

## The effect of aerobic training and resveratrol on some regulatory and executive factors of cardiomyocytes apoptosis in STZ-diabetic male rats

Ali Mehri<sup>1</sup>, Sedigheh Hosseinpour Delaware<sup>2</sup>, Masoume Azizi<sup>3</sup>, Mohammad Ali Azarbaijani<sup>4</sup>, Parvin Farzangi<sup>5</sup>

<sup>1</sup> PhD Candidate of Sport Physiology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Kermanshah Branch Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran

<sup>4</sup> Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Tehran Branch, Tehran, Iran

<sup>5</sup> Associate Professor, Department of Physiology, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran

### Abstract

**Background:** The present study was conducted to investigate the effect of aerobic training with resveratrol supplementation on regulatory and executive factors of cardiomyocytes apoptosis in streptozotocin diabetic male rats.

**Materials and methods:** In an experimental study, 50 male rats were randomly divided into 5 groups of 10 healthy controls, diabetics, resveratrol supplements, aerobic training and complementary resveratrol + aerobic training. Diabetes was induced by single injection of streptozotocin (50 ml/kg). Training was done 5 days per week for 8 weeks. They did exercise on the treadmill at 15m/min, 5 min and gradient of 15%. At the end of the course, all animals were completely and similarly treated and 48 hours after the last training session, anesthetized and sacrificed. After cardiac out and homogenization, the concentration of BAX, Bcl-2 and Caspase3 was measured individually.

**Results:** After induction of diabetes, the concentration of BAX and Caspase-3 significantly increased compared with healthy controls, while BCL-2 concentration decreased significantly. However, only exercise interaction and resveratrol had significant effect on BAX concentration and had no significant effect on Caspase-3 levels. Each exercise and resveratrol separately increased BCL-2 concentration, but their interactive effect was not significant.

**Conclusion:** Aerobic exercise and resveratrol have a beneficial effect on cardiac apoptosis in inducing diabetes, but their interaction is not significant in the process of cardiac apoptosis. Of course, aerobic exercise and resveratrol could be used as complementary therapies for myocardial protection against invasive apoptosis induced by diabetes.

**Keywords:** Diabetes mellitus, Resveratrol, Aerobic exercise, BAX, Bcl-2, Caspase3.

**Cited as:** Mehri A, Hosseinpour Delaware S, Azizi M, Azarbaijani MA, Farzangi P. The effect of aerobic training and resveratrol on some regulatory and executive factors of cardiomyocytes apoptosis in STZ-diabetic male rats. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2020; 30(1): 59-66.

**Correspondence to:** Sedigheh Hosseinpour Delaware

**Tel:** +98 9188335826

**E-mail:** delavar2009@iauksh.ac.ir

**ORCID ID:** 0000-0002-8589-1337

**Received:** 13 Jan 2019; **Accepted:** 2 Jul 2019

## اثر تمرین هوازی و رزوراترول بر برخی از فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز کاردیومیوسیتی در رت‌های نر دیابتی شده با STZ

علی مهری<sup>۱</sup>، صدیقه حسین پور دلاور<sup>۲</sup>، معصومه عزیزی<sup>۳</sup>، محمد علی آذربایجانی<sup>۴</sup>، پروین فرزانی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران

<sup>۴</sup> استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۵</sup> دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** هدف مطالعه حاضر اثر تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل رزوراترول بر فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز کاردیومیوسیتی در رت‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوسین بود.

**روش بررسی:** در این کارآزمایی تجربی، ۵۰ موش صحرایی نر به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی کنترل سالم، دیابتی، مکمل رزوراترول، تمرین هوازی و مکمل رزوراترول+تمرین هوازی تقسیم شدند. دیابت با تزریق تک دوز ۵۰ ml/kg استرپتوزوتوسین القا شد. برنامه گروه‌های تمرین، تمرین و مکمل به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته تمرین روی تردمیل با سرعت ۱۵m/min، زمان ۵ دقیقه و شیب ۱۵٪ شروع شد. پس از پایان دوره، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲-۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی بیهوش و قربانی شدند. پس از خروج قلب و هموژنایز کردن آن، غلظت BAX، Bcl-2 و CASPASE3 با روش الایزا سنجش شد.

