مقاله پژوهشی

تأثیر یک دوره تمرینات ورزشی هوازی و اینتروال همراه با مصرف مکمل استاگزانتین بر میزان بیان ژن‌های BAD، BAX و Bcl2 در بافت کلیوی رت‌های با دیابت نوع دو

مهدی جعفرلو*[1]، محمدرضا ذوالفقاری[2]، امیر فتاحی[3]

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۰۵/۲۹ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۷/۱۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: تشکیل رادیکال‌های آزاد در سلول‌های کلیوی افراد دیابتی منجر به آپوپتوز سلول‌های کلیوی و درنهایت نفروپاتی می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثرات دو نوع تمرین ورزشی اینتروال و هوازی همراه با مصرف مکمل آستاگزانتین بر میزان بیان ژن‌های BAD، BAX و Bcl2 در بافت کلیوی رت‌های با دیابت نوع دو است.

مواد و روش کار: تعداد ۳۵ رت ویستار نر با میانگین وزنی ۱۵/۵۵±۱۹۷/۴۶ گرم به‌طور تصادفی به دو گروه غیردیابتی (۵ سر سالم به‌عنوان کنترل) و دیابتی (۳۰ سر) تقسیم و پس از القای دیابت، مجدداً به‌طور تصادفی در ۶ گروه (با ۵ سر موش در هر گروه) شامل دیابتی کنترل، دیابت+ مکمل، دیابت+اینتروال، دیابت + تمرین اینتروال+ مکمل، دیابت+ هوازی، دیابت+ تمرین هوازی+ مکمل قرار گرفتند. گروه‌های مداخله تمرین به مدت پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته برنامه تمرینات هوازی و اینتروال را اجرا کردند. گروه‌های مکمل روزانه ۳ میلی‌گرم مکمل استاگزانتین به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن محلول در ۰/۳ میلی‌لیتر روغن زیتون به‌صورت گاواژ دریافت می‌کردند. میزان بیان ژن‌های BAD، BAX و Bcl2 در بافت کلیوی رت‌های با دیابت نوع دو اندازه‌گیری گردید. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون پس تعقیبی توکی برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: تمامی پروتکل‌های مداخله تمرینی و مکمل‌سازی آستاگزانتین بر شاخص BAD در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ تأثیر معنی‌دار داشتند (p=۰/۰۰۱). تمامی گروه‌ها، به‌غیراز تمرین استقامتی (p=۰/۸۹۰)، بر شاخص BAX در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ تأثیر معنی‌دار داشتند (p=۰/۰۰۱). همچنین مصرف مکمل آستاگزانتین به همراه تمرین استقامتی نسبت به اجرای تکی تمرین استقامتی سبب تغییرات معنی‌دار در شاخص Bcl2 گردید (p=۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری: اجرای مداخله تمرینات هوازی و اینتروال با و یا بدون مکمل‌سازی آستاگزانتین در دوره مداخله‌ای هشت‌هفته‌ای بر بیومارکرهای آپوپتوزی در بافت کلیوی رت‌های با دیابت ۲ تأثیر مثبتی دارند.

کلیدواژه‌ها: تمرین هوازی، تمرین اینتروال، مکمل استاگزانتین، ژن BAD، ژن BAX، ژن Bcl2

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و سوم، شماره دوم، ص ۱۳۰-۱۱۶، اردیبهشت ۱۴۰۱

آدرس مکاتبه: ایران- ارومیه – دانشگاه ارومیه – دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی ، تلفن: ۰۹۳۵۶۲۹۳۵۲۷

Email: mehdi.jafarlu@gmail.com

مقدمه

دیابت ملیتوس به‌عنوان یک بیماری متابولیکی مزمن به‌طور برجسته‌ای در سراسر جهان افزایش یافته و انتظار می‌رود در سال‌های آینده با رشد اپیدمیک تعداد بیماران مبتلا به دیابت خصوصاً در کشورهای درحال‌توسعه تبدیل به مشکل سلامت عمومی شود (۱). بر اساس گزارش فدراسیون بین‌المللی دیابت، ۳۶۵ میلیون نفر در سال ۲۰۱۱ از بیماری دیابت رنج می‌بردند و افزایش این تعداد به ۵۵۲ میلیون نفر تا سال ۲۰۳۰ مورد انتظار خواهد بود (۲). دیابت به‌ویژه در مواردی که کنترل نمی‌شود می‌تواند موجب ایجاد اختلالات ثانویه‌ای همانند نفروپاتی (اختلال در کلیه‌ها) شود (۳). نفروپاتی دیابتی یک اختلال پیش‌رونده است که حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد بیماران دیابتی را درگیر کرده و درنتیجه احتمال مرگ‌ومیر به دنبال دیابت را افزایش می‌دهد (۴). چنین اختلالی به دنبال تجمع

[1] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[2] استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[3] استادیار بیولوژی تولید مثل، دانشکده علوم نوین، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی و اختلال غیرقابل‌برگشت در عملکرد کلیه‌ها رخ می‌دهد (۵). به دلیل عدم وجود روش‌های درمانی مشخص، تعداد قابل‌توجهی از بیماران دیابتی به نفروپاتی شدید دچار می‌شوند به‌طوری‌که دیابت یکی از علل اصلی پیوند کلیه به‌حساب می‌رود (۶). به‌واقع نیاز فوری به یافتن روش‌های درمانی جدیدی برای کنترل و ممانعت از ایجاد و پیشرفت دیابت نفروپاتی وجود دارد. اگرچه باید اذعان داشت که هنوز مکانیسم‌های دقیق ایجاد نفروپاتی دیابتی مشخص نشده‌اند.

گزارش شده است که یکی از علل نفروپاتی کلیوی در دیابت تولید بالای ترکیبات واکنشگر اکسیژنی (ROS) است که به دنبال بالا بودن شدید گلوکز ایجاد می‌شود (۷). چنین استرس اکسیداتیوی می‌تواند موجب القای آپوپتوز در سلول‌های کلیوی شده و درنتیجه ایجاد نفروپاتی نماید (۸). دیده‌شده که بالا بودن میزان آپوپتوز در سلول‌های کلیوی می‌تواند موجب اختلال در عملکرد گلومرولی کلیه شده و پروتئینوری (دفع آلبومین در ادرار) را افزایش دهد (۹). بررسی‌های بافتی نیز نشان داده‌اند که در دیابت نفروپاتی الگوی مرگ سلولی (آپوپتوز) در کلیه‌ها کاملاً مشهود است (۱۰،۱۱). همچنین در مطالعه‌ای شریفی و همکاران (۱۳۸۹) عنوان کردند که آپوپتوز ناشی از غلظت بالای گلوکز در سلول‌های PC12 تا اندازه‌ای وابسته به فعال شدن مسیر مرگ سلولی میتوکندریایی وابسته به کاسپازهای ۳ و ۹ است (۱۲).

