

Original Article

The effect of aerobic exercise with pistachio skin extract on the expression of Bax, caspase-3 and Bcl-2 in heart tissue of fat-fed rats

Kazemipour M¹, Matin Homaie H^{1*}, Farzanegi P²

1- Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, I.R. Iran.

Received: 2022/06/10 | Accepted: 2022/09/13

Abstract:

Background: Fatty diet increases apoptosis and cardiovascular disease. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of 4-week aerobic exercise along with pistachio skin extract on the expression of Bax, caspase-3 and Bcl-2 in heart tissue of fat-fed rats.

Materials and Methods: This is an experimental study. 12-week-old female rats were randomly divided into 5 groups of 6; Positive control (healthy), negative control (obesity), exercise + obesity, extract + obesity, exercise and extract + obesity (interaction of exercise and extract). Training was done for 4 weeks with moderate intensity of 50-60% Vo_{2max}. Pistachio skin extract was used at a dose of 60 mg per kilogram. qPCR method was used to check gene expression.

Results: The results showed that the expression of bax and caspase 3 was higher in the obese group than in the healthy group ($P=0.001$). The extract groups, the exercise group and the exercise + extract group had more bax and caspase 3 expression compared to the obese group ($P=0.001$). The expression of Bcl-2 in the obese group and the exercise group was lower than the healthy group ($P=0.001$). Also, the expression of Bcl-2 was higher in the exercise + extract group than in the obese group ($P=0.001$). There was a significant difference between the exercise group and the exercise+extract group with the extract group.

Conclusion: High-fat diet increase bax and caspase 3 and decreased Bcl-2 in rats. However, exercise and consumption of green pistachio skin extract together decrease bax and caspase 3 and increased Bcl-2.

Keywords: High fat diet, Aerobic exercise, Pistachio skin, Apoptosis

*Corresponding Author

Email: hasanmatinhomaee@gmail.com

Tel: 0098 21 224 81623

Fax: 0098 21 224 81621

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, September, 2022; Vol. 27, No 5, Pages 521-529

Please cite this article as: Kazemipour M, Matin Homaie H, Farzanegi P. The effect of aerobic exercise with pistachio skin extract on the expression of Bax, caspase-3 and Bcl-2 in heart tissue of fat-fed rats. *Feyz* 2022; 27(5): 521-9.

اثر تمرین هوایی همراه با مصرف عصاره پوسته بر بیان Bax، کاسپاز ۳ و Bcl-2 بافت قلب موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای چرب

۱ محمد کاظمی‌پور، حسن متین همایی، پروین فرزانگی^{*}

خلاصه:

سابقه و هدف: رژیم غذایی چرب باعث افزایش آپوپتوز و بیماری‌های قلبی - عروقی می‌شود. بنابراین هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر ۴ هفته تمرین هوایی همراه با مصرف عصاره پوسته بر بیان Bax، کاسپاز ۳ و Bcl-2 بافت قلب موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای چرب بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع تجربی است. موش‌های صحرایی ماده ۱۲ هفته‌ای به صورت تصادفی به ۵ گروه عتایی تقسیم شدند: کنترل مثبت (سالم)، کنترل منفی (چاق)، تمرین + چاقی، عصاره + چاقی، عصاره + چاقی (عامل تمرین و عصاره). تمرین ۴ هفته با شدت متوسط ۵۰-۶۰٪ VO_{2max} انجام شد. عصاره پوسته در دوز ۶۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم استفاده شد. برای بررسی بیان ژن از روش qPCR استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که بیان bax و کاسپاز ۳ در گروه چاق بیشتر از گروه سالم بود ($P=0.001$). گروه‌های عصاره، ورزش و ورزش + عصاره در مقایسه با گروه چاق بیان bax و کاسپاز ۳ بیشتری داشتند ($P=0.001$). بیان-2 Bcl در گروه چاق و گروه ورزش کمتر از گروه سالم بود ($P=0.001$). همچنین بیان-2 Bcl در گروه ورزش + عصاره بیشتر از گروه چاق بود ($P=0.001$). بین گروه ورزش و گروه ورزش + عصاره با گروه عصاره تفاوت معناداری وجود داشت.

نتیجه‌گیری: رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش bax و کاسپاز ۳ و کاهش ۲ Bcl در موش‌های صحرایی می‌شود؛ با این حال ورزش و مصرف عصاره پوسته سبز پسته به صورت توأم باعث کاهش bax و کاسپاز ۳ و افزایش ۲ Bcl می‌گردد.

واژگان کلیدی: رژیم غذایی پرچرب، ورزش هوایی، پوسته سبز، بیان bax، آپوپتوز

— دوماهنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره پیست و ششم، شماره ۵، آذر - دی ۱۴۰۱، صفحات ۵۲۹-۵۲۱

