

## The effect of high-intensity interval training on the expressions of CHOP and ATF6 in liver tissue in rats with type 2 diabetes

Hadis Bayat<sup>1</sup>, Mandana Gholami<sup>\*2</sup>, Hamid Rajabi<sup>3</sup>, Hossein Abed Natanzi<sup>4</sup>

Receive 2023 October 09; Accepted 2023 November 10

### Abstract

**Aim:** Type 2 diabetes is a complex metabolic disorder characterized by insulin resistance and glucose dysregulation. It is a major concern of the World Health Organization, affecting millions of people worldwide. The purpose of this study was to investigate the effect of 8 weeks of high-intensity interval training on the expression of activating transcription factor-6 (ATF-6) and C/EBP homologue (CHOP) proteins in liver tissue in rats with type 2 diabetes. **Method:** The current study was experimental with a post-test design with a control group. A number of 24 Wistar male rats, aged 6 weeks and weighing approximately 200-250 grams, were obtained from the Pasteur Institute of Iran. Rats were randomly divided into 3 groups of 8 high intensity interval training (HIIT) diabetic, diabetic control and healthy control. The training groups performed 5 HIIT training sessions on the treadmill during 8 weeks and each week (the training protocol was 8 weeks of interval training, 5 sessions per week with intense 2-minute intervals with 2-8 repetitions and 80-90 The percentage of maximum running speed and 1-minute rest intervals were performed with 50-56% of maximum running speed. After 48 hours from the last training session and after fasting days, all rats were anesthetized and liver tissue was harvested. The data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA). **Results:** The results showed that ATF-6 protein levels in type 2 diabetic male rats did not change significantly after 8 weeks of high-intensity interval training ( $P = 0.73$ ). But CHOP protein levels showed a significant increase after 8 weeks ( $P = 0.001$ ). CHOP protein levels in the diabetic training group showed a non-significant decrease compared to the diabetic control group ( $P < 0.05$ ), but in the diabetic training group compared to the healthy control group, it showed a significant increase ( $P = 0.001$ ). **Conclusion:** As a result, 8 weeks of high-intensity interval training can have beneficial effects on reducing endoplasmic reticulum stress in liver tissue caused by type 2 diabetes in diabetic rats. Furthermore, further research is needed to confirm these findings and explore the potential mechanisms involved.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit [jahssp.azaruniv.ac.ir](http://jahssp.azaruniv.ac.ir)

**Keywords:** intense interval training, endoplasmic reticulum stress, type 2 diabetes

1. Ph.d student of department of Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate Professor of department of Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding-Author): [Gholami\\_man@yahoo.com](mailto:Gholami_man@yahoo.com)
3. Professor of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
4. Associate Professor of department of Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Cite as:* Bayat, Hadis. Gholami, Mandana. Rajabi, Hamid. Abed natanzi, Hosien. The effect of high-intensity interval training on the expressions of CHOP and ATF6 in liver tissue in rats with type 2 diabetes. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2024; 11(1): 86-110.

**Owner and Publisher:** Azarbaijan Shahid Madani University

**Journal ISSN** (online): 2676-6507

**Access Type:** Open Access

**DOI:** 10.22049/JAHSSP.2023.28973.1586



## Extended abstract

### Background

Type 2 diabetes, the predominant form globally, stems from impaired insulin function, impacting carbohydrate, lipid, and protein metabolism. The World Health Organization faces a substantial challenge in managing this widespread metabolic disorder. Lifestyle modifications, including exercise and diabetes management, are crucial, yet the cellular and molecular mechanisms connecting exercise to diabetes improvement remain incompletely understood. Recent attention has focused on the role of endoplasmic reticulum (ER) stress in type 2 diabetes. The ER, vital for protein homeostasis, faces disruption from metabolic abnormalities like obesity, leading to protein accumulation and activating the Unfolded Protein Response (UPR), a cellular stress response aimed at restoring ER balance.

### Materials and Methods

Twenty-four male Wistar rats, aged 6 weeks and weighing approximately 200-250 grams each, were procured from the Pasteur Institute of Iran. Subsequently, they were transferred to the animal laboratory at the Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Kurdistan, in accordance with the guidelines of the Iranian Society for the Protection of Laboratory Animals, for designated scientific and laboratory purposes.

### Experimental design

After inducing type 2 diabetes, the rats were randomly allocated into two groups, each consisting of 8 rats. It is important to note that there were a total of three groups in this study, including the healthy group with 8 rats. Subsequently, the rats in the two groups designated as high-intensity interval training (HIIT) diabetics and diabetic control underwent exercise interventions.

### Training protocol

The training program commenced with initial treadmill running for 10 minutes at a speed of 10 m/min, occurring five days per week during the first week. Subsequently, an 8-week high-intensity interval training regimen was implemented, comprising five sessions per week, with overload achieved through an increase in training sessions. Warm-up and cool-down activities were executed at a speed of 10 m/min for 5 minutes at the initiation and conclusion of each session. The exercise intensity was set at 58% of the maximum oxygen consumption (maximum running speed), and the overall intensity ranged from 95-100% of maximum running speed.

**Determination of maximum speed of rats:** In the present study, Bedford et al.'s standard incremental test (1979) was employed to assess the maximum running speed (22). To determine the maximum running speed corresponding to maximum oxygen consumption (VO<sub>2</sub>max), their VO<sub>2</sub>max was computed based on the strong association between treadmill speed and VO<sub>2</sub>max.

**High-intensity interval training protocol:** Animals underwent a 5-day familiarization on a treadmill at 10 m/min for 10-minute sessions. This was followed by 8 weeks of high-intensity intermittent exercises, with 5 sessions per week, inducing overload by increasing training sessions. Warm-up and cool-down at 16 m/min (68% maximum running speed) were performed at the start and end of each session, maintaining exercise intensity at 95-100% of maximum running speed, with 60-second active rest intervals. Motivation involved electric shocks and gentle movement on the treadmill.

**Extraction of laboratory animal tissue:** Rats were anesthetized with ketamine and xylazine, and liver tissue was extracted post-anesthesia. A 100 mg liver sample was preserved in RNA-later for gene expression analysis, while the remaining 200-300 mg was frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for protein expression analysis. An intraperitoneal injection of ketamine (75 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) was used for anesthesia.

**Assessment of studied factors:** For ATF-6 and CHOP protein assessment via western blotting, the process involved extracting proteins through cell lysis, gel electrophoresis for separation, transfer to a solid membrane, blocking to prevent nonspecific binding, incubation with specific primary antibodies, removal of unbound antibodies, secondary antibody incubation with a detection system, visualization using chemiluminescence or fluorescence, and quantification of protein bands to measure expression levels.

Statistical analysis



The outcomes of statistical analyses were presented as mean and standard deviation, employing statistical software (IBM SPSS Statistics 23.0, Armonk, NY: IBM Corp). One-way analysis of variance (ANOVA) was utilized to examine the impact of high-intensity interval training on ATF-6 and CHOP protein expression within the diabetic group.

## Results

The one-way analysis of variance results indicated that 8 weeks of high-intensity interval training did not result in significant changes in ATF-6 protein levels in type 2 diabetic rats [ $F(2, 14) = 0.32, P=0.730$ ]. However, for CHOP protein levels, the one-way analysis of variance demonstrated a significant alteration after 8 weeks of high-intensity interval training in type 2 diabetic rats [ $F(2, 14) = 29.69, P=0.001$ ]. Tukey's post hoc test revealed a non-significant decrease in CHOP protein levels in the diabetic exercise group compared to the diabetic control group ( $P>0.05$ ). However, a significant increase was observed in the diabetic exercise group compared to the healthy control group ( $P\leq 0.05$ ).

