ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲٤، شماره۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۸(شماره پی در پی (۱)۱۳٤)

Archiv

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن شاخص‌های آپوپتوزی در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی

حسین مرادی[۱]، سعیده شادمهری[۱*]، حسین شیروانی[۲]

[۱]گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی(ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، [۲]مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج)، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۰۷

چکیده

مقدمه و هدف: آپوپتوز نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی دیابت نوع ۲ دارد. هدف از این تحقیق، تعیین و تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن شاخص‌های آپوپتوزی در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر رت نر ویستار با میانگین وزنی۲۰±۲۲۰ گرم به طور تصادفی در ۵ گروه شامل؛ کنترل پایه، کنترل هشت هفته، دیابت، تمرین و دیابت- تمرین قرار گرفتند. در این مطالعه موش‌ها با استفاده از استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به صورت درون صفاقی دیابتی شدند. تمرین تناوبی با شدت ۸۵ــ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه، ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته اجرا گردید. میزان بیان ژن‌های کاسپاز-۳ وBcl2 به روش ریل تام پی‌سی‌ار اندازه‌گیری شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین میانگین بیان ژن Bcl2 و کاسپاز-۳ عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف تفاوت وجود دارد(p=۰/۰۰۰۱). بیان ژن Bcl2 عضله اسکلتی در گروه تمرین(p=۰/۰۰۰۱) و تمرین - دیابت(p=۰/۰۴۸) نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری بیشتر بود(p=۰/۰۰۰۱). هم‌چنین بیان ژن کاسپاز-۳ عضله اسکلتی در گروه تمرین و تمرین- دیابت نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود(p=۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد دیابت با افزایش آپوپتوز عضله اسکلتی همراه است و تمرین تناوبی شدید می‌تواند به تنظیم سطح آپوپتوز در عضله اسکلتی طی دیابت کمک کند، بنابراین پیشنهاد می‌شود انجام این تمرینات برای بیماران دیابتی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، کاسپاز-۳، Bcl2، دیابت

***نویسنده مسئول:** **سعیده شادمهری**، **تهران**، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یادگار امام خمینی(ره) شهر ری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی
Email: saeedehsh61@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غیر واگیر است که اگر کنترل نشود، دستگاه‌های مختلف بدن را با عواقب جدی ناتوان کننده و تهدید کننده زندگی هدف قرار می‌دهد. علی‌رغم ناهمگونی در علل بالینی، هیپرگلیسمی شایع‌ترین اختلال متابولیک در بیماران دیابتی است. یکی از عوارض ایجاد شده در اثر هیپرگلیسمی ناشی از دیابت، القاء آپوپتوز در بافت‌های مختلف بدن از جمله عضله اسکلتی می‌باشد(۱). عضله اسکلتی تقریباً نیمی از وزن بدن ما را تشکیل می‌دهد که پس از غذا تا ۷۵ درصد از دفع گلوکز تحرک شده به وسیله انسولین را به عهده دارد. در واقع، تحویل گلوکز خون به عضله و تبدیل آن به گلیکوژن عامل مهمی برای حساسیت به انسولین است(۲). پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که دیابت میزان آپوپتوز را به میزان چشمگیری افزایش می‌دهد (۵-۳). در سطح مولکولی، از دست دادن سلول بتای پانکراس به وسیله آپوپتوز نقش مهمی در توسعه کمبود انسولین و شروع یا پیشرفت بیماری دارد. عوامل اصلی در ایجاد آپوپتوز پروتئازهایی به نام کاسپازها هستند که با فعال شدن آن‌ها، پروتئین‌های هسته‌ای، پروتئین‌های اسکلت سلولی و هم‌چنین پروتئین‌های دخیل در انتقال پیام مورد هدف قرار گرفته و در نهایت مرگ سلولی رخ می‌دهد(٦). کاسپاز-۳ یکی از عوامل اثرگذار اصلی آپوپتوز است به طوری که فعال شدن کاسپاز-۳ نشان دهنده آپوپتوز سلولی غیرقابل برگشت است(۷). Bcl-2 نیز پروتئین ضد آپوپتوزی است که باعث جلوگیری از تخریب اکسیداتیو سلول می‌گردد و به عنوان یکی از معروف‌ترین پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز شناخته می‌شود که علاوه بر جلوگیری از آزادسازی سیتوکروم c از میتوکندری، از طریق حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری با خارج ساختن یون‌های H^+ به عامل فعال‌سازی پروتئاز آپوپتوز متصل می‌شود و فعال‌سازی کاسپازها را مهار می‌کند(۸).

