مجله دیابت و متابولیسم ایران. آذر و دی ۱۳۹۹؛ دوره ۲۰ (شماره ۲)۱۱۶-۱۰۵

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه بر بیان ژن *Bax* و *Bcl-2* در بافت پانکراس رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع دو

هومنا عبدی*[۱]، عیدی علیجانی[۲]، مهسا محسن‌زاده[۲]

چکیده

مقدمه: اگرچه برخی مطالعات، سازوکار عملکرد سلول‌های‌های بتا را در مدل های حیوانی و کم و بیش در جمعیت‌های انسانی مطالعه نموده‌اند، اما تاکنون نقش ورزش درمانی یا اجرای فعالیت ورزشی HIIT همرا ه با مصرف مکمل انگور سیاه بر بیان ژن‌های درگیر در سلول‌های بتای پانکراس کمتر مطالعه شده است در این پژوهش به بررسی اثر مکمل انگور سیاه توام با تمرین تناوبی شدید بر ژن‌های Bcl-2 و Bax بافت پانکراس رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو پرداخته می‌شود.

روش‌ها: مطالعه در قالب یک طرح تجربی انجام شد. آزمودنی‌های این طرح را ٤٠ رت نر ٨ ماهه با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم تشکیل دادند. پس از آشنایی آزمودنی‌ها با تمرین و القاء دیابت توسط STZ به‌صورت تصادفی در ۵ گروه شامل تمرین، مکمل، تمرین و مکمل، کنترل دیابتی و کنترل پایه تقسیم شدند. پس از ۸ هفته تمرین که ۵ جلسه در هفته و به‌مدت ۸ هفته که فعالیت بر روی نوارگردان با شدت ۹۰٪ Vo2max و مکمل‌دهی عصاره‌ی هسته‌ی انگور سیاه بود. میزان ژن‌های Bcl-2 و Bax بعد از استخراج RNA از پانکراس و سنتز cDNA اندازه‌گیری شد. میزان ژن Bcl-2 و Bax با روش PCR Time-Real مورد سنجش قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون t مستقل و تحلیل واریانس دو عاملی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ٢٤ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد اثر اصلی تمرین بر بیان ژن Bcl-2 اثر معناداری ندارد. اثر اصلی عصاره بر بیان این ژن معنادار بود. همچنین تعامل تمرین و مکمل بر Bcl-2 معنادار نبود. در خصوص بیان ژن Bax نشان داده شد اثر اصلی تمرین بر ژن اثر معنادار بود. اثر اصلی عصاره و تعامل تمرین و مکمل بر بیان ژن Bax معنادار نبود. در مقایسه تأثیر تمرین و عصاره بر بیان ژن‌های Bcl-2 و Bax تغییرات معناداری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تنظیم بیان ژن‌های Bcl-2 و Bax از طریق تمرین و مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه احتمال دارد منجر به بهبود و حفظ عملکرد سلول‌های بتای پانکراس در رت‌های دیابتی شود.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرینات تناوبی شدید (HIIT)، عصاره‌ی دانه انگور سیاه، پروتئین Bcl-2، پروتئین Bax، پانکراس

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحدکرج، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، البرز، ایران

* **نشانی**: کرج، انتهای رجایی شهر، تقاطع بلوار موذن و استقلال، مجتمع دانشگاهی امیرالمونین، کدپستی: ۳۱٤۹۹٦۸۱۱۱، تلفن: ۰۲٦۳٤۲۵۹۵۷۱، نمابر: ۳٤٤۱۸۱۵٦، پست الکترونیک: homena.abdi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۵ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۹/۰۹/۳۰** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۱**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

مقدمه

دیابت اختلال متابولیک است که به‌طور کلی به دو نوع دیابت نوع یک و نوع دو تقسیم می‌شود. عوارض دیابت همراه با میزان مرگ و میر و هزینه‌های بهداشت، سلامت و درمان بسیار مهم و تعیین کننده‌ی علت کیفیت ضعیف زندگی مرتبط با سلامت است [۱]. دیابت نوع دو[2]، بیماری نای از اختلال هموستاز گلوکز است که تخمین زده شده است که بین ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلیون نفر در سراسر جهان به آن مبتلا هستند. مجموعه ای از تخریب متابولیسم گلوکز، افزایش چربی شکمی، دیس لیپیدمی (بی‌نظمی لیپیدی)، پُرفشار خونی و ارتباط آنها با پیشرفت‌های آتی در دیابت نوع دو و CVD منعکس کننده‌ی سندرم متابولیک است. تعریف سازمان جهانی بهداشت (WHO)[3] از سندرم متابولیکی شامل نسبت دور کمر به باسن بیشتر از ۰/۹۰ یا BMI بیشتر ۳۰ و از مناسب‌ترین تعاریف دیابت است [۲]. سندرم متابولیک غالباً منجر به پیشرفت دیابت نوع دو می‌شود. دیابت یک بی‌نظمی متابولیکی مزمن است که تقریباً ۵٪ از جمعیت کشورهای صنعتی را متأثر می‌سازد [۳]. دیابت نوع دو به طور فراوان در بزرگسالان دیده می‌شود، لیکن غالباً در کودکان و جوانان هم قابل تشخیص است. دیابت نوع دو، اصولاً از طریق افزایش عوامل خطر قلبی عروقی، یکی از علت‌های اصلی بیماری‌های نابهنگام و مرگ و میر، شناسایی می‌شود [٤]. رایج‌ترین شکل دیابت نوع دو، بی‌نظمی وراثتی است که با فاکتورهای محیطی و ژنتیکی همراه است که منجر به نقص دوگانه مقاومت انسولینی و نقص عمل سلول آندوتلیال، می‌شود [۵].

مولکول BcL-2[4] ابتدا به‌عنوان پروتوانکوژن در لنفومای فولیکولار سلول‌های B شناسایی شد. این مولکول به‌عنوان همولوگ پستانداری یکی از اعضای اصلی آپوپتوز در C.elegance معرفی شد. BcL-2 یک پروتئین غشایی است که اساساً در غشای خارجی میتوکندری قرار دارد. ۱۹ عضو از خانواده BCL-2 در پستانداران شناسایی شده است. این خانواده چهار موتیف حفاظت شده‌ی BH1-BH2-BH3-BH4 دارد که با توجه به فعالیت و ساختار به سه دسته تقسیم شده اند.

الف- اعضای ضدآپوپتوز که شامل حداقل دو موتیف حفاظت شده هستند؛ BcL-2، BcL-XL و غیره.

ب- اعضای پروآپوپتوز که شامل چهار دسته حفاظت شده هستند؛ Bax (BCL2-associated X protein)، Bak و غیره.

