

Research Paper

The effect of a course of crosetin consumption on LC3 gene expression in heart tissue of elderly diabetic rats following intermittent aerobic exercise

Abolhasan Sharifi Rigi¹, Khosro Jalali Dehkordi², Mohsen Akbarpour Beni³, Farzaneh Taghian⁴

1. PhD Student, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad

University, Isfahan, Iran

2. Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3. Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Qom, Qom, Iran
Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

PP:13-20

Use your device to scan and read the article online

**Keywords:**

Aerobic exercise, crosetin, LC3, heart, elderly, diabetes

Abstract

Introduction: Performing sports activities is one of the most important basic strategies to control and treat blood glucose and hyperlipidemia, and it reduces the incidence of diabetes and cardiovascular complications. The purpose of this study is to investigate aerobic exercise and the effective substance crostin on tissue LC3 gene expression. The heart was an experimental model of diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental trial, 25 elderly female c57bl6 male mice with diabetes (40 mg/kg peritoneal injection) aged 14-16 weeks and weighing 30-35 grams were divided into 5 groups: healthy control, aerobic exercise + crosetin, diabetic, diabetic + aerobic exercise. Diabetic + crosetin, diabetic + aerobic exercise + crosetin were divided. Intermittent aerobic exercise was performed for eight weeks, five sessions per week. Rats received crosetin 30 mg/kg/day by intraperitoneal injection. LC3 expression was measured by Real Time PCR method. To analyze the data, one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used ($P \geq 0.05$).

Findings: LC3 gene expression was significantly increased in the diabetic group compared to the healthy group ($P=0.001$). LC3 gene expression in the group of diabetes+aerobic exercise+crosetin supplement, diabetes group+aerobic exercise and diabetes and crosetin supplement was significantly decreased relative to the diabetes group ($P=0.001$).

Conclusion: It seems that intermittent aerobic exercise and crosetin both alone and simultaneously decreased LC3 in diabetic heart tissue. Therefore, it is recommended to use intermittent aerobics and crosetin along with therapeutic modalities in type 2 diabetes in old age.

Citation: Sharifi Rigi Abolhasan, Jalali Dehkordi Khosro, Akbarpour Beni Mohsen, Taghian Farzaneh. The effect of a course of crosetin consumption on LC3 gene expression in heart tissue of elderly diabetic rats following intermittent aerobic exercise . Res Sport Sci Med Plants. 2023; 4 (2):13-20

Corresponding author: Khosro Jalali Dehkordi

Address: Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Tel: 989131854997

Email: khosrojaleali@gmail.com

مقاله پژوهشی

تأثیر یک دوره مصرف کרוستین بر بیان ژنی LC3 بافت قلب موشهای سالمند دیابتی به دنبال تمرین هوازی تناوبی

ابوالحسن شریفی ریگی^۱، خسرو جلالی دهکردی^{۲*}، محسن اکبرپور^۳، فرزانه تقیان^۴
 ۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
 ۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
 ۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه قم، قم، ایران
 ۴. استاد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

شماره صفحات: ۲۰-۱۳

چکیده

مقدمه: انجام فعالیت‌های ورزشی یکی از مهم‌ترین راهکارهای اساسی جهت کنترل و درمان گلوکز خون و هیپرلیپیدمی بوده و باعث کاهش بروز دیابت و عوارض قلبی و عروقی می‌گردد. هدف مطالعه حاضر بررسی تمرین هوازی و ماده موثر کروستین بر بیان ژنی LC3 بافت قلب مدل تجربی موش‌های دیابتی سالمند بود.

مواد و روش‌ها: در این کارآزمایی تجربی، ۲۵ سر موش نر c57bl6 ماده سالمند مبتلا به دیابت (تزریق صفاقی ۴۰ mg/kg) با سن ۱۴-۱۶ هفته و وزن ۳۰-۳۵ گرم به ۵ گروه کنترل سالم، تمرین هوازی+کروستین، دیابتی، دیابتی+تمرین هوازی، دیابتی+کروستین، دیابتی+تمرین هوازی+کروستین تقسیم شدند. تمرین هوازی تناوبی به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته اجرا شد. موش‌ها ۳۰ mg/kg/day کروستین به صورت تزریق صفاقی دریافت کردند. میزان بیان LC3 به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد ($P \leq 0.05$).

یافته‌ها: بیان ژنی LC3 در گروه دیابت نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌دار داشت ($P=0.001$). بیان ژنی LC3 در گروه دیابت+تمرین هوازی+کروستین، گروه دیابت+تمرین هوازی و دیابت و مکمل کروستین به طور معنی‌نسب به گروه دیابت کاهش داشت ($P=0.001$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین هوازی تناوبی و کروستین هم به تنهایی و هم به طور همزمان باعث کاهش LC3 بافت قلب مبتلا به دیابت شد. لذا استفاده از هوازی تناوبی و کروستین در کنار مداخله‌های درمانی در دیابت نوع دوم در سالمندی توصیه می‌شود.

