



## The effect of aerobic training and probiotic supplementation on blood glucose levels and caspase-3 gene expression in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats

Niloofer Rezaee<sup>1\*</sup>, Farhad Rahmani-Nia<sup>2</sup>, Maryam Delfan<sup>3</sup>, Reza Ghahremani<sup>4</sup>

1. Ph.D. Student in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
2. Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran.

### Abstract

**Background and Aim:** Hyperglycemia occurring in the diabetic condition can cause apoptosis via the mitochondrial pathway with higher cell death protein expression. Probiotics are viable microorganisms which confer health benefits to the host and have anti-diabetic and antioxidant effects. Also, there are some evidences that exercise may affect the signaling pathways of skeletal muscle apoptosis. The aim of this study was to examine the aerobic exercise training and probiotic supplementation effects on blood glucose levels and caspase-3 gene expression of the soleus muscle in diabetic rats-induced by streptozotocin. **Materials and Methods:** 40 male Wistar rats (weight: 250-270 gr; age: eight weeks) were selected and divided into five groups: control+normal (N), control+diabetic (CD), diabetic+probiotics (SCD), diabetic+aerobic training (TD), and TD+probiotics (STD). Rats were made diabetic using streptozotocin (45 mg/kg). The rats in the training groups aerobically exercised using a treadmill at intensity of 60-65% of maximum speed for five weeks and five days per week and received probiotics (2 gr) in drinking tap water (supplemented groups). 48 hours after the last training session, the animals were sacrificed, then the soleus muscle was dissected to evaluate the gene expression of caspase-3 (using the Real Time PCR) and plasma glucose (by the glucose oxidase method). T-test, one-way ANOVA and Scheffe's post hoc tests were applied for statistical analysis at significance level of  $p \leq 0.05$ . **Results:** The results indicated that fasting blood sugar was significantly lower in the TD+probiotics group compared to the other groups ( $p=0.008$ ). On the other hand, gene expression of caspase-3 was a significantly decreased in diabetic+aerobic training and TD+probiotics ( $p=0.01$ ) groups. **Conclusion:** It appears that aerobic exercise training with the use of probiotics prevents apoptosis in the muscle with the down-regulation of blood glucose.

**Keywords:** Diabetes, Aerobic exercise training, Antioxidants, Apoptosis, Skeletal muscle.

### Cite this article:

Rezaee, N., Rahmani-Nia, F., Delfan, M., & Ghahremani, R. (2022). The effect of aerobic training and probiotic supplementation on blood glucose levels and caspase-3 gene expression in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 10(23), 8-18.

\* Corresponding author, Address: Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Guilan, Khalij Fars Highway (5th Kilo-Meter of Ghazvin Road), Rasht, Iran;

E-mail: nrezaee1@phd.guilan.ac.ir

<https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4589.1662>





## تاثیر تمرین هوازی و مکمل پروبیوتیک بر سطوح گلوکز خون و بیان ژن کاسپاز-۳ در عضله اسکلتی رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

نیلوفر رضائی<sup>۱\*</sup>، فرهاد رحمانی‌نیا<sup>۲</sup>، مریم دلفان<sup>۳</sup>، رضا قهرمانی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران.
۴. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** افزایش قند خون در شرایط دیابتی می‌تواند باعث آپوپتوزیس، از طریق مسیر میتوکندری و با افزایش بیان پروتئین مرگ سلولی شود. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که مزایای سلامتی را به میزبان اعطا می‌کنند و دارای اثرات ضد دیابت و آنتی‌اکسیدان هستند. همچنین، برخی شواهد نشان می‌دهد که ورزش می‌تواند بر مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوزیس عضله اسکلتی تأثیر بگذارد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر تمرین هوازی و مکمل پروبیوتیک بر سطوح گلوکز خون و بیان ژن کاسپاز-۳ در عضله نعلی رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بود. **روش تحقیق:** تعداد ۴۰ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار (وزن: ۲۷۰-۲۵۰ گرم؛ سن: هشت هفته) به‌طور تصادفی به پنج گروه کنترل سالم (N)، کنترل دیابتی (CD)، دیابتی + مکمل پروبیوتیک (SCD)، دیابتی + تمرین (TD) و دیابتی + تمرین + مکمل پروبیوتیک (STD) تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (۴۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. برنامه تمرین هوازی شامل ۳۰ دقیقه دویدن روی نوارگردان با شدت ۶۰ تا ۶۵ درصد سرعت بیشینه، پنج روز در هفته و به مدت پنج هفته بود. هر رت دو گرم پروبیوتیک به صورت محلول در آب آشامیدنی دریافت کرد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها تشریح و عضله نعلی برای ارزیابی بیان ژن کاسپاز-۳ (با روش Real Time PCR) و نمونه گیری خون برای ارزیابی گلوکز پلاسما (با روش گلوکز اکسیداز) جمع‌آوری انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با آزمون t مستقل، آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی شفه در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  انجام شد. **یافته‌ها:** سطوح گلوکز خون در گروه دیابتی + تمرین + مکمل نسبت به سایر گروه‌ها، کاهش معنی‌داری داشت ( $p = 0.008$ ) از طرف دیگر، بیان ژن کاسپاز-۳ در گروه دیابتی + تمرین، و گروه دیابتی + تمرین + مکمل کاهش معنی‌داری پیدا کرد ( $p = 0.01$ ). **نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل پروبیوتیک، احتمالاً با تنظیم و کاهش قند خون، از آپوپتوزیس عضله اسکلتی در شرایط دیابت جلوگیری می‌نماید.