**یافته‌ها:** پس از القای دیابت، غلظت BAX و Caspase-3 قلبی به طور معنی‌داری نسبت به کنترل سالم افزایش معنی‌داری یافت. درحالی‌که غلظت BCL-2 در این شرایط کاهش معنی‌داری یافت. تمرین و رزوراترول هر یک به تنهایی توانستند از افزایش BAX و CASPASE3 قلبی ناشی از دیابت به صورت معنی‌داری بکاهند. اما تنها تعامل تمرین و رزوراترول بر غلظت BAX معنی‌دار بود و اثر معنی‌داری بر میزان Caspase-3 نداشت. تمرین و رزوراترول به طور جداگانه توانستند موجب افزایش غلظت BCL-2 شوند، ولی اثر تعاملی آنها معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی و رزوراترول اثر سودمندی بر آپوپتوز قلبی در القای دیابت دارند، اما تعامل این دو بر روند آپوپتوز قلبی معنی‌دار نیست. می‌توان از تمرین هوازی و رزوراترول به عنوان طب مکمل برای حفاظت میوکارد در برابر آپوپتوز ناپذای ناشی از دیابت القا شده استفاده کرد.

**واژگان کلیدی:** دیابت، تمرین هوازی، رزوراترول، BAX، Bcl-2، CASPASE3.

### مقدمه

بیماری رو به افزایش است، به طوری که تعداد مبتلایان از ۱۷۱ میلیون نفر در سال ۲۰۰۰ به بیش از ۳۶۶ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ خواهد رسید (۱). اختلال عملکرد سلول‌های بتای لانگرهانس و مقاومت به انسولین نقش مهمی در ایجاد این بیماری دارد (۲). شیوع بیماری‌های قلبی - عروقی در افراد دیابتی ۲ تا ۴ برابر افراد سالم است (۳).

دیابت به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن و از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان شناخته شده است. شیوع این

آدرس نویسنده مسئول: کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه گروه فیزیولوژی ورزشی، صدیقه

حسین پور دلاور (email: delavar2009@iauksh.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0002-8589-1337

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۱۰/۲۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۴/۱۱

رادیكال‌های آزاد در کنار مقادیر افزایش یافته گلوکز و لیپوپروتئین‌های موجود در خون باعث تشدید روند پراکسیداسیون یا گلیکوزیلاسیون می‌شوند. این روند سبب پیشرفت آترواسکلروز به عنوان یکی از عوارض مهلك دیابت می‌شود (۴). استرس اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیكال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود که ممکن است نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی مقاومت انسولین داشته باشد (۵). شواهدی وجود دارد که گونه‌های فعال اکسیژن و نیترژن می‌توانند موجب فعال شدن نابجای روند آپوپتوز شوند (۶). از طرف دیگر ارتباط گلوکز بالای سرم، گونه‌های فعالی اکسیژن و شاخص‌های آپوپتوزی نیز نشان می‌دهد که بسیاری از آسیب‌های ناشی از دیابت از طریق توسعه آپوپتوز و فشار اکسیداتیو ایجاد می‌شود (۷). با این حال، ورزش و فعالیت منظم می‌تواند منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شود (۸). در مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده شده که نقش حفاظتی ورزش و فعالیت فیزیکی منظم با توجه به اثرات ایسکمی / ریپرفیوژن که منجر به تغییرات مناسب پریکاندیشنینگ تمرینی قلبی می‌شود، خود نیز باعث بهبود عملکرد قلب می‌شود (۹). همچنین تمرینات منظم هوازی عملکرد میتوکندریایی را با کاهش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) را افزایش داده و سنتز نیتریک اکساید و بیوژنز میتوکندریایی را تقویت می‌کند. از آنجایی که اثر روزراترول شبیه به تمرین است و سازگاری‌های مشابهی در عضله اسکلتی و قلبی دارد، درمان با آن نیز می‌تواند به اندازه تمرین ورزشی در درمان نارسایی قلبی مفید باشد (۱۰). روزراترول که فرمول شیمیایی آن به صورت ترانس ۳ و ۴، ۵ تری هیدروکسی استیلبن است، یک پلی فنل طبیعی و فیتوآلکسین است که در طبیعت از گیاهان در مقابل قارچ‌ها محافظت می‌کند. این ماده به مقدار فراوان در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله در انگور، توت، بادام زمینی و سایر گیاهان در مقادیر اندک یافت می‌شود (۱۱).

با پیشرفت مطالعات حیوانی، اثرات روزراترول بر بیماری‌های مختلفی کشف شد و نشان داده شد که از سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، آسیب ایسکمی و آلزایمر جلوگیری می‌کند و دارای طیف گسترده‌ای از خواص بیولوژیکی است (۱۱، ۱۲). بنابراین پیشگیری در علوم پزشکی یکی از کاربردی‌ترین شیوه‌ها است و در حال حاضر تلاشی برای تغییر دادن توجه از راه‌های درمانی مدرن در بیماری‌های قلبی عروقی بر جلوگیری از ایجاد این بیماری‌ها است. همچنین، با مد نظر قرار دادن نقش حیاتی

