

## Investigating the effect of eight weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training with quercetin supplementation on the PLIN2 and ATGL gene expression in the liver of diabetic obese rats

Aydin Valizadeh <sup>1\*</sup>, Mojdeh Khajehlandi <sup>2</sup>, Raha Mohammadi <sup>3</sup>, Hamed Kheirollahi <sup>4</sup>

Receive 2023 November 10; Accepted 2024 January 20

### Abstract

**Aim:** Obesity causes chronic inflammation, and inflammation causes insulin resistance in type 2 diabetes mellitus (T2DM). Thus, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training with quercetin supplementation on the gene expression of PLIN2 and ATGL in the liver of diabetic obese rats.

**Methods:** Forty two male Wistar rats at 8 weeks of age were purchased, and 36 of these animals were induced with T2DM after 8 weeks of high-fat diet. The rats were divided into the following groups (n=6): healthy control, diabetic control, diabetic quercetin supplementation, high-intensity interval training with diabetes (HIIT), moderate-intensity continuous training with diabetes (MICT), HIIT training with quercetin, and MICT training with quercetin. For one training group, 8 weeks of HIIT training and for the other 8 weeks of MICT training on the treadmill were performed. Seventy two hours after the last training session, liver tissues was isolated to check gene expression of PLIN2 and ATGL. Two-way analysis of variance with Tukey's post-hoc test (with a significance level of  $P < 0.05$ ) was used to analyze the data.

**Results:** After 8 weeks of intervention, a significant difference was seen only in the level of ATGL gene expression between four training groups ( $P=0/001$ ), so that in HIIT and MICT training groups with quercetin its levels was statistically more than two other training groups with the significant levels of ( $P=0/001$ ) and ( $P=0/015$ ), respectively. **Conclusions:** Apparently, the implementation of both types of exercise has an effect on ATGL and PLIN2 gene expression, and when exercise is combined with quercetin, this supplementation can indirectly affect ATGL gene expression in T2DM conditions by controlling blood levels.

**Keywords:** Moderate intensity continuous exercise, high intensity intermittent exercise, liver, type 2 diabetes mellitus.



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

1. Associate Professor in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.  
**\*(corresponding author)**  
valizadeh@uma.ac.ir
2. Postdoctoral Researcher in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. PhD in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
4. PhD Candidate in Sport Management, Department of Sport Management, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

*Cite as:* Aydin Valizadeh, Mojdeh Khajehlandi, Raha Mohammadi, Hamed Kheirollahi. Estimate the effect of eight weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training with quercetin supplementation on the PLIN2 and ATGL gene expression in the liver of diabetic obese rats. *Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2024; 11(1): 237-250.

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

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

**Access Type:** Open Access

**DOI:** 10.22049/JAHSSP.2020.26778.1323



## Extended abstract

### Background

About 462 million people around the world are suffering from Type 2 diabetes mellitus (T2DM), and more than one million people die every year (4). Increased physical activity and inflammation control are associated with reduced risk of T2DM and obesity (5). Regular physical activity not only helps prevent T2DM, but also can improve diabetes-related indicators such as body mass index (BMI), blood glucose, insulin sensitivity, lipid profile, oxidative stress/antioxidant capacity, and improve oxidative or chronic inflammation (6,7). Therefore, increasing daily physical activity and structured exercise programs are recommended in the treatment of T2DM (7). On the other hand, it has been proven that medicinal plants are also very common in the treatment of diabetes (8). In many studies, flavonoids are known as the strong natural antioxidants in improving T2DM and prevent cardiovascular complications (10). PLIN2 is the most abundant member of the PLIN protein family in rat and human liver and its expression is strongly related to the severity of steatosis (16-18). Adipose triglyceride lipase (ATGL), is effective in the amount of fat reserves, and it is responsible for breaking down fat reserves into free fatty acids (FFA) and glycerol (22). Thus, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training with quercetin supplementation on the gene expression of PLIN2 and ATGL in the liver of diabetic obese rats.

### Materials and Methods

The present research is an experimental type, using a laboratory method with a post-test design, and the samples were male Wistar rats. Thus, 42 male Wistar field rats aged 8 weeks were purchased from Ardabil University Animal Care Center as a research sample. Thirty six of these animals were induced with diabetes after 8 weeks of high-fat diet and familiarization with laboratory environment and treadmill. Rats were divided into 7 groups: healthy control, diabetic control, diabetic quercetin supplementation, high-intensity interval training with diabetes (HIIT), moderate-intensity continuous training with diabetes (MICT), HIIT training with quercetin (DTQH), and MICT training with quercetin (TDQM). All rats were under controlled conditions with free access to water and special rat food. In this way, the average ambient temperature was  $22\pm 3$  degrees Celsius and the light-dark cycle was 12:12 hours.

### Training protocols

The HIIT protocol consisted of 8 weeks of the treadmill exercise program with a frequency of 5 times a week, totaling 40 training sessions. Before and after of each HIIT sessions, rats underwent the treadmill exercise for 5 min at 10 m/min warm-up and cool-down. HIIT sessions consisted of 7–10 exercise bouts with an intensity between 80- 95% of MAS which followed by 60 s active recovery with an intensity of 45–50% of MAS. MICT protocol consisted of a 10-min warm-up to 33–49% of the rat's maximal aerobic speed (MAS), followed by 50 min of running at 65% of MAS.

### Resveratrol Administration

The quercetin used in this study was purchased in powder form from Sigma with a purity of 85% and was used at a dose of 15 mg/kg and as a suspension in carboxymethyl cellulose (CMC) at a concentration of 0.5% and the same amount of normal saline was injected into the other groups.

### Assessment of studied factors

RNA extraction was done using the total RNA extraction kit reagent according to the manufacturer's instructions (Pars Toss, Iran). After extracting RNA, Real-time PCR was used to measure the expression of mRNA by the Lava 96 Real-time PCR Detection System (Daan Gene Co Ltd), and the kit used in the research was also 2X SYBR Green Real Time PCR (Pars Toss, Iran).

### Statistical analysis

Data of this research was analyzed using SPSS version 26 statistical software. The Shapiro-Wilk test (with a significance level of  $P < 0.05$ ), and two-way analysis of variance with Tukey's post hoc-test (with a significance level of  $P < 0.05$ ) were used respectively, to check the normality of the data and to compare groups.

## Results

The results of the two-way analysis of variance statistical test showed that there was a significant difference only in the level of ATGL gene expression between four training groups ( $P=0/001$ ), so that increase in ATGL gene expression in HIIT and MICT training groups with quercetin was higher than the other two training groups without quercetin ( $P=0/001$ ) and ( $P=0/015$ ). In addition, in comparison between all groups there was a significant difference for both PLIN2 and ATGL gene expression of rat liver tissue, and blood glucose levels between 6 groups with significant levels ( $P=0.001$ ), ( $P=0.001$ ) and ( $P=0.001$ ), respectively. Induction of T2DM for PLIN2 and ATGL indicators, respectively increased PLIN2 ( $P=0.001$ ), and decreased ATGL gene expression ( $P=0.001$ ) in the liver tissue. In addition, blood glucose levels increased significantly which is the result of comparing the DC group with the HC group. The results of Tukey's post-hoc test for PLIN2 gene expression showed a significant decrease for DTH, DTM, DTQH and DTQM groups compared to the DC group with a significant level of ( $P=0.001$ ), ( $P=0.001$ ), ( $P=0.001$ ) and ( $P=0.001$ ), respectively. No significant difference has been observed for the DQ group compared to the DC group ( $P=0.145$ ). In addition, there was no significant difference between the four training groups with each other ( $P\leq 0.05$ ). The results of Tukey's post-hoc test for ATGL gene expression showed a significant decrease for DTH, DTM, DTQH and DTQM groups compared to the DC group with a significant level ( $P=0.001$ ), ( $P=0.001$ ), ( $P=0.001$ ) and ( $P=0.001$ ), respectively. No significant difference has been observed for the DQ group compared to the DC group ( $P=0.759$ ). The results of Tukey's post-hoc test showed that 8 weeks of quercetin injection alone and combined with HIIT and MICT training controlled blood glucose levels of diabetic rats ( $P<0.05$ ). Also, there was a significant difference in blood glucose levels between the two training groups that were supplemented with quercetin injection compared to the two training groups ( $P<0.05$ ).