ج- شامل Bik، Bin، Bad و غیره هستند.

این گروه تنها دارای موتیف حفاظت شده‌ی BH3 بوده و این ناحیه برای القای خاصیت کشندگی کافی و ضروری است [۷، ٦]. پروتئین Bcl-2 که با ژن BCL2 کدگذاری می‌شود، یک پروتئین آنتی‌آپوپتوتیک است. پروتئین Bax یا پروتئین x وابسته به Bcl-2، پروتئین تنظیم کننده‌ی آپوپتوز است که با ژن Bax رمزگذاری می‌شود. Bax عضو خانواده‌ی ژن Bcl-2 بوده و تنظیم‌کننده آپاپتوز است [۸].

Bax پروتئینی است که با خنثی کردن عمل Bcl-2 آپوپتوز را فعال و تغییرات بافت‌شناختی معینی از جمله کاهش یا عدم چسبندگی سلول آپوپتوزی به سلول‌های دیگر و ماتریکس خارج سلولی، وقوع تاول‌های غشاء پلاسمایی و تراکم هسته‌ای، قطعه قطعه شدن DNA ژنومی، اتساع رتیکلوم اندوپلاسمیک، آزادسازی ریبوزوم‌ها و تجزیه سلول به اجسام آپاپتوزی، سلول در حال مرگ، ایجاد می‌کند [۹]. Bax محرک بسیار قوی مرگ سلولی است، در صورتی که عملکرد Bcl-2 در راستای افزایش بقاء سلولی است. پروتئین Bax در وضعیت نرمال سلول به فرم مونومر در سیتوزول یا متصل به غشاء است. اما Bcl-2 اساساً در داخل غشای میتوکندری قرار داشته و با پروتئین Bax هترودیمر تشکیل می‌دهد [۱۰]. این هترودیمیر منجر به خنثی شدن متقابل اثرات پروآپتیتوتیک و آنتی‌آپیتوتیک این دو پروتئین می‌شود. تعادل بین میزان بیان Bax و Bcl-2 از طریق تنظیم یکپارچگی غشاء خارجی میتوکندری، در فعال کردن مسیر میتوکندریایی آپپتوز دخیل است [۱۱، ۱۲]. بنابراین افزایش نسبت Bax/Bcl-2 می‌تواند تا اندازه‌ای بیانگر فعال شدن مسیر میتوکندریایی آپپتوز در سلول‌های PC1 بعد از تیمار با مورفین [۱۳].

[2] T2DM
[3] World Health Organization
[4] B-cell lymphoma 2

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

نشان داده شده است که ترکیبات مغذی موجود در انگور نقش مهمی در سلامتی دارند [۱٤]. پروآنتوسیانیدین دیمر موجود در هسته انگور موثرترین ترکیب آنتی‌اکسیدان است. آنتی‌اکسیدان ها موادی هستند که با حضورشان در غذا یا بدن حتی در مقادیر بسیار کم، بدن را در برابر انواع مختلفی از آسیب‌های اکسیداتیو که ممکن است در اثر گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد گردد، محافظت می‌کنند. استرس اکسیداتیو که عبارت از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بدن است، به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است، به‌طوری که نشان داده شده است که طی هر دو نوع دیابت یک و دو و حتی در غیاب عوارض دیابتی، استرس اکسیداتیو در خون افزایش یافته و درمان با آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین E و ملاتونین منجر به کاهش عوارض دیابت گردیده است. با توجه به موارد ذکر شده، استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی نقش به‌سزایی در کاهش عواقب ناشی از بیماری دیابت خواهد داشت و در این بین استفاده از ترکیبات با منشاء گیاهی که معمولاً با عوارض جانبی کمتری همراه است، اهمیت خاص خود را دارد [۱۵].

از طرفی دیگر تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که فعالیت بدنی در پیشگیری از بیماری دیابت نوع دوم و همینطور مشکلات حاد تندرستی دیگر مثل بیماری قلبی عروقی و سرطان‌های خاص، نقش مهمی بازی می‌کند. بدیهی است که بیماری بیشتر افراد دارای دیابت نوع دوم، با عدم تحرک تشدید خواهد شد [۱٦].

درخصوص اثر تمرینات ورزشی بر میزان عملکرد سلول‌های بتای پانکراس نیز ابهام زیادی وجود دارد. ایزدی و همکاران (۱۳۹۰)، عنوان کردند عملکرد سلول‌های بتای پانکراس بر اثر حتی یک جلسه تمرین هوازی و همچنین تمرینات استقامتی طولانی مدت در زنان مبتلا به دیابت نوع دو بهبود پیدا کرده است[۱۷]. Calder و همکاران (۲۰۰٦)، بهبود عملکرد سلول‌های بتای پانکراس را پس از ۱۲ هفته تمرین مقاومتی در زنان دارای اضافه وزن مشاهده کردند [۱۸].

مغایر با این نتایج، محمودزاده و همکاران (۱۳۹۲)، تغییری در عملکرد سلول‌های بتای پانکراس مردان مبتلا به دیابت نوع دو در پاسخ به تمرینات هوازی مشاهده نکردند، اما در افرادی که همراه با تمرینات هوازی عصاره‌ی بنه نیز مصرف می‌کردند، افزایش معنی‌داری مشاهده شد [۱۹]. هنوز اثرات پروتئین‌های Bcl-2 و Bax و نقش نوع فعالیت ورزشی در تنظیم این دو پروتئین به خوبی مشخص نشده است. همچنین نقش این پروتئین‌ها در انواع بیماری‌های مرتبط با چاقی مانند دیابت نوع دو، پُرفشاری خون، بیماری‌های قلبی و سرطان ناشناخته مانده است. بنابراین تحقیقات بیشتری بر روی پروتئین‌های PPAR آلفا و PPAR گاما در سلول‌های بتای بافت پانکراس مورد نیاز است. از طرفی محققان حاضر تاکنون پژوهش‌های بسیار کمی که تأثیر یک دوره تمرینات HIIT و عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه بر تنظیم Bcl-2 و Bax را بررسی کرده باشند مشاهده نموده‌اند. با توجه به نقش‌های بسیار مهم ذکر شده این دو پروتئین در بازسازی سلول‌های بتا در دیابت نوع دو و همچنین با توجه به اثرات ضد دیابتی پروآنتی سیانیدین در عصاره‌ی دانه انگور سیاه، این پژوهش به‌دنبال پاسخ این سوال است که آیا یک دوره تمرین‌های HIIT و مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه تأثیری بر بیان Bcl-2 و Bax در سلول‌های بتای پانکراس موش های صحرایی دیابتی نوع دو دارد؟