در بیماری دیابت زیاد بودن گونه‌های اکسیژن واکنشی، فرآیند آپوپتوز را از طریق فعال کردن کاسپاز ۳ و کاهش بیان Bcl-2[1] فعال می‌کند. آپوپتوز به‌عنوان یک شکل مرگ سلولی در بافت قلبی، منجر به رهایش سیتوکروم c از میتوکندری و فعال‌سازی دسته ویژه‌ای از آنزیم‌های سیتوپلاسمیک با عنوان کاسپازها می‌شود. فعال‌سازی کاسپاز ۳ با نابود کردن ساختارهای سلولی منجر به مرگ سلولی می‌شود. در این راستا، کیم و همکاران (۲۰۱۳) اثر ورزش بر روی تریدمیل بر آپوپتوز در چشم موش‌های دیابتی را موردبررسی قرار دادند. دیابت توسط تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین القا شد. موش‌ها در گروه‌های تمرین به مدت ۶۰ دقیقه در روز، ۵ بار در هفته، طی ۶ هفته بر روی تریدمیل تمرین کردند. نتایج نشان داد که تعداد سلول‌های TUNEL و کاسپاز- ۰ در چشم رت‌های دیابتی افزایش یافت، در حالی که تمرینات بر روی تریدمیل این تعداد را کاهش داد. علاوه بر این، بیان پروتئین پیش آپوپتوتیک Bax و پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 در چشم موش‌های دیابتی افزایش یافت. تمرین بر روی تردمیل باعث کاهش Bax و افزایش سطح Bcl-2 شد. بیان عامل بقا سلولی، p-Akt در رتینوهای رت‌های دیابتی کاهش یافت و ورزش تردمیل باعث افزایش بیان p-Akt شد. محققان نتیجه گرفتند که ورزش تردمیل باعث کاهش میزان آپوپتوز ناشی از دیابت در سلول‌های شبکیه با افزایش سطح p-Akt در شبکیه می‌شود و ورزش تردمیل یک راهبرد مؤثر برای تأخیر و یا جلوگیری از شروع عوارض چشم در بیماران دیابتی است (۱۳). همچنین، جعفری و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر تمرینات ورزشی را بر بیان Bcl-2 و ژن Bax در قلب موش صحرایی موردتحقیق خود قرار دادند. این مطالعه با طرح آزمایشی دو گروه (مدل حیوانی) انجام شد و ۱۶ موش صحرایی نر سه‌ماهه انتخاب و به‌صورت تصادفی به دو گروه تمرین ورزشی ($n = 8$) و کنترل (۸ نفر) تقسیم شدند. حیوانات در گروه تمرین در برنامه تمرینی به مدت ۱۲ هفته (سرعت ۱۰-۶۰ متر در دقیقه، زمان ۲۴ تا ۳۳ دقیقه و شیب ۱۵ درصد) شرکت کردند. قلب موش‌ها 48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرین برداشته شد. استخراج RNA و سنتز cDNA انجام شد و بیان ژن Bax و Bcl2 از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز Real (RT-PCR) Timeمورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیان ژن Bax و نسبت Bax / Bcl2 در گروه تمرین دیده به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (۸۱درصد و ۸۹درصد) علاوه بر این، تفاوت معناداری بین دو گروه در Bcl2 وجود نداشت. بااین‌حال، بیان Bcl2 در گروه تمرین دیده بیشتر از گروه کنترل بود (۱۱درصد). این محققان درنتیجه اعلام کردند که به‌طورکلی، به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی سه‌ماهه در کاهش پروتئین پیش آپوپتوزی میتوکندری قلب مؤثر بوده است. بااین‌حال، با توجه به نتایج بیان ژن، Bcl2 تحقیقات بیشتر برای شناسایی اثرات تمرینات ورزشی بر روی شاخص‌های آپوپتوز قلب ضروری است (۱۴). در مطالعه‌ای دیگر، امینی و همکاران (۱۳۹۵) اثر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Bcl-2 و MiR-15 و پروتئین Bcl-2 بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان را موردبررسی قرار دادند. بدین منظور، ۲۰ سر موش بالغ سی ماده، پنج تا شش‌هفته‌ای با تزریق سلول‌های سرطانی MC4-L2 به سرطان مبتلا شدند. سپس به‌صورت تصادفی به دو گروه ۷۶ تایی تمرین و کنترل تقسیم گردیدند. در ادامه و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، قربانی شدند و نمونه‌های بافتی آن‌ها برداشته شد. میزان بیان Bcl-2 و MiR-15 بافت تومور به روش PCR و میزان بیان پروتئین Bcl-2 با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیان ژن و پروتئین Bcl-2 و نسبت رشد تومور، به شکل معناداری در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت و بیان MiR-15 در گروه تمرین افزایش معناداری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد.

[1] B-cell lymphoma 2

آن‌ها نتیجه گرفتند که افزایش بیان ژن MiR-15 و کاهش بیان ژن و پروتئین Bcl-2 ناشی از تمرین هوازی، در کاهش نسبت رشد تومور در گروه تمرین مؤثر بوده است (۱۵).

در راستای جلوگیری و بهبود اختلالات کلیوی در دیابت با استفاده از تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و همچنین مهار آپوپتوز، داروها و عصاره‌های گیاهی و همچنین مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی زیادی مورداستفاده قرار گرفته است. آستاگزانتینیک کارتنوئید از دسته زانتوفیل‌ها با منشأ دریایی است که اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی آن در مطالعات انسانی و حیوانی به اثبات رسیده است. وجود گروه‌های هیدروکسیل و کتونی روی هر حلقه یونی همراه با پیوند دوگانه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی آستاگزانتین را شرح می‌دهد (۱۶). آستاگزانتین با حفاظت سلول‌های بتای پانکراس از سمیت گلوکز، یک عامل ایمونولوژیکی عالی در بهبود اختلال عملکردی لنفوسیت‌های موش‌های دیابتی شناخته شده است. یافته‌های جدید نشان می‌دهد که فعالیت هیپوگلایسمی آستاگزانتین به بازسازی سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین ارتباط داده می‌شود. بنابراین موجب افزایش حساسیت انسولینی و فعال‌سازی برداشت گلوکز توسط به افت‌های پیرامونی می‌شود (۱۷). اثرات ضد آپوپتوتیک آستاگزانتین در مطالعات مختلف نشان داده شده است بطوریکه دیده‌شده این ترکیب از آپوپتوزی القاشده توسط گلوتامات در سلول‌ها با مهار استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌نماید (۱۸). همچنین مشخص شده که آستاگزانتین به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند جلوی آپوپتوز سلول‌ها به دنبال سوختگی را گرفته و میزان بیان مارکرهای آپوپتوزی را کاهش دهد (۱۹). در مطالعه‌ای گزارش شده که آستاگزانتین با افزایش ترکیبات آنتی آپوپتوتیک و کاهش فاکتورهای آپوپتوتیک از آسیب‌های حاد کلیوی به دنبال سوختگی جلوگیری می‌نماید (۲۰). در مورد اثرات آستاگزانتین بر کلیه افراد دیابتی نیز بررسی‌هایی انجام گرفته است. از آن جمله در مطالعات حیوانی دیده شده که این ترکیب می‌تواند با حفاظت از سلول‌های کلیوی موجب بهبود عملکرد کلیه شود (۲۳-۲۱). همچنین دیده شده که درمان طولانی‌مدت با آستاگزانتین می‌تواند موجب کاهش دفع آلبومین توسط ادرار و همچنین مهار آسیب DNA سلول‌های کلیوی شود (۲۲).

تمرینات ورزشی به‌عنوان یک روش غیردارویی و درمان جایگزین در پیشگیری و درمان بسیاری از اختلالات متابولیکی ازجمله دیابت شناخته شده است. بااین‌حال اثرات ورزش بر روی عملکرد کلیوی و نفروپاتی در افراد دیابتی مشخص نیست و نتایج ضدونقیضی گزارش شده است. از آن جمله مشاهده شده است که تمرینات ورزشی منظم با شدت متوسط موجب کاهش نفروپاتی زودرس در رت‌های دیابتی می‌شوند (۲۴). از طرف دیگر گزارش‌هایی حاکی از افزایش آلبومینوری به دنبال تمرینات ورزشی است (۲۵). Kurdak و همکارانش نشان دادند که ورزش‌های منظم هوازی اثر مهاری و محافظت‌کننده در مقابل میکروآلبومینوری و نفروپاتی دیابتی دارد (۲۶). بااین‌حال اکثر مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی به‌ویژه ورزش‌های شدید می‌تواند موجب آسیب کلیه و القای آپوپتوز در سلول‌های کلیوی شود (۲۷،۲۸). بااین‌وجود تحقیقات محدودی در این زمینه انجام شده است و نتایج به‌دست‌آمده کاملاً همسو نیستند. بنابراین محقق در نظر دارد در پاسخ به این سؤال تحقیق کند که آیا تمرینات ورزشی هوازی و اینتروال همراه با مصرف مکمل استاگزانتین می‌تواند تأثیرات قابل‌توجهی بر آپوپتوز بافت کلیوی رت‌های با دیابت نوع دو داشته باشد؟

با توجه به مقادیر زیاد تشکیل رادیکال‌های آزاد در سلول‌های کلیوی افراد دیابتی که منجر به آپوپتوز سلول‌های کلیوی و درنهایت نفروپاتی می‌شود، ضروری است تا رویکردهایی جهت مهار آپوپتوز القایی شناسایی شود. علاوه بر این، نتایج مربوط به اثرات ورزشی بر کلیه بیماران دیابتی به دنبال پروتکل‌های تمرینی متفاوت مشخص نشده است و همچنین اثرات ترکیب آستاگزانتین که یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و آنتی آپوپتوز بر نفروپاتی دیابتی مشخص نگردیده است. بنابراین طراحی مطالعه حاضر برای بررسی اثرات دو نوع تمرین ورزشی اینتروال و هوازی همراه با مصرف مکمل آستاگزانتین بر میزان بیان ژن‌های BAD، BAX و Bcl2 در بافت کلیوی رت‌های با دیابت نوع دو ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش کار

با توجه به ماهیت پژوهش، تحقیق حاضر از نوع تجربی کاربردی بوده و از یک طرح تحقیق حاوی هفت گروه که مشتمل بر پنج گروه تجربی دیابتی و یک گروه کنترل دیابتی و یک گروهشم دیابتی است. در مطالعه حاضر، ۳۵ رت (ویستار) نر با میانگین وزنی ۱۹۷/۱۵±۴۶/۵۵ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی علوم پزشکی خریداری و در شرایط دمایی آزمایشگاه (۲۲±۲)، رطوبت محیط (۵۰±۵) و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند.

