

The effect of combination of regular continuous exercise and resveratrol supplementation on some regulatory and executive factors of hepatocytic apoptosis in male diabetic rats

Ngarestani HR¹, Hosseinpour-Delavar S^{2*}, Azizi M³, Azarbaijani MA⁴, Farzangi P⁵

1- Department of Physiology of Sport, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, I.R. Iran.

2- Department of Physical Education and sport science, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, I.R. Iran.

3- Department of Physical Education, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, I.R. Iran.

4- Department of Physiology of Sport, Faculty of Physical Education, Tehran University Center, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

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

Received: 2018/10/21 | Accepted: 2019/09/29

Abstract:

Background: Complex metabolic disorder with hyperglycemia is called diabetes. This study aimed to determine the effect of regular continuous exercise and resveratrol on regulatory and executive factors of hepatocytic apoptosis.

Materials and Methods: In this experimental study, 60 male Wistar rats were divided into 6 groups of 10, including healthy control, diabetic, diabetic saline, resveratrol supplement, continuous exercise, and resveratrol+continuous exercise. The training program was conducted for 8 weeks and 5 days a week. Resveratrol was injected in resveratrol supplementation supplements and resveratrol+continuous exercise with a dose of 20 mg. Evaluation of apoptotic markers in the liver tissue was performed by ELISA.

Results: BAX and CASPASE-3 concentrations were higher in diabetic and diabetic-saline groups ($P \leq 0.001$). Bcl-2 concentration was also lower in the diabetic and diabetic saline groups ($P \leq 0.001$). Mean BAX/BCL2 ratio was higher in diabetic and diabetic saline groups ($P \leq 0.001$). Continuous exercise, resveratrol administration alone or in particular resveratrol intervention with continuous exercise, significantly decreased the mean BAX and CASPASE-3 concentrations ($P \leq 0.001$), BAX/BCL2 ($P \leq 0.001$) ratio and there was a significant increase in BCL-2 concentration ($P \leq 0.001$) in hepatocyte tissue.

Conclusion: The use of non-pharmacological exercise therapy, resveratrol supplementation, and in particular the combination of these two, can be effective in reducing hepatocyte apoptosis caused by diabetes.

Keywords: Diabetes, Continuous exercise, Resveratrol, BAX, Bcl-2 and CASPASE-3

***Corresponding Author:**

Email: delavar2009@iauksh.ac.ir

Tel: 0098 918 833 5826

Fax: 0098 833 424 4559

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, February, 2020; Vol. 23, No 6, Pages 605-614

Please cite this article as: Ngarestani HR, Hosseinpour-Delavar S, Azizi M, Azarbaijani MA, Farzangi P. The effect of combination of regular continuous exercise and resveratrol supplementation on some regulatory and executive factors of hepatocytic apoptosis in male diabetic rats. *Feyz* 2020; 23(6): 605-14.

اثر ترکیبی تمرین تداومی منظم و مصرف مکمل رزوراترول بر برخی از فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز هپاتوسیتی در رت‌های نر مبتلا به دیابت

حمیدرضا نگارستانی^۱، صدیقه حسین‌پور دلاور^{۲*}، معصومه عزیزی^۳، محمدعلی آذربایجانی^۴، پروین فرزانی^۵

خلاصه:

سابقه و هدف: اختلال متابولیسمی پیچیده با هیپرگلیسمی را دیابت می‌گویند. هدف از این مطالعه، بررسی اثر ترکیبی تمرین تداومی منظم و مصرف رزوراترول بر فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز هپاتوسیتی بود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی ۶۰ سر موش نر نژاد ویستار در ۶ گروه ۱۰ تایی شامل گروه‌های کنترل سالم، دیابتی، دیابتی سالمین، مکمل رزوراترول، تمرین تداومی و مکمل رزوراترول + تمرین تداومی تقسیم شدند. برنامه‌ی تمرین به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. رزوراترول در گروه‌های مکمل رزوراترول و مکمل رزوراترول + تمرین تداومی با دوز ۲۰ میلی‌گرم تزریق شد. ارزیابی از نشانگران آپوپتوز در بافت کبدی به وسیله‌ی ELISA انجام شد. نتایج: غلظت BAX و CASPASE-3 در گروه‌های بیمار دیابتی و دیابتی-سالمین در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشتر بوده است ($P \leq 0/001$). غلظت Bcl-2 هم در گروه‌های بیمار دیابتی و دیابتی-سالمین در مقایسه با سایر گروه‌ها کمتر بوده است ($P \leq 0/001$). میانگین نسبت BAX/BCL2 در گروه‌های بیمار دیابتی و دیابتی-سالمین بیشتر بوده است ($P \leq 0/001$). تمرین تداومی، تجویز رزوراترول به تنهایی و یا به‌ویژه مداخله‌ی رزوراترول همراه با ورزش تداومی سبب کاهش معنی‌داری در میانگین غلظت BAX و CASPASE-3 ($P \leq 0/001$)، نسبت غلظت BAX/BCL2 ($P \leq 0/001$) و افزایش معنی‌دار غلظت BCL-2 ($P \leq 0/001$) در بافت هپاتوسیتی شد. نتیجه‌گیری: استفاده از شیوه‌های درمانی غیردارویی تمرین ورزشی، مکمل رزوراترول و به‌ویژه ترکیبی از این دو می‌تواند در کاهش آپوپتوز هپاتوسیتی ناشی از بیماری دیابت مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرین تداومی، رزوراترول، BAX، Bcl-2 و CASPASE-3

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۹۸، صفحات ۶۱۴-۶۰۵

مقدمه

در حال حاضر دیابت با شیوع جهانی ۵ درصد، یک بیماری همه‌گیر در جمعیت عمومی شناخته شده است. دیابت، اختلالی متابولیک است که منجر به نقص در ترشح انسولین، عملکرد آن یا هر دو می‌شود و با افزایش سطوح پلاسمایی گلوکز (هیپرگلیسمیا) و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است [۲،۱]. سطوح بالای گلوکز خون می‌تواند باعث عدم فعالیت آنزیمی، افزایش سطوح واسطه‌های التهابی و همچنین تغییر در وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی شود.

