بررسی اثر شش هفته فعالیت ورزشی استقامتی، مقاومتی و ترکیبی بر تغییرات مقادیر پروتئین Bax و Bcl2 بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو

دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۴

پارمیدا حاجی‌خانی[۱]، علی‌اصغر رواسی[۲*]، رضا نوری[۳]

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی پردیس بین‌المللی کیش دانشگاه تهران، کیش، ایران ۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، تهران، ایران ۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی پردیس بین‌المللی کیش دانشگاه تهران، کیش، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: دیابت نوع دو به‌عنوان یک عامل زمینه‌ساز برای بیماری قلبی به‌شمار می‌رود و سهم عمده‌ای در مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی- عروقی دارد. هدف این مطالعه، بررسی اثر شش هفته فعالیت ورزشی استقامتی، مقاومتی و ترکیبی بر تغییرات مقادیر پروتئین Bax و Bcl2 بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو بود.

روش کار: تعداد ۳۲ سر رت به‌صورت تصادفی به ۴ گروه ۷تایی کنترل، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی، تمرین ترکیبی، تقسیم و به مدت شش هفته به تمرین پرداختند. دیابت از طریق تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین به رت‌ها القا و سطوح پروتئین‌های Bax و Bcl2 از بافت بطن چپ قلب رت‌ها به روش الایزا سنجش شد. سطوح انسولین، سطح گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین مورد سنجش قرار گرفتند. جهت تعیین معنادار بودن اختلاف گروه‌های پژوهش از آزمون آماری آنوای یک‌طرفه در سطح معنی‌داری $p\leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته‌ها: یافته‌های تحقیق نشان داد که بین مقادیر پروتئینی Bax در بطن چپ قلب رت‌های ویستار دیابتی گروه‌های فعالیت ورزشی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p\leq ۰/۰۵$). اما بین گروه‌های تمرینی با هم تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. همچنین بین مقادیر Bcl2 در آپوپتوز بافت قلبی رت‌های ویستار دیابتی گروه‌های فعالیت ورزشی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. بین سطوح انسولین، گلوکز و مقاومت به انسولین در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ۶ هفته تمرینات ورزشی استقامتی، مقاومتی و به‌ویژه ترکیبی شاخص‌های گلیسمیک را بهبود بخشیده و سطوح پروتئینی Bax را نسبت به گروه بی‌تمرین کاهش داده، اما در مقادیر پروتئین Bcl2 تغییری ایجاد نکرده‌است. بنابراین بهتر است مدل‌های دیگر تمرینی نیز در ارتباط با آپوپتوزیس قلب رت‌های دیابتی مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی، تمرین ترکیبی، Bax، Bcl2، دیابت نوع ۲

* **نویسنده مسئول:** . استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، تهران، ایران

ایمیل: aaravasi@ut.ac.ir **تلفن:** ۰۲۱۸۸۳۵۱۷۳۰ **نمابر:** ۰۲۱۸۸۰۲۱۵۲۷

مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیک مزمن است که عمدتاً با افزایش سطوح گلوکز خون شناسایی می‌شود و نتیجه تعامل پیچیده ژنتیک، محیط است. این بیماری با عوامل خطرسازی همانند اضافه‌وزن و کم‌تحرکی همراه است (۱). از آنجایی که در بیمارانی که مقاومت به انسولین دارند، حساسیت سلول‌های چربی نسبت به هورمون انسولین کم می‌گردد، بنابراین میزان اسیدهای چرب آزاد در خون افزایش می‌یابد و منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد، بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله سختی شریانی و اختلال در ساختار و عملکرد قلب و عروق می‌شود (۲). مکانیسم اولیه اختلال در عملکرد اندوتلیال، کاهش نیتریک اکساید در گردش محیطی اندوتلیوم است که عامل بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد و شامل بیان کمتر نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی (eNOS) و یا افزایش دفع نیتریک اکساید (NO) توسط سوپر اکساید می‌باشد که به‌نوبه خود سطوح تجمع پلاک‌ها را افزایش می‌دهد (۲، ۳).