The results showed that high-fat diet and STZ injection increased PLIN2 gene expression, and decreased ATGL gene expression in the liver of diabetic rats, and performing HIIT and MICT exercises with and without quercetin supplementation improved their gene expression levels. It should be noted that for ATGL, there was a difference between training groups with and without supplementation, and the improvement in gene expression levels was greater for the groups that had exercise training with supplementation at the same time. Regarding the injection of quercetin supplement in the QD group, a decrease in blood glucose levels was observed after 8 weeks of injection of this supplement, although the improvement of gene expression levels of the two mentioned indicators was observed, but it did not have a significant effect on the amount of changes of these two indicators, which may be related to the dose of quercetin used in this study.

## Article message

In general, it can be stated that the injection of quercetin supplement for 8 weeks has controlled the blood glucose levels of rats. Apparently, when exercise combined with the injection of quercetin the gene expression changes of ATGL is more than when the exercise was performed alone.

**Keywords:** Moderate intensity continuous exercise, high intensity intermittent exercise, liver, type 2 diabetes mellitus.

## مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال یازدهم، شماره اول؛

بهار و تابستان ۱۴۰۳؛ صفحات ۲۳۷-۲۵۰

## Open Access

مقاله پژوهشی

## بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین استقامتی با شدت متوسط همراه با مکمل‌دهی کوئرستین بر بیان ژن *PLIN2* و *ATGL* کبد موش‌های صحرایی چاق دیابتی

آیدین ولی زاده<sup>۱\*</sup>، مژده خواجه لندی<sup>۲</sup>، رها محمدی<sup>۳</sup>، حامد خیرالهی<sup>۴</sup>  
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰

## چکیده

**هدف:** چاقی باعث التهاب مزمن شده و التهاب موجب بروز مقاومت انسولینی در بیماری دیابت نوع ۲ (T2DM) می‌گردد. بدین ترتیب، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین استقامتی با شدت متوسط همراه با مکمل‌دهی کوئرستین بر بیان ژن *ATGL* و *PLIN2* کبد موش‌های صحرایی چاق دیابتی بود. **روش شناسی:** چهل و دو سر موش صحرایی نر ویستار با ۸ هفته سن تهیه و تعداد ۳۶ سر از این حیوانات پس از ۸ هفته رژیم غذایی پرچرب مورد القای دیابت قرار گرفتند. موش‌های صحرایی به گروه‌های زیر تقسیم‌بندی شدند ( $n=6$ ): سالم کنترل، دیابت کنترل، دیابت مکمل کوئرستین، دیابت تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، دیابت تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)، دیابت تمرین HIIT به همراه مکمل کوئرستین و دیابت تمرین MICT به همراه مکمل کوئرستین. برای دو گروه تمرینی ۸ هفته تمرین HIIT با و بدون مکمل کوئرستین و برای دو گروه دیگر ۸ هفته تمرین MICT با و بدون مکمل کوئرستین روی نوار گردان اجرا شد. ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین برای بررسی بیان ژن‌های *ATGL* و *PLIN2* بافت کبد جدا شد. از آزمون تحلیل واریانس دو راهه با آزمون تعقیبی توکی (با سطح معناداری  $P<0.05$ ) برای بررسی تفاوت بین گروه‌های تمرینی استفاده شد. **یافته‌ها:** پس از ۸ هفته مداخله تنها برای میزان بیان ژن *ATGL* در بین چهار گروه تمرینی تفاوت معنادار دیده شد ( $P=0.001$ )، به طوری که تمرین HIIT و MICT همراه با مصرف کوئرستین به ترتیب با سطح معناداری ( $P=0.001$ ) و ( $P=0.015$ ) باعث افزایش بیشتر سطوح آن نسبت به دو گروه تمرینی دیگر شده بود. **نتیجه‌گیری:** ظاهراً اجرای هر دو نوع تمرین بر بیان ژن *ATGL* و *PLIN2* اثرگذار بوده است و هنگامی که تمرینات به همراه مصرف کوئرستین باشند این مکمل می‌تواند با کنترل سطوح خون به صورت غیر مستقیم بر بیان ژن *ATGL* در شرایط بیماری T2DM تأثیرگذار باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین تداومی با شدت متوسط، تمرین تناوبی با شدت بالا، کبد، دیابت نوع دو

**نحوه ارجاع:** آیدین ولی زاده، مژده خواجه لندی، رها محمدی، حامد خیرالهی. تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین استقامتی با شدت متوسط همراه با مکمل دهی کوئرستین بر بیان ژن *ATGL* و *PLIN2* کبد موش‌های صحرایی چاق دیابتی. مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۱(۱): ۲۳۷-۲۵۰.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2020.26778.1323



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

۱. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. (نویسنده مسئول): valizadeh@uma.ac.ir
۲. پژوهشگر پسادکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳. دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۴. دانشجوی دکتری، گروه مدیریت ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.



## مقدمه

از برجسته‌ترین بیماری‌های مزمن، دیابت است که ارتباط نزدیکی با چاقی دارد (۱). شایع‌ترین علت پیدایش مقاومت به انسولین چاقی است که آن هم علت اصلی اساسی دیابت نوع دو (T2DM) می‌باشد (۲) بیماری T2DM در درازمدت عوارضی از جمله بیماری‌های میکروواسکولار (رتینوپاتی، نفروپاتی و نوروپاتی) و بیماری‌های ماکروواسکولار (سکته مغزی، انفارکتوس میوکارد، بیماری شریانی محیطی، نارسایی قلبی و بیماری کبد چرب غیر الکلی) را به همراه دارد. علاوه بر این، ممکن است به پیشرفت بیماری آلزایمر، سندرم تخمدان پلی کیستیک، نقرس و آرتریت روماتوئید کمک کند (۲). حدود ۴۶۲ میلیون نفر در سراسر جهان به T2DM مبتلا هستند و سالانه بیش از یک میلیون نفر جان خود را از دست می‌دهند (۳). افزایش فعالیت بدنی و کنترل التهاب با کاهش خطر ابتلا به T2DM و چاقی مرتبط است (۴). فعالیت بدنی منظم نه تنها به پیشگیری از ابتلا به T2DM کمک می‌کند، بلکه می‌تواند شاخص‌های مرتبط با دیابت مانند شاخص توده بدن (BMI)<sup>۲</sup>، قند خون، حساسیت به انسولین، پروفایل لیپیدی، استرس اکسیداتیو/ ظرفیت آنتی اکسیدانی و یا التهاب مزمن را بهبود بخشد (۵، ۶). بنابراین، افزایش فعالیت بدنی روزانه و برنامه‌های ورزشی ساختاریافته در درمان T2DM توصیه می‌شود (۶). از سوی دیگر، ثابت شده است که گیاهان دارویی نیز در درمان بیماری دیابت بسیار رایج هستند (۷). از فواید عمده استفاده از گیاهان دارویی، مؤثر بودن آثار جانبی کمتر و قیمت پایین آن‌ها است (۸). در مطالعات متعدد فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قوی در بهبود T2DM شناخته شده‌اند که از عوارض قلبی - عروقی جلوگیری می‌کند (۹). یکی از فراوان‌ترین خانواده‌ی فلاونوئیدها مکمل کوئرستین بوده که یک فلاونول با منشأ گیاهی است و در سبزیجات و میوه‌های متعددی مانند پیاز، چای، انگور، سیب، توت‌ها و غیره یافت می‌شود (۱۰، ۱۱). کوئرستین دارای اثرات مفیدی از قبیل خاصیت آنتی‌اکسیدان، کاهش‌دهنده قند خون، گشادکننده عروق، ضد التهاب، ضد آپوپتوز، ضد آتروژن، کاهش چربی خون و ... است (۱۱، ۱۲) که می‌تواند از زنده ماندن سلول‌های بتا پانکراس در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کند و ممکن است ترشح انسولین را تحریک کند که جزایر لانگهانس را بازسازی کند (۱۳).

دسترسی به سطح قطرات چربی توسط پری‌لیپین‌ها<sup>۳</sup> (PLINs)، یک کلاس از پروتئین‌های مرتبط با قطرات لیپیدی که ذخیره و انتشار قطرات چربی و تری‌گلیسریدهای<sup>۴</sup> (TG) کبدی را تنظیم می‌کند، به شدت کنترل می‌شود (۱۴). در واقع، PLIN2<sup>۵</sup> فراوان‌ترین عضو خانواده پروتئین PLIN در کبد موش صحرایی و انسان بوده و بیان آن به شدت با شدت استئاتوز در ارتباط است (۱۵-۱۷). علاوه بر این، در مطالعات روی موش صحرایی کاهش سطوح PLIN2 با کاهش TG کبدی همراه بوده است که اهمیت PLIN2 را در ایجاد استئاتوز کبدی مرتبط با چاقی برجسته می‌کند (۱۸-۲۰). از دیگر شاخص‌هایی که در میزان ذخایر چربی اثرگذار است لیپاز تری‌گلیسرید چربی<sup>۶</sup> (ATGL) است که یک لیپاز تری‌گلیسرول کلیدی است و مسئول تجزیه ذخایر چربی به اسیدهای چرب آزاد<sup>۷</sup> (FFA) و گلیسرول است (۲۱). در واقع، ATGL یکی از پروتئین‌های قطره چربی است که به عنوان عامل مداخله‌گر هیدرولیز TG درون عضلانی در نظر گرفته شده (۲۲) و یک آزیتم محدود کننده سرعت هیدرولیز TG و عامل اصلی لیپولیز در بافت‌های چربی می‌باشد (۲۳).

