

The effect of one period of regular exercise training and atorvastatin drug on the expression of NF- κ B gene in heart tissue of diabetic rats

Maryam Ebrahimi ¹, Habib Asgharpour ^{*1}, Reza Rezaeeshirazi ², Parvin Farzanegi ³

¹ Department of Physical Education & Sports Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran.

² Department of Physical Education & Sports Sciences, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Received: 20 June 2023; Accepted: 31 October 2023

Abstract

Background and purpose: Type 2 diabetes accounts for more than 90% of diabetes cases in the world and its prevalence increases with age. Targeted inhibition of NF- κ B improves cardiac dysfunction in diabetic rats. The purpose of this research is to determine the effect of two types of exercise training (continuous and intermittent) with atorvastatin on the expression of NF- κ B gene in heart tissue of diabetic model rats.

Materials and methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats aged 6 to 8 weeks were randomly divided into 8 groups: 1) healthy control, 2) diabetic, 3) diabetic+ continuous training, 4) diabetic + intermittent training, 5) diabetic + atorvastatin; 6) diabetic + continuous training + atorstatin, 7) diabetic + intermittent training + atorvastatin and 8) saline. First, the induced diabetes model, then the rats of the training groups of two types of continuous and intermittent training were implemented for 8 weeks. Atorvastatin was injected intraperitoneally in the drug and drug+ training groups daily at a dose of 20 mg per kilogram of body weight.

Results: Induction of diabetes led to a significant increase in the expression of NF- κ B gene in the heart tissue of rats, and intermittent and continuous exercise and the use of atorvastatin led to a decrease in the expression of NF- κ B gene in the heart tissue of diabetic rats compared to the diabetic group.

Conclusion: There is a possibility that regular exercise alone and in combination with atorvastatin can prevent the development of diabetic cardiomyopathy through the reduction of NF- κ B gene and have a protective effect on the heart.

Key words: Continuous training, intermittent training, atorvastatin, diabetic cardiomyopathy, NF- κ B.

* Corresponding author: Habibasgharpour@gmail.com

اثر یک دوره تمرین منظم ورزشی و داروی آترواستاتین بر بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌های دیابتی

مریم ابراهیمی^۱، حبیب اصغرپور^{*}، رضا رضایی شیرازی^۱، پروین فرزانی^۲

^۱ گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران.

^۲ گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۹

چکیده

زمینه و هدف: دیابت نوع ۲، بیش از ۹۰ درصد از موارد دیابت در جهان را تشکیل می‌دهد و شیوع آن با افزایش سن افزایش می‌یابد، مهار هدفمند NF-κB باعث بهبود اختلال عملکرد قلب در رت‌های دیابتی می‌شود. هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر دو نوع تمرین (تداومی و تناوبی) همراه با مصرف داروی آترواستاتین بر بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌های مدل دیابتی بود.

مواد و روش: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۶ تا ۸ هفته، که در ۸ گروه به صورت تصادفی تقسیم بندی شدند: شامل (۱) کنترل سالم، (۲) دیابتی، (۳) دیابتی + تمرین تداومی، (۴) دیابتی + تمرین تناوبی، (۵) دیابتی + آترواستاتین؛ (۶) دیابتی + تداومی + آترواستاتین، (۷) دیابتی + تناوبی + آترواستاتین و (۸) سالمین بود. در ابتدا مدل دیابت القاء شد، سپس رت‌های گروه‌های تمرینی دو نوع تمرین تداومی و تناوبی را به مدت ۸ هفته اجرا نمودند. آترواستاتین در گروه‌های دارو و دارو + تمرین، به صورت روزانه با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد.

یافته‌ها: القای دیابت منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌ها شد، که انجام تمرین تناوبی و تداومی و مصرف داروی آترواستاتین منجر به کاهش بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌های دیابتی نسبت به گروه دیابتی گردید.

نتیجه‌گیری: این احتمال وجود دارد که فعالیت ورزشی منظم به‌تنهایی و در ترکیب با داروی آترواستاتین بتواند از طریق کاهش ژن NF-κB از توسعه کاردیومیوپاتی دیابتی جلوگیری نماید و دارای اثر حفاظتی بر قلب باشد.