با توجه به اینکه بیماری دیابت و بیماری قلبی عروقی موجب اختلال در عملکرد اندوتلیال می‌گردند و به‌موجب آن استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد، آپوپتوز سلولی رخ می‌دهد (۴). در فرآیند آپوپتوز، سلول نقش فعال در مرگ خودش دارد که در طول دوران بزرگسالی دارای مکانیسم حفاظتی است و سلول‌های پیر و آسیب‌دیده را حذف می‌کند. آپوپتوز طی چندین مکانیسم رخ می‌دهد و می‌تواند موجب مرگ سلول گردد. سیگنال‌های خارجی مانند اتصال لیگاندهای القاکننده مرگ به گیرنده سلولی به گیرنده مرگ و سیگنال‌های داخلی که به دنبال استرس اکسیداتیو تولید می‌شوند. حساسیت سلول‌ها به محرک‌های آپوپتوتیک به تعادل پروتئین‌های پیش آپوپتوزی مثل Bax و ضد آپوپتوزی مثل Bcl-2 بستگی دارد (۵، ۶). آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال ممکن است در پیشرفت دیابت و تصلب شرایین بسیار قابل‌توجه باشد و همچنین آپوپتوز از هر دو مسیر داخلی و خارجی بر روی سلول‌های عضله‌ی قلبی اثرگذار می‌باشد (۷). بنابراین، دیابت نه تنها موجب اختلال اندوتلیالی و آسیب مویرگی می‌شود، بلکه می‌تواند عامل مقاومت به انسولین اندوتلیالی شود؛ چرا که اندوتلیوم عروق ریز نمی‌توانند به درستی به انسولین واکنش نشان دهند (۸). به همین جهت، جذب گلوکز کاهش می‌یابد و مسیر طبیعی انسولین جهت فعال‌کردن مسیرهای PI-3 کیناز و Akt مختل می‌گردد. در صورتی که زمانی که انسولین در خون بیش از حد افزایش یابد، مسیرهای پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن (MAPK) را فعال می‌نماید و بین PI-3 کیناز و MAP کیناز عدم تعادل به وجود می‌آید و به موجب آن نیتریک اکساید کاهش و اندوتلین-۱ افزایش یافته و آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال و عضله‌ی قلبی رخ می‌دهد (۴). بنابراین عناصر اصلی آپوپتوز که در قلب بیان و تنظیم می‌گردند، ژن‌های Bax و Bcl-2 می‌باشند (۹).

انجام فعالیت بدنی جهت کنترل قند خون و همچنین سلامت کامل در افراد دیابتی و غیر دیابتی یک اصل بسیار مهم می‌باشد. تمرینات استقامتی و مقاومتی، هر دو برای بیماران دیابتی نوع دو بسیار مفید می‌باشند. گزارش شده‌است تمرینات هوازی جذب اکسیژن و شاخصه‌های سوخت و سازی در بیماران دیابتی را بهبود می‌بخشد و سطوح گلوکز و انسولین را تعدیل می‌کند (۹). فعالیت ورزشی استقامتی نیز موجب بهبود سازگاری قلبی تنفسی (۱۰)، کنترل قند خون (۱۱) و کاهش مقاومت به انسولین (۱۲) در بیماران دیابتی می‌گردد و سازگاری قلبی تنفسی ناشی از آن، باعث افزایش مصرف اکسیژن اضافی پس از تمرین مقاومتی می‌گردد که یکی از اثرات بسیار سودمند در بیماران دیابتی محسوب می‌گردد (۱۳). همچنین طبق مطالعات انجام‌شده نشان‌داده شده‌است که فعالیت ورزشی ترکیبی که شامل فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی می‌باشد، در بهبود کنترل قند خون و چربی خون، بهبود حساسیت به انسولین ظرفیت عملکردی، قدرت و عملکرد قلبی عروقی و همچنین کاهش سطح هموگلوبین A1C، فشارخون و مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی نوع ۲ یکی از کارآمدترین روش‌های فعالیت ورزشی است (۱۴). Solomon و همکاران نشان دادند که فعالیت ورزشی ترکیبی و رژیم غذایی کم‌کالری موجب افزایش در ترشح انسولین و عملکرد سلول‌های بتا شده و بالا رفتن انسولین خون را در بیماران دیابتی مسن کاهش می‌دهد (۱۵). بنابراین فعالیت ورزشی ترکیبی می‌توانند موجب سازگاری متابولیکی در بدن گردند و حساسیت به انسولین را بهبود بخشند. تأثیر انواع فعالیت ورزشی و ترکیب آنها با هم در بسیاری از مطالعات پیشین مورد چالش بوده و توجیه اثر هر کدام از انواع تمرین، در بیماری‌هایی مانند دیابت هنوز جای اختلاف بر جای گذاشته‌است. با توجه به اینکه هنوز مکانیسمی که به وسیله‌ی آن نشان دهد فعالیت ورزشی مانع بروز آپوپتوز عضله قلبی می‌گردد کاملاً واضح و روشن نیست. بنابراین

مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر شش هفته فعالیت ورزشی استقامتی، مقاومتی و ترکیبی بر تغییرات مقادیر پروتئین Bax و Bcl2 بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو انجام شد.