این مسیرها در تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) در وضعیت دیابتی دخیل هستند که به‌طور مستقیم منجر به افزایش استرس اکسیداتیو در انواع مختلف اندام‌ها و بافت‌ها می‌شود [۳]. استرس اکسیداتیو در نتیجه‌ی عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن از یک‌سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود که نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی مقاومت انسولین و ایجاد آپوپتوز در شرایط هیپرگلیسمی دارد [۵،۴]. در صورت ادامه یافتن استرس اکسیداتیو، آسیب‌های اکسیداتیو به بیومولکول‌های حیاتی (مانند ژنوم) وارد می‌آید و تجمع این آسیب‌ها منجر به برخی اثرات بیولوژیکی مانند تغییر در انتقال پیام، تغییر در بیان ژن، میتوز، تبدیل، جهش و مرگ سلولی می‌شود [۶]. آپوپتوز یک فرآیند طبیعی در سلول‌هاست که سبب حذف سلول‌های پیر، آسیب‌دیده و مضر می‌شود و هرگونه اختلال در این مسیر سبب رشد سلول‌های غیرعادی مانند سلول‌های سرطانی خواهد شد. گاهی کاهش این مسیر سبب رشد سلول‌های غیرعادی مانند سلول‌های سرطانی و گاهی افزایش غیرطبیعی آن سبب از بین رفتن سلول‌های نرمال خواهد شد. آپوپتوز از دو مسیر داخلی و خارجی سبب فعال شدن گروه خاصی از پروتئازهای وابسته به آپاراتات به نام کاسپازها، به‌خصوص کاسپاز ۳ می‌شود. در مسیر خارجی با

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران
۲. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران
۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران
۴. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۵. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

کرمانشاه، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی

دورنویس: ۰۸۳۳۴۲۴۴۵۵۹

تلفن: ۰۹۱۸۸۳۳۵۸۲۶

پست الکترونیک: delavar2009@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۷/۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۲۹

افزایش میزان فاکتور الفاکنده نکروز ($TNF-\alpha$) در تومور ترشح شده از ماکروفاژها و سلول‌های T و اتصال آن به گیرنده‌های سطح سلولی و ترمیزاسیون آن‌ها کاسپازهای داخل سلولی فعال می‌شوند، در حالی که در مسیر داخلی که به‌عنوان مسیر میتوکندریایی هم شناخته می‌شود، با تغییر نسبی واسطه‌های پروآپوپتیک (مانند Bax) و آنتی‌آپوپتیک (مانند Bcl-2) نفوذپذیری غشای میتوکندری به سیتوکروم C افزایش یافته و با رها سازی آن، آپوپتوزوم شکل گرفته، سبب فعال شدن کاسپاز می‌شود [۸،۷]. کبد یکی از ارگان‌های حیاتی بدن می‌باشد که نقشی برجسته و اساسی در سم‌زدایی زنبیوتیک‌ها، آلاینده‌های محیطی و داروهای شیمیایی برعهده دارد؛ از این رو دیابت می‌تواند سبب آسیب و نارسایی شدید کبدی شود [۸]. مطالعات اخیر نشان می‌دهد یکی از مکانیزم‌های مؤثر در بروز مشکل کبدی، ممکن است افزایش فعالیت آپوپتوتیک باشد [۹]. حال محققان پزشکی و ورزشی درصدد آن هستند که به شیوه‌های مختلفی از بروز استرس اکسیداتیو و آسیب‌های مربوط به آن جلوگیری کرده، یا این آسیب‌ها را به حداقل برسانند [۱۰]. از این رو مطالعات روی بیماران دیابتی نشان می‌دهد که درمان‌های مکمل مورد استفاده در این بیماری رژیم‌های غذایی و تغییر سبک زندگی، استفاده از داروهای گیاهی حاوی عوامل ضد دیابت و تمرینات ورزشی می‌باشد [۱۱]. درمان بر پایه گیاهان دارویی به‌طور معمول در مقایسه با درمان بر پایه داروهای شیمیایی، آسان‌تر و در دسترس‌تر است و در برخی موارد عوارض جانبی کمتری را به همراه دارد [۱۲]. رزوراترول، یک ماده شیمیایی طبیعی است که در انگور و شراب قرمز پیدا شده است و اثرات محافظتی بر روی آپوپتوز سلول اندوتلیال و آسیب اکسیداتیو دارد [۱۳،۱۴]. مطالعات تجربی و پیش‌تجربی متعدد اثرات سودمند این ماده را در کاهش استرس اکسیداتیو در هیپاتوسیت‌ها نشان داده است [۱۵]. رزوراترول اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی خود را با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تعدیل متابولیسم چربی و کاهش پراکسیداسیون چربی اعمال می‌کند [۱۶،۱۷]. در مطالعه‌ای Su و همکاران با مصرف (۰/۵ mg/kg Bw) رزوراترول در مدت ۴۲ روز توسط رت‌های مبتلا به دیابت با استرپتوزوتوسین هیپرگلیسمیا به‌طور معنی‌داری در مقایسه با حیوانات مبتلا به دیابت درمان‌نشده کاهش یافته است [۱۸]. Chi و همکاران، نیز مشاهده نمودند که ۹۰-۱۲۰ دقیقه بعد از مصرف رزوراترول (۰/۲۵ mg/kg Bw) در موش‌های مبتلا به دیابت فرآیند هیپرگلیسمیا به‌طور معنی‌داری نسبت به موش‌های غیرمبتلا به دیابت کاهش یافته است [۱۹]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر Schmatz و همکاران با مصرف (۰/۵

مواد و روش‌ها

در این تحقیق نمونه‌های پژوهش حاضر را موش‌های آزمایشگاهی تشکیل می‌دهند. با توجه به این‌که آزمودنی‌ها در آزمایشگاه به لحاظ بسیاری از متغیرها تحت کنترل بودند، از این رو پژوهش حاضر از نوع تجربی می‌باشد. نمونه‌ی آماری طرح پژوهشی موش‌های نر نژاد ویستار حدود دوساله با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم بودند. این حیوانات پس از انتخاب در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری و آشنایی با پروتکل تمرین به ۶ گروه تقسیم شدند (۱۰ سر در هر گروه) که شامل گروه‌های کنترل سالم، دیابتی، سالمین، مکمل رزوراترول، تمرین تداومی و مکمل رزوراترول + تمرین تداومی بودند. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 55 ± 5 درصد و چرخه‌ی روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب قرار گرفتند. در تمام مراحل پژوهش، آب موردنیاز حیوان به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در دسترس آن‌ها بود. در این پروژه برای دیابتی نمودن موش‌ها روش STZ به‌صورت تک‌دوز استفاده شد. القای دیابت با تزریق تک‌دوز ۵۰ ml/kg استرپتوزوتوسین به‌صورت داخل صفاقی صورت گرفت و قند خون بالای ۲۵۰ mg/dl چهل و