آپوپتوز باعث آسیب به کاردیومیوسیت‌ها و از بین رفتن آنها می‌شود، بنابراین به عنوان یک پیش‌بینی کننده، پیامدهای نامطلوب در بیماری‌های قلبی یا نارسایی آن شناخته می‌شود [۳]. مسیر آپوپتوز وابسته به گیرنده Fas خارجی (نوع I) است. در این فرآیند پروتئین آداپتور کاسپاز ۸ فعال شده، پروکاسپاز ۳ را می‌شکافد [۳]. علاوه بر این، کاسپاز ۸ فعال شده می‌تواند باعث آزادشدن سیتوکروم C میتوکندری شود [۳]. مسیر آپوپتوز وابسته به میتوکندری (نوع II) ذاتی نیز توسط عوامل داخلی به‌ویژه در میتوکندری واسطه‌گری می‌شود [۴]. علاوه بر این، BCL-2 یک پروتئین ضدآپوپتوز است که از آزادشدن سیتوکروم C را از میتوکندری افرایش می‌دهد [۴]. آزادسازی سیتوکروم C را از میتوکندری به سیتوزول آزاد می‌شود، هنگامی که سیتوکروم C از میتوکندری به سیتوزول آزاد می‌شود، مسؤول فعال‌سازی کاسپاز ۹ است که کاسپاز ۳ را فعال و برنامه آپوپتوز را اجرا می‌کند [۵]. از سوی دیگر ورزش می‌تواند قلب را در برابر آسیب ایسکمی - پرفیوژن مجدد میوکارد محافظت کند [۵] و یک برنامه توانبخشی مهم برای بیماران مبتلا به نارسایی قلبی محسوب می‌شود [۷، ۶، ۳]. در مطالعه‌ای گزارش شده است که ورزش هوایی، سطوح پروتئین Bax، فعالیت کاسپاز و تکه‌تکه شدن در عضلات قلب را بدون هیچ تغییری در آپوپتوز عضله DNA

مقدمه

چربی‌های غذایی عمده‌ای از تری‌گلیسرول تشکیل شده‌اند [۱]. انواع مختلفی از اسیدهای چرب براساس تعداد و موقعیت پیوندهای دوگانه آنها وجود دارد و ممکن است این تنوع ساختاری نشان‌دهنده اثرات بیولوژیکی متفاوتی بر سلامت انسان باشد [۱]. مصرف زیاد چربی در رژیم غذایی برای سلامت مضر تلقی می‌شود و دستورالعمل‌های تغذیه‌ای توصیه می‌کنند از رژیم غذایی پرچرب اجتناب شود و به جای آن مصرف غذاهای کم چرب توصیه می‌شود [۱]. چربی‌های غذایی از طریق مکانیسم‌های مختلف می‌توانند بر خطر بیماری‌های قلبی - عروقی تأثیر بگذارند [۲]. یکی از اثرات داشتن رژیم غذایی چرب افزایش آپوپتوز است [۲، ۱].

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
دانشی نویسنده مسئول

تهران، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه فیزیولوژی ورزشی
تلفن: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۳؛ دوچرخه‌سواری: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۱

پست الکترونیک: hasanmatinomaee@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۲۰؛ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۶/۲۲

این محققان می‌توان عصاره پوست پسته را جایگزین داروهای ضدچاقی کرد [۲۰]. اما در مورد اثرات پوست پسته بر کاهش آپوپتوز قلبی بهتنهایی، و نیز اثرات قلبی - عروقی آن به صورت توأم با ورزش تحقیق مستدلی یافت نشد. بنابراین هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی همراه با مصرف عصاره پوست پسته بر بیان Bax، Bcl-2 و کاسپاز ۳ در بافت قلب موش‌های صحرایی تعذیب شده با غذای چرب بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با کد اخلاق IR.IAU.M.RES.1401.002

در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تأیید شده است. در این پژوهش پس از تعیین روغن موردنظر برای ایجاد مدل چاقی در فاز دوم طرح بر روی بافت قلب بررسی صورت گرفت. از آنجایی که مطالعه حاضر در ردیف مطالعات مداخله‌ای قرار دارد و متغیرهای مستقل دستکاری شد تا اثر آن بر متغیرهای وابسته مورد بررسی قرار گیرد، این مطالعه در ردیف مطالعات تجربی قرار می‌گیرد و بهدلیل اینکه جامعه مورد مطالعه موش‌های آزمایشگاهی بود و تمامی عوامل مخدوش‌کننده محیطی تحت کنترل بودند، مطالعه به صورت تجربی و از نوع دسته اول است.

نگهداری حیوانات

تمامی رت‌ها پس از تهیه از انتستیو پاستور ایران به حیوانخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی انتقال داده شدند. به منظور سازگاری حیوانات با محیط حیوانخانه و کنترل عوامل مخدوش‌کننده، رت‌ها به مدت ۲ هفته قبل از شروع طرح در محیط مستقر شدند.

محیط حیوانخانه با استانداردهای زیر تنظیم و کنترل شد.

۱- تنظیم رطوبت نسبی $10\pm 5\%$

۲- تنظیم سیکل روشنایی با تایمر مخصوص به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی

۳- تنظیم دما $23\pm 2^\circ\text{C}$

۴- تهویه جهت خارج شدن بوی نامطبوع بهوسیله هوکش بی‌صدا

۵- نگهداری ۳ رت در هر قفس مخصوص جوندگان با جنس

پلی‌کربنات شفاف به ابعاد $15*26*42\text{ cm}^3$

۶- دسترسی آزاد با آب شهری و غذایی مخصوص موش‌های آزمایشگاهی (پلیت).

در این مطالعه از موش‌های صحرایی (رت)، جنسیت ماده، سن ۱۲ هفته‌ای و وزن بین ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم استفاده شد. تمامی رت‌ها سالم بودند و از انتستیو پاستور ایران تهیه و به صورت تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند.

