http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology
Autumn/Winter 2022
Volume 9, Number 2
23-36

Original Article **Open Access**

Apoptotic changes of cardiac tissue after HIIT and thyme honey in type 2 diabetic rats

Bahare Behaein [1], Hossein Abednatanzi[2*], Mandana Gholami[2], Farshad Ghazalian[2]

Receive 2022 June 28; Accepted 2022 September 04

Abstract

Aim: The aim of the present was to Study of apoptotic changes of caspase 3 and 9 proteins and cytochrome c of heart tissue after High intensity interval training (HIIT) and thyme honey in type 2 diabetic rats. **Method**: The statistical population consisted of male diabetic rats that 20 rats were divided into 4 groups: control, HIIT, thyme honey, HIIT-thyme honey. The training protocol was implemented as eight weeks of HIIT and five sessions per week. Insulin was measured using the insulin kit and the ELISA method and the expression of caspase 3, caspase 9 and cytochrome-C genes by RT-PCR method. Statistical analysis was performed using SPSS version 22 software and two-factor analysis of variance and determination of effect size and Bonferroni post hoc. **Results**: compared to the control group, HIIT led to a significant decrease in glucose (0.0001) and insulin resistance index (0.001). HIIT increased the expression of caspase 9 genes (0.001) in cardiac cells compared to the control group. **Conclusion**: It can be concluded that performing HIIT by diabetic patients can lead to an increase in the apoptotic factor. Therefore, the use of more moderated intensities, as well as the use of substances with antioxidant and anti-inflammatory properties, such as honey, along with exercise can be useful.

Keywords: HIIT, Type 2 Diabetes, Thyme Honey, Apoptosis.

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Ph.D. Student of Exercise physiology, department of physical education and sport science, Science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of physical education and sport science, Science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.***(corresponding author)**
abednazari@gmail.com

Cite as: Behaein Bahare, Abednatanzi Hossein, Gholami Mandana, Ghazalian Farshad.Apoptotic changes of cardiac tissue after HIIT and thyme honey in type 2 diabetic rats. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2022; 9(2): 23-36.
Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University
Journal ISSN (online): 2676-6507
Access Type: Open Access
DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480
DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.2.3.6

Copyright ©The authors

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

Extended abstract

Background: Diabetes can directly cause heart failure in the form of diabetic cardiomyopathy. Recently, it has been shown that apoptosis plays a major role in the process of heart diseases. Therefore, the effect of Exercise training on the induction or inhibition of apoptosis is still questionable but what sport and with what kind of protocol is a question that researchers are always looking for. On the other hand, studies have shown that thyme honey plays an important role in regulating blood sugar as an anti-diabetic plant due to its properties (6). Research on honey indicates that honey has shown anti-diabetic effects in animal models to clinical trials, and researchers have used it as a potential anti-diabetic agent (7, 8).findings indicate that honey has modulating effects on oxidative stress and hyperglycemia, and its antioxidant activity has been well demonstrated to improve diabetes (9). The aim of the present was to Study of apoptotic changes of caspase 3 and 9 proteins and cytochrome c of heart tissue after High intensity interval training (HIIT) and thyme honey in type 2 diabetic rats.

Methodology: The statistical population of the present study consists of male Wistar and the samples consisted of 36 male Wistar rats. After two weeks of familiarization with the laboratory environment, 45% high-fat diet was given for 3 months and 60% high-fat diet for 2 months (10). Rats were made diabetic by a buffer solution prepared from STZ in physiological serum at a dose of 25mg/kg. One week after STZ injection, fasting blood glucose was read by a glucometer, and blood sugar between 150 and 400 mg/dl was considered as a standard to ensure that the rats had diabetes. Then the diabetic rats were divided into four diabetic groups: control (n=6), HIIT (n=8), thyme honey (n=6), HIIT-honey (n=8). Thyme honey given with a dose of 3g/kg by gavage method (16-18).

Exercise protocol: Eight-week program of aerobic training, five sessions per week with a gradual increase of HIIT from 22 to 38 meters / min (80 to 90% VO2max) and rest intervals with a speed of 16 to 22 meters / min (50 to 56% VO2max) time 15 It was done by running on a treadmill for up to 34 minutes. To determine the maximum speed, Rodrigues et al.'s protocol (2007) of the maximum speed running training test (MERT) was used to determine the training intensity. (23-25).

Sampling: Blood samples were collected through cardiac bleeding and stored at -20. Glucose was measured using an auto analyzer and insulin with a special kit from Pars Azmoun and the ELISA method. Insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated using the formula (26). To investigate the expression of genes in the heart tissue, data measurement by RT-PCR method. Data were analyzed using SPSS22 software. Descriptive statistics (M ±SD) were used to describe the data. One-way analysis of variance and Bonferroni's post hoc test to compare the differences between groups, and from the two-factor analysis of variance test and the effect size index to compare the influence of each of the independent variables. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered.

Results: glucose concentration in the HIIT group was significantly reduced compared to the control ($P<0.05$) and in the honey -HIIT group it was significantly reduced compared to the control ($P <0.05$). Compared to the control group, HIIT led to a significant decrease in HOMA-IR (0.001). Also showed that the changes of caspase 3 in the thyme honey and HIIT-honey interactive group it showed a decrease ($P<0.05$). HIIT increased the expression of caspase 9 genes (0.001) in cardiac cells compared to the control group. There was no significant change in the expression of Cytochrome C gene in the HIIT group ($P>0.05$).

Discussion and conclusion:
The decrease in insulin resistance in the diabetic exercise group compared to the diabetic control group can be a sign of adaptations at the cellular level caused by exercise. It seems that insulin changes in the HIIT group compared to the control group can probably be justified by the improvement of pancreatic beta cell function. Sports activity, according to previous studies, as a factor increases insulin sensitivity under normal conditions and improves insulin performance in HOMA-IR (27). Also, the results showed that HIIT increased the expression of the caspase 9 gene in thyme honey group. The expression of Cytochrome C gene increased in the HIIT group. Although the exact mechanism of apoptosis is not yet clear; But it may be different according to the type of cell and the type of stimulation. It has been shown that exercise induces apoptosis, which is a natural process to destroy damaged cells in which significant inflammatory reactions do not occur (28). In the present study, the consumption of thyme honey was studied in terms of anti-apoptotic factors and it was observed that the gene expression of Caspase3 and Caspase9 and Cytochrome C modulated and decreased the heart muscle which was increased due to HIIT and its effect size was also significant. Therefore, intense exercise in the

Copyright ©The authors Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

condition of diabetes and obesity and aging can lead to increased inflammation and oxidative stress, and it seems that the consumption of strong antioxidants and anti-inflammatory such as thyme honey can moderate these effects. Therefore, it can be suggested as a suitable sugar for such patients who do such intense exercises.

Conclusion: It can be concluded that performing HIIT with thyme honey can reduce the expression of apoptotic factors and increase the expression of anti-apoptotic genes, and it is effective in improving glucose levels due to the effect of genetic components that are effective in releasing glucose from the liver and in type 2 diabetic patients, and thyme honey for its compounds is also effective. However, it is necessary to conduct more and supplementary studies in this field.