افزایش میزان فاکتور الفاکنده نکروز ($TNF-\alpha$) در تومور ترشح شده از ماکروفاژها و سلول‌های T و اتصال آن به گیرنده‌های سطح سلولی و ترمیزاسیون آن‌ها کاسپازهای داخل سلولی فعال می‌شوند، در حالی که در مسیر داخلی که به‌عنوان مسیر میتوکندریایی هم شناخته می‌شود، با تغییر نسبی واسطه‌های پروآپوپتیک (مانند Bax) و آنتی‌آپوپتیک (مانند Bcl-2) نفوذپذیری غشای میتوکندری به سیتوکروم C افزایش یافته و با رها سازی آن، آپوپتوزوم شکل گرفته، سبب فعال شدن کاسپاز می‌شود [۸،۷]. کبد یکی از ارگان‌های حیاتی بدن می‌باشد که نقشی برجسته و اساسی در سم‌زدایی زنبیوتیک‌ها، آلاینده‌های محیطی و داروهای شیمیایی برعهده دارد؛ از این رو دیابت می‌تواند سبب آسیب و نارسایی شدید کبدی شود [۸]. مطالعات اخیر نشان می‌دهد یکی از مکانیزم‌های مؤثر در بروز مشکل کبدی، ممکن است افزایش فعالیت آپوپتوتیک باشد [۹]. حال محققان پزشکی و ورزشی درصدد آن هستند که به شیوه‌های مختلفی از بروز استرس اکسیداتیو و آسیب‌های مربوط به آن جلوگیری کرده، یا این آسیب‌ها را به حداقل برسانند [۱۰]. از این رو مطالعات روی بیماران دیابتی نشان می‌دهد که درمان‌های مکمل مورد استفاده در این بیماری رژیم‌های غذایی و تغییر سبک زندگی، استفاده از داروهای گیاهی حاوی عوامل ضد دیابت و تمرینات ورزشی می‌باشد [۱۱]. درمان بر پایه گیاهان دارویی به‌طور معمول در مقایسه با درمان بر پایه داروهای شیمیایی، آسان‌تر و در دسترس‌تر است و در برخی موارد عوارض جانبی کمتری را به همراه دارد [۱۲]. رزوراترول، یک ماده شیمیایی طبیعی است که در انگور و شراب قرمز پیدا شده است و اثرات محافظتی بر روی آپوپتوز سلول اندوتلیال و آسیب اکسیداتیو دارد [۱۳،۱۴]. مطالعات تجربی و پیش‌تجربی متعدد اثرات سودمند این ماده را در کاهش استرس اکسیداتیو در هیپاتوسیت‌ها نشان داده است [۱۵]. رزوراترول اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی خود را با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تعدیل متابولیسم چربی و کاهش پراکسیداسیون چربی اعمال می‌کند [۱۶،۱۷]. در مطالعه‌ای Su و همکاران با مصرف (۰/۵ mg/kg Bw) رزوراترول در مدت ۴۲ روز توسط رت‌های مبتلا به دیابت با استرپتوزوتوسین هیپرگلیسمیا به‌طور معنی‌داری در مقایسه با حیوانات مبتلا به دیابت درمان‌نشده کاهش یافته است [۱۸]. Chi و همکاران، نیز مشاهده نمودند که ۹۰-۱۲۰ دقیقه بعد از مصرف رزوراترول (۰/۲۵ mg/kg Bw) در موش‌های مبتلا به دیابت فرآیند هیپرگلیسمیا به‌طور معنی‌داری نسبت به موش‌های غیرمبتلا به دیابت کاهش یافته است [۱۹]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر Schmatz و همکاران با مصرف (۰/۵

آزمایشگاه ارسال شد. سطوح BCL2 و BAX با استفاده از کیت‌های تجاری ویژه ساخت شرکت زلیبو کشور آلمان به ترتیب با حساسیت کمتر از ۰/۰۷۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ۱۵/۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر به روش الیزا تعیین شدند [۲۸]. همچنین به منظور کمی نمودن فعالیت CASPASE-3 از کیت سنجش فعالیت ساخت شرکت زلیبو کشور آلمان استفاده شد [۲۹]. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد ارائه شدند. داده‌ها با استفاده از مانوا و در صورت لزوم از آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند. سطح معناداری در نظر گرفته شده ۰/۰۵ و کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۳ انجام شد.

نتایج

میانگین و انحراف معیار فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز هپاتوسیستی و نتایج حاصل از تحلیل مانوا در گروه‌های مختلف به ترتیب در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تحلیل مانوا بر روی برخی فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز هپاتوسیستی در گروه‌های مختلف رت‌های نر مبتلا به دیابت در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. میانگین غلظت BAX و CASPASE-3 در گروه‌های بیمار دیابتی (به ترتیب برابر با $3/18 \pm 20/314$ نانوگرم در هر میلی‌گرم پروتئین و $0/364 \pm 2/35$ نانوگرم در هر میلی‌لیتر) و دیابتی - سالی (به ترتیب برابر با $3/723 \pm 21/871$ نانوگرم در هر میلی‌گرم پروتئین و $0/325 \pm 2/291$ نانوگرم در هر میلی‌لیتر پروتئین) در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است ($P \leq 0/001$).

هشت ساعت پس از تزریق، به‌عنوان دیابت القا شده در نظر گرفته شد [۲۵]. قبل از شروع پروتکل اصلی، آزمودنی‌های قرارگرفته در گروه تمرین تداومی و گروه مکمل رزوراترول + تمرین تداومی 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. برنامه‌ی تمرینی اصلی به مدت ۸ هفته بود و پروتکل تمرین تداومی بدین‌صورت انجام شد که در هفته‌ی آغازین با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه، زمان ۵ دقیقه و شیب ۱۵ درصد شروع و هر هفته به سرعت، ۲-۱ متر بر دقیقه و به زمان نیز ۳-۲ دقیقه به‌صورت روزانه افزوده شد؛ به‌طوری‌که در هفته‌ی چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان ۶۰ دقیقه رسید. تعداد جلسات ۵ جلسه در هفته می‌باشد [۲۶]. مکمل رزوراترول براساس مطالعات پیشین تهیه شد، برای هر بار تجویز رزوراترول، ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۷ درصد یا ۱۰ DMSO درصد با آب به ازای هر موش تهیه و رزوراترول در آن معلق و تجویز شد و برای کاهش درصد خطا برای کلیه‌ی آزمودنی‌ها محلول به‌صورت یک‌جا تهیه شد و در گروه‌های مکمل رزوراترول و مکمل رزوراترول+تمرین تداومی با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد و این روند به مدت ۸ هفته انجام گرفت [۲۷]. پس از اجرای تحقیق تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به‌دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلوزین (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) با نسبت ۵ به ۲ بیهوش شدند، سپس بافت کبد آن‌ها از ناحیه‌ی ناف جدا و در محیط 80°C - نگهداری و سپس به