از دستگاه خود برای اسکن و خواندن مقاله به صورت آنلاین استفاده کنید



واژه‌های کلیدی:

تمرین هوازی، کروستین، LC3، قلب، سالمند، دیابت

* نویسنده مسئول: خسرو جلالی دهکردی

نشانی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

تلفن: ۰۹۱۳۱۸۵۴۹۹۷

پست الکترونیکی: khosrojalali@gmail.com

مقدمه

امروزه مسئله ارتقای سلامت افراد مسن و فعال ماندن آنها در سنین بالا مسئله ای جدی تلقی میشود و دیگر به عنوان مفهومی تجملی مطرح نیست. تغییراتی که در سالمندی رخ میدهد، تا حدودی نتیجه افت تدریجی کارکرد دستگاههای مختلف بدن است و منجر به از دست دادن سلامت جسمی، ذهنی و اجتماعی میگردد. (۱). در سنین پیری علاوه بر مشکلات ناشی از افزایش سن، برخی از افراد سالمند دچار بیماریهایی نیز میشوند که یکی از آنها دیابت نوع ۲ یا دیابت بزرگسال که عمدتاً بین ۵۰ تا ۶۰ سال می باشد. دیابت نوع ۲ به عنوان یکی از عوامل خطر ساز بالقوه و از دلایل مرگ و میر ناشی از عدم تحرک و اضافه وزن در ۹۵٪ - ۹۰٪ جمعیت مبتلا به دیابت است که به طور بالقوه با مقاومت به انسولین در مدل‌های حیوانی و انسانی همراه است (۲). در یک نگاه کلی دیابت یک اختلال متابولیک شایع در دنیاست که با افزایش قند خون، ترشح ناکافی و یا اختلال در عملکرد انسولین همراه است، که توجه بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است. براساس برآورد سازمان بهداشتی جهانی شیوع دیابت در سراسر دنیا از ۲/۸ درصد در سال ۲۰۰۰ به ۴/۴ درصد در سال ۲۰۳۰ می رسد. دیابت شامل گروهی از بیماریهای متابولیک است که با افزایش قند خون، در نتیجه وجود نقص هایی در ترشح انسولین، عملکرد انسولین و یا هر دو حاصل می شود. افزایش قند خون در دیابت با آسیب کارکرد نا مناسب و نارسایی طولانی مدت اندام های گوناگون به ویژه چشم ها، کلیه ها، اعصاب، قلب و عروق خونی همراه است (۳).

در واقع اتوفازای شامل تشکیل وزیکول دو غشایی است که سیتوپلاسم و ارگانل ها را احاطه می کند و سپس با لیزوزوم ادغام می شود بنابراین محتوای لیزوزوم را تخریب می کند. حدود ۳۰ ژن ویژه اتوفازای را تنظیم می کنند که از بین این ژن ها LC3 نقش مهمی در اتوفازای پستانداران ایفا می کند و معمولاً به عنوان نشانگر تشکیل اتوفازوزوم مورد استفاده قرار می گیرد که تعداد اتوفازوزوم های مشاهده شده در بافت به نوبه خود می تواند به عنوان مقیاس فعالیت اتوفازایگ در نظر گرفته شود (۴). LC3 شامل یک فرم محلول LC3I و فرم لیپیدی LC3II است. زمانی که اتوفازای رخ می دهد فرم سیتوپلاسمی LC3 که روی اتوفازوزوم قرار می گیرد تبدیل می شود این تبدیل به نظر می رسد با فعالیت اتوفازای مرتبط باشد (۴). در واقع LC3 در مرحله تولید سازی تشکیل اتوفازوزوم نقش دارد تغییرات در بیان LC3 در کاردیومیوبیتی مرتبط است. افزایش LC3 در بافت قلب موش های پیش دیابت و دیابت نشانه کاردیومیوبیتی است (۵). گائو و همکاران در پژوهشی با بررسی ۳۶ رت نر اسپرادوگاولی در دو گروه کنترل و دیابتی شده ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا

به مدت ۶ هفته و تزریق درون صقایی STZ اظهار داشتند که ابتلا به دیابت با افزایش شاخص های اتوفازای مانند نسبت LCII به LC3: beclin-1 بود (۶).