القاء دیابت:

در این پژوهش تجربی که در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی ارومیه و بر اساس قوانین بین‌المللی حمایت از حیوانات آزمایشگاهی انجام پذیرفت و با کد IR.UMSU.REC.1399.068 توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ارومیه مورد تأیید قرار گرفت، از ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰ گرم استفاده شد که موش‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه غیردیابتی (سالم کنترل ۵ سر) و دیابتی (۳۰ سر) تقسیم و پس از القای دیابت،

مجدداً به‌طور تصادفی در ۶ گروه (با ۵ سر موش در هر گروه) شامل دیابتی کنترل، دیابت+ مکمل، دیابت+اینتروال، دیابت + تمرین اینتروال+ مکمل، دیابت+ هوازی، دیابت+ تمرین هوازی+ مکمل قرار گرفتند. جهت القای دیابت نوع ۲ از تزریق نیکوتین آمید و استرپتوزوتوسین استفاده شد. ابتدا نیکوتین آمید (۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش محلول در سالین) به‌صورت درون صفاقی تزریق‌شده و پس از ۱۵ دقیقه، ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم stz که در محلول بافر سیترات ۰/۱ مولار با ph ۴/۵ حل‌شده به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. برای تشخیص دیابتی بودن موش‌ها، ۵ روز پس از تزریق با ایجاد جراحت کوچک توسط لانست در دم حیوان یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شده و مقدار قند خون اندازه‌گیری و قند خون بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به‌عنوان معیاری برای دیابتی شدن آن‌ها بود.

پروتکل تمرینی:

تمرین اینتروال بر اساس پروتکل استفاده‌شده توسط کیم و همکاران شامل دویدن روی تردمیل ۵ روز در هفته و به مدت هشت هفته خواهد بود. شدت تمرین ۹۰ درصدVo_2max خواهد بود. همچنین برای وادار کردن حیوان به دویدن با سرعت تعیین‌شده و حفظ و کنترل شدت تمرین از شوکرالکتریکی در انتهای نوار استفاده می‌گردد. در آغاز هر جلسه تمرینی با ۵ تکرار ۳۰ ثانیه‌ای با سرعت ۲۹ متر بر دقیقه شروع شده که با ۱ دقیقه استراحت فعال با سرعت ۱۳ متر بر دقیقه دویدن بر روی تردمیل ادامه خواهد یافت. سپس هر هفته ۱ متر بر دقیقه بر سرعت تردمیل و ۱ تکرار در هر جلسه افزایش خواهد یافت تا در هفته هشتم به ۱۲ تکرار با سرعت ۳۶ متر بر دقیقه برسد. هر جلسه ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه اختصاص می‌یابد. برنامه تمرین هوازی شامل ۸ هفته دویدن فزاینده روی تردمیل و به مدت ۵ روز متوالی در هفته خواهد بود. شدت برنامه تمرینی با توجه به اکسیژن مصرفی حدود ۶۵ تا ۷۵ درصد Vo_2max طراحی می‌شود. هفته اول موش‌ها با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه شروع به فعالیت کرده و هر دو هفته شدت فعالیت ۴ متر بر دقیقه و مدت فعالیت ۵ دقیقه افزایش خواهد یافت تا در دو هفته آخر موش‌ها با سرعت ۲۴ متر بر دقیقه و به مدت ۴۵ دقیقه خواهند دوید. شیب نوار گردان به‌طور ثابت ۵ درصد در نظر گرفته خواهد شد. موش‌های گروه دیابتی کنترل و غیر دیابتی کنترل نیز در طول دوره هشت هفته بر روی نوارگردان قرار گرفته ولی هیچ فعالیتی انجام نخواهند داد.

مکمل‌دهی:

بعد از هر جلسه تمرینی گروه‌های مکمل روزانه ۳ میلی‌گرم مکمل استاگزانتین (شرکت SIGMA) به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن محلول در ۰/۳ میلی‌لیتر روغن زیتون به‌صورت گاواژ دریافت می‌کردند.

اندازه‌گیری نمونه‌ها:

سنجش بیان ژن با روش :RealTime-PCR

حدود ۵۰ mg از بافت کلیه جدا گردید و با اضافه کردن ۷۰۰ میکرو لیتر محلولROUCHE Trizo بافت موردنظر با استفاده از گرایندرهموژنیزه شد. پس از هموژن شدن کامل بافت، محلول به میکروتیوپ انتقال داده شد و محلول حاصل به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه به‌صورت on Ice قرار گرفت. سپس حدود ۲۰۰ میکرولیترکلروفرم اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه به‌صورت on Ice قرار گرفت. سپس تیوپ به مدت ۱۵ ثانیه به‌آرامی سروته گردید و این عمل تا جایی ادامه پیدا کرد که مخلوط به طول کامل هموژن گردید و ۳ فاز به هم خورد. تیوپ حاوی نمونه دوباره به مدت ۱۵ دقیقه در یخ انکوبه شد. سپس تیوپ را در آورده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در دور ۱۲۰۰۰ rpm با استفاده از سانترفیوژ یخچال دار ساخت کمپانی زیگما سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ، محلول درون تیوپ به‌صورت ۳ فازی درآمد که فاز رویی به رنگ آبی شفاف به یک میکروتیوپ Rnase free ۱/۵ میلی‌لیتری جدید انتقال داده شد و ۱ میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد به آن اضافه و تیوپ به‌آرامی سروته گردید. به مدت ۲۰ دقیقه در فریزر انکوباسیون انجام گرفت. سپس به مدت ۲۰ دقیقه تیوپ موردنظر با شرایط قبلی یعنی دور ۱۲۰۰۰ rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از انجام سانتریفیوژ، رسوب RNA به‌صورت یک plate در کف میکروتیوپ ظاهر شد. ابتدا تمام سوپرناتانت حذف و بعد به میکروتیوپ ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۰-۷۵درصد اضافه گردید. به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور ۷۵۰۰ rpm سانتریفیوژ انجام شد. بعد از انجام سانتریفیوژ، ابتدا سوپرناتانت حذف گردید سپس PLATE به‌صورت airdry کاملاً خشک شد. سپس حدود ۴۰ میکرولیتر از محلول Depc water اضافه گردید. با استفاده از دستگاه Dry Bath رسوب و RNA در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت تا در آب حل شوند. بعد از انجام Spin غلظت نمونه با استفاده از دستگاه Nano Drop خوانده شد. برای تهیه‌ی اولین رشته از cDNA از روی RNA کل استخراج‌شده، از کیت با نام تجاری (TAKARA) استفاده گردید. این کیت بر اساس آنزیم ترانسکریپتاز معکوس تهیه شده است. سنتز رشته cDNA به کمک پرایمر اختصاصی ژن‌ها انجام شد که به‌صورت اختصاصی در نقاط مختلفی به رشته RNA اتصال می‌یابد. برای این کار و سایر PCR های معمولی طی این مطالعه از دستگاه ساخت کمپانی BIORAD استفاده شد. میزان بیان ژن BAD، BAX و Bcl2 و ژن u6 به‌عنوان کنترل داخلی با استفاده از دستگاه

Light Cycler 96 و رنگ syber green I تعیین شد. جفت پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم‌افزار oligo7 طراحی شد و توسط شرکت Roche سنتز شد. برای بررسی بیان هر ژن برحسب تعداد نمونه ابتدا مخلوطی از ((Master Mix Taq (2x ، Mix Primer،Syber Green PCR (DEPC-treated Water تهیه و پس از توزیع ۹ میکرولیتر از مخلوط در تیوپ‌های مخصوص دستگاه، به هرکدام ۱ میکرولیتر از cDNA سنتز شده اضافه گردید. سپس در تیوپ‌ها را بسته و نمونه‌ها در دستگاه Run گردیدند. توالی پرایمرهای مورداستفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. سیکل زمانی مورداستفاده در Real Time –Pcr شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه بود. میزان بیان ژن‌های موردنظر با روش 2-ΔΔCT اندازه‌گیری شد.

جدول (۱): الگوی پرایمرهای مورداستفاده در پژوهش

Genes	Primer sequence	Product length, bp
Bcl2	F: 5'TATATGGCCCCAGCATGCGA3'	136
	R: 5'GGGCAGGTTTGTCGACCTCA3'	
bax	F: 5'ATCCAAGACCAGGGTGGCTG3'	150
	R: 5'CACAGTCCAAGGCAGTGGGA3'	

اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق:

- سطوح انسولین از کیت الایزا ساخت شده توسط کمپانی elabscience (E-EL-R246696T) با روش الایزا ساندویچ با حساسیت (۰/۱۹ ng/mL). برای تعیین سطوح گلوکز از کیت الایزا ساخت شده توسط کمپانی elabscience (E-BC-K234-S) با روش انزیماتیک GOD-POD با حساسیت (0.05 mmol/l) استفاده شد.