روش ها

تحقیق از نوع بنیادی توسعه‌ای و به‌صورت تجربی انجام شد. جامعه‌ی آماری این مطالعه ۲۰۰ سر رت‌های نر ۸ هفته‌ای هستند که از انستیتو پاستور توسط آزمایشگاه هیستوژنیک در محدوده‌ی وزنی۲۵۰ گرم خریداری شدند. از بین جامعه‌ی آماری با توجه به هزینه‌های آزمایشگاهی،٤۰ سر رت نر نژاد ویستار ۸ هفته به‌صورت تصادفی انتخاب شد. رت‌های مذکور در آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۰- ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعت و در رطوبت نسبی۵۰ درصد و تعداد هر سه راس رت در یک قفس پرورشی با آب و غذای استاندارد نگه‌داری شدند. همه‌ی جلسات تمرین عصر هنگام که بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیت طبیعی رت‌هاست، انجام گرفت.٤۰ سر رت به شرح زیر به پنج گروه

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

تقسیم شد: گروه تمرین، گروه مکمل، گروه تمرین و مکمل، گروه کنترل دیابتی، گروه کنترل پایه.

نحوه‌ی جمع‌آوری اطلاعات: رت‌ها به‌مدت یک هفته با شرایط داخل قفس و نحوه‌ی دویدن روی نوارگردان آشنا شدند. جهت آشناسازی رت با تمرین دو هفته و سه روز در هفته با سرعت ۱۰ متر در ثانیه تمرین داده شد. یک هفته پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، فرآیند دیابتی شدن آغاز شد که شروع آزمایشات تمرینی بعد از ٤٨ ساعت از القا دیابت و نگه‌داری رت‌ها صورت گرفت.

دیابتی کردن رت‌ها با STZ: جهت دیابتی کردن حیوانات از داروی استروپتوزوتوسین ساخت شرکت سیگما استفاده شد که پس از یک هفته سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه حیوانات تحت تزریق داخل صفاقی STZ که ٦٠ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن که در محلول نرمال سالین قرار گرفتند.

برنامه‌ی تمرین: پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه دو هفته زمان جهت آماده‌سازی و سازگاری آنها به تمرین تنظیم شد. در طول این دو هفته حیوانات ۲ روز در هفته با سرعت ۱۵ و ۲۵ متر بر دقیقه با دویدن روی تردمیل آشنا شدند. پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، روند دیابتی شدن صورت گرفت. ۹٦ ساعت پس از القاء دیابت رت‌ها به‌طور تصادفی به ۵ گروه و در هر گروه ۱۲ سر: گروه تمرین، گروه مکمل، گروه تمرین و مکمل، گروه کنترل دیابتی و گروه کنترل پایه تقسیم شدند. همچنین ۵ سر از رت‌ها به‌عنوان گروه آزمایشی برای اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن روی نوارگردان (که معادل با حداکثر اکسیژن مصرفی VO2max حیوان در نظر گرفته شد)، انتخاب شدند. برای برآورد حداکثر سرعت دویدن آزمون عملکرد ورزشی مدرج با شیب صفر درجه اجرا شد، که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و به ازای هر ۱ دقیقه ۱ متر بر سرعت تردمیل افزوده می‌شد تا زمانی که رت‌ها دیگر قادر به دویدن نباشند (واماندگی) که این سرعت معادل با سرعت رسیدن به VO2max در نظر گفته شده و شدت تمرین براساس آن کنترل می‌شد. پس از برآورد حداکثر سرعت، گروه HIIT و دیابتی HIIT ۵ جلسه در هفته و به‌مدت ۸ هفته به فعالیت برروی نوارگردان پرداختند. بعد از اینکه آزمودنی‌ها دیابتی شدند، آزمودنی‌های موش در گروه دیابتی HIIT و گروه HIIT چاق با پروتکل تمرین به‌مدت یک هفته آشنا شدند، سپس آزمودنی‌های این تحقیق برای مدت ۸ هفته، هر هفته پنج دور به فعالیت‌های تردمیل (نوارگردان) با شدت ۹۰٪ Vo2max به‌طول ۱۵ تا ۳۰دقیقه و سرعت ۲۹ متر بر دقیقه در هفته اول و ۳٦ متر در دقیقه در از هفته آخر دویدند. زمان استراحت بین فواصل یک دقیقه بود. این کار پنج بار در هفته‌ی اول و ۱۲ بار در هفته‌ی آخر تکرار شد. در این پروتکل موش‌ها ۵ دقیقه در ابتدا گرم کردند و در انتها ۵ دقیقه سرد کردند.

مکمل‌دهی ماده‌ی مؤثره دانه‌ی انگور: ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره‌ی پروآنتی سیانیدین به ازای کیلوگرم وزن بدن یک بار در روز به مدت ۸ هفته با محتوای بیشتراز ۹٦٪ پروآنتی‌سیانیدین به نمونه‌ها تزریق شد.

نمونه‌های بافتی و آماده‌سازی نمونه‌ها: ٢٤ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی رت‌ها به‌وسیله گاز CO2 بیهوش شدند.

ثابت‌سازی بافت: به‌طور کلی به‌منظور نگه‌داری سلول‌ها و بافت‌های بدن در حالتی مشابه و نزدیک به حالت زنده آنها، عمل ثبوت انجام می‌گیرد. پس از جدا کردن نمونه از بدن موجود زنده بلافاصله به‌مدت ۷۲ – ٢٤ ساعت در محلول فرمال سالین ۱۰٪ قرار گرفت.

آبگیری: به‌دلیل وجود درصد زیادی آب در بافت، پارافین به داخل بافت‌ها نفوذ نمی‌کند. در نتیجه باید آب‌گیری با الکل اتیلیک انجام شود. آبگیری با الکل اتیلیک به‌صورت زیر از درجات پایین شروع شده تا به الکل مطلق رسید.

شفاف‌سازی: وجود الکل در پارافین ایجاد اشکال می‌کند پس بهتر است الکل را با ترکیبی از محیط خارج گردد که از یک طرف با الکل و از طرف دیگر با پارافین واکنش دهد و حلال همدیگر باشند. ترکیب به‌کار گرفته شده در این مرحله چون باعث افزایش قدرت انکسار (ضریب شکست) بافت می‌شود

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

به‌عنوان شفاف کننده شناخته شده است. برای این منظور از محلولی بنام زایلول استفاده گردید.

آغشتگی: هدف از آغشتگی عبارت است از جایگزین کردن عامل شفاف کننده با ترکیبی که صلابت و سختی به بافت بدهد تا بتوان از آن قالب تهیه و سپس برش‌گیری کرد.