روش کار

روش تحقیق حاضر از نوع بنیادی تجربی است. تعداد ۳۲ سر رت نر ۸ هفته‌ای با محدوده وزنی ۱۳۰ تا ۱۵۰ گرم، از مرکز تحقیقات رازی خریداری شد. آزمودنی‌ها در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، در سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲، در قفس‌های مخصوص با دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد حیوانات به صورت پلت نگهداری شدند. تمام مراحل با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. پس از دو هفته و به منظور سازگاری با محیط و پس از رسیدن به دامنه وزنی مطلوب ، تعداد ۴ سر رت به‌عنوان گروه پایلوت انتخاب و القای دیابت به آنها انجام شد. به همه رت‌ها از طریق تزریق تک‌دوز درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) به همراه نیکوتین آمید دیابت القاء شد. جهت ایجاد دیابت نوع دو بعد از ۱۲ ساعت ناشتابودن موش‌های صحرایی به‌صورت تزریق درون صفاقی محلول نیکوتین آمید (ساخت شرکت سیگما، آمریکا) محلول‌شده در نرمال سالین با دوز ۱۲۰ mg/kg و بعد از ۱۵ دقیقه از محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (ساخت شرکت سیگما، آمریکا) محلول در بافر سیترات با دوز ۶۵ mg/kg64 استفاده شد. رت‌ها در ۴ گروه ۷تایی کنترل، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی، تمرین ترکیبی، تقسیم شدند و به مدت شش هفته و سه جلسه در هر هفته، تمرین‌های مربوطه را انجام دادند. جهت تأیید القای دیابت نوع دو، سطح قند خون ناشتا با گلوکومتر 01-mini ARKRAY (ساخت ژاپن) با نمونه‌گیری خون از دم موش‌ها اندازه‌گیری و مقدار گلوکز بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان مشخصه دیابت نوع۲ در نظر گرفته (۱۶) و تأیید شد. بعد از القاء دیابت در طول دوره پژوهش هیچ‌گونه درمانی با انسولین انجام نشد و در انتها ۳ سر موش تلف شدند. سنجش گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس آزمون) و اندازه‌گیری مقادیر انسولین از روش الایزا (Crystal chem ساخت کانادا) با ضریب تغییر ۰/۰۵ و حساسیت 5ml/dl بررسی گردید. شاخص مقاومت به انسولین به روش HOMA-IR به‌وسیله فرمول زیر سنجش شد:

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

ارزیابی توان هوازی

۴۸ ساعت قبل از شروع اولین جلسه تمرین، خون‌گیری اولیه و برآورد اکسیژن مصرفی بیشینه انجام شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی نمونه‌گیری خونی مجدد انجام و اکسیژن مصرفی بیشینه برآورد شد. به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی)، توان هوازی رت‌ها به صورت غیر مستقیم و با استناد به پژوهش‌های پیشین اندازه‌گیری گردید. ابتدا ده دقیقه گرم‌کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد اکسیژن مصرفی صورت گرفت. بعد از گرم‌شدن، آزمون با دویدن رت‌ها با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت دو دقیقه شروع شد. سپس نوار گردان هر دو دقیقه یک‌بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه) افزایش یافت تا زمانی که حیوان دیگر قادر به دویدن نبود. ملاک رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی، عدم افزایش VO2 با وجود افزایش سرعت می‌باشد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که یک ارتباط مستقیم و قوی بین سرعت نوار گردان و حداکثر اکسیژن مصرفی وجود دارد (۱۷). از اینرو میزان حداکثر اکسیژن مصرفی بر اساس سرعت دویدن به دست خواهد آمد.

پروتکل فعالیت ورزشی مقاومتی

این پژوهش با توجه به خطوط راهنمای انجمن قلب و دیابت آمریکا مبنی بر اصول فعالیت ورزشی مقاومتی در دیابتی‌ها تعدیل و براساس پژوهش‌های پیشین (Gaeini و همکاران ۱۳۹۶) به‌صورت یک ست ۱۰ تکرار با فواصل استراحتی ۹۰ ثانیه‌ای ، صعود از نردبان تمرین‌های مقاومتی به ارتفاع ۱ متر و شیب ۸۵ درجه با وزنه فلزی ۳۰ گرمی به مقدار ۰/۲ تا ۰/۵ وزن بدن، متصل به‌قاعده دم انجام شد. در این پژوهش از هیچ‌گونه شوک الکتریکی برای تحریک بالا رفتن از نردبان استفاده نشد و تنها از تحریک نوک دم به منظور انجام فعالیت استفاده گردید. در هفته اول، هدف آشنایی رت‌ها با پروتکل تمرینی بود و در پایان هفته حداکثر ظرفیت حمل وزنه رت‌ها سنجیده شد و سپس رت‌ها با شدت ۷۰ تا ۷۵ درصد حداکثر ظرفیت حمل وزنه خود، سه جلسه در هفته و به مدت ۵ هفته دیگر و با توجه به اصل اضافه بار به تمرین پرداختند.

پروتکل فعالیت ورزشی هوازی (استقامتی)

ابتدا در طول هفته اول و به‌منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاه و تردمیل، رت‌های گروه تمرین استقامتی ۳ جلسه در هفته به مدت ۱۰–۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه روی تردمیل راه رفتند و سپس برنامه تمرین استقامتی را با شدت متوسط (۵۰–۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) به مدت ۶ هفته و ۳ جلسه در هر هفته انجام دادند و سرعت و مدت تمرین به‌تدریج افزایش یافت. برای کم‌کردن استرس‌های وارده به حیوان‌ها از هیچ‌گونه تحریک الکتریکی با توجه به رعایت ملاحظات اخلاقی، استفاده نشد.