آنالیز آماری:

برای تجزیه‌وتحلیل آماری از آمار توصیفی به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد و جداول و نمودار با نرم‌افزار (EXEL2007) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 آنالیز شد و از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه جهت بررسی اختلاف معناداری میانگین‌های بین گروه‌ها و در صورت معنی‌دار بودن نتایج از آزمون پس تعقیبی توکی برای مقایسه‌ی زوج‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

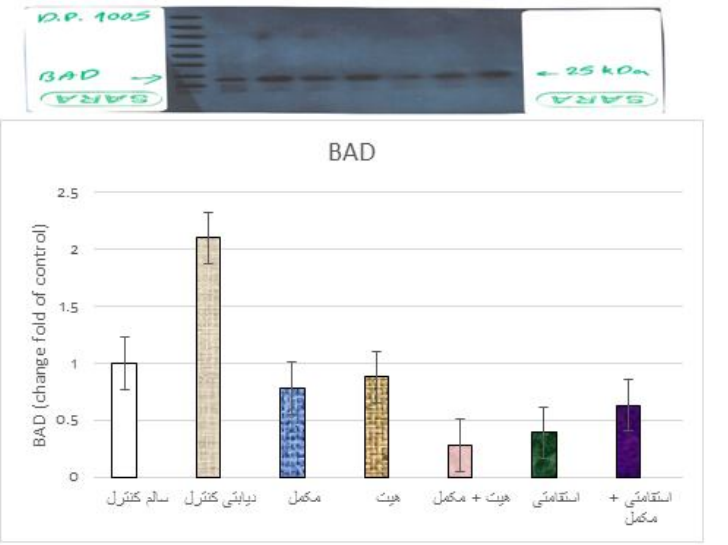
یافته‌ها

جهت بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون نرمالیته کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد، نتایج نشان داد که تمامی شاخص‌ها قبل از تجزیه‌وتحلیل به لحاظ آماری وضعیت نرمال و طبیعی دارند. در جدول زیر تأثیر تمرینات ورزشی و مکمل‌سازی آستاگزانتین بر شاخص‌های گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) پس از هشت هفته مداخله را در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ در جدول شماره ۱ گزارش شده است (جدول ۱).

جدول (۱): شاخص‌های دیابتی گروه‌های تحقیق به‌صورت میانگین+ انحراف استاندارد

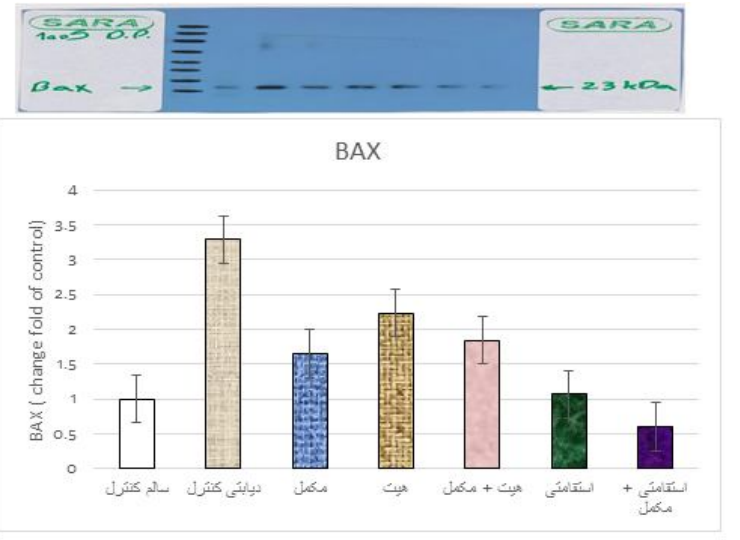
گروه	متغیرها		
	گلوکز	انسولین	HOMA-IR
سالم کنترل	۳۵۸/۴۱±۱۲/۹۵	۵/۶۴±۰/۰۳	۴/۹۹±۰/۱۸
دیابتی کنترل	۳۵۶/۶۷±۱۸/۸۵	۵/۴۳±۰/۰۱	۴/۷۸±۰/۲۴
مکمل	۲۱۴/۴۸±۱۶/۶۹	۴/۷۳±۰۰	۲/۵۰±۰/۱۹
هیت	۲۰۳/۳۹±۱۱/۴۱	۴/۶۱±۰۰	۲/۳۱±۰/۱۳
هیت+مکمل	۱۸۸/۹۳±۱۵/۱۴	۴/۵۱±۰۰	۲/۱۰±۰/۱۶
استقامتی	۱۹۸/۴۴±۸/۲۴	۴/۵۹±۰۰	۲/۲۵±۰/۰۹
استقامتی+مکمل	۱۸۵/۷۱±۴/۹۶	۴/۴۸±۰/۰۱	۲/۰۵±۰/۰۵

با توجه به نتایج تحلیل واریانس بین میانگین سطوح BAD در گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۰۱). در این شاخص با استناد به نتایج آزمون توکی بین میانگین تمام گروه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۰۱). بنابراین می‌توان عنوان کرد که تمامی پروتکل‌های مداخله تمرینی و مکمل‌سازی آستاگزانتین پژوهش حاضر بر شاخص BAD در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ تأثیر معنی‌دار دارند.



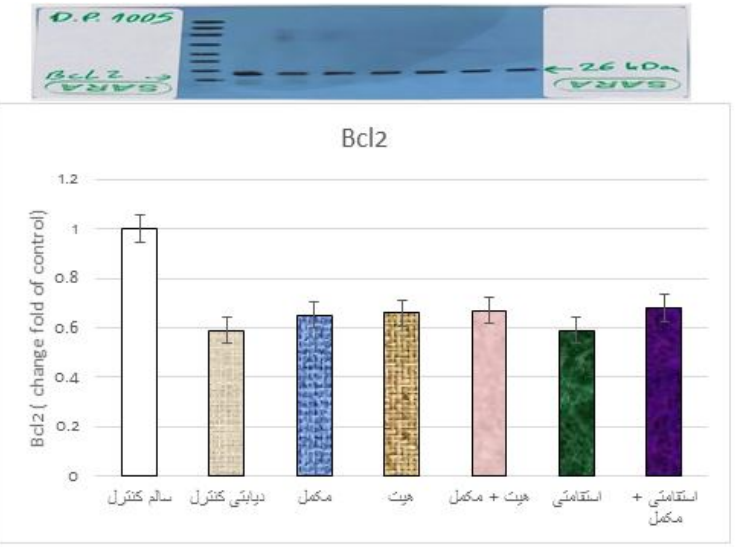
شکل (۱): نتایج مقایسه مقادیر BAD در گروه‌های موردپژوهش

با توجه به نتایج تحلیل واریانس که در شکل شماره ۲ نشان داده شده است، بین میانگین سطوح BAX در گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۰۱). با استناد به نتایج آزمون توکی بین میانگین تمام گروه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۰۱)، به‌غیراز مقایسه گروه کنترل با گروه تمرین استقامتی (p=۰/۸۹۰). بنابراین می‌توان عنوان کرد که تمامی پروتکل‌های مداخله تمرینی و مکمل‌سازی آستاگزانتین پژوهش حاضر، به‌غیراز تمرین استقامتی، بر شاخص BAX در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ تأثیر معنی‌دار دارند (p=۰/۰۰۱).



شکل (۲): نتایج مقایسه مقادیر BAX در گروه‌های موردپژوهش

باتوجه به نتایج تحلیل واریانس که در شکل شماره ۳ گزارش شده است، بین میانگین سطوح Bcl2 در گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۰۱). در این شاخص، با استناد به نتایج آزمون توکی بین میانگین تمام گروه کنترل با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۰۱)، در مقایسه گروه دیابتی کنترل با سایر گروه‌ها، این گروه تنها با گروه تمرین استقامتی به همراه مکمل تفاوت معنی‌داری دارد (p=۰/۰۳۱). همچنین در مقایسه گروه تمرین هیت با تمرین استقامتی شاهد تفاوت معنی‌دار بودیم (p=۰/۰۱۴). مقایسه گروه تمرین استقامتی نیز با گروه تمرین استقامتی به همراه مکمل تفاوت معنی‌داری نشان داد (p=۰/۰۰۳). بنابراین می‌توان عنوان کرد که مصرف مکمل آستاگزانتین به همراه تمرین استقامتی نسبت به اجرای تکی تمرین استقامتی سبب تغییراتی در شاخص Bcl2 در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ می‌گردد.



