tehran, Iran.

<sup>3</sup> Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

Received: 31 May 2016

Accepted: 18 Jan 2017

### Abstract

**Introduction:** Both environmental and genetic factors have been implicated in the development of type 2 diabetes (T2D). The objectives of the present study were: 1) to investigate the effect of high intensity interval training (HIIT) on fasting glucose, insulin and TCF7L2 expression in pancreas tissue of T2D rats, 2) to determine the relation between TCF7L2 expression with insulin changes in the HIIT and control groups.

**Methods:** In the present applied-experimental study, T2D male Wistar rats induced by intraperitoneal streptozotocin-nicotinamide were assigned to control (no-training) and HIIT (5 times/week/12-week) groups. Fasting glucose, serum insulin and TCF7L2 expression in pancreas tissues of both groups were measured after lasted exercise and compared between 2 groups by independent T test. Also, the relation between TCF7L2 expression and insulin of HIIT to the control group was assessed by Pearson correlations.

**Results:** The HIIT training in the training group was associated with improved fasting glucose compared with the control group ( $P < 0.001$ ). A significant increase was observed in serum insulin levels ( $P < 0.001$ ). Also, there was seen a significant decrease in TCF7L2 expression in pancreas tissues in HIIT group compared with the control group ( $P = 0.038$ ). Significant negative correlation was found between TCF7L2 expression and insulin changes of the HIIT to control groups ( $r = -0.84$ ,  $P = 0.034$ ).

**Conclusion:** HIIT training is associated with improvements in glycemic control and insulin secretion in T2D rats. Based on these data, this improvement can be attributed to decrease in TCF7L2 expression at pancreas tissues by HIIT training.

**Keywords:** Interval training, Type 2 diabetes, Pancreas, Gene expression, Transcription factor 7-like 2

#### This paper should be cited as:

Eizadi M, Soori R, Ravasi AA, Baesi K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 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): 981-993.

\*Corresponding author: Tel: 09193551960, email: izadimojtaba2006@yahoo.com