**واژه‌های کلیدی:** دیابت، تمرین هوازی، آنتی‌اکسیدان‌ها، آپوپتوزیس، عضله اسکلتی.

## مقدمه

دیابت شیرین به عنوان یک اختلال متابولیکی، با تخریب خود ایمنی سلول‌های بتای پانکراس<sup>۱</sup>، افزایش قند خون و کمبود تولید انسولین یا عدم حساسیت گیرنده به انسولین درون زا مشخص می‌شود. فدراسیون بین‌المللی دیابت<sup>۲</sup> (۲۰۱۷) تخمین زده است که تا سال ۲۰۴۵ شیوع دیابت به ۶۲۹ میلیون نفر در جهان خواهد رسید. در طی دیابت، جذب گلوکز ناشی از انسولین در بافت‌های چربی و عضله مختل می‌شود و در نتیجه، غلظت گلوکز در خون بالا می‌ماند. یکی از عوارض عمده افزایش قند خون در دیابت، آتروفی عضلات است که با عدم تعادل در متابولیسم پروتئین، سنتز و تجزیه پروتئین، افزایش میزان تجزیه پروتئین در عضله اسکلتی، و کاهش توده و قدرت عضلانی نشان داده می‌شود و می‌تواند در بازسازی و ترمیم، رشد و تکامل عضلات تداخل ایجاد کند و با اختلال در عملکرد و القای آتروفی تار عضلانی؛ در نهایت، منجر به تحلیل توده عضله و سارکوپنی<sup>۳</sup> شود (لی و لیم<sup>۴</sup>، ۲۰۱۸). عضله اسکلتی مکان اصلی برای متابولیسم گلوکز مصرف شده است و در صورت ابتلا به دیابت، اختلال در متابولیسم گلوکز می‌تواند نقص میتوکندری و عدم تعادل در متابولیسم پروتئین در عضله اسکلتی را در پی داشته باشد (لی و لیم، ۲۰۱۸). همچنین، افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از هایپرگلیسمی<sup>۵</sup> که از طریق چندین سازوکار از جمله (۱) افزایش فعالیت مسیر پلی اول<sup>۶</sup> و انباشتگی سوربیتول<sup>۷</sup> و فروکتوز؛ (۲) افزایش شکل‌گیری محصولات نهایی گلیکوزیلانسیون پیشرفته<sup>۸</sup>؛ (۳) فعال‌سازی پروتئین کیناز C (PKC)؛ (۴) افزایش فعالیت مسیر هگزوزامین<sup>۹</sup>؛ و (۵) کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی رخ می‌دهد (ونسال<sup>۱۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۳)؛ واسطه مهمی است که متعاقباً متابولیسم پروتئین را مختل می‌کند و نقش اساسی در آپوپتوزیس<sup>۱۲</sup> و تحلیل عضلانی دارد (پاورز<sup>۱۳</sup> و دیگران، ۲۰۰۷).

اصطلاح آپوپتوزیس اولین بار در سال ۱۹۷۲ میلادی در مقاله‌ای توسط کر<sup>۱۴</sup>، ویلی<sup>۱۵</sup> و کوری<sup>۱۶</sup> جهت توصیف شکل متفاوتی از مرگ سلولی بر اساس تغییرات مورفولوژیکی و تمایز آن از نکروز، معرفی شد (المور<sup>۱۷</sup>، ۲۰۰۷). آپوپتوزیس یک فرآیند هماهنگ، تنظیم شده و غالباً وابسته به انرژی است که شامل فعال شدن گروهی از سیستمین پروتئین‌ها<sup>۱۸</sup>

به نام «کاسپاز<sup>۱۹</sup>» می‌باشد. کاسپازها یک سیستم آبشار پیام‌رسانی تشکیل می‌دهند که نقش اصلی را در القا، انتقال و تقویت سیگنال‌های آپوپتوزیس داخل سلولی برای تعیین سرنوشت سلول، تنظیم ایمنی، تکثیر و تمایز سلولی؛ ایفا می‌کند. کاسپازهای آپوپتوزیس بیشتر به دو زیر گروه تقسیم می‌شوند: یکی کاسپازهای آغازگر (کاسپاز ۲، ۸، ۹، ۱۰) با پرودمین طویل<sup>۲۰</sup> که بیش از ۱۰۰ اسید آمینه دارد؛ و دیگری کاسپازهای کشنده یا اجرایی (کاسپاز ۳، ۶ و ۷) که دارای پرودمین کوتاه و معمولاً کمتر از ۲۰ اسید آمینه می‌باشند. کاسپازهای کشنده در نهایت، مرگ آپوپتوتیک و تخریب پروتئین‌های سلولی را موجب می‌شوند (المور<sup>۲۱</sup>، ۲۰۰۷). ژن کاسپاز-۳ اولین بار در سال ۱۹۹۴ با وزن ۳۲ کیلو دالتون در لئوسیت‌های T کشف شد. پژوهش‌ها گزارش کرده‌اند که کاسپاز-۳، کاسپاز اولیه تأثیرگذار در فرآیند آپوپتوزیس در بیشتر سلول‌های پستانداران است. اخیراً نشان داده شده که کاسپاز-۳ نقش بسیار مهمی در حساسیت سلول به فرآیند آپوپتوزیس ایفا می‌کند (لو و چن<sup>۲۲</sup>، ۲۰۱۱). پژوهش‌های زیادی افزایش آپوپتوزیس و کاسپاز-۳ در دیابت را به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو گزارش کرده‌اند. جعفری و دیگران (۲۰۰۸) گزارش کرده‌اند که هایپرگلیسمی، باعث افزایش ۶/۹ برابری فعالیت کاسپاز-۳ در هیپوکامپ رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. لی و لیم (۲۰۱۸) عنوان کرده‌اند که هایپرگلیسمی در دیابت، باعث اختلال در رشد عضله اسکلتی و عدم تعادل بین سنتز و تجزیه پروتئین می‌شود. پژوهش‌های آن‌ها نشان داده که کاسپاز-۳ عضله اسکلتی در گروه دیابتی، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم است و وزن بدن و وزن عضله اسکلتی، علی‌رغم عدم کاهش در غذای مصرفی، به‌طور معنی‌داری در این گروه کاهش پیدا می‌کند.

اخیراً فواید سلامتی پروبیوتیک<sup>۲۳</sup> در بیماران دیابتی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. پروبیوتیک میکروارگانیزم‌های زنده هستند که وقتی به مقدار کافی وارد بدن شوند، از راه ایجاد تعادل میکروبی در روده، اثرات مفید و سلامت بخشی بر میزبان دارند. شواهد قابل توجهی در مورد تأثیر پروبیوتیک در بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و قند خون ناشتا در بیماران دیابتی وجود

1. Pancreatic beta cells
2. International diabetes federation
3. Sarcopenia
4. Lee and Lim
5. Hyperglycemia
6. Polyol pathway
7. Sorbitol
8. Advanced glycation end products

9. Protein kinase C
10. Hexosamine pathway
11. Vanessa
12. Apoptosis
13. Powers
14. Kerr
15. Wyllie
16. Currie

17. Elmore
18. Cysteine proteases
19. Caspase
20. Pro-domain
21. Elmore
22. Lu and Chen
23. Probiotics

دارد. در پژوهش‌های انجام شده در این زمینه، نشان داده شده که باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند با مهار تولید پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام سرم، افزایش قند خون را به تاخیر بیندازند (لاریجانی و دیگران، ۲۰۱۹).

