

Original Paper

## Effect of resistance training on FOXO1 gene expression in subcutaneous fatty tissue in diabetic wistar rats

\***Shahram Sohaily (Ph.D)**, Corresponding Author, Assistant Professor of Exercise Physiology, Safadasht Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. E-mail: shsohaily@yahoo.com ORCID ID: 0000-0003-4407-1890

**Mojtaba Eizadi (Ph.D)**, Assistant Professor of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran. ORCID ID: 0000-0003-1989-692X

**Daniel Tarmast (Ph.D)**, Assistant Professor of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Parand Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0002-9831-1274

---

### Abstract

**Background and Objective:** Hormone and genetic disorders are the most important causes of hyperglycemia in obese and diabetes patients. This study was done to determine the effect of the resistance training program on FOXO1 gene expression in subcutaneous adipose tissue as an effective transcription factor in insulin signaling pathways, fasting glucose and insulin resistance in type 2 diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, type 2 diabetes induced by high fat diet and Streptozotocin (STZ, 30 mg/kg/bw) intraperitoneal injection in 14 male wistar rats (220±20 g). Animals were randomly allocated into exercise (n=7) and control (n=7) groups. Exercise group were participated in resistance training program (6 weeks, 5 days/weekly). Fasting blood glucose and insulin as well FOXO1 gene expression in subcutaneous adipose tissue were measured lasted exercise session in the two groups.

**Results:** Resistance training significantly reduces in fasting glucose, insulin resistance and FOXO1 gene expression in subcutaneous adipose tissue in exercise group in compared to control group (P<0.05).

**Conclusion:** Resistance training lead to decrease of insulin resistance and blood glucose by inhibiting FOXO1 gene expression in subcutaneous adipose tissue in diabetic rats.

**Keywords:** Resistance training, FOXO1 gene, Fasting glucose, Type 2 diabetes

---

Received 27 Oct 2018

Revised 3 Feb 2019

Accepted 18 Feb 2019

Cite this article as: Shahram Sohaily, Mojtaba Eizadi, Daniel Tarmast. [Effect of resistance training on FOXO1 gene expression in subcutaneous fatty tissue in diabetic wistar rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2020 Winter; 21(4): 53-59. [Article in Persian]

## اثر تمرینات مقاومتی بر بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیر پوستی موش‌های صحرایی دیابتی نژاد ویستار

ORCID ID: 0000-0003-4407-1890

ORCID ID: 0000-0003-1989-692X

ORCID ID: 0000-0002-9831-1274

\* دکتر شهرام سهیلی، استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

دکتر مجتبی ایزدی، استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.

دکتر دانیال تارمست، استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** اختلال در عملکرد مولفه‌های هورمونی و ژنتیکی از مهم‌ترین عوامل هایپرگلیسمی در افراد چاق و بیماری دیابت هستند. ژن FOXO1 به عنوان یکی از عوامل رونویسی موثر در مسیرهای سیگنالینگ انسولین، گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین محسوب می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرینات مقاومتی بر بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیر پوستی موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۱۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی  $20 \pm 22$  گرم توسط تغذیه رژیم غذایی پرچرب و تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ،  $30 \text{ mg/kg}$ ) به دیابت نوع دو مبتلا و به شیوه تصادفی به گروه‌های ۷ تایی کنترل و ورزش تقسیم شدند. گروه ورزش در یک دوره تمرینات هوازی ۶ هفته‌ای به تعداد ۵ روز هفته شرکت نمودند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، سطح ناشتایی گلوکز و انسولین خون و نیز بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیر پوستی هر دو گروه اندازه‌گیری و مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** تمرینات هوازی سبب کاهش آماری معنی‌دار گلوکز ناشتا، مقاومت انسولین و بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیر پوستی در مقایسه با گروه کنترل گردید ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی به واسطه مهار بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیر پوستی به کاهش مقاومت انسولین و گلوکز سرم در موش‌های دیابتی منجر می‌گردد.

**کلید واژه‌ها:** تمرین مقاومتی، بیان ژن FOXO1، گلوکز ناشتا، دیابت نوع دو

\* نویسنده مسؤول: دکتر شهرام سهیلی، پست الکترونیکی shsohaily@yahoo.com

نشانی: استان تهران، صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد صفادشت، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن ۴۴۸۲۹۷۳۳-۰۲۱

وصول مقاله: ۱۳۹۷/۸/۵، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۱۴، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱۱/۲۹