جدول۱. برنامه تمرینی گروه فعالیت‌های ورزشی استقامتی

هفته	سرعت	مدت
اول	۱۰ متر در دقیقه	۱۰ دقیقه
دوم	۱۰ متر در دقیقه	۲۰ دقیقه
سوم	۱۴–۱۵ متر در دقیقه	۲۰ دقیقه
چهارم	۱۴–۱۵ متر در دقیقه	۳۰ دقیقه
پنجم	۱۷–۱۸ متر در دقیقه	۳۰ دقیقه
ششم	۱۷–۱۸ متر در دقیقه	۳۰ دقیقه

پروتکل فعالیت ورزشی ترکیبی

گروه فعالیت‌های ورزشی ترکیبی، هر دو پروتکل تمرینی را در یک جلسه تمرینی انجام دادند.

نحوه تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های بافتی

پس از ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی، حیوان با تزریق داروی زیلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌صورت ترکیبی و تزریق درون صفاقی بی‌هوش گشته، قفسه سینه شکافته شدند و نمونه‌های بافت قلبی در شرایط استریل گرفته شد. نمونه‌ها بلافاصله در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد فریز گردیدند. برای سنجش غلظت متغیرها، ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم از بافت هموژنایزشده در بافر فسفات لیز شد و سپس با سانتریفیوژ یخچال‌دار در ۱۲۰۰۰ چرخش بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتریفیوژ شد. محلول رویی بافت هموژن‌شده در تیوب جدید در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد. همچنین نمونه‌های با پروتئین بالا ابتدا ۵ تا ۱۰ برابر با آب دیونیزه رقیق شد. درنهایت غلظت bax و bcl-2 و به‌روش الایزا با کیت‌های شرکت Zellbio آلمان اندازه‌گیری شد.

روش آماری

طبیعی بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو–ویلک بررسی گردید. جهت تعیین اختلاف بین گروه‌های پژوهش از تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد و درصورت وجود تفاوت معنی‌دار، برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. اطلاعات در جداول و اشکال براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شد. سطح معنی‌داری $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته و همه مراحل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد.

نتایج

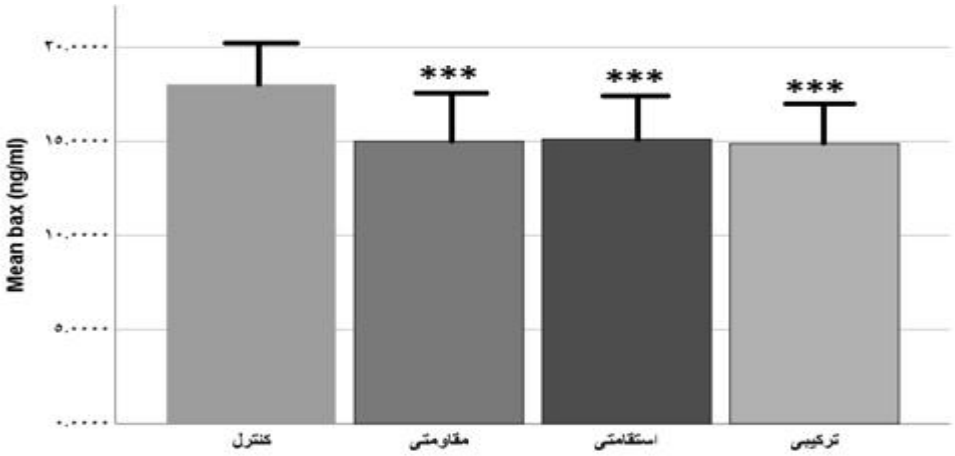
جدول ۲ تغییرات مقادیر گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین را به تفکیک گروه‌ها پس از اتمام دوره تمرین را نشان می‌دهد. شکل‌های ۱ و ۲ میانگین و انحراف استاندارد مقادیر پروتئینی شاخص Bax و Bcl-2 در بطن چپ قلب رتهای ویستار در گروه‌های کنترل، فعالیت ورزشی استقامتی، فعالیت ورزشی مقاومتی، فعالیت ورزشی ترکیبی را نشان می‌دهد.

جدول ۲. تغییرات مقادیر گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین را به تفکیک گروه‌ها پس از اتمام دوره تمرین

متغیر	گروه ترکیبی	گروه مقاومتی	گروه استقامتی	گروه کنترل
گلوکز (میلی‌گرم/دسی لیتر)	¥$*۱۵۴±۳۵	٭۲۰۱±۲۵	٭۱۹۹±۲۵	۳۰۸±۲۲
انسولین	٭¥۳۹/۴±۸۰/۰	٭۱۳/۵±۷۱/۰	٭۱۵/۳±۶۹/۰	۲۲/۵±۵۷/۰
شاخص مقاومت به انسولین	٭¥۱۳/۰۵±۰/۰	٭۱۶/۰۳±۰/۰	٭۱۵/۰۱±۰/۰	۱۹/۰۲±۰/۰

