مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و هشتم، شماره هفت، مهر ۱۳۹۹

تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۲/۲۴
تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۰۵/۲۱

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بیان ژن‌های *BAX* و *BCL-2* در بافت بطن چپ موش‌های صحرائی دیابتی نر ویستار

علیرضا صفرنژاد[۱]، مقصود پیری*[۲]، محمدعلی آذربایجانی[۳]، مریم دلفان[۴]

مقاله پژوهشی

مقدمه: تمرین منظم با حجم متفاوت در سطح گلوکز خون نوسان ایجاد می‌کند و با تنظیم سیگنال‌دهی در بیان ژن مرگ سلولی را در میوکارد بیماران دیابتی کاهش می‌دهد. هدف از این مطالعه تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید بر نسبت *BAX* و *BCL-2* در بافت بطن چپ موش‌های صحرائی دیابتی بود.

روش بررسی: مطالعه حاضر از نوع نیمه تجربی است. بدین منظور ۱۴ سر موش نر دیابتی به دو گروه ۷ تایی تقسیم شدند: تمرین تناوبی شدید (HIIT) و کنترل (C). القاء دیابت به‌صورت پلت با رژیم غذایی پرچرب (۳۰درصد چربی و ۲۵ درصد فروکتوز) به‌مدت ۱۶ هفته انجام شد.۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و ریکاوری بعد از آن آزمودنی‌ها قربانی و بطن چپ آن‌ها استخراج شد. گلوکز پلاسما توسط گلوکز اکسیداز و مقاومت به انسولین باHOMA-IR اندازه‌گیری شد. جهت تعیین بیان ژن‌های *BAX* و *BCL-2* از روش Real time-PCR و مقایسه گروه‌ها توسط آزمون t مستقل توسط *نرم‌افزار* Graph pad prism در سطح آلفای ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد، بیان ژن *BAX* در گروه تمرینHIIT نسبت به‌گروه کنترل کاهش معناداری داشت (P=۰/۰۰۰۱). ژن *BCL-2* در گروه تمرین نسبت به‌گروه کنترل افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۰۱). شاخص مقاومت به‌انسولین و گلوکز پلاسما در گروه تمرین کاهش معناداری داشتند (P=۰/۰۱) و (P=۰/۰۲۱). وزن در هیچ‌کدام از گروه ها تغییر معناداری نداشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های به‌دست آمده، ۸ هفته تمرین تناوبی شدید می‌تواند با کاهش بیان ژن *BAX* و افزایش *BCL-2* در میوکارد موش‌های مبتلا به دیابت احتمالاً آپوپتوز را در بطن چپ کاهش داده و احتمالاً، کاردیومیوپاتی دیابتی را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: *BAX*، *BCL-2*، تمرین تناوبی، موش های صحرایی، دیابت

ارجاع: صفرنژاد علیرضا، پیری مقصود، آذربایجانی محمدعلی، دلفان مریم. **تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بیان ژن‌های *BAX* و-*BCL-2* در بافت بطن چپ موش‌های صحرائی دیابتی نر ویستار**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۹؛ ۲۸ (۷): ۴۳-۲۸۳۳.

۱- دکتری فیزیولوژی ورزشی ،گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۲-استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۳- استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۴-استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۲۱۱۲۴۴۳۴، پست الکترونیکی: m.peeri@gmail.com، صندوق پستی : ۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