## Discussion

This study delved into the impact of combined exercises on stress indicators, ER markers, and glucose metabolism in type 2 diabetes individuals. The findings suggest that these exercises play a role in alleviating ER stress and improving glucose metabolism. However, the conflicting results from previous studies underscore the need for additional investigation in this field. While some studies propose that moderate-intensity exercise may decrease CHOP protein levels, others present inconclusive outcomes. The variability in effects could be attributed to factors related to metabolic conditions and ER stress levels in individuals with type 2 diabetes. The assessment of high-intensity interval training on ATF-6 protein levels in type 2 diabetic rats revealed no significant influence. A comparative analysis with past studies highlighted potential differential effects of various exercise types based on age disparities and diabetic conditions. Further research also indicates that aerobic exercise can mitigate hepatic endoplasmic reticulum stress and reduce stress-related proteins. In conclusion, there is an urgent need for more extensive research to explore the prolonged effects of the training period and the characteristics of the study population.

## Article message

This 8-week study explored the impact of high-intensity interval training on ATF-6 and CHOP proteins in the liver tissue of type 2 diabetic rats. While ATF-6 protein levels remained unchanged, CHOP levels significantly increased following the training period. Although CHOP levels in the diabetic training group showed a non-significant decrease compared to the diabetic control group, they significantly increased compared to the healthy control group. The findings suggest that high-intensity interval training may have positive effects in alleviating endoplasmic reticulum stress in the liver caused by type 2 diabetes in rats.



## مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال یازدهم، شماره اول؛

بهار و تابستان ۱۴۰۳؛ صفحات ۸۶-۱۱۰

Open Access

مقاله پژوهشی

## تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان پروتئین های POHC و ATF6 بافت کبد در رت های مبتلا به دیابت نوع ۲

حدیث بیات<sup>۱</sup>، ماندانا غلامی<sup>۲\*</sup>، حمید رجبی<sup>۳</sup>، حسین عابد نطنزی<sup>۴</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۹/۰۸/۱۴۰۲

تاریخ دریافت: ۱۷/۰۷/۱۴۰۲

## چکیده

**هدف:** دیابت نوع ۲ یک اختلال متابولیک پیچیده است که با مقاومت به انسولین و اختلال در تنظیم گلوکز مشخص می شود. این یک نگرانی مهم از نظر سازمان بهداشت جهانی است که میلیون ها نفر را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می دهد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت بر بیان پروتئین های فعال کننده عامل رونویسی-۶ (ATF-6) و همولوگ C/EBP (CHOP) بافت کبد در رت های مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. **روش شناسی:** پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل بود. تعداد ۲۴ رت نر نژاد ویستار با سن ۶ هفته و وزن تقریبی ۲۰۰-۲۵۰ گرم، از موسسه پاستور ایران تهیه شدند. رت ها به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی تمرین تناوبی پر شدت (HIIT) دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم تقسیم شدند. گروه های تمرینی در طول ۸ هفته و در هر هفته، ۵ جلسه تمرین HIIT را بر روی نوار گردان اجرا کردند (پروتکل تمرین به صورت ۸ هفته تمرین تناوبی، ۵ جلسه در هفته با تناوب شدید ۲ دقیقه ای با ۲ تا ۸ تناوب و با ۸۰ تا ۹۰ درصد حداکثر سرعت دویدن و تناوب استراحت ۱ دقیقه ای با ۵۰ تا ۵۶ درصد حداکثر سرعت دویدن، اجرا شد). پس از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی و پس از اجرای روزهای ناشتایی، تمامی رت ها بی هوش شدند و مرحله برداشت بافت کبد انجام شد. داده ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تحلیل شدند. **یافته ها:** نتایج نشان داد که مقادیر پروتئین ATF-6 در رت های نر دیابتی نوع ۲ پس از ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت تغییر معنی داری را نشان نداد ( $P=0/73$ ). اما مقادیر پروتئین CHOP پس از ۸ هفته افزایش معنی داری را نشان داد ( $P=0/001$ ). مقادیر پروتئین CHOP در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش غیر معنی داری را نشان داد ( $P<0/05$ ), اما در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم، افزایش معنی داری را نشان داد ( $P=0/001$ ). در نتیجه اجرای ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا می تواند اثرات مفیدی بر کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی در بافت کبد ناشی از دیابت نوع ۲ در رت های دیابتی داشته باشد. علاوه بر این، تحقیقات بیشتری برای تایید این یافته ها و کشف مکانیسم های بالقوه درگیر، مورد نیاز است.

واژه های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، استرس شبکه آندوپلاسمی، دیابت نوع ۲

**نحوه ارجاع:** بیات، حدیث. غلامی، ماندانا. رجبی، حمید. عابدنطنزی، حسین. "تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان پروتئین های CHOP و ATF6 بافت کبد در رت های چاق مبتلا به دیابت نوع ۲". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۳؛ ۱۱ (۱): ۸۶-۱۱۰.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28973.1586



با اسکن QR فوق می توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت [www.jahssp.azaruniv.ac.ir/](http://www.jahssp.azaruniv.ac.ir/) مشاهده کنید

۱. دانشجوی دکتری تخصصی رشته فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و اجتماعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول):
۳. استاد گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۴. دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Gholami\_man@yahoo.com



مدت یا شدید شبکه آندوپلاسمی می تواند منجر به فعال شدن پروتئین همولوگ<sup>۶</sup> C/EBP (CHOP) شود. CHOP که با نام GADD153<sup>۷</sup> نیز شناخته می شود، یک عامل رونویسی است که در پاسخ به استرس طولانی یا شدید شبکه آندوپلاسمی فعال می شود. همینطور CHOP در سیگنال دهی استرس شبکه آندوپلاسمی در بافت های مختلف، هم به عنوان تنظیم کننده آپوپتوز و هم به عنوان میانجی سازگاری سلولی نقش دوگانه ای ایفا می کند (۱۰). در این راستا، استرس ER در کبد افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ مشاهده شده است که می تواند به استئاتوز و التهاب کبد منجر شود. بنابراین، درک مکانیسم های مولکولی زمینه ساز استرس ER در کبد در دیابت نوع ۲ برای شناسایی اهداف درمانی بالقوه برای درمان این بیماری مهم است (۱۱). کبد نقش حیاتی در متابولیسم گلوکز و تنظیم چربی دارد. ATF6 و POHC فاکتورهای رونویسی هستند که در تنظیم بیان ژن مربوط به متابولیسم گلوکز و لیپید در کبد نقش دارند (۱۲). بیان تغییر یافته این پروتئین ها می تواند به اختلال عملکرد متابولیک که در دیابت نوع ۲ و چاقی دیده می شود، منجر شود (۱۳). بررسی تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT<sup>۸</sup>) بر بیان ATF6 و C/EBP در بافت کبد، بینش هایی در مورد مکانیسم های مولکولی بالقوه زیربنایی بهبود متابولیک ناشی از فعالیت ورزشی را فراهم می کند (۱۴). اگرچه تمرینات سنتی مانند تمرینات تداومی به تعدیل عوارض دیابت در بافت های مختلف کمک می کند (۳)، اما HIIT به عنوان یک روش تمرینی کارآمد و موثر برای بهبود متابولیسم گلوکز و حساسیت به انسولین در افراد مبتلا به دیابت 2 ظاهر شده است (۱۵). HIIT شامل دوره های کوتاه تمرین با شدت بالا و به دنبال آن دوره های فعال استراحتی کوتاه است. اگرچه چندین مطالعه اثرات مفید HIIT را بر سلامت متابولیک نشان داده اند (۱۵، ۱۶)، از جمله بهبود کنترل قند خون و حساسیت به انسولین، تاثیر آن بر استرس شبکه آندوپلاسمی و دخالت ATF-6 و CHOP در دیابت نوع ۲ نسبتاً ناشناخته باقی مانده است (۱۶). نتایج پژوهش ماتسونوگا و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که تمرینات پر شدت باعث بهبود عملکرد دیاستولیک و کاهش نشانگرهای استرس شبکه سارکوپلاسمی بافت عضله اسکلتی شد مانند؛ افزایش فعالیت Ca<sup>2+</sup>-ATPase (۱۷). از این رو، درک پاسخ های

## مقدمه

دیابت نوع ۲ با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، لیپید و پروتئین مشخص می شود و ناشی از اختلال در ترشح انسولین، مقاومت به انسولین یا ترکیبی از هر دو است. از بین سه نوع اصلی دیابت، دیابت نوع ۲ بسیار شایع تر از دیابت نوع ۱ (TDM1) یا دیابت بارداری است (بیش از ۹۰ درصد موارد را به خود اختصاص می دهد) (۱). این اختلال متابولیک از نظر سازمان بهداشت جهانی یک چالش مهم محسوب می شود که میلیون ها نفر را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می دهد (۲). اصلاح سبک زندگی، از جمله انجام فعالیت ورزشی منظم، در مدیریت دیابت و عوارض مرتبط با آن بسیار حائز اهمیت می باشد. با این حال، مکانیسم های سلولی-مولکولی که ورزش را با بهبود دیابت مرتبط می کند، هنوز به طور کامل شناخته نشده است (۳). در سال های اخیر، نقش استرس شبکه آندوپلاسمی بافتی در دیابت نوع دوم توجه ویژه ای را به خود جلب کرده است (۴).