در مورد بررسی روند تغییرات دو شاخص مهم در مسیر لیپوژنز و لیپولیز یعنی PLIN2 و ATGL نسبت به تمرینات ورزشی تحقیقات گوناگونی صورت پذیرفته است که نتایج متناقضی دارند، چنانچه می‌بینیم در مطالعه‌ی لی<sup>۸</sup> و همکاران (۲۰۲۲) ۸ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط<sup>۹</sup> (MICT) باعث کاهش سطوح PLIN2 در بافت چربی رت‌های چاق شده است (۲۴)، اما در مطالعه پینو<sup>۱۰</sup> و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تغییرات PLIN2 متعاقب یک دوره تمرین ورزشی پرداخته شد و نتایج نشان داد که ۸ هفته تمرین ورزشی شدید در موش‌های صحرایی سالم باعث افزایش PLIN2 شده است ولی در گروه موش‌های صحرایی چاق شده با رژیم غذایی پرچرب تغییر معناداری مشاهده نشد (۲۵). در رابطه با ATGL نتایج مطالعات بیشتر نشان دهنده‌ی اثر مثبت فعالیت ورزشی بر میزان بیان این شاخص می‌باشد (۲۶، ۲۷). چنانچه می‌بینیم مطالعه وو<sup>۱۱</sup> و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که ۸ هفته تمرین استقامتی در نمونه‌های کبد چرب غیرالکلی باعث افزایش پروتئین ATGL شد (۲۶). با این حال، برخی مطالعات عدم تغییر این شاخص را گزارش نموده‌اند: به‌عنوان مثال در مطالعه ملو<sup>۱۲</sup> و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده شد که تمرینات مقاومتی کوتاه مدت ۷ روزه اثر معناداری بر ATGL نداشتند است (۲۸). اگرچه تمرینات ورزشی به عنوان یک محرک محافظتی در

<sup>۳</sup> Free fatty acids<sup>۴</sup> Li<sup>۵</sup> Moderate-intensity continuous training<sup>۶</sup> Pino<sup>۷</sup> Wu<sup>۸</sup> Melo<sup>۱</sup> Type 2 Diabetes Mellitus<sup>۲</sup> Body max index<sup>۳</sup> Perilipins<sup>۴</sup> Triglyceride<sup>۵</sup> Perilipin 2<sup>۶</sup> Physiological role of adipose triglyceride lipase

شد (۲۹). برای تهیه غذای پرچرب به غذای استاندارد ۱ درصد پودر کلسترول و ۱ درصد روغن ذرت ۱۰۰ درصد خاص اضافه شد. یک هفته پس از تزریق STZ با اندازه‌گیری سطوح گلوکز خون موش‌های صحرایی که قند خون آن‌ها بین ۱۵۰ mg/dL تا ۴۰۰ mg/dL بود به‌عنوان نمونه‌های دیابتی در نظر گرفته شدند (۳۰). در طی این ۸ هفته هر روز به موش‌های صحرایی تزریق درون وریدی کوئرستین صورت پذیرفت و به گروه دیابت کنترل نیز همین مقدار نرمال سالی‌ن تزریق شد. کوئرستین مصرفی در این پژوهش به صورت پودر از شرکت سیگما با خلوص ۸۵ درصد خریداری و با دوز ۱۵ mg/kg و به صورت سوسپانسیون در کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد استفاده شد (۳۱).

### پروتکل HIIT و MICT

حداکثر سرعت موش‌های صحرایی (MAS)<sup>۲</sup> همان‌طور که قبلاً در مطالعه دیگری توضیح داده شد اندازه‌گیری شد (۳۲). به این ترتیب، پروتکل آزمون MAS شامل یک جلسه تمرین بود که در آن سرعت شروع ۱۰ متر در دقیقه بوده و به تدریج هر ۶۰ ثانیه به میزان ۳/۳۳ متر در دقیقه افزایش می‌یافت تا اینکه به ۲۶/۷ متر در دقیقه رسید و سپس ۱/۳۷ متر در دقیقه تا زمانی که موش‌های صحرایی دیگر قادر به دویدن نبودند افزایش می‌یافت (۳۲). در پایان هر دو هفته، حداکثر MAS هر موش تعیین شد. پروتکل HIIT شامل ۸ هفته برنامه تمرینی روی نوار گردان ۵ بار در هفته، مجموعاً ۴۰ جلسه تمرینی بود. قبل و بعد از هر جلسه HIIT، فعالیت ۵ دقیقه‌ای با شدت ۴۰ درصد از MAS آن‌ها انجام شد (۳۳). جلسات HIIT شامل ۷ تا ۱۰ جلسه تمرینی با شدت بین ۸۰ تا ۹۵ درصد MAS و استراحت فعال بین مرحله‌ها ۶۰ ثانیه با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد MAS بود. شدت تمرین به تدریج بین گروه‌ها افزایش یافت. تمرین MICT شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۳۳ تا ۴۹ درصد از حداکثر سرعت هوازی MAS موش و به دنبال آن ۵۰ دقیقه دویدن روی نوارگردان با شدت ۶۵ درصد MAS آن‌ها بود. تمرین با ریکآوری فعال ۳ دقیقه با شدت ۲۰ تا ۳۰ درصد از MAS آن‌ها به پایان رسید که در مجموع ۶۳ دقیقه تمرین برای این گروه در هر جلسه بود (۳۴). گروه‌های کنترل نیز هر روز به اتاق دویدن آورده می‌شدند تا شرایط یکسانی (از مرکز حیوانات به اتاق دویدن آزمایشگاه) داشته باشند و این موش‌ها نیز روی نوار گردان خاموش قرار داده شدند. تمام جلسات تمرینی توسط دو فارغ التحصیل فیزیولوژی ورزشی و فیزیوتراپی نظارت و اجرا می‌شد.

### بافت برداری و اندازه‌گیری PLIN2 و ATGL

در نهایت ۴۸ ساعت پس از اتمام ۸ هفته مداخلات تمرینی و کوئرستین، به دنبال یک شب ناشتایی موش‌های صحرایی با تزریق زیرجلدی ۳۰-۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین ۱۰ درصد و ۳-۲ میلی‌گرم در کیلوگرم زایلزین ۲ درصد بی‌هوش شدند. سپس بافت کبد سریع جدا و پس از

برابر چاقی، متابولیسم غیرطبیعی چربی و T2DM پیشنهاد شده است، اما مشخص نیست که آیا این اثرات به دنبال انواع پروتکل‌های ورزشی (مانند تمرین مقاومتی در مقابل تمرین استقامتی، تمرین با شدت متوسط در مقابل تمرین با شدت بالا و مدت زمان تمرین در مقابل شدت آن) رخ می‌دهد یا خیر (۱۲). به نظر می‌رسد تغییرپذیری قطرات چربی در کبد پس از فعالیت ورزشی و مکانیسم‌های درگیر در فرآیند تنظیم لیپولیز ناشی از فعالیت و تغییر در پروتئین‌های مرتبط با لیپولیز و لیپوژنز یک موضوع باز تحقیقاتی به شما می‌رود، اما این موضوع که شدت‌ها و مدل‌های متفاوت تمرین همراه با مکمل‌دهی کوئرستین در حین تمرین چه تیراتی را بر قطرات چربی کبد به وجود می‌آورد به‌طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است. از این رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته تمرینات HIIT و MICT به همراه مکمل‌دهی کوئرستین بر سطوح بیان ژن ATGL و PLIN2 کبد موش‌های صحرایی چاق مبتلا به T2DM بود.