### مقدمه

ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس برخوردار است (۳)؛ اثرات مداخله آن در مسیرهای سیگنالینگ انسولین در بافت‌های هدف نظیر بافت چربی و عضلاتی نیز به شدت مقاومت انسولین و نیمرخ گلیسمیک را متاثر می‌سازد (۴). در این زمینه، مطالعات پیوستگی ژنی به نقش احتمالی ژن FOXO1 در پاتوژنز دیابت نوع دو به واسطه این ادعا که کنترل گلیسمیک و متابولیسم چربی را متاثر می‌کند؛ اشاره نموده‌اند. اگرچه شواهد بالقوه‌ای که این ارتباط را مستقیماً گزارش کنند؛ محدود هستند و این ادعا بیشتر به یافته‌ها از مطالعات *in vitro* متکی است (۵). تغییرات در بیان ژن FOXO1 قادر به تاثیر در بسیاری از فعالیت‌های هورمونی و ژنتیکی در بافت چربی است. برای مثال، اسیلیشن FOXO1 واکنش‌های وابسته فسفوریلاسیون انسولین را افزایش می‌دهد (۶). همچنین مشخص شده فعالیت FOXO1 به‌طور معکوس توسط انسولین و عوامل رشد از طریق خروج هسته‌ها و فسفوریلاسیون وابسته به AKT تنظیم

اگرچه دیابت نوع دو یک بیماری چند علتی است؛ اما یکی از عوامل خطر برجسته آن شیوع پدیده چاقی است. در میان عوامل موثر در بروز دیابت نوع دو، چاقی از بیشترین اهمیت برخوردار است (۱). در این میان نقش اختلالات متابولیکی و نیمرخ التهابی نیز از اهمیت بالایی برخوردار است. از طرفی، مطالعات به‌شدت بر شناخت عوامل ژنتیکی موثر در این بیماری و سایر بیماری‌های مزمن تاکید دارند. به‌طوری که در دهه اخیر عوامل ژنتیکی متعددی که در شیوع یا افزایش شدت دیابت نوع ۱ و ۲ اهمیت ویژه‌ای دارند؛ معرفی شده‌اند. اختلال در بیان آنها یا پلی مورفیسم‌های آنها زمینه را برای شیوع یا افزایش شدت دیابت به‌واسطه آسیب در ترشح انسولین یا آسیب‌رهایی برخی محرک‌های انسولین و مکانیسم‌های عهده‌دار عملکرد انسولین در سطح سلول‌های هدف ایجاد می‌کند (۲). بین آنها ژن FOXO1 علاوه بر این که از اهمیت بالقوه‌ای در

چربی و تاثیر متقابل آن بر انسولین و مقاومت انسولین را اندازه گیری نموده باشد؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرینات مقاومتی بر بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیرپوستی موش های صحرایی دیابتی انجام شد.

### روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۱۴ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با وزن تقریبی  $220 \pm 20$  گرم خریداری شده از انستیتو پاستور ایران، در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات طی سال ۱۳۹۶ انجام شد.

پروتکل اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق (شماره ۳۷۸۸-۸-۹۶) شورای منتخب پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی، استان البرز قرار گرفت. حیوانات در اطافی به ابعاد  $1/60$  در  $2/20$  متر در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی، شروع روشنایی ۶ عصر و شروع خاموشی ۶ صبح)، دما ( $22 \pm 3$  سانتی گراد) و رطوبت ( $50-30$  درصد) نگهداری شدند. تعداد سه تا پنج عدد موش در قفس هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد  $25 \times 27$  در  $43$  سانتی متر با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد پرچرب نگهداری شدند.

**شیوه القای دیابت نوع دو:** برای القای دیابت نوع دو، از رژیم غذایی پرچرب برای مدت ۶ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده استرپتوزوتوسین (STZ) در بافر سترات ( $pH=4/5$ ) به صورت داخل صفاقی ( $30 \text{ mg/kg}$ ) استفاده شد. برای تهیه غذای پرچرب، به غذای استاندارد حیوانات که از شرکت خوراکی پارس دام خریداری شد؛ یک درصد پودر کلسترول و یک درصد روغن ذرت  $100$  درصد خالص اضافه شد (۱۴). یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز سرم ناشتا اندازه گیری و مقادیر  $400-150$  میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش های صحرایی به دیابت نوع دو در نظر گرفته شد (۱۵).

سپس حیوانات به شیوه تصادفی به گروه های ۷ تایی کنترل (عدم تمرین) و ورزش (تمرینات مقاومتی ۶ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته) تقسیم شدند.

**پروتکل تمرین مقاومتی:** برنامه تمرینات مقاومتی در گروه ورزش از هفته هیجدهم شروع و برای مدت ۶ هفته ادامه یافت. الگوی توزیع شدت تمرین و اعمال مقاومت در طول دوره تمرینی با اقتباس از چند مطالعه قبلی که با دوره های تمرینی ۴، ۶ و ۸ هفته ای روی موش های صحرایی اجرا شده بود؛ طراحی گردید (۱۲ و ۱۶ و ۱۷). به طوری که الگوی توزیع شدت تمرین با افزایش تدریجی اعمال مقاومت به صورت بستن وزنه به دم موش ها معادل درصدهای متفاوتی از وزن بدن بود که به تعداد ۵ جلسه در هفته در قالب