شکل (۳): نتایج مقایسه مقادیر Bcl2 در گروه‌های موردپژوهش

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمامی پروتکل‌های مداخله تمرینی و مکمل‌سازی آستاگزانتین پژوهش حاضر، به‌غیراز تمرین استقامتی، بر شاخص BAX در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ تأثیر کاهشی معنی‌دار دارند. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که باوجود اثرگذاری تمامی مداخله‌های تمرینی و مکمل‌سازی بر این فاکتور، مصرف مکمل آستاگزانتین به همراه تمرین استقامتی نسبت به اجرای تکی تمرین استقامتی سبب تغییرات افزایشی در شاخص Bcl2 در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ می‌گردد. مشابه با مطالعه ما، نگارستانی و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی اثر ترکیبی تمرین تداومی منظم (هشت هفته، پنج روز در هفته) و مصرف مکمل رزوراترول (دوز ۲۰ میلی‌گرم) بر برخی از فاکتورهای تنظیمی و اجرایی آپوپتوز هپاتوسیتی در رت‌های نر مبتلا به دیابت گزارش کردند که غلظت BAX و Caspase 3 در گروه‌های بیمار دیابتی و دیابتی- سالین در مقایسه با سایر گروه‌ها (گروه سالم، مکمل رزوراترول، تمرین تداومی و مکمل رزوراترول به همراه تمرین تداومی) بیشتر بود. این در حالی است که غلظت Bcl-2 در هر دو گروه بیمار دیابتی و دیابتی – سالین در مقایسه با سایر گروه‌ها کمتر بود. به‌طورکلی در این مطالعه استفاده از شیوه درمانی غیردارویی تمرین ورزشی، مکمل رزوراترول و به‌ویژه ترکیبی از این دو مداخله ورزشی و دارویی در کاهش آپوپتوز هپاتوسیتی ناشی از بیماری دیابت مؤثر گزارش شد (۲۹).

نقطه اشتراک بین مطالعه نگارستانی و همکاران و مطالعه ما، مدت‌زمان دوره مداخله تمرین و مکمل‌سازی می‌باشد که در هر دو مطالعه به مدت هشت هفته با توالی پنج روز در هفته می‌باشد که نتیجه‌گیری در این زمینه را تسهیل می‌نماید. غلظت شاخص BAX در هر دو مطالعه در گروه بدون مداخله تمرین ورزشی و مکمل‌سازی نسبت به گروه‌های تمرینی و مداخله مکمل بیشتر می‌باشد. همچنین در هر دو مطالعه مداخله تمرین ورزشی و مکمل‌سازی باعث افزایش سطوح Bcl2 گردیده است. نقطه تمایز دو مطالعه در نوع مکمل بکار رفته در مطالعه می‌باشد که بااین‌وجود هر دو نوع مکمل اثر معنی‌داری بر شاخص‌های BAX و Bcl2 داشته‌اند. بدین

معنی اعمال هر نوع مداخله ورزشی با شدت‌های تمرینی متفاوت و اعمال مداخله مکمل‌سازی در هر دو مطالعه (مکمل آستاگزانتین در مطالعه ما و مکمل رزوراترول در مطالعه نگارستانی و همکاران) با اثرات معنی‌داری در هر دو مطالعه همراه گردیده است. در مطالعه دیگری چن و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تمرین مزمن دویدن بر روی تردمیل (به مدت ۳۰ دقیقه یا ۶۰ دقیقه در هر جلسه، ۳ جلسه در هفته) با کاهش در بیان BAX، افزایش بیان Bcl2، کاهش غلظت نسبت BAX/Bcl2 در رت‌های مبتلا به بیماری مزمن کلیوی می‌گردد (۳۰). نتایج مطالعه چن و همکاران، همسو با یافته مطالعه ما و مطالعه نگارستانی و همکاران می‌باشد. تفاوت اصلی مطالعه چن و همکاران با دو مطالعه مذکور در جلسات تمرینی در طول هفته می‌باشد که باوجود اجرای ۳ جلسه در هفته از تمرین دویدن بر روی تردمیل، همچنان شاهد اثرات معنی‌دار بر شاخص‌های BAX و Bcl2 در این مطالعه هستیم. همچنین در مطالعه دیگری، عطایی و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی اثرات مکمل‌سازی سافرانال با دو دوز ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۲۵ روز در موش‌های صحرایی دیابتی به این نتیجه رسیدند که در گروه تحت درمان با تزریق سافرانال ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مقایسه با گروه تحت درمان با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و گروه شاهد سطوح بافتی شاخص BAX کاهش معنی‌داری داشت. به‌طورکلی این محققین عنوان کردند که مکمل‌سازی سافرانال می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی شود و آسیب‌های القاشده توسط دیابت در بافت بیضه موش‌های دیابتی را کاهش دهد (۳۱). همسو با مطالعه ما، فرزانگی و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اثر ترکیبی تمرین هوازی منظم و مصرف عصاره سیر بر برخی از فاکتورهای تنظیمی آپوپتوز کلیوی در رت‌های پیر مبتلا به بیماری مزمن کلیوی اشاره کردند که القای بیماری مزمن کلیوی با افزایش سطوح کلیوی BAX و کاهش Bcl2 در رت‌های پیر همراه می‌باشد. این محققین همچنین اشاره کردند که اجرای هشت هفته برنامه فعالیت ورزشی هوازی به‌صورت منظم، مصرف عصاره سیر و مداخله ترکیبی این دو عامل به‌طور معنی‌داری این تغییرات منفی را معکوس نمودند (۳۲).

همسو با مطالعه ما، دلفان و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی اثرات هم‌افزایی تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مکمل کورکومین بر بیان ژن BAX و Bcl2 در عضله نعلی رت‌های نر دیابتی گزارش کردند که بیان ژن Bcl2 در گروه‌های تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل (SDHIIT) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد (۳۳). این محققین همچنین نشان دادند که در گروه‌های تمرین اینتروال به‌صورت تکی و ترکیبی با مکمل بیان ژن BAX کاهش معنی‌دار دارد. این محققین به‌طورکلی نتیجه‌گیری نمودند که اجرای تمرین اینتروال شدید به همراه مکمل‌یاری کورکومین در بهبود تعادل عوامل آپوپتوزی در بهبودی عوامل تنظیمی و اجرایی مرتبط با مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول یا آپوپتوز مؤثر می‌باشد.

در نقطه مقابل مطالعه ما می‌توان به مطالعه جباری و همکاران (۲۰۱۹) اشاره کرد که با بررسی اثر تمرین هوازی و مکمل‌یاری آل کارنیتین بر فاکتورهای آپوپتوز کبد موش صحرایی دیابتی اشاره کردند که اعمال مداخله ترکیبی تمرین هوازی و مکمل‌یاری آل کارنیتین بر فاکتور Bcl2 بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت تأثیر معناداری دارد، ولی اعمال مداخله تکی تمرین هوازی و مکمل‌یاری آل کارنیتین بر این فاکتور تأثیر معناداری ندارند (۳۴). این محققین همچنین گزارش کردند که مداخله تمرین هوازی به‌صورت ترکیبی با مکمل‌یاری ال‌کارنیتین بر فاکتور BAX بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت تأثیر معناداری دارد. همچنین از بین مداخله‌های تکی، تنها تمرین هوازی (نه مکمل‌یاری ال‌کارنیتین) بر فاکتور BAX در این گروه آزمودنی تأثیر معنی‌داری دارد. این بدین معناست که در برخی پروتکل‌های تمرین هوازی به‌صورت تکی (بدون مداخله مکمل‌سازی) شاهد اثرات غیرمعنی‌دار در شاخص Bcl2 در بافت کبدی رت‌های مبتلا به دیابت هستیم. ولی در شاخص BAX اثرات تکی و ترکیبی مداخلات سبب نتایج معنی‌دار در کاهش این شاخص گردیده است. دراین‌بین بحث شدت تمرین ورزشی مطرح می‌گردد که شاید درنتیجه غیرمعنی‌دار بودن تمرین ورزشی تکی بدون اعمال مداخله مکمل تأثیر داشته باشد که این مطلب نیز با مراجعه به مطالعه کای و همکاران رد می‌گردد، زیرا کای و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اثر دو نوع تمرین ورزشی اینتروال با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط بر فرآیند آپوپتوز موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس قلبی نشان دادند که هر دو نوع تمرین اینتروال شدت بالا و تداومی شدت متوسط سبب افزایش معنادار در سطوح Bcl2 میوکارد در مقایسه با گروه کنترل بدون تمرین می‌گردند (۳۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمامی پروتکل‌های مداخله تمرینی (تمرین استقامتی و هیت) و مکمل‌سازی آستاگزانتین بر شاخص BAD به مدت هشت هفته در بافت کلیوی رت‌های دیابتی نوع ۲ تأثیر معنی‌دار دارند. بدین معنا که با استفاده از هرکدام از این مداخله‌ها می‌توان شاهد تغییرات کاهشی در فاکتور Bad بود. شاخص Bad به‌عنوان یک فاکتور ژنی پیش آپوپتوزی است که کاهش این فاکتور توسط اجرای مداخله فعالیت ورزشی هوازی و اینتروال همراه با مکمل آستاگزانتین می‌تواند در پیشگیری از بروز آپوپتوز سودمند باشد. در این راستا، Bcl2 با مسدود کردن تشکیل رادیکال‌های آزاد، تنظیم کلسیم، جلوگیری از فعال شدن کاسپاز-۳

و مسدود کردن فعالیت‌های پرواپوپتوز سایر اعضای خانواده Bcl2 مانند Bax و Bad، در نهایت می‌تواند آپوپتوز را به دنبال ایسکمی گذرای مغز در نورون‌های ناحیه هیپوکامپ مهار کند (۳۶).