اهمیت فعالیت بدنی و ورزش به عنوان بخشی مکمل برای یک زندگی سالم همواره مطرح است. شواهد علمی نشان دهنده ی اثرات مفید فعالیت بدنی بر سلامت جامعه در سرتاسر دنیا است. بررسی ها نشان میدهند فعالیت بدنی با تکرار، شدت و مدت زمان مناسب و بر اساس برنامه های منظم و علمی، مزایای قابل توجهی بر سلامت افراد خواهد داشت (۷). حفظ سطح مناسبی از عناصر آمادگی جسمانی مانند استقامت قلب و عروق، قدرت، استقامت عضلانی، ترکیب بدنی و انعطاف پذیری در کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی، فشار خون، دیابت، پوکی استخوان و چاقی مؤثر است (۳). در این میان زعفران (Saffron) و ترکیبات آن فعالیت های پزشکی-بیولوژیکی قابل توجهی را نشان داده اند گزارش شده است که ترکیبات مشتق شده از زعفران مانند کروزستین (crocetin) اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدانی قوی با مهار اکسیداسیون لیپوپروتئین اثرات قابل توجهی بر بیماری عروق کرونر قلب، کاهش فشار خون و بیماری های تخریب کننده عصبی و سرطان دارد (۸) تحقیقات نشان می دهد که زعفران و مواد تشکیل دهنده آن (کروزستین و کروستین) اثرات دارویی بسیاری بر مدل های حیوانی دیابتی مانند تحریک جذب گلوکز توسط بافت های محیطی، مهار جذب گلوکز روده دارند و تحریک و بازسازی جزایر لانگرهاس که باعث افزایش ترشح انسولین بیشتری می شود (۹). تحقیقات محدودی در زمینه تأثیر مکمل کروزستین و تمرین هوازی بر اتوفازای بافت قلب موش های دیابتی سالمند شده است از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروزستین بر بیان ژنی LC3 بافت قلب موش های دیابتی سالمند انجام شد.

مواد و روش ها

نگهداری حیوانات آزمایشگاهی

تحقیق حاضر نوع تجربی می باشد، تعداد ۲۵ موش نر c57bl6 با محدوده سنی ۱۴-۱۶ هفته و محدوده وزنی ۳۵-۳۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی مرکز رویان اصفهان تهیه گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه تخصصی به مدت یک هفته جهت سازگاری در این محیط نگهداری شدند. نکته قابل توجه اینکه در تمام دوره این تحقیق حیوانات در شرایط استاندارد شامل چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته، دمای محیط ۲۰-۲۲ درجه سانتی گراد، رصوبت نسبی ۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می شدند.

روش القا دیابت

موش های c57bl6 سالمند دیابتی در حالت ۱۲ ساعت ناشتا تحت تزریق صفاقی تک دوز 40 mg/kg STZ حل شده در بافر سترات قرار گرفتند و ۴ روز پس از تزریق STZ گلوکز خون موش های صحرایی با استفاده از گلوکومتر اندازه گیری شد در این تحقیق موش های صحرایی با گلوکز خون بالای ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان موش های دیابتی شناخته خواهند شد (۱۵). این نکته قابل ذکر است که تعداد ۳ سر موش صحرایی پس از القای دیابت به دلیل واکنش فردی به STZ تلف شدن و در انتها تعداد ۲۵ سر موش صحرایی وارد گروه های تحقیق شدند.

طرح تحقیق و گروه بندی

۲۵ سر موش c57bl6 سالمند دیابتی با توجه به همین سازی وارد تحقیق شدند و به طور تصادفی به ۵ گروه سالم، دیابتی، دیابتی+تمرین هوازی، دیابتی+کروسستین، دیابتی+تمرین هوازی+کروسستین تقسیم شدند.

پروتکل تمرین تناوبی هوازی

گروه های تمرین پس از یک هفته آشنا سازی با نوار گردان، با سرعت ۷-۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، برای اندازه گیری