### روش پژوهش

تحقیق حاضر از نوع تجربی، به روش آزمایشگاهی با طرح پس آزمون و نمونه‌های حیوانی آن، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بوده و پروپوزال آن در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه محقق اردبیلی با شماره IR.UMA.REC.1402.042 به ثبت رسیده است. بدین ترتیب، ۴۲ سر موش صحرایی نر ویستار با ۸ هفته سن به‌عنوان نمونه تحقیق از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه اردبیل خریداری شدند. تعداد ۳۶ سر از این حیوانات پس از ۸ هفته رژیم غذایی پرچرب و آشنایی با محیط آزمایشگاه و نوار گردان مورد القای دیابت قرار گرفتند. حیوانات به ۷ گروه تقسیم گردیده و در هر گروه ۶ موش صحرایی قرار داده شد: گروه سالم کنترل (HC)، گروه دیابت کنترل (DC)، دیابت گروه مکمل کوئرستین (DQ)، گروه دیابت تمرین HIIT (DTH)، گروه دیابت تمرین MICT (DTM)، گروه دیابت کوئرستین تمرین HIIT (DTQH)، گروه دیابت کوئرستین تمرین MICT (DTQM). تمامی جوندگان در شرایط کنترل شده و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش صحرایی بودند. به این صورت که میانگین دمای محیطی ۲۲±۳ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت بود.

### القای T2DM و دوز مصرفی کوئرستین

از رژیم غذایی پرچرب به مدت ۸ هفته و سپس محلول استریل‌توزوتوسین STZ<sup>۱</sup> (۲۹) (Sigma, St. Louis, MO) ۵۰ mg/Kg (STZ) تازه تهیه شده حل شده در بافر سیترات با PH=۴/۵ به‌صورت داخل صفاقی (۳۰) با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای القای دیابت نوع دو استفاده شد. به موش‌های صحرایی غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق

<sup>۲</sup> Maximal aerobic speed

<sup>۱</sup> Streptozotocin

برای بررسی اثر کوثرستین و مقایسه دو به دو گروه‌های تمرینی HIIT و MICT با و بدون مصرف کوثرستین نسبت به گروه‌های کنترل آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه صورت پذیرفت و نتایج آن به شرح زیر است: برای هر دو شاخص PLIN2 و ATGL بافت کبد موش‌های صحرایی بین ۷ گروه به ترتیب با سطح معناداری  $(P=0/001)$  و  $(P=0/001)$  تفاوت معناداری وجود دارد (جدول ۲). القای T2DM برای شاخص‌های PLIN2 و ATGL به ترتیب باعث افزایش بیان ژن  $(P=0/001)$  و کاهش بیان ژن  $(P=0/001)$  ATGL در بافت کبد شده است که این نتیجه از مقایسه گروه DC با گروه HC به دست آمد. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای بیان ژن PLIN2 نشان داد که برای گروه‌های DTH، DTM، DTQH و DTQM نسبت به گروه DC به ترتیب با سطح معناداری  $(P=0/001)$ ،  $(P=0/001)$ ،  $(P=0/001)$  و  $(P=0/001)$  کاهش معنادار، اما برای DQ نسبت به گروه DC عدم تفاوت معنادار مشاهده نشده است  $(P=0/145)$  و بین چهار گروه تمرینی با یکدیگر نیز تفاوت معناداری وجود نداشت  $(P \geq 0/05)$  (نمودار ۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی برای بیان ژن ATGL نشان داد که برای گروه‌های DTH، DTM، DTQH و DTQM نسبت به گروه DC به ترتیب با سطح معناداری  $(P=0/001)$ ،  $(P=0/001)$ ،  $(P=0/001)$  و  $(P=0/001)$  کاهش معنادار، اما برای DQ نسبت به گروه DC  $(P=0/759)$  عدم تفاوت معنادار مشاهده شده است (نمودار ۲). بین چهار گروه تمرینی با یکدیگر نیز تفاوت معناداری وجود داشت  $(P < 0/05)$  به طوری که بین دو گروه تمرینی DTH و DTM نسبت به دو گروه DTQH و DTQM تفاوت معنادار وجود داشت  $(P < 0/05)$  و سطوح بیان ژن آن‌ها نسبت به گروهی که مکمل کوثرستین تزریق شد کمتر افزایش یافته بود.

نتایج آزمون تحلیل واریانس ترکیبی برای سطوح گلوکز خون نشان داد که اثر زمان  $(P=0/001)$  و  $(f=1597/48)$ ، گروه  $(P=0/001)$  و  $(f=67/37)$  و تعامل زمان و گروه  $(P=0/001)$  و  $(f=52/92)$  معنادار است. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که القای دیابت باعث افزایش سطوح گلوکز خون موش‌های صحرایی شده است، اما ۸ هفته تزریق کوثرستین به تنهایی و همراه با تمرینات HIIT و MICT و تمرینات HIIT و MICT به تنهایی باعث کنترل سطوح خون موش‌های دیابتی شده است  $(P < 0/001)$ . همچنین بین دو گروه تمرینی HIIT و MICT که همراه با تزریق مکمل کوثرستین بودند در مقایسه با دو گروه تمرینی که بدون تزریق کوثرستین بودند تفاوت معناداری وجود داشت  $(P < 0/05)$  (نمودار ۳). نتایج آزمون تحلیل واریانس ترکیبی برای میزان تغییرات نشان داد که اثر زمان  $(P=0/001)$  و  $(f=6565/83)$ ، گروه  $(P=0/001)$  و  $(f=81/22)$  و تعامل زمان و گروه  $(P=0/001)$  و  $(f=67/37)$  معنادار است. پس از ۸ هفته مداخله تمرینی و تزریق کوثرستین تغییرات وزن در گروه‌های DTH، DTM، DTQH و DTQM در مقایسه با گروه DC و DQ

شستشو با سرم فیزیولوژی در میکروتیوب‌های عاری از RNAase و DNAase جهت جلوگیری از هر گونه آلودگی مایع منجمد شدند. استخراج RNA با استفاده از معرف Total RNA Extraction kit و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (پارس طوس، ایران) صورت پذیرفت. نمونه RNA رهاسازی در لوله ۱/۵ میلی لیتری در فریزر  $-70^{\circ}\text{C}$  نگهداری شد. برای اندازه‌گیری بیان mRNA از روش Real-time PCR با استفاده از دستگاه Lava 96 Real-time PCR Detection System (Daan Gene Co Ltd) صورت پذیرفت و کیت مورد استفاده در پژوهش نیز 2X SYBR Green Real Time PCR (پارس طوس، ایران) بود. واکنش Real-time PCR با  $6/25$  میکرولیتر Master Mix،  $0/25$  میکرولیتر پرایمر Forward،  $0/25$  میکرولیتر پرایمر Reverse،  $3$  میکرولیتر cDNA به همراه  $2/75$  میکرولیتر آب انجام شد. مقادیر مقایسه‌ای بیان ژن‌های  $\text{PGC1-}\alpha$  و  $\text{NRF-1}$  در مقایسه با بیان GAPDH در هر بافت توسط نرم افزار Light Cycler SW1.1 مورد ارزیابی قرار گرفت (۳۵).

### راه حل آماری

داده‌های تحقیق حاضر با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ تجزیه و تحلیل شد. از آزمون تحلیل واریانس دو راهه با آزمون تعقیبی توکی (با سطح معناداری  $P < 0/05$ ) برای مقایسه میزان تغییرات بیان ژن PLIN2 و ATGL در بین چهار گروه تمرینی با و بدون مصرف کوثرستین و از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه دو به دو کل گروه‌های تحقیق استفاده شد. برای بررسی تغییرات گلوکز و وزن موش‌های صحرایی از آزمون تحلیل واریانس ترکیبی با آزمون تعقیبی توکی (با سطح معناداری  $P < 0/05$ ) استفاده شد.

### یافته‌ها

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس دو راهه نشان داد که پس از ۸ هفته مداخله تنها در میزان بیان ژن ATGL بین چهار گروه تمرینی با و بدون مصرف کوثرستین تفاوت معنادار وجود داشت  $(P < 0/05)$ ، به طوری که تمرین HIIT و MICT همراه با مصرف کوثرستین به ترتیب با  $(P=0/002)$ ،  $f=11/203$ ، اندازه اثر  $=0/301$  و  $(P=0/001)$ ،  $f=13/358$ ، اندازه اثر  $=0/339$  باعث افزایش معنادار سطوح آن نسبت به دو گروه تمرینی بدون مکمل شده بود (جدول ۱). براساس اندازه اثر این گونه به نظر می‌رسد که تمرین MICT به همراه مصرف کوثرستین بیشترین تأثیر را بر فاکتور ATGL داشته است (اندازه اثر  $=0/339$ ) (جدول ۱). برای میزان بیان ژن PLIN2 بین چهار گروه تمرینی با و بدون مصرف کوثرستین تفاوت آماری معناداری مشاهده نشد  $(P > 0/05)$ ، هرچند که بر اساس اندازه اثر ظاهراً در گروه تمرین HIIT به همراه کوثرستین میزان آن بیشتر کاهش پیدا کرده است (اندازه اثر  $=0/089$ ) (جدول ۱). در ادامه

کاهش معناداری داشت ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۴). در جدول شماره ۳ توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر برای بررسی بیان ژن ATGL و PLIN2 ارائه گردیده است.