اختلال کلیوی با افزایش شاخص‌های التهابی همراه است و این امر در درازمدت باعث تغییرات لایه داخلی عروقی، افزایش میزان کلاژن و کلسیم، ظهور لیپوپروتئین‌های آتروژنیک، افزایش استرس اکسیداتیو، افزایش آسیب سلولی و کاهش فعالیت کلیه می‌شود (۳۷). یکی از عوارض ایجاد شده در اثر هیپرگلیسمی و استرس اکسیداتیو، القای آپوپتوز در بافت می‌باشد. عوامل اصلی در ایجاد آپوپتوز، پروتئازهایی به نام کاسپازها هستند که با فعال شدن کاسپازها، پروتئین‌های هسته‌ای، پروتئین‌های اسکلت سلولی و همچنین پروتئین‌های دخیل در انتقال پیام مورد هدف قرار گرفته و در نهایت مرگ سلولی رخ می‌دهد. فعال‌سازی کاسپازها از دو طریق انجام می‌شود: مسیر داخلی (وابسته به میتوکندری) و مسیر خارجی (وابسته به گیرنده مرگ). در مسیر داخلی با تغییر نسبی واسطه‌های پروآپوپتیک (مانند BAX) و آنتی آپوپتیک (مانند Bcl2) نفوذپذیری غشای میتوکندری به سیتوکروم c افزایش یافته، با رهاسازی آن آپوپتوزوم شکل گرفته و سبب فعال شدن کاسپاز ۳ و ۹ می‌شود. در مسیر خارجی افزایش میزان TNF-a سرمی و اتصال آن به گیرنده TNFR که یک نوع گیرنده مرگ است، سبب تریمیزه شدن آن و در نهایت فعال شدن کاسپاز ۳ و ۸ خواهد شد. همچنین هایپرگلیسمی با افزایش رادیکال آزاد هیدروکسیل (OH) موجب بیان بالای پروتئین BAX می‌شود و ترانسلوکاسیون BAX به میتوکندری منجر به آزاد شدن سیتوکروم c و درنتیجه فعال شدن کاسپاز ۳ می‌شود، که در نهایت به آپوپتوز می‌انجامد (۳۸).

هورمون انسولین از مسیر کاهش سطح رادیکال هیدروکسیل از آزادسازی سیتوکروم c کاسته و سبب کاهش قابل ملاحظه در فعالیت کاسپاز ۳ می‌گردد که از آسیب کبدی می‌کاهد (۳۹). فعالیت آپوپتیک با برخی از پروتئین‌هایی که نقش مهمی در کنترل این فرآیند دارند، تنظیم می‌گردد. به‌طور نمونه، افزایش غلظت نسبت BAX به Bcl2 دلیل بر افزایش آپوپتوز و یا مرگ سلولی می‌باشد (۴۰). علاوه بر این افزایش نسبت BAX/Bcl2 ممکن است نفوذپذیری منافذ غشاء میتوکندریایی را افزایش داده و با فعال نمودن کاسپاز ۳ سبب التهاب کلیوی، آتروفی توبولی و در نهایت فیبروز کلیوی گردد (۴۱). این در حالی است که کاهش نسبت BAX به Bcl2 با مهار سیتوکروم c و عدم فعال شدن کاسپاز ۳ منجر به کاهش آپوپتوز و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌گردد (۴۲).

مطالعات نشان داده‌اند که اجرای فعالیت ورزشی علاوه بر اثرات سودمند بر تغییرات سیستمی دیابت نوع دوم به لحاظ پیشگیری و به تأخیر انداختن دیابت و بهبود متابولیسم گلوکز، از مسیر کاهش استرس اکسیداتیو و مرگ برنامه ریزی شده سلول نقش حفاظتی را در برابر عوارض دیابت ایفا می‌کند (۴۳). سازوکار احتمالی کنترل قند خون در اثر تمرینات اینتروال شدید شامل افزایش جذب وابسته و یا مستقل از انسولین گلوکز در عضله اسکلتی، افزایش محتوی GLUT-4 و افزایش فعالیت گلیکوژن سنتتاز می‌باشد (۴۴). از این رو در برخی مطالعات نشان داده شده است که اجرای تمرینات ورزشی سبب کاهش نسبت بین پروتئین‌های پیش آپوپتوزی مانند BAX و پروتئین‌های ضد آپوپتوزی مانند Bcl2 و کاهش سیگنال فعال‌سازی Caspase 3 به‌عنوان کاسپاز نهایی مسیر آپوپتوز می‌گردد (۳۶).

یکی از مکانیسم‌های احتمالی در زمینه قابلیت تمرینات ورزشی بر آپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی شده سلول می‌تواند ظرفیت مسدود کردن تشکیل رادیکال‌های آزاد باشد. گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در زنجیره انتقال الکترونی میتوکندری به‌عنوان یک محصول طبیعی تولید می‌شوند، اما هنگامی که سطح آن‌ها بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول باشد، می‌توانند منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده سلول گردند. استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است و این امر می‌تواند مرگ برنامه ریزی شده سلول را از مسیرهای گوناگونی راه‌اندازی نماید (۴۵). باوجود اینکه مکانیسم‌های دقیق اثر فعالیت ورزشی بر تنظیم مسیر آپوپتوزی ناشی از اختلال کلیوی به درستی مشخص نشده است، ولی در مطالعات قبلی نشان داده شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند از مسیر کاهش پروتئین پروآپوپتیک BAX و افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl2 و در نتجه مهار آزادسازی سیتوکروم c مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود و نیز کاسپاز ۹ با فعال‌سازی کاسپاز ۳ می‌تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول گردد (۴۶).

در مطالعه جباری و همکاران، مکانیسم عمل نقش فعالیت ورزشی بر تنظیم مسیر آپوپتوزی بافت کبد بدین صورت توجیه شد که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl2 و درنتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم c مانع فعال شدن کاسپاز ۹ گردد. از طرفی کاسپاز ۹ با فعال‌سازی کاسپاز ۳ می‌تواند سبب تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود. در این زمینه می‌توان به مکانیسم‌های اشاره شده در مطالعات صورت گرفته در این زمینه اشاره کرد. به‌طور مثال، الماسی و همکاران نشان دادند که تنظیم مثبت Bcl2 و کاهش BAX/Bcl2 در بافت کلیه رت‌های مواجه با هیپوکسی مزمن در اثر نقش ضد آپوپتیک گرلین به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی آن و مهار کاسپازهای ۳ و ۹ در بافت کلیه می‌باشد (۴۷). زانگ و

همکاران نشان دادند که بیمار دیابتی با آلیسین منجر به کاهش صدمات و آپوپتوز در به افت‌های ریه، روده و کلیه در رت‌های با شوک تروما هموراژیک می‌گردد و این اثرات ضد آپوپتیک آلیسین ممکن است از مسیر تنظیم منفی پروتئین کیناز فعال شده از میتوژن p38، فاکتور هسته‌ای کاپابی (NF-κB) و کاسپازهای ۳ و ۹ میانجی‌گری گردد (۴۸).

امروزه در راستای تمرینات ورزشی، استفاده از گیاهان دارویی با خواص بیولوژیکی مختلف به دلیل عوارض جانب کمتر و کاهش در هزینه‌های درمانی در برخی مطالعات توصیه شده است. با این تفاوت که در مطالعات مختلف در این زمینه، مکمل‌سازی‌های دارویی گوناگونی مورد بررسی قرار گرفته است که جهت اتفاق‌نظر در این زمینه، می‌توانند مورد بحث و بررسی قرار گیرند. به‌طور مثال، در مطالعه نگارستانی و همکاران (۲۰۲۰) اثر هشت هفته تمرین تداومی و دریافت مکمل رزوراترول بررسی شد که هرکدام به تنهایی سبب کاهش معنی‌دار غلظت BAX، Caspase3، غلظت نسبت BAX/Bcl2 و افزایش معنی‌دار غلظت Bcl2 شدند و اشاره بر این داشتند که تمرین ورزشی مداوم و استفاده از مکمل رزوراترول هرکدام به تنهایی می‌توانند اثرات ضد آپوپتیتی داشته باشند. با استناد به یافته‌های مطالعات صورت گرفته در این زمینه می‌توان عنوان کرد که به دام انداختن گونه‌های اکسیژن واکنشی توسط کارتنوئیدها با افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کارتنوئیدها افزایش می‌یابد (۴۹).