حداکثر سرعت دویدن برای طراحی تمرین یک آزمون وامانده ساز انجام دادند. برای این بدست آوردن حداکثر سرعت دویدن موش های صحرایی، ابتدا به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه گرم کردند و در ادامه به ازای هر سه دقیقه یک متر بر دقیقه به سرعت آنها افزوده شد تا به واماندگی برسند. واماندگی به حالتی اطلاق گردید که موش صحرایی دیگر قادر به دویدن بر نوار گردان نباشد و یا در یک دقیقه سه بار متوالی به انتهای نوارگردان برخورد نماید؛ هفته اول سازگاری تمرینی با سرعت ۷-۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه اجرا شد سپس در ادامه جهت انجام تمرین تناوبی هوازی شامل دویدن با تناوب سرعت متفاوت ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۰، ۷ در هفته اول و سرعت در هفته هشتم ۱۰، ۱۳، ۱۰، ۷، ۱۶، ۱۹، ۲۵، ۱۶، ۱۳، ۱۰ روی تردمیل بود. سرعت در طول تناوبی هوازی به تدریج از ۷ به ۲۵ متر در دقیقه طی ۸ هفته افزایش یافت. تمرینات تناوبی هوازی برای هشت هفته، پنج جلسه در هفته انجام شد و ۵ دقیقه در ابتدای تمرین برای گرم کردن و ۵ دقیقه در انتهای تمرین برای سرد کردن در نظر گرفته شد؛ شدت تمرین برای گرم کردن و سرد کردن معادل ۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن در نظر گرفته شد (جدول شماره ۱) (۱۰).

جدول ۱- برنامه تمرینی HIIT

هفته	سرعت (M/min)	مدت زمان (Min)	تعداد روز
سازگاری	۷-۱۰	۱۰	۵
اول	۷، ۱۰، ۱۳، ۱۰، ۷	۱۰، ۳، ۱۹، ۳، ۱۰	۵
دوم	۷، ۱۰، ۱۳، ۱۵، ۱۲، ۱۰، ۷	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
سوم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۷، ۱۶، ۱۳، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
چهارم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۸، ۱۶، ۱۳، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
پنجم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۱۶، ۱۳، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
ششم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۲۰، ۱۶، ۱۳، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
هفتم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۲۱، ۱۸، ۱۵، ۱۲، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۰، ۳، ۳، ۳، ۵	۵
هشتم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۲۵، ۱۹، ۱۶، ۱۳، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۰، ۳، ۳، ۳، ۵	۵

مصرف کروسستین

مکمل کروسستین (شماره محصول: ۶-۸۸۱-۲۵۵) از شرکت سیگما آلدريج (Sigma-Aldrich) آمریکا خریداری شد و روزانه ۳۰ میلی گرم در هر کیلوگرم به ازای وزن هر موش به صورت گاواژ خورنده شد (۱۷).

تشریح و نمونه برداری

برای انجام تشریح و نمونه برداری ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی، موش های صحرایی به وسیله محلول کتامین 50 mg/ml و زیلازین 20 mg/ml بی-هوش شدند. جهت تشخیص بی هوشی متخصصین آزمایشگاه از روش های آزمون درد استفاده نمودند و پس از اطمینان از بی هوشی کامل، حفره سینه ای موش های صحرایی

شکافته شد و پس از کنار زدن سایر بافت ها و قطع شریان های ورودی و خروجی به قلب، بافت قلب موش خای صحرایی به دقت استخراج شد و بلافاصله در تانک ازت غوطه ور گردید. در ادامه بافت قلب تا زمان اندازه گیری متغیر ها در دمای ۸۰- نگهداری شد (۱۱).

روش اندازه گیری مقادیر بیان ژنی LC3

جهت اندازه گیری سطوح بیان ژنی LC3 از روش QReal Time PCR استفاده شد. برای این منظور ابتدا مقدار ۵۰ میلی گرم بافت از قلب جدا شد، استخراج RNA از بافت ها در همه گروه های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام شد. برای اطمینان از کیفیت RNA، با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز

و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) استفاده شد. علاوه بر این برای بررسی کیفیت RNA از فرمول $(C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d/1000)$ استفاده گردید. در ادامه پس از سنتز cdNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده در کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) از بر اساس راهنمای ژن های LC3 در سایت PUBMED واکنش رونویسی معکوس انجام شد. برای تعیین کارایی و

اختصاصی بودن پرایمر ها از پیش پرایمر ها با استفاده از نرم افزار موجود در سایت NCBI ارزیابی گردید، همچنین جهت اندازه گیری سطوح بیان ژنی متغیرهای تحقیق با استفاده از ژن کنترل داخلی TBP با استفاده شد و پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه qReal Time PCR و پس از رسیدن نمونه ها به آستانه بیان (Cycle Threshold) جهت کمی سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد (جدول شماره ۲).

جدول ۲- توالی پرایمر متغیرهای تحقیق

نام ژن	توالی پرایمر	دما (درجه سانتی گراد)
B2m	<i>F: ACAGTTCCACCCGCCTCACATT</i> <i>R: TAGAAAGACCAGTCCTTGCTGAAG</i>	۶۰
Lc3	<i>F: 5'- CTGCTGTAACGATGAAGCCCTG-3</i> <i>R: 5'- GCTGTAGGAAGCTCATCTCTCC-3'</i>	۱۱۹

روش تجزیه و تحلیل داده ها

جهت تجزیه و تحلیل داده ها در این تحقیق ابتدا برای بررسی طبیعی بودن توزیع یافته ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. در ادامه با توجه به طبیعی بودن توزیع یافته ها جهت بررسی تفاوت بین گروه ها از آزمون آنالیز واریانس یک راهه استفاده شد و برای تعیین محل تفاوت بین گروه ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزار SPSS با نسخه ۲۶

به اجرا شد.