اسکلتی در موش‌های چاق کاهش می‌دهد [۸]. دیگر مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌توانند آپوپتوز را از طریق القای سیگنالینگ مسیر ذاتی آنتی‌آپوپتویک ۲ BCL-2 تنظیم نمایند [۹]. فعالیت بدنی به عنوان یک کنترل گر برون‌زاد، متابولیسم لبید را از طریق توسعه بتا-اکسیداسیون و مهار لیپوژنر تنظیم می‌کند. در این شرایط امکان بهبود التهاب، تکثیر و مرگ سلولی تنظیم می‌گردد [۱۰]. از سوی دیگر استفاده از مکمل‌های تعذیب‌های در کنار ورزش می‌تواند به صورت توأم به اثرات بهتر منجر شود. از جمله می‌توان به پسته اشاره کرد که در کشور ما در حجم بسیاری تولید می‌شود، اما اثرات آن به خصوص همراه با ورزش کمتر مورد توجه قرار گرفته است. پسته دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است که به وجود لوتوئین و ترکیبات پلی‌فنلی از جمله فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها نسبت داده می‌شود. در میان آجیل‌های درختی، پسته دارای بالاترین میزان فیتواسترول از جمله استیگماسترول، کامپسترون و بتا-ستیتوسترون است [۱۱]. این مجموعه کامل از درشت‌مغذی‌ها و ریز‌مغذی‌ها به این معنی است که پسته تأثیر مثبتی بر وضعیت التهابی و اکسیداتیو دارد [۱۲]. مطالعات بالینی نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌های موجود در پسته باعث افزایش سطح لوتنین، بتا-کاروتون و گاما توكوفرون در خون می‌شوند [۱۳]. همچنین داده‌های بالینی نشان می‌دهند که مصرف پسته در بیماران باعث کاهش سطح انسولین و گلوکز می‌شود، بنابراین مقاومت به انسولین و سایر نشانگرهای خطر متابولیک و التهابی را بهبود می‌بخشد [۱۴]. اما تحقیقات بسیار محدودی اثرات پسته بر آپوپتوز در بافت قلب را بررسی کرده‌اند. Paola و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که دیابت باعث افزایش Bax و کاهش Bcl-2 در بافت قلب می‌شود. این حال مصرف پسته باعث کاهش bax و افزایش Bcl-2 در بافت قلب می‌گردد [۱۵]. Hadi و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که مصرف مغز پسته پروفایل لبیدی (TG، LDL-C، TC) را در بزرگسالان بهبود می‌بخشد و ممکن است در برابر بیماری‌های قلبی متابولیک محافظت کند [۱۶]. Terzo و همکاران (۲۰۱۸) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. با این حال بیشتر مطالعات بر اثرات مغز پسته توجه کرده‌اند و در مورد اثرات پوست سبز آن نتایج بسیار محدودی وجود دارد [۱۷]. آزاده‌دل و همکاران (۲۰۲۱) در تحقیقی نشان دادند که عصاره پوست سبز پسته دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است [۱۸]. Koyuncu و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که مصرف عصاره پوست پسته باعث ازبین‌بردن سلول‌های سلطانی می‌شود [۱۹]. نوراللهی و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که عصاره پوست سبز پسته دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌لیپاز است و این فعالیت‌ها در کسر تانی آن بیشتر از کسر غیرتانی است [۲۰]. از نظر

بافت‌برداری، وزن‌کشی انجام شد. بی‌هوشی در این روش به شکل تزریقی و طولانی مدت می‌باشد. داروی بی‌هوشی ترکیب کتامین ۱۰ درصد و زایلیزین ۲ درصد و دوز انتخاب شده برای کتامین ۱۰۰mg/kg و برای زایلیزین ۱۰mg/kg بود. سپس رت‌ها قربانی شدند و نمونه‌های قلبی بلافا صله در تانک ازت فریز و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

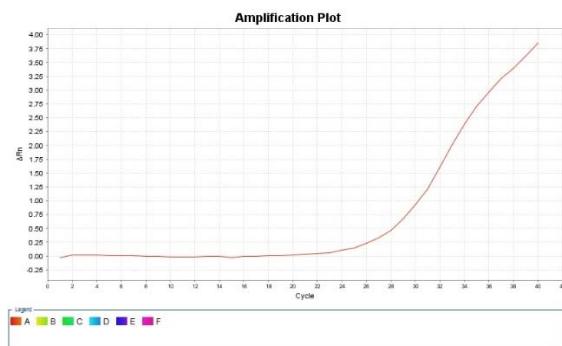
روش PCR

به منظور بررسی بیان ژن‌ها در بافت قلب، از روش qPCR استفاده شد. در این بررسی از ژن رفرنس Gapdh به عنوان ژن کنترل استفاده و بیان سایر ژن‌ها با آن مقایسه شد. به منظور انجام این تکنیک، ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شد و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. استخراج RNA به روش دستی با استفاده از ماده تراپیزول تهیه شده از شرکت کیازیست و طبق پروتکل استاندارد موجود برای روش تراپیزول انجام شد. ستز cDNAها با استفاده از کیت ستز cDNA پارس توس (Parstous, mashhad, iran) انجام شد. شماره کاتالوگ یا Cat no.: A101161. همچنین طراحی پرایمرها با برنامه Generunner نسخه ۶/۵ انجام شد.