جدول ۱. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه برای PLIN2 و ATGL در چهار گروه تمرینی

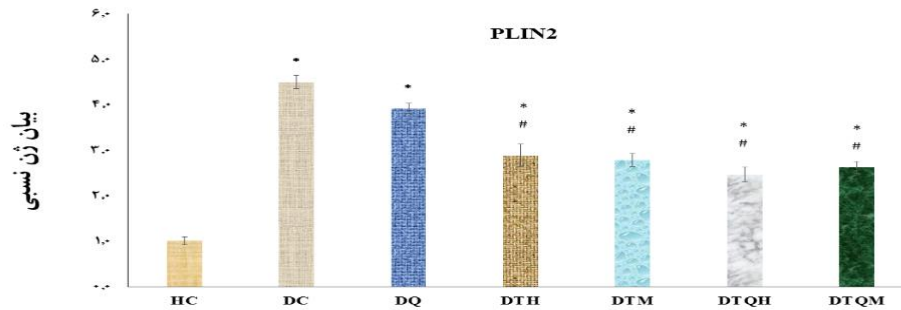
متغیر	عامل	F	P	اندازه اثر
PLIN2	تمرین HIIT	۲/۲۹۹	۰/۱۴۲	۰/۰۸۱
	تمرین MICT	۱/۴۷۷	۰/۲۳۵	۰/۰۵۴
	مکمل کوئرتستین (HIIT)	۰/۸۰۸	۰/۳۷۷	۰/۰۳۱
	مکمل کوئرتستین (MICT)	۰/۹۰۴	۰/۳۵۱	۰/۰۳۴
	تمرین HIIT + کوئرتستین	۲/۵۳۶	۰/۱۲۳	۰/۰۸۹
	تمرین MICT + کوئرتستین	۲/۲۶۳	۰/۱۴۵	۰/۰۸۱
ATGL	تمرین HIIT	۱۱/۲۰۳	*۰/۰۰۲	۰/۳۰۱
	تمرین MICT	۱۳/۳۵۸	*۰/۰۰۱	۰/۳۳۹
	مکمل کوئرتستین (HIIT)	*۰/۰۰۹	۰/۹۲۴	*۰/۰۰۱
	مکمل کوئرتستین (MICT)	۰/۱۴۶	۰/۷۰۵	*۰/۰۰۶
	تمرین HIIT + کوئرتستین	۶/۰۴۶	*۰/۰۲۱	۰/۱۸۹
	تمرین MICT + کوئرتستین	۸/۳۵۶	*۰/۰۰۸	۰/۲۴۳

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه دو به دو کل گروهها

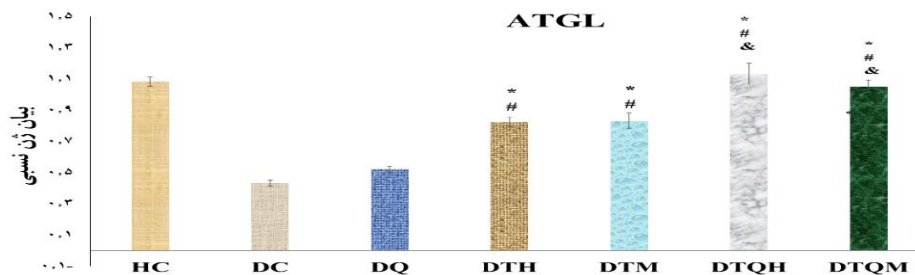
آزمون تعقیبی ATGL		آزمون تعقیبی PLIN2		تحلیل واریانس یک راهه	
P	گروهها	P	گروهها	P	فاکتورها
*۰/۰۰۱	HC DC	*۰/۰۰۱	HC DC	*۰/۰۰۱	PLIN2
۰/۷۵۹	DQ	۰/۱۴۵	DQ		
*۰/۰۰۱	DTH	*۰/۰۰۱	DTH		
*۰/۰۰۱	DTM	*۰/۰۰۱	DTM		
*۰/۰۰۱	DTQH	*۰/۰۰۱	DTQH		
*۰/۰۰۱	DTQM	*۰/۰۰۱	DTQM		
*۰/۰۰۱	HC DTM	*۰/۰۰۱	HC DTM		
*۰/۰۰۱	DQ	*۰/۰۰۱	DQ		
*۰/۰۱۵	DTQH	۰/۸۹۰	DTH	*۰/۰۰۱	ATGL
*۰/۰۰۱	DTQM	۰/۴۶۸	DTQH		
۰/۹۸۳	HC DTQH	*۰/۰۰۱	HC DTQH		
*۰/۰۰۱	DQ	*۰/۰۰۱	DQ		
*۰/۰۰۱	DTH	۰/۷۷۵	DTH		
۰/۸۸۶	DTQM	۰/۹۸۹	DTQM		
۰/۹۹۹	HC DTQM	*۰/۰۰۱	HC DTQM		
*۰/۰۰۱	DQ	*۰/۰۰۱	DQ		
*۰/۰۲۲	DTH	۰/۷۵۵	DTH		
*۰/۰۱۵	DTM	۰/۹۸۹	DTM		



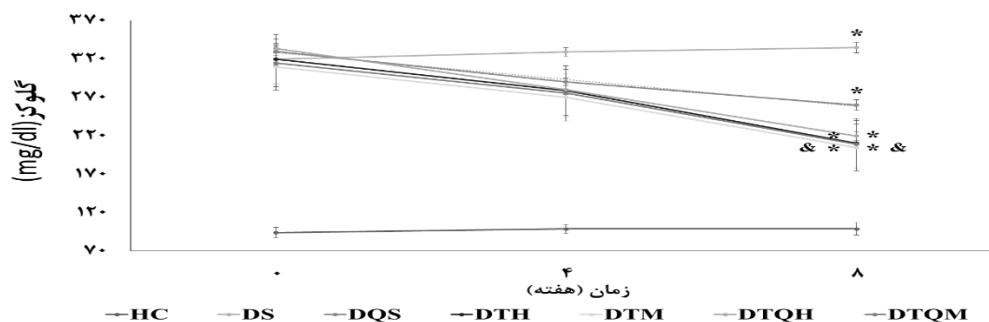
\*نشان دهنده تفاوت معنادار  $P < 0.05$ . علائم اختصاری HC، DC، DQ، DTH، DTM، DTQH و DTQM به ترتیب نشان دهنده گروه‌های سالم کنترل، دیابت کنترل، دیابت مکمل کوئرستین، دیابت تمرینات HIIT، دیابت تمرینات MICT، دیابت کوئرستین تمرینات HIIT و دیابت کوئرستین تمرینات MICT.



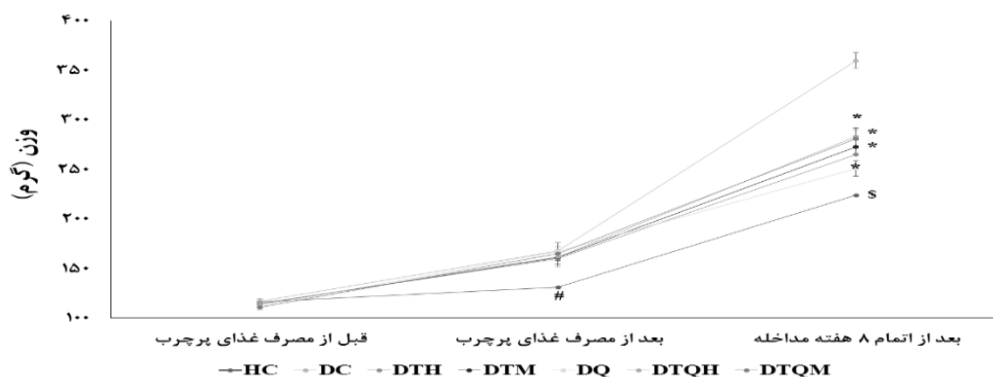
نمودار ۱. تغییرات بیان ژن PLIN2 پس از ۸ هفته مداخله در گروه‌های مختلف \* نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های DC، DQ، DTH، DTQM و DTQH با گروه HC. # نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرینی با گروه‌های DC و DQ.



نمودار ۲. تغییرات بیان ژن ATGL پس از ۸ هفته مداخله در گروه‌های مختلف \* نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های DC، DQ، DTH، DTQM و DTQH با گروه HC. # نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرینی با گروه‌های DC و DQ. & نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های DTQM و DTQH با گروه‌های DTH و DTM.