Article message: The use of more moderated intensities, as well as the use of substances with antioxidant and anti-inflammatory properties, such as honey, along with exercise can be useful.

Keywords: HIIT, Type 2 Diabetes, Thyme Honey, Apoptosis

Copyright ©The authors Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش
سال نهم، شماره دوم ؛
پاییز و زمستان ۱۴۰۱؛ صفحات ۲۳-۳۶

Open Access

مقاله پژوهشی

تغییرات آپوپتوزی در بافت قلب پس از تمرین تناوبی شدید و عسل آویشن در رت‌های دیابتی نوع دو

بهاره به آیین[۱]، حسین عابد نطنزی[۲*]، ماندانا غلامی[۲]، فرشاد غزالیان[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۳

چکیده

هدف: دیابت نوع دو بیماری است که در آن مقاومت انسولینی و بد عملکردی سلول بتا با هم به افزایش غلظت گلوکز خون منجر می‌شود و می‌تواند باعث آسیب و مرگ سلولی یا آپوپتوز شود. هدف از پژوهش حاضر مطالعه تغییرات آپوپتوزی پروتئین‌های کاسپاز ۳ و ۹ و سیتوکروم-c بافت قلب متعاقب تمرین تناوبی شدید و عسل آویشن در رت‌های دیابتی نوع دو بود. **روش شناسی:** جامعه آماری را موش‌های صحرایی نر تشکیل می‌دادند. نمونه‌ها شامل ۲۸ سر رت ویستار بودند که پس از ۲۰ هفته تغذیه با رژیم پرچرب با تزریق درون صفاقی STZ ۲۵ ml/kg دیابتی شدند و سپس در ۴ گروه کنترل دیابتی، تمرین تناوبی، عسل آویشن، تمرین تناوبی- عسل آویشن تقسیم شدند و پروتکل تمرینی و گاواژ عسل روی آنها اجرا شد. پروتکل تمرینی به صورت هشت هفته تمرین تناوبی شدید و پنج جلسه در هفته اجرا شد. انسولین با استفاده از کیت انسولین و به روش الایزا و بیان ژن‌های کاسپاز ۳، کاسپاز ۹ و سیتوکروم –C توسط روش RT-PCR اندازه‌گیری شد. تحلیل آماری با استفاده نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و آزمون تحلیل واریانس دوعاملی و تعیین اندازه اثر و تعقیبی بونفرونی انجام شد. **یافته‌ها:** در مقایسه با گروه کنترل، تمرین تناوبی شدید به کاهش معنی‌دار گلوکز (۰/۰۰۰۱) و شاخص مقاومت به انسولین (۰/۰۰۱) منجر شد. تمرین تناوبی بیان ژن‌های کاسپاز ۹ (۰/۰۰۱)، کاسپاز ۳ و سیتوکروم c را در سلول‌های قلبی در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد. مصرف عسل آویشن منجر به کاهش کاسپاز ۹ در گروه تعاملی شد. تغییرات کاسپاز ۳ و سیتوکروم C در گروهها معنی‌دار نبود. **نتیجه‌گیری:** می‌توان نتیجه گرفت که انجام تمرینات تناوبی شدید توسط بیماران دیابتی می‌تواند منجر به افزایش عامل آپوپتوزی شود. بنابراین استفاده از شدت‌های تعدیل‌یافته‌تر و همچنین استفاده از موادی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی مانند عسل در کنار تمرین ورزشی می‌تواند مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، دیابت نوع دو، عسل آویشن ، آپوپتوز.

با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/. مشاهده کنید

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
۲. گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی،دانشگاه آزاد اسلامی،واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول : دکتر حسین عابد نطنزی، abednazari@gmail.com.

نحوه ارجاع: به آیین، بهاره.عابد نطنزی، حسین. غلامی، ماندانا. غزالیان، فرشاد. تغییرات آپوپتوزی در بافت قلب پس از تمرین تناوبی شدید و عسل آویشن در رت‌های دیابتی نوع دو ". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۱: ۹(۲)،۲۳-۳۶.
صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷
نوع دسترسی: آزاد
DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480
DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.2.3.6

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

مقدمه

در میان عوامل مؤثر در بروز دیابت نوع دو، چاقی از بیشترین اهمیت برخوردار است (۱). دیابت می‌تواند مستقیماً باعث نارسایی قلبی به شکل کاردیومیوپاتی دیابتی شود. دلایل این امر چند وجهی است و شامل هر دو حالت فشار متابولیکی و مکانیکی می‌باشد. اختلالات متابولیک شامل عدم انعطاف‌پذیری متابولیک است که از طریق دریافت نادرست گلوکز و اکسیداسیون نادرست آن و به‌وسیله سمیت لیپیدی ناشی از اضافه‌بار چربی ایجاد می‌شود. سمیت چربی که با راه‌های غیر اکسیداتیو، چربی سمی تولید می‌کند و باعث بدعملکردی میتوکندریایی، استرس اکسیداتیو، سیگنالینگ سلولی آشفته، فعالیت التهابی افزایش یافته، نکروز و آپوپتوز و در نهایت تسریع روند فیبروز قلب میگردد.

مرگ سلولی در نتیجه متابولیسم غیرطبیعی میوکارد رخ می‌دهد (۳). اخیراً نشان داده شده که آپوپتوز نقش عمده‌ای در فرآیند بیماری‌های قلبی ایفا می‌کند. هرگونه افزایش غیرعادی گلوکز پلاسما، سلول‌های عضله قلبی را مستعد مرگ سلولی به طریق آپوپتوز می‌کند و در نهایت موجب تغییر انقباضی عضلانی می‌شود. با توجه به این که در دیابت انتقال و اکسیداسیون گلوکز دچار نقص است و سلول‌های عضله قلب انرژی مورد نیاز خود را منحصراً از اسیدهای چرب به دست می‌آورند، محصولات ناشی از اکسیداسیون چربی در سلول‌های قلبی افزایش می‌یابد. القای آپوپتوز به عنوان یکی از آسیب‌های دیابت بر میوکارد توسط فعال‌سازی اجزای مسیر آپوپتوز و فعالیت کاسپاز نشان داده شده و مرگ سلول‌های میوکاردی به‌عنوان یک اتفاق مهم در پیشرفت آسیب قلبی ناشی از دیابت شناخته شده است (۴). مطالعات در زمینه تأثیر ورزش و فعالیت بدنی بر فیبروز قلب دیابتی محدود است و در همین مطالعات تناقضاتی در نتایج مشاهده شده است. در حالی که برخی پژوهش‌ها تأثیر مثبت تمرین ورزشی بر قلب دیابتی را گزارش کرده‌اند، برخی نیز تمرین ورزشی را بی‌تأثیر و یا حتی مضر می‌دانند (۵، ۶، ۲۰). مزرعه خطیری و همکاران گزارش کرده‌اند فعالیت ورزشی شدید موجب آپوپتوز لنفوسیت در موش آزمایشگاهی می‌شود اما دویدن اختیاری بر روی تردمیل آپوپتوز را کاهش می‌دهد، در حالی که تمرین ورزشی اجباری سطوح اکسیدان‌ها را افزایش می‌دهد (۶) بنابراین تأثیر فعالیت ورزشی بر القا یا مهار آپوپتوز هنوز مورد تردید است. یکی از راه‌های درمانی و پیشگیری، فعالیت بدنی به شکل منظم برای بیماران می‌باشد (۲۰)؛ اما اینکه چه ورزشی و با چه نوع پروتکلی، سؤالی است که محققین همیشه در پی کشف آن هستند.