قالب‌گیری: نمونه‌ی آغشته شده با پارافین در قالب پر از پارافین مذاب قرار گرفت سپس سرد شد تا ضمن انجماد پارافین، نمونه نیز در داخل آن سخت شده و آماده مقطع‌گیری شود.

برش‌گیری: از نمونه‌ها توسط دستگاه میکروتوم به ضخامت ۵ میکرومتر برش تهیه شد، سپس برش‌ها روی لام‌های آغشته شده به چسب آلبومین قرار داده شدند و در چند منطقه با لنز ٤٠ مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس مراحل پارافین زدایی و رنگ‌آمیزی انجام می‌شود. به کمک رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین هسته‌ها رنگ آبی و سیتوپلاسم رنگ صورتی به خود گرفتند. سپس عمل چسباندن یک لام بر روی نمونه‌ها برای بررسی با میکروسکوپ نوری انجام گرفت.

روش آزمایشگاهی: استخراج RNA: جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. ابتدا به نمونه‌ها ۳۰۰-۲۰۰ لاندا کیازول اضافه شد و به‌مدت ٢٤ ساعت آن را در دمای ۸۰- قرار گرفت. پس از ٢٤ ساعت پلاک موجود در کرایوتیوب را در حالت نیمه انجماد توسط سرسمپلر خرد کرده، سپس کمی آن را پیپتاژ گردید. سپس به نمونه حدود ۱۰۰ لاندا کلروفرم اضافه شد تا سلول‌ها لیز شود. این محلول حدود ۱ دقیقه باید با سلول‌ها در تماس بود. پس از ۱ دقیقه محلول را با دور ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ محلول به سه فاز تقسیم شد. قسمت بالایی لوله که شفاف و حاوی RNA بود. قسمت وسطی لوله که سفید رنگ و محتوی بافت لیز شده بود. قسمت پایینی لوله که صورتی و حاوی کیازول بود. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود به آرامی برداشته و در یک میکروتیوب DEPC شده قرار داده شد. پس ۱ سی سی ایزوپروپانول را بر روی RNA شفاف ریخته شد و به‌مدت ۱ دقیقه با دست به هم زده شد. ایزوپروپرانول شفاف بوده و RNA نیز شفاف است، اما وقتی این دو با هم مخلوط شوند مایع کدری را به‌وجود می‌آورند. بهتر است این محلول به‌دست آمده یک شب در دمای ۸۰- قرار گیرد. پس از افزودن ایزوپروپرانول نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از خارج کردن از سانتریفیوژ مایع رویی تخلیه و روی آن ۱ سی سی الکل ۷۰ اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. سپس مایع رویی با سمپلر تخلیه گردید و سپس پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد. به‌منظور حل کردن RNA به‌میزان ۲۰ لاندا آب مقطر ٦٠ درجه بر روی پلاک داخل میکروتیوب ریخته شد. سپس کمی با سرسمپلر پیپتاژ و به‌مدت ۵ دقیقه بر روی صفحه‌ی ٦٠ درجه قرار داده شد. RNA استخراج شده تا زمان استفاده در دمای ۸۰- قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن هدف موردنظر، از فرمول ۲ - ΔCT استفاده شد. برای تحلیل داده‌های بیان ژن Bax و Bcl-2 از پروتکل استاندارد لیواک و با مقیاس ($2^{-\Delta\Delta Ct}\times 103$) استفاده شد. داده‌های بیان ژن براساس ژن خانه‌دار (کنترل داخلی) نرمالایز داخلی شدند و سپس با استفاده از آزمون‌های پارامتریک داده‌های بیان ژن پرت (دورافتاده) تعدیل و نرمال سازی صورت گرفت شد. جهت نشان دادن شاخص‌های گرایش مرکزی و شاخص‌های پراکندگی از آمار توصیفی استفاده شد. بررسی فرض نرمالیتی داده‌های بیان ژن‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف اسمیرنف، انجام شد. همچنین برای بررسی اثر دیابتی شدن بر فاکتورهای مورد مطالعه و مقایسه جفتی برخی از گروه‌ها از آزمون t مستقل استفاده گردید. به‌منظور بررسی میزان اثر تمرین HIIT و مکمل دانه‌ی انگور بر روی ژن‌ها از تحلیل واریانس دو عاملی (۲=۲) استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ٢٤ در سطح معنی‌داری آلفای ۰/۰۵ انجام گرفت.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

یافته‌ها

جدول۱ میانگین و انحراف استاندارد مقادیر بیان ژن (نرمالایز شده) Bax و Bcl-2 در بافت پانکرانس رت‌های مبتلا به دیابت نوع دوم را در پنج گروه رت‌های پایه، دیابتی-کنترل، دیابتی-عصاره‌ی دانه، دیابتی-تمرین و دیابتی-تمرین-عصاره نشان می‌دهد.

جدول ۱- توصیف متغیرهای تحقیق

گروه‌ها	Bcl-2		Bax	
	M	SD	M	SD
پایه	۰/۰۹٤۲	۰/۰۲٤	۰/۰۳۹٦	۰/۰۱٤
دیابتی - کنترل	۰/۰۱۸۲	۰/۰۰۹	۰/۲۱٦۱	۰/۰۹۲
دیابتی - مکمل	۰/۰۵۲۱	۰/۰۲٤	۰/۱٤۵۰	۰/۰۵۸
دیابتی- تمرین	۰/۰۳٤۸	۰/۰۲٦	۰/۱۰۳۲	۰/۰٦۵
دیابتی- مکمل و تمرین	۰/۰۷۵۱	۰/۰۳۱	۰/۰٦۷۳	۰/۰۳٦

نتایج آزمون کالموگراف اسمیرنف در جدول ۲ نشان داد که توزیع داده‌های بیان ژن (نرمالایز شده) Bax و Bcl-2 در گروه رت‌های پایه، دیابتی-کنترل، دیابتی-تمرین، دیابتی-مکمل، دیابتی-مکمل-تمرین طبیعی است.