از سوی دیگر، فعالیت ورزشی یک روش اساسی و مقرون به صرفه برای کنترل بیماری‌های متابولیکی است که مزایای سلامتی بسیاری را فراهم می‌کند و کیفیت زندگی را بهبود می‌بخشد. بسیاری از مطالعات گزارش داده‌اند که فعالیت ورزشی می‌تواند به طور بالقوه، به جلوگیری از عوارض مزمن دیابت از طریق مدیریت سطح گلوکز خون کمک کند (چرچ<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). شواهد موجود نشان داده که تمرینات ورزشی با شدت متوسط، با تغییر در ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی و بیان پروتئین شوک گرمایی (یک مهار کننده آپوپتوزیس)، بر آپوپتوزیس تاثیر می‌گذارد. رضانی و دیگران (۲۰۲۰) کاهش معنی‌دار بیان کاسپاز-۳ را پس از هشت هفته تمرین هوازی مشاهده کرده‌اند. سیو<sup>۲</sup> و دیگران (۲۰۰۴) در پژوهشی گزارش کرده‌اند که علی‌رغم افزایش (۴۶ درصد) ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی در عضله نعلی رت‌های گروه تمرین هوازی؛ فعالیت پروتئین کاسپاز-۳ تغییر معنی‌داری نداشته است. کیم و دیگران (۲۰۱۳) نشان داده‌اند که فعالیت کاسپاز-۳ در سلول‌های شبکیه چشم رت‌های دیابتی پس از تمرین کاهش می‌یابد؛ اما تمرین هوازی تغییری در سطوح گلوکز رت‌های دیابتی ایجاد نمی‌کند.

دست‌یابی به کنترل قند خون به چالشی مداوم برای بیماران دیابتی تبدیل شده است. بخش بزرگی از گلوکز توسط عضله و کبد جذب می‌شود، لذا عضله اسکلتی بر تعادل میزان گلوکز خون و متابولیسم آن نقش مهمی دارد. از طرفی، سلول‌های عضلانی بیماران دیابتی به علت تجمع بیش از اندازه گلیکوژن در آن‌ها، افزایش اسمولالیت سلول‌های عضلانی و افزایش استرس اکسیداتیو؛ که مهم‌ترین عامل مرگ سلولی است، دچار تغییرات تخریبی<sup>۳</sup> می‌گردند و این موضوع ضایعاتی در بافت عضلانی ایجاد می‌کند (ونسا و دیگران، ۲۰۱۳). بنابراین، اگر بتوانیم با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش آپوپتوزیس بافت عضله در وضعیت دیابتی، توده عضلانی را حفظ کنیم؛ شاید در به حداقل رساندن پیامدهای منفی ناشی از دیابت، کاهش هزینه‌های درمان، و افزایش طول عمر؛ موثر واقع شود. در همین راستا، پژوهش‌هایی به بررسی تاثیر فعالیت ورزشی بر میزان آپوپتوزیس در بافت‌های

با استریتوزوتوسین<sup>۴</sup> پرداخته شود.

### روش تحقیق

**نمونه آماری و نحوه نگهداری حیوانات:** در پژوهش تجربی حاضر که با مدل حیوانی انجام گردید، جامعه آماری رت‌های نر نژاد ویستار بودند که از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. نمونه آماری ۴۰ سر رت در سن هشت هفته‌گی با میانگین وزن  $270 \pm 10$  گرم بودند که در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی ایران تحت شرایط کنترل شده از نظر دما ( $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد)، رطوبت ( $45-65$  درصد) و چرخه روشنایی و تاریکی (۱۲ ساعت نور - ۱۲ ساعت تاریکی) به صورت سه تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف نگهداری شدند. حیوانات به آب و پلت<sup>۵</sup> استاندارد مخصوص موش آزمایشگاهی در طول دوره پژوهش دسترسی نامحدود داشتند. در مراحل مختلف پژوهش، ضمن رعایت مسائل اخلاقی، تمامی مداخلات حیوانی بر اساس دستورالعمل‌های «انجمن ملی حمایت از حیوانات آزمایشگاهی» انجام شد و توسط کمیته اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی (با شناسه اخلاق: IR.SSRC.REC.1398.013) ثبت و مورد تایید قرار گرفت.

**نحوه القاء دیابت:** بعد از یک هفته سازگاری با محیط جدید، رت‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه هشت تایی (شامل ۱) گروه کنترل سالم، ۲) گروه کنترل دیابتی، ۳) گروه دیابتی + مکمل پروبیوتیک، ۴) گروه دیابتی + تمرین، و ۵) گروه دیابتی + تمرین + مکمل پروبیوتیک؛ تقسیم شدند. القای دیابت در همه رت‌ها به جز گروه کنترل سالم، اعمال شد. برای این منظور، تزریق استریتوزوتوسین (STZ) پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه به صورت درون صفاقی با دوز ۴۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، به صورت حل شده در بافر ۰/۰۵ مولار سیترات و  $pH=4/5$  انجام شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق، قند خون ناشتا توسط دستگاه

1. Church

2. Siu

3. Degenerative

4. Streptozotocin

5. Plete

و گروه تمرین هوازی + مکمل پروبیوتیک به مدت یک هفته، پنج جلسه در هفته، ۱۰ دقیقه در روز، سرعت پنج متر در دقیقه با شیب صفر؛ با پروتکل تمرین هوازی و نحوه دویدن روی نوارگردان آشنا شدند. روز ششم هفته آشناسازی، سرعت رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی اندازه‌گیری شد (کولبرگ<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). پروتکل تمرین هوازی شامل پنج دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد سرعت پیشینه، ۳۰ دقیقه دویدن روی نوارگردان با شدت ۶۰ تا ۶۵ درصد سرعت پیشینه (نه متر بر دقیقه در هفته اول که به ۱۳ متر بر دقیقه در هفته پنجم رسید)، و پنج دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ تا ۴۰ درصد سرعت پیشینه بود که پنج روز در هفته، به مدت پنج هفته به اجرا درآمد (قره‌خانی و دیگران، ۲۰۱۸). جزئیات پروتکل تمرینی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. جزئیات پروتکل تمرین هوازی به اجرا درآمده

هفته		اول		دوم و سوم		چهارم و پنجم		ششم	
پنج روز در هفته		سرعت (متر/دقیقه)	مدت دقیقه	سرعت (متر/دقیقه)	مدت دقیقه	سرعت (متر/دقیقه)	مدت دقیقه	سرعت (متر/دقیقه)	مدت دقیقه
		۵	۱۰	۹	۳۰	۱۱	۳۰	۱۳	۳۰

محلول تریزول<sup>۱۱</sup> هموزن گردید. بعد از ۵ دقیقه، ۲۰۰ میکرولیتر کلروفورم اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محللول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و فاز رویی - بخش محتوی RNA - برداشته و به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد. اضافه کردن الکل ایزوپروپانول<sup>۱۲</sup> برابر با حجم فاز رویی (مخلوط کردن محللول به صورت پی‌پتاژ کردن<sup>۱۳</sup>) اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه بر روی یخ نگهداری شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. پلت حاوی RNA در ۱۰۰۰ میکرولیتر الکل ۷۵ درصد به مدت هشت دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، با سرعت ۷۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و سپس پنج دقیقه خشک گردید و در ۲۰ میکرولیتر آب حل گردید. غلظت RNA با دستگاه نانو دراپ مدل one c ترمو<sup>۱۴</sup> آمریکا سنجیده شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف

گلوکومتر ۰/۰۱ ساخت ژاپن، از ورید دم رت‌ها اندازه‌گیری و قند خون بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، به عنوان معیاری برای اطمینان از دیابتی شدن رت‌ها در نظر گرفته شد (کیم و دیگران، ۲۰۱۳).