علاوه بر این روش PCR با استفاده از کیت BioFACT کره انجام شد: ۲ X Real-Time PCR Master Mix (including . cat no. DQ385-40h(SYBR Green, High ROX شماره ۱، شکل شماره ۱-۳).

جدول شماره ۱- توالی پرایمرها

r-Bax R	CAG CCA CAA AGA TGG TCA
r-Bax F	GCA AAC TGG TGC TCA AGG
r-Bcl2-f	GAGTGGGATACTGGAGATGAAG
r-Bcl2-r	TGGTAGCGACGAGAGAACGTC
r-Casp3-R	GCACAAAGTGACTGGATGAAC
r-Casp3-F	TGTATTCTTACTCTACCGCAC



شکل شماره ۱- منحنی تصاعدی Bax

گروه‌ها شامل:

کنترل مثبت (سالم)

کنترل منفی (چاق)

تمرين + چاقی

عصاره + چاقی

تمرين و عصاره + چاقی (تعامل تمرين و عصاره)

به منظور ایجاد مدل چاقی، تمامی رت‌ها به مدت ۴ هفته با دوز ۰.۵

میلی لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن به صورت خوراکی و به روش

گاواظ و ۵ روز در هفته دریافت کردند [۲۱].

پروتکل تمرين هوایی

تمرين در تمامی گروه‌های تمرينی به صورت ۴ هفته‌ای بود

و برای سازگاری رت‌ها ۲ هفته قبل از شروع تمرينات، آشنايی با

تردميل مخصوص جوندگان به مدت ۲۰ دقيقه و با سرعت ۹ متر در

دقيقه انجام شد. شدت و مدت تمرين از روز اول تا روز آخر به

شرح زير بود.

پروتکل تمرين به صورت تمرين با شدت متوسط در محدوده ۶۰-

۵۰٪ Vo_{2max} بود که شامل ۵ جلسه تمرين در هفته (تردميل) با ۵

دقيقه گرم کردن و ۲۰ دقيقه فعالیت و ۵ دقيقه سرد کردن می‌شد. در

اولین روز شروع تمرين سرعت از ۱۶ m/s شروع شد و طبق پروتکل

هر هفته افزایش یافت و در روز آخر بعد از ۴ هفته به ۲۶ m/s رسید

[۲۲].

پروتکل مکمل

در اين طرح اثرات عصاره پوست سبز پسته با پروتکل و

فرمولاسيون اختصاصي تهيه شده در پژوهشگاه گیاهان داروبي کرج

مورد بررسی قرار گرفت. در اين روش ۱۰۰ ميلی گرم از نمونه با ۵

میلی لیتر از چهار حلال (استن ۷۰ درصد، اتانول ۵۰ درصد، میانل

۵۰ درصد و آب) به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق روی شيكر

خيسانده و عصاره‌گيري كامل شد. سپس نمونه‌ها برای ۱۰ دقيقه در

۳۰۰۰ g سانتريفيوژ شد [۱۸]. عصاره مورد استفاده در اين تحقيق از

پوست پسته و در دوز ۶۰ ميلی گرم به ازاي هر كيلوگرم می‌باشد.

عصاره به شكل مایع و خالص تهیه و با آب مقطر حل شد و به روش

گاواظ به مدت ۴ هفته و ۵ نوبت در هر هفته اعمال شد. تركيبات

مؤثره عصاره پوسته شامل آلفا پین، بتا پین، بتا توژن، ميرسن

و ۱۸ سينثول است.

بافت‌برداری

در اين روش ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله، تمامی

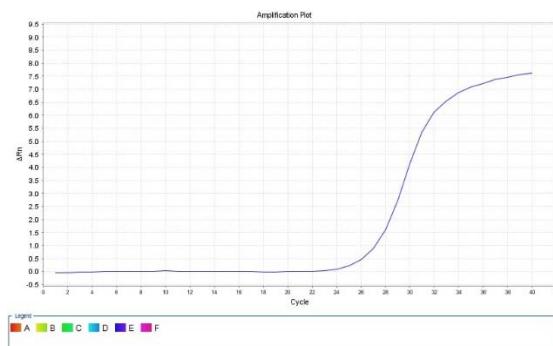
رت‌ها به مدت ۸ تا ۱۰ ساعت ناشتا ماندند و قبل از شروع

روش آماری

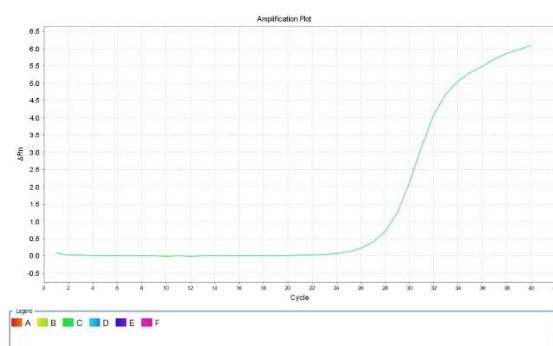
در این تحقیق برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بررسی تفاوت بین گروهی و از آزمون تعقیبی توکی برای مشخص کردن محل اختلاف گروه‌ها استفاده شد. تمامی بررسی‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح $\alpha=0.05$ انجام شد.