نمودار ۳. تغییرات گلوکز خون پس از القای دیابت، ۴ هفته پس از القای دیابت و پس از ۸ هفته مداخله در گروه‌های مختلف \* نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های DC، DQ، DTH، DTM، DTQH و DTQM با گروه DC. & نشان دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرینی با تزریق کوئرستین با گروه‌های DTH، DQ و DTM.



نمودار ۴. تغییرات وزن موش‌های صحرایی قبل از مصرف غذای پرچرب، بعد از مصرف غذای پرچرب و پس از ۸ هفته مداخله در گروه‌های مختلف. # و & نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های HC با گروه‌های DQ، DTM، DTH، DTQH و DTQM. \* نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرینی با گروه‌های HC، DC و DQ.

### جدول ۳. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Forward	TM	Reverse	TM
PLIN2	AGCACCCGTATTTGAGGTCA	۵۹/۰۲	CATCCTTTGCCCCAGTTACG	۵۸/۹۱
ATGL	GAAGGAGCAGACAGGTAGCA	۵۹/۱۰	GCAGAAGAGACCCAGCAGTA	۵۹/۱۰
GPDH	AACGACCCCTTCATTGACCT	۵۸/۹۴	CCCCATTTGATGTTAGCGGG	۵۸/۹۷

گلوکز خون متعاقب ۸ هفته از تزریق این مکمل مشاهده شد. اگرچه در گروه QD ظاهراً تا حدودی بهبود سطوح بیان ژن دو شاخص مذکور مشاهده گردید، اما تأثیر معناداری از لحاظ آماری بر میزان تغییرات این دو شاخص نداشت که ممکن است به دوز کوئرستین مصرفی در پژوهش حاضر مربوط باشد. در تحقیقات پیشین کوئرستین یکی از پراکنده‌ترین فلاونوئیدها در قلمرو گیاهی به‌عنوان یک عامل مؤثر در کاهش خطر T2DM در تحقیقات اپیدمیولوژیک گزارش شده (۳۸) که در تحقیقات آزمایشگاهی *in vivo* و *in vitro* مشاهده شده است و شامل چندین سازوکار اساسی از جمله تحریک ترشح انسولین، محافظت ضد اکسیداتیو و ضد التهابی از پانکراس می‌باشد (۳۱). به طور کلی، پلی فنول‌های کوئرستین با افزایش انتقال<sup>۱</sup> GLUT4 به غشای سلولی توده چربی و عضله مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهند (۳۹). بنابراین، کاهش سطوح گلوکز خون بعد از ۸ هفته تزریق کوئرستین می‌تواند از طریق پیشبرد اثرات ضد اکسیداتیوی آن باشد.

از جمله شاخص‌های اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر میزان بیان ژن PLIN2 در کبد موش‌های صحرایی بوده است که در هر دو گروه تمرینی با و بدون تزریق مکمل کوئرستین کاهش بیان ژن آن پس از یک دوره مداخله در موش‌های صحرایی چاق دیابتی دیده شده است. در افراد چاق و دیابتی کاهش PLIN2 در اثر تمرین ورزشی نشان‌دهنده از بهبود متابولیسم چربی و گلوکز می‌باشد. همان‌گونه که در

### بحث

سبک زندگی کم‌تحرک، موجب بروز بیماری‌هایی از جمله پرفشاری خون، چاقی و T2DM می‌شود. علاوه بر این، رژیم غذایی پرچرب نیز می‌تواند سبب بروز چاقی شود و خطرات بزرگ مرتبط با سلامتی از قبیل توسعه و پیشرفت التهاب مزمن و اختلالات متابولیکی را آشکار نماید. استفاده از روش‌های طب مکمل در بهداشت و درمان به سرعت در حال افزایش است (۳۶). نمونه‌هایی از درمان‌های مکمل و جایگزین برای کاهش وزن شامل مکمل‌های غذایی از جمله گیاهان دارویی و مواد مؤثره آنها، طب سوزنی و هومئوپاتی هستند (۳۷). بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات HIIT و MICT همراه با مکمل‌دهی کوئرستین بر بیان ژن‌های PLIN2 و ATGL کبد موش‌های صحرایی چاق دیابتی نوع دو بود. نتایج نشان داد که رژیم غذایی پرچرب و تزریق STZ باعث افزایش بیان ژن PLIN2 و کاهش بیان ژن ATGL در کبد موش‌های صحرایی دیابتی شده است. در مقابل انجام تمرینات HIIT و MICT با و بدون مکمل کوئرستین باعث کاهش بیان ژن PLIN2 و افزایش بیان ژن ATGL شده است. لازم به ذکر است که برای شاخص ATGL بین گروه‌های تمرینی همراه با مکمل و بدون مکمل تفاوت وجود داشت و برای گروه‌هایی که همزمان تمرین ورزشی با تزریق مکمل داشتند بهبود سطوح بیان ژن از لحاظ آماری بیشتر بوده است. در مورد تزریق مکمل کوئرستین در گروه QD کاهش میزان

<sup>۱</sup> Glucose transporter 4

فعالیت بدنی با شدت ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب است، چرا که اکسیداسیون چربی در شدت‌های متوسط فعالیت ورزشی به اوج می‌رسد. هرچند در برخی تحقیقات مربوط به دیابت نیز شدت تمرینات مورد استفاده یا ذکر نشده یا به‌طور دقیق مشخص نشده است (۴۴). نتایج مطالعات نشان داده‌اند که بین میزان PLIN2 و تری‌گلیسرید درون عضلانی<sup>۳</sup> (IMTG) ارتباط وجود دارد، اگرچه در پژوهش حاضر میزان تغییرات IMTG مورد بررسی قرار نگرفت اما، از آنجا که شدت تمرینی در گروه‌های MICT در پژوهش حاضر تا نزدیک این مرز از حداکثر اکسیژن مصرفی بوده است و بنابراین تحقیقات این شدت از تمرینات برای تغییر سطوح IMTG کافی است. لذا، احتمالاً با تغییر سطوح این شاخص کاهش معنادار در سطوح PLIN2 متعاقب ۸ هفته تمرینات MICT و HIIT به همراه و بدون تزریق کوئرستین به چشم خورده است (۴۵).

از دیگر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر میزان بیان ژن ATGL بود که افزایش سطوح آن در هر ۴ گروه مشاهده گردید و بین گروه‌های تمرینی همراه با مکمل و بدون مکمل تفاوت وجود داشت و برای گروه‌هایی که همزمان تمرین ورزشی با تزریق مکمل داشتند بهبود سطوح بیان ژن محسوس‌تر بوده است. نتایج تحقیق حاضر با نتایج بیشتر مطالعات (۴۶، ۴۷) همسو و با نتایج برخی تحقیقات ناهمسو است (۴۲، ۴۸). افزایش سطوح ATGL پس از تمرین ورزشی در مطالعات فیتج<sup>۳</sup> و سوگیموتو مشاهده شده است، درحالی که در تحقیقی دیگر عدم تغییر معناداری آن پس از اجرای تمرین ورزشی استقامتی (۴۸) و یا کاهش میزان پروتئینی آن پس از ۱۵ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط به چشم می‌خورد (۴۲). این تفاوت‌ها ممکن است مربوط به نوع تمرین (هوازی، مقاومتی و ترکیبی)، پروتکل تمرینی (مدت، حجم و شدت تمرین)، روش اندازه‌گیری ATGL و نوع آزمودنی (زن، مرد، بیمار یا سالم) باشد. با توجه به شدت و مدت تمرین و میزان دسترسی به سوپرسترا، میزان استفاده از FA برای متابولیسم اکسیداسیون در زمان تمرینات MICT به بالاترین حد می‌رسد. لذا، افزایش ATGL در گروه MICT در تحقیق حاضر طبیعی به نظر می‌رسد. درمورد تمرینات HIIT می‌توان این‌گونه بیان نمود که افزایش بیان ATGL احتمالاً باعث حفظ غلظت کم متابولیت‌های اسید چرب عضلانی و در نهایت به بهبود حساسیت به انسولین در تمرین‌های شدید منجر می‌گردد (۴۹). اخیراً، در مطالعه‌ی وو و همکاران (۲۰۲۲) این‌گونه مطرح شده است که ورزش هوازی ارتباط نزدیکی با کاهش تجمع چربی داخل کبدی و پاسخ التهابی از طریق مهار سطوح SRA دارد که دو کلید برای بهبود استتاتوز کبدی هستند. SRA یک RNA طولانی غیر کد کننده است که به