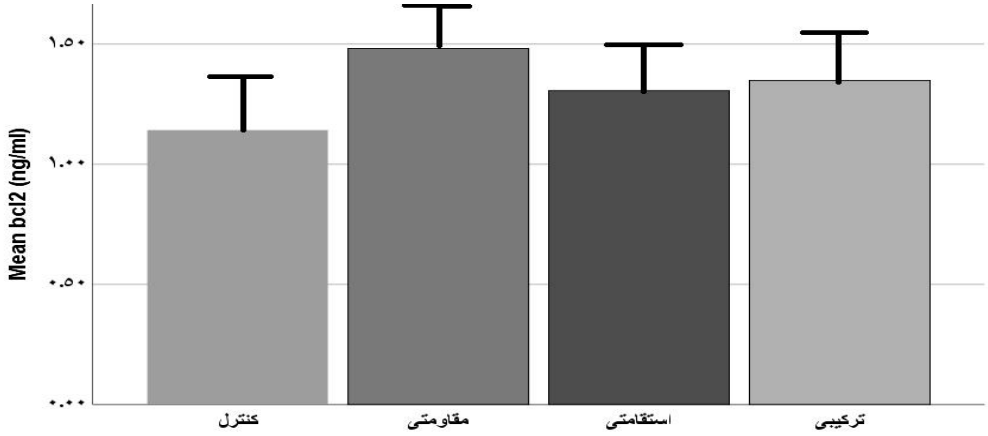
اعداد به شکل میانگین± انحراف استاندارد بیان‌شده‌اند، ٭ نشانهٔ معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، ¥ نشانه معنی‌داری نسبت به گروه استقامتی، $ نشانه معنی‌داری نسبت به گروه مقاومتی، # نشانه معنی‌داری نسبت به گروه ترکیبی.

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین مقادیر پروتئینی Bax در بطن چپ قلب رت‌های ویستار دیابتی گروههای فعالیت ورزشی استقامتی، فعالیت ورزشی مقاومتی، فعالیت ورزشی ترکیبی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود دارد (η^2=۰/۶۱، p≤۰/۰۰۱، $F_{(۳، ۲۸)}$=۱۴/۹). نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه جفتی گروه‌ها نشان داد که فعالیت ورزشی استقامتی (p≤۰/۰۰۱)، فعالیت ورزشی مقاومتی (p≤۰/۰۰۱) و فعالیت ورزشی ترکیبی (استقامتی و مقاومتی) در مقایسه با مقادیر پروتئینی Bax گروه کنترل منجر به کاهش معنی‌دار مقادیر Bax در بطن چپ قلب رت‌های ویستار دیابتی شد (p≤۰/۰۰۱). هرچند، بین مقادیر Bax گروه فعالیت ورزشی استقامتی و فعالیت ورزشی مقاومتی (p=۰/۹۹۶)؛ بین مقادیر Bax گروه‌های فعالیت ورزشی استقامتی و فعالیت ورزشی ترکیبی (p=۰/۹۷۲)؛ بین مقادیرBax گروه‌های فعالیت ورزشی مقاومتی و فعالیت ورزشی ترکیبی (p=۰/۹۹۶) در آپوپتوز بافت قلبی رت‌های ویستار دیابتی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل شماره ۱).



شکل۱. نمودار مقادیر Bax در آپوپتوز بافت قلبی رت‌های ویستار دیابتی گروه‌های فعالیت ورزشی استقامتی، مقاومتی، ترکیبی و کنترل، * نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد، p<۰/۰۵*، p<۰/۰۱**، p<۰/۰۰۱***

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین مقادیر Bcl2 در آپوپتوز بافت قلبی رت‌های ویستار دیابتی گروه‌های فعالیت ورزشی استقامتی، فعالیت ورزشی مقاومتی، فعالیت ورزشی ترکیبی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود ندارد (η^2=۰/۱۰، p=۰/۳۷۷، $F_{(۳، ۲۸)}$=۱/۰۷). (شکل ۲).



شکل۲. نمودار مقادیر Bcl2 در آپوپتوز بافت قلبی رت‌های ویستار دیابتی گروه‌های فعالیت ورزشی استقامتی، مقاومتی، ترکیبی و کنترل، p<۰/۰۵*، p<۰/۰۱**، p<۰/۰۰۱***

بحث

این مطالعه به مقایسه اثر ۶ هفته تمرین استقامتی، مقاومتی و ترکیبی بر تغییرات مقادیر پروتئینی Bax ،Bcl-2 در بافت بطن چپ موش صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع دو پرداخت. طبق یافته‌های به‌دست‌آمده مقادیر گلوکز پلاسما در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش یافت. مقادیر انسولین پلاسما نیز در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش یافت و به تبع از آن شاخص مقاومت به انسولین پس از یک دوره تمرین در گروه‌های تمرین نسبت به گروه بی‌تمرین دیابتی کاهش یافت. در رابطه با نتایج گلیسمی محققان معتقدند تمرینات ورزشی موجب بهبود جذب گلوکز به‌وسیله افزایش حساسیت به انسولین در عضلات اسکلتی و بافت‌های چربی می‌شود (۱۰) چرا که تمرینات ورزشی اتصال انسولین را به گیرنده‌های GLUT4 تسهیل می‌کند و مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهد. شواهدی وجود دارد که بافت قلب به دنبال تمرینات ورزشی هوازی می‌تواند با افزایش برداشت و بهبود متابولیسم گلوکز، مقادیر پلاسمایی گلوکز را کاهش دهد (۱۱). با این‌حال با توجه به مطالعات انجام‌شده در خصوص تأثیر تمرین بر کاهش گلوکز خون، کاهش عوامل خطرزای قلبی و نیز تأثیر تمرین بر ساختار و عملکرد قلب، سطح سلامت آزمودنی‌ها، شدت و یا مدت تمرین متفاوت و مؤثر است (۱۴، ۱۸). اما تمرینات ترکیبی بیشترین اثربخشی را داشته و شاید بتوان آن را به دربرداشتن هر دو مکانیسم تمرینات مقاومتی و استقامتی در بهبود سطوح گلوکز توجیه کرد.

