



تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی بر سطح Drp1 در بافت قلب رت‌های چاق مبتلا به دیابت نوع ۲

عبدالعلی رخشانی زاده: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران
عبدالعلی بنائی فر: استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) alibanaeifar@yahoo.com
مسعود حاج رسولی: استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، تهران، ایران
سجاد ارشادی: استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

دیابت نوع ۲،
تمرین مقاومتی،
انسولین،
پروتئین مرتبط با داینامین-۱،
رت‌های صحرایی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۰۵/۲۲

زمینه و هدف: شکافت میتوکندری قلبی با مقاومت به انسولین در دیابت نوع دو نقش اساسی دارد. هدف از انجام تحقیق تجربی حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی بر سطح Drp1 در بافت قلب رت‌های چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.
روش کار: برای انجام این تحقیق ۱۴ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای از مرکز انستیتو پاستور ایران تهیه شده و به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تمرین مقاومتی تقسیم شدند. ابتدا رت‌ها هشت هفته رژیم غذایی پرچرب دریافت کرده و پس از رسیدن به وزن مطلوب با تزریق STZ (۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن) دیابتی شدند. پروتکل تمرین مقاومتی شامل ۵ جلسه، هر جلسه ۵ ست ۴ تکراری در هفته اول با ۳۰ درصد وزن بدن شروع شده و در هفته هشتم به ۱۰۰ درصد وزن بدن رسید. میزان بیان ژن Drp1 با استفاده از روش Real time – PCR اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t مستقل در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ استفاده شد.
یافته‌ها: نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی باعث کاهش سطح گلوکز خون در مقایسه با گروه دیابتی کنترل شد ($p < 0.001$). سطح انسولین خون رت‌های دیابتی تمرین‌کرده در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0.001$). بیان ژن Drp1 در گروه دیابتی تمرین‌کرده در مقایسه با گروه دیابتی کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.001$).
نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های تحقیق استفاده از تمرینات مقاومتی جهت کاهش عوارض چاقی و دیابت با مشورت پزشک به افراد دیابتی توصیه می‌شود.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Rakhshanizade A, Banaeifar A, Hajrasouli M, Arshadi S. The Effect of A Resistance Training Course on Drp1 Level in Heart Tissue of Obese Rats with Type 2 Diabetes. Razi J Med Sci. 2022;29(5):31-40.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.

The Effect of A Resistance Training Course on Drp1 Level in Heart Tissue of Obese Rats with Type 2 Diabetes

Abdolali Rakhshanizade: PhD Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran

Abdolali Banaeifar: Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran (* Corresponding author) alibanaeifar@yahoo.com

Masoud Hajrasouli: Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Islamic Azad University, Eslamshahr Branch, Tehran, Iran

Sajad Arshadi: Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Diabetes is the most common cause of renal diseases, new cases of blindness, and non-traumatic amputation. Prevalence of cardiovascular diseases among Type 2 diabetic patients is four times more than other individuals of a society (4). Diabetic cardiomyopathy is the deterioration of performance and morphology of myocardium which results from disturbances of glucose hemostasis in the diabetic condition and occurs independently from coronary disease. In the cell level, diabetic cardiomyopathy is characterized by hypertrophy of the heart cells, fibrosis, and apoptosis (5). Shortage of energy in the heart muscle is related to the commencement and development of different heart diseases including the conditions observed during insulin resistance and type-2 diabetes (6). In the condition of insulin resistance, the power of heart muscle declines to use glucose as the source of energy. This change in the preferred substrate has a vital role in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy (7). Mitochondria are highly congested in the heart and occupy 30 percent of heart cells, and produce over 90 percent of intracellular ATP which is consumed by heart (8). Therefore, many studies, nowadays, have focused on the mitochondrial function disorder as a causative factor for metabolic disorders and heart diseases which are connected with insulin resistance. Mitochondria are dynamic organelles which continuously change their morphology in response to intercellular conditions through fusion and fission, and a change in the balance of these processes affects different biological events including cell division, apoptosis, autophagy, and metabolism (9). Mitochondrial fission is mainly controlled by the protein which is connected to cytoplasmic dynamin GTPases 1 (Drp1) (10). To the best knowledge of the researchers of the present study, there are few studies which particularly show the direct relationship between cardiac mitochondria fission, insulin resistance and diabetes type 2. However, it is well known that the main contributor which triggers diabetic cardiomyopathy is the oxidative stress resulted from hyperglycemia (11). Makino et al. in a different but related model showed that mitochondria fragmentation in the cardiac endothelial cells which were obtained from the heart of diabetic rats resulted in an increase in the level of Drp 1 (15). Sports and exercises are prescribed as a part of therapeutic methods for heart disease patients since these activities decrease heart risk factors, protect myocardium and improve heart performance (18). Exercises are also suggested as a non-medicinal therapy for type 2 diabetic patients because they have numerous benefits including improvement of insulin sensitivity and weight loss (19-21). The present experimental study was designed aiming to investigate the effect of one course of resistance training on the fasting levels of blood glucose and insulin also Drp1

Keywords

Type 2 diabetes,
Resistance training,
Insulin,
Dynamin related protein
1,
Rats

Received: 11/06/2022

Published: 13/08/2022

in the cardiac tissue of type-2 diabetic obese rats.