مقدمه

دیابت اختلالی متابولیکی است که در آن به‌دلیل فقدان نسبی یا مطلق انسولین، هایپر گلایسمی ایجاد می‌شود (۱). سپس متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها مختل می‌گردد (۲). نقصان در مصرف گلوکز موجب عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها شده و غشاء میتوکندری با رهاسازی سیتوکروم C آسیب می‌بینند (۳). بر این اساس عنوان شده است که استرس اکسایشی نقش مهمی در تخریب میوسیت دارد (۴). تولید و رهایش محصولات نهایی گلیکاسیونی (advance glycation end products; AGE) در خون و اتصال به‌گیرنده‌های سطحی سلول موجب التهاب شده و در ایجاد مرگ سلولی نقش دارد (۵). راه‌اندازی مسیر AGE ساز و کار اولیه و عامل مهمی در آتروژنز و اختلالات مزمن التهابی به‌شمار می‌رود (۶) و موجب مرگ سلولی در میوسیت می‌شود (۷). زیرا هایپرگلایسمی طولانی‌مدت، خون و اکسیژن‌رسانی به قلب را محدود می‌کند (۸)؛ به این دلیل عنوان شده است بافت قلب نسبت به سایر بافت‌ها سریع‌تر به مرگ سلولی پاسخ می‌دهد (۹). مرگ سلولی در ابتدا توسط نکروز ایجاد می‌شود، که در اولین مسیر باعث از دست دادن ساختار طبیعی قلب می‌شود اما این فرایند به سرعت بهبود می‌یابد (۱۰) و پس از هایپرگلایسمی و افزایش مقاومت به انسولین، عملکرد پروتئین های تیروزین‌کیناز و فسفوکیناز تضعیف شده و مرگ سلولی در بطن چپ ایجاد می‌شود (۱۱)، که به تبعیت از آن، آپوپتوز سلول‌های قلبی در بیماران دیابتی به‌طور گسترده‌ای ایجاد می‌شود (۱۲). آپوپتوز مرگ برنامه‌ریزی شده یاخته و روندی فیزیولوژیک و زیستی جهت نمو فعال در شرایط طبیعی برای حفظ هومئوستاز است که از مسیرهای مختلف ایجاد می‌شود (۱۳)، از جمله هایپرگلایسمی، که استرس اکسایشی و التهاب ایجاد می‌کند (۱۴). افزایش قند خون می‌تواند موجب نامتعادل شدن فرایند آپوپتوز به‌وسیله تولید و افزایش در عملکرد پروتئین پیش‌آپوپتوزی (*bcl-2associated protein X; BAX*) و کاهش در تولید و نقصان در فعالیت پروتئین ضد آپوپتوز (*B-cell BCL-2 lymphoma;*) شود (۱۵). فاکتور ضدآپوپتوزی *BCL-2* از رهاسازی سیتوکروم C و تخریب غشاء میتوکندری از طریق حفظ یکپارچگی غشاء جلوگیری می‌کند (۱۵) و نیز مقاومت به انسولین با ایجاد جهش‌های ژنی و افزایش استرس سلولی در مسیرهای مختلف تخریب بافت قلب را گسترش می‌دهد (۱۶). پژوهشگران معتقدند نقص در عملکرد انسولین به وسیله کاهش در فعالیت پروتئین فسفواینوزیتول‌کیناز۳ (۱۷) و کاهش در تولید متسع‌کننده‌های عروقی از جمله نیتریک‌اکساید، عملکرد *BCL-2* را تضعیف کرده و آپوپتوز در میوکارد ایجاد می‌کند (۱۸). تغذیه پر کالری، شیوه زندگی کم تحرک و استرس محیطی از عوامل اصلی ابتلای به دیابت نوع ۲ ذکر شده است (۱۹،۲۰). انجام برنامه ورزشی به‌عنوان شیوه‌ای غیرداروییو موثر در کنترل این بیماری در کنار سایر مراحل درمانی توصیه می‌شود (۲۱). طبق مطالعات مختلف انجام تمرین منظم می‌تواند، با افزایش نسبت پروتئین‌های ضد آپوپتوزی و مهار سیگنال‌دهی پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی از ایجاد آسیب‌های قلبی جلوگیری کند (۲۲). در خصوص شدت تمرین عنوان شده تمرینHIIT با اجراهای متناوب و ریکاوری فعال در تنظیم بیان ژن و بهبود عملکرد قلب در بیماران دیابتی موثر می‌باشد (۲۱). از طرفی به‌دلیل انقباضهای پی در پی عضلانی با فعال‌سازی فاکتورGLUT-4، راه اندازی پروتئین AMPK و فعالیت کلسیم درون سلولی موجب مصرف گلوکز می‌شود (۱۷). مطالعه اثرات تمرینات ورزشی بر مسیر آپوپتوزیس و فاکتورهای دخیل در آبشار پیام‌رسانی از موضوعاتی است که کمتر به بررسی آن پرداخته شده است و نوآوری مطالعه حاضر بررسی اثر تمرینات تناوبی شدید بر عوامل مرتبط با مرگ سلولی در میوسیت حیواناتی است که بر اثر رژیم غذایی پرچرب به دیابت نوع ۲ مبتلا شده‌اند. با این حال از آنجایی که آثار تمرین تابعی از نوع، شدت و مدت آن است (۲۱) و با توجه به تناقض‌های بسیار در رابطه با آثار تمرین بر کاهش مرگ سلولی میوسیت (۲۲)، لذا مطالعه حاضر برای اولین‌بار به بررسی تاثیر۸ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژنی *BAX* و*BCL-2* در بافت بطن چپ موش‌های صحرایی نر دیابتی انجام شد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع آزمایشگاهی و نمونه‌گیری تصادفی ساده می‌باشد. جهت انجام پژوهش ۱۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سن ۵ تا ۶ هفته، وزن ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم از انستیتو پاستور تهران تهیه شد. نگهداری حیوانات در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجهٔ سانتی‌گراد و سیکل روشنایی تاریکی۱۲:۱۲، در قفس‌های مخصوص با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد حیوانات به صورت پلت بود.

جدول ۱: تغییرات وزن، مقادیرگلوکز و مقاومت به انسولین را به تفکیک گروه‌ها نشان می‌دهد

متغیر	گروه	گروه کنترل	تمرین HIIT
وزن (گرم)		۲۶±۳۵۳	۲۰±۳۶۰
گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)		۲۴±۳۰۶	۴۳±۱۴۴*
شاخص مقاومت به انسولین		۰/۰±۲۱/۰۲	۰/۰±۱۸/۰۴*

اعداد به شکل میانگین± انحراف استاندارد بیان شده اند، * نشانهٔ معناداری نسبت به گروه کنترل می باشد.