روزراترول در محافظت از قلب و عروق و تاثیر احتمالی آن بر استرس اکسیداتیو و با عنایت به نقش مفید تمرینات منظم هوازی بر روی سیستم قلبی عروقی، به نظر می‌رسد که این مداخلات دارویی و غیر دارویی، یعنی روزراترول و تمرین منظم هوازی، در محافظت قلب در برابر بیماری‌های میوکارد تاثیر به سزایی داشته باشند. از طرفی دیگر، بیماری‌های متابولیک مانند دیابت و بر سلول‌های بدن، به خصوص کاردیومیوسیت‌ها، اثر دارند. قابل ذکر است که هر ساله تعداد بیماران دیابتی در سرتاسر جهان در حال افزایش است. دیابت نوعی بیماری مزمن است که با اختلال در متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات مشخص می‌شود. رادیكال‌های آزاد در بیماران دیابتی به طور کنترل نشده‌ای به وسیله اکسیداسیون گلوکز و به دنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکولیکه ایجاد می‌شوند. سال - های اخیر، ترکیب استفاده از داروهای گیاهی و پرداختن به فعالیت بدنی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (۱۰).

بررسی مطالعات پیشین نشان می‌دهد اثر هم‌زمان تمرین هوازی و روزراترول در شرایط القا شدن دیابت مشخص نیست. با توجه به وجود شواهدی مبنی بر اثرگذاری هریک از این مداخلات بر نشانگران آپوپتوز در بافت‌های مختلف، با این وجود معلوم نیست کدامیک اثر مفیدتری در محافظت قلبی در شرایط دیابت دارند. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر هم‌زمان تمرین هوازی و روزراترول بر میزان BAX، BCL-2 و Caspase-3 قلبی در رت - های دیابتی شده با استرپتوزوسین انجام شد.

## مواد و روشها

در این مطالعه نیمه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار حدود ۵ ماهه با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تهیه و به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی همان دانشگاه انتقال یافتند. یک هفته پس از انتقال و آشنایی با محیط جدید، آزمودنی‌ها به ۵ گروه (۱۰ سر در هر گروه) شامل کنترل سالم، دیابتی، مکمل روزراترول، تمرین هوازی، و مکمل روزراترول - تمرین هوازی تقسیم شدند.

لازم به ذکر است، پس از انتقال، حیوانات به آزمایشگاه در قفس - هایی از جنس پلی کربنات، دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد، رطوبت  $55 \pm 5$  درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب قرار گرفتند. در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات

آزمایشگاهی در دسترس آنها بود. تمام مراحل مطالعه بر اساس دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی اجرا شد.

### القای دیابت

برای دیابتی کردن موش‌ها از استرپتوزوسین (STZ) به صورت تک دوز استفاده شد. القای دیابت با تزریق تک دوز ۵۰ mg/kg استرپتوزوسین به صورت داخل صفاقی صورت گرفت و قند خون بالای ۲۵۰ mg/dl چهل و هشت ساعت پس از تزریق، به عنوان دیابت القاء شده در نظر گرفته شد (۱۳).

### برنامه تمرین هوازی

قبل از شروع پروتکل اصلی، آزمودنی‌های گروه تمرین هوازی و گروه مکمل رزوراترول+تمرین هوازی به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط تردمیل، در یک هفته طی ۵ جلسه، به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰-۸ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه تمرینی اصلی به مدت ۸ هفته بود و پروتکل تمرین هوازی بدین صورت انجام شد که در هفته آغازین با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه، زمان ۵ دقیقه و شیب ۱۵ درصد شروع و هر هفته به سرعت، ۱-۲ متر بر دقیقه و به زمان نیز ۲-۳ دقیقه به صورت روزانه افزوده شد، به طوری که در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان ۶۰ دقیقه رسید. تعداد جلسات ۵ جلسه در هفته بود (۱۴).

### مکمل رزوراترول

مکمل رزوراترول بر اساس مطالعات پیشین تهیه شد. برای هر بار تجویز رزوراترول، ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۷ درصد یا ۱۰ DMSO (dimethyl sulfoxide for sale) درصد با آب به ازای هر موش تهیه و رزوراترول را در آن معلق شده و تجویز شد. برای کاهش درصد خطا برای کلیه آزمودنی‌ها محلول به صورت یک‌جا تهیه شد. در گروه‌های مکمل رزوراترول و مکمل رزوراترول+تمرین استقامتی، ماده با دوز ۲۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد. این روند به مدت ۸ هفته انجام گرفت (۱۵).