**آماده‌سازی مکمل پروبیوتیک:** گروه‌های کنترل + مکمل و تمرین هوازی + مکمل، پنج روز در هفته و به مدت پنج هفته، مکمل پروبیوتیک کیدی لاکت<sup>۱</sup> (تهیه شده از شرکت زیست تخمیر، تهران، ایران) دریافت کردند. هر روز (ساعت ۸-۱۰ صبح) به ازای هر رت، میزان دو گرم مکمل پروبیوتیک در ۳۰ میلی‌لیتر آب آشامیدنی حل شد و سپس در بطری آب رت‌ها اضافه گردید. مکمل پروبیوتیک استفاده شده ترکیبی از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۲</sup>، فرمنتوم<sup>۳</sup>، بیفیدوباکتریوم<sup>۴</sup> و لنگیوم<sup>۵</sup> (۱۰<sup>۹</sup> واحد تشکیل کلونی/گرم) بود (نیک‌آزم و دیگران، ۲۰۱۷).

**پروتکل تمرین هوازی:** رت‌های گروه تمرین هوازی

**نحوه استخراج نمونه ها:** ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها ابتدا توسط تزریق درون صفاقی کتامین<sup>۷</sup> (۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین<sup>۸</sup> (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و سپس خون به طور مستقیم از قلب آن‌ها تهیه شد و در لوله‌های حاوی هپارین<sup>۹</sup> ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه، در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد، سپس پلاسما جداسازی شد و در میکروتیوب تخلیه گردید و بلافاصله با استفاده از ازت مایع، منجمد شده و برای سنجش‌های بعدی در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (نیک‌آزم و دیگران، ۲۰۱۷). سپس جراحی انجام شد و عضله نعلی آن‌ها استخراج گردید و بعد از اندازه‌گیری وزن عضله، در ازت مایع انداخته شد تا پس از هموزنیزاسیون<sup>۱۰</sup>، برای سنجش میزان بیان ژن کاسپاز-۳ استفاده شود.

**نحوه استخراج RNA و سنتز cDN:** حدود ۵۰ میلی‌گرم عضله نعلی، جهت استخراج RNA تام در ۱۰۰۰ میکرولیتر

1. Kidilact

2. Lactobacillus acidophilus

3. Fermentum

4. Bifidobacterium

5. longum

6. Colberg

7. Ketamine

8. Xylazine

9. Heparin

10. Homogenization

11. Trizol

12. Isopropanol

13. Pipetting

14. Nano Drop one c/Thermo

گردید. سنتز cDNA با یک میکرولیتر از RNA استخراج شده و با استفاده از کیت درمان DNase<sup>۱</sup> و کیت سنتز cDNA<sup>۲</sup> انجام گرفت. روش Real time-PCR: اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA کاسپاز-۳ با روش کمی Real time-PCR و استفاده از کیت مسترمیکس PCR<sup>۳</sup> (شرکت امپلیکون<sup>۴</sup>- دانمارک) صورت گرفت. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر و هر واکنش به صورت دوتایی صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های کاسپاز-۳ GAPDH<sup>۵</sup> در بانک ژنی

انجام گرفت. سنتز cDNA با یک میکرولیتر از RNA استخراج شده و با استفاده از کیت درمان DNase<sup>۱</sup> و کیت سنتز cDNA<sup>۲</sup> انجام گرفت.

روش Real time-PCR: اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA کاسپاز-۳ با روش کمی Real time-PCR و استفاده از کیت مسترمیکس PCR<sup>۳</sup> (شرکت امپلیکون<sup>۴</sup>- دانمارک) صورت گرفت. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر و هر واکنش به صورت دوتایی صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های کاسپاز-۳ GAPDH<sup>۵</sup> در بانک ژنی

جدول ۲. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Real time - PCR

ژن	توالی پرایمر
کاسپاز-۳	Forward AATTC AAGGGACGGGTCATG
	Reverse GCTTGTGCGCTACAGTTTC
GAPDH	Forward GGAAAGCCTGCCGGTGACTA
	Reverse CACCCGGAGGAGAAATCGGG

و کنترل دیابتی به منظور تعیین تاثیر دیابت بر متغیرهای وابسته پژوهش، مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه، برای تعیین معنی دار بودن تفاوت بین متغیرهای وابسته در چهار گروه آزمایش، آزمون تحلیل واریانس یک راهه<sup>۱۰</sup> (ANOVA) و آزمون تعقیبی شفه<sup>۱۱</sup> استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-26 انجام گرفت و در تمامی موارد آزمون فرضیه های آماری، سطح معنی داری  $p < 0.05$  منظور گردید.

#### یافته‌ها

نتایج مربوط به وزن رت‌ها و وزن عضله نعلی در جدول ۳ آورده شده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود، بین گروه کنترل سالم و کنترل دیابتی در وزن نهایی و وزن عضله نعلی، تفاوت معنی داری وجود دارد.

نحوه اندازه‌گیری گلوکز پلاسما: سنجش گلوکز پلاسما به روش فتومتریک<sup>۶</sup> (گلوکز اکسیداز<sup>۷</sup>) با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون، ساخت ایران با حساسیت پنج میلی‌گرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری شد. بدین منظور مقدار ۱۰ میکرولیتر پلاسما در لوله آزمایش ریخته شد و سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. به مخلوط ۳۰۰ میکرولیتر معرف افزوده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس در طول موج ۵۴۶ نانومتر در مقابل آب مقطر خوانده شد (نیک‌آزم و دیگران، ۲۰۱۷).