نتایج

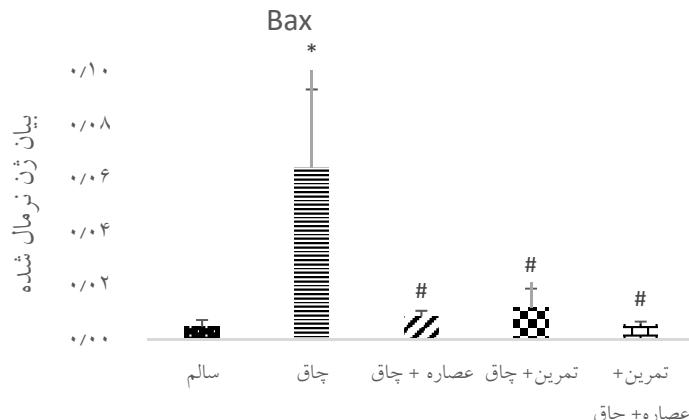
نتایج تحقیق نشان داد که از نظر بیان Bax در بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.001$). آزمون تعقیبی نشان داد که بین گروه چاق با سالم تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.001$) که بین گروه چاق و گروه ورزش + عصاره بیشتر بود. بین گروه‌های عصاره و بیان Bax در گروه چاق بیشتر بود. بین گروه‌های عصاره و گروه ورزش ($P=0.001$) و گروه ورزش + عصاره ($P=0.001$) با گروه چاق تفاوت معناداری وجود داشت و این گروه‌ها در مقایسه با گروه چاق بیان کمتر ژن Bax را داشتند. در بین سایر گروه‌ها تفاوت معناداری وجود نداشت (نمودار شماره ۱).



شکل شماره ۲- منحنی تصاعدی Bcl-2



شکل شماره ۳- منحنی تصاعدی کاسپاز-۳

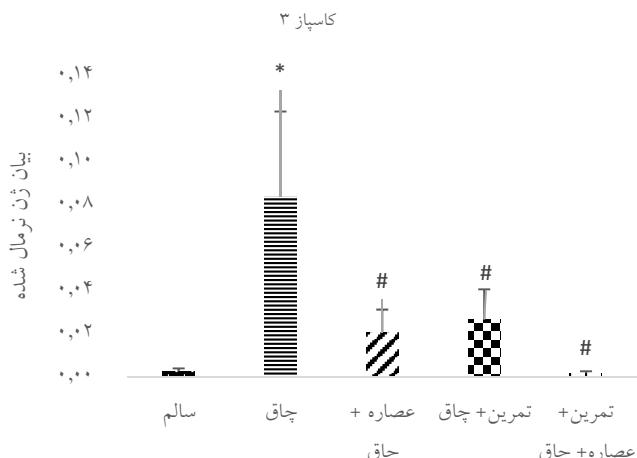


نمودار شماره ۱- بیان bax در گروه‌های مختلف

= معنادار در مقایسه با گروه سالم. # = معنادار در مقایسه با گروه چاق

چاق بیشتر بود. بین گروه‌های عصاره ($P=0.001$), گروه ورزش ($P=0.001$) و گروه ورزش + عصاره ($P=0.001$) با گروه چاق تفاوت معناداری وجود داشت و این گروه‌ها در مقایسه با گروه چاق بیان کمتر ژن Bax را داشتند. در بین سایر گروه‌ها تفاوت معناداری وجود نداشت. (نمودار شماره ۲)

از نظر بیان کاسپاز ۳ بین گروه چاق در مقایسه با گروه سالم تفاوت معناداری وجود داشت. تفاوت بین گروه‌های ورزش بهمراه عصاره، ورزش و عصاره با گروه چاق معنادار بود. نتایج تحقیق نشان داد که از نظر بیان کاسپاز ۳ در بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.001$). آزمون تعقیبی نشان داد که بین گروه چاق با سالم تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.01$) و بیان کاسپاز ۳ در گروه

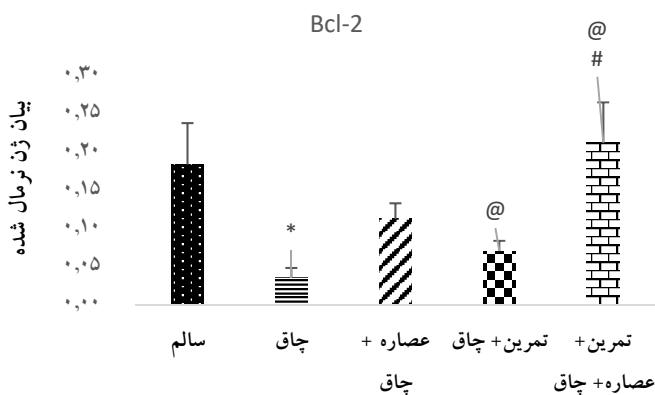


نمودار شماره ۲- بیان کاسپاز ۳ در گروههای مختلف

= معنادار در مقایسه با گروه سالم. # = معنادار در مقایسه با گروه چاق

مقایسه با گروه سالم داشتند. گروه ورزش + عصاره در مقایسه با گروه چاق به صورت معناداری بیان Bcl-2 بیشتری داشت ($P=0.001$). همچنین بین گروه ورزش ($P=0.001$) و گروه ورزش + عصاره ($P=0.01$) با گروه عصاره تفاوت معناداری وجود داشت. به نحوی که بیان Bcl-2 در گروه ورزش + عصاره بیشتر از گروه عصاره بود. اما بیان Bcl-2 در گروه ورزش کمتر از گروه عصاره بود (نمودار شماره ۳).