### نحوه قربانی کردن حیوانات و بافت برداری

پس از اجرای تحقیق، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم) و زایلوزین (۵ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن) با نسبت ۵ به ۲ بیهوش و فدا شدند. سپس با باز کردن قفسه سینه، قلب جدا و پس از شستشو با آب مقطر و جدا کردن ریشه عروق و ضمامم اضافی، قلب برای اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق تا روز آنالیز در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

هنگام آنالیز، ابتدا بافت قلب هموژنیزه شد. بدین منظور بافت موردنظر وزن کشی شده و متناسب با آن، بافر PBS به آن اضافه شد. سپس با یخ توسط دستگاه هموژنایزر و طی چندین مرحله خرد شده و با دمای ۴ درجه، دور ۱۲۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول بالایی (سوپرناتانت) برای سنجش متغیرها مورد استفاده قرار گرفت.

### سنجش‌های بیوشیمیایی

سطوح BCL2 و Bax با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه ساخت شرکت زل بایو کشور چین به ترتیب با حساسیت کمتر از ۰/۰۷۸ نانوگرم بر میلی لیتر و ۱۵/۶ پیکوگرم بر میلی لیتر به روش الایزا تعیین شدند. همچنین به منظور کمی کردن فعالیت کاسپاز-۳ از کیت سنجش فعالیت ساخت شرکت زل بایو کشور چین استفاده شد.

### روش‌های آماری

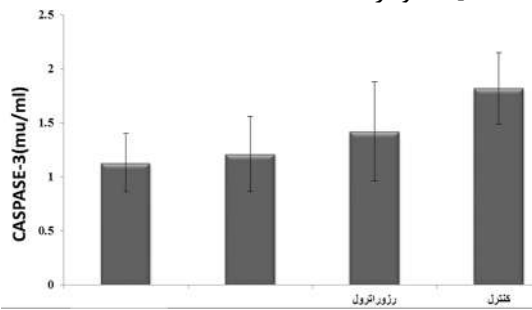
تمامی داده‌های به دست آمده از سنجش‌های بیوشیمیایی با استفاده از میانگین و انحراف استاندارد توصیف شدند. ابتدا جهت تعیین اثر القای دیابت و همچنین اثر حلال بر پیامدهای مورد مطالعه، از آزمون تحلیل دو راهه واریانس برای گروه‌های مستقل استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار، از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین محل تفاوت استفاده شد. سپس با استفاده از تحلیل دوراهه واریانس برای گروه‌های مستقل، نتایج به دست آمده مورد تحلیل قرار گرفت. بر اساس این مدل ابتدا اثر تمرین و رزوراترول به تنهایی بر پیامدهای مورد مطالعه مورد آزمون قرار گرفت. سپس اثر تعاملی تمرین و رزوراترول بر این پیامدها مورد آزمون قرار گرفت. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار، از آزمون تعقیبی بن فرونی جهت تعیین محل تفاوت استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ بود و از نرم افزار SPSS.ver19 برای تحلیل داده‌ها استفاده شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه نیمه تجربی، ۶۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به ۵ گروه (۱۰ سر در هر گروه) شامل کنترل سالم، دیابتی، مکمل رزوراترول، تمرین هوازی، و مکمل رزوراترول-تمرین هوازی تقسیم شدند.

نتایج القای بیماری دیابت و مقایسه میانگین قند خون گروه‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دو راهه در جدول ۱ آمده است.

القای دیابت موجب افزایش معنی دار غلظت CASPASE-3 در مقایسه با گروه کنترل سالم شد ( $F=5/67$ ,  $\mu=0/240$ ,  $p=0/007$ ). تمرین موجب کاهش معنی دار غلظت CASPASE3 قلبی شد. دریافت رزوراترول نیز موجب کاهش معنی دار غلظت آن شد ( $F=3/97$ ,  $\mu=0/099$ ,  $p=0/050$ ). اما تعامل تمرین و رزوراترول اثر معنی داری بر غلظت CASPASE-3 قلبی نداشت ( $F=0/61$ ,  $\mu=0/033$ ,  $p=0/549$ ) (نمودار ۳).



**نمودار ۳.** غلظت CASPASE-3 قلبی در گروه‌های مورد مطالعه شامل گروه کنترل، رزوراترول، ورزش هوازی و ورزش هوازی - رزوراترول

## بحث

مطالعه حاضر نشان داد که ورزش هوازی و مکمل رزوراترول باعث کاهش آپوپتوز و استرس اکسیداتیو در کاردیومیوسیت‌های موش صحرایی دیابتی می‌شود. علاوه بر این، تعامل ورزش هوازی و مصرف رزوراترول در کنترل عوامل مؤثر آپوپتوز و آنزیم‌های استرس اکسیداتیو کاردیومیوسیت‌ها در موش‌های صحرایی نر دیابتی تأثیر بیشتری داشته است. شیوع بیماری‌های قلبی عروقی در بیماران دیابتی ۲ تا ۴ برابر بیشتر از افراد سالم است. در سال‌های اخیر، ارتباط بین دیابت با افزایش قند خون، لپید پروفایل، دفاع آنتی اکسیدانی و در نتیجه افزایش واکنش‌های اکسیداتیو به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج مطالعات نشان داده است که ایجاد رادیکال‌های آزاد ناشی از هیپرگلیسمی نقش مهمی در پاتوژنز و پیشرفت عوارض این بیماری دارد (۱۶).