از سوی دیگر، در طب سنتی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت و کبد چرب از داروهای گیاهی و سنتی استفاده می‌شود. در این مورد مطالعات نشان داده، عسل آویشن با توجه به خواصی که دارد در تنظیم قند خون به‌عنوان یک گیاه ضد دیابت نقش مهمی ایفا می‌کند (۶).

پژوهش‌ها درباره عسل حاکی از این است که عسل اثرات ضد دیابتی را در مدل‌های حیوانی گرفته تا آزمایش‌های بالینی نشان داده است و محققان از آن به‌عنوان یک عامل ضد دیابتی بالقوه استفاده کرده‌اند (۷, ۸). یافته‌های پژوهشی حاکی از این است، عسل اثرات تعدیل‌کننده‌ای بر استرس اکسیداتیو و هایپرگلیسیمی را نشان می‌دهد و فعالیت آنتی-اکسیدانی آن برای بهبود دیابت به‌خوبی نشان داده شده است (۹).

با توجه به نقش انجام تمرینات و فعالیت‌های ورزشی در پیشگیری و کنترل چاقی و دیابت، اتخاذ شیوه‌های مختلف تمرینی برای پیشگیری و کاهش شیوع چاقی و نیز کمک به کاهش روند چاقی و عوارض ناشی از آن مانند بیماری‌های کاردیومتابولیک مانند کبد چرب و دیابت و ... در جامعه ضرورت پیدا می‌کند. تمرین استقامتی با حجم بالا کنترل قند خون را در دیابت نوع دو بهبود می‌بخشد، اما بسیاری از افراد «کمبود وقت» را به‌عنوان مانعی برای مشارکت منظم ذکر می‌کنند. تمرین تناوبی با شدت بالا (HIT) در نهایت یک روش با زمان کارآمد برای ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی می‌باشد، اما در مورد تأثیر HIT در دیابت نوع دو کمتر شناخته شده است. تمرینات تناوبی شدید که معمولاً با شدت‌های بالاتر از ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب و دوره استراحت‌های کم و مدت‌زمان تمرینی کمتر از ۲۰ دقیقه انجام می‌گیرد، با به‌کارگیری و درگیر کردن بهتر و بیشتر تارهای عضلانی و فراخوانی قوی‌تر ارگان‌های سوخت وسازی و متابولیکی می‌تواند از طریق سازوکار سلولی مولکولی، متابولیسم کل بدن را در جهت مثبت تحت تأثیر قرار دهد. صفرنژاد و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا باکاهش بیان ژن BAX و افزایش Bcl2 در میوکارد موش های مبتلا به دیابت احتمالا آپوپتوز را در بطن چپ کاهش می دهد. لو و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر هر دو نوع تمرین تناوبی شدید و تدامی طولانی مدت را بر کاهش روند آپوپتوز مثبت گزارش کردند. با توجه به تولید رادیکال‌های آزاد توسط دیابت و فعالیت ورزشی و نهایتاً ایجاد آپوپتوز یکی از مواردی که توجه محققین را به خود جلب کرده است یافتن راه‌کارهایی برای کاهش عواقب منفی ناشی از دیابت و تولید رادیکال‌های آزاد است. امروزه استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌ها برای درمان بیماری‌ها افزایش یافته است گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها اگرچه از دیرباز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آن‌ها تاکنون شواهد معتبری یافت نشده است. در همین زمینه، مصرف عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مؤثر باشد. بر اساس مطالب بیان‌شده و با توجه به اثرات تمرینات تناوبی شدید و فواید بالقوه عسل آویشن هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات آپوپتوزی بیان ژن کاسپاز ۳ و ۹ و سیتوکروم C– بافت قلب پس از تمرین تناوبی شدید و عسل آویشن در رت های دیابتی نوع دو بود.

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

روش پژوهش

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار خریداری شده از موسسه رویان تشکیل می‌دهند و نمونه‌های پژوهش ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار تشکیل می‌دادند که پس از خریداری به آزمایشگاه رازی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران منتقل شدند. برای نگهداری موش‌های صحرایی از قفس‌های جنس پلی کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو استفاده شد. دمای مطلوب محل نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد بود چرخه روشنایی نیز هر ۱۲ ساعت یک‌بار به‌طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه ۵ ماه تغذیه با رژیم پرچرب و دیابتی کردن با محلول بافری تازه تهیه شده از STZ در سرم فیزیولوژیکی با دوز ۲۵mg/kg به چهار گروه دیابتی کنترل، تمرین تناوبی، عسل آویشن، تمرین – عسل تقسیم و در پایان پروتکل به علل مختلف از جمله تمرین شدید و مرگ بر اثر دیابت ۲۸ سر در ۴ گروه کنترل دیابتی (۶ سر)، تمرین تناوبی (۸)، آویشن (۶)، تمرین تناوبی و آویشن (۸ سر) باقی ماندند.

رژیم غذایی پرچرب از پژوهشکده زیست فناوری رویان تهیه شد که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از روغن حیوانی حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم بود. رژیم پرچرب ۴۵ درصد به مدت ۳ ماه و رژیم پرچرب ۶۰ درصد به مدت ۲ ماه داده شد (۱۰). یک هفته پس از تزریق STZ، گلوکز خون ناشتایی با ایجاد جراحت کوچک در دم رت‌ها یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرارگرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده شد و اندازه‌گیری گردید و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم/ دسی لیتر به‌عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت در نظر گرفته شد. برای اطمینان بیشتر از دیابتی شدن موش‌ها و دقت کار از ۷ سر موش به‌طور تصادفی خون‌گیری از دم به عمل آمد و گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین و نیمرخ‌های چربی آن‌ها اندازه‌گیری شد (۱۱-۱۳). برای تهیه عسل آویشن به میزان ۳ کیلوگرم از این گیاه آویشن از مزارع شیراز تهیه شد که در ترکیب آب مقطر ریخته شد. سپس این عصاره پس از ۴۸ ساعت ماندن در دستگاه شیکر پس از ۴۸ ساعت از طریق غربال، دو بار از صافی رد شد. در نهایت این عصاره فیلتر شده از طریق تبخیر در دمای ۳۵۸ درجه سانتی‌گراد به یک خمیر غلیظ تبدیل شد. عصاره آبی آویشن در آب حل شده و در اختیار زنبورها در کندو قرار داده شد که عسل آویشن شیرازی خالص استحصال گردد. سپس عسل آویشن به‌صورت گاواژ به موش‌ها داده شد (۱۴, ۱۵) در طی دوره آزمایش به موش‌های گروه عسل آویشن، و گروه عسل آویشن و تمرین تناوبی، عصاره عسل آویشن با دوز ۳ گرم بر کیلوگرم (3g/kg) رقیق‌شده در آب مقطر و به روش گاواژ خورانده شد (۱۶-۱۸).