آپوپتوز یک فرآیند طبیعی در سلول‌ها است که سبب حذف سلول‌های پیر، آسیب دیده و مضر می‌شود(۹). از نظر فیزیولوژیکی، آپوپتوز نقش مهمی در تنظیم رشد، نمو، هموستاز و مهار تومووری در بافت‌های میتوزی دارد. با این حال، از لحاظ پاتولوژیک آپوپتوز بیش از حد نقش منفی در حفظ عملکرد عضله اسکلتی دارد(۱۰). به نظر می‌رسد در این حالت مرگ برنامه‌ریزی شده(آپوپتوز) در سلول‌های عضله اسکلتی افزایش یافته و بافت را دچار آسیب می‌کند. بنابراین پژوهشگران همواره به دنبال اتخاذ راهکارهای مناسب برای پیشگیری از آپوپتوز و بیماری‌های مختلف عضلانی مرتبط با آن هستند. ورزش منظم یک استراتژی مؤثر برای پیشگیری و درمان دیابت نوع ۲ است. اکثر پژوهش‌هایی که اثرات درمانی ورزش در دیابت نوع ۲ را بررسی کرده‌اند شامل؛ ورزش مداوم، شدت کم و متوسط مانند راه رفتن و دویدن یا دوچرخه سواری کمتر از ۳۰ دقیقه در جلسه هستند(۱۳-۱۱). اگر چه راهبرد مطلوب هنوز مشخص نیست، تمرین با شدت بالاتر ممکن است برای

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

بهبود کنترل گلیسمی در بیماران مبتلا به دیابت نـوع ۲ مؤثرتر باشد. نشان داده شده اسـت کـه تمـرین‌هـا بـا شدت بالا (HIIT) می‌تواند کنتـرل گلیسـمی در بیمـاران مبتلا به دیـــابت نـوع ۲ را بهبـــود بخشد(۱۶ـ۱٤). HIIT شامل اینتروال‌های کوتـاه فعالیـت بـا شـدت بـالا است که با دوره‌های فعالیـت کـم یـا اسـتراحت همـراه می‌باشد(۱۷). خاکدان و همکاران نشان دادند که هشت هفته HIT منجر به افزایش معنی‌دار بیان Bcl2 بافت قلب موش‌های دیابتی شـد(۱۸). بـا ایـن حـال، تنورسـاز و همکاران نشان دادند چهار هفته تمرین هوازی(۵ جلسه در هفته) با سرعت ۱۸ـ۱۵ متر در دقیقه و مدت ۴۴ـ۲۵ دقیقه بر Bcl-2 سـلول‌هـای عضـلانی قلـب مـوش‌هـای دیـابتی تـأثیر نداشـت(۱۹). نتـایج سـیاه‌کوهیـان و همکاران نیـز حـاکی از آن اسـت کـه پـس از ۱۲ هفتـه تمرین‌های استقامتی میزان پروتئینBcl-2 کاهش یافـت، اما بـین گـروه تمرینـی و گـروه کنتـرل در کاسپاز_۳ عضله اسکلتی موش‌هـای ویسـتار تفـاوت معنـی‌داری مشاهده نشد(۲۰). با ایـن حـال لـی و همکـاران نشـان دادند که فعالیت ورزشی میزان آپوپتوز را بـا افـزایش بیان پروتئین‌های کاسپاز_۳ در یـک مـدل مـوش‌هـای صحرایی دچار ایسکمی افزایش می‌دهد(۲۱). از طرفی، مزایای بالقوهHIT بر روی شـاخص‌هـای آپوپتـوزی و ضـدآپوپتوزی در عضـله اسـکلتی بیمـاران مبـتلا بـه دیابت نوع ۲ هنوز مشخص نشده است.

بیماری‌های مزمن از قبیل دیابت ممکن است با اختلال در تنظیم آپوپتوز باعث تسـریع کـردن کـاهش توده و قدرت عضلانی و در نتیجه افزایش خطر ناتوانی جسمانی شود(۲۲). در بدن انسان، عضلات اسـکلتی از آنجـا کـه تعـداد زیـادی از میتوکنـدری‌هـا را شـامل می‌شوند، به عنوان ارگـان اصـلی متابولیسـم در نظـر گرفته می‌شوند. بنابراین، بـا توجـه بـه اهمیـت عضـله اسکلتی در کنترل گلوکز و هم‌چنین نقش حیـاتی آن در عمل انسولین، اختلال در سلامت عضـلات اسـکلتی در افراد مبتلا بـه دیابـت نـوع ۲ توانـایی آنهـا در کـاهش بارهای دیس گلیسمی، موجب افزایش عـوارض بعـدی می‌شود(۲۳) و در نهایت، ناتوانی جسمی دیابـت را بـه همـراه دارد(۲٤). بـا ایـن حـال، درک مـا از تـأثیر ایـن بیماری مزمن بـر سـلامت و کیفیـت عضـلات اسـکلتی انسان و اثرات مفید فعالیت‌های ورزشی بر آن بسـیار محدود است. بنـابراین هـدف از ایـن مطالعـه تعیـین و بررسـی تـأثیر تمـرین تنـاوبی شـدید بـر بیـان ژن شاخص‌های آپوپتوزی در عضله اسـکلتی مـوش‌هـای دیابتی بود.