Methods: In order to conduct the present study, initially 14 Wistar male rats with an average age of 10 weeks and average weight 220 ± 20 were obtained from Pasteur Institute of Iran. The rats were then randomly divided into two groups of control (7 rats) and resistance training (7 rats). To induce diabetes type 2, the rats were initially fed a high-fat diet. After the rats reached the required weight, they were made diabetic by intraperitoneal injection of STZ (25 ml / per kg of weight). Resistance training protocol: the rats in the resistance training group participated in an 8-week resistance training program (5 sessions a week) starting at the 18th week. Each session included 5 sets; and each set consisted of 4 repetitions of carrying a weight through the ladder with rest intervals of 2 minutes between sets and 30 seconds between repetitions. The applied exercise load was as follow:

First week: 30 percent of the body weight, Second week: 40 percent of the body weight, Third week: 50 percent of the body weight, Fourth week: 60 percent of the body weight, Fifth week: 70 percent of the body weight, Sixth week: 80 percent of the body weight, Seventh week: 90 percent of the body weight, Eighth week: 100 percent of the body weight (24).

All the animals were anesthetized by the intraperitoneal injection of mixture of Ketamine 10% with the dose of 50 mg per kg of weight and Xylazine 2% with the dose of 10 mg per kg of weight. The rats were anesthetized 48 hours after the last training session and in a nocturnal fasting status. After the anesthetization was fully done, the chest of the animal was incised using a scalpel and blood samples were directly collected from the heart of the animal. It should be mentioned that all steps of the present research were conducted based on the by-law of "Research Ethics Committee of Islamic Azad University" with the ethical code of IR.SSRC.REC.1398.043.

The Drp1 gene expression level was measured using Real time – PCR. The software of SPSS 16 was employed for data analysis. Kolmogorov- Smirnov test was used to examine the normality of data distribution. Independent T-test was employed to examine the difference between the groups. $p \leq 0.05$ was considered significant.

Results: The results of the present study showed that resistance training caused a reduction in the blood glucose level of the rats in the experimental group compared to the diabetic control group rats ($p \leq 0.001$). Blood insulin level in the trained diabetic rats was significantly higher compared to the rats in the control diabetic group ($p \leq 0.01$). Expression of the Drp 1 gene was significant lower in the experimental trained rats compared to the rats of the control diabetic group ($p \leq 0.001$). Generally, the results of the present study revealed that one course of resistance training can decrease blood glucose level by improving lowered insulin levels. Also, resistance training can lead to a balance in the biogenesis by negative regulation of mitochondrial over-fission.

Conclusion: According to the findings of the study, diabetic patients are recommended to take resistance training under the supervision of the physician to reduce obesity and diabetes complications.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Rakhshanizade A, Banacifar A, Hajrasouli M, Arshadi S. The Effect of A Resistance Training Course on Drp1 Level in Heart Tissue of Obese Rats with Type 2 Diabetes. Razi J Med Sci. 2022;29(5):31-40.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

دیابت یکی از رایج‌ترین بیماری‌های مزمن در سرتاسر جهان به شمار می‌رود که به احتمال زیاد از طریق کاهش فعالیت جسمانی و افزایش چاقی در افراد ایجاد می‌شود (۱). بر اساس گزارشات صورت گرفته در ایران حدود ۷/۷ درصد از جمعیت ۲۵ الی ۶۴ ساله یعنی دو میلیون نفر به دیابت و ۱۶/۸ درصد به اختلال تحمل گلوکز مبتلا هستند (۲). دیابت نوع ۲ از جمله بیماری‌های متابولیکی است که با کمبود نسبی یا مطلق انسولین، افزایش گلوکز خون و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است (۳). بیماری دیابت، شایع‌ترین علت بیماری‌های کلیوی، موارد جدید نایبایی و قطع اندام غیرترومایی است. شیوع بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماران دیابتی نوع ۲، چهار برابر سایر افراد جامعه است (۴).