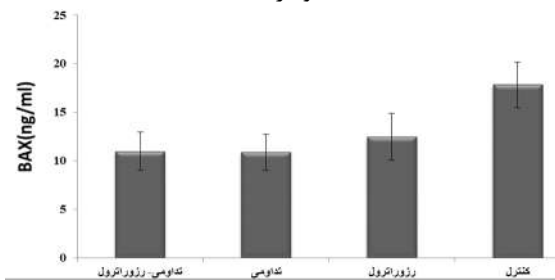
استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی است که می‌تواند نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی مقاومت به انسولین داشته باشد (۵). مشکل اصلی بیماران دیابتی، اختلال قلب یا آترواسکلروز است که با ترشح انسولین نامناسب و مقاومت به انسولین ارتباط دارد (۱۹-۱۷).

جدول ۱. میانگین غلظت گلوکز خون\*

| گروه‌ها    | میانگین | انحراف معیار |
|------------|---------|--------------|
| کنترل      | ۹۵/۵۰   | ۸/۵۲         |
| بیمار      | ۳۵۴/۲   | ۴۲/۱         |
| تمرین      | ۲۱۸/۰۲  | ۴۸/۱۹        |
| مکمل       | ۲۲۲/۶۶  | ۳۸/۷۸        |
| مکمل-تمرین | ۲۱۴/۱۷  | ۴۲/۴۰        |

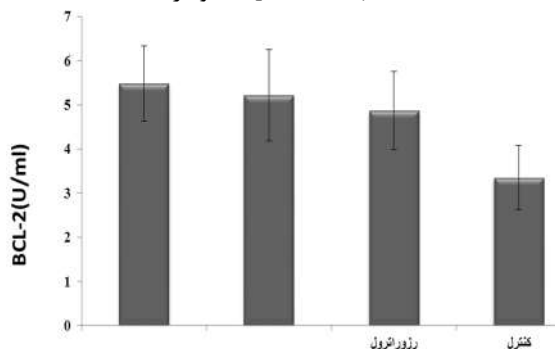
$p < 0/0001^*$

غلظت BAX بافت قلب پس از اعمال دیابت افزایش معنی داری یافت ( $F=13/41$ ,  $\mu=0/427$ ,  $p=0/0001$ ). تمرین و رزوراترول توانستند موجب کاهش غلظت BAX قلبی شوند. ( $F=9/58$ ,  $\mu=0/210$ ,  $p=0/004$ ). تعامل تمرین و رزوراترول نیز موجب کاهش معنی دار BAX شد ( $F=4/97$ ,  $\mu=0/217$ ,  $p=0/012$ ) (نمودار ۱).



**نمودار ۱.** غلظت BAX قلبی در گروه‌های مورد مطالعه شامل گروه کنترل، رزوراترول، ورزش هوازی و ورزش هوازی - رزوراترول

غلظت BCL-2 در اثر دیابت کاهش معنی داری یافت ( $F=8/43$ ,  $\mu=0/319$ ,  $p=0/001$ ). هم تمرین و هم رزوراترول توانستند در گروه دیابتی موجب افزایش غلظت آن شوند ( $F=7/74$ ,  $\mu=0/177$ ,  $p=0/007$ ). اما هم‌زمانی تمرین و رزوراترول بر غلظت BCL-2 اثر معنی داری نداشت (نمودار ۲) ( $F=2/04$ ,  $\mu=0/102$ ,  $p=0/144$ ).



**نمودار ۲.** غلظت BCL-2 قلبی در گروه‌های مورد مطالعه شامل گروه کنترل، رزوراترول، ورزش هوازی و ورزش هوازی - رزوراترول

محققان گزارش کرده‌اند که فعالیت ورزشی متوسط می‌تواند در کنترل آپوپتوز تاثیر بگذارد. در مطالعه حاضر تمرین هوازی توانست سطح BAX و Bcl2 را تنظیم کند که با نتایج مطالعات پیشین در این راستا همسو است. گزارش شده تمرین هوازی، میزان پروتئین Bax را کاهش می‌دهد و تمرین با تردمیل آسیب ناشی از رپر فیوژن بافت قلب موش‌های صحرایی را تنظیم می‌کند (۱۰).