روش بررسی

در ایـن مطالعـه تجربـی، ۶۰ سـر رت نـر ۸ هفتـه‌ای نـژاد ویسـتار از انسـتیتو پاسـتور ایـران بـا میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ به عنوان نمونه تحقیق انتخـاب شدند. رت‌ها به طـور تصـادفی در پـنج گـروه شـامل؛ کنترل سالم بدون تزریق استرپتوزوتوسـین و ورزش (کنتـرل پایـه)(۱۲سـر)، کنتـرل سـالم بـدون تزریـق استرپتوزوتوسین و ورزش(کنتـرل ۸ هفتـه)(۱۲سـر)، دیابتی بدون انجام تمـرین(۱۲سـر)، دیـابتی بـا انجـام تمرین(۱۲سر) و تمرین سالم(۱۲سر) قرار گرفتنـد. در

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

این مطالعه موش‌ها با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن و به صورت درون صفاقی دیابتی شدند. گروه‌های مورد مطالعه در قفسه‌های مخصوص چوندگان از جنس pvc با درپوش توری فلزی که کف آنها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، تقسیم شدند. دمای اتاق ۱/۴± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت معادل ۵۰ تا ۵۵ درصد بود. نمونه‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری، با در دسترس بودن آب و غذا(غذای فشرده و آماده مخصوص موش، ساخت کارخانه خوراک گرگان و آب مصرفی و آب تصفیه شده شهری در ظرف آبخوری) نگهداری شدند. در این تحقیق اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرین‌ها مدنظر قرار گرفت. همه آزمایش‌ها بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد.

در پژوهش حاضر برای برآورد حداکثر سرعت دویدن آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب ۰ درجه اجرا کردند که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و سرعت تردمیل به ازای هر یک دقیقه ۱ متر بر دقیقه افزوده می‌شد تا رت‌ها قادر به دویدن نباشند(واماندگی). پس از برآورد حداکثر سرعت گروه تمرینی ۵ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته به فعالیت بر روی نوارگردان پرداختند. پروتکل اجرای وهله‌های تمرینی با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت به HIIT به مدت ۲ دقیقه با دوره‌های استراحتی فعال ۱ دقیقه‌ای بود و در هر جلسه ۵ وهله تمرینی اجرا می‌شد(جدول ۱).

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی(۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، رت‌های مورد مطالعه در هر گروه با تزریق درون صفاقی کتامین(۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین(۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس بافت عضله نعلی رت‌ها نمونه‌برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه ور گردیده و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای مورد نظر از بافت عضله نعلی به وسیله تکنیکReal time–PCR سنجش و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $\Delta\Delta ct$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از PCR master mix (Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر در جدول ۲ آورده شده است.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو ویلک، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

جدول ۱: پروتکل تمرینی هشت هفته‌ای آزمودنی‌ها

هفته	تکرارهای دو دقیقه‌ای (سرعت متر بر دقیقه)	استراحت‌های فعال یک دقیقه‌ای (سرعت متر بر دقیقه)	وهله های تمرینی
اول	۱۶	۱۰	۵
دوم	۱۸	۱۰	۵
سوم	۲۴	۱۱	۵
چهارم	۲۶	۱۱	۵
پنجم	۳۰	۱۲	۵
ششم	۳۴	۱۲	۵
هفتم	۳۶	۱۴	۵
هشتم	۳۸	۱۴	۵

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول amplicon
Caspas3	Forward	5′- CCTTGTGAGCACTGGTCTGT -3′	92 bp
	Reverse	5′- ATGCTTTCCAAGTCCCGTGT -3′	
Bcl2	Forward	5′- GACTTCTCTCGTCGCTACCG -3′	95 bp
	Reverse	5′- CATGACCCCACCGAACTCAA -3′	
GAPDH	Forward	5′- ATCACTGCCACTCAGAAGAC -3′	94 bp
	Reverse	5′- ACATTGGGGGTAGGAACAC -3′	

یافته‌ها

در جدول ۳ میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف نشان داده شده است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن Bcl2 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود دارد (p=۰/۰۰۰). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تغییرات بیان ژن Bcl2 عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل پایه(p=۰/۰۰٤)، کنترل ۸ هفته(p=۰/۰۰٤) به طور معنی‌داری کمتر بود. تغییرات بیان ژن Bcl2 عضله اسکلتی در گروه تمرین(p=۰/۰۰۰۱) و تمرین ـ دیابت(p=۰/۰٤۸) نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری بیشتر بود. هم‌چنین تغییرات بیان ژن Bcl2 عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه تمرین ــ دیابت به طور معنی‌داری بالاتر بود(p=۰/۰۰۰۱)(نمودار ۱). هم‌چنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن کاسپاز ــ۳ عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود دارد(p=۰/۰۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تغییرات بیان ژن کاسپاز ــ۳ عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل پایه و کنترل ۸ هفته به طور معنی‌داری بیشتر بود(p=۰/۰۰۰۱). تغییرات