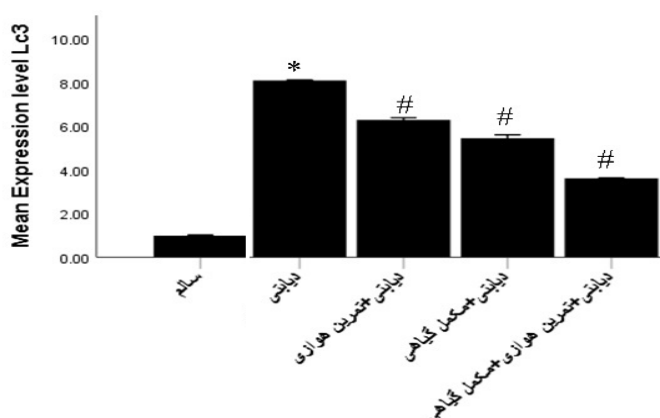
یافته ها

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی داری در بیان ژن LC3 ($P=0/01$) در بافت قلب موش های صحرایی مبتلا به دیابت در گروه های تحقیق وجود داشت.

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار LC3 در گروههای مورد بررسی

گروه	میانگین و انحراف معیار بیان ژن LC3	p-value
گروه دیابتی	0.01 ± 8.1	$p < 0/01^*$
دیابتی + تمرین هوازی	0.07 ± 6.3	$p < 0/01^*$
دیابتی + مکمل گیاهی	0.09 ± 5.45	$p < 0/01^*$
دیابتی + تمرین هوازی + مکمل گیاهی	0.01 ± 3.6	$p < 0/01^*$

* نشانه معنی داری گروهها با گروه کنترل در سطح $p < 0/05$



شکل ۱- تغییرات بیان ژنی LC3 در بافت قلب موش های سالمند دیابتی

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که مقادیر LC3 در گروه های دیابتی ($P=0/01$) افزایش معنی داری نسبت به گروه سالم داشت. اما در گروههای دیابتی+تمرین هوازی ($P=0/01$) و دیابتی+مکمل گیاهی ($P=0/01$) و دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($P=0/01$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی دار داشت. (شکل ۱).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد، که مصرف کروسستین و تمرین هوازی باعث کاهش معنی دار LC3 در گروه دیابت شد و این کاهش در گروه مصرف همزمان تمرین هوازی و مکمل کروسستین بیشتر بود. دیابت طیف وسیعی از عوارض دارد که مهمترین آنها بیماری های قلبی عروقی و کاردیومیوپاتی دیابت (Diabetic cardiomyopathy) است.

به عبارتی افزایش بیان LC3 نشان دهنده افزایش اتوفاژی است. افزایش بیان این ژن ها می تواند نشان دهنده افزایش فرآیند اتوفاژی در بافت قلب بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم باشد. ژانگ و همکارانش کاهش سطح پروتئین LC3-II، LC3-ATG5 و ATG-7 را در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل گزارش کردند (۱۲) همانطور که قبلاً ذکر شد، عدم وجود یا نقص در فرآیند اتوفاژی چالش برانگیز خواهد بود. پیشنهاد شده است که القای اتوفاژی مناسب ممکن است مرگ سلولی کاردیومیوسیت و کاردیومیوپاتی را کاهش دهد (۱۳) چندین مطالعه به نقش اتوفاژی در پاتوژنز نارسایی قلبی در بیماران دیابتی با استفاده از دستکاری ژن، مداخلات دارویی و تغییر در سبک زندگی (رژیم غذایی و ورزش) پرداخته اند (۱۴، ۱۵). در مطالعه حاضر، نقش تمرین هوازی و کروسستین، به عنوان تنظیم کننده های قابل قبول اتوفاژی، در سطوح رونویسی ژن های کلیدی در اتوفاژی مورد بررسی قرار گرفت. یافته های ما نشان داد که HIIT اثرات محافظتی بر بافت قلب در موش های دیابتی دارد و بیان ژن های مرتبط با اتوفاژی را در مقایسه با گروه کاردیومیوپاتی بهبود می بخشد. علاوه بر این، ورزش می تواند یک عامل محافظتی مفید باشد که سعی در حفظ هموستاز سلولی طبیعی دارد (۱۶). کروسستین، متغیر مستقل دیگری که در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گرفت، به طور قابل توجهی سطوح رونوشت ژن های LC3 را در مقایسه با گروه دیابت بهبود بخشید. گائو و همکاران در پژوهشی با بررسی ۳۶ موش نر اسپرادوگولی در دو گروه کنترل و دیابتی شده ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا به مدت ۶ هفته و تزریق درون صفاقی STZ (۳ میلی لیتر در کیلوگرم وزن بدن) اظهار داشتند که ابتلا به دیابت با افزایش در شاخص های اتوفاژی مانند نسبت LC-II به LC3I،