پروتکل تمرینی

برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل رودریگرز و همکاران (۲۰۰۷) از آزمون تمرین دویدن با سرعت حداکثر[1] (MERT) برای تعیین شدت تمرین استفاده شد و روش آن به این صورت بود که برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max) به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده، پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که هر دو هفته یک‌بار موش‌ها در یک وهله تمرینی پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه ۳ متر در دقیقه به‌سرعت افزوده شد تا اینکه هر کدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به‌عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد و سرعت حداکثر برای شدت تمرین بین ۸۰ تا ۹۵ درصد MERT در نظر گرفته شد. با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته، ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و VO_2max رت‌ها وجود دارد (r=۰/۹۴). از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن، میزان VO_2max رت‌ها را برآورد کرد (۱۹-۲۲). برنامه هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۲۲ الی ۳۸ متر بر دقیقه (۸۰ تا ۹۰ درصد VO_2max) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد VO_2max) زمان ۱۵ الی ۳۴ دقیقه به‌صورت دویدن روی تردمیل انجام شد، به‌طوری‌که زمان دویدن از ۱۶ دقیقه در هفته اول، به ۳۴ دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت. رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به‌منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت ۵ متر در دقیقه با شیب صفر درصد با زمان ۱۰ و ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند (۲۳-۲۵) (جدول ۲).

نمونه‌گیری

با خاتمه دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه‌های تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها توسط اتر بی‌هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری شد و در دمای ۲۰- نگهداری شد. گلوکز با استفاده از دستگاه اتو آنالیزر و انسولین توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول محاسبه شد (۲۶).

۴۰۵/ گلوکز (mg/dl) * انسولین (µUI/ml) = مقاومت به انسولین (HOMA-IR)

[1] Maximal Exercise Running Test

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

روش بیان ژن

بافت قلب نیز به منظور اندازه‌گیری بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی ۸۰ منتقل شد.

جدول ۲: پروتکل تمرین تناوبی

هفته	شدت گرم کردن ۵ دقیقه	تعداد تناوب شدید	زمان تناوب شدید	سرعت تناوب شدید	زمان تناوب استراحت	شدت تناوب استراحت	شدت سرد کردن ۵ دقیقه	زمان کل (دقیقه)
اول و دوم	۱۰ متر در دقیقه	۲ تناوب	۲ دقیقه	۸۰٪ سرعت بیشینه (۳۰ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۰٪(۱۶ متر در دقیقه)	۱۰ متر در دقیقه	۱۶
سوم و چهارم	۱۰	۴ تناوب	۲ دقیقه	۸۵٪ (۳۲ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۲٪(۱۸ متر در دقیقه)	۱۰	۲۲
پنجم و ششم	۱۰	۶ تناوب	۲ دقیقه	۹۰٪(۳۴ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۴٪(۲۰ متر در دقیقه)	۱۰	۲۸
هفتم و هشتم	۱۰	۸ تناوب	۲ دقیقه	۹۵٪(۳۶ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۶٪(۲۲ متر در دقیقه)	۱۰	۳۴

جدول ۳- پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش

OLIGO NAME GENES	PRIMER SEQUENCE (5′ → 3′)	PRODUCT SIZE	LENGTH
CASPAS3	For: CAGCCAACCTCAGAGAGACA Rev: ACAGGCCCATTTGTCCCATA	190 bp	**20**
CASPASE9	For: CACGGCTTTGATGGAGATGG For: TCTCAATGGACACGGAGCAT	146 bp	**20**
CYTOCHROM C OXIDASE (COX8B)	For: GCCAAGGAAAGAGTGCGAC For: GCAGAAGTGGGAGATTTGGC	136 bp	**19**
GAPDH	For:AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG Rev: CATACTCAGCACCAGCATCACC	164 BP	**20**

مقداری از بافت قلب برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation solution (GeneAll) استخراج شد و در نهایت بررسی کمی و کیفی آن با استفاده از دستگاه نانودارپ و ژل آگارز یک درصد انجام شد. پس از اطمینان از خلوص و کیفیت RNA استخراج شده، cDNA با استفاده از کیت FIRE Script RT cDNA Synthesis (Solis BioDyne) ساخته شد و به فریزر منفی ۲۰ انتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان ژن Caspase3 و Caspase9 و Cytochrom C بافت قلب، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم‌افزار Primer3 طراحی شد و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۳ آورده شده است.

یافته‌ها

روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 تجزیه‌وتحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. آزمون شاپیروویک جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دوعاملی و شاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسه میزان تأثیر هر یک از متغیرهای مستقل استفاده گردید. سطح معنی‌داری $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

Copyright ©The authors

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

جدول ۴. اطلاعات توصیفی اولیه وزن و گلوکز و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی پس از رژیم پرچرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع دوم

وزن شروع پروتکل (گرم)	وزن پس از چاقی	گلوکز (mg/dl)	انسولین (µUI/ml)	HOMA.IR
۱۹۷/۷ ±۱۹/۴۶	۴۰۲/۷۵ ±۵۱/۶۹	۳۶۳ ±۱۲۴/۵	۳/۹۲ ±۰/۴۹	۳/۵۶ ±۱/۴۳

در جدول ۴ میانگین وزن موش‌ها (گرم) قبل و پس از رژیم پرچرب ارائه شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بعد از اعمال رژیم پرچرب وزن افزایش معنی‌داری ($P<0.05$) دارد. اطلاعات مربوط به سطح گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت انسولین موش‌ها نیز در جدول ۴ ارائه شده است که حاکی از دیابتی شدن موش‌ها می‌باشد. در جدول ۵ نتایج تغییرات وزن و گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین در گروه‌های مختلف پس از هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف عسل آویشن ارائه شده است. جدول ۶ بیان ژن Caspase3 و Caspase9 و Cytochrom C بافت قلب و نسبت آن‌ها را در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