شبکه آندوپلاسمی (ER<sup>۱</sup>) یک اندامک چند منظوره است که در سنتز، تا خوردگی و اصلاح پروتئین نقش دارد (۵). تحت شرایط فیزیولوژیکی نرمال، شبکه آندوپلاسمی با اطمینان از تاخوردگی پروتئین و کنترل کیفیت مناسب، هموستاز را حفظ می کند. با این حال، ناهنجاری های متابولیکی مانند چاقی و مقاومت به انسولین، می توانند عملکرد شبکه آندوپلاسمی را مختل کنند و منجر به تجمع پروتئین های کژتاییده (به اشتباه تا خورده) یا واتاییده (اشتباه باز شده) شوند (۶). این یک پاسخ استرس سلولی به نام پاسخ پروتئین واتاییده (UPR<sup>۲</sup>) را با هدف بازگرداندن هموستاز شبکه آندوپلاسمی ایجاد می کند (۷). سه مسیر اصلی سیگنال دهی به UPR کمک می کنند: آنزیم نیازمند اینوزیتول کیناز ۱ شبکه آندوپلاسمی (IRE1<sup>۳</sup>)، شبه RNA پروتئین کیناز (PERK<sup>۴</sup>) و فعال کننده عامل رونویسی ۶ (ATF-6). از این رو، ATF-6 یک فاکتور رونویسی کلیدی در تنظیم UPR است. با استرس شبکه آندوپلاسمی، ATF-6 به دستگاه گلژی منتقل می شود و در آنجا شکافته می شود تا شکل فعال خود را آزاد کند (۸). ATF-6 فعال سپس به هسته منتقل می شود (محلی که رونویسی ژن های دخیل در تاخوردگی پروتئین شبکه آندوپلاسمی و کنترل کیفیت انجام می شود) و ظرفیت شبکه آندوپلاسمی را برای مقابله با پروتئین های باز شده افزایش می دهد (۹). با این حال، استرس طولانی

<sup>۱</sup> Activating transcription factor 6

<sup>۲</sup> C/EBP Homologous Protein

<sup>۳</sup> Growth Arrest and DNA Damage-inducible protein 153

<sup>۴</sup> High Intensity Interval Training

<sup>۱</sup> Endoplasmic reticulum

<sup>۲</sup> Unfolded Protein Response

<sup>۳</sup> Inositol-requiring enzyme 1

<sup>۴</sup> Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase



دیابتی، کنترل دیابتی به اجرای مداخلات تمرینی پرداختند. پس از ۱ هفته آشنا سازی رت‌های گروه‌های تمرینی با راه رفتن و دویدن بر روی نوار گردان، برای برآورد حداکثر سرعت دویدن، آزمون عملکرد ورزشی مدرج را اجرا کردند. علاوه بر این، شدت تمرین در محدوده ۹۵ تا ۱۰۰ درصد از حداکثر سرعت دویدن قرار داشت. استراحت فعال با مدت زمان ۶۰ ثانیه و سرعت ۱۶ متر در دقیقه بین فواصل تمرین انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ناشتایی شبانه، تمامی رت‌ها بی‌هوش شده و بافت‌برداری کبد صورت گرفت.

### القای چاقی

برای القای چاقی از رژیم غذایی پرچرب استفاده شد. برای این منظور، پس از آشنا سازی و سازگاری با محیط جدید، به مدت ۴ هفته تحت رژیم غذایی در دسترس پرچرب (تهیه شده توسط پلت سازی انستیتو سرم سازی رازی) قرار گرفتند که شامل ۶۰ درصد انرژی کل از چربی (مشتق شده از روغن حیوانی) بود. در طول پژوهش حاضر، رت‌های گروه کنترل سالم، رژیم غذایی استاندارد که شامل ۱۰ درصد انرژی از چربی، ۶۴ درصد از کربوهیدرات و ۲۶ درصد پروتئین را مصرف کردند (۲۰).

### القای دیابت نوع ۲

مدل القا نمودن دیابت نوع ۲ رت‌های صحرایی از طریق مصرف یک رژیم غذایی پرچرب شامل چربی (۴۵٪)، کربوهیدرات (۳۵٪) و پروتئین (۲۰٪) به مدت ۴ هفته (۲۱) و به دنبال آن تزریق داخل صفاقی ۳۵ میلی گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین (STZ) در محلول بافر سیترات ۰/۱ مول / لیتر با اسیدبده ۴/۵ انجام شد. موش‌های دیابتی بعد از تزریق STZ، رژیم غذایی پرچربی را تا پایان دوره پروتکل دریافت کردند. جهت ارزیابی وضعیت دیابتی در رت‌ها، ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ، سطوح قند خون ناشتای آنها اندازه‌گیری شد. موشهایی با سطح گلوکز خون ۲۵۰ میلی گرم در دسی لیتر یا بیشتر، دیابتی در نظر گرفته شدند و سطح سرم گلوکز در موش‌های گروه کنترل در خلال مدت زمان مطالعه در سطح طبیعی (۱۰۰-۸۰ میلی گرم/دسی لیتر) باقی ماند (۲۱).

سه‌س رت‌های دیابتی شده به طور تصادفی به ۲ گروه، گروه کنترل دیابتی (۸ سر) و گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (۸سر) تقسیم بندی شدند. پس

مولکولی به HIIT می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را برای بهینه سازی مداخلات ورزشی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ و چاقی ارائه دهد (۱۸، ۱۹).

در مجموع، درک تعاملات مولکولی بین فعالیت ورزشی، استرس شبکه آندوپلاسمی بافت کبد و دیابت نوع ۲ می‌تواند پیامدهای عمیقی برای توسعه استراتژی‌های درمانی هدفمند داشته باشد. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر ۸ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا بر استرس شبکه آندوپلاسمی سلول‌های کبدی در رت‌های چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.

### روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع توسعه‌ای، پژوهش تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل بود.

### آزمودنی‌ها

تعداد ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار، با سن ۶ هفته با وزن تقریبی ۲۰۰-۲۵۰ گرم، از موسسه پاستور ایران خریداری و به آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه کردستان منتقل شدند تا مطابق با خط‌مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده برای اهداف علمی و آزمایشگاهی نگهداری شوند. رت‌ها در شرایط کنترل‌شده محیطی با میانگین دمای ۲۲±۲ درجه سانتیگراد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، رطوبت نسبی ۵۰ درصد و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش، در قفس‌های ۴ تایی به مدت یک هفته برای آشنایی و سازگاری با محیط جدید نگهداری شدند. این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات قرار گرفته است (کد اخلاقی: IR.IAU.SRB.REC.1402.021) و بر اساس استاندارد اعلامیه هلسینکی انجام شده است.