پتانسیل اکسیداسیونی آستاگزانتین به‌طور معنی‌داری در مقایسه با بتاکاروتن بالاتر است. بنابراین میزان پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد توسط آستاگزانتین بالاتر می‌باشد و خاصیت و ویژگی پرواکسیداتیو را با کاهش Fe^{3+} به Fe^{2+} نشان می‌دهد (۵۰). یانگ و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که آستاگزانتین از آپوپتوزپریسایت‌ها و تأخیر در توسعه و پیشرفت رتینوپاتی دیابتی در رت‌های دیابتی توسط کاهش تولید AGEs ها و رهایش سیتوکین‌های التهابی و شکستن Caspase 3 به‌عنوان واسطه آپوپتوز پریسایت‌ها محافظت می‌کند (۵۱). در مطالعه‌ای توسط کوای و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شد که مکمل‌سازی آستاگزانتین مقادیر NRF-2، HO-1 و بیان ژنی پروتئین Bcl2 را افزایش می‌دهد و در طرفی دیگر مقادیر پروتئینی BAX، Caspase 3 و Caspase 9 را کاهش می‌دهد (۵۲). عزیززاده و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی تأثیر تمرینات ورزشی تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط همراه با مصرف مکمل استاگزانتین بر عوامل التهابی در رت‌های دیابتی نوع دوم به این نتیجه رسیدند که اعمال مداخله تمرین تناوبی شدید با شدت ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تمرین تداومی متوسط با شدت حدود ۶۵ الی ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی تردمیل به مدت هشت هفته با توالی پنج روز در هفته و مصرف مکمل آستاگزانتین به مقدار روزانه ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن آزمودنی به این نتیجه رسیدند که شاخص‌های التهابی اینترلوکین ۶ و پروتئین واکنشگر C بعد از مداخله تمرینات ورزشی تناوبی شدید و تداومی متوسط در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. این در حالی است که در این مطالعه مصرف مکمل به تنهایی نسبت به گروه کنترل تغییرات غیرمعنی‌داری داشت (۵۳). این محققین در مکانیسم و اهمیت استاگزانتین عنوان کردند که آستاگزانتین دارای هر دو اثر ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی است که حمایت استاگزانتین از یکپارچگی سلولی به‌ویژه سلول‌های بتای پانکراس، یک فاکتور ایمونولوژیک و مهارکننده اختلالات عملکردی در موش‌های دیابتی شناخته شده است (۵۳). همچنین در مطالعات گوناگونی اثرات آستاگزانتین در افزایش حساسیت انسولینی و کمک به بازسازی سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های دیابتی شده مشاهده شده است (۵۴).

در یک مطالعه جامع فراتحلیلی توسط حاج هاشمی و همکاران (۲۰۲۰) اثرات مکمل آستاگزانتین با دوزهای بالاتر و پایین‌تر از ۱۲ میلی‌گرم بر شاخص‌های چاقی، فشار خون، پروتئین واکنشگر C، میزان قند خون و نیمرخ چربی صورت گرفت، در نتایج مطالعات بکار رفته در این مطالعه جامع فراتحلیلی با یکدیگر اتفاق نظر نداشتند و دلیل این امر را تفاوت در دوز مصرفی، طول دوره مصرف، زمان مصرف و شرایط نمونه‌ها و همچنین شدت آسیب ناشی از اختلال یا بیماری گزارش کردند (۵۵). این امر می‌تواند به‌عنوان یک ادبیات حمایتی از تناقض یافته این مطالعه با سایر مطالعات مرتبط در این زمینه باشد.

اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو از قبیل آنزیم‌های گلوتاتیون، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و شاخص‌های التهابی از قبیل اینترلوکین-۶ و TNFa و شاخص اکسایشی مالون دی آلدهید، همچنین پروتئین P53 می‌توانست درنتیجه‌گیری جامع از این مطالعه کمک شایانی نمایدت، که در این مطالعه عدم سنجش این شاخص‌ها به‌عنوان محدودیت اصلی به حساب می‌آید. لذا به مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد که پروتکل تمرینی و مکمل‌سازی این مطالعه را جهت نتیجه‌گیری جامع در این زمینه در گروه‌های مطالعاتی گسترده و در دوره مداخله طولانی‌تر با رفع محدودیت‌های این مطالعه پیگیری نمایند.

به‌طورکلی می‌توان عنوان کرد که اجرای مداخله تمرینات هوازی و اینتروال همراه با مکمل‌سازی آستاگزانتین در دوره

مداخله‌ای هشت‌هفته‌ای بر بیومارکرهای آپوپتوزی در بافت کلیوی رت‌های با دیابت ۲ تأثیر مثبتی دارند و اجرای این مداخلات به‌صورت تکی و ترکیبی بر این شاخص‌ها تأثیر معنی‌داری دارند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب پایان نامه مقطع دکتری با حمایت دانشگاه ارومیه اجرا شد. نویسندگان این مطالعه از معاونت پژوهشی دانشگاه و آزمودنی‌های مطالعه نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

References:

1. Gonçalves N, Gomes-Ferreira C, Moura C, Roncon-Albuquerque Jr R, Leite-Moreira A, Falcão-Pires I. Worse cardiac remodeling in response to pressure overload in type 2 diabetes mellitus. Int J Cardiol 2016; 217:195-204.
2. Rawal S, Manning P, Katare R. Cardiovascular microRNAs: as modulators and diagnostic biomarkers of diabetic heart disease. Cardiovasc. Diabetol 2014;13:44.
3. Sheikh BA, Pari L, Rathinam A, Chandramohan R. Trans-anethole, a terpenoid ameliorates hyperglycemia by regulating key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. Biochimie 2015; 112:57-65.
4. Li L, Yin Q, Tang X, Bai L, Zhang J, Gou S et al. C3a receptor antagonist ameliorates inflammatory and fibrotic signals in type 2 diabetic nephropathy by suppressing the activation of TGF-β/smad3 and IKBα pathway. PloS One 2014;9: e113639.
5. Xu Y, Bai L, Chen X, Li Y, Qin Y, Meng X et al. 6-Shogaol ameliorates diabetic nephropathy through anti-inflammatory, hyperlipidemic, anti-oxidative activity in db/db mice. Biomedicine & Pharmacotherapy 2018; 97:633-41.
6. Narres M, Claessen H, Droste S, Kvitkina T, Koch M, Kuss O et al. The incidence of end-stage renal disease in the diabetic (compared to the non-diabetic) population: a systematic review. PloS One 2016;11:e0147329.
7. Kashihara N, Haruna Y, K Kondeti V, S Kanwar Y. Oxidative stress in diabetic nephropathy. Curr Med Chem 2010;17:4256-69.
8. Pal PB, Sinha K, Sil PC. Mangiferin attenuates diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress mediated signaling cascade, TNFα related and mitochondrial dependent apoptotic pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. PloS One 2014;9:e107220.
9. Wagener F, Dekker D, Berden J, Scharstuhl A, Van der Vlag J. The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney. Apoptosis 2009;14:1451-8.
10. Lee SH, Moon SJ, Paeng J, Kang H-Y, Nam BY, Kim S et al. Podocyte hypertrophy precedes apoptosis under experimental diabetic conditions. Apoptosis 2015; 20:1056-71.
11. Susztak K, Raff AC, Schiffer M, Böttinger EP. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. Diabetes 2006;55:225-33.
12. Sharifi A, Islami H, Larijani B. Investigating the role of the intrinsic pathway of apoptosis in cell death caused by high glucose concentration in PC12 cells. Iran. J Endocrinol Metab 2009; 9: 326-334.
13. Kim DY, Jung SY, Kim CJ, Sung YH, Kim JD. Treadmill exercise ameliorates apoptotic cell death in the retinas of diabetic rats. Mol Med Rep 2013;7:1745-50.
14. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran BJ. Effect of exercise training on Bcl-2 and bax gene expression in the rat heart. Gene Cell Tissue 2015;2:1-10. (Persian)
15. Amini A, Gaeini A, Choobine S, Kordi MR, Alizadeh SJ. The Effects of Aerobic Training on Expression of Bcl-2 and miR-15 and Bcl-2 Protein

in Tumor Tissue in Mice with Breast Cancer. Sport Physiol 2016; 8:85-100. (Persian).