یافته‌ها نشان داد میانگین وزن در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل افزایش غیر معنی‌دار داشت. میانگین غلظت گلوکز در گروه تمرین نسبت به کنترل کاهش معنی‌دار داشت ($P<0.05$) و در گروه تمرین- عسل آویشن نسبت به گروه عسل آویشن کاهش معنی‌دار داشت ($P<0.05$) و در گروه تمرین عسل نسبت به کنترل کاهش معنی‌دار داشت ($P<0.05$). انسولین در گروه تمرین تناوبی و گروه عسل آویشن و گروه تمرین تناوبی- عسل آویشن نسب به کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری داشته است ($P<0.05$). همچنین انسولین در گروه تمرین تناوبی- عسل آویشن نسب به تمرین تناوبی افزایش معنی‌داری داشته است ($P<0.05$). همچنین انسولین در گروه عسل آویشن نسب به گروه تمرین تناوبی افزایش معنی‌داری داشته است ($P<0.05$). انجام تمرین تناوبی، شاخص مقاومت انسولین (HOMA-IR) را به‌طور معنی‌داری کاهش داده است. ولی مصرف عسل آویشن شاخص مقاومت انسولین را افزایش معنی‌دار داد ($P<0.05$) و انجام تمرین تناوبی و عسل آویشن بر شاخص مقاومت انسولینی اثر معنی داری نداشت. آزمون تعقیبی نیز نشان داد شاخص مقاومت انسولین در گروه تمرین تناوبی نسبت به گروه عسل آویشن تنها و تمرین – عسل آویشن کاهش معنی‌داری داشته است ($P<0.05$). اثرات تمرین تناوبی و عسل آویشن بر بافت قلبی نیزنشان داد تغییرات کاسپاز ۳ در گروه‌ها از نظر آماری معنی‌دار نیست ولی جهت تغییرات در گروه تمرین تناوبی افزایش و در گروه عسل آویشن و تعاملی تمرین – عسل کاهش را نشان داد ($P> ۰/۰۵$). نتایج مربوط به اثرات تمرین تناوبی و عسل آویشن بر بیان ژن Cytochrom C بافت قلبی موش‌های نر دیابتی نوع دو نشان می‌دهد بیان این ژن در گروه تمرین تناوبی تغییر معنی داری نداشته است ($P>0.05$) ولی عسل آویشن بیان آن را کاهش می‌دهد که در نتیجه اثر افزایشی تمرین در گروه تعاملی تعدیل شده و در گروه تعاملی تمرین تناوبی – عسل آویشن نیز تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0.05$).

جدول ۵. نتایج آمار توصیفی مربوط به وزن نهایی و گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین

گروه	کد	تعداد اولیه	تعداد نهایی	وزن (گرم)		گلوکز (MG/DL)		انسولین (µUI/ML)		HOMA.IR	
				میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد
کنترل دیابتی	C	۸	۶	۳۱۷	۷۱/۳	۶۴۵/۵۰	۱۰۲/۱۸	۳/۹	۰/۵۳	۳/۱۸	۰/۳۳
HIIT	E	۱۰	۸	۳۷۳/۱۲	۵۴/۲۸	۲۴۵/۰۰	۱۶۰/۳۹	۶/۲۲	۱/۳۵	۲/۰۴	۰/۳۵
عسل آویشن	H	۸	۶	۳۳۷/۶۶	۲۳/۴۳	۳۰۵/۸۳	۹۲/۶۸	۱۰/۱۰	۰/۹۱	۳/۸۱	۰/۷۱
HIIT + عسل آویشن	HE	۱۰	۸	۳۳۴/۵	۷۷/۶۸	۱۳۸/۱۲	۲۸/۵۰	۱۱/۴۳	۱/۴۰	۳/۴۱	۰/۵۰

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

جدول ۶. نتایج آمار توصیفی مربوط به یافته های بیان ژن

گروه	کد	تعداد اولیه	تعداد نهایی	کاسپاز ۳		کاسپاز ۹		COX8B	
				میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد
کنترل دیابتی	C	۸	۶	۱	۰	۱	۰	۱	۰
HIIT	E	۱۰	۸	۵/۲۸	۷/۵٤	۱۰/۵۱	۱۰/٦۰	۱/۳۰	۱/٤۳
عسل آویشن	H	۸	۶	۱/۲۸	۰/٦۳	۰/۲۲	۰/۰۹	۰/۲۷	۰/۳۰
HIIT + عسل آویشن	HE	۱۰	۸	۰/٦۰	۰/۷۷	۸/۹۹	٤/۸۵	۰/۸۱	۰/۵۷

جدول ۷ – نتایج تحلیل واریانس دوعاملی و نیز اندازه اثر گروه‌ها را نشان می‌دهد.

متغیر/شاخص آماری		گروه	F	سطح معنی‌داری	اندازه اثر
وزن (گرم)	کنترل	تمرین	۱/۲۶۷	۰/۲۷۱	۰/۰۵
		عسل	۰/۱۴۶	۰/۷۰۶	۰/۰۰۶
		تمرین*عسل	۱/۵۸۹	۰/۲۲۰	۰/۰۶۲
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	کنترل	تمرین	۲۲/۱۸	۰/۰۰۰۱	۰/۴۸۰
		عسل	۱۰/۴۶	۰/۰۰۴	۰/۳۰۴
		تمرین*عسل	۰/۴۱۰	۰/۵۲۸	۰/۰۱۷
انسولین (µUI/ML)	کنترل	تمرین	۱۷/۰۶	۰/۰۰۱	۰/۴۱۶
		عسل	۱۶۵/۷	۰/۰۰۱	۰/۸۷۳
		تمرین*عسل	۱/۲۵	۰/۲۷۵	۰/۰۴۹
شاخص مقاومت به انسولین	کنترل	تمرین	۱۶/۸۴	۰/۰۰۰۱	۰/۴۱۲
		عسل	۲۸/۴۸	۰/۰۰۰۱	۰/۵۴۳
		تمرین*عسل	۳/۸۴	۰/۰۶۲	۰/۱۳۸

Copyright ©The authors Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

		تمرین	۱/۹۷	۰/۱۷	۰/۰۷۶
CASPASE3	کنترل	عسل	۲/۳۸	۰/۱۳	۰/۰۹۱
		تمرین*عسل	۱/۷۲	۰/۲۰	۰/۰۶۷
		تمرین	۱۴/۲۴	۰/۰۰۱	۰/۳۷۲
CASPASE9	کنترل	عسل	۰/۲۲	۰/۶۳	۰/۰۰۹
		تمرین*عسل	۰/۰۲	۰/۸۷	۰/۰۰۱
		تمرین	۱/۶۹	۰/۲۰	۰/۰۶
CYTOCHROME C	کنترل	عسل	۳/۵۲	۰/۰۷۳	۰/۱۲
		تمرین*عسل	۰/۱۳	۰/۷۱	۰/۰۰۶