### روش اجرای پژوهش

پس از آشناسازی، رت‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. رت‌های گروه کنترل دیابتی و گروه دیابتی تمرین، از طریق مصرف یک رژیم غذایی پرچرب چاق شدند و به دنبال آن تزریق داخل صفاقی ۳۵ میلی گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین (STZ<sup>[9]</sup>) داشتند. در ادامه به طور تصادفی رت‌ها در ۲ گروه ۸ تایی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)



از یک هفته آشناسازی رت های گروه تمرین از طریق راه رفتن و دویدن بر روی نوار گردان، جهت محاسبه حداکثر سرعت دویدن، آزمون حداکثر سرعت دویدن بدفورد را اجرا کردند.

### اندازه گیری حداکثر سرعت دویدن

در پژوهش حاضر از آزمون فزاینده استاندارد بدفورد و همکاران (۱۹۷۹) برای اندازه گیری حداکثر سرعت دویدن استفاده شد (۲۲). جهت اندازه گیری حداکثر سرعت دویدن معادل حداکثر اکسیژن مصرفی (Vo2max) با توجه به ارتباط قوی بین سرعت نوارگردان و Vo2max میزان Vo2max آنها با توجه به سرعت دویدن محاسبه شد. این آزمون شامل ۱۰ مرحله سه دقیقه ای می باشد. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر در ساعت بود و به میزان ۰/۳ کیلومتر در ساعت در مرحله بعد به سرعت اولیه اضافه شد، در حالی که در همه مراحل شیب صفر بود. در هر مرحله از آزمایش که رت ها دیگر قادر به دویدن نبود، سرعت در آن مرحله معادل سرعت رت ها در Vo2max یا حداکثر سرعت دویدن در نظر گرفته شد (۲۲).

### بافت برداری کبد

رت ها با ترکیبی از داروی کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شده و پس از اطمینان از بی‌هوشی حیوانات، قفسه سینه حیوان شکافته و بافت کبد خارج شد. بافت کبد بلافاصله در محلول سالین بافر فسفات<sup>۱</sup> (PBS) سرد شسته شد تا خون اضافی خارج شود. یک تکه کوچک از بافت کبد (تقریباً ۱۰۰ میلی گرم) در محلول RNeasy (Qiagen) برای حفظ RNA و جلوگیری از تخریب RNA برای تجزیه و تحلیل بیان ژن قرار داده شد (۲۴). بافت کبد باقیمانده مجدداً در PBS سرد شسته شد و قطعات کوچکی از بافت کبد (تقریباً ۳۰۰-۲۰۰ میلی‌گرم) در کرایوبال ها قرار داده شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و برای آنالیز بیان پروتئین در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۵).

### اندازه گیری پروتئین ATF-6 و CHOP

برای اندازه گیری پروتئین های ATF-6 و CHOP با استفاده از وسترن بلات، مراحل زیر انجام شد: استخراج محتوای پروتئینی حاوی پروتئین های ATF-6 و CHOP از طریق لیز سلولی، انجام الکتروفورز ژل برای جداسازی پروتئین ها بر اساس وزن مولکولی آنها، انتقال پروتئین ها روی غشای جامد، مسدود کردن غشاء برای جلوگیری از اتصال غیر اختصاصی، آنکوبه کردن غشاء با آنتی بادی های اولیه خاص ضد پروتئین های ATF-6 و CHOP، شستشوی آنتی بادی های غیر متصل، آنکوبه کردن غشاء با آنتی بادی های ثانویه و اتصال به یک سیستم تشخیص، ظهور پروتئین های هدف با استفاده از روش های تشخیص مانند نورتابی شیمیایی یا فلورسانس، و تعیین کمیت باندهای پروتئینی برای اندازه‌گیری سطوح بیان پروتئین های ATF-6 و CHOP (۲۶).

### تجزیه و تحلیل آماری

نتایج تجزیه و تحلیل های آماری به صورت میانگین و انحراف معیار با استفاده از نرم افزار آماری (IBM SPSS Statistics 23.0, Armonk, NY: IBM Corp) گزارش شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) برای بررسی اثر تمرینات تناوبی با شدت بالا بر بیان پروتئین ATF-6 و پروتئین CHOP در گروه دیابتی استفاده شد.

### پروتکل تمرین تناوبی پرشدت (HIIT)

تمرینات ورزشی بر روی تردمیل ۵ خطی انجام شد زیرا شدت و مدت ورزش به راحتی قابل کنترل بود. حیوانات با دویدن روی تردمیل موتوردار (۵ روز، ۱۰ دقیقه در روز با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) آشنا شدند. تمرینات تناوبی پر شدت بر اساس اصل اضافه بار به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته انجام شد. اضافه بار با افزایش تعداد وهله های تمرین در گروه تمرین اعمال شد. در ابتدا و انتهای تمرین، گرم کردن و سرد کردن مجموعاً ۵ دقیقه با سرعت ۱۶ متر در دقیقه انجام شد. این شدت به میزان ۶۸٪ حداکثر سرعت دویدن بود. علاوه بر این، شدت تمرین به میزان ۹۵ تا ۱۰۰ درصد حداکثر سرعت دویدن بود. استراحت فعال بین فواصل تمرین به مدت ۶۰ ثانیه با سرعت ۱۶ متر در دقیقه انجام شد. موش ها از طریق شوک های الکتریکی در پشت تردمیل و با حرکت ملایم با استفاده از یک اسفنج، انگیزه برای دویدن داشتند. به هر رت یک لاین ثابت اختصاص داده شد و تمام فعالیت ها در لاین مربوطه در طول کل برنامه تمرینی انجام شد تا اشتباهات احتمالی را به حداقل برساند. موش های گروه کنترل روزانه به اتاق تمرین منتقل می شدند، در معرض همان محیطی قرار می گرفتند که گروه های تمرین کننده بودند و تا زمانی که گروه های تمرین کننده روی تردمیل بودند، بدون دویدن روی تردمیل قرار می گرفتند (۲۳).

<sup>۱</sup> Phosphate Buffered Saline (PBS)

**یافته‌ها***ATF-6* پروتئین

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که ۸ هفته اجرای تمرینات تناوبی با شدت بالا باعث تغییری معنی داری در مقادیر پروتئین CHOP در رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ شد [F(2, 14) = 29.69, P=0.001].

نتیجه آزمون تعقیبی توکی نشان داد که مقادیر پروتئین CHOP در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش غیر معنی داری را نشان داد ( $P > 0.05$ )، اما در گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم، افزایش معنی داری را نشان داد ( $P \leq 0.05$ ).

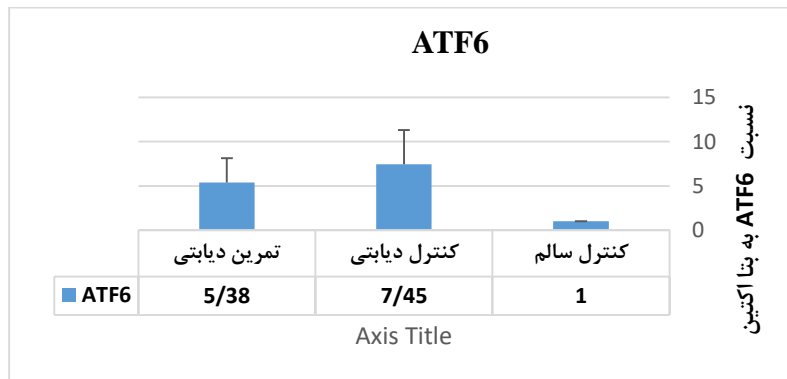
نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که ۸ هفته اجرای تمرینات تناوبی با شدت بالا باعث تغییر معنی داری در مقادیر پروتئین ATF-6 در رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ نشد [F(2, 14) = 0.32, P=0.730].