نحوه القاء دیابت

موش‌ها به مدت ۱۶ هفته با غذای پر چرب و حاوی فروکتوز تغذیه شدند. قبل از این مدت با پلت استاندارد تغذیه می‌شدند و در طول دوره تمرین نیز همین رژیم تغذیه پر چرب را دریافت می‌کردند. تهیه غذا در انستیتوی رازی برای ساخت ۱۰۰کیلوگرم پلت پرچرب، ۴۵ کیلوگرم پودر پلت استاندارد، ۳۰ کیلوگرم چربی حیوانی حاصل از آب کردن دنبه گاو و ۲۵ کیلوگرم فروکتوز که به‌شکل پلت استاندارد قالب زده شد. به‌منظور تایید القای دیابت نوع۲، میزان قند خون ناشتا با گلوکومتر 01-mini ARKRAY (ساخت ژاپن) و با نمونه‌گیری خون از دم موش‌ها اندازه‌گیری شد و سطوح گلوکز بیشتر از ۱۶۰میلی‌گرم بر میلی لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن نوع۲ در نظر گرفته شد (۲۳). در طول دوره پژوهش هیچگونه درمانی با انسولین انجام نشد و در حین مراحل پژوهش ۲ سر موش تلف شدند. یکی از موش‌های صحرایی در روند القاء دیابت و دیگری حین مراحل تمرینی تلف شدند.

پروتکل تمرین

پس از القاء دیابت به شیوه ذکر شده، موش‌ها به شکل تصادفی به ۲ گروه ۷ تایی تمرین شدید تناوبی (HIIT) و کنترل (C) تقسیم‌بندی شدند. سپس آزمودنی‌ها یک هفته به‌مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۶ تا ۱۰ متر بر دقیقه با راه رفتن بر روی تردمیل ویژه جوندگان آشنا شدند. ارزیابی توان هوازی با محاسبه سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی و محاسبه تعیین شدت تمرین با استفاده از آزمون فزاینده در ابتدای برنامه تمرینی و پایان هر هفته (۲۴) بدین‌صورت انجام شد: پس از ۳ دقیقه گرم با سرعت ۵ متر بردقیقه توسط تغییر در سرعت نوارگردان با شیب صفر درجه در هر دو دقیقه یکبار و به مقدار ۴ متر بر دقیقه افزایش یافت. بر این اساس تعیین حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که موش‌ها حداقل ۱ تا ۳ دقیقه نتوانند با سرعت ثابت بدوند پس از آن با بالا بردن سرعت قادر به دویدن نباشند. بعد از آشناسازی و آزمون فزاینده‌ای که در انتهای هر جلسه تمرین گرفته می‌شد، موش‌های گروه تمرین به‌مدت ۸ هفته برنامه تمرین خود را اجرا نمودند. پروتکل تمرین تناوبی شدید (HIIT) شامل ۵ دقیقه گرم و سرد کردن با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه (۵ متر بر دقیقه) و تناوب تمرین با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه (۱۲ متر بر دقیقه) در هفته اول، ۹۰ درصد سرعت بیشینه (۱۶ متر بر دقیقه) از هفته دوم تا پایان هفته هشتم اجرا شد. لازم به ذکر است با توجه به سازگاری ایجاد شده حداکثر سرعت بیشینه به ۲۸ متر بر دقیقه رسید. تناوب با شدت پائین نیز۳۰ درصد سرعت بیشینه (۱۰ متر بر دقیقه)، تعداد تناوب با شدت بالا در هفته اول با ۲ تکرار و در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

هفته‌های دوم و سوم با ۳ تکرار و از هفته چهارم تا هفته هشتم ۴ تکرار بود. زمان تناوب با هر دو شدت بالا و پائین ۲ دقیقه بود (جدول۲) (۲۳). در تمام دوره‌های تمرین نیز موش‌ها همچنان تغذیه پر چرب را دریافت می‌کردند.

جدول ۲: اجرای پروتکل تمرین HIIT را طی ۸ هفته نشان می دهد.

هفته‌های تمرین	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
سرعت بیشینه در زمان رسیدن به VO2max(ml/min)	۱۵	۱۸	۲۰	۲۰	۲۳	۲۶	۲۶	۲۹
تعداد شدت تناوب در هر جلسه	۳	۳	۳	۴	۳	۳	۴	۳
تناوب با شدت بالا (m/min)	۱۲	۱۶	۱۸	۱۸	۲۱	۲۳/۵	۲۳/۵	۲۶
تناوب با شدت پائین (m/min)	۵	۶	۶	۶	۸	۸	۸	۱۰

استخراج نمونه و سنجش ژن‌های *BAX* و *BCL-2* با روش Real Time- PCR، استخراج RNA و سنتز cDNA