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز هپاتوسیستی در گروه‌های مختلف

گروه	غلظت BAX (ng/mg)	غلظت CASPASE-3 (ng/ml)	غلظت BCL-2 (ng/mg)	BAX/BCL2 (ng/mg)
کنترل	$1/28 \pm 9/52$	$0/271 \pm 1/208$	$1/128 \pm 4/815$	$0/352 \pm 2/038$
بیمار-دیابتی	$3/18 \pm 20/314$	$0/364 \pm 2/35$	$0/383 \pm 2/321$	$2/011 \pm 8/968$
دیابتی-سالی	$3/723 \pm 21/871$	$0/325 \pm 2/291$	$0/479 \pm 2/428$	$2/550 \pm 9/330$
رزوراترول	$2/648 \pm 14/1$	$0/353 \pm 1/694$	$0/548 \pm 3/61$	$0/654 \pm 3/938$
تداومی	$2/476 \pm 13/9$	$0/368 \pm 1/642$	$0/462 \pm 3/817$	$1/03 \pm 3/743$
تداومی-رزوراترول	$2/637 \pm 11/757$	$0/430 \pm 1/422$	$0/474 \pm 3/978$	$0/893 \pm 3/016$

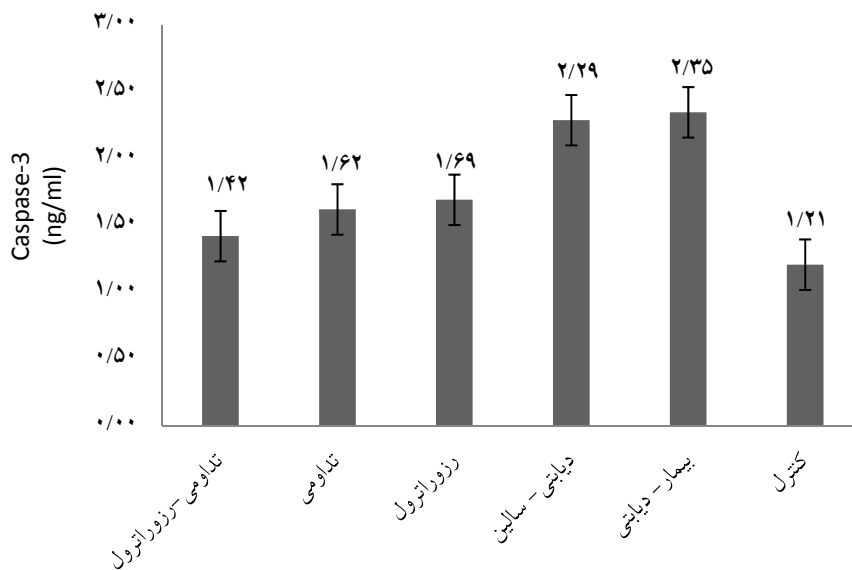
جدول شماره ۲- نتایج حاصل از تحلیل مانوا فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز هیپاتوسیتی در گروه‌های مختلف

متغیر	منبع تغییرات	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	سطح معنی‌داری	اندازه اثر	توان آزمون
غلظت BAX (ng/mg)	مقدار ثابت	۹۷۵۹/۶۹۷	۱	۹۷۵۹/۶۹۷	۲۱/۶۱۶	۰/۰۰۱	۰/۶۲۱	۱
	گروه	۸۲۳/۶۷۶	۵	۱۶۴/۷۳۵				
	خطا	۲۷۴/۳۵۳	۳۶	۷/۶۲۱				
CASPASE-3 (ng/ml)	مقدار ثابت	۱۳۱/۳۳۴	۱	۱۳۱/۳۳۴	۱۱/۷۹۳	۰/۰۰۱	۰/۶۹۲	۱
	گروه	۷/۴۶۱	۵	۱/۴۹۲				
	خطا	۴/۵۵۵	۳۶	۰/۱۲۷				
غلظت BCL-2 (ng/mg)	مقدار ثابت	۵۱۳/۱۰۱	۱	۵۱۳/۱۰۱	۱۶/۱۹۶	۰/۰۰۱	۰/۷۵۰	۱
	گروه	۳۲/۲۶۸	۵	۶/۴۵۴				
	خطا	۱۴/۳۴۷	۳۶	۰/۳۹۹				
BAX/BCL2 (ng/mg)	مقدار ثابت	۱۱۲۳/۷۸۱	۱	۱۱۲۳/۷۸۱	۳۱/۸۴۰	۰/۰۰۱	۰/۸۱۶	۱
	گروه	۳۴۸/۱۶۳	۵	۶۹/۶۳۳				
	خطا	۷۸/۷۲۹	۳۶	۲/۱۸۷				

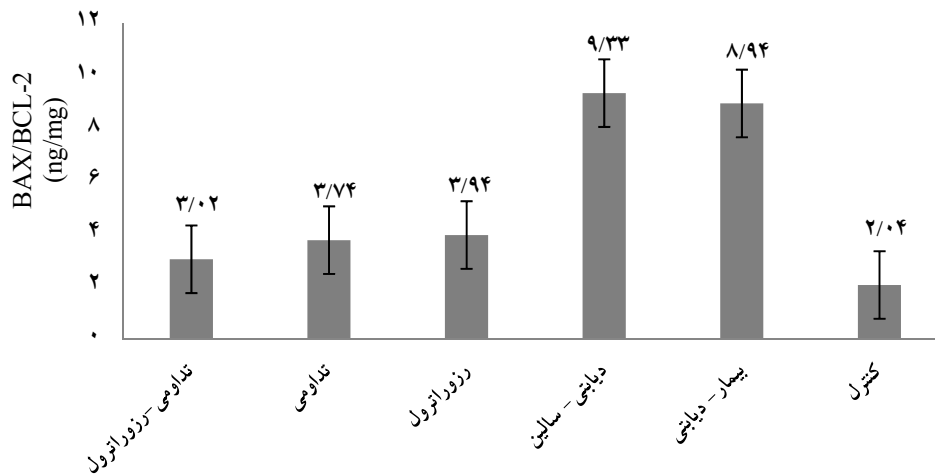
* $P \leq 0/05$ از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد

و دیابتی سالین ($2/550 \pm 9/330$ نانوگرم در هر میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است ($P \leq 0/001$). اثر تداومی ورزش، تجویز رزوراترول به‌تنهایی یا به‌ویژه همراه با ورزش تداومی سبب کاهش معنی‌داری در میانگین غلظت BAX و CASPASE-3 (نمودار شماره ۱) ($P \leq 0/001$)، افزایش معنی‌داری در میانگین غلظت BCL-2 ($P \leq 0/001$) و کاهش معنی‌داری در میانگین نسبت BAX/BCL2 (نمودار شماره ۲) ($P \leq 0/001$) در رت‌های نر مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه‌های بیمار دیابتی و دیابتی سالین شد.

