

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

علیرضا صفرنژاد<sup>۱</sup>، مقصود پیری<sup>۲\*</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۳</sup>، مریم دلفان<sup>۴</sup>

## 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 بورسی:** 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 به صورت پلت با رژیم غذایی پرچرب (۳۰۰ درصد چربی و ۲۵ درصد فروکتوز) به مدت 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 پلاسمای توسط گلوکز اکسیداز و مقاومت به انسولین با HOMA-IR اندازه‌گیری شد. جهت تعیین بیان ژن‌های *BCL-2* و *BAX* 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 تمرین HIIT نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت ( $P=0/0001$ ). ژن *BCL-2* در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت ( $P=0/0001$ ). شاخص مقاومت به انسولین و گلوکز پلاسمای در گروه تمرین کاهش معناداری داشتند ( $P=0/01$ ) و ( $P=0/021$ ). وزن در هیچ‌کدام از گروه‌ها تغییر معناداری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های به دست 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:** *BCL-2*, *BAX*, تمرین تناوبی، موش‌های صحرائی، دیابت

**ارجاع:** صفرنژاد علیرضا، پیری مقصود، آذربایجانی محمدعلی، دلفان مریم. تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بیان ژن‌های *BCL-2* و *BAX* در بافت بطن چپ موش‌های صحرائی دیابتی نر ویستار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی بیزد ۱۳۹۹، ۲۸ (۷): ۴۲-۴۳. 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: ۰۹۱۲۱۱۴۴۳۴، پست الکترونیکی: m.peeri@gmail.com، صندوق پستی: ۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱

## مقدمه

دیابت اختلالی متابولیکی است که در آن به دلیل فقدان نسبی یا مطلق انسولین، هایپر گلایسمی ایجاد می‌شود (۱). سپس متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها مختلف می‌گردد (۲). نقصان در مصرف گلوکز موجب عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها شده و غشاء میتوکندری با رهاسازی سیتوکروم C آسیب می‌بیند (۳). بر این اساس عنوان شده است که استرس اکسایشی نقش مهمی در تخریب میوسیت دارد (۴). تولید و رهایش محصولات نهایی گلیکاژونی (advance glycation end products; AGE) در خون و اتصال به گیرندهای سطحی سلول موجب التهاب شده و در ایجاد مرگ سلولی نقش دارد (۵). راهاندازی مسیر AGE ساز و کار اولیه و عامل مهمی در آتروژن و اختلالات مزمن التهابی به شمار می‌رود (۶) و موجب مرگ سلولی در میوسیت می‌شود (۷). زیرا هایپر گلایسمی طولانی مدت، 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 هایپر گلایسمی و افزایش مقاومت به انسولین، عملکرد پروتئین‌های تیروزین کیناز و فسفوکیناز تضعیف شده و مرگ سلولی در بطن چپ ایجاد می‌شود (۱۱)، که به تبعیت از آن، آپوپتوز سلول‌های قلبی در بیماران دیابتی به طور گسترده‌ای ایجاد می‌شود (۱۲). آپوپتوز مرگ برنامه‌ریزی شده یاخته و روندی فیزیولوژیک و زیستی جهت نمو فعال در شرایط طبیعی برای حفظ هوموستاز است که از مسیرهای مختلف ایجاد می‌شود (۱۳)، از جمله هایپر گلایسمی، که استرس اکسایشی و التهاب ایجاد می‌کند (۱۴). افزایش قند خون می‌تواند موجب نامتعادل شدن فرایند آپوپتوز به‌وسیله تولید و افزایش در عملکرد پروتئین پیش آپوپتوزی (BCL-2 associated protein X; BAX) و کاهش در تولید و نقصان در فعالیت پروتئین ضد آپوپتوز (B-cell BCL-2) شود (۱۵). فاكتور ضد آپوپتوزی 2 (*BCL-2 lymphoma*) از رهاسازی *BCL-2* شود (۱۵).