جدول ۲- نتایج آزمون کالموگراف-اسمیرنف

گروه‌ها	Bcl-2			Bax		
	D	df	Sig.	D	df	Sig.
پایه	۰/۳۲٤	۵	۰/۰۹۳	۰/۲۷۵	۵	۰/۲۰۰
دیابتی- کنترل	۰/۲۱۷	۵	۰/۲۰۰	۰/۲۱٤	۵	۰/۲۰۰
دیابتی- مکمل	۰/۱۷۸	۵	۰/۲۰۰	۰/۱۳٦	۵	۰/۲۰۰
دیابتی- تمرین	۰/۳۰۹	۵	۰/۱۳۳	۰/۲۲۱	۵	۰/۲۰۰
دیابتی- مکمل و تمرین	۰/۲۱٤	۵	۰/۲۰۰	۰/۱۸۳	۵	۰/۲۰۰

نتایج تحلیل t- مستقل در جدول ۳ نشان داد که بین میانگین بیان ژن (نرمالایز شده) Bcl-2 رت‌های سالم و دیابتی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($t_{(۸)}$=٦/۵۳ ،P=۰/۰۰۰). به‌عبارت دیگر، میانگین بیان ژن (نرمالایز شده)Bcl-2 رت‌های دچار دیابتی به‌طور معنی‌داری از رت‌های سالم کمتر است. همچنین، بین میانگین بیان ژن (نرمالایز شده) Bax رت‌های سالم و دیابتی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($t_{(۸)}$=٤/۱۰ ،P=۰/۰۰٤). به‌عبارت دیگر، میانگین بیان ژن (نرمالایز شده) Bax رت‌های دیابتی به طور معنی‌داری از رت‌های سالم بیشتر است.

جدول ۳- نتایج آزمون *t* - مستقل

متغیر	t	df	Sig.
Bcl-2	٦/۵۳	۸	۰/۰۰۰
Bax	-٤/۲	۸	۰/۰۰۳

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

نتایج تحلیل واریانس دو عاملی (تمرین×مکمل) جدول ٤ نشان داد که اثر اصلی تمرین و اثر تعاملی تمرین و عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه بر بیان ژن Bcl-2 رت‌های دیابتی معنی‌دار نیست.

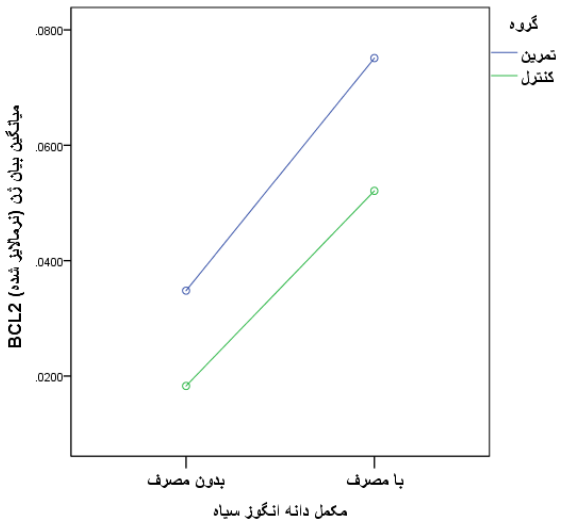
اثر اصلی مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه بر بیان ژن Bcl-2 رت‌های دیابتی معنی‌دار است.

جدول ۴- نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین × مکمل) برای *Bcl-2*

منبع	SS	df	MS	F	Sig.	η^2
تمرین	۰/۰۰۲	۱	۰/۰۰۲	۳/۳۸	۰/۰۸۵	۰/۱۷
عصاره	۰/۰۰۷	۱	۰/۰۰۷	۱۱/۸	۰/۰۰۳	۰/٤۲
عصاره × تمرین	۵/۲۷	۱	۵/۲۷	۰/۰۹۱	۰/۷٦٦	۰/۰۰٦
خطا	۰/۰۰۹	۱٦	۰/۰۰۱			

همان‌گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، بیان ژن Bcl-2 گروه تمرین (خط آبی) بالاتر از گروه کنترل (خط سبز) است. همچنین، تغییرات میانگین بیان ژن Bcl-2 گروه تمرین (خط آبی) از بدون مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه تا مصرف عصاره‌ی دانه انگور سیاه مشابه تغییرات بیان ژن Bcl-2 گروه کنترل (خط سبز) است.

نتایج تحلیل واریانس دو عاملی (تمرین× مکمل) جدول ۵ نشان داد که اثر اصلی تمرین بر بیان ژن Bax رت‌های دیابتی معنی‌دار است و اثر مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه و اثر تعاملی تمرین و عصاره بر بیان ژن Bax رت‌های دیابتی معنی دار نیست.



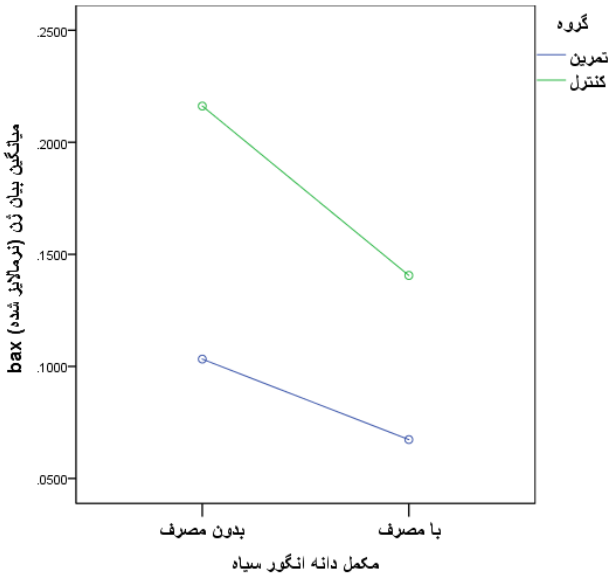
نمودار ۱- میانگین اثرات تعاملی تمرین و مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه بر بیان ژن *Bcl-2* در رت‌های دیابتی

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

جدول ۵- نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین × مکمل) برای *Bax*

منبع	SS	df	MS	F	Sig.	η^2
تمرین	۰/۰۴۳	۱	۰/۰۴۳	۹/۸۳	۰/۰۰۶	۰/۳۸۱
مکمل	۰/۰۱۶	۱	۰/۰۱۶	۳/۵۲	۰/۰۷۹	۰/۱۸۱
مکمل ×تمرین	۰/۰۰۲	۱	۰/۰۰۲	۰/۴۴۷	۰/۵۱۳	۰/۰۲۷
خطا	۰/۰۷۰	۱۶	۰/۰۰۴			

همانگونه که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، بیان ژن Bax گروه تمرین (خط آبی) بالاتر از گروه کنترل (خط سبز) است. همچنین، الگوی تغییرات میانگین بیان ژن Bax گروه تمرین (خط آبی) از بدون تا مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه مشابه تغییرات گروه کنترل (خط سبز) است.