در ارتباط با پروتئین‌های سنجیده‌شده در این پژوهش، نتایج این مطالعه نشان داد که بین مقادیر پروتئینی Bax در بطن چپ قلب رت‌های ویستار دیابتی گروه‌های فعالیت ورزشی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود دارد اما بین گروه‌های تمرینی باهم تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. همچنین بین مقادیر Bcl2 در آپوپتوز بافت قلبی رت‌های ویستار دیابتی گروه‌های فعالیت ورزشی و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. با وجود گلوکز فراوان در خون یک فرد دیابتی، هایپرگلایسمی طولانی مدت ایجاد می‌شود که خون و اکسیژن‌رسانی به قلب را محدود می‌کند (۱۹). افزایش قند خون می‌تواند موجب نامتعادل‌شدن فرایند آپوپتوز به‌وسیله تولید و افزایش در عملکرد پروتئین Bax و کاهش در تولید و عملکرد پروتئین ضد آپوپتوز Bcl-2 شود (۲۰) که افزایش پروتئین BAX و کاهش پروتئین Bcl2 در گروه کنترل این مطالعه قابل مشاهده‌است. افزایش در تولید و یا فعالیت پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl2 بر اثر انجام تمرینات ورزشی طولانی‌مدت از رهاسازی سیتوکروم C و تخریب غشاء میتوکندری از طریق حفظ یکپارچگی غشاء سلول جلوگیری می‌کند (۲۱). با این حال آثار مفید انجام تمرین منظم بر افزایش سلامت و پیشگیری از ایجاد اختلالات متابولیک و سایر عوارض آن اثبات شده‌است (۲۱، ۲۲). برخی محققان نیز تأثیر مثبت تمرین ورزشی در نمونه‌های حیوانی مبتلا به دیابت را به تنظیم افزایشی بیان ژن‌های مؤثر بر بهبود در سنتز پروتئین در جهت آنژیوژنز میتوکندری در بافت قلب نسبت داده‌اند که با بهبود مسیرهای متابولیک در بافت قلب همراه است (۲۳). همچنین عنوان شده اگر تمرین از شدت و مدت مناسب برخوردار باشد، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را در سلول عضلانی و سلول میوسیت افزایش می‌دهد (۲۴). همچنین مطالعات مختلف اظهار داشتند افزایش زمان یا تواتر جلسات تمرین باعث ایجاد سازگاری از طریق کاهش عوامل اکسیدانی، کاهش التهاب و مصرف پروفایل‌های چربی و در نهایت کاهش عامل آپوپتوزیس سلولی از جمله کاسپاز ۳ (Caspase-3) می‌شود، زیرا مقدار فاکتورهای آنتی اکسیدانی پیش بقای سلولی مانند IGF-1، PI3K/AKT همراه با مصرف گلوکز عضلانی افزایش می‌یابند و بقا در برابر مرگ سلولی پیشی می‌گیرد (۱۸، ۲۵). شاید بتوان دلیل عدم تغییرات معنی‌دار Bcl2 در مطالعه حاضر را به کوتاه‌بودن مدت زمان تمرین و کم‌بودن تعداد جلسات تمرینی نسبت داد. Scheffer و Caillaud نیز نشان دادند که تمرین مقاومتی با شدت متوسط در مدت زمان کافی استرس شبکه رتیکولوم اندوپلاسمی را همراه با کاهش MDA و افزایش مقادیر SOD با راه‌اندازی مسیر کلسیم سیتوزولی و فسفوریلاسیون PI3K بهبود می‌بخشد و بیوژنز میتوکندری را از این مسیر افزایش و مرگ سلولی را کاهش می‌دهد (۲۶، ۲۷). در مقایسه شدت تمرین با دو شدت کم و زیاد به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته به مدت ۴۵ دقیقه که در تمرین شدید شیب دستگاه از صفر درجه تا هفته چهارم به ۱۵ درجه رسید، چنین نتیجه‌گیری کردند که تمرین با شدت کم تأثیر بالاتری در ساختار قلب ایجاد می‌کند (۲۸). این نتایج با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو است؛ چرا که در این مطالعه مقادیر Bax در سه گروه تمرینی به یک مقدار نسبت به گروه کنترل کاهش داشت. در مطالعه‌ای آزمودنی‌ها ۸ هفته فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی با و بدون مکمل سیر انجام دادند و محققان مشاهده نمودند که به‌طور معنی‌داری سطح Bax با و بدون مکمل