می شود (۷). اگر چه FOXO1 در آدیپوسیت ها به صورت فراوان یافت می شود؛ عملکرد بیولوژیکی آن در سلول های بافت چربی هنوز به طور کامل شناخته نشده است. احتمالاً انسولین بیان آنزیم های محدود کننده سرعت لیپولیتیک نظیر ATGL (adipose lipase) را توسط FOXO1 تنظیم می کند (۸). FOXO1 یکی از مهم ترین ایزوفرم های FOXO در بافت های حساس به انسولین نظیر کبد، عضله و بافت چربی است که به طور معکوس توسط تحریک انسولین تنظیم می شود. آسیب سیگنال های انسولین به FOXO1 با سلسله واکنش های مهمی که ناهنجاری های مرتبط با دیابت نوع دو را به دنبال دارد؛ همراه است (۹). از طرفی بیان آن در بافت چربی افراد دیابتی بالاتر از افراد سالم بوده و دارای ارتباط مثبت و معنی داری با مقاومت انسولین و TNF- $\alpha$  به عنوان یکی از سایتوکین های التهابی است (۱۰). از این رو به نظر می رسد کاهش بیان آن توسط محرک های درونی یا بیرونی با کاهش مقاومت انسولین یا نیمیخ التهابی همراه باشد. علی رغم این که مطالعات ژنتیکی به ارتباط متقابل مسیرهای سیگنالینگ انسولین با بیان ژن FOXO1 اشاره نموده اند (۷ و ۹ و ۱۰)؛ اما تاکنون مطالعه ای که مستقیماً اثر ورزش و تمرینات ورزشی را روی عملکرد آنها در بافت چربی دنبال نماید؛ به چشم نمی خورد. لازم به ذکر است که مطالعات پیشین همواره از حضور مقاومت انسولین و اختلال عملکرد انسولین در بافت چربی و عضلات اسکلتی حمایت نموده اند (۸). از طرفی، برخی مطالعات آشکار نموده اند کاهش بیان ژن FOXO1 دارای نقش مهمی در سازگاری عضله اسکلتی به تمرین استقامتی است. به طوری که مهار فعالیت FOXO1 به افزایش ظرفیت اکسایشی عضلات در پاسخ به تمرینات استقامتی منجر می شود (۱۱). از طرفی یافته های مطالعه Slopack و همکاران نشان داد که یک جلسه تمرین استقامتی به افزایش معنی دار پروتئین و بیان ژن FOXO1 در عضله اسکلتی موش ها منجر گردید (۱۲). در حالی که تمرینات استقامتی طولانی مدت به کاهش معنی دار بیان ژن FOXO1 منجر خواهد شد (۱۱).

یافته های مطالعه آزاد و همکاران در سال ۲۰۱۶ آشکار نمود که هر دو تمرین آبی و تمرینات طولانی مدت (۹ هفته) برونگرا در قالب دویدن روی تریدمیل با شیب منفی به تغییر معنی دار در FOXO1 در عضله پهن خارجی موش های صحرایی آزمایشگاهی منجر شد می شود؛ با این تفاوت که تمرین آبی بیان ژن FOXO1 را به میزان  $3/62$  افزایش و تمرینات طولانی مدت ۹ هفته بیان ژن FOXO1 را به میزان  $0/56$  نسبت به گروه کنترل کاهش داد (۱۳).

با توجه به محدود بودن مطالعات در زمینه تاثیر تمرین ورزشی بر بیان ژن FOXO1 در سایر بافت های بدن و نیز عدم وجود مطالعه ای که مستقیماً اثر تمرینات ورزشی را روی بیان ژن FOXO1 در بافت

شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ میلی‌لیتری در ازت غوطه‌ور شد و برای آنالیز بیان ژن به انستیتو پاستور تهران منتقل گردید. استخراج RNA توسط کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN انجام شد (۱۹). تعیین FOXO1 mRNA توسط RT-Real time PCR توسط سیستم روتروژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله ای تاکارا (One Step SYBR TAKARA) مطابق با دستورالعمل کیت انجام گردید. به منظور مطالعه ویژگی پرایمرها از دماهای ۵۰ تا ۹۹ درجه سانتی‌گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده شد الگوی توالی پرایمرها که توسط نرم‌افزار Oligo7 طراحی شده‌اند در جدول ۲ آمده است. از RNA Polymrase II به عنوان ژن کنترل استفاده شد. میانگین CT برای ژن کنترل ۱۹ و برای FOXO1 بسته به غلظت نمونه متفاوت بود. داده‌ها به روش کمی نسبی و به صورت Fold change گزارش شدند.

**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها در بین گروه‌ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آماری t مستقل استفاده گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ لحاظ شدند.

#### یافته‌ها

میانگین وزن بدن گروه‌های مورد مطالعه در شرایط قبل و پس از مداخله در جدول ۳ آمده است. در شرایط قبل از مداخله ورزشی، تفاوت آماری معنی‌داری در وزن بدن بین دو گروه مشاهده نشد. اگرچه وزن مطالعه در هر دو گروه در پایان مطالعه نسبت به قبل افزایش یافت ( $P < 0/001$ )؛ اما تفاوت معنی‌داری بین آنها در پایان مطالعه مشاهده نشد.

مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون تی مستقل، تفاوت آماری

۵ ست با ۴ تکرار در هر دوره اجرا شد (جدول یک). فواصل استراحتی بین ست‌ها ۲ دقیقه و فواصل استراحتی بین تکرارها در هر دوره ۳۰ ثانیه بود.

جدول ۱: الگوی توزیع شدت تمرین مقاومتی بر پایه اعمال وزنه

دوره تمرین	مقاومت (درصد وزن بدن)
اول	۳۰
دوم	۵۰
سوم	۷۰
چهارم	۹۰
پنجم	۱۰۰
ششم	۱۰۰

#### نمونه‌گیری خون و آنالیز بیان ژن: ۴۸ ساعت پس از آخرین

جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی هر دو گروه ورزش و کنترل پس از یک ناشتایی شبانه تشریح شدند. برای بیهوش کردن حیوانات از تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و زایلازین ۲ درصد استفاده شد (۱۵). سپس با شکافتن قفسه سینه حیوان، نمونه خون به‌طور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. از نمونه‌های خون برای اندازه‌گیری گلوکز ناشتا به روش آنزیمی رنگ‌سنجی با فناوری گلوکز اکسیداز توسط کیت شرکت پارس آزمون تهران استفاده شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون گلوکز به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. برای اندازه‌گیری مقاومت انسولین از جایگزینی مقادیر ناشتایی گلوکز و انسولین در فرمول زیر استفاده شد (۱۸).

$22/5 \div (\text{گلوکز بر حسب میلی‌مول در لیتر} \times \text{انسولین بر حسب میکرو و واحد در میلی‌لیتر}) = \text{مقاومت انسولین}$

همچنین بافت چربی زیرپوستی استخراج شد و بلافاصله پس از

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
FOXO1	For: CACCCTCTGCTGCCAAGATG Rev: GGCGAGGACTGGGTTGAC	159 bp	60	NM_001191052.1
RNA Polymrase	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTT	110 bp	60	XM_008759265.1

جدول ۳: میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن (گرم) در شرایط قبل و پس از مداخله ورزشی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	قبل از مداخله	پس از مداخله	p-value درون گروهی
کنترل	۲۸۱ ± ۶/۶۷	۳۷۱ ± ۷/۳۹	۰/۰۰۱
ورزش	۲۷۹ ± ۵/۲۱	۳۷۰ ± ۷/۵۵	۰/۰۰۱
p-value بین گروهی	۰/۶۰۲	۰/۸۳۴	-

جدول ۴: میانگین و انحراف استاندارد سطوح گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل

متغیرها	گروه کنترل	گروه ورزش	p-value
گلوکز ناشتا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۹۸ ± ۱۸	۱۹۴ ± ۳۳	۰/۰۰۱
مقاومت انسولین (HOMA-IR)	۴/۳۹ ± ۰/۳۹	۳/۱۳ ± ۰/۵۹	۰/۰۰۱

کاهش بیان ژن FOXO1 دارای نقش مهمی در سازگاری عضله اسکلتی به تمرین استقامتی است. به طوری که مهار فعالیت FOXO1 به افزایش ظرفیت اکسایشی عضلات در پاسخ به تمرینات استقامتی طولانی مدت منجر می‌شود (۱۱).

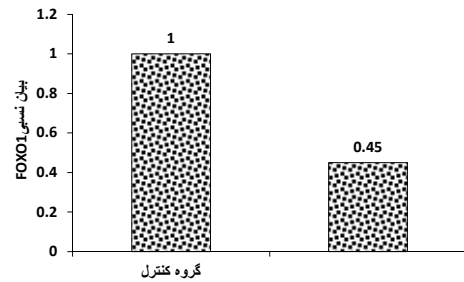
در مطالعه Slopack و همکاران در سال ۲۰۱۴، یک جلسه تمرین هوازی بیان ژن FOXO1 را بلافاصله و ۲ ساعت ریکاوری را در موش‌های صحرایی آزمایشگاهی به میزان معنی‌داری افزایش داد. سطح پروتئین FOXO1 هم تنها ۲ ساعت پس از آزمون به میزان معنی‌داری افزایش یافت. این اطلاعات اشاره می‌کنند که بیان ژن FOXO1 در جلسات اولیه یک مداخله تمرینی افزایش می‌یابد؛ اما تمرینات استقامتی طولانی مدت به کاهش سطح پروتئین FOXO1 از جلسات دهم به بعد می‌شود. این مفاهیم به کاهش بیان آن در پاسخ به تمرینات استقامتی طولانی مدت اشاره می‌کند (۱۲). از این رو، حتی اگر بیان ژن FOXO1 اندازه‌گیری نشود؛ این یافته‌ها تاکید دارند که تمرینات طولانی مدت به کاهش نقش عملکردی پروتئین FOXO1 منجر می‌شود (۱۱).