*CHOP* پروتئین

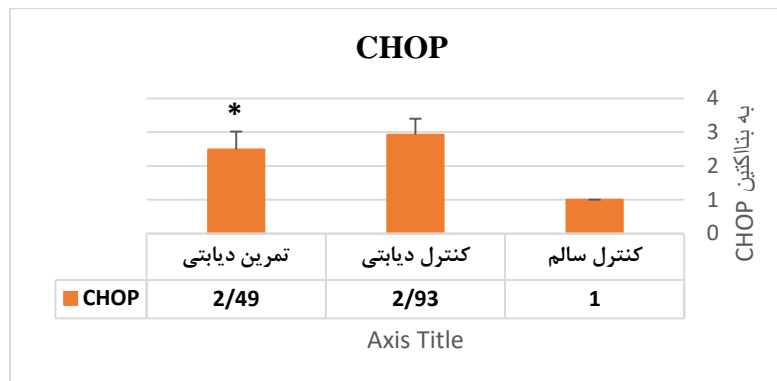


**جدول ۱ - پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا (۱۸).**

زمان کل (دقیقه)	سرد کردن (۵ دقیقه)	شدت تناوب استراحت	زمان تناوب استراحت	سرعت تناوب شدید	مدت تناوب شدید	تعداد تناوب شدید	گرم کردن (۵ دقیقه)	هفته
۱۶	۱۰ متر/دقیقه	۱۶ متر/دقیقه (معادل ۵۰ درصد Vo2max)	۱ دقیقه	۳۰ متر/دقیقه (معادل ۸۰ درصد Vo2max)	۲ دقیقه	۲	۱۰ متر/دقیقه	۱ و ۲
۲۲	۱۰ متر/دقیقه	۱۸ متر/دقیقه (معادل ۵۲ درصد Vo2max)	۱ دقیقه	۳۲ متر/دقیقه	۲ دقیقه	۴	۱۰ متر/دقیقه	۳ و ۴
۲۸	۱۰ متر/دقیقه	۲۰ متر/دقیقه (معادل ۵۴ درصد Vo2max)	۱ دقیقه	۳۴ متر/دقیقه	۲ دقیقه	۶	۱۰ متر/دقیقه	۵ و ۶
۳۴	۱۰ متر/دقیقه	۲۲ متر/دقیقه (معادل ۵۶ درصد Vo2max)	۱ دقیقه	۳۶ متر/دقیقه	۲ دقیقه	۸	۱۰ متر/دقیقه	۷ و ۸



شکل ۱؛ میانگین مقادیر پروتئین های ATF-6 در گروه های پژوهش.



شکل ۲؛ میانگین مقادیر پروتئین CHOP در گروه های پژوهش.

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای متغیرهای ATF-6 و CHOP (نسبت به بتا اکتین).

متغیر	مجموع مجذورات	درجه آزادی (df)	میانگین مجذورات	مقدار F	معنی داری (Sig)
ATF-6	۳/۴۶	۲	۱/۷۳	۰/۳۲	۰/۷۳
CHOP	۱۰/۲۷	۲	۵/۱۳	۲۹/۶۹	۰/۰۰۱*

\* : معنی داری

جدول ۲- میانگین وزن رت‌ها در بازه‌های زمانی مختلف پژوهش حاضر (گرم).

گروه	هفته اول (ابتدای HFD)	هفته ششم قبل از شروع مداخلات مکمل سازی و تمرین تناوبی شدید	گروه	هفته چهاردهم (انتهای مداخلات)
رژیم غذایی استاندارد (ND)	۲۲۶ ± ۸/۲۴	۲۹۸/۳۶ ± ۹/۳۳	کنترل سالم	۴۰۸/۲۵ ± ۱۳/۴۹
رژیم غذایی پرچرب (HFD)	۲۲۴/۳۷ ± ۱۱/۱۳	۳۱۴* ± ۱۲/۲۹	کنترل دیابت	۳۸۹ ± ۱۵/۱۰
			دیابت+تمرین تناوبی شدید	۳۴۸/۱۰ ± ۱۲/۱۱ <sup>§, †</sup>

ND: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، \* : معنی داری نسبت به گروه کنترل سالم، §: معنی داری نسبت به گروه کنترل دیابت و †: معنی داری نسبت به گروه دیابت+ تمرین تناوبی شدید.

معنی داری در سطح  $P < 0.05$

براساس نتایج ارائه شده در جدول ۱؛ مبنی بر اندازه گیری وزن رت ها، می توان گفت که نتایج نشان دهنده وجود تفاوت معنادار در میانگین وزن بین گروه های پژوهش حاضر بود ( $P = 0.01, F = 3/101, \eta^2 = 0.92$ )، بطوری که میانگین وزن رت های دریافت کننده رژیم پرچرب افزایش ۵/۳۷ درصدی نسبت به گروه دریافت کننده رژیم غذایی استاندارد داشتند ( $P < 0.038$ ).

در مقایسه با گروه کنترل سالم، افزایش معنی داری را نشان داد ( $P \leq 0.05$ ).

### بحث

مطالعه ای توسط ریک و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که یک مطالعه اثرات تمرینات ترکیبی را بر استرس ER در بیماران دیابتی نوع ۲ بررسی کرد. این مطالعه نشان داد که تمرینات ترکیبی نشانگرهای استرس ER و متابولیسم گلوکز را در بیماران دیابتی در مقایسه با افرادی که هیچ مداخله ای دریافت نکردند، بهبود بخشید. این مطالعه نشان داد که تمرینات ترکیبی ممکن است در کاهش استرس ER و بهبود متابولیسم گلوکز در بیماران دیابتی نوع ۲ تاثیر مثبتی داشته باشد (۲۷) که با نتایج پژوهش حاضر ناهمسو بود. همینطور، مطالعه دیگری توسط کیم و همکاران (۲۰۱۵) کاهش قابل توجهی در سطح پروتئین CHOP در افراد چاق پس از یک مداخله ورزشی ۱۲ هفته ای گزارش کردند (۱۱) که با نتایج پژوهش حاضر ناهمسو بود. روان و همکاران (۲۰۲۱) پژوهشی را با هدف بررسی اثرات ورزش با شدت های مختلف بر متابولیسم لیپید، استرس اکسیداتیو،

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت بر نشانگرهای التهابی استرس شبکه آندوپلاسمی رت های چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. یافته های اصلی در پژوهش حاضر نشان دادند که مقادیر پروتئین ATF-6 در رت های نر دیابتی نوع ۲ پس از ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت افزایش غیر معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و سالم داشت. همینطور یافته ها نشان دادند که اجرای ۸ هفته تمرین تناوبی پر شدت باعث تغییر معنی داری در مقادیر پروتئین ATF-6 بافت کبد رت های نر چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ نشد. همینطور مقادیر پروتئین CHOP در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش غیر معنی داری را نشان داد ( $P > 0.05$ )، اما در گروه تمرین دیابتی



انعطاف‌پذیری سلولی می‌شود (۳۸). استرس ER ناشی از فعالیت ورزشی، UPR را فعال می‌کند و منجر به افزایش بیان چپرون‌ها و فولدازهای ER می‌شود که به بازیابی هموستاز ER کمک می‌کند. در بیماران دیابتی، هیپرگلیسمی مزمن و مقاومت به انسولین به استرس ER و افزایش بیان CHOP کمک می‌کند (۳۹).