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسهٔ تمرینی و ریکاوری پس از آن، موش‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند. سپس بافت بطن چپ بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۲۰- منجمد و برای سنجش بیان ژن در فریزر ۸۰- نگه داری شد. به منظور استخراج Total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QLAZOL LYSIS Reagent هموژن شد. جهت برداشت چاهک پروتئینی، محصول به‌دست آمده در ۴۰c، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس به‌نسبت ۱به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط شد و به‌مدت ۱۵ ثانیه با شدت تکان داده شد. محصول در ۴۰c، ۱۵min، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد تا بخش معدنی از بخش آبی جدا شوند. محتوای RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با محلول ایزوپرویانول مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دامای اتاق قرار داده شد. سپس در ۴۰C، ۱۰ دقیقه با دور۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پلات حاوی RNA توسط دستگاه (ساخت شرکت اپندورف آلمان) و در نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تلخیص مطلوب شد. سنتز cDNA با استفاده از ۱µg از RNA، Randomhexamer primer و آنزیم transcriptase Mmulv Revers انجام شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های *BAX* و*BCL-2* به‌ترتیب (Cat. No: AP52304) و (Cat. No: AP341112) توسط روش کمی‌سازی Real time-pcr با استفاده از premix syper green II (ساخت شرکت آپلید کانادا) انجام شد. واکنش مخلوط در حجم نهایی L20µ و به صورت دوتایی انجام شد. طراحی پرایمرها نیز بر اساس اطلاعات ژن‌ها در بانک اطلاعات NBCI (ساخت شرکت ماکروژن کشور کره) انجام شد. لازم به‌ذکر است که از βactin و L37a به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. دمای مورد استفاده در ۴ سیکل: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه انجام شد. میزان بیان ژن‌های موردنظر به‌وسیله روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ سنجش شد. اندازه‌گیری گلوکز پلاسما به‌روش گلوکزاکسیداز (شرکت پارس آزمون) و اندازه‌گیری مقادیر انسولین از روش الایزا (Crystal chem ساخت کانادا) با ضریب تغییر ۰/۰۵ و حساسیت ۱ ml/dl بررسی گردید. شاخص مقاومت به انسولین به‌روش HOMA-IR طبق فرمول زیر اندازه‌گیری شد:

HOMA-IR (انسولین ناشتا) = [µU/mL (گلوکز ناشتا) × mmol/L)] /22.5

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

جدول ۳: توالی پرایمری ژن‌های مورد مطالعه

ژن		توالی پرایمر (′3 → ′5)
BAX	Forward	CTAGAGGATGGCTGCACTAAACAC
	Reserve	AAGCAAACAGGGCCAATGTC
BCL-2	Forward	AAGGACAAGTGGTCCGAGTAAAG
	Reserve	AGCCATATTTGCCGTCCTTCTC
Bactin	Forward	GCAAGATGCACATTACCCTCTG
	Reserve	CAGCGTGTGATCTTGCACTC

تجزیه و تحلیل آماری

در بخش مربوط به‌آمار توصیفی از شاخص پراکندگی انحراف معیار و نمودار استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک مشخص شد. جهت تعیین اختلاف بین گروه‌ها از آزمون t مستقل استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار Graph pad prism نسخه ۸ و در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ محاسبه شد.

ملاحظات اخلاقی

تمام مراحل با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (برابر پروتکل هلیسنگی ۲۰۰۶) مصوب دانشگاه علوم پزشکی با اخذ کد اخلاق IR.SBMU.RETECH.1395.883 تصویب و انجام شد.

نتایج

همانگونه که اطلاعات جدول ۱ نشان داد، تغییرات مقدار وزن پس از گذشت هشت هفته تمرین به لحاظ آماری معنادار نشد. اما تغییرات مقادیر گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل معنادار شد. مقادیر بیان ژن *BAX* در گروه تمرین کاهش معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (P=۰/۰۰۰۱). (نمودار۱). مقادیر بیان ژن *BCL-2* در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نشان داد (P=۰/۰۰۰۱). (نمودار۲). در جدول۴ مقادیر بیان ژن *BAX* و *BCL-2* برای هر یک از نمونه‌ها در هر دو گروه پژوهش ارائه شده است.

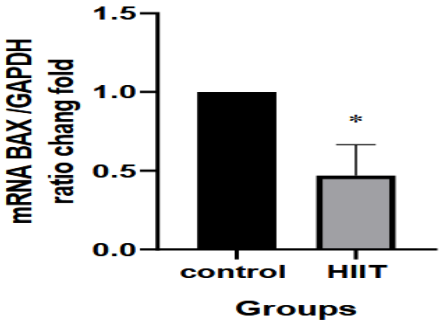
جدول ۴: مقادیر بیان ژن *BAX* و *BCL-2* را در بافت بطن چپ موش‌های صحرایی دیابتی پس از ۸ هفته تمرین HIIT را نشان می‌دهد.