بکلین-۱، کاهش در پروتئین P62 و افزایش در فیروز (تنظیم مثبت کلاژن نوع I و III) همراه بوده است (۶). در تحقیقی دیگر کاناموری و همکاران چنین اظهار نمودند که دیابت ناشی از تزریق STZ باعث کاهش عملکرد دیاستولی می گردد هرچند فعالیت مسیر اتوفاژیک قلب موش ها از طریق افزایش نسبت LC-II به LC3I به SQSTM1 به P62 و کاتپسین D، همچنین افزایش در واکوئل های اتوفاژیک و لیوزوزوم ها قابل اندازه گیری بود (۱۷). در حمایت از این مفهوم نشان داده شده است که ابتلا به بیماری دیابت از طریق مهار مسیر پیام رسانی PI3K-Akt باعث افزایش در میزان اتوفاژی می گردد این در حالی است که محققان اشاره کرده اند مسیر PI3K-Akt خود می تواند به عنوان هدف درمانی برای دیابت باشد (۱۸). در تناقض با یافته های مطالعه پیش رو مولز و همکاران چنین گزارش کردند که ژن های مرتبط با اتوفاژی (P62/SQSTM1 و Atg14) و بیان پروتئین های LC-II و Atg5 در عضلات اسکلتی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم کاهش قابل توجهی داشت (۱۹). فریزن و همکاران متعاقب بررسی پاسخ اتوفاژی به انجام فعالیت حاد باز کردن زانو بر روی پای تمرین کرده به مدت ۶۰ دقیقه با ۸۰٪ بار کاری اوج به کاهش در میزان لیپیداسیون LC3 به میزان ۵۰٪ و کاهش در نسبت LC-II به LC3I با کاهش در مقادیر اتوفاگوزوم ها در عضله پهن جانبی مردان سالم اشاره داشتند (۲۰). بیان بیش از حد MAP1B-LC1 از تشکیل ساختارهای LC3 مثبت جلوگیری کرد. همچنین تعامل بین MAP1B-LC1 و Stx17 توسط فسفوریلاسیون-دفسفوریلاسیون تنظیم می شود. دیابت باعث جدا شدن LC1 از Stx17 می شود و منجر به افزایش سریع اتوفاژی می شود (۲۱). اراسکی و همکارانش در پژوهشی به بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید با و بدون تجویز کافئین بر بیان پروتئین های مرتبط با اتوفاژی در موش های دیابتی پرداختند نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که تمرین تناوبی می تواند به عنوان یک راهکار پیشگیرانه باعث تعدیل اتوفاژی میوکاردی ناشی از دیابت شود (۲۱). چنین بیان نمودند که ابتلا به دیابت نوع دو باعث افزایش فعالیت اتوفاژی در قلب انسان از طریق افزایش در بیان نشانگر LC3 و بهبود در مسیر وابسته به مجموعه بکلین ۱ و کاهش در بیان پروتئین P62 رخ می دهد. (۴، ۲۲). محققان در حمایت از این مفهوم نشان داده شده است که ابتلاء به بیماری دیابت احتمالاً از طریق به عنوان مسیر بقاء سلولی موجب افزایش در میزان PI3K-Akt افزایش آشار پیام رسانی فعالیت اتوفاژی می گردد. مشخص شده است که اتوفاژی به عنوان یک شمشیر دولبه برای گسترش بقاء یا فعال کردن مرگ سلولی عمل می کند (۲۳) چنانچه نقص در فرآیند اتوفاژی همچون تحقیق حاضر

آنها در ورزش، عدم اندازه گیری ایزوفرم های مختلف، استفاده از روش های اندازه گیری متفاوت مانند وسترن بلات و الایزا در مطالعات آتی اشاره کرد.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز مکمل کروستین و تمرین تناوبی هوازی به مدت ۸ هفته باعث کاهش LC3 شد که تاییدی بر بهبود اتوفازی قلب موش های دیابتی سالمند می باشد علاوه بر این تجویز همزمان تناوبی هوازی و کروستین بیشترین تاثیر در کاهش LC3 قلب داشت. در مجموع مکمل کروستین با خواص آنتی اکسیدانی همراه با تمرین تناوبی هوازی باعث بهبود اتوفازی قلب در موش های دیابتی شد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش مطالعه حاضر در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (حوراسگان) مصوب شده است