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تمرین تناوبی با شدت بالا به طور قابل توجهی بر سطوح پروتئین ATF-6 در رت‌های نر دیابتی نوع ۲ تأثیر نمی‌گذارد. مطالعه‌ای توسط سونگ و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که یک مداخله تمرین مقاومتی ۱۲ هفته‌ای به طور قابل توجهی سطح پروتئین CHOP را در افراد مسن مبتلا به دیابت نوع ۲ کاهش داد، که نشان می‌دهد انواع مختلف تمرین ممکن است اثرات متفاوتی بر استرس ER و مسیرهای آپوپتوز در افراد دیابتی در سنین مختلف داشته باشد (۴۰). لی و همکاران (۲۰۲۳) مطالعه‌ای را با هدف شناسایی چگونگی تأثیر ورزش هوازی بر استرس شبکه اندوپلاسمی کبدی در مدل موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی انجام دادند. در این مطالعه، موش‌ها به مدت ۱۷ هفته یا با یک رژیم غذایی استاندارد (SD) یا یک رژیم غذایی پرچرب (HFD) تغذیه شدند. موش‌های HFD به مدت هشت هفته روی تردمیل تمرین دیدند. نتایج نشان داد کبد چرب غیرالکلی با پاسخ استرس شبکه اندوپلاسمی کبدی مرتبط است و ورزش هوازی کبد چرب غیرالکلی را از طریق کاهش پروتئین استرس شبکه اندوپلاسمی GRP78 و ATF6 کاهش می‌دهد (۴۱). پاسخ پروتئین باز شده (UPR) یک مسیر سیگنالینگ سلولی است که در پاسخ به استرس شبکه اندوپلاسمی فعال می‌شود (۴۲). یکی از تنظیم‌کننده‌های کلیدی UPR فعال کردن فاکتور رونویسی ATF-6 است. ATF-6 یک پروتئین عرضی غشایی نوع II است که در غشای شبکه اندوپلاسمی قرار دارد. در شرایط عادی، ATF-6 در حالت غیر فعال حفظ می‌شود (۴۳). در طول استرس شبکه اندوپلاسمی ATF-6 از غشای شبکه اندوپلاسمی آزاد می‌شود و به دستگاه گلژی منتقل می‌شود. در دستگاه گلژی، ATF-6 توسط پروتئین‌ها شکافته می‌شود و در نتیجه دامنه سیتوپلاسمی آن آزاد می‌شود که به عنوان یک فاکتور رونویسی عمل می‌کند (۴۴). پروتئین ATF-6 شکافته شده به هسته منتقل می‌شود و به توالی‌های خاصی در DNA به نام عوامل پاسخ استرس شبکه اندوپلاسمی متصل می‌شود. این اتصال منجر به تنظیم مثبت ژن‌های هدف درگیر در تاخوردگی پروتئین، تخریب مرتبط با شبکه اندوپلاسمی و گسترش شبکه اندوپلاسمی می‌شود (۴۵). در شرایط بالینی ناشی از دیابت، سیگنال دهی ATF-6 ممکن است به دلیل استرس مزمن شبکه اندوپلاسمی مختل شود. این اختلال می‌تواند به استرس پایدار شبکه اندوپلاسمی و تجمع پروتئین‌های کژتابیده کمک کند (۴۶). اختلال در تنظیم ATF-6 و ژن‌های هدف آن ممکن است استرس شبکه

آسیب سلول‌های کبدی، آپوپتوز، و بیان پروتئین مرتبط با استرس شبکه اندوپلاسمی (ER) در موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) انجام دادند. نتایج نشان داد در مقایسه گروه‌های تمرینی با گروه رژیم غذایی پرچرب، بیان کاسپاز-۳ و JNK به طور معنی‌داری در همه گروه‌های تمرین کاهش یافت، در حالی که بیان CHOP در گروه‌های ورزش با شدت افزایشی و ورزش با شدت متوسط کاهش یافت (۲۸). با توجه به سطح پروتئین CHOP، کاهش غیر قابل توجه مشاهده شده در گروه تمرینی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد که HIIT ممکن است تأثیر متوسطی بر کاهش استرس ER در بافت کبد رت‌های چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ داشته باشد (۲۹). با این حال، افزایش قابل توجه سطح پروتئین CHOP هنگام مقایسه گروه تمرینی دیابتی با گروه کنترل سالم، نگرانی‌هایی را در مورد اثرات نامطلوب بالقوه HIIT در این جمعیت ایجاد می‌کند (۳۰). نتایج متضاد بین گروه تمرین دیابتی و گروه کنترل سالم را می‌توان به تفاوت در شرایط متابولیک پایه و سطوح استرس ER نسبت داد. افراد سالم معمولاً یک پاسخ استرس ER به خوبی تنظیم شده دارند و استفاده از عوامل استرس زای خارجی مانند ورزش ممکن است ظرفیت سازگاری ER را افزایش دهد (۳۱). در مقابل، افراد مبتلا به دیابت ممکن است قبلاً استرس ER نامنظم داشته باشند و استرس‌های اضافی مانند HIIT ممکن است پاسخ استرس ER را تشدید کند که منجر به افزایش سطح پروتئین CHOP می‌شود (۳۲). چنگجی و همکاران (۲۰۱۹) پژوهشی را با هدف مقایسه استرس ER و سیگنال دهی آپوپتوز در موش‌های تمرین کرده با شدت کم و با شدت بالا انجام دادند. نتایج نشان داد فعالیت ورزشی با شدت کم و زیاد به طور قابل توجهی GRP78، CHOP، و بیان پروتئین کاسپاز-۱۲ را به روشی وابسته به شدت کاهش داد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ورزش با مهار آپوپتوز ناشی از استرس شبکه اندوپلاسمی در موش‌های دیابتی، کاردیومیوپاتی دیابتی را بهبود می‌بخشد (۳۳). استرس شبکه اندوپلاسمی یک مسیر سیگنال دهی به نام پاسخ پروتئین باز شده (UPR) را برای بازگرداندن هموستاز ER ایجاد می‌کند (۳۴). با این حال، اگر استرس ER ادامه یابد، می‌تواند منجر به فعال شدن پروتئین همولوگ (CHOP) C/EBP شود که به نام GADD153 نیز شناخته می‌شود (۳۵). پروتئین CHOP یک فاکتور رونویسی است که ژن‌های دخیل در آپوپتوز، التهاب و استرس اکسیداتیو را تنظیم می‌کند (۳۶). نشان داده شده است که فعالیت ورزشی استرس ER را تعدیل می‌کند و اثرات مضر آن را کاهش می‌دهد (۳۷). فعالیت جسمانی می‌تواند باعث افزایش موقت در استرس ER شود، که باعث ایجاد یک پاسخ انطباقی به نام هورمیسس (Hormesis) می‌شود. هورمیسس به یک پاسخ مفید به یک عامل استرس‌زای با شدت متوسط اشاره دارد که منجر به بهبود عملکرد و

نشانه‌ها می‌توانند درک جامع‌تری از پاسخ استرس ER به مداخلات ورزشی در افراد دیابتی ارائه دهند (۵۵) به طور خلاصه، مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تمرین تناوبی با شدت بالا به طور قابل توجهی بر سطوح پروتئین ATF-6 در رت‌های نر دیابتی نوع ۲ تأثیر نمی‌گذارد. با این حال، یافته‌های متناقض از مطالعات قبلی و محدودیت‌های مطالعه حاضر، نیاز به تحقیقات بیشتر برای بررسی اثرات انواع مختلف مداخلات ورزشی بر استرس ER و مسیرهای آپوپتوز در افراد دیابتی در سنین و وضعیت‌های مختلف سلامت را نشان می‌دهد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی به بررسی اثر سایر پروتکل‌های تمرینی بر سایر نشانگرهای فیزیولوژیک مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمی بافت کبد در آزمودنی‌های حیوانی مبتلا به دیابت و سالم پرداخته شود.

### نتیجه‌گیری

از پژوهش حاضر می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که اجرای ۸ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا در رت‌های دیابتی نوع ۲ می‌تواند باعث بهبود نشانگرهای التهابی و استرس شبکه آندوپلاسمی شود. این پژوهش نشان داد که اجرای تمرینات تناوبی با شدت بالا اگرچه باعث تغییر معنی داری در مقادیر پروتئین ATF-6 نشد، اما باعث کاهش معنی داری در مقادیر پروتئین POHC در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد. در نتیجه اجرای تمرینات تناوبی با شدت بالا می‌تواند برای بهبود وضعیت استرس شبکه آندوپلاسمی بافت کبد در رت‌های نر دیابتی مفید باشد.

### تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

### تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

اندوپلاسمی را تشدید کند و به اختلال عملکرد سلول‌های بتا در پانکراس و مقاومت به انسولین در بافت‌های محیطی کمک کند (۴۷). بنابراین، ATF-6 یک عامل کلیدی در مسیر UPR است که برای کاهش استرس ER در پاسخ به پروتئین‌های باز شده یا کژتابیده فعال می‌شود (۴۸). در بیماران دیابتی، فعال‌سازی ATF-6 برای ارتقای سازگاری سلولی و بازیابی هموستاز شبکه آندوپلاسمی مهم است. با این حال، اختلال در سیگنال‌دهی ATF-6 در موقعیت‌های استرس مزمن شبکه آندوپلاسمی می‌تواند به پاتوژنز دیابت منجر شود (۴۹). تحقیقات بیشتری برای درک بهتر مکانیسم‌های خاص و استراتژی‌های درمانی بالقوه برای هدف قرار دادن ATF-6 در شرایط دیابتی مورد نیاز است (۵۰). علاوه بر این، یافته‌های غیر معنی‌دار در مطالعه حاضر نیز ممکن است به دلیل کوتاه بودن مدت مداخله ورزشی باشد. ممکن است برای مشاهده تغییرات قابل توجه در سطوح پروتئین ATF-6 و CHOP به دوره مداخله طولانی‌تری نیاز باشد (۵۱).

سان و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای، پروتئین ATF-6 را در بافت کبد رت‌های دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب سرکوب کردند و متابولیسم قند در بافت کبد، تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که سرکوب ویژه کبدی ATF6 استئاتوز کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب و تحمل گلوکز را تشدید می‌کند. همینطور سرکوب ATF6 باعث تشدید متابولیسم گلوکونئوتیک توسط MTOR به واسطه تنظیم اتوفاژ می‌شود. در نتیجه، استراتژی‌های درمانی با مکمل ATF6 ممکن است برای درمان عدم تحمل گلوکز و همچنین مقاومت به انسولین در شرایط آسیب متابولیک کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب مفید باشد (۵۲). عدم تغییرات قابل توجه در سطح پروتئین ATF-6 مشاهده شده در مطالعه حاضر را می‌توان به عوامل متعددی مانند؛ مدت و شدت پروتکل HIIT مورد استفاده در مطالعه که ممکن است برای ایجاد تغییرات قابل توجهی در سطوح پروتئین ATF-6 مطلوب نبوده است (۵۳). علاوه بر این، ویژگی‌های خاص جمعیت مورد مطالعه، مانند چاق بودن و ابتلا به دیابت نوع ۲، ممکن است بر پاسخ پروتئین ATF-6 به HIIT تأثیر بگذارد (۵۴).

از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم اندازه‌گیری سایر نشانگرهای مرتبط با استرس ER مانند XBP-1، GRP78 و PERK بود. این

### Reference

- DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, Simonson DC. Type 2 diabetes mellitus. Nature reviews Disease primers. 2015 Jul 23;1(1):1-22.
- Jaacks LM, Siegel KR, Gujral UP, Narayan KV. Type 2 diabetes: A 21st century epidemic. Best

Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. 2016 Jun 1;30(3):331-43.

3. Shrestha P, Ghimire L. A review about the effect of life style modification on diabetes and quality of life. Global journal of health science. 2012 Nov;4(6):185.

4. Balasubramanyam M, Lenin R, Monickaraj F. Endoplasmic reticulum stress in diabetes: New



13. Postic C, Dentin R, Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes & metabolism*. 2004 Nov 1;30(5):398-408.
14. Wang Y, Guo Y, Xu Y, Wang W, Zhuang S, Wang R, Xiao W. HIIT Ameliorates Inflammation and Lipid Metabolism by Regulating Macrophage Polarization and Mitochondrial Dynamics in the Liver of Type 2 Diabetes Mellitus Mice. *Metabolites*. 2022 Dec 21;13(1):14.
15. Gibala MJ. Functional high-intensity training: A HIT to improve insulin sensitivity in type 2 diabetes. *Experimental Physiology*. 2018 Jul;103(7):937-8.
16. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia*. 2017 Jan;60(1):7-23.
17. Matsunaga S, Yamada T, Mishima T, Sakamoto M, Sugiyama M, Wada M. Effects of high-intensity training and acute exercise on in vitro function of rat sarcoplasmic reticulum. *European journal of applied physiology*. 2007 Apr;99:641-9.
18. Afravi N, Abednatanzi H, Helalizade M, Gholami M. The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) and Thyme Extract on P53 Gene Expression in Liver Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2023;29(11):346-361.
19. Durrer C, Francois M, Neudorf H, Little JP. Acute high-intensity interval exercise reduces human monocyte Toll-like receptor 2 expression in type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2017 Apr 1;312(4):R529-38.
20. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews*. 2010 Dec;23(2):270-99.
21. Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Journal of Diabetes Research*. 2008 Jan 1;2008.
22. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental insights of clinical relevance. *Indian journal of clinical biochemistry*. 2010 Apr;25:111-8.
5. Vitale, A., Ceriotti, A., & Denecke, J. (1993). The role of the endoplasmic reticulum in protein synthesis, modification and intracellular transport. *Journal of Experimental Botany*, 44(9), 1417-1444.
6. Gregor MF, Hotamisligil GS. Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. *Journal of lipid research*. 2007 Sep 1;48(9):1905-14.
7. Promlek T, Ishiwata-Kimata Y, Shido M, Sakuramoto M, Kohno K, Kimata Y. Membrane aberrancy and unfolded proteins activate the endoplasmic reticulum stress sensor Ire1 in different ways. *Molecular biology of the cell*. 2011 Sep 15;22(18):3520-32.
8. Adachi Y, Yamamoto K, Okada T, Yoshida H, Harada A, Mori K. ATF6 is a transcription factor specializing in the regulation of quality control proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell structure and function*. 2008;33(1):75-89.
9. Yoshida H, Okada T, Haze K, Yanagi H, Yura T, Negishi M, Mori K. ATF6 activated by proteolysis binds in the presence of NF-Y (CBF) directly to the cis-acting element responsible for the mammalian unfolded protein response. *Molecular and cellular biology*. 2000 Sep 1;20(18):6755-67.
10. Hu H, Tian M, Ding C, Yu S. The C/EBP homologous protein (CHOP) transcription factor functions in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and microbial infection. *Frontiers in immunology*. 2019 Jan 4; 9:3083.
11. Kim HM, Lee ES, Lee BR, Yadav D, Kim YM, Ko HJ, Park KS, Lee EY, Chung CH. CC chemokine receptor 2 inhibitor ameliorates hepatic steatosis by improving ER stress and inflammation in a type 2 diabetic mouse model. *PloS one*. 2015 Mar 27;10(3):e0120711.
12. Gupta D, B Krueger C, Lastra G. Over-nutrition, obesity and insulin resistance in the development of  $\beta$ -cell dysfunction. *Current diabetes reviews*. 2012 Mar 1;8(2):76-83.