بحث

بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر گلوکز در گروه‌های تجربی تمرین و تمرین- عسل آویشن نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌دار داشته است. همچنین یافته‌ها نشان داد انجام تمرین تناوبی، شاخص مقاومت انسولین (HOMA-IR) را به‌طور معنی‌داری نسبت به کنترل و گروه‌های دیگر کاهش داده است ولی با مصرف عسل آویشن شاخص مقاومت انسولین افزایش معنی‌دار داشت و در گروه تعاملی تمرین تناوبی - عسل آویشن شاخص مقاومت انسولین هم نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار نداشت. بنابراین کاهش مقاومت به انسولین در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی می‌تواند نشان از سازگاری‌های سطح سلولی ناشی از تمرین باشد. به نظر می‌رسد تغییرات انسولین در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی احتمالاً با بهبود عملکرد سلول‌های بتای پانکراس قابل توجیه باشد. فعالیت ورزشی، طبق مطالعات پیشین به‌عنوان یک عامل موجب افزایش حساسیت انسولین تحت شرایط نرمال و بهبود عملکرد انسولین در اشخاص و مدل‌های حیوانی مقاوم به انسولین می‌شود (۲۷) همچنین نتایج نشان داد تغییرات بیان ژن کاسپاز ۹ بافت قلبی در گروه‌های مورد مطالعه معنادار بوده که تمرین تناوبی آن را افزایش و مصرف عسل آویشن به‌طور معنی‌داری آن را کاهش داده که در نتیجه در گروه تعاملی نیز تأثیر افزایشی تمرین تناوبی تعدیل و در گروه تعاملی نسبت به تمرین تنها احتمالاً به دلیل اثربخشی مصرف عسل کاهش یافت. اثرات تمرین تناوبی و عسل آویشن بر بیان ژن Cytochrom C بافت قلبی موش‌های نر دیابتی نوع دو نشان می‌دهد، بیان این ژن در گروه تمرین تناوبی افزایش یافته که این تغییرات آن معنی‌دار نبوده ولی عسل آویشن بیان آن را کاهش می‌دهد که در نتیجه اثر افزایشی تمرین در گروه تعاملی تعدیل شد و در گروه تعاملی تمرین تناوبی –عسل آویشن نیز کاهش مشاهده شد که البته از نظر آماری معنی‌دار نبود و شاخص اندازه اثر عسل بیشتر بود. اگرچه مکانیسم دقیق آپوپتوز هنوز مشخص نیست؛ اما ممکن است با توجه به نوع سلول و نوع تحریکات متفاوت باشد (۶). نشان داده شده است که تمرین ورزشی سبب القا آپوپتوز می‌شود که یک روند طبیعی برای از بین بردن سلول‌های آسیب‌دیده است که در آن واکنش‌های التهابی چشمگیری رخ نمی‌دهد (۲۸). این روند باعث حصول اطمینان از عملکرد طبیعی بدن می‌شود. در تحقیقات دیگر مشاهده شد که فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغازگر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع آپوپتوز و قطعه‌قطعه شدن DNA شود (۲۹, ۳۰). استرس اکسایشی به‌عنوان یک آغازگر مهم آپوپتوز در سلول‌ها می‌باشد. فرنچ و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که حداقل در بخشی ممکن است بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله فعالیت MnSOD در تعدیل آپوپتوز نقش داشته باشد این یک دیدگاه مهم است که اهمیت ورزش را برای بهبود سیگنال دهی آنتی‌اکسیدان به‌عنوان وسیله‌ای برای جلوگیری از آپوپتوز برجسته می‌کند که لازم است این عوامل نیز همراه این فاکتورها اندازه‌گیری و بحث شود (۳۱).

Copyright ©The authors

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2022.27879.1480

زارعلی و همکاران (۱۳۹۹) در پژوهشی با عنوان تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) با و بدون محدودیت کالری بر بیان ژن پروتئین‌های کاسپاز ۳ و ۹ موش‌های نر صحرایی نتیجه گرفتند تمرین تناوبی با شدت بالا با و بدون محدودیت کالری سازگاری‌های لازم برای مهار یا توقف آپوپتوز ناشی از ورزش هوازی را فراهم می‌کند (۳۲). نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد گروه تمرین کاهش معنی‌داری در بیان پروتئین کاسپاز ۹ نسبت به گروه محدودیت غذایی و تمرین داشت. همچنین گروه تمرین و تمرین و محدودیت غذایی کاهش معنی‌داری در میزان بیان پروتئین کاسپاز ۹ نسبت به گروه محدودیت غذایی، کنترل پایه و کنترل و کاهش معنی‌داری در میزان بیان پروتئین کاسپاز ۳ نسبت به گروه کنترل پایه و کنترل داشت. سیاهکوهیان و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که دوازده هفته تمرین هوازی باعث کاهش غیر معنی‌دار پروتئین کاسپاز ۳ در موش‌های صحرایی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل می‌شود. بااین‌حال و با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار پروتئین کاسپاز ۳، اظهارنظر قطعی در مورد تأثیر تمرین ورزشی بر شاخص‌های مربوط به آپوپتوز، منوط به انجام مطالعات بیشتری است (۳۳). نتایج پژوهش حاضر از نظر تأثیر تمرین بر کاسپازها با یافته‌های سیاهکوهیان، لی و هوانگ و کواک و همکاران همسو می‌باشد. اگرچه مکانیسم‌های دقیق آپوپتوزیس ناشی از فعالیت ورزشی به‌طور دقیقی مشخص نیست، اما فرضیه‌های احتمالی زیادی وجود دارند که به بررسی‌های بیشتری نیاز دارند. یکی از فرضیه‌های مهم در این زمینه این است که در حین فعالیت ورزشی، متابولیسم عضلانی افزایش می‌یابد که منجر به تولید ROS می‌شود. میزان زیاد ROS می‌تواند آسیب اکسیداتیو تولید کرده و بدین گونه منجر به آپوپتوزیس از طریق مسیر داخلی شود (۳۲). گزارش شده است که کاهش قابل‌توجه بیان پروتئین کاسپاز ۳ متعاقب تمرین هوازی با کاهش عوامل پیش آپوپتوزی مانند بیان پروتئین Baxو نسبت Bax به Bcl2 و نیز افزایش معنی‌دار پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl2 همراه بود. این کاهش پتانسیل آپوپتوز میتوکندریایی متعاقب تمرین هوازی در موش‌های ً با کاهش رهایش عوامل آپوپتوتیک مانند سالخورده، احتمالاً با سیتوکروم c وApaf1 در عضله اسکلتی همراه شده و موجب کاهش معنی‌دار بیان کاسپاز ۳ شده است (۳۶). در شرایط استرس‌زا عواملی مثل گلوکوکورتیکوئیدها، ROS، مونوکسید نیتروژن، داروهای شیمی‌درمانی، پرتوافکنی، کاهش محرک‌های رشدی و سایتوکین‌ها با ایجاد استرس در میتوکندری، موجب تغییراتی در نفوذپذیری آن می‌شوند و سیتوکروم c که در غشای داخلی میتوکندری و فضای بین غشایی قرار دارد، به داخل سیتوزول آزاد می‌شود، به فاکتور ۱ پروتئاز فعال‌کننده آپوپتوزیس (Apaf-1) متصل شده و ترکیبی به نام dATPتشکیل می‌دهد. سپس این ترکیب، از طریق فعال‌سازی پروکاسپاز ۹، کاسپاز ۹ و کاسپاز ۳ موجب آپوپتوزیس می‌شود. مهم‌ترین مرحله کنترل این مسیر، آزادسازی سیتوکروم c است. پروتئین‌های مهارکننده مسیر مرگ سلولی مانند Bcl2 و XL-Bcl مانع آزادسازی سیتوکروم c شده و به این ترتیب نقش خود را ایفا می‌کنند (۳۴-۳۶).