www.SID.ir

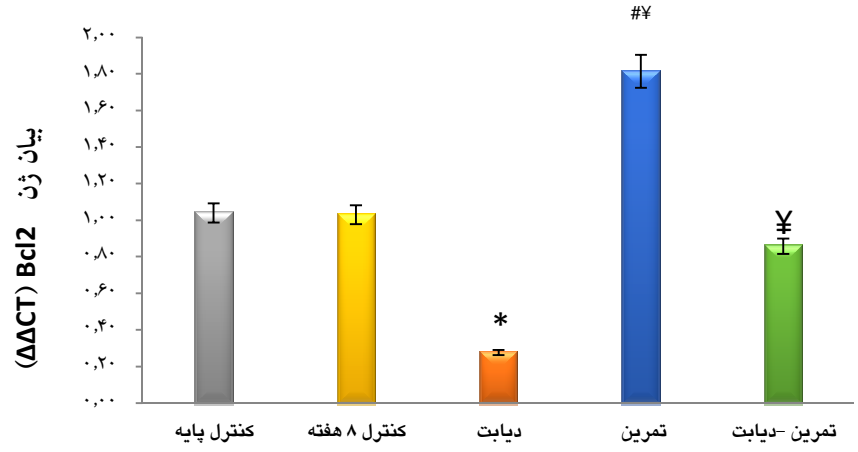
Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

بیان ژن کاسپاز-۳ عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود(p=۰/۰۰۰۱). هم‌چنین تغییرات بیان ژن کاسپاز-۳ عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه تمرین- دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود(p=۰/۰۰۳)(نمودار ۲).

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف

گروه / متغیر	کنترل‌پایه	کنترل ۸ هفته	دیابت	تمرین	تمرین-دیابت
بیان نسبی ژن Bcl2 (fold change)	۱/۰٤±۰/۰۸	۱/۰۳±۰/۱۳	۰/۲۷±۰/۰۵	۱/۸۱±۰/۲٦	۰/۸۵±۰/۰۵
بیان نسبی ژن کاسپاز-۳ (fold change)	۱/۰۹±۰/۱۳	۱/۰۱±۰/۱۵	٦/۷٤±۰/٦۵	۰/۵٦±۰/۰۸	۲/۳۳±۰/۲۳



نمودار ۱: تغییرات بیان ژن Bcl2 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل پایه و کنترل ۸ هفته(p≤ ۰/۰۵).

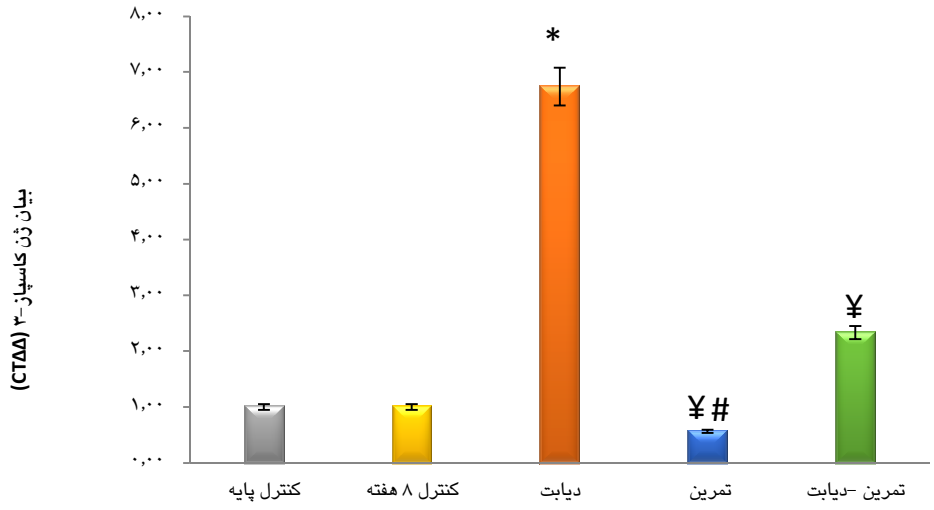
¥ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دیابت(p≤ ۰/۰۵).

تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین ـ دیابت(p≤ ۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019



نمودار ۲: تغییرات بیان ژن کاسپاز-۳ در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف

* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل پایه و کنترل ۸ هفته($p\leq ۰/۰۵$).

¥ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دیابت($p\leq ۰/۰۵$).

تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین ـ دیابت($p\leq ۰/۰۵$).

بحث

هیپرگلیسمی شایع‌ترین اختلال متابولیک در بیماران دیابتی است. یکی از عوارض ایجاد شده در اثر هیپرگلیسمی ناشی از دیابت، القاء آپوپتوز در بافت‌های مختلف بدن از جمله عضله اسکلتی می‌باشد(۱)، لذا هدف از پژوهش حاضر تعیین و بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن شاخص‌های آپوپتوزی در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی بود.