16. Hussein MA. Cardioprotective effects of astaxanthin against isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. J Nutr Food Sci 2015; 5:1-6.
17. Al-Bulish MS, Xue C, Waly MI, Xu J, Wang Y, Tang Q. The Defensive Role of Antioxidants Astaxanthin against Oxidative Damage in Diabetic Rats Injected with Streptozotocin. J Food Nutr Res 2017; 5:191-6.
18. Lin X, Zhao Y, Li S. Astaxanthin attenuates glutamate-induced apoptosis via inhibition of calcium influx and endoplasmic reticulum stress. Eur J Pharmacol 2017;806:43-51.
19. Fang Q, Guo S, Zhou H, Han R, Wu P, Han C. Astaxanthin protects against early burn-wound progression in rats by attenuating oxidative stress-induced inflammation and mitochondria-related apoptosis. Sci Rep 2017; 7:41440.
20. Guo SX, Zhou HL, Huang CL, You CG, Fang Q, Wu P et al. Astaxanthin attenuates early acute kidney injury following severe burns in rats by ameliorating oxidative stress and mitochondrial-related apoptosis. Mar Drugs 2015; 13:2105-23.
21. Manabe E, Handa O, Naito Y, Mizushima K, Akagiri S, Adachi S et al. Astaxanthin protects mesangial cells from hyperglycemia‐induced oxidative signaling. J Cell Biochem 2008;103:1925-37.
22. Naito Y, Uchiyama K, Aoi W, Hasegawa G, Nakamura N, Yoshida N et al. Prevention of diabetic nephropathy by treatment with astaxanthin in diabetic db/db mice. Biofactors 2004; 20:49-59.
23. Sila A, Ghlissi Z, Kamoun Z, Makni M, Nasri M, Bougatef A et al. Astaxanthin from shrimp by-products ameliorates nephropathy in diabetic rats. Eur J Nutr 2015; 54:301-7.
24. Boor P, Celec P, Behuliak M, Grančič P, Kebis A, Kukan M et al. Regular moderate exercise reduces advanced glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese Zucker rats. Metabolism 2009;58:1669-77.
25. Viberti G, Jarrett R, McCartney M, Keen H. Increased glomerular permeability to albumin induced by exercise in diabetic subjects. Diabetologia 1978;14:293-300.
26. Kurdak H, Sandikci S, Ergen N, Dogan A, Kurdak SS. The effects of regular aerobic exercise on renal functions in streptozotocin induced diabetic rats. J Sports Sci Med 2010;9:294.
27. Podhorska-Okołów M, Dziegiel P, Gomułkiewicz A, Dolińska-Krajewska B, Murawska-Ciałowicz E, Jethon Z et al. The role of AT1 and AT2 angiotensin receptors in the mechanism of apoptosis in renal tubular cells after physical exercise. Rocz Akad Med Bialymst 2004; 49:8-10.
28. Podhorska-Okołów M, Dzięgiel P, Murawska-Ciałowicz E, Krajewska B, Ciesielska U, Jethon Z et al. Exercise-induced apoptosis in renal tubular cells of the rat. Folia Morphologica 2004; 63:213-6.
29. 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. Kashan Univ Med Sci J 2020;23:605-14.
30. 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; 20: 368450.
31. Ataei G, Rahbarian R. Investigating the effect of safranal on Bax and Bcl2 and oxidative stress levels in testis tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. Kashan Univ Med Sci J 2020;24:10-20.
32. Farzanegi P, Habibian M, Alinejad H. The combined effect of regular aerobic exercise with garlic

extracts on renal apoptosis regulatory factors in aged rats with chronic kidney disease. Arak Med Univ J 2016; 19:62-70. (Persian).

33. Delfan M, Rabiee M, Amadeh Juybari R. Synergistic Effect of High Intensity Interval Training (Hiit) Combined with Curcumin on Bax and Bcl-2 Gene Expression in Soleus Muscle of Diabetic Rats. Iran J Diabetes Metabol 2021 10; 20:210-9. (Persian).
34. Jabbari SE, Gholami M, Nikbakht H, Shakeri N, Ghazalian F. Effect of aerobic training and L-carnitine supplementation on some apoptotic factors in diabetic rat liver. Razi J Med Sci 2019; 26:131-140. (Persian).
35. Cai MX, Shi XC, Chen T, Tan ZN, Lin QQ, Du SJ et al. Exercise training activates neuregulin 1/ErbB signaling and promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model. Life Sci 2016; 149:1-9.
36. 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; 65:435-43. (Persian)
37. Schlondorff DO. Overview of factors contributing to the pathophysiology of progressive renal disease. Kidney Int 2008;74:860-6.
38. 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: 187-200.
39. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. J Cell Biol 1994; 124:1-6.
40. 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: 528-33. (Persian).
41. Yang B, Johnson TS, Thomas GL, Watson PF, Wagner B, Furness PN et al. A shift in the Bax/Bcl-2 balance may activate caspase-3 and modulate apoptosis in experimental glomerulonephritis. Kidney Int 2002; 62: 1301-13.
42. 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.
43. 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. Biol Sci Med Sci 2015;70: 533-44.
44. Dela F, Ingersen A, Andersen NB, Nielsen MB, Petersen HH, Hansen CN et al. Effects of one‐legged high‐intensity interval training on insulin‐mediated skeletal muscle glucose homeostasis in patients with type 2 diabetes. Acta Physiologica 2019; 226: e13245.
45. 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.
46. 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. Evid. based Complement. Altern Med 2013;1:1-8.
47. Almasi S, Shahsavandi B, Aliparasty MR, Alipour MR, Rahnama B, Feizi H. The antiapoptotic effect of ghrelin in the renal tissue of chronic hypoxic rats. J Physiol Pharmacol 2015; 19:114-20.
48. Zhang Y, Yao HP, Huang FF, Wu W, Gao Y, Chen ZB et al. Allicin, a major component of garlic, inhibits apoptosis in vital organs in rats with

trauma/hemorrhagic shock. Crit Care Med 2008;36:3226-32.

49. Polyakov NE, Leshina TV, Konovalova TA, Kispert LD. Carotenoids as scavengers of free radicals in a Fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? Free Radic Biol Med 2001;31:398-404.
50. Focsan AL, Pan S, Kispert LD. Electrochemical study of astaxanthin and astaxanthin n-octanoic monoester and diester: Tendency to form radicals. J Phys Chem 2014;118:2331-9.
51. Yang M, Zhao T, Deng T, Wang Z. Protective effects of astaxanthin against diabetic retinal vessels and pro-inflammatory cytokine synthesis. Int J Clin Exp Med 2019;12:4725-34.
52. Cui G, Li L, Xu W, Wang M, Jiao D, Yao B et al. Astaxanthin protects ochratoxin A-induced oxidative stress and apoptosis in the heart via the Nrf2 pathway. Oxid Med Cell 2020; 22:1-6.
53. Azizzadeh T, Zolfaghari MR, Fattahi A, Khademvatani K. Effect of moderate intensity continuos training with astaxantin supplementation on inflammatory factors of cardiac tissue in type 2 diabetic rats. Ebnesina 2021; 23:12-22. (Persian)
54. Said M, Al-Bulish M, Xue C, Waly M, Xu J, Wang YM et al. The defensive role of antioxidants astaxanthin against oxidative damage in diabetic rats injected with streptozotocin. J. Food Nutr Res 2017; 5:191-196.
55. Hajhashemy Z, Saneei P. Meta-analysis of astaxanthin supplementation on obesity, blood pressure, CRP, glycemic biomarkers, and lipid profile: reanalysis is needed. Pharmacol Res 2020:12:105171.

Original Article

THE EFFECT OF A PERIOD OF AEROBIC AND INTERVAL TRAINING ALONG WITH ASTAXANTHIN SUPPLEMENTATION ON THE EXPRESSION OF BAD, BAX, AND BCL2 GENES IN THE KIDNEY TISSUE OF RATS WITH TYPE 2 DIABETES

Mehdi Jafarlu[1], Mohammad Reza Zolfaghari[2], Amir Fattahi[3]*

Received: 20 August, 2022; Accepted: 02 October, 2022

Abstract

Background & Aims: Formation of free radicals in the kidney cells of diabetics leads to apoptosis of them and eventually nephropathy. The aim of this study was to investigate the effects of intervals and aerobic exercise along with astaxanthin supplementation on the expression levels of BAD, BAX and Bcl2 genes in the kidney tissue of rats with type 2 diabetes.

Materials & Methods: 35 male Wistar rats with an average weight of 197.46±15.55 grams were randomly divided into two non-diabetic (5 healthy controls) and diabetic (30) groups, and after induction of diabetes, they were randomly divided again in 6 groups (with 5 rats in each group) including diabetic control, diabetes+supplement, diabetes+interval, diabetes+supplement+interval, diabetes+aerobic, diabetes+aerobic+supplement. The exercise intervention groups performed the program of aerobic and interval exercises for eight weeks as five days per week. Supplement groups received 3 mg of astaxanthin supplement per kilogram of body weight dissolved in 0.3 ml of olive oil by gavage every day. The expression levels of BAD, BAX, and Bcl2 genes were measured in the kidney tissue of rats with type 2 diabetes. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for data analysis.

Results: All exercise intervention protocols and astaxanthin supplementation had significant effects on the BAD index in the kidney tissue of the type 2 diabetic rats (p=0.001). All groups, except endurance training (p=0.890), had significant effects on BAX index in the kidney tissue of type 2 diabetic rats (p=0.001). Also, the use of astaxanthin supplement along with endurance training caused significant changes in Bcl2 index compared to single endurance training (p=0.001).

***Conclusion*:** The intervention of aerobic and interval exercises with or without astaxanthin supplementation in the eight-week intervention period has positive effects on the apoptotic biomarkers in the kidney tissue of rats with type 2 diabetes.

Keywords: Aerobic Training, Interval Training, Astaxanthin Supplement, BAD Gene, BAX Gene, Bcl2 Gene

Address: Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +989356293527
Email: mehdi.jafarlu@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(9): 130 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[1] *PHD student of exercise physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding author)*
[2] *Assistant Professor of Sports Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Urmia University, Urmia, Iran*
[3] *Assistant Professor in Stem Cell Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*