با این حال و برخلاف نتایج مطالعات مذکور، برخی از پژوهش‌ها اشاره به تسریع فرایند آپوپتوز متعاقب تمرینات ورزشی دارند که می‌توان به یافته‌های تبریزی و همکاران (۲۰۱۷) (۳۸)، هو و همکاران (۲۰۱۲) (۳۹)، سونگ و همکاران (۲۰۰۶) و کوکتورک و همکاران (۲۰۰۸)(۳۷) اشاره کرد. تبریزی و همکاران نشان دادند که دوازده هفته برنامه تمرین هوازی با شدت ۷۵ تا ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه به‌طور معنی‌داری باعث افزایش بیان ژن کاسپاز ۹ در عضله قلبی موش‌های صحرایی نر در گروه تمرین می‌شود. به عبارتی، دوازده هفته تمرین هوازی روی نوارگردان با شدت ۷۵ تا ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه، موجب افزایش قابل‌توجه هر دو ژن مربوط به آپوپتوز میتوکندریایی عضله قلبی موش‌های صحرایی شده و این احتمال وجود دارد که این موضوع درنهایت، موجب تشدید بروز فرایند آپوپتوز از طریق مسیر داخلی شود. یکی از علت‌های مغایرت یافته‌های تبریزی و همکاران با نتایج پژوهش حاضر سن موش‌هاست. در مطالعه تبریزی موش‌ها ۲۴ ماهه بودند. به نظر می‌رسد که افزایش سن یکی از مهم‌ترین عوامل بروز و تشدید آپوپتوز و افزایش استعداد آسیب، التهاب و استرس اکسایشی باشد. استرس اکسایشی، سایتوکاین‌های التهابی و اختلال در محافظت از استرس سلول، سازوکارهای احتمالی هستند که در افزایش آپوپتوز بافت‌های پیر مشارکت می‌کنند. هو و همکاران نشان دادند که بیان پروتئین کاسپاز ۳ در میوکارد موش‌ها در گروه تمرین پس از دوازده هفته تمرین استقامتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بوده است (۳۷-۳۹) کوکتورک و همکاران پاسخ آپوپتوزیسی را نسبت به فعالیت‌های ورزشی شدید دویدن روی تردمیل با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه با شیب ۵ درجه تا سرحد خستگی در عضلات دوقلو و نعلی موش‌ها مورد بررسی قرار دادند. نتایج در ارتباط با عضله نعلی حاکی از افزایش فعالیت کاسپاز ۳ بلافاصله پس از فعالیت بود. فعال‌سازی کاسپاز ۳ توسط اثرات کاسپاز ۹ و کاسپاز ۸ تفاوت معناداری با گروه کنترل داشت؛ اما در فعالیت کاسپازها در دو عضله، تفاوت معناداری مشاهده نشد. این پژوهشگران نتیجه‌گیری کردند که فعال‌سازی کاسپاز ۹ نشان‌دهنده این است که آپوپتوزیس در تارهای عضله نعلی، وابسته به مکانیسم داخلی و فعال‌سازی مکانیسم خارجی از طریق کاسپاز ۸ ایجاد می‌شود (۴۰).

بنابراین انجام تمرین شدید در شرایط دیابت و با افزایش سن می‌تواند خود منجر به افزایش التهاب و استرس اکسیداتیو شود و لذا به نظر می‌رسد مصرف آنتی‌اکسیدان‌های قوی و ضدالتهاب مانند عسل آویشن می‌تواند این اثرات را تعدیل کند (۶). در پژوهش حاضر مصرف عسل آویشن از نظر عوامل ضد آپوپتوزی مطالعه شد و مشاهده شد که بیان ژن Caspase3 و Caspase9 و نهایتاً Cytochrom C عضله قلبی را که در اثر تمرین تناوبی شدید افزایش یافته بود تعدیل کرد و کاهش داد و اندازه اثر آن نیز قابل‌توجه بود. لذا برای چنین بیمارانی که به انجام چنین

Copyright ©The authors

تمرینات شدیدی می‌پردازند، به‌عنوان یک روش مناسب از این جهت می‌توان پیشنهاد داد. تمرین همراه با عسل آویشن می‌تواند باعث کاهش بیان ژن‌های عامل‌های آپوپتوزی و افزایش بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی گردد و در بهبود سطوح گلوکز به‌واسطه تأثیر مؤلفه‌های ژنتیکی مؤثر در رهایی گلوکز کبدی و در بیماران دیابتی نوع دو مؤثر می‌باشد و عسل آویشن هم به دلیل ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی و جایگزین خوب برای نقش گلوکز و نیز نقش‌های متعدد آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی و ... موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات‌ها به‌ویژه گلوکز و نیز تنظیم متابولیسم لیپید و کاهش هیپرگلیسمی و دیس لیپیدمی و کاهش مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی افراد دیابتی نوع دو که دیابت مرتبط با ورزش و معمولاً همراه با اضافه‌وزن و چاقی نیز می‌باشد ممانعت می‌کنند (۶).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که انجام تمرینات تناوبی شدید توسط بیماران دیابتی ضمن استفاده از مزایای متعدد آن می‌تواند منجر به افزایش عامل آپوپتوزی شود. بنابراین استفاده از شدت‌های تعدیل‌یافته‌تر و همچنین استفاده از مواد غذایی با شاخص قندی و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی مناسب در کنار تمرین ورزشی برای مدیریت مصرف قندها برای این افراد اجتناب‌ناپذیر است. با این وجود انجام مطالعات بیشتر و تکمیلی در این زمینه ضروری می‌باشد

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری بود و با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1399.080 در کمیته اخلاق پزشکی پژوهشگاه تربیت‌بدنی تائید شد. لذا از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