یافته‌های این تحقیق نشان داد هشت هفته تمرین تناوبی شدید موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن Bcl2 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی شد. نتایج در مطالعه حاضر با نتایج پژوهش‌های قبلی هم‌خوان می‌باشد(۲۵ و ۲۰، ۱۸). در همین راستا، کای و همکارن به مقایسه دو روش تمرینی اینتروال با شدت بالا و تمرین‌های تداومی با شدت متوسط بر فرآیند آپوپتوز موش‌های مبتلا به انفارکتوس قلبی پرداختند. در این پژوهش نشان داده شد که هر دو روش تمرینی موجب افزایش معنی‌دار Bcl-2 میوکارد در مقایسه با گروه کنترل شد(۲۵). Bcl-2 مهم‌ترین پروتئین در تنظیم آپوپتوزیس است که در تحقیق حاضر در عضله اسکلتی مورد بررسی قرار گرفت. اگرچه مکانیسم دقیق آپوپتوز هنوز مشخص نیست، اما ممکن است با توجه به نوع سلول و نوع تحریکات متفاوت باشد(۲۶). نشان داده شده است که تمرین ورزشی سبب القا آپوپتوز می‌شود که یک روند طبیعی برای از بین بردن سلول‌های آسیب دیده است که در آن واکنش‌های التهابی چشمگیری رخ نمی‌دهد. این روند باعث حصول اطمینان از عملکرد طبیعی بدن می‌شود(۲۷). چندین سازوکار برای اثرات محافظتی تمرین‌های ورزشی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

روی آپوپتوز عضله مطرح شده است که شامل تغییر مستقیم در بیان پروتئین‌های مربوط به آپوپتوز، کاهش آزادسازی عوامل آپوپتوژنیک میتوکندری و تغییرات تولید گونه‌های فعال اکسیژن و وضعیت ضداکسایشی می‌باشد(۲۸). میتوکندری نقش مهمی در تنظیم آپوپتوز سلول‌های عضله اسکلتی ایفا می‌کند. به نظر می‌رسد در اثر تمرین پر شدت در تحقیق حاضر عملکرد میتوکندری‌های عضله اسکلتی بهبود یافته و این عامل منجر به افزایش مقادیر Bcl-2 به عنوان عامل مهاری آپوپتوز شده باشد. هم‌چنین یکی از دلایل افزایش Bcl-2 می‌تواند ناشی از کاهش Bax بوده باشد(هر چند که در تحقیق حاضر مقادیر Bax اندازه‌گیری نشد). به هر حال آپوپتوز در عضلات اسکلتی با افزایش Bcl-2 کاهش می‌یابد. علاوه بر این، مکانیسم‌های حفاظت در برابر آپوپتوز به علت پیشگیری ممکن است به وسیله NF-kB متأثر شود، که مانع از حساسیت به آپوپتوز می‌شود و می‌تواند تنظیم افزایشی سلول‌های ضدآپوپتوتیک Bcl-2 را تقویت کند(۲۹). استرس اکسایشی نیز به عنوان یک آغازگر مهم آپوپتوز در سلول‌ها می‌باشد(۳۰). همان‌طور که اشاره شد مکانیسم ورزش در مقابله با آپوپتوز به طور کامل روشن نشده است، با وجود این، تحقیق انجام شده به وسیله فرنچ و همکاران نشان می‌دهد که حداقل در بخشی ممکن است بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله فعالیت MnSOD در تعدیل آپوپتوز نقش داشته باشد(۳۰). این یک دیدگاه مهم است که اهمیت ورزش درمانی را برای بهبود سازوکارهای اکسایشی به عنوان وسیله‌ای برای جلوگیری از آپوپتوز برجسته می‌کند. افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c، تنظیم کلسیم رها شده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر ROS ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا می‌برد و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند. با توجه به این که در پژوهش حاضر از پروتکل هشت هفته‌ای استفاده شد، بنابراین احتمال دارد سازگاری‌های ناشی از تمرین تناوبی پرشدت سبب فعال‌سازی مسیرهای ضد آپوپتوزی شده باشد. با این حال، افزایش Bcl-2 به دنبال فعالیت ورزشی در تحقیق حاضر با نتایج برخی پژوهش‌های قبلی هم‌خوان نمی‌باشد. در همین راستا، تنورساز و همکاران نشان دادند چهار هفته تمرین هوازی(۵ جلسه در هفته) با سرعت ۱۸ــ ۱۵ متر در دقیقه و مدت ۴۴ــ ۲۵ دقیقه بر Bcl-2 سلول‌های عضلانی قلب موش‌های دیابتی تأثیر نداشت(۱۹). سئو و همکاران نیز در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر فعالیت اختیاری(چرخ دوار) بر عوامل درگیر در آپوپتوز و کاهش استرس پرداختند. تفاوت معنی‌داری در سطح بیان کبدی BCL-2 مشاهده نشد(۳۱). علت تناقض تحقیق حاضر با یافته فوق نیز احتمالاً بافت محل اندازه‌گیری، نوع آزمودنی‌ها، شرایط آزمودنی‌ها و نوع پروتکل تمرینی می‌باشد. گزارش شده است که اختلالات بافتی با آسیب DNA میتوکندری مرتبط است و منجر به نقص در زنجیره انتقال الکترون و تنظیم افزایشی ROS و در نتیجه آپوپتوز می‌شود(۳۲). بنابراین با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید در تحقیق حاضر، می‌تواند راهکار مناسبی برای افزایش بیان ژن Bcl-2 عضله اسکلتی طی دیابت باشد، هم‌چنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