کاردیومیوپاتی دیابتی زوال عملکرد و مورفولوژی میوکارد است که به وسیله اختلال در هموستاز گلوکز ایجاد شده در شرایط دیابت و به طور مستقل از بیماری کرونری رخ می‌دهد. در سطح سلولی، کاردیومیوپاتی دیابتی با هایپرتروفی سلول‌های عضله قلبی، فیبروز و آپوپتوز مشخص می‌شود (۵). کمبود انرژی در عضله قلب با شروع و پیشرفت بیماری‌های مختلف قلبی، از جمله بیماری‌هایی که در طول مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ مشاهده می‌شوند، ارتباط دارد (۶). در شرایط مقاومت به انسولین، توانایی عضله قلب برای استفاده از گلوکز به عنوان منبع انرژی کاهش می‌یابد. این تغییر در سوبسترای ترجیحی نقش‌های حیاتی در بیماری‌زایی کاردیومیوپاتی دیابتی ایفا می‌کند (۷). در قلب، میتوکندری‌ها تراکم بالایی دارند و ۳۰ درصد حجم سلول‌های قلبی را اشغال کرده و بیش از ۹۰ درصد ATP داخل سلولی مصرف شده توسط قلب را تولید می‌کنند (۸). از این رو، در حال حاضر بسیاری از مطالعات بر اختلال عملکرد میتوکندریایی به عنوان یک عامل سببی در اختلالات متابولیکی و بیماری‌های قلبی مرتبط با مقاومت به انسولین متمرکز شده‌اند.

میتوکندری‌ها اندام‌های پویایی هستند که به طور مداوم مورفولوژی خود را از طریق رخدادهای همجوشی و شکافت در پاسخ به شرایط درون سلولی تغییر می‌دهند و تغییر در تعادل این فرآیندها در وقایع مختلف

بیولوژیکی مانند تقسیم سلولی، آپوپتوز، اتوفازی و متابولیسم دخیل است (۹). شکافت میتوکندریایی به طور عمده به وسیله پروتئین مرتبط با داینامین GTP از سیتوپلاسمی ۱ (Drp1) کنترل می‌شود (۱۰). مطالعاتی که به طور ویژه ارتباط مستقیم میان شکافت میتوکندری قلبی و مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ را نشان داده‌اند، محدود است. با این حال، مشخص شده است که عامل اصلی کمک‌کننده به شروع کاردیومیوپاتی دیابتی، استرس اکسیداتیو ناشی از هیپرگلیسمی است (۱۱). در این زمینه، اطلاعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که هیپرگلیسمی باعث رت نوزاد (سلول‌های H9c2) می‌شود (۱۲). علاوه بر این، در مدلی مشابه، یو و همکاران نیز نشان دادند که هیپرگلیسمی پایدار باعث افزایش شکافت میتوکندریایی همراه با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) میتوکندریایی می‌شود که به نوبه خود منجر به فعال شدن مسیر پیش‌آپوپتوزی می‌شود. این مطالعه نشان داد که می‌توان از طریق انتقال سلولی شکلی از Drp1 به نام DrpK38A از این تغییرات پاتولوژیک جلوگیری کرد؛ این امر نشان می‌دهد که قطعه قطعه شدن میتوکندریایی و اختلال در تنظیم هیپرگلیسمی وابسته به Drp1 است (۱۳). به همین ترتیب، اخیراً نشان داده شده است که Drp1 و ROS به صورت سینرژیک برای افزایش اختلال عملکرد میتوکندری و مهار انتقال پیام انسولینی در سلول‌های H9c2 عمل می‌کنند (۱۴). هنگامی که این سلول‌ها با TMPyP درمان شوند که ویژگی‌های سوپراکسید دیسموتاز را دارد، این اثر می‌تواند تا حدودی تعدیل شود (۱۴). در یک مدل متفاوت اما مرتبط، ماکینو و همکاران نشان دادند که قطعه قطعه شدن میتوکندریایی در سلول‌های اندوتلیال قلبی که از قلب موش‌های دیابتی حاصل شده بود، با افزایش سطح Drp1 همراه بود (۱۵). گزارش شده است که پیش‌درمان سلول‌های عضله قلب رت‌های بالغ با Mdivi-1 (مهارکننده دارویی Drp1) مرگ و میر سلولی را کاهش داده و قلب را از آسیب ایسکمی/پرفیوژ مجدد محافظت می‌کند (۱۶). همچنین انتقال ژنتیکی Drp1K38A به سلول‌های عضله قلب رت‌های نوزاد برای مهار شکافت نیز محافظت‌کننده است (۱۷).

یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه‌گیری و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد. سپس، حیوانات به طور تصادفی به دو گروه کنترل (۷ سر رت) و تمرین مقاومتی (۷ سر رت) تقسیم شدند. در مدت انجام پژوهش رت‌ها در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و در محیطی با دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت 5 ± 5 درصد نگهداری شدند، به طوری که آزادانه به آب و غذا دسترسی داشته باشند.