از نظر بیان Bcl-2 بین گروه چاق در مقایسه با گروه سالم تفاوت معناداری وجود داشت. تفاوت بین گروههای ورزش بهمراه عصاره، ورزش و عصاره با گروه چاق معنادار بود. نتایج آزمون واریانس نشان داد که در بین گروهها از نظر بیان Bcl-2 تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.001$). آزمون تعقیبی نیز مشخص کرد که بین گروه چاق ($P=0.001$) و گروه ورزش ($P=0.001$) با گروه سالم تفاوت معناداری وجود دارد و این گروهها بیان کمتر Bcl-2 را در



نمودار شماره ۳- بیان Bcl-2 در گروههای مختلف

= معنادار در مقایسه با گروه سالم، # = معنادار در مقایسه با گروه چاق، @ = معنادار در مقایسه با گروه عصاره + چاق

بحث

این تحقیق با هدف بررسی اثر تمرین هوایی همراه با مصرف عصاره پوست پسته بر بیان Bcl-2، Bax و کاسپاز ۳ در بافت قلب موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای چرب انجام شد. نتایج نشان داد که بیان bax و کاسپاز ۳ در گروه چاق بیشتر از گروه

بیان Bcl-2 در گروه چاق کمتر از گروه سالم بود. گروه ورزش به همراه عصاره در مقایسه با گروه چاق بیان Bcl-2 بیشتری داشت. همچنین تفاوت بین گروه ورزش بهمراه عصاره و گروه ورزش با گروه عصاره معنادار بود.

در تحقیقات آن‌ها نیز مصرف عصاره پسته باعث کاهش bax و افزایش Bcl-2 شد [۳۴]. به نظر می‌رسد که کاهش TNF- α و IL-1 β در اثر مصرف عصاره پسته و همچنین کاهش فشار اکسایشی از دلایل کاهش Bax و افزایش Bcl-2 است [۳۴]. نوراللهی و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که عصاره پوست پسته دارای اثرات لیپولیز می‌باشد و باعث افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود [۲۰]. مطالعات نشان داده است که عصاره پوست سبز پسته دارای محتوای بالای ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌های قابل توجه، ضدجهش‌زنی و فعالیت ضدمیکروبی است [۳۵]. صادقی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که عصاره پوست سبز پسته دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است [۳۶]. از آنجایی که رادیکال‌های آزاد باعث افزایش آپوپتوز می‌شوند، این احتمال وجود دارد که ترکیبات فنولی عصاره پوست پسته از طریق کاهش فشار اکسایشی باعث آپوپتوز می‌شوند. این نکته حائز اهمیت است که از نظر تأثیر بر بیان Bax و کاسپاز ۳ علیرغم این که اثر توأم ورزش و مصرف عصاره بهتر بود، اما بین اثر مصرف عصاره پوسته پسته بهنهایی، با ورزش و ورزش توأم با عصاره پسته تفاوت معناداری وجود نداشت. نکته دیگری که در مورد بیان ۲ Bcl-2 بسیار حائز اهمیت بود، اثر عصاره بهنهایی بود که در مقایسه با ورزش بهنهایی اثرات بهتری بر بیان ۲ Bcl-2 داشت. هرچند که ترکیبی از ورزش و مصرف عصاره پسته اثرات افزایشی بیشتری بر بیان ۲ Bcl-2 داشت. به نظر می‌رسد که ورزش و مصرف عصاره از طریق ترکیبی از سازوکارهای ذکر شده یعنی کاهش فشار اکسایشی و سایتوکاین‌های التهابی و اوتوفاژی حفاظتی به اثرات بهتری در بهبود آپوپتوز قلبی در موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای چرب می‌شود. در تحقیق حاضر سایتوکاین‌های التهابی و فشار اکسایشی بررسی نشده است که از محدودیت‌های تحقیق به شمار می‌رود.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش Bax و کاسپاز ۳ و کاهش ۲ Bcl در موش‌های صحرایی می‌شود. با این حال ورزش و مصرف عصاره بهنهایی توأم باعث کاهش bax و کاسپاز ۳ و افزایش Bcl-2 شد. هرچند ورزش و عصاره پسته بهنهایی دارای اثراتی در بهبود آپوپتوز قلبی بودند، اما ترکیب اثر ورزش و عصاره پسته به نتایج بهتری منجر شد.