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری: از آزمون شاپیرو-ویلک<sup>۸</sup> برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها و از آزمون لون<sup>۹</sup> برای بررسی تجانس واریانس‌ها استفاده گردید. سپس آزمون t مستقل برای مقایسه گروه‌های کنترل سالم

جدول ۳. توصیف (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف

متغیرها	کنترل سالم	کنترل دیابتی	دیابتی + مکمل	دیابتی + تمرین	دیابتی + تمرین + مکمل
وزن اولیه (گرم)	۲۶۴/۵۰ $\pm$ ۱۵/۴۸	۲۳۴/۶۰ $\pm$ ۲۲/۳۶	۲۳۳/۸۰ $\pm$ ۲۸/۵۱	۲۷۶/۸۶ $\pm$ ۲۱/۵۱	۲۴۲/۲۹ $\pm$ ۶/۸۴
وزن نهایی (گرم)	۲۹۹/۵۸ $\pm$ ۲۹/۰۸	۲۳۴/۲۰ $\pm$ ۳۱/۹۹ <sup>#</sup>	۱۷۷/۸۰ $\pm$ ۳۰/۸۱ <sup>*</sup>	۲۵۹/۷۱ $\pm$ ۴۶/۳۶	۱۹۷/۰۰ $\pm$ ۳۲/۴۴ <sup>*</sup>
وزن عضله (میلی-گرم)	۱۷۴/۰۶ $\pm$ ۱۸/۸۹	۱۴۰/۱۴ $\pm$ ۲۱/۹۲ <sup>#</sup>	۱۱۵/۸۸ $\pm$ ۱۳/۱۵	۱۴۶/۲۲ $\pm$ ۲۱/۵۶	۱۱۱/۷۲ $\pm$ ۱۶/۵۱

\* نشانه تفاوت معنی دار وزن با گروه دیابتی + تمرین در سطح  $p < 0.05$ ; # نشانه تفاوت معنی دار وزن با گروه کنترل سالم در سطح معنی داری  $p < 0.05$ .

1. DNase treatment (Fermentas)

2. Transcriptor first strand cDNA synthesis kit, Roche, Cat. No. 04897030001

3. PCR Master Mix (2X) kit

4. Ampliqon, Denmark

5. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

6. Photometric

7. Glucose oxidase

8. Shapiro-Wilk

9. Levene

10. One-way analysis of variance

11. Scheffe

همان‌طور که جدول ۴ نشان می‌دهد، میزان گلوکز و بیان ژن کاسپاز-۳ در گروه کنترل دیابتی از گروه کنترل سالم، به طور معنی داری بیشتر است؛ این تفاوت به ما اجازه می‌دهد که گروه کنترل دیابتی، مرجع مقایسه‌های بین گروه‌ها قرار گیرد.

جدول ۴. نتایج آزمون t مستقل در مورد مقایسه گروه کنترل سالم و گروه کنترل دیابتی

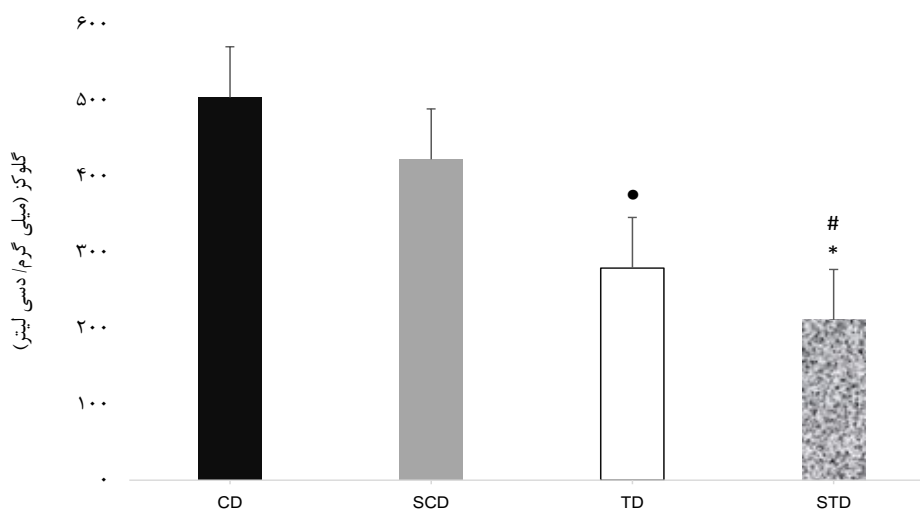
مقدار p	مقدار t	انحراف استاندارد	میانگین	گروه	متغیرها
۰/۰۱*	-۲۱/۹۷	۲۳/۱۰	۲۱۹/۰۰	کنترل سالم	گلوکز (میلی گرم/دسی-لیتر)
		۱۹/۰۳	۵۰۳/۶۰	کنترل دیابتی	
۰/۰۱*	-۳۸/۸۹	۰/۰۴	۰/۱۳	کنترل سالم	میزان بیان ژن کاسپاز-۳ (نسبت)
		۰/۰۳	۱/۰۰	کنترل دیابتی	

\* نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه در سطح  $p < 0.05$ .

بنا بر نتایج جدول ۵ و شکل ۱، تمرین هوازی و تمرین به همراه مکمل پروبیوتیک، موجب کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز پلاسما در گروه‌های دیابتی + تمرین و گروه دیابتی + تمرین + مکمل در مقایسه با گروه دیابتی + تمرین، کاهش معنی‌داری داشت.

جدول ۵. نتایج آزمون ANOVA در مورد مقایسه گلوکز پلاسمای رت‌ها در گروه‌های مختلف (میلی گرم/دسی‌لیتر)

مقدار p	آماره F	درجه آزادی	مجذور میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	گروه‌ها
۰/۰۰۸*	۵۸/۱۸۵	۳	۱۰۷۵۱۰/۹۹	۱۹/۰۳	۵۰۳/۶۰	کنترل دیابتی
				۸۴/۳۳	۴۲۲/۰۰	دیابتی + مکمل
				۳۰/۱۵	۲۷۹/۰۰	دیابتی + تمرین
				۱۶/۳۲	۲۲۰/۷۱	دیابتی + تمرین + مکمل

\* نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح  $p < 0.05$ .