حامی مالی

مطالعه حاضر حامی مالی نداشت مشارکت نویسندگان طراحی و ایده پردازی: خسرو جلالی، فرزانه تقیان، حسن شریفی روش شناسی و تحلیل داده ها حسن شریفی و خسرو جلالی؛ نظارت و نگارش نهایی: خسرو جلالی، فرزانه تقیان و حسن شریفی

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان مقاله حاضر فاقد هرگونه تعارض منافع بوده است

منجربه برهم خوردن تعادل هومئوستاز بافت ناشی از دیابت می شود. در مقابل، گزارش شده است که مهار اتوفازی در قلب موش های دیابتی نوع ۱ و ۲ خود ممکن است به درمان کاردیومیوپاتی دیابتی کمک نماید (۲۴).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین و مصرف مکمل کروستین باعث کاهش LC3 میوکاردی ناشی از دیابت شد. جعفری و همکارانش در پژوهشی به بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید با و بدون تجویز کافئین بر بیان پروتئین های مرتبط با اتوفازی در موش های دیابتی پرداختند نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که تمرین تناوبی می تواند به عنوان یک راهکار پیشگیرانه باعث تعدیل اتوفازی میوکاردی ناشی از دیابت شود (۲۵). تحقیقات اخیر نشان دادند که فعالیت بدنی منظم نه تنها به ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن کمک نموده بلکه سبب کاهش سطح استرس اکسیداتیو می گردد و احتمالاً با کاهش میزان آپوپتوز کمک زیادی به کاهش شدت این بیماری می کند. از طرفی دیگر فعالیت ورزشی نه تنها بایوژنز میتوکندری ها بلکه حذف میتوکندری های ناقص و قدیمی را از طریق پویایی میتوکندری و اتوفازی تحریک می کند (۲۶). کروستین با داشتن خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی بالای خود شرایط استرس اکسیداتیو و التهاب کاهش داده و با مهار آپوپتوز سبب بهبود این بیماری می گردد. به نظر می رسد که مصرف توام کروستین و تمرینات ورزشی منظم و تداومی از طریق کاهش پراکسیداسیون چربی و فعال سازی دفاع آنتی اکسیدانی از قلب در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می کند (۲۷).

محدودیت ها

با توجه به نقش ایزوفرم های LC3 در اتوفازی قلب و تاثیر پذیری

References

1. Khemka S, Reddy A, Garcia RI, Jacobs M, Reddy RP, Roghani AK, et al. Role of diet and exercise in aging, Alzheimer's disease, and other chronic diseases. *Ageing Research Reviews*. 2023;102091.
2. Kirby NV, Meade RD, Poirier MP, Notley SR, Sigal RJ, Boulay P, et al. Exercise intensity-and body region-specific differences in sweating in middle-aged-to-older men with and without type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2024.
3. Saberi S, Askaripour M, Khaksari M, Rajizadeh MA, Bejeshk MA, Akhbari M, et al. Exercise training improves diabetic renal injury by reducing fetuin-A, oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic rats. *Heliyon*. 2024;10(۶)
4. Wang L, Wang J, Cretoiu D, Li G, Xiao J. Exercise-mediated regulation of autophagy in the

- cardiovascular system. *Journal of Sport and Health Science*. 2020;9(3):203-10.
5. Xiao C, Chen M-Y, Han Y-P, Liu L-J, Yan J-L, Qian L-B. The protection of luteolin against diabetic cardiomyopathy in rats is related to reversing JNK-suppressed autophagy. *Food & Function*. 2023;14(6):2740-9.
6. Gao H, Yang Q, Dong R, Hou F, Wu Y. Sequential changes in autophagy in diabetic cardiac fibrosis. *Molecular medicine reports*. 2016;13(1):327-32.
7. Li R-Y, Guo L. Exercise in diabetic nephropathy: protective effects and molecular mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(7):3605.
8. Su X, Yuan C, Wang L, Chen R, Li X, Zhang Y, et al. The beneficial effects of saffron extract on potential oxidative stress in cardiovascular diseases.