سالم بود. گروه‌های عصاره، گروه ورزش و گروه ورزش + عصاره در مقایسه با گروه چاق بیان bax و کاسپاز ۳ داشتند. بیان ۲ Bcl-2 در گروه چاق و گروه ورزش کمتر از گروه چاق بود. همچنین بیان ۲ Bcl در گروه ورزش + عصاره بیشتر از گروه عصاره با گروه عصاره تفاوت معناداری وجود داشت. این یافته‌ها از نظر تأثیر غذای چرب بر آپوپتوز با نتایج Hsu و همکاران (۲۰۱۵) [۲۳] و Nakandakari (۲۰۱۹) [۲۴] همخوانی دارد. چندین مطالعه نشان داده است که سمیت چربی به اختلالات انقباضی قلبی ناشی از رژیم غذای چرب کمک می‌کند [۲۶، ۲۵] و پالمیتات برای تقلید سمیت چربی ناشی از رژیم غذایی چرب در مدل سلولی استفاده شده است [۲۸، ۲۷]. پالمیتات بیش از حد باعث مقاومت به انسولین، کمبود انرژی و درنتیجه به آپوپتوز منجر می‌شود [۲۷]. در حالی که افزایش عرضه انرژی باعث کاهش آپوپتوز ناشی از پالمیتات می‌شود [۲۶]. پالمیتات استرس و التهاب را افزایش می‌دهد و به هیپرتروفی و آسیب قلبی منجر می‌شود [۲۹]. علاوه بر این، پالمیتات ترکیب غشاء را تغییر می‌دهد و باعث اختلال در عملکرد میتوکندری و نیز آپوپتوز می‌شود [۲۷]. پالمیتات شار اتوفاژیک را مخلل می‌کند و به مرگ آپوپتوز منجر می‌شود [۲۳]. از نظر تأثیر ورزش نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Hong و همکاران (۲۰۲۰) [۳۰] و Huang (۲۰۲۰) [۳۱] و No (۲۰۱۶) [۳۲] همخوانی دارد. پوریکانی و همکاران (۱۳۹۶) نیز گزارش کردند که ورزش تناوبی شدید باعث کاهش عوامل Bax و افزایش Bcl-2 در موش‌های تغذیه با غذای چرب شد [۳۳]. به نظر می‌رسد که ورزش هوایی آپوپتوز را از طریق افزایش سطح P-AKT کاهش می‌دهد و در طولانی‌مدت باعث اوتوفاژی حفاظتی می‌شود که بیشتر متابولیسم لپید را از طریق لیپوفاژی، تنظیم استرس اکسایش، مهار التهاب و مهار آپوپتوز از طریق مسیرهای واپسی به کاسپاز ۹ تنظیم می‌کند [۳۳]. ممکن است پروتئین‌های دیگری به فرم فعال aX در میتوکندری متصل شوند، از این‌رو از الگومریزاسیون Bax و متعاقب آن از رهایی سیتوکروم C جلوگیری می‌کنند که یکی از این پروتئین‌ها BCI-2 است. نتایج بررسی‌ها نشان داده است که ورزش همراه با غذای کم‌چرب علاوه بر کاهش فشار اکسایشی باعث تعادل در سطوح BCL-2 می‌گردد [۳۳]. از نظر تأثیر پسته نیز علیرغم این که تحقیقات بسیار محدودی در این زمینه وجود دارد، نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Di Paola و همکاران (۲۰۱۸) [۳۰] همخوانی دارد.

References:

- [1] Kim Y, Je Y, Giovannucci EL. Association between dietary fat intake and mortality from all-causes, cardiovascular disease, and cancer: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Clin Nutr* 2021; 40(3): 1060-70.
- [2] Wang DD, Hu FB. Dietary fat and risk of cardiovascular disease: recent controversies and advances. *Annu Rev Nutr* 2017; 37: 423-46.
- [3] Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, Kuo CH, Chan YS, Lin YM, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013; 23(6): 566-73.
- [4] Kessler EL, Rivaud MR, Vos MA, van Veen TA. Sex-specific influence on cardiac structural remodeling and therapy in cardiovascular disease. *Biol Sex Differences* 2019; 10(1): 1-11.
- [5] Kim N-H, Kang PM. Apoptosis in cardiovascular diseases: mechanism and clinical implications. *Biol Sex Differ* 2010; 40(7): 299-305.
- [6] Baghaiee B, Bayatmakoo R, Karimi P, Pescatello L. Moderate Aerobic Training Inhibits Middle-Aged Induced Cardiac Calcineurin-NFAT Signaling by Improving TGF- β , NPR-A, SERCA2, and TRPC6 in Wistar Rats. *Cell J (YAKHTEH)* 2021; 23(7): 756-62.
- [7] Baghaiee B, Karimi P, Siahkouhian M, Pescatello LS. Moderate aerobic exercise training decreases middle-aged induced pathologic cardiac hypertrophy by improving Klotho expression, MAPK signaling pathway and oxidative stress status in Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci* 2018; 21(9): 911-9.
- [8] 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. *J Appl Physiol* 2008; 105(6): 1934-43.
- [9] Sinha-Hikim I, Sinha-Hikim AP, Shen R, Kim H, French SW, Vaziri ND, et al. A novel cystine based antioxidant attenuates oxidative stress and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. *Exp Mol Pathol* 2011; 91(1): 419-28.
- [10] Hannukainen JC, Nuutila P, Ronald B, Kaprio J, Kujala UM, Janatuinen T, et al. Increased physical activity decreases hepatic free fatty acid uptake: a study in human monozygotic twins. *J Physiol* 2007; 578(1): 347-58.
- [11] Ros E. Health benefits of nut consumption. *Nutrients* 2010; 2(7): 652-82.
- [12] Martorana M, Arcoraci T, Rizza L, Cristani M, Bonina FP, Saija A, et al. In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seed and skin extracts. *Fitoterapia* 2013; 85: 41-8.
- [13] Kay CD, Gebauer SK, West SG, Kris-Etherton PM. Pistachios increase serum antioxidants and lower serum oxidized-LDL in hypercholesterolemic adults. *J Nutr* 2010; 140(6): 1093-8.
- [14] Hernández-Alonso P, Salas-Salvadó J, Baldrich-Mora M, Juanola-Falgarona M, Bulló M. Beneficial effect of pistachio consumption on glucose metabolism, insulin resistance, inflammation, and related metabolic risk markers: a randomized clinical trial. *Diabetes Care* 2014; 37(11): 3098-105.
- [15] Fusco R, Gugliandolo E, Biundo F, Campolo M, Di Paola R, Cuzzocrea S. Inhibition of inflammasome activation improves lung acute injury induced by carrageenan in a mouse model of pleurisy. *FASEB J* 2017; 31(8): 3497-511.
- [16] Hadi A, Asbaghi O, Kazemi M, Haghshian HK, Pantovic A, Ghaedi E, et al. Consumption of pistachio nuts positively affects lipid profiles: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2021; 1-14.
- [17] Terzo S, Caldara GF, Ferrantelli V, Puleio R, Cassata G, Mulè F, et al. Pistachio consumption prevents and improves lipid dysmetabolism by reducing the lipid metabolizing gene expression in diet-induced obese mice. *Nutrients* 2018; 10(12): 1857.
- [18] Azadedel S, Hanachi P, Saboora A. Investigation on antioxidant activity of pistachio (*Pistacia vera* L.) skin extraction. *IJBIO* 2018; 30(4): 722-31. [in Persian]
- [19] Koyuncu İ, Gönel A, Temiz E, Karaoğlu E, Uyar Z. Pistachio green hull extract induces apoptosis through multiple signaling pathways by causing oxidative stress on colon cancer cells. *Anti-Cancer Anticancer Agents Med Chem* 2021; 21(6): 725-37.
- [20] Noorolahi Z, Sahari MA, Barzegar M, Ahmadi Gavighi H. Tannin fraction of pistachio green hull extract with pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activity. *J Food Biochem* 2020; 44(6): e13208.
- [21] Barjaste Yazdi A, Azarbayjani M, Matin Homaei H, Peeri M, Torabi F, Ramezani Z. The effect of endurance training and adenosine consumption on the alar gene expression in the visceral adipose tissue of obese male rats. *Metabol Exercise* 2017; 7(2): 115-24. [in Persian]
- [22] Delfani N, Peeri M, Matin Homaei H. Effect of Aerobic Exercise and Hydroalcoholic Extract of Tribulus Terrestris on Mitochondrial Oxidative Stress Markers in Heart Tissue of Rats Poisoned With Hydrogen Peroxide. *Complementary Med J* 2021; 11(1): 30-43. [in Persian]
- [23] Hsu HC, Chen CY, Lee BC, Chen MF. High-fat diet induces cardiomyocyte apoptosis via the inhibition of autophagy. *Eur J Nutr* 2016; 55(7): 2245-54.
- [24] Nakandakari SCBR, Munoz VR, Kuga GK, Gaspar RC, Sant'Ana MR, Pavan ICB, et al. Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. *Brain Behav Immun* 2019; 79: 284-93.