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 فسفواینوزیتول کیناز ۳ (۱۷) و کاهش در تولید متسع‌کننده‌های عروقی از جمله نیتریک اکساید، 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 به عنوان شیوه‌ای غیردارویی و 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 تمرین HIIT با اجراهای متناوب و ریکاوری فعال در تنظیم بیان ژن و بهبود عملکرد قلب در بیماران دیابتی موثر می‌باشد (۲۱). از طرفی به دلیل انقباضهای پی در پی عضلانی با فعال‌سازی فاکتور-4 GLUT، راه اندازی پروتئین AMPK و فعالیت کلسلیم درون سلولی موجب مصرف گلوکز می‌شود (۱۷). مطالعه اثرات تمرینات ورزشی بر مسیر آپوپتوزی 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 اولین بار به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژنی BAX و BCL-2 در بافت بطن چپ موش‌های صحرایی نر دیابتی انجام شد.

## 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 هفت، وزن ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم از استیتو

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

متغیر	گروه	گروه کنترل	تمرین HIIT
وزن (گرم)	گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	۲۶±۳۵۳	۲۰±۳۶۰
شاخص مقاومت به انسولین		۲۴±۳۰۶	۴۳±۱۴۴*
اعداد به شکل میانگین± انحراف استاندارد بیان شده اند، * نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل می‌باشد.		۰/۰±۱۸/۰۴*	۰/۰±۲۱/۰۲

رفتن بر روی تردیل ویژه جوندگان آشنا شدند. ارزیابی توان هوایی با محاسبه سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی و محاسبه تعیین شدت تمرین با استفاده از آزمون فراینده در ابتدای برنامه تمرینی و پایان هر هفته (۲۴) بدین صورت انجام شد: پس از ۳ دقیقه گرم با سرعت ۵ متر بر دقیقه توسط تغییر در سرعت نوارگردان با شبیه 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 فرایندهای که در انتهای هر جلسه تمرین گرفته می‌شد، موش‌های گروه تمرین به مدت 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 نیز ۳۰ درصد سرعت بیشینه (۱۰ متر بر دقیقه)، تعداد تناوب با شدت بالا در هفته اول با ۲ تکرار و در

### نحوه القاء دیابت

موس‌ها 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 استیتو رازی برای ساخت ۱۰۰ کیلوگرم پلت پر چرب، ۴۵ کیلوگرم پودر پلت استاندارد، ۳۰ کیلوگرم چربی حیوانی حاصل از آب کردن دنبه گاو و ۲۵ کیلوگرم فروکتوز که به شکل پلت استاندارد قالب زده شد. به منظور تایید القای دیابت نوع ۲، میزان قند خون ناشتا با گلوكومتر 01-mini ARKRAY (ساخت ژاپن) و با نمونه‌گیری خون از دم موش‌ها اندازه‌گیری شد و سطوح گلوکز بیشتر از ۱۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع ۲ 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 به مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۶ تا ۱۰ متر بر دقیقه با راه

بود (جدول ۲) (۲۳). در تمام دوره‌های تمرین نیز موش‌ها همچنان تغذیه پر چرب را دریافت می‌کردند.

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

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

هفته‌های تمرین									
۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
۲۹	۲۶	۲۶	۲۳	۲۰	۲۰	۱۸	۱۵	سرعت بیشینه در زمان رسیدن به (ml/min) VO <sub>2max</sub>	
۳	۴	۳	۳	۴	۳	۳	۳	تعداد شدت تناوب در هر جلسه	
۲۶	۲۳/۵	۲۳/۵	۲۱	۱۸	۱۸	۱۶	۱۲	تناوب با شدت بالا (m/min)	
۱۰	۸	۸	۸	۶	۶	۶	۵	تناوب با شدت پائین (m/min)	