- Oxidative medicine and cellular longevity. 2021;2021(1):6699821.
9. Liu J, Yang Y, Qi Y. Effect of saffron supplementation on the glycemic outcomes in diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Nutrition*. 2024;11:1349006.
10. Haghparast Azad M, Niktab I, Dastjerdi S, Abedpoor N, Rahimi G, Safaeinejad Z, et al. The combination of endurance exercise and SGTC (Salvia–Ginseng–Trigonella–Cinnamon) ameliorate mitochondrial markers' overexpression with sufficient ATP production in the skeletal muscle of mice fed AGEs-rich high-fat diet. *Nutrition & metabolism*. 2022;19(1):17.
11. Zhang J, Wang Y, Dong X, Liu J. Crocetin attenuates inflammation and amyloid- β accumulation in APPsw transgenic mice. *Immunity & Ageing*. 2018;15:1-8.
12. Forte M, Frati G, Sciarretta S. Regulation of calcium handling by autophagy: a novel mechanism limiting cardiac hypertrophy and dysfunction? : Oxford University Press; 2022. p. 1377-9.
13. Zhang L, Ding W-y, Wang Z-h, Tang M-x, Wang F ,Li Y, et al. Early administration of trimetazidine attenuates diabetic cardiomyopathy in rats by alleviating fibrosis, reducing apoptosis and enhancing autophagy. *Journal of translational medicine*. 2016;14:1-12.
14. Miyamoto S. Autophagy and cardiac aging. *Cell Death & Differentiation*. 2019;26(4):653-64.
15. Shi S, Jiang P. Therapeutic potentials of modulating autophagy in pathological cardiac hypertrophy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;156:113967.
16. Bonilla IM, Baine S, Pokrass A, Mariángelo JIE ,Kalyanasundaram A, Bogdanov V, et al. STIM1 ablation impairs exercise-induced physiological cardiac hypertrophy and dysregulates autophagy in mouse hearts. *Journal of Applied Physiology*. 2023;134(5):1287-99.
17. Kanamori H, Yoshida A, Naruse G, Endo S , Minatoguchi S, Watanabe T, et al. Impact of autophagy on prognosis of patients with dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2022;79(8):789-801.
18. Wan M, Yin K, Yuan J, Ma S, Xu Q, Li D, et al. YQFM alleviated cardiac hypertrophy by apoptosis inhibition and autophagy regulation via PI3K/AKT/mTOR pathway. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022;285:114835.
19. Møller AB, Kampmann U, Hedegaard J, Thorsen K, Nordentoft I, Vendelbo MH, et al. Altered gene expression and repressed markers of autophagy in skeletal muscle of insulin resistant patients with type 2 diabetes. *Scientific reports*. 2017;7(1):43775.
20. Fritzen AM, Madsen AB, Kleinert M, Treebak JT, Lundsgaard AM, Jensen TE, et al. Regulation of autophagy in human skeletal muscle: effects of exercise, exercise training and insulin stimulation. *The Journal of physiology*. 2016;594(3):745-61.
21. Arasaki K, Nagashima H, Kurosawa Y, Kimura H, Nishida N, Dohmae N, et al. MAP1B-LC1 prevents autophagosome formation by linking syntaxin 17 to microtubules. *EMBO reports*. 2018;19(8):e45584.
22. Roberts FL, Markby GR. New insights into molecular mechanisms mediating adaptation to exercise; A review focusing on mitochondrial biogenesis, mitochondrial function, mitophagy and autophagy. *Cells*. 2021;10(10):2639.
23. Ko J, Jang YC, Quindry J, Guttman R, Cosio-Lima L, Powers SK, et al. Exercise-Induced Antisenescence and Autophagy Restoration Mitigate Metabolic Disorder–Induced Cardiac Disruption in Mice. *Med Sci Sports Exerc*. 2023;55:376-88.
24. McCormick JJ, McManus MK, King KE, Goulet N, Kenny GP. The intensity-dependent effects of exercise and superimposing environmental heat stress on autophagy in peripheral blood mononuclear cells from older men. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2024;326(1):R29-R42.
25. Jafari A, ZARGHAMI KA, Nikookheslat S, KARIMI P. The Effect Of High-Intensity Interval Training (Hiit) With And Without Caffeine Injection On Expression Of Myocardial Autophagy-Related Proteins In Diabetic Rats. 2020.
26. Gharib M, Samani K, ZarrinĀbadi Z, Mokhtari M, Heydarian E. Effect of resveratrol supplementation on antioxidant parameters, lipids profile and several biochemical indices in type 2 diabetic patients: a double-blind randomized-controlled clinical trial. 2018.
27. Cerdá-Bernad D, Valero-Cases E, Pastor J-J, Frutos MJ. Saffron bioactives crocin, crocetin and safranal: Effect on oxidative stress and mechanisms of action. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2022.۴۹–۳۲۳۲:(۱۲)۶۲;