مقایسه‌ی غلظت BCL-2 در بین گروه‌های مختلف نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داده است ($P \leq 0/001$). غلظت BCL-2 در گروه‌های بیمار دیابتی ($0/383 \pm 2/321$ نانوگرم در هر میلی‌گرم پروتئین) و دیابتی سالین ($0/479 \pm 2/428$ نانوگرم در هر میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر بوده است ($P \leq 0/001$). همچنین اختلاف معنی‌داری در میانگین غلظت نسبت BAX/BCL2 در بین گروه‌ها مشاهده شد ($P \geq 0/001$). میانگین غلظت نسبت BAX/BCL2 در گروه‌های بیمار دیابتی ($2/011 \pm 8/968$ نانوگرم در هر میلی‌گرم پروتئین) و دیابتی سالین ($2/29$) در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است ($P \leq 0/001$).



نمودار شماره ۱- غلظت Caspase-3 کبدی در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار شماره ۲- غلظت نسبت BAX/Bcl-2 کبدی در گروه‌های مورد مطالعه

بحث

هیدروکسیل (OH) موجب بیان بالای پروتئین Bax می‌شود و ترانسلوکاسیون Bax به میتوکندری منجر به آزاد شدن سیتوکروم C و در نتیجه فعال شدن کاسپاز ۳ می‌شود که به آپوپتوز می‌انجامد. انسولین با کاهش سطح رادیکال هیدروکسیل از آزادسازی سیتوکروم C به سیتوزول کاسته، موجب کاهش قابل ملاحظه فعالیت کاسپاز ۳ می‌شود که از آسیب کبدی می‌کاهد [۳۴]. فعالیت آپوپتیک با برخی از پروتئین‌هایی که نقش مهمی در کنترل آن دارند، تنظیم می‌شود. به‌عنوان مثال افزایش غلظت نسبت BAX به BCL-2 دال بر افزایش آپوپتوز و یا مرگ سلولی می‌باشد [۳۵]. در حالی که کاهش نسبت BAX به BCL-2 با مهار سیتوکروم C و عدم فعال شدن کاسپاز-۳ سبب کاهش آپوپتوز و مرگ سلولی می‌شود [۳۶]. بنابراین افزایش BAX و کاهش BCL-2 و افزایش غلظت نسبت BAX به BCL-2 در بافت هیپاتوسیتی موش‌های مبتلا به دیابت که در مطالعه ما مشاهده شد، می‌تواند بیانگر افزایش میزان آپوپتوز یا مرگ سلول‌های هیپاتوسیتی در آن‌ها باشد که نتایج این تحقیق با مطالعات فرزائگی و همکاران [۳۸،۳۷] مطابقت دارد. محققان معتقدند که ورزش علاوه بر اثرات مفید بر تغییرات سیستمی دیابت نوع دوم به لحاظ پیشگیری و به تأخیر انداختن دیابت و بهبود متابولیسم گلوکز، همچنین از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز، نقش حفاظتی را در برابر عوارض دیابت ایفا می‌کند [۳۹]. از این‌رو نشان داده شده است که تمرین ورزشی موجب کاهش نسبت بین پروتئین‌های پیش آپوپتوز مانند BAX و پروتئین‌های ضدآپوپتوز مانند BCL-2 و کاهش سیگنالینگ فعال‌سازی CASPASE-3 (کاسپاز نهایی مسیر آپوپتوز) می‌شود [۴۰]. همچنین به همین منظور امروزه در راستای تمرینات ورزشی، استفاده از گیاهان دارویی با خواص بیولوژیکی مختلف به‌دلیل عوارض جانبی کمتر و تقلیل هزینه‌های درمانی توصیه می‌شود.

در این تحقیق تأثیر تمرین تداومی و مکمل رزوراترول به تنهایی و اثر تعاملی تمرین و مکمل رزوراترول روی تغییرات بیومارکرهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز بافت هیپاتوسیتی در موش‌های نر دیابتی‌شده مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج تحقیق به ما نشان داد که القای دیابت با افزایش معنی‌دار غلظت BAX /BCL-2، غلظت نسبت CASPASE-3، کاهش معنی‌دار BCL-2 در گروه کنترل دیابتی همراه بود، در تأیید این یافته‌ها القای آپوپتوز بر اثر دیابت در مطالعه‌های قبلی Depre و همکاران [۳۰]، Cai و همکاران [۳۱]، Johansen و همکاران [۳۲]، نیز گزارش شده است. با در نظر گرفتن مکانیسم‌های گزارش شده و براساس نتایج حاصل از این مطالعه یکی از عوارض ایجادشده در اثر هیپرگلیسمی و استرس اکسیداتیو، القای آپوپتوز در هیپاتوسیت‌های کبدی می‌باشد. عوامل اصلی در ایجاد آپوپتوز، پروتئین‌هایی به نام کاسپازها هستند که با فعال شدن آن‌ها، پروتئین‌های هسته‌ای، پروتئین‌های اسکلت سلولی و همچنین پروتئین‌های دخیل در انتقال پیام مورد هدف قرار گرفته و در نهایت مرگ سلول رخ می‌دهد. فعال‌سازی کاسپازها از دو طریق انجام می‌شود: مسیر داخلی (وابسته به میتوکندری) و مسیر خارجی (وابسته به گیرنده‌های مرگ) [۳۳]. در مسیر داخلی با تغییر نسبی واسطه‌های پروآپوپتیک (مانند Bax) و آنتی‌آپوپتیک (مانند BCL-2) نفوذپذیری غشای میتوکندری به سیتوکروم C افزایش یافته، با رهاسازی آن، آپوپتوزوم شکل گرفته و سبب فعال شدن کاسپاز ۹ و ۳ می‌شود. در مسیر خارجی افزایش میزان TNF- α سرمی و اتصال آن به گیرنده TNFR که یک نوع گیرنده مرگ است، سبب تریمیزه شدن آن و در نهایت فعال شدن کاسپاز ۸ و ۳ خواهد شد [۳۳]. همچنین هیپرگلیسمی با افزایش رادیکال آزاد