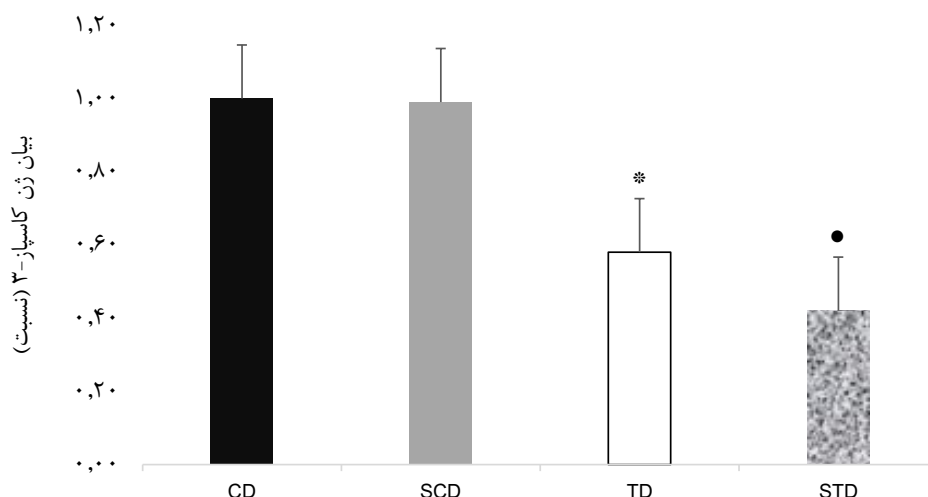
شکل ۱. مقایسه میزان گلوکز بین گروه‌های مختلف: گروه کنترل دیابتی: CD، گروه دیابتی + مکمل: SCD، گروه دیابتی + تمرین: TD، گروه دیابتی + تمرین + مکمل: STD؛ \* نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه CD ( $p = 0.001$ ) و SCD ( $p = 0.002$ ): • نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه CD ( $p = 0.002$ ) و SCD ( $p = 0.006$ ): # نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه TD ( $p = 0.03$ ): سطح معنی‌داری  $p < 0.05$ .

گروه دیابتی + تمرین و گروه دیابتی + تمرین + مکمل در مقایسه با گروه‌های کنترل دیابتی و گروه دیابتی + مکمل؛ شده است.

با توجه به نتایج آزمون ANOVA که در جدول ۶ و نمودار ۲ آمده است، تمرین هوازی و تمرین به همراه مکمل، موجب کاهش معنی‌داری در میزان بیان ژن کاسپاز-۳ در

جدول ۶. نتایج آزمون ANOVA در مورد مقایسه بیان ژن کاسپاز-۳

مقدار p	آماره F	درجه آزادی	مجذور میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	گروه ها
۰/۰۱*	۴۸/۹۵۳	۳	۰/۵۱۴	۰/۰۳	۱/۰۰	کنترل دیابتی
				۰/۱۵	۰/۹۹	دیابتی+مکمل
				۰/۱۲	۰/۵۸	دیابتی+تمرین
				۰/۰۳	۰/۴۲	دیابتی+تمرین+مکمل

\* نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح  $p < 0.05$ .

شکل ۲. مقایسه میزان بیان ژن کاسپاز-۳ (نسبت) بین گروه‌های مختلف. گروه کنترل دیابتی: CD، گروه دیابتی+مکمل: SCD، گروه دیابتی+تمرین: TD، گروه دیابتی+تمرین+مکمل: STD. \* نشانه تفاوت معنی دار با گروه CD ( $p=0.007$ ) و SCD ( $p=0.002$ ); نشانه تفاوت معنی دار با گروه CD ( $p=0.003$ ) و SCD ( $p=0.001$ ); سطح معنی داری  $p < 0.05$ .

## بحث

سلول، جذب گلوکز را افزایش می‌دهد (ریشتر و هارگریوز<sup>۲</sup>، ۲۰۱۳). از طرف دیگر و ناهمسو با یافته‌های پژوهش حاضر، برخی مطالعات از جمله جین<sup>۴</sup> و دیگران (۲۰۱۵)، چنگ<sup>۵</sup> و دیگران (۲۰۱۳)، و کیم و دیگران (۲۰۱۳); کاهش معنی دار سطوح گلوکز خون را پس از انجام تمرین ورزشی گزارش نکرده اند. این ناهمسویی می‌تواند ناشی از نوع پروتکل تمرین باشد، زیرا پروتکل تمرینی در دو پژوهش جین و دیگران (۲۰۱۵) و کیم و دیگران (۲۰۱۳)، علی‌رغم تفاوت در طول دوره پژوهش، یکسان بوده و با شدت کم اجرا شده است. در پژوهش چنگ و دیگران (۲۰۱۳) تمرین با شدت بالا انجام شده است و به نظر می‌رسد که شدت تمرین ورزشی بر کنترل سطوح گلوکز در مراحل اولیه دیابت موثر واقع شده و تمرین با شدت متوسط، تاثیر بیشتری بر سطوح گلوکز دارد. بنابر پژوهش‌های قبلی، تمرین با سرعتی بین ۱۳-۹ متر بر دقیقه در رت‌های دیابتی، شدت متوسط محسوب می‌گردد (لیو و دیگران، ۲۰۲۰). از سوی

پژوهش حاضر نشان داد که پنج هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنی دار گلوکز پلاسما در رت‌های دیابتی تمرین کرده نسبت به گروه کنترل دیابتی می‌شود. نتایج پژوهش حاضر همسو با پژوهش کیرلی<sup>۱</sup> و دیگران (۲۰۰۸) است که نشان دادند تمرین ورزشی با شدت متوسط، موجب کاهش معنی دار غلظت گلوکز خون در گروه تمرین دیابتی می‌شود. کاهش گلوکز همراه با فعالیت ورزشی با افزایش در توده و عملکرد سلول‌های بتا و تولید انسولین در رت‌های تمرین کرده، همراه است و انتقال دهنده گلوکز-<sup>۲</sup> (GLUT2) که در پاکسازی گلوکز نقش دارد، بر اثر محدودیت کالری ناشی از ورزش در رت‌های تمرین کرده نیز افزایش می‌یابد (کیرلی و دیگران، ۲۰۰۸). همچنین کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش پروتئین کیناز B (PKB) در رت‌های تمرین کرده، مانع از دست دادن GLUT2 می‌شود. علاوه بر این، فعالیت ورزشی با جابه‌جایی GLUT4 به غشای

1. Kiraly

2. Glucose transporter-2

3. Richter and Hargreaves

4. Jin

5. Cheng

6. Lew



ورزشی و مصرف پروبیوتیک، سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز-۳ می‌گردد. شارما<sup>۴</sup> و دیگران (۲۰۱۲) و بوهافس<sup>۵</sup> و دیگران (۲۰۱۵)؛ افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش کاسپاز-۳ را در نتیجه مصرف پروبیوتیک گزارش کرده‌اند که با سویه‌های پروبیوتیک مصرف شده در این پژوهش مشابه است.