به دنبال القای چاقی و دیابت، رت‌های گروه تمرین از هفته هیجدهم در یک دوره تمرینات مقاومتی به مدت ۸ هفته (۵ جلسه در هفته) شرکت کردند. هر جلسه تمرینی شامل ۵ ست ۴ تکراری حمل وزنه در نردبان با فواصل استراحتی بین ست‌ها ۲ دقیقه و فواصل استراحتی بین تکرارها در هر ست ۳۰ ثانیه بود. بار تمرینی اعمال شده به شرح ذیل بود:

هفته اول: ۳۰ درصد وزن بدن، هفته دوم: ۴۰ درصد وزن بدن، هفته سوم: ۵۰ درصد وزن بدن، هفته چهارم: ۶۰ درصد وزن بدن، هفته پنجم: ۷۰ درصد وزن بدن، هفته ششم: ۸۰ درصد وزن بدن، هفته هفتم: ۹۰ درصد وزن بدن، هفته هشتم: ۱۰۰ درصد وزن بدن (۲۴).

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و در حالت ناشتایی شبانه، همه حیوانات از طریق تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۲ درصد با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی، قفسه سینه حیوان توسط تیغ جراحی شکافته و نمونه‌های خون به طور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. سپس، عضله قلب حیوان استخراج و بطن چپ از بقیه بافت قلب جدا شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNA later™ با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردید و جهت اندازه‌گیری بیان ژن Drp1 به آزمایشگاه انتقال داده شد. لازم به توضیح است که تمامی مراحل پژوهش بر اساس آیین‌نامه کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی با شماره IR.SSRC.REC.1398.043 انجام شد. نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریفیوژ با $1000 \times g$ به

بنابراین، به نظر می‌رسد که کاهش سطح Drp1 در عضله قلب از موضوعات مهم تحقیقاتی به شمار می‌رود. از آنجایی که فعالیت جسمانی و ورزش عوامل خطررزی قلبی را کاهش داده و از آسیب به میوکار محافظت می‌کند و همچنین، عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد، به عنوان بخشی از روش‌های درمانی برای بیماران مبتلا به بیماری‌های قلبی تجویز می‌شود (۱۸). همچنین، فعالیت‌های ورزشی به عنوان بخشی از درمان غیردارویی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ توصیه می‌شود، چرا که شمار زیادی از سودمندی‌ها از جمله بهبود حساسیت به انسولین و کاهش وزن بدن را موجب می‌شود (۲۱-۱۹). در این زمینه، ورنکی و همکاران گزارش کردند که تمرین ورزشی تردمیل می‌تواند سطح Drp1 در قلب موش‌های چاق دیابتی را کاهش دهد (۲۲). از طرفی، نشان داده شده است که تمرینات مقاومتی می‌توانند حساسیت انسولین و مصرف روزانه انرژی را افزایش داده و کیفیت زندگی را بهبود بخشد (۲۳). با این حال، تاکنون مطالعه‌ای تأثیر تمرینات مقاومتی بر این پروتئین بررسی نکرده است. بنابراین، با توجه به سودمندی‌های فراوان ورزش در شرایط دیابت و اختلالات قلبی، در این مطالعه قصد داریم تا تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر سطوح گلوکز و انسولین ناشتا و همچنین، بیان mRNA ژن Drp1 در بافت قلب رت‌های چاق دیابتی نوع ۲ را بررسی نماییم.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به روش آزمایشگاهی اجرا شده است. ۱۴ سر رت نر بالغ ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزنی 20 ± 220 گرم تهیه شده از انستیتو پاستور ایران آزمودنی‌های این مطالعه را تشکیل می‌دادند. رت‌ها به دنبال یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری، القای دیابت نوع ۲ را تجربه کردند. برای القای دیابت نوع ۲، از رژیم غذایی پرچرب برای مدت ۸ هفته و سپس، تزریق محلول تازه تهیه شده STZ به صورت داخل صفاقی با دوز ۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم استفاده شد. جهت تهیه غذای پرچرب به غذای استاندارد موش‌های صحرایی که از شرکت خوراک پارس‌دام خریداری شده بود، میزان ۱٪ پودر کلسترول و ۱٪ روغن ذرت ۱۰۰٪ خالص اضافه گردید.