کاهش یافت که با مطالعه حاضر همسو است (۲۹). طبق مطالعه ابوطالب و همکاران، هر دو فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی بیان پروتئین کاسپاز ۳ و Bax را کاهش و Bcl-2 را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد که مخالف نتایج مطالعه حاضر است (۳۰). با توجه به تناقضات موجود در مطالعات مرتبط با زمینه این پژوهش می‌توان گفت هنوز مکانیسمی که به‌وسیله آن نشان دهد فعالیت ورزشی مانع بروز آپوپتوز عضله قلبی می‌گردد کاملاً واضح و روشن نیست و باید عوامل درگیر دیگر در سیگنالینگ مسیر آپوپتوز قلبی را بررسی کرد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم دسترسی به نمونه‌های انسانی و نیز عدم استفاده از اکوکاردیوگرافی، عدم استفاده از روش هیستوشیمی بافت قلب بود. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده مدل تمرین تناوبی شدید به‌طور گسترده‌تری مورد مطالعه قرار گیرد. با این حال بهتر است قبل از طراحی این نوع از تمرینات از شدت بیماری، زمان مصرف دارو و ارزیابی عملکرد قلب طبق نظر پزشک آگاهی کامل داشته باشیم تا از تأثیر مفید این تمرینات بهره‌مند شویم.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه می‌توان نتیجه گرفت، انجام ۶ هفته تمرین استقامتی، مقاومتی و ترکیبی سطوح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین را در رت‌های دیابتی بهبود بخشید و سطوح پروتئینی Bax را نسبت به گروه بی‌تمرین کاهش داد اما در مقادیر پروتئین Bcl2 تغییری ایجاد نکرد. بنابراین بهتر است مدل‌های دیگر تمرینی نیز در ارتباط با آپوپتوزیس قلب رت‌های دیابتی مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پروژه تحقیقاتی مصوب پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی پردیس بین‌المللی دانشگاه تهران با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1398.077 است. بدین‌وسیله از اساتید گرانقدری که در اجرای آن به ما یاری رساندند سپاسگزاری می‌نماییم.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

References

1. Wu Y, Ding Y, Tanaka Y, Zhang W. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention. International Journal of Medical Sciences. 2014;11(11):1185.

2. Steinberger J, Daniels SR. Obesity, insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk in children: an American Heart Association scientific statement from the Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee (Council on Cardiovascular Disease in the Young) and the Diabetes Committee (Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism). Circulation. 2003;107(10):1448-53.

3. Chaudhury A, Duvoor C, Reddy Dendi VS, Kraleti S, Chada A, Ravilla R, et al. Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 diabetes mellitus management. Frontiers in Endocrinology. 2017;8:6.

4. Kim Ja, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. Circulation. 2006;113(15):1888-904 .

5. Tan C, Dlugosz PJ, Peng J, Zhang Z, Lapolla SM, Plafker SM, et al. Auto-activation of the apoptosis protein Bax increases mitochondrial membrane permeability and is inhibited by Bcl-2. Journal of Biological Chemistry. 2006;281(21):14764-75.

6. Yang Z, Mo X, Gong Q, Pan Q, Yang X, Cai W, et al. Critical effect of VEGF in the process of endothelial cell apoptosis induced by high glucose. Apoptosis. 2008;13(11):1331-43.

7. Favaro E, Miceli I, Bussolati B, Schimitt-Ney M, Perin PC, Camussi G, et al. Hyperglycemia induces apoptosis of human pancreatic islet endothelial cells: effects of pravastatin on the Akt survival pathway. The American Journal of Pathology. 2008;173(2):442-50.

8. Jansson PA. Endothelial dysfunction in insulin resistance and type 2 diabetes. Journal of Internal Medicine. 2007;262(2):173-83.

9. Teo SY, Kanaley JA, Guelfi KJ, Cook SB, Hebert JJ, Forrest MR, et al. Exercise timing in type 2 diabetes mellitus: a systematic review. Medicine and Science in Sports and Exercise. 2018;50(12):2387-97.

10. Grace A, Chan E, Giallauria F, Graham PL, Smart NA. Clinical outcomes and glycaemic responses to different aerobic exercise training intensities in type II diabetes: a systematic review