تأثیر ضد آپوپتوتیک تمرینات ورزشی و مکمل‌های پروبیوتیک بر دیابت می‌تواند نتیجه افزایش سطح فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B (Akt) باشد. افزایش P-Akt از طریق فسفوریلاسیون پروتئین‌های ضد آپوپتوزی خانواده Bcl-2 و غیرفعال‌سازی پروتئین‌های پیش آپوپتوزی، مانند Bax و یا از طریق مهار مستقیم فعالیت کاسپاز؛ باعث مسدود کردن مسیرهای آپوپتوزی می‌گردد (چنگ و دیگران، ۲۰۱۳؛ لین<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۳). پروبیوتیک با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در میزان کاهش التهاب و تقویت سیستم ایمنی، باعث پایداری سلول و در نتیجه کاهش آپوپتوز می‌شود (وانگ<sup>۷</sup> و دیگران، ۲۰۱۷). تمرین ورزشی از طریق تنظیم افزایشی پروتئین‌های محافظتی حساس به استرس، از قبیل عامل هسته‌ای کاپا B (NF-κB) و پروتئین‌های شوک گرمایی، دارای پتانسیل کاهش آپوپتوزیس می‌باشد. همچنین، شواهد نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی استقامتی با جلوگیری از پراکسیداسیون بیش از حد چربی، افزایش ظرفیت فسفوریلاسیون اکسیداتیو، افزایش توده میتوکندری و کاهش بیان آنزیم NAD(P)H اکسیداز<sup>۸</sup>، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد؛ در نتیجه تولید کلی آنیون‌های سوپراکساید<sup>۱۰</sup> کاهش می‌یابد (آدامز<sup>۱۱</sup> و دیگران، ۲۰۰۵؛ کانینگهام<sup>۱۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۵). افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش پروتئین P53 - سرکوب کننده بیان آنزیم آنتی‌اکسیدان ها - می‌شود. به دنبال کاهش پروتئین P53، پروتئین پیش آپوپتوزی Bax کاهش می‌یابد و پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 افزایش پیدا می‌کند؛ زیرا P53 با فعال کردن آپوپتوزیس از طریق انتشار میتوکندریایی سیتوکروم C، منجر به فعال شدن کاسپاز-۳ می‌گردد (درین<sup>۱۳</sup> و دیگران، ۲۰۰۱). بنابراین، احتمال دارد که کاهش نسبت Bax به Bcl-2، عامل تأثیرگذاری بر کاهش بیان کاسپاز-۳ در بافت عضله نعلی در اثر تمرین ورزشی در این پژوهش باشد.

**نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل پروبیوتیک بر کاهش گلوکز خون، اثر هم افزایی داشته و سبب بهبود بیشتر کنترل قند خون شده و از طریق مکانیسم‌های مختلف، با کاهش بیان کاسپاز-۳

دیگر، تمرین به همراه مکمل پروبیوتیک توانست بر کاهش سطوح گلوکز خون ناشتا موثرتر باشد؛ تغییری که نسبت به انجام تمرین هوازی به تنهایی، به صورت معنی‌داری بیشتر بود. مطالعات حیوانی نشان داده که میزان گلوکز خون در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک، به طور قابل توجهی پایین‌تر از گروه کنترل است (اردشیرلاریجانی و دیگران، ۲۰۱۹)؛ در حالی که گوبل<sup>۱</sup> و دیگران (۲۰۱۲) در مطالعه خود، کاهش معنی‌داری مشاهده نکرده‌اند. به نظر می‌رسد پروبیوتیک‌ها تأثیری بر هموستاز گلوکز در افراد سالم ندارند. اختلاف نظر بین نتایج مطالعه حاضر و سایر یافته‌ها می‌تواند تا حدی به دلیل تفاوت در طول درمان، نوع و دوز پروبیوتیک مصرفی باشد. پروبیوتیک‌ها از طریق تغییر در میکروبیوتای روده<sup>۲</sup>، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم، کنترل رشد و زنده ماندن سلول‌های β، پردازش پلی ساکاریدهای غذایی، و مهار یا به تاخیر انداختن جذب روده‌ای گلوکز؛ نقش مهمی در متابولیسم و هموستاز گلوکز بازی می‌کنند (اردشیرلاریجانی و دیگران، ۲۰۱۹).

در پژوهش حاضر تمرین ورزشی بیان ژن کاسپاز-۳ در عضله نعلی را به طور معنی‌داری کاهش داد. این نتایج هم‌سو با نتایج رضائی و دیگران (۲۰۲۰) و کواک<sup>۳</sup> و دیگران (۲۰۰۶) است که می‌تواند به دلیل تشابه شدت فعالیت ورزشی و تعداد جلسه در هفته باشد؛ زیرا برنامه تمرینی در پژوهش رضائی و دیگران (۲۰۲۰) شامل دویدن بر روی نوارگردان با سرعت هشت متر بر دقیقه در هفته اول و ۱۶ متر بر دقیقه در هفته آخر، کلا به مدت هشت هفته و با تکرار پنج روز در هفته بود. در حالی که در پژوهش کواک و دیگران (۲۰۰۶)، تمرین با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه با شیب ۱۵ درجه، پنج روز در هفته به مدت ۱۲ هفته انجام شد که با شدت متوسط بوده است. از طرف دیگر، نتایج بدست آمده با یافته‌های سیو و دیگران (۲۰۰۴) ناهم‌سو است که می‌تواند به دلیل تفاوت در شدت فعالیت ورزشی و روش سنجش کاسپاز-۳ باشد. در پژوهش سیو و دیگران (۲۰۰۴) تمرین هوازی بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه در هفته اول شروع شد و با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه به مدت ۵۵ دقیقه در هفته هشتم به پایان رسید. شدت فعالیت در پژوهش این محققین شدید بوده و میزان فعالیت کاسپاز-۳ سنجیده شده است که با روش سنجش پژوهش حاضر متفاوت است. در مطالعه حاضر، همچنین مشاهده شد که ترکیب تمرین

1. Gobel

2. Intestinal microbiota

3. Kwak

4. Sharma

5. Bouhafsa

6. Lin

7. Wang

8. Nuclear factor-kappa B

9. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase

10. Superoxide anions

11. Adams

12. Cunningham

13. Drane

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را اعلام نکرده اند.

#### قدردانی و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکترای فیزیولوژی ورزشی دانشگاه گیلان است و از تمامی عزیزانی که در دانشکده تربیت بدنی دانشگاه گیلان و دانشگاه علوم پزشکی ایران، ما را در این مسیر یاری رساندند؛ کمال تشکر و قدردانی را داریم.

و آپوپتوزیس عضله اسکلتی، در بهبود میوپاتی دیابتی موثر بوده است. به عبارت دیگر، تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل پروبیوتیک می تواند یک رهیافت درمانی و پیشگیری کننده از عوارض دیابت در بافت عضلانی باشد، با این وجود کشف دلایل و اثر آن در بهبودی میوپاتی ناشی از دیابت، نیازمند پژوهش های بیشتری است.