- in diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2020 Jun;19:145-52.
31. Böhm A, Weigert C, Staiger H, Häring HU. Exercise and diabetes: relevance and causes for response variability. *Endocrine*. 2016 Mar;51:390-401.
32. Wang M. Reducing stress-induced CHOP is renoprotective. *Nature Reviews Nephrology*. 2021 Nov;17(11):707
33. Chengji W, Xianjin F. Exercise protects against diabetic cardiomyopathy by the inhibition of the endoplasmic reticulum stress pathway in rats. *Journal of cellular physiology*. 2019 Feb;234(2):1682-8.
34. Hetz C, Martinon F, Rodriguez D, Glimcher LH. The unfolded protein response: integrating stress signals through the stress sensor IRE1 $\alpha$ . *Physiological reviews*. 2011 Oct;91(4):1219-43.
35. Chikka MR, McCabe DD, Tyra HM, Rutkowski DT. C/EBP homologous protein (CHOP) contributes to suppression of metabolic genes during endoplasmic reticulum stress in the liver. *Journal of biological chemistry*. 2013 Feb 1;288(6):4405-15.
36. Ariyama Y, Tanaka Y, Shimizu H, Shimomura K, Okada S, Saito T, Yamada E, Oyadomari S, Mori M, Mori M. The role of CHOP messenger RNA expression in the link between oxidative stress and apoptosis. *Metabolism*. 2008 Dec 1;57(12):1625-35.
37. Estébanez B, De Paz JA, Cuevas MJ, González-Gallego J. Endoplasmic reticulum unfolded protein response, aging and exercise: An update. *Frontiers in Physiology*. 2018 Dec 5;9:1744.
38. Papageorgiou CD, Stamatopoulos VP, Samaras CD, Statharakos NS, Papageorgiou ED, Dzhambazova EB. Hormesis-like benefits of physical exercises due to increased reactive oxygen species. *Phys. Educ. Sport. Kinesither. Res. J*. 2016;1:76-84.
39. Khadir A, Kavalakatt S, Abubaker J, Cherian P, Madhu D, Al-Khairi I, Abu-Farha M, Warsame S, Elkum N, Dehbi M, Tiss A. Physical exercise alleviates ER stress in obese humans through reduction in the expression and release of GRP78 chaperone. *Metabolism*. 2016 Sep 1;65(9):1409-20.
40. Song YH, Li Y, Du J, Mitch WE, Rosenthal N, Delafontaine P. Muscle-specific expression of IGF-procedures. *Journal of Applied Physiology*. 1979 Dec 1;47(6):1278-83.
23. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiology & behavior*. 2015 Aug 1;147:78-83.
24. Junior N. DNA and RNA stabilization. *Protocols*. 2020 May 14.
25. Scicchitano MS, Dalmas DA, Boyce RW, Thomas HC, Frazier KS. Protein extraction of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue enables robust proteomic profiles by mass spectrometry. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2009 Sep;57(9):849-60.
26. Scicchitano MS, Dalmas DA, Boyce RW, Thomas HC, Frazier KS. Protein extraction of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue enables robust proteomic profiles by mass spectrometry. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2009 Sep;57(9):849-60.
27. Riek AE, Oh J, Sprague JE, Timpson A, De Las Fuentes L, Bernal-Mizrachi L, Schechtman KB, Bernal-Mizrachi C. Vitamin D suppression of endoplasmic reticulum stress promotes an antiatherogenic monocyte/macrophage phenotype in type 2 diabetic patients. *Journal of Biological Chemistry*. 2012 Nov 9;287(46):38482-94.
28. Ruan L, Li F, Li S, Zhang M, Wang F, Lv X, Liu Q. Effect of different exercise intensities on hepatocyte apoptosis in HFD-induced NAFLD in rats: the possible role of endoplasmic reticulum stress through the regulation of the IRE1/JNK and eIF2 $\alpha$ /CHOP signal pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021 Mar 15;2021.
29. Yuan Z, Xiao-Wei L, Juan W, Xiu-Juan L, Nian-Yun Z, Lei S. HIIT and MICT attenuate high-fat diet-induced hepatic lipid accumulation and ER stress via the PERK-ATF4-CHOP signaling pathway. *Journal of physiology and biochemistry*. 2022 Aug;78(3):641-52.
30. Delfan M, Delphan M, Kordi MR, Ravasi AA, Safa M, Gorgani-Firuzjaee S, Fatemi A, Bandarian F, Nasli-Esfahani E. High intensity interval training improves diabetic cardiomyopathy via miR-1 dependent suppression of cardiomyocyte apoptosis



- of ATF 6 $\alpha$  during unfolded protein response. The EMBO journal. 2019 Aug 1;38(15):e100990.
49. Mustapha S, Mohammed M, Azemi AK, Jatau AI, Shehu A, Mustapha L, Aliyu IM, Danraka RU, Amin A, Bala AA, Ahmad WA. Current status of endoplasmic reticulum stress in type II diabetes. *Molecules*. 2021 Jul 19;26(14):4362.
50. Tiwari S, Kaur P, Gupta D, Chaudhury S, Chaudhary M, Mittal A, Kumar S, Sahu SK. An Insight into the Development of Potential Antidiabetic Agents along with their Therapeutic Targets. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*. 2023 May 22.
51. Hammouda O, Chtourou H, Chaouachi A, Chahed H, Ferchichi S, Kallel C, Chamari K, Souissi N. Effect of short-term maximal exercise on biochemical markers of muscle damage, total antioxidant status, and homocysteine levels in football players. *Asian journal of sports medicine*. 2012 Dec;3(4):239.
52. Sun X, Li W, Deng Y, Dong B, Sun Y, Xue Y, Wang Y. Hepatic conditional knockout of ATF6 exacerbates liver metabolic damage by repressing autophagy through MTOR pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2018 Oct 20;505(1):45-50.
53. Norrbom JM, Ydfors M, Lovric A, Perry CG, Rundqvist H, Rullman E. A HIF-1 signature dominates the attenuation in the human skeletal muscle transcriptional response to high-intensity interval training. *Journal of Applied Physiology*. 2022 Jun 1;132(6):1448-59.
54. Afrasyabi S, Marandi SM, Kargarfard M. The effects of high intensity interval training on appetite management in individuals with type 2 diabetes: influenced by participants weight. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2019 Jun 1;18:107-17.
55. Aoki A, Murata M, Asano T, Ikoma A, Sasaki M, Saito T, Otani T, Jinbo S, Ikeda N, Kawakami M, Ishikawa SE. Prompt increases in retinol-binding protein 4 and endothelial progenitor cells during acute exercise load in diabetic subjects. *Endocrine journal*. 2012;59(12):1085-91.
- 1 blocks angiotensin II-induced skeletal muscle wasting. *The Journal of clinical investigation*. 2005 Feb 1;115(2):451-8.
41. Li J, Huang L, Xiong W, Gu C, Zhang S, Xue X. Effect of aerobic exercise on GRP78 and ATF6 expressions in mice with non-alcoholic fatty liver disease. *Sports Medicine and Health Science*. 2023 Jun 1;5(2):112-9.
42. Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *science*. 2011 Nov 25;334(6059):1081-6.
43. Oka OB, Pierre AS, Pringle MA, Tungcum W, Cao Z, Fleming B, Bulleid NJ. Activation of the UPR sensor ATF6 $\alpha$  is regulated by its redox-dependent dimerization and ER retention by ERp18. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022 Mar 22;119(12):e2122657119.
44. Thuerauf DJ, Morrison L, Glembotski CC. Opposing roles for ATF6 $\alpha$  and ATF6 $\beta$  in endoplasmic reticulum stress response gene induction. *Journal of Biological Chemistry*. 2004 May 14;279(20):21078-84.
45. Adachi Y, Yamamoto K, Okada T, Yoshida H, Harada A, Mori K. ATF6 is a transcription factor specializing in the regulation of quality control proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell structure and function*. 2008;33(1):75-89.
46. Madhusudhan T, Wang H, Dong W, Ghosh S, Bock F, Thangapandi VR, Ranjan S, Wolter J, Kohli S, Shahzad K, Heidel F. Defective podocyte insulin signalling through p85-XBP1 promotes ATF6-dependent maladaptive ER-stress response in diabetic nephropathy. *Nature communications*. 2015 Mar 10;6(1):6496.
47. Kitakaze K, Oyadomari M, Zhang J, Hamada Y, Takenouchi Y, Tsuboi K, Inagaki M, Tachikawa M, Fujitani Y, Okamoto Y, Oyadomari S. ATF4-mediated transcriptional regulation protects against  $\beta$ -cell loss during endoplasmic reticulum stress in a mouse model. *Molecular Metabolism*. 2021 Dec 1;54:101338.
48. Oka OB, van Lith M, Rudolf J, Tungcum W, Pringle MA, Bulleid NJ. ER p18 regulates activation