and meta-analysis. Cardiovascular Diabetology. 2017;16(1):1-10.
11. Ners J. Effectiveness of physical exercise on the glycemic control of type 2 diabetes mellitus patients: a systematic review. Journal Ners. 2019;14(3).
12. Alizadeh AA, Rahmani-Nia F, Mohebbi H, Zakerkish M. Effects of eight weeks aerobic exercise on plasma levels of orexin a, leptin, glucose, insulin, and insulin resistance in males with type 2 diabetes. Iranian Journal of Diabetes and Obesity. 2015;7(2):62-8. (in Persian)
13. Strasser B, Pesta D. Resistance training for diabetes prevention and therapy: experimental findings and molecular mechanisms. BioMed Research International. 2013;3 (3): 19-28.
14. Johannsen NM, Swift DL, Lavie CJ, Earnest CP, Blair SN, Church TS. Combined aerobic and resistance training effects on glucose homeostasis, fitness, and other major health indices: a review of current guidelines. Sports Medicine. 2016;46(12):1809-18.
15. Solomon TP, Haus JM, Kelly KR, Rocco M, Kashyap SR, Kirwan JP. Improved pancreatic β-cell function in type 2 diabetic patients after lifestyle-induced weight loss is related to glucose-dependent insulinotropic polypeptide. Diabetes Care. 2010;33(7):1561-6.
16. 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. Archives of Physiology and Biochemistry. 2018:1-8.
17. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. European Journal of Preventive Cardiology. 2007;14(6):753-60.
18. Borges JP, Lessa MA. Mechanisms involved in exercise-induced cardioprotection: a systematic review. Arquivos brasileiros de cardiologia. 2015;105(1):71-81.
19. Lu K, Shen Y, He J, Liu G, Song W. Berberine inhibits cardiac fibrosis of diabetic rats. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology. 2016;32(10):1352-5.
20. Hasnan J, Yusoff M, Damitri T, Faridah A , Adenan A, Norbaini T. Relationship between apoptotic markers (Bax and Bcl-2) and biochemical markers in type 2 diabetes mellitus. Singapore Medical Journal. 2010;51(1):50.
21. Cheng SM, Ho TJ, Yang AL, Chen IJ, Kao CL, Wu FN, et al. Exercise training enhances cardiac IGFI-R/PI3K/Akt and Bcl-2 family associated pro-survival pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. International Journal of Cardiology. 2013;167(2):478-85.
22. He C, Bassik MC, Moresi V, Sun K, Wei Y, Zou Z, et al. Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. Nature. 2012;481(7382):511-5.
23. Pereira RO, Wende AR, Crum A, Hunter D, Olsen CD, Rawlings T, et al. Maintaining PGC-1α expression following pressure overload-induced cardiac hypertrophy preserves angiogenesis but not contractile or mitochondrial function. The FASEB Journal. 2014;28(8):3691-702.
24. Golbidi S, Badran M, Laher I. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. Experimental Diabetes Research. 2011;2012:1-16.
25. Lin PP, Hsieh YM, Kuo WW, Lin YM, Yeh YL, Lin CC, et al. Probiotic-fermented purple sweet potato yogurt activates compensatory IGF-IR/PI3K/Akt survival pathways and attenuates cardiac apoptosis in the hearts of spontaneously hypertensive rats. International Journal of Molecular Medicine. 2013;32(6):1319-28.
26. Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, et al. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2012;37(6):1239-46.
27. Caillaud C, Py G, Eydoux N, Legros P, Prefaut C, Mercier J. Antioxidants and mitochondrial respiration in lung, diaphragm, and locomotor muscles: effect of exercise. Free Radical Biology and Medicine. 1999;26(9-10):1292-9.
28. Holloway TM, Bloemberg D, Da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. PloS One. 2015;10(3).
29. Rostami A, Tadibi V, Behpoor N, Ahmadiasl N. Effects of 8 weeks of endurance and resistance training with garlic extract consumption on Bax protein gene expression and insulin resistance in rats with metabolic syndrome. Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport. 2018;6(12):21-34.
30. 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. The Journal of Physiological Sciences. 2015;65(5):435-43.

The effect of six weeks of endurance, resistance and combined training on changes in Bax and Bcl2 protein levels in the left ventricle of rats with type 2 diabetes

Received: 7 Sep 2021 Accepted: 15 Nov 2021

Parmida HajiKhani[1], Ali Asghar Ravasi*[2], Reza Noori [3]

1. PhD Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Kish International Campus, Kish, Iran 2. Full Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran 3. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Kish International Campus, Kish, Iran

Abstract

Introduction: Type 2 diabetes is considered as a predisposing factor for heart disease and has a major role in mortality due to cardiovascular diseases. The aim of this study was evaluating the effect of six weeks of endurance, resistance and combined training on changes in Bax and Bcl2 protein levels in the left ventricle of rats with type 2 diabetes.

Materials and Methods: 32 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups (N=7): control, endurance training, resistance training, and combination training, and trained for six weeks. Diabetes was induced in rats by single dose injection of streptozotocin and Bax and Bcl2 protein levels were measured from the left ventricular tissue of rats by ELISA. Insulin levels, glucose levels and insulin resistance index were measured. To determine the significance of the differences between the research groups, one-way ANOVA statistical test was used at a significance level of $p < 0.05$.

Results: The results showed that there was a significant difference between the values of Bax protein in the left ventricle of diabetic Wistar rats in the exercise and control groups ($p \leq 0.05$). But there is no significant difference between training groups. Moreover , there is no significant difference between Bcl2 levels in cardiac tissue apoptosis in diabetic Wistar rats in exercise and control groups. There was a significant difference between insulin, glucose and insulin resistance levels in the training groups compared to the control group ($p \leq 0.05$).

Conclusion: It seems that 6 weeks of endurance, resistance training and especially combined Training improved glycemic index and reduced Bax protein levels compared to the untrained group but did not change Bcl2 protein levels. Therefore, it is better to consider and compare other training models in relation to cardiac apoptosis in diabetic rats.

Keywords: Endurance training, Resistance training, Combined training, Bax, Bcl2, Type 2 diabetes

***Corresponding Author:** Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.

Email: aaravasi@ut.ac.ir **Tel:** +982188351730 **Fax:** +982188021527