بیان ژن کاسپاز-۳ در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر بود و هشت هفته تمرین تناوبی شدید موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز-۳ در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی شد. تاکنون سازوکارهای دقیق مولکولی آپوپتوز ناشی از غلظت بالای گلوکز مشخص نشده است. سازوکارهای آپوپتوز که گلوکز به واسطه آنها موجب القای مرگ برنامه‌ریزی سلول می‌شود، بسته به نوع سلول و بافت مورد مطالعه متفاوت است(۳۳). پژوهش‌ها گزارش کردند که پروتئین کیناز B در اثر دیابت در نمونه‌های حیوانی کاهش می‌یابد(۳۴) و احتمالاً یکی دیگر از مکانیسم‌های محافظت سلولی ناشی از تمرین‌های منظم ورزشی در برابر آپوپتوز با اثرات مهم ورزش در افزایش بیان پروتئین کیناز-B مرتبط است، چرا که نشان داده شده است که پروتئین کیناز B با فعالیت ورزشی با تنظیم افزایشی مواجه می‌شود(۳۵). پروتئین کیناز-B از طریق مهار مستقیم فعالیت کاسپازی موجب مسدود کردن مسیرهای آپوپتوز می‌گردد(۳۴). تمرین می‌تواند با تنظیم بیان کاسپاز-۳ همان‌طور که در مطالعه حاضر مشخص شد به بهبود عضله اسکلتی و پیشگیری از آسیب آن کمک نماید. اگرچه مکانیسم‌های دقیق تأثیر فعالیت ورزشی بر تنظیم مسیر آپوپتوزی ناشی از دیابت به درستی مشخص نیست در تحقیقات قبلی مشاهده شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضدآپوپتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم c مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود(۳۶). چای و همکاران گزارش کردند که فعالیت کاسپاز-۳ پس از شش هفته تمرین روی نوارگردان در موش‌های دیابتی تمرین کرده به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل دیابتی بود(۳۷). فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغاز گر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع آپوپتوز و قطعه قطعه شدن DNA شود(۳۸). هم‌چنین نشان داده شده است که عامل نکروز تومور آلفا(TNF-α) آپوپتوز را از طریق بیان اسید نیتریک اکسید سنتاز (Inducible nitric oxide synthase (iNOS)) و نیتریک اکسید (NO) افزایش می‌دهد (۳۹). ممکن است تمرین از طریق کاهش عامل نکروز تومور آلفا سیگنال دهی مرتبط با آن به کاهش آپوپتوز در تحقیق حاضر کمک کرده باشد. گزارش شده است که افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، سرکوب Bax، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c، تنظیم کلسیم رها شده از شبکه سارکوپلاسمیک و کاهش اثر ROS ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا می‌برد و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند. Bcl-2 یک پروتئین ضدآپوپتوزی است که در مسیر داخلی آپوپتوز نقش دارد و مانع فعالیت کاسپاز-۳ می‌شود(۲۲). با توجه به این که در پژوهش حاضر از پروتکل هشت هفته‌ای استفاده شد احتمال دارد سازگاری‌های ناشی از تمرین سبب فعال‌سازی مسیرهای ضدآپوپتوزی شده باشد، لذا این مسیرها می‌تواند زمینه‌ساز تنظیم کلسیم و در نتیجه تعدیل بیان ژن کاسپاز-۳ در تحقیق حاضر باشد. هنگامی که سطح انسولین پلاسما پایین باشد(در دیابت نوع ۱) یا هنگامی که سلول‌های عضلانی به اثرات انسولین-IGFI حساس می‌شوند(در بیماری مزمن دیابت نوع ۲)، تخریب پروتئین از طریق سیستم

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

یوبیکوئیتین- پروتئوزوم تسریع شده و یک قطعه اکتین ۱٤ کیلو دالتون به وسیله آبشار کاسپاز ۳ در عضله تولید می‌شود(٤٠). احتمالاً در اثر تمرین پرشدت Bcl-2 به میتوکندری منتقل شده و باعث القای یک سری منافذ نفوذپذیر موقت در غشای خارجی میتوکندری شده‌اند که رهایش سیتوکروم c را مهار و منجر به کاهش فعالیت کاسپاز-۹ و در نتیجه کاهش مقادیر کاسپاز-۳ شده‌اند(۲۲). با این حال مخالف با یافته‌های تحقیق حاضر، لی و همکاران نشان دادند که فعالیت ورزشی میزان آپوپتوز را با افزایش بیان پروتئین‌های کاسپاز-۳ در یک مدل موش‌های صحرایی دچار ایسکمی افزایش می‌دهد. این پژوهشگران بر تأثیر زمان تمرین در توانبخشی پس از ایسکمی تأکید کردند(۲۱). نتایج سیاه‌کوهیان و همکاران نیز حاکی از آن بود که تمرین‌های استقامتی بر کاسپاز-۳ عضله اسکلتی موش‌های ویستار تأثیر معنی‌داری نداشت(۲۰). علت تناقض تحقیق حاضر با یافته‌های فوق نیز احتمالاً نوع آزمودنی‌ها، پروتکل تمرین و نوع بافت مورد مطالعه می‌باشد. در مجموع در باره اثر تمرین بر آپوپتوز در آزمودنی‌های دیابتی پژوهش‌های محدودی انجام شده که با توجه به نوع آزمودنی و روش تحقیق نتایج متفاوتی داشته است. از محدویت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر فاکتورهای مرتبط با آپوپتوز اشاره کرد. اندازه‌گیری فاکتورهای پیش آپوپتوزی(Bid و Bax) و ضد آپوپتوزی(Bcl-XL) نیز می‌تواند در تبیین و تفسیر بهتر نتایج به ویژه در بافت عضله در آزمودنی‌های دیابتی کمک نماید.