جدول ۲- الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
Drp1	For: AGCAACTACAGCACACAGGAAC Rev: CCACAGGCATCAGCAAAGTC	159 bp	60	NM_001191052.1
RNA PolymraseII	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	164 bp	60	XM 008759265.1

گردید. CT های مربوط به واکنش‌ها توسط نرم افزار دستگاه Real time-PCR استخراج و ثبت گردید. جهت کمی سازی بیان mRNA، از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از SPSS16 استفاده گردید. به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بکار گرفته شد. برای بررسی تفاوت بین گروهی از آزمون t مستقل استفاده شد. سطح معنی داری برابر با $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

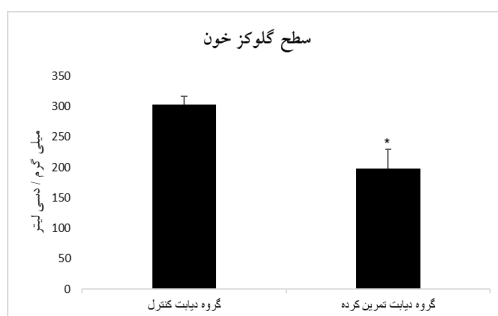
یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمون t مستقل نشان داد که سطح گلوکز خون حیوانات دیابتی تمرین کرده به طور معنی داری کمتر از گروه دیابت کنترل بود ($p \leq 0.001$)، $t = 8/129$ ، $t = 31/5 \pm 197/57$ در برابر $13/8 \pm 303/29$ (شکل ۱). همچنین، سطح انسولین خون رت‌های دیابتی تمرین کرده در مقایسه با حیوانات دیابتی گروه کنترل به طور معنی داری بیشتر بود ($p \leq 0.01$)، $t = 3/056$ ، $t = 6/6 \pm 0/14$ در برابر $5/9 \pm 0/4$ (شکل ۲).

نتایج آزمون t مستقل در مورد بررسی عامل مرتبط با شکافت میتوکندریایی در بافت بطن چپ رت‌ها نشان داد که بیان ژن Drp1 در حیوانات دیابتی تمرین کرده

مدت ۲ دقیقه برای جداسازی سرم قرار گرفتند و جهت اندازه‌گیری گلوکز و انسولین سرم در دمای منفی ۸۰ درجه نگهداری شدند. غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ‌سنجی با فن‌آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون گلوکز به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. اندازه‌گیری انسولین با روش الایزا صورت پذیرفت.

RNA توسط کیت Rneasy protect mini kit (QIAGEN) از بطن چپ مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. به طوری که ۲۰ میلی‌گرم از بافت را با استفاده از اسکالپر خرد نموده و وارد میکروتیوپ کرده و سپس RNA با استفاده از کیت RNeasy Protect مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده آلمانی استخراج شد. پس از استخراج RNA، برای اطمینان از کافی بودن غلظت RNA در تهیه eDNA، OD آن توسط دستگاه نانودراپ چک شد. تعیین Drp1 mRNA توسط Real time-PCR به وسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا مطابق با دستورالعمل شرکت انجام شد. آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده که توسط شرکت پیشگام ایران طراحی شده بود، در جدول ۱ آورده شده است. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه روتورژن در Real time-PCR شامل: 42° به مدت ۲۰ دقیقه، 95° به مدت ۲ دقیقه و 40° سیکل با 94° به مدت ۱۰ ثانیه و 60° به مدت ۴۰ ثانیه بود. پس از مرحله PCR، جهت مطالعه ویژگی پرایمرها، از دماهای 50° تا 99° برای تهیه منحنی ذوب استفاده شد. از RNA PolymraseII به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان ژن‌های مورد مطالعه استفاده

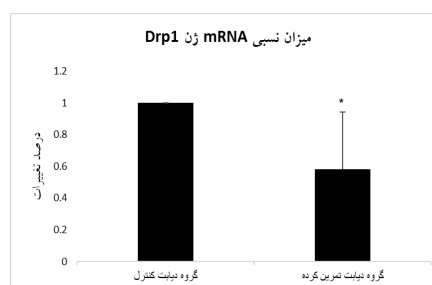


* اختلاف آماری معنی‌دار با گروه دیابت کنترل ($p \leq 0.001$)
شکل ۱- سطح گلوکز خون دو گروه در پس آزمون