نمودار ۲- میانگین اثرات تعاملی تمرین و مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه بر بیان ژن *Bax* در رت‌های دیابتی

بحث

از آنجا که تاکنون مقاله‌ای یافت نشده که به‌طور مستقیم به بررسی اثر تمرین ورزشی همراه مصرف مکمل انگور سیاه بر بیان ژن Bcl-2 وBax در بافت پانکراس پرداخته باشد، بنابراین در تجزیه و تحلیل حاصل از پژوهش حاضر از مقاله‌ها و پژوهش‌هایی که اثر تمرین‌های ورزشی و مکمل‌های متفاوت بر بیان ژن‌های مذکور و در نهایت بر دیابت را بررسی کردند، استفاده شده است. روش به‌کار گرفته شده در این پژوهش، نوین بوده و تعاملات درنظر گرفته شده، پیچیده هستند، لذا به سختی می‌توان تطابق یا عدم تطابق یافته‌های مطالعه‌ی حاضر را با سایر مطالعات ردیابی کرد. همچنین نمی‌توان به صرف یکسان بودن نتایج دو مطالعه را که رویه‌های متفاوتی داشته‌اند آنها را با هم تطابق داد. با این حال می‌توان با استفاده از نتایج و مباحث سایر مطالعات یافته‌های مطالعه‌ی حاضر را تفسیر نمود و راهکارهایی را برای انجام مطالعات نوین در آینده ارائه داد.

در پژوهش حاضر تمرین تناوبی شدید تغییرات معنی‌داری از لحاظ آماری بر میانگین بیان ژن Bcl-2 رت‌های دیابتی نسبت به رت‌های سالم نشان نداد. تحقیقات نشان دادند که تمرین

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

هوازی تداومی، باعث کاهش نسبت Bax/Bcl-2، که شاخصی از افزایش میزان بقا است، می‌گردد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج Korosmeyer و همکاران (۱۹۹۵)، هم‌راستا است [۲۰].

آنها معتقدند که به نظر نمی‌رسد Bcl2 تأثیری در تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن داشته باشد، اما این ژن سلول را از آسیب‌های اکسیداتیو سلولی محافظت می‌کند. نتایج این پژوهش با پژوهش‌های سوری و همکاران (۱۳۹۷) [۲۱]، قهرمانی و همکاران (۱۳۹٦) [۲۲] و امینی و همکاران (۱۳۹۵) [۲۳] هم‌راستا نیست. پژوهش‌های ذکر شده نشان دادند تمرینات HIIT اثر معناداری بر بیان ژن Bcl-2 دارد. این عدم تطبیق نتایج، ممکن است در اثر تفاوت نوع و پروتکل تمرین ایجاد شده باشد. همان‌طور که نتایج پژوهش نشان داد مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه منجر به افزایش معنی‌دار میانگین بیان ژن Bcl-2 در بافت پانکراس رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو شد. تعادل بین میزان بیان Bax و Bcl-2 از طریق تنظیم یکپارچگی غشاء خارجی میتوکندری، در فعال کردن مسیر میتوکندریایی آپپتوز دخیل است. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج پژوهش‌های ملکانه و همکاران (۲۰۱۸) [۲٤]، Zhang و همکاران (۲۰۱۸) [۲۵] هم‌راستا است.

پژوهش‌های انجام شده در زمینه‌ی عصاره‌ی انگور سیاه بوده و نشان داده است که این عصاره می‌تواند اثر مثبت و معناداری بر روی مسیر Bcl-2 داشته باشد و در نهایت بر دیابت نیز اثرگذار باشد. نتایج این پژوهش با پژوهش کریمی و همکاران (۱۳۹٦) [۲٦] هم‌راستا نیست. یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان بیان ژن‌های Bax و Bcl2 تحت تأثیر عصاره‌ی سیر تغییری نکرد، ولی فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در رت‌های دیابتی نوع یک درمان شده با سیر، کاهش خفیفی را نسبت به رت‌های درمان نشده نشان داد. پژوهش ذکر شده نشان داد مصرف عصاره‌ی انگور سیاه اثر معناداری بر بیان ژن Bcl-2 ندارد. این عدم تطبیق نتایج، ممکن است در اثر تفاوت دوز مصرفی مکمل برای آزمودنی‌ها به‌وجود آمده باشد. این احتمال وجود دارد که دوز مصرفی جهت تأثیرگذاری بر بیان ژن کافی نبوده است.

در ادامه‌ی پژوهش به بررسی هم‌زمان تمرین و مصرف عصاره ی دانه‌ی انگور سیاه بر بیان ژن Bcl-2 پرداخته شد. نتایج نشان داد تمرین و مصرف عصاره به‌طور هم‌زمان دارای تغییراتی بر بیان ژن Bcl-2 بوده، اما این تغییرات معنادار نیست. در پژوهش‌های انجام شده مصرف هم‌زمان عصاره و تمرین مشاهده نشد، لذا نمی‌توان به بررسی و مقایسه این پژوهش با پژوهش‌های دیگر پرداخت. پژوهش حاضر تمرین تناوبی شدید تغییرات معنی‌داری از لحاظ آماری بر میانگین بیان ژن (نرمالایز شده) Bax رت‌های دیابتی نسبت به رت‌های سالم نشان داد. ژن Bax از ژن‌های مؤثر در کنترل شروع فرآیند آپوپتوز است که با فعال‌سازی کاسپاز ۹ از مسیر داخلی در روند آپوپتوز دخالت دارد. تحقیقات نشان دادند که تمرین تناوبی با شدت بالا با تعدیل بیان شاخص‌های آپاپتوز قلب (Bax و Bcl-2)، در کاهش آپاپتوز در بافت قلبی موش‌های پیر و جوان مؤثر است. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج پژوهش‌های سوری و همکاران (۱۳۹۷)، قهرمانی و همکاران (۱۳۹٦) و امینی و همکاران (۱۳۹۵) [۲۳] هم‌راستا است. پژوهش‌های ذکر شده نشان دادند تمرینات HIIT اثر معناداری بر بیان ژن Bax دارد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج Korsmeyer و همکاران (۱۹۹۵) [۲۰]، هم‌راستا نیست.

همان‌طور که نتایج پژوهش نشان داد مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه منجر به تغییراتی در بیان ژن Bax در بافت پانکراس رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو شد بوده، اما این تغییرات معنادار نیست. تمرین تناوبی از طریق بیان ژن Bcl2 و Bax و در نتیجه کاهش آپاپتوز در کاردیومیوسیت پس از وقوع آنفارکتوس میوکارد شده که میزان آن وابسته به شدت تمرین است. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج پژوهش‌های نتایج پژوهش‌های موسوی و همکاران (۱۳۹٤) [۲۷]، شعبانی و همکاران (۱۳۹۷) [۲۸] هم‌راستا است.