کلمات کلیدی: تمرین تداومی، تمرین تناوبی، آترواستاتین، کاردیومیوپاتی دیابت، NF-κB.

مقدمه

نقشه جهانی دیابت در سال ۲۰۲۱ نشان داد، حدود ۵۳۷ میلیون بزرگسال بین سنین ۲۰ تا ۷۹ سال به دیابت مبتلا بودند. در همان سال، ۶٫۷ میلیون مرگ ناشی از دیابت بوده و حداقل ۹۶۶ میلیارد دلار هزینه‌های بهداشتی را در بر داشته است. دیابت نوع ۲، ۹۰ تا ۹۵ درصد از موارد دیابت در جهان را تشکیل می‌دهد و شیوع آن با افزایش سن افزایش می‌یابد. از آنجایی که جهان با چالش جمعیت سالخورده مواجه است، دیابت به یک بیماری شایع در افراد مسن تبدیل شده است (۱).

کاردیومیوپاتی دیابتی^۱ (DCM) یکی از شایع‌ترین عوارض در بیماران دیابتی به‌شمار می‌رود و اغلب به‌طور مستقل از بیماری عروق کرونر، فشار خون بالا یا سایر بیماری‌های قلبی عروقی رخ می‌دهد (۲). در دهه‌های اخیر، شیوع دیابت به‌طور قابل توجهی افزایش یافته و بیش از نیمی از موارد دیابت با DCM همزمان بوده است (۳). از آنجا که DCM به شیوع بیماری و مرگومیر کمک می‌کند (۴)، جلوگیری از پیشرفت آن برای درمان آن ضروری است. مطالعات قبلی نشان داد آپوپتوز کاردیومیوسیت نقش اساسی در پاتوژنز DCM داشته است (۵). افزایش آپوپتوز کاردیومیوسیت دلیل اصلی از دست دادن بافت انقباضی، بازسازی قلب و در نهایت اختلال عملکرد بود (۶). مطالعات هم‌چنین نشان دادند که مهار آپوپتوز کاردیومیوسیت باعث بهبود عملکرد قلب در موش‌های دیابتی شد (۷). بدین ترتیب مهار آپوپتوز یک استراژی درمانی بالقوه برای DCM است.

NF-κB، یک گروه (کمپلکس) پروتئینی کنترل‌کننده رونویسی DNA است، NF-κB تقریباً در تمام گونه‌های سلول‌های جانوری یافت می‌شود و درگیر و مسئول در پاسخ‌های سلولی به محرک‌هایی هم‌چون استرس، سیتوکین‌ها، رادیکال‌های آزاد، تابش‌های فرابنفش، LDL اکسیده و آنتی‌ژن باکتریایی یا ویروسی است (۸). مطالعات اخیر نشان دادند که فعال‌سازی مداوم مسیر سیگنالینگ NF-κB باعث بروز آپوپتوز در کاردیومیوسیت‌های کشت‌شده در گلوکز بالا می‌شود (۶، ۸) و مهار این مسیر باعث بهبود اختلال عملکرد قلب در رت‌های دیابتی می‌شود (۶). بنابراین، مهار هدفمند فعال‌سازی مداوم سیگنالینگ NF-κB ممکن است به‌طور موثر DCM را درمان کند. باین‌حال سازوکارهای اساسی این فعال‌سازی مداوم کاملاً شناخته نشده است. گولریا^۲ و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند سرکوب فعال‌سازی PP2Ac به فسفوریلاسیون IKK/IκBα پایدار و متعاقب آن انتقال هسته‌ای NF-κB کمک می‌کند و باعث شروع آپوپتوز در کاردیومیوسیت‌های تحت درمان با گلوکز بالا می‌شود (۸). صدیقی و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرین هوازی منظم با شدت متوسط می‌تواند باعث تعدیل برخی از عوامل مؤثر بر آپوپتوز بافت قلبی موش‌های صحرائی نر شود (۹).