متغیر	گروه کنترل	گروه تمرین HIIT	مقادیر t	مقادیر P
BAX (pg./ml)	۱±۰۰۰	۰/۴۱۵±۰/۰۳۸	۱/۱۳۲	p=۰/۰۰۰۱
BCL-2 (pg./ml)	۱±۰۰۰	۳/۸۴±۰/۰۲۴	۴/۵۲۴	p=۰/۰۰۰۱

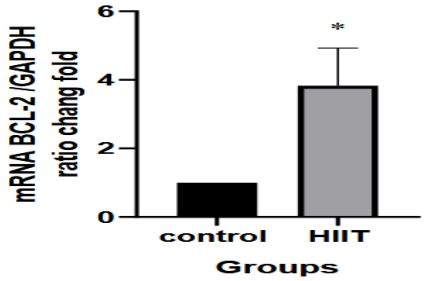
اعداد به شکل میانگین± خطا استاندارد بیان شده‌اند. * نشانه معناداری نسبت به کنترل توسط آزمون آماری t مستقل.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]



نمودار ۱: نسبت بیان ژن *BAX* به میزان *GAPDH* بر حسب گروه‌ها
(*) نشانه تفاوت معنادار با گروه کنترل در سطح معناداری (۰/۰۵)



نمودار ۲: نسبت بیان ژن *BCL-2* به میزان *GAPDH* بر حسب گروه‌ها
(*) نشانه تفاوت معنادار با گروه کنترل در سطح معناداری (۰/۰۵)

بحث

تحقیق حاضر به‌بررسی تاثیر۸ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژنی *BAX* و*BCL-2* در بافت بطن چپ موش‌های صحرایی دیابتی پرداخت. بر طبق یافته‌های به‌دست آمده در گروه تمرین ژن *BAX* کاهش معنادار و ژن *BCL-2* افزایش معناداری نشان دادند. علی‌رغم کاهش شاخص گلوکز خون و مقاومت به‌انسولین، وزن در گروه تمرین ثابت ماند. دلیل عدم تغییر وزن در گروه تمرین را می‌توان به مصرف تغذیه پر چرب در تمام طول دوره اجرای پروتکل نسبت داد. در خصوص عوارض مقاومت به انسولین و متعاقب آن قند خون بالا در بیماران دیابتی، تاثیر واکنش‌های گلیکوزیله بر ایجاد فشار اکسایشی و تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد عنوان شده که می‌تواند متابولیسم سلولی را مختل و التهاب ایجاد کند (۳) و به‌وسیله کاهش در خون و اکسیژن‌رسانی به قلب (۵)، غشاء میتوکندری را تخریب (۳) و ظرفیت هوازی را تضعیف کند (۸). بر این اساس به انجام تمرین منظم با شدت مناسب جهت بهبود عوارض هایپر گلایسمی در تنظیم بیان ژن توجه معطوف شده است (۱۷،۲۷،۲۹). در این خصوص نتایج مطالعه‌ای نشان داد انجام تمرین منظم می‌تواند با افزایش بیان ژن *BCL-2* نسبت به *BAX* از وقوع آسیب ایسکمی جلوگیری کند (۲۲). از مکانیسم‌های احتمالی تاثیر تمرین تناوبی، قابلیت محافظت از سطح سلول با بهبود در خون رسانی و اکسیژن‌رسانی به قلب و تولید آنزیم‌های هوازی پس از آن می‌باشد، که می‌تواند از ایجاد مرگ سلولی بافت قلب در بیماران دیابتی جلوگیری کند (۲۵). زیرا سیگنال‌دهی داخل سلولی در پاسخ به محرک تمرین به‌وسیله راه اندازی پروتئینPI3K و مصرف گلوکز با راه‌اندازی کلسیم درون سلولی و مسیرهای وابسته به آن نسبت ATP/ADP را تنظیم و از فرایند مرگ سلولی به‌وسیله مهار ژن *BAX* و افزایش در سنتز و عملکرد ژن *BCL-2* و استراحت فعال با شدت کم باعث کاهش در بیان پروتئین سرین تروئونین RIP/3 شده و از وقوع نکروز و آپوپتوز در میوسیت پیشگیری