پژوهش‌های انجام شده در زمینه‌ی عصاره‌ی انگور سیاه بوده و نشان داده است که این عصاره نمی‌تواند اثر مثبت و معناداری بر روی بیان ژن Bax داشته باشد. در ادامه‌ی پژوهش به بررسی هم‌زمان تمرین و مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه بر بیان ژن Bax پرداخته شد. نتایج نشان داد تمرین و مصرف عصاره

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

به‌طور هم‌زمان دارای تغییراتی بر بیان ژن Bax بوده، اما این تغییرات معنادار است. در پژوهش‌های انجام شده مصرف هم زمان عصاره و تمرین مشاهده نشد، لذا نمی‌توان به بررسی و مقایسه این پژوهش با پژوهش‌های دیگر پرداخت. گرچه ممکن است تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه دارای مزایای قطعی در بیان ژن Bcl-2 و Bax باشد، اما این پژوهش صرفاً به‌منظور آگاهی بیشتر درخصوص شناخت این اثرات صورت گرفته است. سازوکار بیوشیمیایی بیان ژن‌ها هنگام تمرین ورزشی به روشنی مشخص نشده است.

نتیجه‌گیری

در نهایت نتایج ما نشان می‌دهد، به‌نظر می‌رسد بیماران دیابتی به‌کارگیری تمرینHIIT باعث کاهش نسبت Bax/Bcl2، که شاخصی از افزایش میزان بقاء است، می‌گردد. به‌طور کلی تمرینات پرشدت تناوبی می‌تواند جایگزین مناسبی برای تمرینات طولانی مدت، فرساینده و خسته کننده باشند. همچنین مصرف مکمل دانه‌ی انگور سیاه در مدت زمان ۸ هفته می‌توانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و در حفاظت سلولی و مهار مرگ سلولی نیز نقش داشته باشند. نتایج نشان داد تمرین همراه با مصرف هم‌زمان مکمل دانه‌ی انگور سیاه تغییرات معناداری را در بیان ژن‌ها نداشته است، اما با توجه به اثرگذاری جداگانه‌ی تمرین و همچنین عصاره‌ی دانه‌ی انگور سیاه می‌توان به این نتیجه رسید که تمرین هم‌زمان با مصرف مکمل می‌تواند اثرگذار باشد. لذا به بیماران دیابتی استفاده از آن توصیه می‌شود.

در تأیید اثرات مثبت روش‌ها، پیشنهاد می‌شود که تغییراتی را در پروتکل تمرین، نوع و میزان دوز عصاره‌ی استفاده شده هم زمان با تمرین را در برنامه اعمال نمود. با توجه به نتایج تحقیق و اثر عصاره‌ی انگور سیاه و فعالیت HIIT، روند کاهش وزن به طور هم‌زمان، شرکت داده شود تا به تأثیرات مفیدتری بی انجامد. همچنین پیشنهاد می‌گردد تحقیقی بر روی بیان ژن Bcl-2 و Bax با پروتکل تمرینی متفاوت و مقایسه‌ی آنها بر روی حیوانات دیابتی با جامعه‌های آماری انجام شود.

مآخذ

۱. افشون‌پور، محمدطاهر؛ حبیبی، عبدالحمید؛ رنجبر، روح اله. تأثیر تمرین مقاومتی دایره‌ای بر شاخص‌های متابولیک در مردان مبتلا به دیابت نوع ۲. *مجله علمی پزشکی جندی شاپور* ۱۳۹۵؛ ۱۵(۲): ۱۲۵–۱۳۸.

2. Charo IF & Taubman MB. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circulation Research* 2004; 95: 858–866.
3. Mokdad AH, Serdula MK, dietz WH, bowman BA, Marks JS and Koplan JP. The continuing epidemic of obesity in the United States. *JAMA* 2000; 284:1650-1651.
4. Paula J, Ansley R, Blannin Michael Gleeson A. Elevated plasma interleukin-6 levels in trained male triathletes following an acute period of intense interval training. *Eur J Appl Physiol* 2007; 99:353–360.
5. Elenkov IJ, Chrousos GP, Wilder RL Neuroendocrine regulation of IL-12 and TNF-alpha/IL-10 balance. Clinical implications. *Ann NY Acad Sci* 2000; 917:94–105.
6. Dlamini Z, Mbita Z, Zungu M. Genealogy, expression, and molecular mechanisms in apoptosis. *Pharmacology & therapeutics* 2004; 101(1):1-5.
7. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281(5381):1322-6.
8. Obulesu M, Lakshmi MJ. Apoptosis in Alzheimer's disease: an understanding of the physiology, pathology and therapeutic avenues. *Neurochem Res* 2014; 39(12):2301-12.
9. Mooren F, Volker K. Molecular and cellular exercise physiology. *Human Kinetics* 2004; 7: 451.
10. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35:495-516.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

چهارمین همایش ملی علوم ورزشی و تربیت بدنی ایران، تهران، انجمن توسعه و ترویج علوم و فنون بنیادین، ۱۳۹۷.

۲۲.قهرمانی، مهران؛ آذربایجانی، محمدعلی؛ پیری، مقصود؛ رئوفی، عاطفه. تأثیر شدت تمرین هوازی تناوبی بر بیان ژن Bax و Bcl-2 در موش‌های صحرایی مبتلا به آنفارکتوس میوکارد، ارمغان دانش. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج* ۱۳۹۶؛ ۲۲(۶):۷۸۱- ۷۹۱.

۲۳.مینی، اشرف؛ گایینی، عباسعلی؛ چوبینه، سیروس؛ کردی، محمدرضا؛ علیزاده، شعبان. اثر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Bcl-2 و miR-15 و پروتئین Bcl2 بافت تومور موش‌های مبتلا به سرطان پستان. *فیزیولوژی ورزشی* ۱۳۹٤؛ ۸ (۳۲):۸۵-۱۰۰.

۲۴.ملکانه، محمد؛ هراتی‌زاده، بهاره؛ میری، محمدرضا. بررسی اثرات عصاره انگور سیاه بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون در موش‌های هیپرلیپیدمیک دیابتی شده با آلوکسان. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند* ۱۳۹۲؛ ۲۰ (٤):۳٦٦-۳۷۳.

25. Zhang B, Zhang Z, Hong JI, Hui SHI, Chen S, Yan D, Xuewen JIANG and Benkang SHI .Grape seed proanthocyanidin extract alleviates urethral dysfunction in diabetic rats through modulating the NO- cGMP pathway. Experimental and Therapeutic Medicine 2018; 15:1053-1061.