در مطالعه آزاد و همکاران نیز یک جلسه دویدن روی تردمیل بیان ژن FOXO1 را در موش‌های آزمایشگاهی به میزان ۳/۶۲ برابر افزایش داد (۱۳). شواهد موجود اغلب به اثر تمرینات ورزشی مختلف بر بیان ژن FOXO1 در عضلات اسکلتی اشاره دارند و مطالعات در این زمینه روی بافت چربی به چشم نمی‌خورد. با این وجود، با توجه به مکانیسم مشترک تاثیر FOXO1 روی عملکرد انسولین در عضله اسکلتی و بافت چربی، کاهش مقاومت انسولین و گلوکز در پاسخ به تمرینات مقاومتی در مطالعه حاضر را شاید به نوعی بتوان به کاهش بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیرپوستی نسبت داد. چراکه در مطالعه حاضر، هر دو مقاومت انسولین و گلوکز سرم در پاسخ به تمرینات مقاومتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافتند. در این زمینه برخی یافته‌های همسو و ناهمسو با مطالعه حاضر قابل مشاهده هستند. به طوری که همسو با مطالعه حاضر، در مطالعه Sheu و همکاران در سال ۲۰۰۴، دوازده هفته تمرین هوازی در ترکیب با رژیم غذایی به کاهش معنی‌دار گلوکز سرم همراه با افزایش آدیپونکتین در زنان چاق غیر دیابتی منجر شد (۲۰). در مطالعه دیگر، ۱۲ هفته فعالیت ورزشی به تعداد سه جلسه ۶۰ دقیقه‌ای در هفته در قالب پیاده روی به کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا منجر شد (۲۱).

در خصوص ارتباط FOXO1 با عملکرد انسولین در بافت هدف، اشاره شده است که این فاکتور رونویسی به واسطه تنظیم بیان GLUT4 از مهم‌ترین عوامل موثر در عملکرد انسولین و عوامل رشد است و دارای نقش موثر در تنظیم عملکرد انسولین در انتقال گلوکز است. از آنجا که پروموتور ژن GLUT4 یکی از مولکول‌های هدف FOXO1 است؛ مهار فعالیت FOXO1 به عنوان یکی از روش‌های

معنی‌داری را در سطح گلوکز سرم بین دو گروه نشان داد ( $P < 0.001$ ). به عبارتی ۶ هفته تمرین مقاومتی به کاهش آماری معنی‌دار گلوکز سرم ناشتا نسبت به گروه کنترل منجر گردید (جدول ۴). همچنین تمرینات مقاومتی سبب کاهش آماری معنی‌دار مقاومت انسولین در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل گردید ( $P < 0.001$ ) (جدول ۴).

بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیرپوستی گروه ورزش به میزان معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود ( $P < 0.001$ ). (نمودار یک).



نمودار ۱: الگوی تغییرات بیان نسبی ژن FOXO1 در گروه‌های مورد مطالعه

## بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، بیان ژن FOXO1 در بافت چربی زیر پوستی در پاسخ به مداخله تمرینات مقاومتی کاهش یافت. به عبارتی، ۶ هفته تمرین مقاومتی به تعداد ۵ جلسه در هفته به کاهش معنی‌دار بیان ژن FOXO1 در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو در مقایسه با گروه کنترل که در برنامه تمرینی شرکت نداشتند؛ منجر گردید. در این زمینه، علی‌رغم این که مطالعات ژنتیکی به ارتباط متقابل مسیرهای سیگنالینگ انسولین با بیان ژن FOXO1 اشاره نموده‌اند (۷ و ۱۰)؛ اما تاکنون مطالعه‌ای که مستقیماً اثر ورزش و تمرینات ورزشی را روی عملکرد FOXO1 در بافت چربی دنبال نماید؛ به چشم نمی‌خورد. از طرفی یافته‌های مطالعه Sanchez در سال ۲۰۱۵ نشان داد که یک جلسه تمرین استقامتی به افزایش معنی‌دار پروتئین و بیان ژن FOXO1 در عضله اسکلتی موش‌ها منجر می‌شود. در حالی که تمرینات استقامتی طولانی مدت به کاهش معنی‌دار بیان ژن FOXO1 منجر شد (۱۱). در این زمینه، اگرچه شناخت مکانیسم‌های اصلی عهده‌دار اثر یک جلسه ورزش حاد و تمرینات طولانی مدت روی سطح پروتئین یا بیان ژن نیازمند مطالعات آزمایشگاهی بیشتری است؛ اما بر پایه شواهد موجود به نظر می‌رسد مشابه با سایر تغییرات هورمونی و متابولیکی در پاسخ به یک جلسه ورزش حاد، افزایش بیان ژن FOXO1 متعاقب یک جلسه ورزش حاد نوعی پاسخ آبی و ناپایدار در پاسخ به استرس ناشی از ورزش باشد؛ اما کاهش بیان آن متعاقب تمرینات ورزشی طولانی مدت نوعی سازگاری به تمرینات ورزشی طولانی مدت و نه یک پاسخ آبی و ناپایدار قلمداد می‌شود. همچنین مشخص شده