*BCL-2* انجام شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های *BAX* و *BCL-2* Revers به ترتیب (Cat. No: AP341112) و (Cat. No: AP52304) premix (ساخت شرکت آپلید کانادا) انجام شد. واکنش مخلوط در حجم نهایی ۲۰  $\mu$ L و به صورت دوتایی انجام شد. طراحی پرایم‌ها نیز بر اساس اطلاعات ژن‌ها در بنك اطلاعات NBCI (ساخت شرکت ماکروژن کشور کره) انجام شد. لازم به ذکر است که از  $\beta$ -actin و L37a به عنوان ژن کنترل استفاده شد. دمای مورد استفاده در ۴ سیکل: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. میزان بیان ژن‌های موردنظر به وسیله روش  $\Delta\Delta Ct$  سنجش شد. اندازه‌گیری گلوکز پلاسمای بروش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس آزمون) و Crystal chem (ساخت کانادا) با ضریب تغییر ۰/۰۵ و حساسیت ۱ ml/dl بررسی گردید. شاخص مقاومت به انسولین به روش HOMA-IR طبق فرمول زیر اندازه‌گیری شد:

HOMA-IR =  $\frac{(\text{انسولین ناشتا} \times \text{گلوکز ناشتا})}{22.5}$  [ mmol/L ]

استخراج نمونه و سنجش ژن‌های *BAX* و *BCL-2* با روش **cDNA** و **Real Time- PCR** ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و ریکاوری پس از آن، موش‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی کتابمین (۹۰ mg/kg) و زایلزین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند. سپس بافت بطن چپ بلافارسله استخراج و در نیتروژن -۲۰- منجمد و برای سنجش Total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QLAZOL LYSIS Reagent هموژن شد. جهت برداشت چاهک پروتئینی، محصول به دست آمده در ۴۰C، ۱۰ min، ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط شد و به مدت ۱۵ ثانیه با شدت تکان داده شد. محصول در ۴۰C، ۱۵ min، ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ شد تا بخش معدنی از بخش آبی جدا شوند. محتوای RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با محلول ایزوپپروپیانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دامای اتاق قرار داده شد. سپس در ۴۰C، ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پلات حاوی RNA توسط دستگاه (ساخت شرکت اپندورف آلمان) و در نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ تا ۲ به عنوان تلخیص مطلوب شد. سنتز cDNA با استفاده از  $\text{g}\mu\text{l}$  از RNA transcriptase Mmulv و آنزیم Randomhexamer primer

جدول ۳: نتایج پرایمری ژن‌های مورد مطالعه

نُون	توالی پرایمر ( $5' \rightarrow 3'$ )
<i>BAX</i>	Forward CTAGAGGATGGCTGCACAAACAC
	Reserve AAGCAAACAGGGCCAATGTC
<i>BCL-2</i>	Forward AAGGACAAGTGGTCCGAGTAAAG
	Reserve AGCCATATTGCCGTCTTCTC
Bactin	Forward GCAAGATGCACATTACCCTCTG
	Reserve CAGCGTGTGATCTGCACTC

## 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 ( $P=0.0001$ ). (نمودار ۱). مقادیر بیان ژن *BCL-2* در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نشان داد ( $P=0.0001$ ). (نمودار ۲). در جدول ۴ مقادیر بیان ژن *BAX* و *BCL-2* برای هر یک از نمونه‌ها در هر دو گروه پژوهش ارائه شده است.

## تجزیه و تحلیل آماری

در بخش مربوط به آمار توصیفی از شاخص پراکندگی انحراف معیار و نمودار استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک 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  $P \leq 0.05$  محاسبه شد.

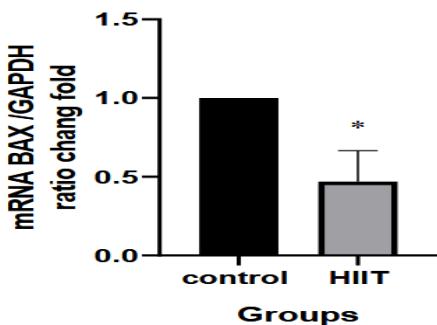
## ملاحظات اخلاقی

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

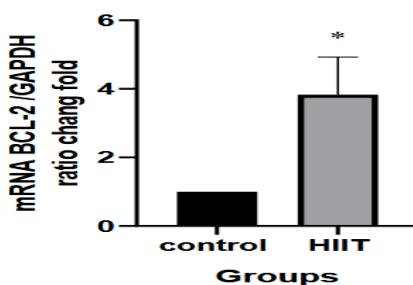
جدول ۴: مقادیر بیان ژن *BAX* و *BCL-2* را در بافت بطون چپ موش‌های صحرابی دیابتی پس از ۸ هفته تمرین HIIT را نشان می‌دهد.