تحقیق حاضر مشاهده شد میزان گلوکز خون در هر ۴ گروه تمرینی در مقابله با گروه دیابتی کنترل کاهش معناداری داشت. در زمینه تغییرات PLIN2 متعاقب تمرینات ورزشی نتایج همسو (۲۵، ۴۰، ۴۱) و ناهمسویی (۲۴، ۴۲) با تحقیق حاضر وجود دارد. به‌گونه‌ای که در بخشی از مطالعات افزایش بیان این شاخص متعاقب تمرینات ورزشی دیده شده است (۲۵، ۴۰، ۴۱) که با مطالعه تحقیق حاضر همسو، اما در برخی دیگر کاهش یا عدم تغییر معنادار سطوح بیان آن دیده شده است که با نتیجه مطالعه حاضر ناهمسو است (۲۴، ۴۲). دلایل متفاوتی برای ناهمسویی تحقیقات وجود دارد که از جمله می‌توان به سن نمونه‌های تحقیق، جنسیتشان، نوع نمونه‌ها (سالم یا بیمار)، بافت اندازه‌گیری شده، مسیر آزمایشگاهی آنالیز شاخص‌ها و نوع پروتکل تمرینی موش‌های صحرایی اشاره کرد. همسو با نتیجه تحقیق حاضر در مطالعه یانگ<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۲۲) نیز که مطالعه بر روی موش‌های صحرایی دارای کبد چرب غیرالکلی بود نتایج نشان داد که اجرای ۱۵ هفته تمرین روی نوار گردان با شدت متوسط باعث کاهش سطوح بیان PLIN2 در کبد موش‌های صحرایی شده است (۴۲). در حالی که، در مطالعه پینو و همکاران (۲۰۱۹) یک دوره تمرین ورزشی شدید در موش‌های سالم و چاق اثر متفاوتی بجای گذاشت به‌طوری که در گروه موش‌های چاق شده با رژیم غذایی پرچرب تغییر معناداری مشاهده نشد، اما باعث افزایش PLIN2 در موش‌های سالم شده است (۲۵) که با نتیجه تحقیق حاضر ناهمسو است. عامل اصلی این تناقض در نتایج در مورد PLIN2 می‌تواند به نوع آزمودنی مربوط باشد، چراکه براساس مطالعه‌ی نتایج تحقیقات نشان داده شده است ظاهراً در آزمودنی‌های سالم در اثر تمرین ورزشی نه تنها کاهش میزان PLIN2 اتفاق نمی‌افتد، بلکه با افزایش آن نیز همراه است همان‌گونه که در مطالعه پینو (۲۰۱۹) در موش‌های سالم افزایش سطوح آن مشاهده شد (۲۵). مطالعات زیادی بر روی افراد سالم انجام گرفته که نشان می‌دهد تمرینات تناوبی به طیف وسیعی از مزایای قلبی-عروقی و متابولیکی در آن‌ها منجر می‌شود که از نظر مقدار، مشابه یا برابر با افرادی است که با ورزش منظم و مداوم هوازی، این مزایا را به دست آورده‌اند که شامل افزایش در بایوژنز میتوکندری عضلانی و سطوح GLUT4، توسعه و بهبود حساسیت به انسولین است. با توجه به این مطلب تمرینات HIIT توسعه در حساسیت به انسولین را ایجاد می‌کند و سبب اکسیداسیون چربی می‌شوند. بدین ترتیب، کاهش بیان ژن شاخص موثر در لیپوژنز چربی (PLIN2) در پژوهش حاضر به‌نظر می‌رسد (۴۳). از سوی دیگر، در تحقیق حاضر میزان بیان ژن PLIN2 در گروه تمرینی MICT نیز کاهش پیدا کرد که نتیجه‌ی آن همراستا با این مورد می‌باشد که حداقل شدت تمرینی برای تأثیرگذاری مطلوب بر لیپیدها،

<sup>۳</sup> Fritsch<sup>۱</sup> Yang<sup>۲</sup> Intramuscular triglyceride

by continuous glucose monitoring in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Frontiers in endocrinology*. 2020;11:486.

6. Esefeld K, Kress S, Behrens M, Zimmer P, Stumvoll M, Thurm U, et al. Diabetes, sports and exercise. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2021;129(S 01):S52-S9.

7. Pari L, Maheswari JU. Hypoglycaemic effect of *Musa sapientum* L. in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 1999;68(1-3):321-5.

8. Fernandez-Marcos PJ, Auwerx J. Regulation of PGC-1 $\alpha$ , a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;93(4):884S-90S.

9. Umeno A, Horie M, Murotomi K, Nakajima Y, Yoshida Y. Antioxidative and antidiabetic effects of natural polyphenols and isoflavones. *Molecules*. 2016;21(6):708.

10. Sevastre-Berghian AC, Ielciu I, Mitre AO, Filip GA, Oniga I, Vlase L, et al. Targeting oxidative stress reduction and inhibition of HDAC1, MECP2, and NF-kB pathways in rats with experimentally induced hyperglycemia by administration of *Thymus marshallianus* Willd. extracts. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:581470.

11. Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European journal of pharmacology*. 2008;585(2-3):325-37.

12. Chiş I, Baltaru D, Dumitrovici A, Coseriu A, Radu B, Moldovan R, et al. Protective effects of quercetin from oxidative/nitrosative stress under intermittent hypobaric hypoxia exposure in the rat's heart. *Physiology International*. 2018;105(3):233-46.

13. Kim J-H, Kang M-J, Choi H-N, Jeong S-M, Lee Y-M, Kim J-I. Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus. *Nutrition research and practice*. 2011;5(2):107-11.

14. Greenberg AS, Coleman RA, Kraemer FB, McManaman JL, Obin MS, Puri V, et al. The role of lipid droplets in metabolic disease in rodents and humans. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(6):2102-10.

15. McManaman JL, Bales ES, Orlicky DJ, Jackman M, MacLean PS, Cain S, et al. Perilipin-2-null mice are protected against diet-induced obesity, adipose inflammation, and fatty liver disease [S]. *Journal of lipid research*. 2013;54(5):1346-59.

16. Motomura W, Inoue M, Ohtake T, Takahashi N, Nagamine M, Tanno S, et al. Up-regulation of ADRP in fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet. *Biochemical and*

دلیل نقش مهمی که در متابولیسم لیپید دارد، توجه روزافزونی را به خود جلب کرده است (۲۷). از نظر مکانیکی، ورزش هوازی ممکن است با سرکوب بیان SRA، فعالیت رونویسی FOXO1 را مهار کند، که منجر به تنظیم مثبت بیان ATGL می‌شود. علاوه بر این در مطالعه مذکور بهبود التهاب با تغییر قابل توجهی در پروتئین‌های التهابی و مسیرهای سیگنالینگ P38/JNK همراه بوده است. نتایج مطالعه‌ی وو و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که SRA نقش مهمی در ورزش هوازی برای بهبود متابولیسم چربی کبد ایفا می‌کند. پس شاید یکی از موارد کنترل کننده میزان بیان ژن SRA، ATGL باشد چراکه احتمالاً یک lncRNA بالقوه کلیدی برای بهبود پاسخ التهابی به استئاتوز کبدی از طریق مسیر سیگنالینگ MAPK است (۲۷). از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم اندازه‌گیری سایر متغیرهای درگیر در روند لیپوژنز و لیپوفاز از قبیل FOXO1، STRA13، PRDM16 و PPAR- $\gamma$  و میزان بیان پروتئینی شاخص‌های ATGL و PLIN2 بود.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، می‌توان این‌گونه بیان کرد که تزریق ۸ هفته مکمل کوئرستین باعث کنترل سطوح گلوکز خون موش‌های صحرایی شده است و ظاهراً هنگامی که تمرین ورزشی همراه با تزریق مکمل کوئرستین باشد تغییرات بیان ATGL نسبت به زمانی که تمرین به تنهایی اجرا شد، بیشتر است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی مصوب دانشگاه محقق اردبیلی بوده که با شماره ۱۴۰۲/د/۹/۱۴۷۵۴ به ثبت رسیده است.

### تضاد منافع

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

1. Selman A, Burns S, Reddy AP, Culbertson J, Reddy PH. The role of obesity and diabetes in dementia. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(16):9267.

2. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022;55(1):31-55.

3. Khan MAB, Hashim MJ, King JK, Govender RD, Mustafa H, Al Kaabi J. Epidemiology of type 2 diabetes—global burden of disease and forecasted trends. *Journal of epidemiology and global health*. 2020;10(1):107.

4. Cereijo L, Gullón P, Del Cura I, Valadés D, Bilal U, Badland H, et al. Exercise facilities and the prevalence of obesity and type 2 diabetes in the city of Madrid. *Diabetologia*. 2022;65:150-8.