#### تعارض منافع

#### منابع

- Adams, V., Linke, A., Kränkel, N., Erbs, S., Gielen, S., Möbius-Winkler, S., & Hambrecht, R. (2005). Impact of regular physical activity on the NAD (P) H oxidase and angiotensin receptor system in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 111(5), 562-555.
- Ardeshirlarijani, E., Tabatabaei-Malazy, O., Mohseni, S., Qorbani, M., Larijani, B., & Jalili, R. B. (2019). Effect of probiotics supplementation on glucose and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized trials. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(2), 827-837.
- Azm, S.A.N., Djazayeri, A., Safa, M., Azami, K., Djalali, M., Sharifzadeh, M., & Vafa, M. (2017). Probiotics improve insulin resistance status in an experimental model of Alzheimer's disease. *Medical Journal of The Islamic Republic of Iran*, 31, 103.
- Bouhafs, L., Moudilou, E. N., Exbrayat, J. M., Lahouel, M., & Idoui, T. (2015). Protective effects of probiotic *Lactobacillus plantarum* BJ0021 on liver and kidney oxidative stress and apoptosis induced by endosulfan in pregnant rats. *Renal Failure*, 37(8), 1370-1378.
- Cheng, S.M., Ho, T.J., Yang, A.L., Chen, I.J., Kao, C.L., Wu, F.N., & Huang, C.Y. (2013). Exercise training enhances cardiac IGFI-R/PI3K/Akt and Bcl-2 family associated pro-survival pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Cardiology*, 167(2), 478-485.
- Church, T.S., Blair, S.N., Cocreham, S., Johannsen, N., Johnson, W., Kramer, K., & Rodarte, R.Q. (2010). Effects of aerobic and resistance training on hemoglobin A1c levels in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Jama*, 304(20), 2253-2262.
- Colberg, S.R., Sigal, R.J., Fernhall, B., Regensteiner, J.G., Blissmer, B.J., Rubin, R.R., & Braun, B. (2010). Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary. *Diabetes Care*, 33(12), 2692-2696.
- Cunningham, P., Geary, M., Harper, R., Pendleton, A., & Stover, S. (2005). High intensity sprint training reduces lipid peroxidation in fast-twitch skeletal muscle. *Journal of Exercise Physiology Online*, 8(6), 18-25.
- Drane, P., Bravard, A., Bouvard, V., & May, E. (2001). Reciprocal down-regulation of p53 and SOD2 gene expression—implication in p53 mediated apoptosis. *Oncogene*, 20(4), 430-439.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516.
- Ghareghani, P., Shanaki, M., Ahmadi, S., Khoshdel, A.R., Rezvan, N., Meshkani, R., & Gorgani-Firuzjaee, S. (2018). Aerobic endurance training improves nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) features via miR-33 dependent autophagy induction in high fat diet fed mice. *Obesity Research & Clinical Practice*, 12(1), 80-89.
- Gøbel, R. J., Larsen, N., Jakobsen, M., Mølgaard, C., & Michaelsen, K. F. (2012). Probiotics to adolescents with obesity: effects on inflammation and metabolic syndrome. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(6), 673-678.

- IDF diabetes atlas, 8th edition 2017. Available at: [www.IDF.org/elibrary/epidemiology-research/diabetes-atlas.html](http://www.IDF.org/elibrary/epidemiology-research/diabetes-atlas.html). Last available: 22 May 2019.
- Jafari Anarkooli, I., Sankian, M., Ahmadpour, S., Varasteh, A.-R., & Haghiri, H. (2008). Evaluation of Bcl-2 family gene expression and Caspase-3 activity in hippocampus STZ-induced diabetic rats. *Experimental Diabetes Research*, 2008.
- Jin, H.Y., Lee, K.A., & Park, T.S. (2015). The effect of exercise on the peripheral nerve in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Endocrine*, 48(3), 826-833.
- Kim, D.Y., Jung, S.Y., Kim, C.J., Sung, Y.H., & Kim, J.D. (2013). Treadmill exercise ameliorates apoptotic cell death in the retinas of diabetic rats. *Molecular Medicine Reports*, 7(6), 1745-1750.
- Király, M. A., Bates, H.E., Kaniuk, N.A., Yue, J.T., Brumell, J.H., Matthews, S.G., & Vranic, M. (2008). Swim training prevents hyperglycemia in ZDF rats: mechanisms involved in the partial maintenance of  $\beta$ -cell function. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(2), E271-E283.
- Kwak, H.B., Song, W., & Lawler, J.M. (2006). Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *The FASEB Journal*, 20(6), 791-793.
- Lee, H., & Lim, Y. (2018). Tocotrienol-rich fraction supplementation reduces hyperglycemia-induced skeletal muscle damage through regulation of insulin signaling and oxidative stress in type 2 diabetic mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 57, 77-85.
- Lew, J.K.-S., Pearson, J.T., Saw, E., Tsuchimochi, H., Wei, M., Ghosh, N., & Umetani, K. (2020). Exercise regulates microRNAs to preserve coronary and cardiac function in the diabetic heart. *Circulation Research*, 127(11), 1384-1400.
- Lin, P.-P., Hsieh, Y.-M., Kuo, W.-W., Lin, Y.-M., Yeh, Y.-L., Lin, C.-C., & Tsai, C.-C. (2013). Probiotic-fermented purple sweet potato yogurt activates compensatory IGF-IR/PI3K/Akt survival pathways and attenuates cardiac apoptosis in the hearts of spontaneously hypertensive rats. *International Journal of Molecular Medicine*, 32(6), 1319-1328.
- Lu, Y., & Chen, G.-Q. (2011). Effector caspases and leukemia. *International Journal of Cell Biology*, 2011, 1-9.
- Powers, S.K., Kavazis, A.N., & McClung, J.M. (2007). Oxidative stress and disuse muscle atrophy. *Journal of Applied Physiology*, 102(6), 2389-2397.
- Ramezani, S., Peeri, M., Azarbaijani, M.A., & Dehghan, F. (2020). Effects of aerobic exercise and vitamin D supplementation on the expression of apoptosis genes BCL2, BAX, Caspase3 and BCL2/BAX ratio on lung in male rats exposed to hydrogen peroxide. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 8(16), 86-100. [In Persian]
- Richter, E.A., & Hargreaves, M. (2013). Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiological Reviews*, 93(3), 993-1017.
- Sharma, S., Chaturvedi, J., Chaudhari, B., Singh, R.L., & Kakkar, P. (2012). Probiotic enterococcus lactis IITRHR1 protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Nutrition*, 28(2), 173-181.
- Siu, P.M., Bryner, R.W., Martyn, J.K., & Alway, S.E. (2004). Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *The FASEB Journal*, 18(10), 1150-1152.
- Vanessa Fiorentino, T., Prioleta, A., Zuo, P., & Folli, F. (2013). Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 19(32), 5695-5703.
- Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., & Li, W. (2017). Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients*, 9(5), 521.