متغیر	گروه کنترل	HIIT	مقادیر t	مقادیر P
(pg./ml) <i>BAX</i>	$1 \pm 0.00$	$0.415 \pm 0.038$	$-1.132$	$p=0.0001$
(pg./ml) <i>BCL-2</i>	$1 \pm 0.00$	$3.84 \pm 0.24$	$4.524$	$p=0.0001$

اعداد به شکل میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده‌اند. \* نشانه معناداری نسبت به کنترل توسط آزمون آماری t مستقل.

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)

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 *BAX* از موقع 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 هوایی 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 محرك تمرین بهوسیله راه اندازی پروتئین PI3K و مصرف گلوکز با راهاندازی کلسیم درون سلولی و مسیرهای واپسی به آن نسبت *A TP/ADP* را تنظیم و از فرایند مرگ سلولی بهوسیله مهار ژن *BAX* و افزایش در سنتز و عملکرد ژن *BCL-2* و استراحت فعال باشد کم باعث کاهش در بیان پروتئین سرین تزوئنین *RIP/3* شده و از موقع نکروز و آپوپتوز در میوسیت پیشگیری

## بحث

تحقیق حاضر به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن *BAX* و *BCL-2* در بافت بطن چپ موش‌های صحرایی دیابتی پرداخت. بر طبق یافته‌های به دست 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 هوایی را تضعیف کند (۸). بر این

مستقیم با مصرف گلوکز با راه اندازی GLUT-4 به سطح سلول و از راه غیر مستقیم به وسیله افزایش فعالیت CAMP و راه اندازی مسیر کلسیم از سیتوزوول، با افزایش در فعالیت CAMK-II در بهبود هومئوستاز گلوکز موثر باشد (۱۷). با این حال از دلایل تناقض در یافته های به دست آمده با نتایج مطالعه حاضر نوع، شدت و مدت تمرین، مقدار عضله در گیر در فعالیت، مصرف دارو و نیز سطح سلامت آزمودنی ها ذکر می شود (۱۷، ۲۱، ۲۶، ۲۸، ۲۹، ۳۰). همان طوری که نتایج مطالعه حاضر نشان داد، تمرین تناوبی شدید در کاهش مقاومت به انسولین، بهبود مصرف گلوکز و نیز کاهش در آپوپتوز بافت قلب موش های مدل دیابتی موثر بود، با این حال بهتر است قبل از طراحی این گونه 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 پژوهش متخصص آگاهی داشته باشد تا بتوان از تاثیر مفید این گونه تمرینات به طور ایمن بهره مند شد. بر اساس نتایج به دست آمده، ۸ هفته تمرین تناوبی شدید می تواند با کاهش در بیان زن *BAX* و افزایش زن *BCL-2* در میوکارد موش های مبتلا به دیابت آپوپتوز را در بطن چپ کاهش داده و احتمالاً کار迪ومیوپاتی دیابتی را بهبود بخشد. از محدودیت های مطالعه حاضر می توان به عدم دسترسی به آزمودنی های انسانی اشاره کرد، همچنین محدودیت دیگر نیز عدم اندازه گیری پروتئین زن های مذکور است که از دلایل آن کمبود بودجه پژوهش می باشد. یکی دیگر از محدودیت های مطالعه حاضر عدم انجام پیش آزمون بین دو گروه در ابتدای مطالعه بود که سبب تایید عدم وجود تغییرات قبل از مداخله تمرینی می شد. اما پژوهشگران به دلیل کمبودهای مالی قادر به انجام پیش آزمون نبودند و استناد عدم وجود تفاوت های قبل از مداخله، به گروه کنترل بسته شد. پیشنهاد می شود در مطالعات آینده مقایسه مدل تمرینی مذکور با تمرین مقاومتی و به طور گسترده تر بررسی گردد.