مطالعات نشان داده رزوراترول مجموعه‌ای از اثرات مستقیم بر سلول‌های قلبی دارد، به طوری که رزوراترول قدرت عضلانی تار عضلانی دهلیز راست را ۶۰ درصد و تار عضله‌ای بطن چپ را ۲۰ درصد کاهش می‌دهد. همچنین مدت پتانسیل عمل داخل سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نشان داده شده که در حضور گلیبوراید (مهار کننده کانال K-ATP)، این تغییرات ناشی از رزوراترول به شدت کاهش می‌یابد (۲۰).

مطالعات موجود نشان داده‌اند که استفاده از رزوراترول آثار سویی ندارد، به جز یک مطالعه اخیر که نشان داده رزوراترول باعث افزایش لنفوم و تومورها می‌شود (۲۱).

این مسأله نشان می‌دهد که ممکن است رزوراترول اثرات پرواکسیدانی نیز داشته باشد، مخصوصاً در حضور مس که در برخی تومورها بالا می‌رود؛ لذا باید مصرف آن در مطالعات انسانی با احتیاط صورت گیرد.

در نهایت، این یافته جدید نشان می‌دهد که اثر آپوپتوزی سینرژیک رزوراترول و محافظت قلبی ناشی از ورزش می‌تواند از طریق انتخابی تغییر سطوح بیان پروتئین‌های نظارتی در مسیر سیگنالینگ آپوپتوزیک در موش‌های دیابتی را میانجیگری کند.

غلظت کاسپاز ۳ در موش‌های صحرایی دیابتی به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. ورزش و مصرف رزوراترول به طور قابل توجهی سطح کاسپاز-۳ را کاهش داد، در حالی که تعامل مصرف و ورزش رزوراترول بر کاسپاز-۳ تاثیر معنی‌داری نداشت. Caspase-3 یکی از اعضای خانواده پروتئاز اسید سستین-آسپارتیک است که نقش مهمی در آپوپتوز سلولی دارد.

سیگنال آپوپتوزی با فعال سازی کاسپازها (به عنوان مثال caspase-3 و -7) که موجب تخریب نهایی سلول می‌شود، همگام است (kwak013). فعال سازی caspase-3 منجر به آپوپتوز از طریق تجزیه DNA در سلول می‌شود (۲۲).

در تحقیقات گزارش شده است که میزان کاسپاز ۳ در بافتهای دهلیزی در افراد دیابتی افزایش نمی‌یابد که می‌تواند به علت شدت بیماری‌های کرونری افراد دیابتی یا

مصرف داروها باشد (۱). نشان داده شده است که رزوراترول از طریق فعال سازی p38 در برابر القاء caspase-3 محافظت می‌کند (۲۳). علاوه بر این، رزوراترول مهار مسیر P38 منجر به سرکوب ماکروفاژ و آپوپتوز سلول عضله صاف عروقی می‌شود (۲۴) از سوی دیگر، مکانیزم‌های اثرگذاری رزوراترول می‌توانند متفاوت باشند، و مسیرهای متابولیکی و سیگنالینگ و تعدیل چندین عملکردهای رونویسی را باعث شوند (۲۵). فعالیت بدنی باعث تغییر سبک زندگی و مدیریت دیابت از طریق محدودیت کالری می‌شود و می‌تواند موثرتر از مدیریت دارویی باشد (۲۶). ورزش حتی می‌تواند سطح caspases را بدون هیچ تغییری در سطح گلوکز و انسولین تنظیم کند (۲۷).

در این مطالعه، اثرات ورزش در کاهش caspase3 پس از ۸ هفته تمرین هوازی در بافت قلب موش‌های دیابتی نشان داده شده است. اکثریت مطالعات با یافته‌های ما سازگار است که میزان متوسط ورزش به طور قابل توجهی باعث کاهش بیان caspase3 می‌شود. شدت ورزش نقش مهمی در تأثیر در مسیر کنترل آپوپتوز سلولی دارد (۲۸).

در تحقیقات قبلی مشاهده شد که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bcl-2 و کاسپاز ۹ نیز با فعال سازی کاسپاز ۳ منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود (۲۹). Timmer و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که مصرف روزانه رزوراترول ۱۵۰ میلی گرم در یازده مرد چاق سالم به مدت ۳۰ روز باعث کاهش غیر معنی‌دار برخی فاکتورهای التهابی نظیر IL-1B، TNF، hc-CRP و IL6 شد (۳۰).

همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، BO و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که مکمل یاری روزانه با ۵۰۰ میلی گرم رزوراترول در ۵۰ فرد سیگاری باعث کاهش معنی‌دار در غلظت hs-CRP و تری گلیسرید سرم و افزایش معنی‌دار در وضعیت آنتی اکسیدانی ضد التهابی و هیپرتری گلیسریدمیک شد (۳۱).