نتیجه‌گیری

با توجه با یافته‌های تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد دیابت با افزایش آپوپتوز عضله اسکلتی همراه است و تمرین تناوبی شدید می‌تواند به تنظیم سطح آپوپتوز در عضله اسکلتی طی دیابت کمک کند. با وجود این، با توجه به پژوهش‌های اندک انجام شده در این رابطه، درک اثرات فعالیت ورزشی بر بیان ژن فاکتورهای درگیر در آپوپتوز در عضله اسکلتی به ویژه در بیماری دیابت نوع ۲ نیاز به پژوهش‌های بیشتری دارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پروژه تحقیقاتی با کد اخلاق IR.BMSU.REC.1396.712 دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله(عج) می‌باشد، بدین وسیله از پرسنل مرکز حیوانات علوم آزمایشگاهی این دانشگاه، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

REFERENCES

1.Kumar P, Rao GN, Pal BB, Pal A. Hyperglycemia-induced oxidative stress induces apoptosis by inhibiting PI3-kinase/Akt and ERK1/2 MAPK mediated signaling pathway causing downregulation of 8-oxoG-DNA glycosylase levels in glial cells. Int J Biochem Cell Biol 2014; 53: 302-19.
2.Højlund K, Beck-Nielsen H. Impaired glycogen synthase activity and mitochondrial dysfunction in skeletal muscle: markers or mediators of insulin resistance in type 2 diabetes? Curr Diabetes Rev 2006; 2:375–95.
3.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.
4.Guleria RS, Choudhary R, Tanaka T, Baker KM, Pan J. Retinoic acid receptor-mediated signaling protects cardiomyocytes from hyperglycemia induced apoptosis: Role of the rennin-angiotensin system. Journal of cellular physiology. 2011;226(5):1292-307.
5.Hashish HA, Kamal RN. Effect of curcumin on the expression of Caspase-3 and Bcl-2 in the spleen of diabetic rats. J Exp Clin Anat 2015: 14(1): 18-23.
6.Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicol Pathol 2007; 35(4): 495–516.
7.Yu ZQ, Jia Y, Chen G. Possible involvement of cathepsin B/D and caspase-3 in deferoxamine-related neuroprotection of early brain injury after subarachnoid haemorrhage in rats. Neuropathol Appl Neurobiol 2014; 40: 270–83.
8.Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2008; 9(1): 47-58.
9.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 Journal 2010; 10: 340-9.
10.Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. Toxicol Pathol 2007; 35: 495–516.
11.Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. a consensus report by the american diabetes association (ada) and the european association for the study of diabetes (EASD). Diabetes Care 2018; 41(12): 2669-701.
12.Karstoft K, Safdar A, Little JP. Optimizing exercise for the prevention and treatment of Type 2. Diabetes Front Endocrinol (Lausanne). 2018; 9: 237-246.
13.van Dijk JW, van Loon LJ. Exercise strategies to optimize glycemic control in type 2 diabetes: a continuing glucose monitoring perspective. Diabetes Spectr 2015; 28(1): 24-31.
14.Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. Diabetes Spectr 2015; 28: 39–44.
15.Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, Parikh J, Hollingsworth KG, Taylor R, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. Diabetologia 2016; 59: 56–66.
16.Fex A, Leduc-Gaudet JP, Filion ME, Karelis AD. Aubertin-Leheudre M. Effect of elliptical high intensity interval training on metabolic risk factor in pre- and type 2 diabetes patients: a pilot study. J Phys Act Health 2015; 12: 942–6.
17.Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. Diabetologia 2017; 60(1): 7-23.
18.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 2018; 15: 1-8.
19.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 Univ Med Sci 2018; 7(4): 488-97.
20.Siahkohian M, Asgharpour-arshad M, Bolboli L, Jafari A, Sheikhzadeh hesari F. Effect of 12-weeks aerobic training on some indices of skeletal muscle apoptosis in male rats. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services 2018; 39(6): 35-43.
21.Li F, Shi W, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, et al. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. J Neurosci Res 2017; 95(4):1017-24.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