### نتیجه گیری

بر اساس یافته های به دست آمده، ۸ هفته تمرین تناوبی شدید می تواند با کاهش بیان زن *BAX* و افزایش *BCL-2* در میوکارد

می کند (۶). برخی مطالعات نیز چنین اظهار داشتند که اجرای ریکاوری فعال در تمرین HIIT باعث افزایش حساسیت به انسولین، تنظیم بیان زن و افزایش فاکتورهای متسع کننده عروقی از جمله نیتریک اکساید و پروکسی زوم آلفا می شود و در بهبود عملکرد قلب و عروق در بیماران متابولیکی موثر است (۱۷، ۲۱، ۶). اما در مقایسه شدت تمرین نتایج مطالعه ای نشان داد، هر دو نوع تمرین HIIT و HIT به وسیله افزایش در بیان زن *BCL-2* فرایند آپوپتوز را کاهش دادند (۲۶). در حالی که نتایج مطالعه کیم و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد، ۸ هفته تمرین تناوبی با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و شبیب ۴ درصد، ۵ جلسه در هفته به مدت ۴۰ دقیقه بر کاهش پروتئین *BAX* و افزایش *BCL-2* تفاوت معنادار نداشت. این نتایج با یافته های به دست آمده از مطالعه حاضر ناهمسو می باشد. 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 زن *BCL-2* در موش های 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 *BCL-2* به *BAX* را افزایش می دهد (۲۸). که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر ناهمسو است. اما در مطالعه ای که توسط کرک سیک و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد نتایج به دست آمده نشان داد، یک وهله فعالیت حاد محرک تولید *BAX* شد و آپوپتوز را افزایش داد (۲۹). این یافته ها با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو می باشد. لیونا و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه خود چنین نتیجه گیری کردند، ۸ هفته تمرین HIIT با شدت ۹۵ درصد، با فعال سازی فاکتور رشد شباهنسولینی (IGF-1)، پروتئین تیروزین کینازی AKT و TORC-1 را افزایش *m* داده و به وسیله کاهش در سنتز SMAD/3 و افزایش در مصرف گلوکز، التهاب سلول را مهار و موجب بهبود حساسیت به انسولین می شود (۳۰). نتایج به دست آمده در خصوص کاهش گلوکز و افزایش حساسیت به انسولین با یافته های مطالعه حاضر همسو است. در خصوص تاثیر تمرین HIIT عنوان شده این نوع تمرین از طریق

که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

**حامي مالي:** ندارد.

**تعارض در منافع:** وجود ندارد.

موش‌های مبتلا به دیابت احتمالاً آپوپتوز را در بطن چپ کاهش داده و ممکن است بتواند کار دیومیوپاتی دیابتی را بهبود بخشد.

### سپاسگزاری

مطالعه حاضر بخشی از رساله دکترا می‌باشد، بدین‌وسیله از استادی گرانقدر بابت راهنمایی‌های مبذول داشته و همه عزیزانی

### 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, Hedeus 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.

- 13-Köhler C, Orrenius S, Zhivotovsky B. *Evaluation of Caspase Activity in Apoptotic Cells*. 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.

- 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.

## 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<sup>1</sup>, Maghsoud Peeri<sup>†2</sup>, Mohammad Ali Azarbayjani<sup>3</sup>, Maryam Delfan<sup>4</sup>

### Original Article

**Introduction:** Regular exercise training with alternating volume fluctuates blood glucose levels and by regulating signaling in gene expression reduces 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 compared 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 reduce apoptosis in the left ventricle of diabetic mice by decreasing the *BAX* gene expression and increasing the *BCL-2* in myocardial and might improve diabetes cardiomyopathy.

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

**Citation:** Safarnezhad 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.

<sup>1-3</sup>Department of Exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>4</sup>Department of exercise physiology, Alzahra University Sport Sciences, Tehran, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 0912-1124434, email: m.peeri@gmail.com