سیو و همکارانش نیز نشان دادند که تمرین استقامتی، بیان کاسپاز و BAX و BCL (محصول آنتی آپوپتیک) را در عضلات اسکلتی و قلبی موش‌های صحرایی سالم تنظیم می‌کند. چن و همکارانش نشان دادند که تمرین مزمن دویدن روی نوار گردان (۳۰ دقیقه و یا ۶۰ دقیقه در هر جلسه و ۳ جلسه در هفته) با کاهش بیان Bax و افزایش بیان Bcl-2 و نسبت Bcl-2/Bax در رت‌های مبتلا به بیماری مزمن کلیوی همراه بود. علاوه بر این کواک و همکارانش نیز اظهارداشتند که فعالیت ورزشی سطوح افزایش یافته Bax/Bcl-2 در بافت قلبی رت‌های پیر را به واسطه کاهش بیان پروتئین Bax و افزایش سطوح Bcl-2 قلبی کاهش

مطالعات بیشتری به ویژه با دوزهای متفاوت رزوراترول برای درک بهتر اثرگذاری این دو مداخله است.

می‌دهد (۳۲) که این مسئله تایید دیگری بر نقش حمایتی فعالیت ورزشی از طریق کاهش روند آپوپتوز در بافت‌های بدن است.

نتایج این مطالعه نشان داد تمرین هوازی و رزوراترول در شرایط دیابت القا شده با STZ اثر مطلوبی بر نشانگران آپوپتوز دارد و در نتیجه از آغاز و توسعه روند آن ممانعت به عمل می‌آورد. در خصوص اثر همزمان تمرین هوازی و رزوراترول، پاسخ نشانگران آپوپتوز یکسان نبود و غلظت آنزیم CASPASE-3 تحت تاثیر همزمان این دو مداخله قرار نگرفت. با این وجود مشخص شد که این دو مداخله با اثرگذاری بر نشانگران آپوپتوز اثر محافظتی خود را بر بافت قلب در شرایط دیابت القا شده اعمال می‌کنند. براین اساس توصیه می‌شود در این شرایط از این دو مداخله برای محافظت قلب از آسیب‌های ناشی از دیابت استفاده شود. با این حال، باز هم نیاز به

### تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دکتری با کد اخلاق RIAU.SARI.REC.1397.8 در رشته فیزیولوژی ورزشی مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه است. نویسندگان از مسئولین آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری جهت همکاری صمیمانه شان تشکر و قدردانی می‌کنند. همچنین نویسندگان عدم تعارض منافع را اعلام می‌دارند.

### REFERENCES

- 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* 2010;300:H118-24.
- Chao M, Zou D, Zhang Y, Chen Y, Wang M, Wu H, Ning G, Wang W. Improving insulin resistance with traditional Chinese medicine in type 2 diabetic patients. *Endocrine* 2009;36:268-74.
- Mirfeizi M, Mehdizadeh Tourzani Z, Mirfeizi SZ, Asghari Jafarabadi M, Rezvani HR, Afzali M. Controlling type 2 diabetes mellitus with herbal medicines: a triple-blind randomized clinical trial of efficacy and safety. *J Diabetes*. 2016;8:647-56.
- Sanders RA, Rauscher FM, Watkins III JB. Effects of quercetin on antioxidant defense in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2001;15:143-9.
- Sadi G, Kartal Dİ, Güray T. Regulation of glutathione S-transferase Mu with type 1 diabetes and its regulation with antioxidants. *Turk J Biochem* 2013; 38 ; 92-100.
- Ryter SW, Kim HP, Hoetzel A, Park JW, Nakahira K, Wang X, et al. Mechanisms of cell death in oxidative stress. *Antioxid Redox Sign* 2007;9:49-89.
- Sha J, Sui B, Su X, Meng Q, Zhang C. Alteration of oxidative stress and inflammatory cytokines induces apoptosis in diabetic nephropathy. *Mol Med Rep* 2017;16:7715-23.
- Maybaum S, Ilan M, Mogilevsky J, Tzivoni D. Improvement in ischemic parameters during repeated exercise testing: a possible model for myocardial preconditioning. *Am J Cardiol* 1996;78:1087-91.
- Shave R, Dawson E, Whyte G, George K, Gaze D, Collinson P. Altered cardiac function and minimal cardiac damage during prolonged exercise. *Med Sci Sport Exer* 2004;36:1098-103.
- Dolinsky VW, Rogan KJ, Sung MM, Zordoky BN, Haykowsky MJ, Young Meet al. Both aerobic exercise and resveratrol supplementation attenuate doxorubicin-induced cardiac injury in mice. *Am J Physiol Endoc M* 2013;305:E243-53.
- Das S, Alagappan VK, Bagchi D, Sharma HS, Maulik N, Das DK. Coordinated induction of iNOS-VEGF-KDR-eNOS after resveratrol consumption: A potential mechanism for resveratrol preconditioning of the heart. *Vas Pharmacol* 2005;42:281-9.
- Lee PS, Chiou YS, Ho CT, Pan MH. Chemoprevention by resveratrol and pterostilbene: Targeting on epigenetic regulation. *Biofactors* 2018;44:26-35
- Moeini Fard, M, Hedayati, M. Alloxan and streptozotocin, diabetes research tool. *Applied Sport Physiology Research* 2014;10(20):13-22. [In Persian]
- Linden MA, Fletcher JA, Morris EM, Meers GM, Laughlin MH, Booth FW, et al. Treating NAFLD in OLETF rats with vigorous-intensity interval exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 2015;47:556-58.