سلول‌های بتا یا مقاومت انسولین و مسیرهای سیگنالینگ انسولین در بافت چربی و عضله اسکلتی حمایت نموده‌اند (۲۵ و ۲۶). افزایش بیان آن در بافت چربی با افزایش مقاومت انسولین و نیمرخ التهابی همراه است و عملکرد انسولین و گلوکز را به شدت متاثر می‌کند (۲۷). این فاکتور رونویسی دارای نقش بالقوه‌ای در نیمرخ التهابی در زنان مبتلا به دیابت بارداری است و در افزایش مقاومت به انسولین به واسطه اثر متقابل آن با TNF- نقش دارد (۱۰). نقش تنظیمی آن روی حساسیت انسولین و هموستاز گلوکز توسط برخی مطالعات دیگر نیز حمایت شده است (۲۸). همچنین مشخص شده بیان ژن FOXO1 به واسطه اثر فزاینده TNF- روی بیان برخی ژن‌های موثر در بافت چربی افزایش می‌یابد و به افزایش ترشح برخی سایتوکین‌هایی نظیر IL-6 و MCP-1 منجر می‌شود (۲۹). از این رو، کاهش گلوکز سرم در پاسخ به تمرین ورزشی را می‌توان به بهبود مقاومت انسولین ناشی از کاهش بیان ژن FOXO1 نسبت داد. اثر FOXO1 روی مقاومت انسولین شاید ریشه در دگرگونی میانجی‌های التهابی ناشی از FOXO1 نیز داشته باشد. در این زمینه عنوان شده FOXO1 به واسطه اتصال به پروموتور IL-1B به افزایش مقاومت انسولین در حضور چاقی منجر می‌شود (۳۰).

با توجه به مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد مقاومت انسولین و افزایش سطح گلوکز سرم با افزایش بیان ژن FOXO1 در بافت‌های هدف نظیر بافت چربی و عضلانی مرتبط است. با این وجود، مطالعات سلولی- مولکولی بیشتر به منظور شناخت مکانیسم‌های عهده‌دار فاکتورهای رونویسی موثر در عملکرد انسولین در سطوح بافت هدف مورد نیاز است.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرینات مقاومتی نسبتاً طولانی مدت در حیوانات آزمایشگاهی، سبب کاهش بیان ژن FOXO1 و همچنین کاهش سطح گلوکز سرم همراه با کاهش مقاومت انسولین می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (شماره ۵۸۳۹۵۰۷۰۲۴۰۰۰۶) مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد صفادشت بود و با حمایت مالی آن دانشگاه به انجام رسید. هیچگونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشت. بدین وسیله از همه افرادی که در انجام این تحقیق با ما همکاری نمودند؛ صمیمانه تشکر می‌نمایم. همچنین از آقای دکتر کاظم باغی و انستیتو پاستور ایران که در اندازه‌گیری و آنالیز بیان ژن ما را یاری نمودند؛ سپاسگزاری می‌گردد.

موثر کنترل دیابت نوع دو گزارش شده است (۲۲). از طرفی، در آدیپوسیت‌های موش‌های مقاوم به انسولین، میزان فعالیت FOXO1 افزایش می‌یابد که با کاهش بیان ژن‌های هدف PPAR همراه است. از طرفی مهار عملکرد FOXO1 و کاهش بیان آن در آدیپوسیت‌ها به افزایش فعالیت PPAR توسط انسولین که پیامد آن افزایش حساسیت انسولین در آدیپوسیت‌ها است؛ منجر می‌شود. به عبارتی مهار FOXO1 به نوعی به تقویت مسیرهای سیگنالینگ بین انسولین و PPAR منجر می‌شود که کاهش مقاومت انسولین را به دنبال دارد (۲۳).

بر پایه شواهد موجود، مطالعات آزمایشگاهی بهبود سطح گلوکز سرم را به افزایش عملکرد انسولین یا به عبارتی کاهش مقاومت انسولین نسبت داده‌اند (۲۰ و ۲۱). در مطالعه حاضر، علاوه بر کاهش گلوکز ناشتا، تمرینات مقاومتی با کاهش معنی‌دار مقاومت انسولین در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل همراه بود. در مطالعه Abd El-Kader و همکاران در سال ۲۰۱۳، دوازده هفته تمرین هوازی با شدت متوسط به کاهش مقاومت انسولین همراه با بهبود HbA1C در بیماران دیابتی نوع دو منجر شد (۲۲). در مطالعه Lopes و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز ۱۲ هفته تمرین ترکیبی (مقاومتی + هوازی) به کاهش معنی‌دار مقاومت انسولین در دختران دارای اضافه وزن منجر شد (۲۳). در مطالعه Samjoo و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز ۳ ماه تمرین هوازی با شدت متوسط به بهبود نیمرخ التهاب و مقاومت انسولین مستقل از کاهش وزن در مردان چاق منجر شد (۲۴).