۲۶.کریمی، محمدناصر؛ عباسعلی پورکبیره، رقیه؛ عرب صادق آبادی، زهرا؛ ضیاءمجیدی، نسرین. بررسی میزان بیان ژن های Bcl-2 و Bax و فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در بافت کبد رت‌های نرمال، دیابتی نوع ۱ و ۲ قبل و بعد از درمان با عصاره آبی سیر. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد* ۲۰۱۷؛ ۲۵(۷):٥٤۷-٥٥٥.

۲۷.موسوی، طهورا؛ رفیعی، علیرضا؛ امجدی سورکی، ام البنین؛ یوسف پور، محمد؛ زکوی، علی اصغر. خواص طبی – تغذیه‌ای انگور در منابع اسلامی، طب سنتی و طب جدید. *مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران* ۱۳۹٤؛ ۲۵(۱۳۰): ۱۹۰-۱٦۹.

۲۸.شعبانی، مریم؛ ثالثی، محسن؛ دریانوش، فرهاد. تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا روی محتوای پروتئین‌های گیرنده فعال

11. Tsujimoto Y. Cell death regulation by the Bcl-2 protein family in the mitochondria. *J Cell Physiol* 2003; 195:158-167.

12. Armstrong JS. The role of the mitochondrial permeability transition in cell death. *Mitochondrion* 2006; 6:225-234.

۱۳.اسلامی، حبیب؛ شریفی، علی محمد. بررسی روند آپوپتوز ناشی از مورفین در سلول‌های PC12: نقش پروتئین Bax و Bcl-2، *مجله پزشکی هرمزگان* ۱۳۹۰؛ ۱٦(۲):۸۱-۸۵.

۱۴.موسوی، طهورا؛ رفیعی، علیرضا؛ امجدی سورکی، ام البنین؛ یوسف پور، محمد؛ زکوی، علی اصغر. خواص طبی – تغذیه‌ای انگور در منابع اسلامی، طب سنتی و طب جدید. *مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران* ۱۳۹٤؛ ۲۵ (۱۳۰):۱۹۰-۱٦۹.

۱۵.دوستار، یوسف؛ مهاجری، داریوش. اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه انگور در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. *مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان* ۱۳۸۸؛ ۱۲(۱):۹-۱٤.

۱۶.فیاضی، زهره. فعالیت بدنی و کنترل دیابت، *مجله نشاط ورزش* ۱۳۸۷؛ ۵(۱۰):٥٦-٤۷.

۱۷.یزدی، مجتبی؛ بهبودی، لاله؛ زاهدمنش، فروزان؛ افشارمند، زهره. تأثیر فعالیت ورزشی کوتاه و طولانی مدت بر شاخص عملکرد سلول‌های بتا در بیماران دیابتی. *فصلنامه مجله دانش و تندرستی* ۱۳۹۰؛ دره ٦(٤):۱۵-۱۹.

18. Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am. J. Clin. Nutr* 2006; 83:1505S–1519S.

۱۹.محمودزاده، تکتم؛ ثاقب جو، مرضیه؛ ثقه الاسلامی، علی؛ هدایتی، مهدی. اثر تمرین هوازی و مصرف عصاره بنه بر عملکرد سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین. *مجله دیابت و متابولیسم ایران* ۱۳۹۲؛ ۱۳(۳): ۲۵۲-۲٦۲.

20. Korsmeyer SJ, Yin XM, Oltvai ZN, et al.(1995),Research oxygen species and the regulation of cell death by Bcl-2 gene family. Biochem Biologys.

۲۱.سوری، رحمان؛ زارع شحنه، مریم؛ چوبینه، سیروس؛ رمضان خانی، اعظم. بررسی تأثیر تمرین HIIT در بیان ژن های Bax و Bcl-2 در بافت قلب موش‌های نر جوان و پیر،

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

دیابت نوع ۲ دارای اضافه وزن. *مجله علوم پزشکی پارس* ۱۶ (٤):۹-۱.

شده تکثیرکننده پراکسیزم گاما و دامنه PR حاوی ۱٦ در بافت چربی موش‌های صحرایی نر اسپراگوداولی مبتلا به

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]

THE EFFECT OF INTENSE PERIODIC EXERCISE AND CONSUMPTION OF BLACK GRAPE SEED EXTRACT ON BAX AND BCL-2 GENE EXPRESSION IN PANCREATIC TISSUE OF MALE RATS WITH TYPE 2 DIABETES

Homna Abdi[*1], Eidi Alijani[2], Mahsa Mohsenzadeh[2]

1. *Department of Physical Education and Sports Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
2. *Department of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Karaj Branch, Alborz, Iran*

ABSTRACT

Background: Although some studies have studied the mechanism of action of beta cells in animal models and more or less in human populations, but so far the role of exercise therapy or exercise exercise HIIT with black grape supplementation on the expression of genes involved in pancreatic beta cells This study investigates the effect of black grape supplementation combined with intense intermittent exercise on Bcl-2 and Bax genes in pancreatic tissue of rats with type 2 diabetes.

Methods: The study was conducted in the form of an experimental design. The subjects of this project were 40 8-month-old male rats with an average weight of 250 grams. After familiarizing the subjects with exercise and induction of diabetes by STZ, the subjects were randomly divided into 5 groups including exercise, supplement, exercise and supplement, diabetic control and basic control. After 8 weeks of training, which was 5 sessions per week for 8 weeks, the activity was on a treadmill with an intensity of 90% Vo2max and supplementation with black grape seed extract. Bcl-2 and Bax genes were measured after RNA extraction from pancreas and cDNA synthesis. Bcl-2 and Bax genes were measured by Time-Real PCR. Data were analyzed using independent t-test and two-factor analysis of variance at the significance level of 0.05 by SPSS software version 24.

Results: The results showed that the main effect of exercise had no significant effect on Bcl-2 gene expression. The main effect of the extract on the expression of this gene was significant. Also, the interaction between exercise and Bcl-2 supplementation was not significant. Regarding Bax gene expression, it was shown that the main effect of exercise on the gene was significant. The main effect of extract and interaction of exercise and supplementation on Bax gene expression was not significant. No significant changes were observed in the effect of exercise and extract on the expression of Bcl-2 and Bax genes.

Conclusion: It seems that regulating the expression of Bcl-2 and Bax genes through exercise and consumption of black grape seed extract is likely to improve and maintain pancreatic beta cell function in diabetic rats.

Keywords: Diabetes, Intense Intermittent Exercise (HIIT), Black Grape Seed Extract, Bcl-2 Protein, Bax Protein, Pancreas

* Karaj, end of Rajai Shahr, intersection of Moazen and Esteghlal Boulevards, Amir Almonin University Complex, Postal Code: 3149968111, Phone: 02634259571, Fax: 34418156, Email: homena.abdi@gmail.com

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-11-25]