References

1. .Zhang X, Chen C. A new insight of mechanisms, diagnosis and treatment of diabetic cardiomyopathy. Endocrine. 2012;41(3):398-409.
2. Bockus LB, Humphries KM. cAMP-dependent protein kinase (PKA) signaling is impaired in the diabetic heart. Journal of Biological Chemistry. 2015;290(49):29250-8.
3. Shiroo A, Salami S, Khadem Ansari M, Ghaderi Pakdel F, Khadem Vatani K, Saadatian R, et al. Protective Effect of Vitamin E on Diabetes Induced Apoptosis and Oxidative Stress in Rat Heart Tissue. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2008;10(1):67-74. [In Persian]
4. 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. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2018;7(4):488-97. [In Persian]
5. Roberts TJ, Burns AT, MacIsaac RJ, MacIsaac AI, Prior DL, La Gerche A. Exercise capacity in diabetes mellitus is predicted by activity status and cardiac size rather than cardiac function: a case control study .Cardiovascular diabetology. 2018;17(1):1-14.
6. Mazraekhatiri M, Arshadi S, Banaeifar A, Abednatanzi H. The effect of eight weeks of high-intensity interval training and thyme honey on changes in Pdx1 gene expression in pancreatic tissue and insulin resistance index male rats with type 2 diabetes. EBNESINA. 2022;24(1):4-15. [In Persian]
7. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MSA. Fructose might contribute to the hypoglycemic effect of honey. Molecules. 2012;17(2):1900-15.
8. Al-Waili N. Intrapulmonary administration of natural honey solution, hyperosmolar dextrose or hypoosmolar distill water to normal individuals and to patients with type-2 diabetes mellitus or hypertension: their effects on blood glucose level, plasma insulin and C-peptide, blood pressure and peaked expiratory flow rate. European journal of medical research. 2003;8(7):295-303.
9. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS. Honey: a novel antioxidant. Molecules. 2012;17(4):4400-23.
10. Mehri A. Effect of 8 Weeks Aerobic Training and Supplementation of Resveratrol on Oxidative Marker MDA and Antioxidant SOD and GPX Cardiomyocytes Tissue in Streptozotocin-Diabetic Rats. 2020.
11. Mehran M, Hoseini H, Hatami A, Taghizade M. Investigation of components of seven Species of Thyme Essential oils and comparison of their antioxidant properties. Journal of Medicinal Plants. 2016;15(58):134-40.
12. Imman Shahidi M HH. Animal models of diabetes. Iranian Journal of Diabetes and Lipid 2002;2:1-10.
13. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MSA, Sirajudeen KNS, Salleh MSM, Gurtu S . Antioxidant protective effect of glibenclamide and

Copyright ©The authors

metformin in combination with honey in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. International journal of molecular sciences. 2010;11(5):2056-66.

14. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MSA, Sirajudeen KN, Salleh MSM, Gurtu S. Differential responses to blood pressure and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic wistar-kyoto rats and spontaneously hypertensive rats: effects of antioxidant (Honey) treatment. International Journal of Molecular Sciences. 2011;12(3):1888-907.
15. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen M-C, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. Cardiovascular diabetology. 2007;6(1):1-7.
16. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. Journal of Applied Physiology. 1979;47(6):1278-83.
17. PITHON-CURI TNC. Aprogram Of Moderate Physical Training For Wistar Rats Based On Maximal Oxygen Consumption. Journal of strength and conditioning research. 2007;21(3):000.-
18. Høydal MA, Wisløff 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.
19. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2007;293(4):E916-E22.
20. Akbarzadeh A. The effect of high intencity interval training combined with curcumin supplementation on Plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. SSU_Journals. 2018;25(12):961-9.
21. Rezaei R, Norshahi M, Bigdeli M, Khodagholi F, Haghparast A. Effect of eight weeks of continuous and interval intense aerobic exercise on VEGFR-2 and VEGF-A values in the brain tissue of wistar rats. Journal of Exercise Physiology and Physical Activity. 2015;8(2):1213-21.
22. Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. Razi Journal of Medical Sciences. 2020;27(10):135-50.
23. Tokmakidis SP, Zois CE, Volaklis KA, Kotsa K, Touvra A-M. The effects of a combined strength and aerobic exercise program on glucose control and insulin action in women with type 2 diabetes. European journal of applied physiology. 2004;92(4):437-42.
24. Yousefipoor P, Tadibi V, Behpoor N, Parnow A, Delbari M, Rashidi S. Effects of aerobic exercise on glycemic control and risk factors CVD in people with type 2 diabetes. Med J Mashhad Univ Med Sci. 2015;57(9):976-84. [In Persian]
25. Jorge MLMP, de Oliveira VN, Resende NM, Paraiso LF, Calixto A, Diniz ALD, et al. The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism. 2011;60(9):1244-52.
26. Richard D, Wendy K, Richard K, Eugene J, Eric C, Barbara A. Critical review dietary carbohydrate restriction as the first approach in diabetes management: Critical review and evidence base. Nutrition. 2015;31(9):1-13.
27. Bello AI, Owusu-Boakye E, Adegoke BO, Adjei DN. Effects of aerobic exercise on selected physiological parameters and quality of life in patients with type 2 diabetes mellitus. International journal of general medicine. 2011;4:723.
28. Andreotti DZ, Silva JdN, Matumoto AM, Orellana AM, De Mello PS, Kawamoto EM. Effects of physical exercise on autophagy and apoptosis in aged brain: Human and animal studies. Frontiers in Nutrition. 2020;7:94.
29. Chen K-C, Peng C-C, Hsieh C-L, 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;2013.
30. 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.۳-۷۹۱:(٦)۲۰;۲۰۰٦ .
31. French JP, Hamilton KL, Quindry JC, Lee Y, Upchurch PA, Powers SK. Exercise-induced protection against myocardial apoptosis and necrosis: MnSOD, calcium-handling proteins, and calpain. The FASEB Journal. 2008;22(8):2862-71.
32. Zarali M, Etemad Z, Azizbeigi K, Karimi P. Effect of 8 Weeks of High Intensity Interval Training (HIIT) With and Without Calorie Restriction on Gene Expressio
33. n of Caspase-3 and Caspase-9 Proteins in Male Rats. Journal of Arak University of Medical Sciences. 220;(3):13-30. [In Persian]

Copyright ©The authors

34. Siahkohian M, Asgharpour-Arshad M, Bolboli L, Jafari A, Hesari FS. Effect of 12-weeks aerobic training on some indices of skeletal muscle apoptosis in male rats. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 2017;39(6):35-43. [In Persian]
35. Rastogi RP RR, Sinha RP. Apoptosis: Molecular mechanisms and pathogenicity. EXCLI J. 2009;8:155-88.
36. 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. TheScientificWorldJOURNAL. 2010;10:340-9.
37. 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.
38. Javid Tabrizi N, Bashiri J, Narimani Rad M. Effect of 12 Weeks of Treadmill Aerobic Training on Cytochrome c and Caspase-9 gene Expression in Cardiac Muscle of Male Rats. Qom University of Medical Sciences Journal. 2017;11(6):1-9. [In Persian]
39. Ho T-J, Huang C-C, Huang C-Y, Lin W-T. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, protects against excessive endurance exercise training-induced cardiac hypertrophy, apoptosis and fibrosis in rats. European journal of applied physiology. 2012;112(8):2943-55.
40. Song W, Kwak H-B, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced changes in apoptotic signaling in rat skeletal muscle. Antioxidants & redox signaling. 2006;8(3-4):517-28.
41. Koçtürk S, Kayatekin B, 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.
42. Safar nezhad A, peeri M, Azarbayjani MA, Delfan M. Effect of 8 Weeks High Intensity Interval Training on the Gene Expression of BAX and BCL-2 in the Left Ventricle of Diabetic Male Wistar Rats. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 28(7): 2833-43. [In Persian]

Copyright ©The authors