برخی محققان بهبود گلوکز سرم یا مقاومت انسولین را به بهبود ریسپتورهای میانجی‌های هورمونی در سطح سلولی یا تغییر در بیان ژن یا پروتئین آنها در پاسخ به تمرین ورزشی نسبت داده‌اند (۱۱ و ۲۰). در این زمینه مطالعه ای کاهش گلوکز سرم در پاسخ به تمرینات تناوبی را به افزایش ترشح انسولین ناشی از کاهش بیان TCF7L2 در بافت پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو نسبت داده است (۱۵). از طرفی FOXO1 از مهم‌ترین فاکتورهای رونویسی موثر در سنتز و رهایی انسولین از سلول‌های بتای پانکراس معرفی شده است (۵ و ۴). در این زمینه مشخص شده است که آسیب سیگنال‌های انسولین به FOXO1 با سلسله واکنش‌های مهمی که ناهنجاری‌های مرتبط با دیابت نوع دو را به دنبال دارد؛ همراه است (۹). همچنین مشخص شده است که انسولین بیان آنزیم‌های محدود کننده سرعت لیپولیتیک نظیر ATGL را توسط FOXO1 تنظیم می‌کند (۸). برخی شواهد کلینیکی دیگر و مطالعات پیوستگی ژنی از اثر بالقوه فاکتور رونویسی FOXO1 بر ترشح انسولین از