در سال‌های اخیر، از تمرینات ورزشی به‌عنوان یک استراتژی غیردارویی برای کنترل دیابت و عوارض ناشی از آن استفاده شده است (۱۰، ۱۱). تمرینات ورزشی با کاهش ترشح سایتوکاین‌های التهابی و افزایش ترشح سایتوکاین‌های ضدالتهابی در کنترل بیماری‌های مرتبط با التهاب نظیر دیابت، نقش اساسی دارند (۱۲). توانبخشی قلبی ناشی از فعالیت ورزشی برای پیشگیری ثانویه از بیماری عروق کرونر یک مداخله غیردارویی مؤثر و شناخته‌شده می‌باشد. تمرین منظم ورزشی باعث بهبود عملکرد قلب در افراد مسن از طریق افزایش کسر تخلیه، برون‌ده قلبی و شاخص قلبی می‌شود (۱۳). اثر محافظت قلبی فعالیت ورزشی نه‌تنها عملکرد قلبی را بهبود می‌بخشد بلکه هم‌چنین به‌عنوان جایگزینی برای بهبود متابولیسم و عملکرد میتوکندری عمل می‌کند (۱۴). ون لیو^۳ و

¹ Diabetic cardiomyopathy

² Guleria

³ Hung-Wen Liu

همکاران (۲۰۱۸) طی پژوهشی نشان دادند که تمرین ورزشی با شدت متوسط با توقف سیگنالینگ NF- κ B، آتروفی عضله در موش‌های دیابتی را کاهش می‌دهد (۱۵). هم‌چنین یانگ شون وانگ^۱ و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تمرینات ورزشی از طریق بهبود اختلال عملکرد میتوکندری و حفظ هموستاز انرژی در پیشرفت کاردیومیوپاتی دیابت، عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد (۱۳). هم‌چنین آترواستاتین یا مهارکننده‌های ردوکتاز HMG-CoA (۳-هیدروکسی-۳-متیل گلووتاریل کوآنزیم A) که به نام استاتین-ها نیز شناخته می‌شوند، مولکول‌های کوچکی هستند که آنزیم کنترل کننده سرعت مسیر موالونات هستند (۱۶). استاتین‌ها به طور گسترده در درمان آترواسکلروز (۱۷) به دلیل توانایی آن‌ها در تنظیم سنتز کلسترول و واسطه‌های ایزوپرنوئید آن، گرانیل‌گرانیل پیروفسفات^۲ و فارنسیل پیروفسفات^۳ استفاده می‌شوند (۱۸). علاوه بر این، استاتین‌ها دارای تعدادی اثرات پلی‌تروپیک^۴ مستقل از کلسترول هستند (۱۹). به طور کلی، آن‌ها می‌توانند چندین عملکرد سلولی، از جمله پاسخ آسیب DNA، هموستاز سلولی، تکثیر، تمایز، بقای سلولی و مرگ سلولی را به دلیل دخالت تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌های سیگنال‌دهنده کلیدی Ras- و Rho-GTPases تعدیل کنند (۲۰). نشان داده شد که استاتین‌ها می‌توانند باعث آپوپتوز در سلول‌های تومور شوند (۲۱). حساسیت آن‌ها را به رادیوتراپی و داروهای ضد سرطان افزایش دهند و از فرآیندهای متاستاتیک در داخل بدن جلوگیری کنند (۱۶). استاتین‌ها هم‌چنین می‌توانند سلول‌های نرمال مختلف را در برابر سیس‌پلاتین، دوکسوروبیسین و آسیب ناشی از تشعشعات یونیزان به دلیل فعال کردن سیگنال دهی JNK/SAPK و NF- κ B در شرایط *in vitro* (۲۲) و *in vivo* (۲۳) محافظت کنند. علاوه بر این، استاتین‌ها می‌توانند ترمیم آسیب اکسیداتیو DNA را در سلول‌های ماهیچه صاف عروق از طریق تحریک مسیر ان بروموسوکینیمید^۵ (NBS) ترویج کنند (۱۶). به علت فقدان مطالعات بر پایه‌ی جمعیت‌شناسی و مسائل غیرتهاجمی قابل اعتماد داده‌های اپیدمیولوژیک صحیح در دسترس نیست. لذا پیدا کردن راه‌حل‌های خلاقانه با توجه به شیوع بیماری دیابت امری ضروری به نظر می‌رسد. هم‌چنین، مکانیسم‌های اساسی که فعالیت ورزشی، داروی آترواستاتین و ترکیبی از هر دو مداخله عملکرد قلب را در کاردیومیوپاتی دیابتی بهبود می‌بخشد کاملاً مشخص نیست. لذا این پژوهش بنا دارد بررسی نماید که آیا تمرین منظم ورزشی، داروی آترواستاتین و ترکیبی از هر دو مداخله بر بیان ژن NF- κ B بافت قلب رت‌های مدل دیابتی اثر دارد یا خیر؟