15. Shankar S, Singh G, Srivastava RK. Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Biosci* 2007;12:4839-54.
16. Torres M, Canal J, Perez C. Oxidative stress in normal and diabetic rats. *Physiol Res* 1999;48:203-208.
17. Pérez-Gallardo RV, Noriega-Cisneros R, Esquivel-Gutiérrez E, Calderón-Cortés E, Cortés-Rojo C, Manzo-Avalos S, et al. Effects of diabetes on oxidative and nitrosative stress in kidney mitochondria from aged rats. *J Bioenerg Biomembr* 2014;46:511-8.
18. Dehghan F, Soori R, Gholami K, Abolmaesoomi M, Yusof A, Muniandy Set al. Purslane (*Portulaca oleracea*) seed consumption and aerobic training improves biomarkers associated with atherosclerosis in women with type 2 diabetes (T2D). *Sci Rep* 2016;6:37819.
19. Fadini GP, Iori E, Marescotti MC, de Kreutzenberg SV, Avogaro A. Insulin-induced glucose control improves HDL cholesterol levels but not reverse cholesterol transport in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis* 2014;235:415-17.
20. Buluc M, Ayaz M, Turan B, Demirel-Yilmaz E. Resveratrol-induced depression of the mechanical and electrical activities of the rat heart is reversed by glyburide: evidence for possible K ATP channels activation. *Arch Pharm Res* 2007;30:603-7.
21. Smoliga JM, Baur JA, Hausenblas HA. Resveratrol and health—a comprehensive review of human clinical trials. *Mol Nutr Food Res* 2011;55:1129-41.
22. Arbab-Zadeh A, Dijk E, Prasad A, Fu Q, Torres P, Zhang R, et al. Effect of aging and physical activity on left ventricular compliance. *Circulation* 2004;110:1799-805.
23. Ulakcsai Z, Bagaméry F, Vincze I, Szökő É, Tábi T. Protective effect of resveratrol against caspase 3 activation in primary mouse fibroblasts. *Croat Med J* 2015;56:78-84.
24. Guo R, Li W, Liu B, Li S, Zhang B, Xu Y. Resveratrol protects vascular smooth muscle cells against high glucose-induced oxidative stress and cell proliferation in vitro. *Med Sci Monit Basic Res* 2014;20:82.
25. Khan RS, Fonseca-Kelly Z, Callinan C, Zuo L, Sachdeva MM, Shindler KS. SIRT1 activating compounds reduce oxidative stress and prevent cell death in neuronal cells. *Front Cell Neurosci* 2012; 31:6:63.
26. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002;346:393-403.
27. Moien-Afshari F, Ghosh S, Khazaei M, Kieffer TJ, Brownsey RW, Laher I. Exercise restores endothelial function independently of weight loss or hyperglycaemic status in db/db mice. *Diabetologia*. 2008;51:1327-37.
28. Ghosh S, Khazaei M, Moien-Afshari F, Ang LS, Granville DJ, Verchere CB, et al. Moderate exercise attenuates caspase-3 activity, oxidative stress, and inhibits progression of diabetic renal disease in db/db mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F700-8.
29. Hong J-H, Kim M-J, Park M-R, Kwag O-G, Lee I-S, Byun BH, et al. Effects of vitamin streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinica chimica acta on oxidative stress and membrane fluidity in brain*. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 340:107-15.
30. Timmers S, Konings E, Bilet L, Houtkooper RH, van de Weijer T, Goossens GH et al. Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metabol* 2011;14:612-22.
31. Bo S, Ciccone G, Castiglione A, Gambino R, De Michieli F, Villosi P, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of resveratrol in healthy smokers a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. *Curr Med Chem* 2013;20:1323-31.
32. Kwak HB. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *J Exerc Rehabil* 2013;9:212.