## References

- Lazar MA. How obesity causes diabetes: not a tall tale. *Science*. 2005 Jan; 307(5708): 373-75. doi: 10.1126/science.1104342
- Ruchat SM, Rankinen T, Weisnagel SJ, Rice T, Rao DC, Bergman RN, et al. Improvements in glucose homeostasis in response to regular exercise are influenced by the PPAR $\gamma$  Pro12Ala variant: results from the HERITAGE Family Study. *Diabetologia*. 2010 Apr; 53(4): 679-89. doi: 10.1007/s00125-009-1630-2
- Kamagate A, Kim DH, Zhang T, Slusher S, Gramignoli R, Strom SC, et al. FoxO1 links hepatic insulin action to endoplasmic reticulum stress. *Endocrinology*. 2010 Aug; 151(8): 3521-35. doi: 10.1210/en.2009-1306
- Kawano Y, Nakae J, Watanabe N, Fujisaka S, Iskandar K, Sekioka R, et al. Loss of Pdk1-Foxo1 signaling in myeloid cells predisposes to adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Diabetes*. 2012 Aug; 61(8): 1935-48. doi: 10.2337/db11-0770
- Schick EE, McLoughlin TJ, Lee A, Pizza FX, Dong F, Komuniecki P. The effect of FoxO1 on glycemic control and skeletal muscle glucose uptake and lipid metabolism. Dissertation. Ph.D for Exercise Science. College of Graduate Studies. The University of Toledo. 2014.
- Jing E, Gesta S, Kahn CR. SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation. *Cell Metab*. 2007 Aug; 6(2): 105-14. doi: 10.1016/j.cmet.2007.07.003
- Calnan DR, Brunet A. The FoxO code. *Oncogene*. 2008 Apr; 27(16): 2276-88. doi: 10.1038/onc.2008.21
- Chakrabarti P, Kandror KV. FoxO1 controls insulin-dependent adipose triglyceride lipase (ATGL) expression and lipolysis in adipocytes. *J Biol Chem*. 2009 May; 284(20): 13296-300. doi: 10.1074/jbc.C800241200
- Fan W, Imamura T, Sonoda N, Sears DD, Patsouris D, Kim JJ, Olefsky JM. FOXO1 transrepresses peroxisome proliferator-activated receptor gamma transactivation, coordinating an insulin-induced feed-forward response in adipocytes. *J Biol Chem*. 2009 May; 284(18): 12188-97. doi: 10.1074/jbc.M808915200
- Xu Y, Jin B, Sun L, Yang H, Cao X, Zhang G. The expression of FoxO1 in placenta and omental adipose tissue of gestational diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2014 May; 122(5): 287-94. doi: 10.1055/s-0034-1371830
- Sanchez AM. FoxO transcription factors and endurance training: a role for FoxO1 and FoxO3 in exercise-induced angiogenesis. *J Physiol*. 2015 Jan; 593(Pt 2): 363-64.
- Slopack D, Roudier E, Liu ST, Nwadozi E, Birot O, Haas TL. Forkhead BoxO transcription factors restrain exercise-induced angiogenesis. *J Physiol*. 2014 Sep; 592(18): 4069-82. doi: 10.1113/jphysiol.2014.275867
- Azad M, Khaledi N, Hedayati M. Effect of acute and chronic eccentric exercise on FOXO1 mRNA expression as fiber type transition factor in rat skeletal muscles. *Gene*. 2016 Jun; 584(2): 180-84. doi: 10.1016/j.gene.2016.02.033
- Sun YP, Lu NC, Parmley WW, Hollenbeck CB. Effects of cholesterol diets on vascular function and atherogenesis in rabbits. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000 Jul; 224(3): 166-71. doi: 10.1046/j.1525-1373.2000.22416.x
- Eizadi M, Soory r, Ravasi A, Baesy K, Choobineh S. [Relationship between TCF7L2 Relative Expression in Pancreas Tissue with Changes in Insulin by High Intensity Interval Training (HIIT) in Type 2 Diabetes Rats]. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci*. 2015; 24(12): 981-93. [Article in Persian]
- Banitalebi E, Gharakhanlou R, Ghatreh-Samani K, Mohammad-Amoli M, Teimori H. [The effect of resistance training on plasma and skeletal muscles sphingosine-1-phosphate levels of male Wistar rat]. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2012; 14(1): 1-10. [Article in Persian]
- Panahi S, Agha-Alinejad H, Gharakhanloo R, Fayazmilani R, Hedayati M, Safarzadeh A, et al. The Effect of 4 Weeks Resistance Training on Murf1 Gene Expression and Muscle Atrophy in Diabetic Wistar Rats. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services*. 2016; 38(2): 6-13.
- McAuley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, et al. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care*. 2001 Mar; 24(3): 460-64. doi: 10.2337/diacare.24.3.460
- Coughlin CC, Finck BN, Eagon JC, Halpin VJ, Magkos F, Mohammed BS, et al. Effect of marked weight loss on adiponectin gene expression and plasma concentrations. *Obesity (Silver Spring)*. 2007 Mar; 15(3): 640-45. doi: 10.1038/oby.2007.556
- Sheu WH, Chang TM, Lee WJ, Ou HC, Wu CM, Tseng LN, et al. Effect of weight loss on proinflammatory state of mononuclear cells in obese women. *Obesity (Silver Spring)*. 2008 May; 16(5): 1033-38. doi: 10.1038/oby.2008.37
- Goldhaber-Fiebert JD, Goldhaber-Fiebert SN, Tristán ML, Nathan DM. Randomized controlled community-based nutrition and exercise intervention improves glycemia and cardiovascular risk factors in type 2 diabetic patients in rural Costa Rica. *Diabetes Care*. 2003 Jan; 26(1): 24-29. doi: 10.2337/diacare.26.1.24
- Abd El-Kader S, Gari A, Salah El-Den A. Impact of moderate versus mild aerobic exercise training on inflammatory cytokines in obese type 2 diabetic patients: a randomized clinical trial. *Afr Health Sci*. 2013 Dec; 13(4): 857-63. doi: 10.4314/ahs.v13i4.1
- Lopes WA, Leite N, da Silva LR, Brunelli DT, Gáspari AF, Radominski RB, et al. Effects of 12 weeks of combined training without caloric restriction on inflammatory markers in overweight girls. *J Sports Sci*. 2016 Oct; 34(20): 1902-12. doi: 10.1080/02640414.2016.1142107
- Samjoo IA, Safdar A, Hamadeh MJ, Raha S, Tarnopolsky MA. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. *Nutr Diabetes*. 2013 Sep; 3(9): e88. doi: 10.1038/ntd.2013.30
- Kitamura YI, Kitamura T, Kruse JP, Raum JC, Stein R, Gu W, Accili D. FoxO1 protects against pancreatic beta cell failure through NeuroD and MafA induction. *Cell Metab*. 2005 Sep; 2(3): 153-63. doi: 10.1016/j.cmet.2005.08.004
- Kitamura T, Nakae J, Kitamura Y, Kido Y, Biggs WH 3rd, Wright CV, et al. The forkhead transcription factor Foxo1 links insulin signaling to Pdx1 regulation of pancreatic beta cell growth. *J Clin Invest*. 2002 Dec; 110(12): 1839-47. doi: 10.1172/JCI16857
- Nakae J, Cao Y, Hakuno F, Takemori H, Kawano Y, Sekioka R, et al. Novel repressor regulates insulin sensitivity through interaction with Foxo1. *EMBO J*. 2012 May; 31(10): 2275-95. doi: 10.1038/emboj.2012.97
- Pang WJ, Yu TY, Bai L, Yang YJ, Yang GS. Tissue expression of porcine FoxO1 and its negative regulation during primary preadipocyte differentiation. *Mol Biol Rep*. 2009 Jan; 36(1): 165-76. doi: 10.1007/s11033-007-9163-6
- Ito Y, Daitoku H, Fukamizu A. Foxo1 increases pro-inflammatory gene expression by inducing C/EBPbeta in TNF-alpha-treated adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Jan; 378(2): 290-95. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.11.043
- Su D, Coudriet GM, Hyun Kim D, Lu Y, Perdomo G, Qu S, et al. FoxO1 links insulin resistance to proinflammatory cytokine IL-1beta production in macrophages. *Diabetes*. 2009 Nov; 58(11): 2624-33. doi: 10.2337/db09-0232