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

می‌کند (۶). برخی مطالعات نیز چنین اظهار داشتند که اجرای ریکاوری فعال در تمرین HIIT باعث افزایش حساسیت به‌انسولین، تنظیم بیان ژن و افزایش فاکتورهای متسع‌کننده عروقی از جمله نیتریک اکساید و پروکسی زوم آلفا می‌شود و در بهبود عملکرد قلب و عروق در بیماران متابولیکی موثر است (۶،۱۷،۲۱). اما در مقایسه شدت تمرین نتایج مطالعه‌ای نشان داد، هر دو نوع تمرین HIIT و HIT به‌وسیله افزایش در بیان ژن *BCL-2* فرایند آپوپتوز را z کاهش دادند (۲۶). در حالی‌که نتایج مطالعه کیم و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد، ۸ هفته تمرین تناوبی با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و شیب ۴ درصد، ۵ جلسه در هفته به‌مدت ۴۰ دقیقه بر کاهش پروتئین *BAX* و افزایش *BCL-2* تفاوت معنادار نداشت. این نتایج با یافته های به‌دست آمده از مطالعه حاضر ناهمسو می‌باشد. سانتا و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود اظهار داشتند، تمرین هوازی با شدت متوسط به مدت ۱۳ هفته و ۶۰ دقیقه در هر روز باعث افزایش ژن *BCL-2* در موش‌های صحرایی نژاد ویستار شد (۲۷). که با نتایج مطالعه حاضر همسو است. کواک و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه خود چنین بیان داشتند، ۱۲ هفته تمرین تداومی با شدت متوسط، ۵ روز در هفته و ۶۰ دقیقه در روز نسبت *BCL-2* به *BAX* را افزایش می‌دهد (۲۸). که با نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر همسو است. اما در مطالعه‌ای که توسط کرک سیک و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد نتایج به‌دست آمده نشان داد، یک وهله فعالیت حاد محرک تولید *BAX* شد و آپوپتوز را افزایش داد (۲۹). این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو می‌باشد. لیونا و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه خود چنین نتیجه‌گیری کردند، ۸ هفته تمرین HIIT با شدت ۹۵ درصد، با فعال‌سازی فاکتور رشد شبه‌انسولینی۱(IGF-1)، پروتئین تیروزین‌کینازی AKT و m TORC-1 را افزایش داده و به‌وسیله کاهش در سنتز SMAD/3 و افزایش در مصرف گلوکز، التهاب سلول را مهار و موجب بهبود حساسیت به انسولین می‌شود (۳۰). نتایج به‌دست آمده در خصوص کاهش گلوکز و افزایش حساسیت به انسولین با یافته‌های مطالعه حاضر همسو است. در خصوص تاثیر تمرین HIIT عنوان شده این نوع تمرین از طریق مستقیم با مصرف گلوکز با راه‌اندازی GLUT-4 به سطح سلول و از راه غیر مستقیم به‌وسیله افزایش فعالیت CAMP و راه اندازی مسیر کلسیم از سیتوزول، با افزایش در فعالیت CAMK-II در بهبود هومئوستاز گلوکز موثر باشد (۱۷). با این حال از دلایل تناقض در یافته‌های به‌دست آمده با نتایج مطالعه حاضر نوع، شدت و مدت تمرین، مقدار عضله درگیر در فعالیت، مصرف دارو و نیز سطح سلامت آزمودنی‌ها ذکر می‌شود (۱۷،۲۱،۲۶،۲۸،۲۹،۳۰). همان‌طوری که نتایج مطالعه حاضر نشان داد، تمرین تناوبی شدید در کاهش مقاومت به انسولین، بهبود مصرف گلوکز و نیز کاهش در آپوپتوز بافت قلب موش‌های مدل دیابتی موثر بود، با این حال بهتر است قبل از طراحی اینگونه از تمرینات در صورت مصرف داروهای کاهنده قند خون و یا تزریق انسولین، از مدت زمان و دوز مصرفی و نیز سطح عملکرد قلب توسط پزشک متخصص آگاهی داشته باشد تا بتوان از تاثیر مفید اینگونه تمرینات به طور ایمن بهره‌مند شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، ۸ هفته تمرین تناوبی شدید می‌تواند با کاهش در بیان ژن *BAX* و افزایش ژن *BCL-2* در میوکارد موش‌های مبتلا به دیابت آپوپتوز را در بطن چپ کاهش داده و احتمالاً کاردیومیوپاتی دیابتی را بهبود بخشد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم دسترسی به آزمودنی‌های انسانی اشاره کرد، هم‌چنین محدودیت دیگر نیز عدم اندازه گیری پروتئین ژن‌های مذکور است که از دلایل آن کمبود بودجه پژوهش می‌باشد. یکی دیگر از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم انجام پیش‌آزمون بین دو گروه در ابتدای مطالعه بود که سبب تایید عدم وجود تغییرات قبل از مداخله تمرینی می‌شد. اما پژوهشگران به‌دلیل کمبودهای مالی قادر به‌انجام پیش‌آزمون نبودند و استناد عدم وجود تفاوت‌های قبل از مداخله، به گروه کنترل بسنده شد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده مقایسه مدل تمرینی مذکور با تمرین مقاومتی و به‌طور گسترده‌تر بررسی گردد.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های به‌دست آمده، ۸ هفته تمرین تناوبی شدید می‌تواند با کاهش بیان ژن *BAX* و افزایش *BCL-2* در میوکارد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

موش‌های مبتلا به‌دیابت احتمالاً آپوپتوز را در بطن چپ کاهش داده و ممکن است بتواند کاردیومیوپاتی دیابتی را بهبود بخشد.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر بخشی از رساله دکترا می‌باشد، بدین‌وسیله از اساتید گرانقدر بابت راهنمایی‌های مبذول داشته و همه عزیزانی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1-Morrison E, Ragoobirsingh D, Thompson H, Fletcher C, Smith-Richardson S, McFarlane S, et al. ***Phasic Insulin Dependent Diabetes Mellitus: Manifestations and Cellular Mechanisms***. J Clin Endocrinology & Metabolism 1995; 80(7): 1996-2001.