- [25] Knowles CJ, Cebova M, Pinz IM. Palmitate diet-induced loss of cardiac caveolin-3: a novel mechanism for lipid-induced contractile dysfunction. *PLoS One* 2013; 8(4): e61369.
- [26] Ceylan-Isik AF, Kandadi MR, Xu X, Hua Y, Chicco AJ, Ren J, et al. Apelin administration ameliorates high fat diet-induced cardiac hypertrophy and contractile dysfunction. *J Mol Cell Cardiol* 2013; 63: 4-13.
- [27] Nobuhara M, Saotome M, Watanabe T, Urushida T, Katoh H, Satoh H, et al. Mitochondrial dysfunction caused by saturated fatty acid loading induces myocardial insulin-resistance in differentiated H9c2 myocytes: a novel ex vivo myocardial insulin-resistance model. *Exp Cell Res* 2013; 319(7): 955-66.
- [28] Chou IP, Lin YY, Ding ST, Chen CY. Adiponectin receptor 1 enhances fatty acid metabolism and cell survival in palmitate-treated HepG2 cells through the PI3 K/AKT pathway. *Eur J Nutr* 2014; 53(3): 907-17.
- [29] Palomer X, Capdevila-Busquets E, Botteri G, Salvadó L, Barroso E, Davidson MM, et al. PPAR β/δ attenuates palmitate-induced endoplasmic reticulum stress and induces autophagic markers in human cardiac cells. *Int J Cardiol* 2014; 174(1): 110-8.
- [30] Cui JW, Hong Y, Kuo YM, Yu SH, Wu XB, Cui Z-Y, et al. Voluntary exercise training attenuated the middle-aged maturity-induced cardiac apoptosis. *Life Sci* 2020; 259: 118187.
- [31] Huang CY, Lin YY, Hsu CC, Cheng SM, Shyu WC, Ting H, et al. Antiapoptotic effect of exercise training on ovariectomized rat hearts. *J Appl Physiol* 2016; 121(2): 457-65.
- [32] No MH, Heo JW, Yoo SZ, Kim CJ, Park DH, Kang JH, et al. Effects of aging and exercise training on mitochondrial function and apoptosis in the rat heart. *Pflugers Arch* 2020; 472(2): 179-93.
- [33] Yaghoobpour Yekani O, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Effect of type of training on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet. *Yafteh* 2018; 19(5): 106-16. [in Persian]
- [34] Di Paola R, Fusco R, Gugliandolo E, D'Amico R, Campolo M, Latteri S, et al. The antioxidant activity of pistachios reduces cardiac tissue injury of acute ischemia/reperfusion (I/R) in diabetic streptozotocin (STZ)-induced hyperglycaemic rats. *Front Pharmacol* 2018; 9: 51.