گلیکوژن در سلول‌های عضلانی می‌شوند و از این طریق سطح گلوکز خون را در حد طبیعی حفظ می‌کنند (۲۷). تمرین مقاومتی هموستاز گلوکز را از طریق تنظیم مثبت پیام‌رسانی انسولین و فعالیت آنزیم هگزوکیناز II، افزایش فعالیت آنزیم گلیکوژن سنتاز و افزایش ذخیره‌سازی گلیکوژن، و همچنین انتقال‌دهنده گلوکز نوع-۴ (GLUT-4) بهبود می‌بخشد (۲۸). بعلاوه، با توجه به مبانی نظری، فعالیت توده عضلانی بزرگ‌تر، افزایش جذب گلوکز بیشتری را موجب می‌شود. در خلال انجام تمرینات مقاومتی به دلیل به کارگیری توده عضلانی بیشتر، نیازمندی‌های انرژی افزایش می‌یابد. تمرینات مقاومتی و افزایش حجم توده عضله اسکلتی که به دنبال آن رخ می‌دهد، ممکن است موجب افزایش پاسخ نسبت به گلوکز خون شود. از سوی دیگر، تمرینات مقاومتی باعث افزایش فعالیت دستگاه عصبی سمپاتیک (اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین) و هورمون رشد می‌شود که هر کدام از این هورمون‌ها به نوبه خود لیپولیز را فعال ساخته و منجر به کاهش توده چربی بدن می‌شوند (۲۹). مقاومت به انسولین شدید یا طولانی مدت در افراد دیابتی با کاهش تکثیر سلول‌های بتای پانکراس و اختلال عملکرد این سلول‌ها همراه است؛ از این رو، سطوح و عملکرد سلول‌های بتا در پاسخ به مقاومت انسولین طولانی مدت حفظ نمی‌شود که در نهایت منجر به کاهش ترشح انسولین و افزایش غلظت گلوکز خون در این افراد می‌شود (۳۰). در مطالعه حاضر، ۸ هفته تمرین مقاومتی با افزایش سطح انسولین ناشتای خون در مقایسه با حیوانات دیابتی بدون تمرین شد. این یافته با گزارشات دانستن و همکاران همسو می‌باشد (۳۱). فعالیت ورزشی به عنوان یک عامل افزایش حساسیت به انسولین موجب بهبود عملکرد انسولین در شرایط مقاومت به انسولین می‌شود؛ اگرچه سازوکارهای اثر ورزش بر توده و عملکرد سلول‌های بتا و ترشح انسولین در شرایط دیابت به طور کامل تبیین نشده است، اما بر اساس نتایج مطالعات پیشین در زمینه دیابت نوع دو می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که تمرینات مقاومتی، نه تنها از طریق کاهش مقاومت به انسولین، بلکه با افزایش توده و عملکرد سلول‌های بتا، هموستاز گلوکز را بهبود می‌بخشد. در تأیید این بیان نشان داده شده است که تمرینات ورزشی، توده



* اختلاف آماری معنی‌دار با گروه دیابت کنترل ($p \leq 0.001$)
شکل ۲- سطح انسولین خون دو گروه در پس آزمون.



* اختلاف آماری معنی‌دار با گروه دیابت کنترل ($p \leq 0.001$)
شکل ۳- میزان نسبی mRNA ژن Drp1 در بافت بطن چپ دو گروه در پس آزمون

در مقایسه با گروه دیابتی کنترل کاهش معنی‌داری یافته است ($p \leq 0.001$, $t = -4/365$) (شکل ۳).

بحث

هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی بر سطوح گلوکز و انسولین خون ناشتا و همچنین، Drp1 در بافت قلب رت‌های چاق دیابتی نوع ۲ می‌باشد. نتایج حاصله حاکی از آن است که سطح گلوکز خون ناشتا به دنبال هشت هفته تمرین مقاومتی در رت‌های دیابتی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. کازا و همکاران نشان دادند که سطح گلوکز ناشتا به دنبال یک دوره تمرین مقاومتی در افراد بین ۵۰ الی ۷۰ سال مبتلا به دیابت نوع ۲ کاهش می‌یابد (۲۵). میر و همکاران نیز کاهش سطوح گلوکز را به دنبال یک دوره تمرین ترکیبی (استقامتی + مقاومتی) گزارش کردند (۲۶). سازوکارهایی که از طریق آن تمرین مقاومتی ممکن است موجب کاهش گلوکز خون شود، می‌تواند به این دلیل باشد که این تمرینات آثار شبه-انسولینی در بدن ایفا کرده و موجب افزایش ذخایر

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که یک دوره تمرین مقاومتی می‌تواند با بهبود سطوح کاهش یافته انسولین، سطح گلوکز خون را پایین بیاورد. همچنین، تمرین مقاومتی می‌تواند از طریق تنظیم منفی شکافت میتوکندریایی بیش از حد منجر به تعادل در بیوژنز گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری است که با تایید کمیته اخلاق با شماره IR.SSRC.REC.1398.043 در پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تأیید و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب اجرا گردید. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Novoa U, Arauna D, Moran M, Nuñez M, Zagmutt S, Saldivia S, et al. High-intensity exercise reduces cardiac fibrosis and hypertrophy but does not restore the nitroso-redox imbalance in diabetic cardiomyopathy. *Oxid Med Cell Longy*. 2017;2017.
2. Esteghamati A, Gouya MM, Abbasi M, Delavari A, Alikhani S, Alaedini F, et al. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in the adult population of Iran: National Survey of Risk Factors for Non-Communicable Diseases of Iran. *Diabetes Care*. 2008;31(1):96-8.
3. Akbar S, Bellary S, Griffiths HR. Dietary antioxidant interventions in type 2 diabetes patients: a meta-analysis. *Br J Diabetes Vasc Dis*. 2011;11(2):62-8.
4. Nabipour I, Vahdat K, JAFARI SM, Beigi S, Assadi M, Azizi F, et al. Elevated high sensitivity C-reactive protein is associated with type 2 diabetes mellitus: the Persian Gulf Healthy Heart Study. *Endocrine J*. 2008;0804240105.-
5. Huynh K, Bernardo BC, McMullen JR, Ritchie RH. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacol Ther*. 2014;142(3):375-415.
6. Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jansal JS, Stanley WC. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol Rev*. 2010;90(1):207-58.
7. Battiprolu PK, Hojaye B, Jiang N, Wang ZV, Luo X, Iglewski M, et al. Metabolic stress-induced