2-Shimizu M, Umeda K, Sugihara N, Yoshio H, Ino H, Takeda R, et al. ***Collagen Remodelling in Myocardia of Patients with Diabetes***. J Clin Pathology 1993; 46(1): 32-6.

3-Powers SK, Demirel HA, Vincent HK, Coombes JS, Naito H, Hamilton KL, et al. ***Exercise Training Improves Myocardial Tolerance to in Vivo Ischemia-Reperfusion in the Rat.*** Am J Physiol 1998; 275(5): R1468-77.

4-Hafstad AD, Boardman N, Aasum E. ***How Exercise May Amend Metabolic Disturbances in Diabetic Cardiomyopathy***. Antioxid Redox Signal 2015; 22(17): 1587-605.

5-Lorenzo O, Picatoste B, Ares-Carrasco S, Ramirez E, Egido J, Tunon J. ***Potential Role of Nuclear Factor B in Diabetic Cardiomyopathy***. Mediators Inflammation 2011; 2011: 652097

6-Newton K, Dugger DL, Maltzman A, Greve JM, Hedehus M, Martin-McNulty B, et al. ***RIPK3 Deficiency or Catalytically Inactive RIPK1 Provides Greater Benefit than MLKL Deficiency in Mouse Models of Inflammation and Tissue Injury***. Cell Death Differ 2016; 23(9): 1565-76.

7-Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, et al. ***Diabetes and Cardiovascular Disease: A Statement for Healthcare Professionals from the American Heart Association***. Circulation 1999; 100(10): 1134-46.

8-Lu K, Shen Y, He J, Liu G, Song W. ***[Berberine Inhibits Cardiac Fibrosis of Diabetic Rats].*** Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi 2016; 32(10): 1352-5.

9-Fowler MJ. ***Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes***. Clin Diabet 2008; 26(2): 77-82.

10-Luedde M, Lutz M, Carter N, Sosna J, Jacoby C, Vucur M, et al. ***RIP3, A Kinase Promoting Necroptotic Cell Death, Mediates Adverse Remodelling after Myocardial Infarction***. Cardiovasc Res 2014; 103(2): 206-16.

11-Borges JP, Lessa MA. ***Mechanisms Involved in Exercise-Induced Cardioprotection: A Systematic Review***. Arq Bras De Cardiol 2015; 105(1): 71-81.

12-Shen E, Li Y, Li Y, Shan L, Zhu H, Feng Q, et al. ***Rac1 is Required for Cardiomyocyte Apoptosis During Hyperglycemia***. Diabetes 2009; 58(10): 2386-95.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

13-Köhler C, Orrenius S, Zhivotovsky B. ***Evaluation of Caspase Activity in Apoptotic Cell***s. J Immunological Method 2002; 265(1-2): 97-110.

14-Wang J, Song Y, Wang Q, Kralik PM, Epstein PN. ***Causes and Characteristics of Diabetic Cardiomyopathy***. Rev Diabet Stud 2006; 3(3): 108.

15-Marzetti E, Privitera G, Simili V, Wohlgemuth SE, Aulisa L, Pahor M, et al. ***Multiple Pathways to the Same End: Mechanisms of Myonuclear Apoptosis in Sarcopenia of Aging.*** The Scientific World J 2010; 10: 340-9.

16-Xu X, Wan W, Ji L, Lao S, Powers AS, Zhao W, et al. ***Exercise Training Combined With Angiotensin II Receptor Blockade Limits Post-Infarct Ventricular Remodelling in Rats***. Cardiovasc Res 2008; 78(3): 523-32.

17-Kim DY, Jung SY, Kim CJ, Sung YH, Kim JD. ***Treadmill Exercise Ameliorates Apoptotic Cell Death in the Retinas of Diabetic Rats***. Mol Med Rep 2013; 7(6): 1745-50.

18-Tanoorsaz S, Behpour N, Tadibi V. ***Investigating the Effect of Mid-Term of Aerobic Exercise on Apoptosis Biomarkers in the Cardiomyocytes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats***. J Fasa Uni Med Sci 2018; 7(4): 488-97.

19-Touvra A-M, Volaklis KA, Spassis AT, Zois CE, Douda H, Kotsa K, et al. ***Combined Strength and Aerobic Training Increases Transforming Growth Factor-Beta1 in Patients with Type 2 Diabetes***. Hormones (Athens) 2011; 10(2): 125-30.

20-Castellar A, Remedio R, Barbosa R, Gomes RJ, Caetano FH. ***Collagen and Reticular Fibers in Left Ventricular Muscle in Diabetic Rats: Physical Exercise Prevents its Changes***? Tissue and Cell 2011; 43(1): 24-8.

21-Estes Rr, Malinowski A, Piacentini M, Thrush D, Salley E, Losey C, et al. ***The Effect of High Intensity Interval Run Training on Cross-Sectional Area of the Vastus Lateralis in Untrained College Students.*** Int J Exerc Sci 2017; 10(1): 137-45.