همکاران نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی روی نوار گردان در افزایش بیان ژن‌های کلیدی مسیر میتوکندریایی آپوپتوز سیتوکروم C ۱۴۰/۲ درصد، $P < 0.05$ و بیان ژن کاسپاز ۳ (۳۳۳/۹۲ درصد، $P < 0.05$) عضله قلبی موش‌های صحرایی نر گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تأثیر قابل توجهی دارد [۴۷]. در تحقیقی دیگر شیرپور و همکاران (۱۳۸۷) به بررسی اثر محافظتی ویتامین E بر آپوپتوز ناشی از دیابت در قلب موش صحرایی دیابتی پرداختند و یافته‌های این مطالعه نشان داد که ویتامین E با کاهش آپوپتوز القاشده به دلیل دیابت تأثیر محافظتی نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد این اثر ویتامین E مربوط به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن همانند رزوراترول باشد که به دلیل جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد، از آپوپتوز ناشی از آن‌ها جلوگیری می‌کند [۴۸]. همچنین در مطالعاتی Kapoor و Kakkur اثرات محافظتی نارنجین (Naringenin) در آپوپتوز کبد رت‌های دیابتی [۴۹] و Alabdan اثرات سیلیمارین بر بهبود آپوپتوز کبدی در رت‌های دیابتی نشان داده‌اند [۵۰]. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Giribabu و همکاران انجام شد، اثرات ضدآلتهاپی و ضدآپوپتوزی عصاره‌ی دانه Vitis Vinifera در رت‌های دیابتی شده نشان داده شد [۵۱] که همگی با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارند که نشان‌دهنده‌ی اثرات مثبت داروهای گیاهی به جهت خواص بیولوژیکی مختلف و عوارض جانبی کمتر به‌عنوان روشی درمانی توصیه می‌شوند. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین انجام منظم فعالیت‌های فیزیکی و ورزشی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای هستند که امروزه نظر محققان زیادی را جهت کنترل و درمان بیماری‌ها به خود جلب نموده‌اند [۵۲]. به نظر می‌رسد تجویز همزمان رزوراترول همراه با تمرین ورزشی با افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش میزان آپوپتوز سلولی می‌شود [۳۸]، برای مثال توفیقی و همکاران نشان داده‌اند که مصرف توأم رزوراترول و تمرین ورزشی از طریق فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی از قلب در برابر تولید استرس اکسیداتیو پس از ایسکمی محافظت می‌کند [۵۳]. حاجی‌قاسم و همکاران نیز نشان داده‌اند که تجویز رزوراترول، به‌ویژه در ترکیب با تمرین ورزشی، با افزایش معنی‌دار پروتئین BCL-2 و کاهش معنی‌دار پروتئین BAX همراه است [۵۴]. همچنین در این تحقیق تعامل تمرین تداومی و رزوراترول سبب کاهش معنی‌دار غلظت BAX، CASPASE-3 و غلظت نسبت BCL-2/BAX و افزایش معنی‌دار غلظت BCL-2 an. بیان شده است که انجام درمان ترکیبی با رزوراترول و تمرین‌های ورزشی خواص ضدپیری داشته، منجر به کاهش آپوپتوز سلول‌های کبدی می‌شود [۵۵]. در

مکمل رزوراترول یک ترکیب گیاهی متعلق به گروه پلی‌فنل‌هاست و بخشی از اثرات ضدآپوپتیک خود را به‌واسطه‌ی خواص آنتی‌اکسیدانی و از طریق فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز در بافت هیپاتوسیستی رت‌های مبتلا به دیابت ایفا می‌نماید [۴۲،۴۱]. در تحقیق حاضر هشت هفته تمرین تداومی و دریافت مکمل رزوراترول هرکدام به‌تنهایی سبب کاهش معنی‌دار غلظت BAX، CASPASE-3، غلظت نسبت BCL-2/BAX و افزایش معنی‌دار غلظت BCL-2 شدند، این نتایج نشان می‌دهد که تمرین ورزشی مداوم و استفاده از مکمل رزوراترول هرکدام به‌تنهایی می‌توانند اثرات ضدآپوپتیک داشته باشند. Chen و همکاران (۲۰۱۳) نیز در تحقیقی 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، افزایش بیان Bcl-2، کاهش غلظت نسبت BAX/BCL-2 در رت‌های مبتلا به بیماری مزمن کلیوی همراه بود، همچنین کاهش فعالیت کاسپاز آغازگر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع از آپوپتوز و قطعه‌قطعه شدن DNA شوند [۴۳]. علاوه بر این، Kwak و همکاران نیز اظهار داشتند که فعالیت ورزشی سطوح افزایش‌یافته Bax/Bcl-2 در بافت قلبی رت‌های پیر را به‌واسطه‌ی کاهش بیان پروتئین Bax و افزایش سطوح Bcl-2 قلبی کاهش می‌دهد [۴۴] که این مسأله تأیید دیگری بر نقش حمایتی فعالیت ورزشی از طریق کاهش روند آپوپتوز در بافت‌های بدن است که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد. در مطالعه‌ای دیگر کریمی و همکاران به بررسی بیان ژن‌های BAX و BCL-2 و فعالیت آنزیم CASPASE-3 در بافت کبد رت‌های نرمال، دیابتی نوع ۱ و ۲ قبل و بعد از درمان با عصاره‌ی آبی سیر پرداختند که تغییر معنی‌داری در میزان بیان ژن‌های BAX و BCL-2 در بافت کبد رت‌های مختلف مشاهده کردند اما تغییری در فعالیت آنزیم CASPASE-3 در گروه موش‌های دیابتی نوع ۲ مشاهده نکردند [۴۵] که نتایج به‌دست آمده متناقض با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق بود. یکی از مکانیسم‌های احتمالی در زمینه‌ی قابلیت محافظت تمرین ورزشی می‌تواند ظرفیت مسدود کردن تشکیل رادیکال‌های آزاد باشد. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری به‌عنوان یک محصول طبیعی تولید می‌شوند، اما زمانی که سطح آن‌ها بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول باشد می‌توانند منجر به مرگ سلول شوند. استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است و می‌تواند مرگ سلولی را از طریق مسیرهای مختلف راه‌اندازی کند [۴۶]. در پژوهشی دیگر جاوید تبریزی و