سلول‌های بتا را از طریق فرایند هایپرپلازی و کاهش مرگ سلولی افزایش می‌بخشد (۳۲).

از آنجایی که میتوکندری‌ها نیروگاه‌های انرژی سلول هستند و می‌توانند ویژگی‌های انقباضی سلول‌های عضلانی را تحت تاثیر قرار دهند، علاقه زیادی به مطالعه تنظیم‌کننده‌های بیوژنز میتوکندری وجود دارد. نشان داده شده است که چاقی مرتبط با شرایط دیابتی، بیوژنز میتوکندریایی را از طریق افزایش بیش از حد شکافت مختل می‌سازد و ممکن است به نقص انقباضی مشاهده شده در سلول‌های عضله قلب کمک کند (۲۲). از آنجایی که استرس اکسیداتیو ناشی از هیپرگلیسمی عامل اصلی کمک‌کننده به شروع کاردیومیوپاتی دیابتی به شمار می‌رود (۱۱) و این حالت با افزایش شکافت میتوکندریایی همراه است (۱۳، ۱۵). کنترل سطح Drp1 برای کاهش شکافت میتوکندریایی از موضوعات مهم مطالعاتی در زمینه کاردیومیوپاتی دیابتی به شمار می‌رود. به طور جالب، برنامه تمرین مقاومتی ما توانسته است سطح Drp1 را در بافت قلب در مقایسه با رت‌های دیابتی کنترل به طور قابل توجهی کاهش دهد. ورنکی و همکاران گزارش کردند که تمرین ورزشی تردمیل با کاهش سطح Drp1، از کاهش نسبت Mfn2/Drp1 در قلب موش‌های چاق دیابتی جلوگیری می‌کند (۲۲). با این حال، مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای می‌باشد که کاهش سطح Drp1 در عضله قلب را به دنبال یک دوره تمرین مقاومتی گزارش می‌کند. بهبود بیوژنز میتوکندریایی از طریق افزایش مسیرهای پیام‌رسانی Akt و PGC-1 α بعد از ورزش گزارش شده است و ممکن است به طور بالقوه به افزایش تراکم میتوکندری و سطح ATP پس از ورزش کمک نماید (۳۳). تمرین مقاومتی از نقاط قوت تحقیق حاضر بود؛ چراکه این نوع تمرین با وجود محدودیت‌های اجرایی، پاسخ‌ها و سازگاری‌های متفاوتی نسبت به برنامه‌های تمرینی دیگر می‌تواند به همراه داشته باشد. از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان عدم اندازه استرس اکسیداتیو بافت قلب رت‌های چاق دیابتی نوع ۲ در پاسخ به سازگاری تمرین اشاره کرد. بنابراین توصیه می‌شود پروتکل‌های تمرینی مختلف با تعیین شرایط اکسایشی میتوکندری مورد بررسی قرار گیرد.

activation of FoxO1 triggers diabetic cardiomyopathy in mice. *J Clin Invest*. 2012;122(3):1109-18.

8. Piquereau J, Caffin F, Novotova M, Lemaire C, Veksler V, Garnier A, et al. Mitochondrial dynamics in the adult cardiomyocytes: which roles for a highly specialized cell? *Front Physiol*. 2013;4:102.

9. Ong SB, Hall AR, Hausenloy DJ. Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(4):400-14.

10. Twig G, Elorza A, Molina AJ, Mohamed H, Wikstrom JD, Walzer G, et al. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *EMBO J*. 2008;27(2):433-46.

11. Kobayashi S, Liang Q. Autophagy and mitophagy in diabetic cardiomyopathy. *Biochim Biophys Acta - Mol Bas Dis*. 2015;1852(2):252-61.

12. Yu T, Robotham JL, Yoon Y. Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology. *Proceed Natl Acad Sci*. 2006;103(8):2653-8.

13. Yu T, Sheu S-S, Robotham JL, Yoon Y. Mitochondrial fission mediates high glucose-induced cell death through elevated production of reactive oxygen species. *Cardiovasc Res*. 2008;79(2):341-51.