22-Aboutaleb N, Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Nikbakht F. ***Pre-Ischemic Exercise Reduces Apoptosis in Hippocampal CA3 Cells After Cerebral Ischemia by Modulation of the Bax/Bcl-2 Proteins Ratio and Prevention of Caspase-3 Activation***. J Physiol Sci 2015; 65(5): 435-43.

23-Khakdan S, Delfan M, Heydarpour Meymeh M, Kazerouni F, Ghaedi H, Shanaki M, et al. ***High-Intensity Interval Training (HIIT) Effectively Enhances Heart Function via Mir-195 Dependent Cardiomyopathy Reduction in High-Fat High-Fructose Diet-Induced Diabetic Rats***. Arch Physiol Biochem 2020; 126(3): 250-7.

24-Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. ***A Program of Moderate Physical Training for Wistar Rats Based on Maximal Oxygen Consumption***. J Strength Conditioning Res 2007; 21(3): 751.

25-Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, et al. ***Effects of Vitamin E on Oxidative Stress and Membrane Fluidity in Brain of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats***. Clin Chimica Acta 2004; 340(1-2): 107-15.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

26-Bayir H, Kagan VE. ***Bench-To-Bedside Review: Mitochondrial Injury, Oxidative Stress and Apoptosis–There is Nothing More Practical than a Good Theory***. Crit Care 2008; 12(1): 206.

27- Santana ET, Serra AJ, Silva Junior JA, Bocalini DS, Barauna VG, Krieger JE, et al. ***Aerobic Exercise Training Induces an Anti-Apoptotic Milieu in Myocardial Tissue.*** Motriz: Rev De Edu Fís 2014; 20(2): 233-8.

28- Kwak HB, Song W, Lawler JM. ***Exercise Training Attenuates Age-Induced Elevation in Bax/Bcl-2 Ratio, Apoptosis, and Remodeling in the Rat Heart***. FASEB J 2006; 20(6): 791-3.

29- Kerksick C, Lem Taylor I, Harvey A, Willoughby D. ***Gender-Related Differences in Muscle Injury, Oxidative Stress, and Apoptosis.*** Med Sci in Sports Exer 2008; 40(10): 1772-80.

30- Launay T, Momken I, Carreira S, Mougenot N, Zhou X-L, De Koning L, et al. ***Acceleration-Based Training: A New Mode of Training in Senescent Rats Improving Performance and Left Ventricular and Muscle Functions.*** Exp Gerontol 2017; 95: 71-6.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 28| NO 7 | Oct 2020

Received: 13 May 2020
Accepted: 11 Aug 2020

Effect of 8 Weeks High Intensity Interval Training on the Gene Expression of *BAX* and *BCL-2* in the Left Ventricle of Diabetic Male Wistar Rats

Alireza Safarnezhad[1], Maghsoud Peeri[†2], Mohammad Ali Azarbayjani[3], Maryam Delfan[4]

Original Article

Introduction: Regular exercise training with alternating volume fluctuatesblood glucous levels and by regulating signaling in gene expression reduces in myocardial cell apoptosis in diabetic patients. The purpose of this study was the effect of 8 weeks of high intensity interval training on the gene expression of *BAX* and *BCL-2* in the left ventricle of diabetic rats.

Methods: The present study was a quasi-experimental one. 14 male diabetic rats were divided into 2 groups of 7; high intensity interval training (HIIT) and control (C) groups. Diabetes was induced in a pellet with a high-fat diet (30% fat and 25% fructose) for 16 weeks. Twenty-four hours after the last training and recovery session, the rats were sacrificed and their left ventricle was extracted. Glucose oxidase was used to measure glucose in plasma and insulin resistance using HOMA-IR method.. PCR-Real time was used to determine the expression of *BAX* and *BCL-2* genes and the comparison of the groups by Independent T test was performed by Graph pad prism at alpha level of 0/05.

Results: Results showed that, BAX gene expression was significantly decreased in the HIIT group compared to the C group (P=0/0001). *BCL-2* gene was significantly increased in the HIIT group compare to the control group (P=0/0001). Insulin resistance index and plasma glucose showed a significant decrease in the training group (P=0/01) (P=0/021). Weight did not change significantly in any of the groups.

Conclusion: Based on the findings, 8 weeks high intensity interval training can be reduced apoptosis in the left ventricle of Diabetic mice by decreasing the *BAX* gene expression and increacing the *BCL-2* in myocardial and might improve diabetes cardiomyopathy.

Keywords: *Bcl-2*, *BAX*, interval training, Diabetes, Rats.

Citation: Safar nezhad A, peeri M, Azarbayjani MA, Delfan M. **Effect of 8 Weeks High Intensity Interval Training on the Gene Expression of *BAX* and *BCL-2* in the Left Ventricle of Diabetic Male Wistar Rats.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 28(7): 2833-43.

[1-3]Department of Exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[4]Department of exercise physiology, Alzahra University Sport Sciences, Tehran, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 0912-1124434**, email:** m.peeri@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4267]