5. Bennetsen SL, Feineis CS, Legaard GE, Lyngbæk MP, Karstoft K, Ried-Larsen M. The impact of physical activity on glycemic variability assessed

26. Turnbull PC, Longo AB, Ramos SV, Roy BD, Ward WE, Peters SJ. Increases in skeletal muscle ATGL and its inhibitor G0S2 following 8 weeks of endurance training in metabolically different rat skeletal muscles. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2016;310(2):R125-R33.
27. Wu B, Xu C, Tian Y, Zeng Y, Yan F, Chen A, et al. Aerobic exercise promotes the expression of ATGL and attenuates inflammation to improve hepatic steatosis via lncRNA SRA. *Scientific Reports*. 2022;12(1):5370.
28. de Melo DG, Anaruma CP, da Cruz Rodrigues KC, Pereira RM, de Campos TDP, Canciglieri RS, et al. Strength training alters the tissue fatty acids profile and slightly improves the thermogenic pathway in the adipose tissue of obese mice. *Scientific reports*. 2022;12(1):6913.
29. Ahmadi M, Kazemzadeh Y, Mirzayan S, Shahedi V, Eizadi M. Improvement of glucose levels and insulin resistance in the absence of change in adiponectin expression in subcutaneous adipose tissue in response to intense interval training in obese diabetic rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2021;28(8):33-43.
30. Khajehlandi M. A comparison of the effect of endurance training on the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in the cardiac tissue of healthy and diabetic rats. *Yafteh*. 2020;21(4).
31. Eitah HE, Maklad YA, Abdelkader NF, El Din AAG, Badawi MA, Kenawy SA. Modulating impacts of quercetin/sitagliptin combination on streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. *Toxicology and applied pharmacology*. 2019;365:30-40.
32. Dupas J, Feray A, Guernec A, Pengam M, Inizan M, Guerrero F, et al. Effect of personalized moderate exercise training on Wistar rats fed with a fructose enriched water. *Nutrition & metabolism*. 2018;15(1):1-12.
33. Li B, Liang F, Ding X, Yan Q, Zhao Y, Zhang X, et al. Interval and continuous exercise overcome memory deficits related to  $\beta$ -Amyloid accumulation through modulating mitochondrial dynamics. *Behavioural brain research*. 2019;376:112171.
34. Pengam M, Goanvec C, Moisan C, Simon B, Albacète G, Féray A, et al. Moderate intensity continuous versus high intensity interval training: Metabolic responses of slow and fast skeletal muscles in rat. *Plos one*. 2023;18(10):e0292225.
35. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time biophysical research communications. 2006;340(4):1111-8.
17. Straub BK, Stoeffel P, Heid H, Zimbelmann R, Schirmacher P. Differential pattern of lipid droplet-associated proteins and de novo perilipin expression in hepatocyte steatogenesis. *Hepatology*. 2008;47(6):1936-46.
18. Libby AE, Bales E, Orlicky DJ, McManaman JL. Perilipin-2 deletion impairs hepatic lipid accumulation by interfering with sterol regulatory element-binding protein (SREBP) activation and altering the hepatic lipidome. *Journal of Biological Chemistry*. 2016;291(46):24231-46.
19. Najt CP, Senthivinayagam S, Aljazi MB, Fader KA, Olenic SD, Brock JR, et al. Liver-specific loss of Perilipin 2 alleviates diet-induced hepatic steatosis, inflammation, and fibrosis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2016;310(9):G726-G38.
20. Orlicky DJ, Libby AE, Bales ES, McMahan RH, Monks J, La Rosa FG, et al. Perilipin-2 promotes obesity and progressive fatty liver disease in mice through mechanistically distinct hepatocyte and extra-hepatocyte actions. *The Journal of physiology*. 2019;597(6):1565-84.
21. Kaur S, Auger C, Barayan D, Shah P, Matveev A, Knuth CM, et al. Adipose-specific ATGL ablation reduces burn injury-induced metabolic derangements in mice. *Clinical and translational medicine*. 2021;11(6):e417.
22. Prats C, Donsmark M, Qvortrup K, Londres C, Sztalryd C, Holm C, et al. Decrease in intramuscular lipid droplets and translocation of HSL in response to muscle contraction and epinephrine. *Journal of lipid research*. 2006;47(11):2392-9.
23. Schweiger M, Lass A, Zimmermann R, Eichmann TO, Zechner R. Neutral lipid storage disease: genetic disorders caused by mutations in adipose triglyceride lipase/PNPLA2 or CGI-58/ABHD5. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*. 2009;297(2):E289-E96.
24. Li R, Li G, Hai Y, Li T, Bian Y, Ma T. The effect of aerobic exercise on the lipophagy of adipose tissue in obese male mice. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2022;247:105225.
25. Pino-de la Fuente F, Quezada L, Sepúlveda C, Monsalves-Alvarez M, Rodríguez JM, Sacristan C, et al. Exercise regulates lipid droplet dynamics in normal and fatty liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2019;1864(12):158519.

45. Ghafari M, Banitalebi E, Faramarzi M, Mohebi A. Comparison of two intensities of aerobic training (low intensity and high intensity) on expression of perilipin 2 skeletal muscle, serum glucose and insulin levels in streptozotocin-diabetic rats. *Armaghane danesh*. 2017;22(3):282-94.
46. Fritsch LJ, McCaulley SJ, Johnson CR, Lawson NJ, Gorres-Martens BK. Exercise prevents whole body type 2 diabetes risk factors better than estradiol replacement in rats. *Journal of Applied Physiology*. 2021;131(5):1520-31.
47. Sugimoto T, Uchitomi R, Onishi T, Kamei Y. A combination of exercise and calorie restriction improves the development of obesity-related type 2 diabetes mellitus in KKAy mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2023;87(1):108-13.
48. Louche K, Badin P-M, Montastier E, Laurens C, Bourlier V, de Glisezinski I, et al. Endurance exercise training up-regulates lipolytic proteins and reduces triglyceride content in skeletal muscle of obese subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013;98(12):4863-71.
49. Kim C-H, Kim M-S, Youn J-Y, Park H-S, Song H-S, Song KH, et al. Lipolysis in skeletal muscle is decreased in high-fat-fed rats. *Metabolism*. 2003;52(12):1586-92.
- quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *methods*. 2001;25(4):402-8.
36. Fu J, Wang Y, Tan S, Wang J. Effects of banana resistant starch on the biochemical indexes and intestinal flora of obese rats induced by a high-fat diet and their correlation analysis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021;9:575724.
37. Crighton E, Coghlan ML, Farrington R, Hoban CL, Power MW, Nash C, et al. Toxicological screening and DNA sequencing detects contamination and adulteration in regulated herbal medicines and supplements for diet, weight loss and cardiovascular health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2019;176:112834.
38. Yao Z, Gu Y, Zhang Q, Liu L, Meng G, Wu H, et al. Estimated daily quercetin intake and association with the prevalence of type 2 diabetes mellitus in Chinese adults. *European journal of nutrition*. 2019;58:819-30.
39. Bahadoran Z, Golzarand M, Mirmiran P, Saadati N, Azizi F. The association of dietary phytochemical index and cardiometabolic risk factors in adults: Tehran Lipid and Glucose Study. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2013;26:145-53.
40. Shaw CS, Shepherd SO, Wagenmakers AJ, Hansen D, Dendale P, Van Loon LJ. Prolonged exercise training increases intramuscular lipid content and perilipin 2 expression in type I muscle fibers of patients with type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2012;303(9):E1158-E65.
41. Pino-de la Fuente F, Bórquez JC, Díaz-Castro F, Espinosa A, Chiong M, Troncoso R. Exercise regulation of hepatic lipid droplet metabolism. *Life Sciences*. 2022;298:120522.
42. Yang Y, Li X, Liu Z, Ruan X, Wang H, Zhang Q, et al. Moderate Treadmill Exercise Alleviates NAFLD by Regulating the Biogenesis and Autophagy of Lipid Droplet. *Nutrients*. 2022;14(22):4910.
43. MacPherson RE, Herbst EA, Reynolds EJ, Vandenboom R, Roy BD, Peters SJ. Subcellular localization of skeletal muscle lipid droplets and PLIN family proteins OXPAT and ADRP at rest and following contraction in rat soleus muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2012;302(1):R29-R36.
44. Amati F, Dubé JJ, Alvarez-Carnero E, Edreira MM, Chomentowski P, Coen PM, et al. Skeletal muscle triglycerides, diacylglycerols, and ceramides in insulin resistance: another paradox in endurance-trained athletes? *Diabetes*. 2011;60(10):2588-97.