22.Koçtürk S, Kayatekin BM, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. European Journal of Applied Physiology 2008; 102(5): 515-24.
23.Lachin JM, Genuth S, Cleary P, Davis MD, Nathan DM. Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. N Engl J Med 2000; 342: 381–9.
24.Wong E, Backholer K, Gearon E. Diabetes and risk of physical disability in adults: a systematic review and meta-analysis. Lancet Diabetes Endocrinol 2013; 1:106–114
25.Cai MX, Shi XC, Chen T, Tan ZN, Lin QQ, Du SJ, et al. Exercise training activates neuregulin 1/ErbB signaling and promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model. Life Sciences 2016; 149:1-9.
26.Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T, Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome c release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2: Bax ratio. Can Res 2002; 62:4592-8.
27.Mooren FC, Blöming D, Lechtermann A, Lerch MM, Völker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. Journal of Applied Physiology 2002; 93(1): 147-53.
28.Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. Journal of Applied Physiology 2008; 105(6): 1934-43.
29.Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. FEBS Lett 2000; 485: 7-12.
30.Marin-Garcia J, Goldenthal MJ. Mitochondrial centrality in heart failure. Heart Fail Rev 2008; 13: 137–50.
31. Seo H, Park CH, Choi S, Kim W, Jeon BD, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. J Exerc Nutrition Biochem 2016; 20(3): 16–23.
32.Anderson EJ, Rodriguez E, Anderson CA, Thayne K, Chitwood WR, Kypson AP. Increased propensity for cell death in diabetic human heart is mediated by mitochondrial-dependent pathways. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2011; 300: 118-24.
33.Allen DA, Yaqoob MM, Harwood SM. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. The Journal of Nutritional Biochemistry 2005; 16(12): 705-13.
34.Kim DY, Jung SY, Kim CJ, Sung YH, Kim JD. Treadmill exercise ameliorates apoptotic cell death in the retinas of diabetic rats. Molecular Medicine Reports 2013; 7(6): 1745-50.
35.Libonati JR. Cardiac effects of exercise training in hypertension. ISRN Hypertension 2013; 24: 1-9.
36.Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine 2013; 13: 23-36.
37.Chae CH, Jung SL, An SH, Jung CK, Nam SN, Kim HT. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. Journal of Physiology and Biochemistry 2011; 67(2): 235-41.
38.Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. The FASEB Journal 2006; 20(6): 791-3.
39.Song W, Lu X, Feng Q. Tumor necrosis factor-α induces apoptosis via inducible nitric oxide synthase in neonatal mouse cardiomyocytes. Cardiovasc Res 2000; 45: 595-602.
40.Du J, Wang X, Miereles C, Bailey JL, Debigare R, Zheng B, et al. Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. J Clin Invest 2004; 113: 115–23.

www.SID.ir

Arc

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:44 +0330 on Tuesday November 5th 2019

The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) on Gene Expression of Apoptotic Markers in the Skeletal Muscle of Diabetic Rats

Moradi H[1], Shadmehri S[1*], Shirvani H[2]

[1]Department of Physical Education and Sport Science, Yadegare Imam Khomeini(RAH) Shahre-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [2]Exercise Physiology Research Center, Life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 31 Dec 2018 Accepted: 27 April 2019

Abstract

Background & aim: Apoptosis plays an important role in the pathophysiology of Type 2 diabetes. The aim of this study was to evaluate the effect of high-intensity interval training (HIIT) on gene expression of apoptotic markers in the skeletal muscle of diabetic rats.

Methods: In the present experimental study, three male Wistar rats weighing 220±20 g were randomly divided into 4 groups including: baseline control, eight weeks control, diabetes mellitus, exercise and diabetes mellitus. In the present study, rats were diabetic intraperitoneally using streptozotocin in a single dose of 50 mg / kg. Intermittent exercise with intensity of 0.55% maximal oxygen consumption was performed 5 days a week for 2 weeks. The expression of Caspase3 and Bcl2 genes was measured by Ray-Tom-Pissar method. The data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post hoc tests.

Results: The results indicated that there was a significant difference between the mean of Bcl2 gene expression and Caspase-3 skeletal muscle in diabetic rats ($p = 0.0001$). Skeletal muscle Bcl2 gene expression was significantly higher in exercise ($p = 0.0001$) and exercise-diabetes ($p = 0.048$) than diabetic group ($p = 0.0001$). Furthermore, the expression of Caspase-3 gene in skeletal muscle was significantly lower in diabetic group ($p = 0.0001$).

Conclusion: Diabetes appears to be associated with increased skeletal muscle apoptosis, and vigorous intermittent exercise may help to regulate apoptosis in skeletal muscle during diabetes, therefore it is recommended that these exercises be considered for diabetic patients.

Key words*:* High-intensity interval training, Caspas3, Bcl2, Diabetes

***Corresponding Author: Shadmehri S,** Department of Physical Education and Sport Science, Yadegare Imam Khomeini(RAH), Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: saeedehsh61@gmail.com

Please cite this article as follows:
Moradi H, Shadmehri S, Shirvani H. The Effect of High-Intensity Interval Training(HIIT) on Gene Expression of Apoptotic Markers in the Skeletal Muscle of Diabetic Rats. Armaghane-danesh 2019; 24(3)(1): 461-473

www.SID.ir