رزوراترول هرکدام به تنهایی سبب کاهش معنی‌دار غلظت BAX، CASPASE-3، غلظت نسبت BAX/BCL-2 و افزایش معنی‌دار غلظت BCL-2 شدند. همچنین تعامل تمرین تداومی و رزوراترول سبب کاهش معنی‌دار غلظت BAX، CASPASE-3، غلظت نسبت BAX/BCL-2 و افزایش معنی‌دار غلظت BCL-2 شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، تمرین تداومی منظم و استفاده از مکمل رزوراترول به‌تنهایی و همچنین ترکیب این دو عامل تمرین و مکمل رزوراترول به‌عنوان یک مداخله در جهت کاهش آپوپتوز بافت هپاتوسیتی دیابتی توصیه می‌شوند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله‌ی دکتری در رشته‌ی فیزیولوژی ورزشی مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه می‌باشد. نویسندگان از مسئولان آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری جهت همکاری صمیمانه‌شان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References:

- [1] Zimmet PZ, Magliano DJ, Herman WH, Shaw JE. Diabetes: a 21st century challenge. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2(1): 56-64.
- [2] Azizi Z, Mansoorpoor S, Sabzehvarifard A, Asaie S, Ranjbar Omrani Gh. Effect of Estradiol valerate on pancreatic beta cells resistance in diabetic female rats by streptozotocin. *Iran South Med J* 2014; 17(2): 107-19. [in Persian]
- [3] Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review, J. Biochem. Mol. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17(1): 24-38.
- [4] Sadi G, Kartal DI, Guray T. Regulation of glutathione S-transferase Mu with type 1 diabetes and its regulation with antioxidants. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17(1): 24-38.
- [5] Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 561-8.
- [6] Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 2014; 24(10): R453-462.
- [7] Bayir H, Kagan VE. Bench-to-bedside review: Mitochondrial injury, oxidative stress and apoptosis— there is nothing more practical than a good theory. *Crit Care* 2008; 12(1):206.
- [8] Maritim AC, Sanders RA, Watkins Iii JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17:24-38.
- [9] Schattenberg JM, Schuchmann M. Diabetes and apoptosis: liver. *Apoptosis* 2009; 14(12):1459-71.

مطالعه‌ای فرزانی و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی اثر ترکیبی تمرین هوازی منظم و مصرف عصاره سیر به‌عنوان داروی گیاهی بر برخی از فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز کلیوی در رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی کاهش سطوح Bax و افزایش Bcl-2 را مشاهده نمودند که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد [۳۷]. همچنین فرزانی و همکاران با بررسی اثر درمان ترکیبی رزوراترول و ورزش‌های تناوبی و تداومی بر سطح بیومارکرهای آپوپتوتیک بافت قلبی در موش‌های نر مبتلا به کبد چرب غیرالکلی، کاهش سطوح Bax، غلظت نسبت BAX/BCL-2 و افزایش غلظت Bcl-2 را در اثر تمرین و تجویز رزوراترول به‌تنهایی و به‌صورت ترکیب مکمل رزوراترول با تمرین ورزشی مشاهده نمودند که همگی با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد [۳۸].

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های پژوهش، الفای دیابت با افزایش معنی‌دار غلظت BAX، CASPASE-3، غلظت نسبت BAX/BCL-2 و کاهش معنی‌دار BCL-2 در گروه کنترل دیابتی همراه بود و متعاقب هشت هفته تمرین تداومی و دریافت مکمل

- [10] Bezzerides V, Rosenzweig A, Saying yes to exercise and NO to cardiac injury. *Circ Res* 2011; 108(12): 1414-6.
- [11] Khademi Z, Imani E, HeidaryKhormizi M, PoordadKhodaei A, Sarneyzadeh M, Nikparvar M, et al. A Study on The Variation of Medicinal Plants Used for Controlling Blood Sugar and Causes of Self Medication by Patients Referred to Bandarabbas Diabetic Center. *J diabete nur*2013; 1(1):12-20. [in Persian]
- [12] Namazi N, Bahrami A. Effect of Hydro-alcoholic Nettle Extract on Lipid Profiles and Blood Pressure in Type2 Diabetes Patients. *IJEM* 2012; 13(5):449-58. [in Persian]
- [13] Cavallaro A, Ainis T, Bottari C and Fimiani V. Effect of resveratrol on some activities of isolated and in whole blood human neutrophils. *Physiol Res* 2003; 52(5): 555-62.
- [14] Wang H, Yang YJ, Qian HY, Zhang Q, Xu H, Li JJ, et al. Resveratrol in cardiovascular disease: What is known from current research? *Heart Fail Rev* 2012; 17(3): 437-48.
- [15] Rubiolo JA, Mithieux G, Vega FV. Resveratrol protects primary rat hepatocytes against oxidative stress damage: activation of the Nrf2 transcription factor and augmented activities of antioxidant enzymes. *Eur J Pharmacol* 2008; 591(1-3): 66-72.
- [16] Shang J, Chen LL, Xiao FX, Sun H, Ding HC, Xiao H, et al. Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMPactivated

- protein kinase1. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29(6): 698-706.
- [17] Schmatz R, Perreira LB, Stefanello N, Mazzanti C, Spanevello R, Gutierrez J, et al. Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochimie* 2012; 94(2): 374-83.
- [18] Su HC, Hung LM, Chen JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(6): E1339-46.
- [19] Chi TC, Chen WP, Chi TL, Kuo TF, Lee SS, Cheng JT, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase is involved in the antihyperglycemic effect induced by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2007; 80(18): 1713-20.
- [20] Schmatz R, Schetinger MR, Spanevello RM, Mazzanti CM, Stefanello N, Maldonado PA, et al. Effects of resveratrol on nucleotide degrading enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2009; 84(11-12): 345-50.
- [21] Hafstad AD, Boardman N, Aasum E. How exercise may amend metabolic disturbances in diabetic cardiomyopathy. *Antioxid Redox Signal* 2015; 22(17): 1587-605.
- [22] Jonker JT, de Mol P, de Vries ST, Widya RL, Hammer S, van Schinkel LD, et al. Exercise and type 2 diabetes mellitus: changes in tissue-specific fat distribution and cardiac function. *Radiology* 2013; 269(2): 434-42.
- [23] Kanter M, Aksu F, Takir M, Kostek O, Kanter B, Oymagil A, et al. Effects of low intensity exercise against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat heart. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2017 Oct; 125(9): 583-91.
- [24] Koçtürk S, Kayatekin BM, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E, et al. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. *Eur J Appl Physiol* 2008; 102(5): 515-24.
- [25] Moeinifard M, Hedayati M. Alloxan and streptozotocin, a research tool for diabetes. *J Appl Exerc Physiol* 2015; 10(20): 13-22. [in Persian]
- [26] 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(3): 556.
- [27] Mozafari M, Nekooeian A, Panjeshahin MR, Zare HA. The Effects of Resveratrol in Rats with Simultaneous Type 2 Diabetes and Renal Hypertension: a Study of Antihypertensive Mechanism. *Iran J Med Sci March* 2015; 40(2): 152-60. [in Persian]
- [28] Shankar S, Singh G, Srivastava RK. Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Biosci* 2007; 12: 4839-54.
- [29] Abdolmohammadi M, MohammadPoor R, Safarian Sh. Study of inhibitory effects of sodium sulfobenzamide on growth and proliferation of T-47D cells with emphasis on apoptosis and cell cycle stop. *J Sci* 2010; 36 (2): 41-29. [in Persian]
- [30] Depre C, Young ME, Ying J, Ahuja HS, Han Q, Garza N, et al. Streptozotocin-induced changes in cardiac gene expression in the absence of severe contractile dysfunction. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 985-96.
- [31] Cai L, Kang YJ. Cell death and diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Toxicol* 2003; 3: 219-28.
- [32] Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 2005; 4: 5.
- [33] Frances DE, Ronco MT, Monti JA, Ingaramo PI, Pisani GB, Parody JP, et al. Hyperglycemia induces apoptosis in rat liver through the increase of hydroxyl radical: new insights into the insulin effect. *J Endocrinol* 2010; 205(2): 187-200.
- [34] Reed JC. *Bcl-2* and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1994; 124(1-2):1-6.
- [35] Alamdari N, Aversa Z, Castillero E, Gurav A, Petkova V, Tizio S, et al. Resveratrol prevents dexamethasone-induced expression of the muscle atrophy-related ubiquitin ligases atrogin-1 and MuRF1 in cultured myotubes through a SIRT1-dependent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 417(1): 528-33.
- [36] Pollack M, Phaneuf S, Dirks A, Leeuwenburgh C. The role of apoptosis in the normal aging brain, skeletal muscle, and heart. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 93-107.
- [37] Farzanegi P, Habibian M, AlinejadH, The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with Chronic Kidney Disease. *AMUJ* 2016; 19(108): 62-70. [in Persian]
- [38] Farzanegi P, Mahdian H, Farzaneh-Hesari A. The effect of combined therapy with resveratrol, and continuous and interval exercises on levels of apoptotic biomarkers in heart tissue of male rats with non-alcoholic fatty liver. *Feyz* 2018; 22(5): 469-77. [in Persian]
- [39] Kwak H-B, Lee Y, Kim JH, Van Remmen H, Richardson AG, Lawler JM, et al. MnSOD overexpression reduces fibrosis and pro-apoptotic signaling in the aging mouse heart. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2015; 70(5): 533-44.
- [40] Aboutaleb N, Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Nikbakht F, et al. Pre-ischemic exercise reduces apoptosis in hippocampal CA3 cells after cerebral ischemia by modulation of the Bax/Bcl-2 proteins ratio and prevention of caspase-3 activation. *J Physiol Sci* 2015; 65(5): 435-43.
- [41] Wu RE, Huang WC, Liao CC, Chang YK, Kan NW, Huang CC, et al. Resveratrol protects against

- physical fatigue and improves exercise performance in mice. *Molecules* 2013; 18(4): 4689-702.
- [42] Wang ZM, Chen YC, Wang DP. Resveratrol, a natural antioxidant, protects monosodium iodoacetate-induced osteoarthritic pain in rats. *Biomed Pharmacother* 2016; 83: 763-70.
- [43] Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, 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. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 368450
- [44] Kwak H-B, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J* 2006; 20(6): 791-3.
- [45] Karimi N, Abbasalipourkabir R, Sadeghabadi Z, Asrin Ziamajidi N. The level of gene expression of Bax and Bcl-2 and the activity of caspase 3 in the liver tissues of normal, type 1 and type 2 diabetic rats before and after treatment with aqueous extract of garlic. *JSSU* 2017; 25(7): 547-55. [in Persian]
- [46] Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin induced diabetic Rats. *Clin Chim Acta* 2004; 340: 107-15.
- [47] Javid Tabrizi N, Bashiri J, Narimani Rad M. Effect of 12 Weeks of Treadmill Aerobic Training on Cytochrome c and Caspase-3 gene Expression in Cardiac Muscle of Male Rats. *Qom Univ Med Sci J* 2017; 11(6): 1-9. [in Persian]
- [48] Shirpoor A, Salami S, Khadem Ansari MK, Ghaderi Pakdel F, Khadem Vatani K, Saadatian R, Karimipour M, et al. Protective Effect of Vitamin E on Diabetes Induced Apoptosis and Oxidative Stress in Rat Heart Tissue. *IJEM* 2008; 10(1): 67-74. [in Persian]
- [49] Kapoor R, Kakkar P. Naringenin accords hepatoprotection from streptozotocin induced diabetes in vivo by modulating mitochondrial dysfunction and apoptotic signaling cascade. *Toxicol Rep* 2014; 1: 569-81.
- [50] Alabdan MA. Silimarin ameliorates liver damage by modulating oxidative stress and apoptosis in liver of STZ-induced diabetic rats. *Int J Adv Res* 2016; 4(3): 1935-42.
- [51] Giribabu N, Karim K, Kilari EK, Kassim NM, Salleh N. Anti-Inflammatory, anti-apoptotic and proliferative effects of Vitis Vinifera seed ethanolic extract in the liver of streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in male rats. *Can J Diabetes* 2018; 42(2): 138-49.
- [52] Inoue H, Kishimoto A, Ushikoshi-Nakayama R, Hasaka A, Takahashi A, Ryo K, et al. Resveratrol improves salivary dysfunction in a non-obese diabetic (NOD) mouse model of Sjogren's syndrome. *J Clin Biochem Nutr* 2016; 59(2): 107-12.
- [53] Tofighi A, Ebrahimi Kalan A, Jamali Qarakanlou BJ. The effect of resveratrol supplementation and aerobic training on cardiac tissue alteration of rats with acute myocardial infarction. *Iran J Physiol Pharmacol* 2017; 1: 211-21. [in Persian]
- [54] Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Arch Physiol Biochem* 2018; 20: 1-8.
- [55] Tung BT, Rodriguez-Bies E, Thanh HN, Le-Thi-Thu H, Navas P, Sanchez VM, et al. Organ and tissue-dependent effect of resveratrol and exercise on antioxidant defenses of old mice. *Aging Clin Exp Res* 2015; 27(6): 775-83.