14. Watanabe T, Saotome M, Nobuhara M, Sakamoto A, Urushida T, Katoh H, et al. Roles of mitochondrial fragmentation and reactive oxygen species in mitochondrial dysfunction and myocardial insulin resistance. *Experim Cell Res*. 2014;323(2):314-25.

15. Makino A, Scott B, Dillmann W. Mitochondrial fragmentation and superoxide anion production in coronary endothelial cells from a mouse model of type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2010;53(8):1783-94.

16. Ong S-B, Subrayan S, Lim SY, Yellon DM, Davidson SM, Hausenloy DJ. Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia / reperfusion injury. *Circulation*. 2010;121(18):2012.

17. Zepeda R, Kuzmiec J, Parra V, Troncoso R, Pennanen C, Riquelme JA, et al. Drp1 loss-of-function reduces cardiomyocyte oxygen dependence protecting the heart from ischemia-reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2014;63(6):477-87.

18. Gielen S, Laughlin MH, O'Conner C, Duncker DJ. Exercise training in patients with heart disease: review of beneficial effects and clinical recommendations. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015;57(4):347-55.

19. Gregory JM, Muldowney JA, Engelhardt BG, Tyree R, Marks-Shulman P, Silver HJ, et al. Aerobic exercise training improves hepatic and muscle insulin sensitivity, but reduces splanchnic glucose uptake in obese humans with type 2 diabetes. *Nutr Diabetes*. 2019;9(1):25.

20. Yang D, Yang Y, Li Y, Han R. Physical

Exercise as Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus: From Mechanism to Orientation. *Ann Nutr Metab*. 2019;74(4):313-321.

21. Chiang SL, Heitkemper MM, Hung YJ, Tzeng WC, Lee MS, Lin CH. Effects of a 12-week moderate-intensity exercise training on blood glucose response in patients with type 2 diabetes: A prospective longitudinal study. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(36): e16860.

22. Veeranki S, Givvimani S, Kundu S, Metreveli N, Pushpakumar S, Tyagi SC. Moderate intensity exercise prevents diabetic cardiomyopathy associated contractile dysfunction through restoration of mitochondrial function and connexin 43 levels in db/db mice. *J Mol Cell Cardiol*. 2016;92:163-73.

23. Liu Y, Ye W, Chen Q, Zhang Y, Kuo CH, Korivi M. Resistance Exercise Intensity is Correlated with Attenuation of HbA1c and Insulin in Patients with Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(1). 140.

24. Molanouri Shamsi M, Hassan ZM, Mahdavi M, Gharakhanlou R, Azadmanesh K, Baghersad L, et al. Influence of Resistance Training on IL-15 mRNA Expression and the Protein Content in Slow and Fast Twitch Muscles of Diabetic Rats. *Iran J Endocrinol Metab*. 2012;14(2):185-92.

25. Cauza E, Hanusch-Enserer U, Strasser B, Kostner K, Dunky A, Haber P. The metabolic effects of long term exercise in type 2 diabetes patients. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2006;156(17-18):515.

26. Mir E, Attarzadeh Hosseini SR, Hejazi K, Mir Sayeedi M. Effect of eight weeks of endurance and resistance training on serum adiponectin and insulin resistance index of inactive elderly men. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences. J Gorgan Univ Med Sci* 2016, 18(1): 69-77.

27. Saiiari A, Moslehi M. Interactive effects of sulfonylurea drugs, aerobic and strength training on Glycemic control in type II diabetes. *Proced Soc Behav Sci*. 2011;15:1792-7.

28. Maiorana A, O'Driscoll G, Goodman C, Taylor R, Green D. Combined aerobic and resistance exercise improves glycemic control and fitness in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2002;56(2):115-23.

29. Arazi H, Jorbonian A, Asghari E. Comparison of the effects of combined training (resistance-aerobic) and aerobic on maximal oxygen uptake, lipid profile, blood sugar and blood pressure in middle-aged men with cardiovascular risk factors. *JSSU*. 2013;20(5):627-638

30. Weir GC, Bonner-Weir S. Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes*. 2004;53(3): 16-21.

31. Dunstan DW, Daly RM, Owen N, Jolley D, De Courten M, Shaw J, et al. High-intensity resistance

training improves glycemic control in older patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2002;25(10):1729-36.

32. Park S, Hong SM, Lee JE, Sung SR. Exercise improves glucose homeostasis that has been impaired by a high-fat diet by potentiating pancreatic β -cell function and mass through IRS2 in diabetic rats. *J Appl Physiol*. 2007;103(5):1764-71.

33. Wang H, Bei Y, Lu Y, Sun W, Liu Q, Wang Y, et al. Exercise prevents cardiac injury and improves mitochondrial biogenesis in advanced diabetic cardiomyopathy with PGC-1 α and Akt activation. *Cell Physiol Biochem*. 2015;35(6):2159-68.