مواد و روش

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۶ تا ۸ هفته بودند که در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به صورت تصادفی انتخاب و وارد پژوهش شدند. سپس آن‌ها در ۸ گروه به صورت تصادفی تقسیم بندی شدند که شامل (۱) کنترل سالم، (۲) دیابتی، (۳) دیابتی+تمرین تداومی، (۴) دیابتی + تمرین تناوبی، (۵) دیابتی+ آترواستاتین، (۶) دیابت+تداومی+آترواستاتین، (۷) دیابت+تناوبی+آترواستاتین و (۸) سالین بود. این مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تأیید شد. این پژوهش برگرفته از رساله دکتری با کد ۱۶۲۲۹۰۰۶۹ می‌باشد.

¹ Shawn Yongshun Wang

² Geranylgeranyl pyrophosphate

³ Farnesyl pyrophosphate

⁴ Pleiotropic

⁵ N-Bromosuccinimide

محیط پژوهش و تغذیه آزمودنی‌ها

پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 55 ± 5 درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب قرار گرفتند. آزمودنی‌ها دارای جیره غذایی پر چرب به روش زو^۱ و همکاران (۲۰۰۶) داشتند که امولسیون هر روز صبح به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن به صورت گاوآژ دریافت کرد (۲۴). در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در دسترس آنها بود.

نحوه دیابتی کردن رت‌ها

پس از گروه بندی موش‌ها برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد که به صورت درون صفاقی به آن‌ها تزریق شد و برای اطمینان از دیابتی بودن موش‌ها، از گوشه چشم نمونه‌های خونی تهیه شد و میزان گلوکز سنجش، که بالاتر از ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته شدند.

پروتکل تمرین ورزشی

قبل از شروع پروتکل اصلی، به‌منظور آشنایی آزمودنی‌ها به تمرین، به‌مدت یک هفته با تواتر پنج جلسه و به‌مدت پنج دقیقه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر به فعالیت پرداختند. برنامه تمرینی شامل دو پروتکل تمرین تداومی و تناوبی بود. برنامه تمرین تداومی در هفته اول با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه برای مدت زمان پنج دقیقه اجرا شد، سپس هر هفته ۱ تا ۲ متر بر دقیقه به سرعت و ۱ تا ۲ دقیقه بر زمان دویدن افزوده شد. به طوری که در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان دویدن به ۱۳ تا ۱۴ دقیقه رسید و در هفته هشتم سرعت دویدن به ۲۸ تا ۲۹ متر بر دقیقه و مدت زمان ۲۱ تا ۲۲ دقیقه رسید. تعداد جلسات تمرین تداومی پنج مرتبه در هر هفته انجام شد (جدول ۱). از سویی دیگر برنامه تمرین تناوبی شامل شش ست ۲/۵ دقیقه ای بود که بین هر ست مدت زمان چهار دقیقه استراحت در نظر گرفته شد (۹). لازم به ذکر است تمرین تناوبی برای مدت ۵ جلسه در هفته انجام شد (جدول ۱). هم‌چنین موش‌های گروه کنترل بدون هیچ‌گونه تمرینی هشت هفته را پشت سر گذاشتند.

¹ Zou

جدول ۱. پروتکل تمرین تداومی و تناوبی

تمرین	هفته	سرعت (متر/دقیقه)	مدت (دقیقه)
تداومی	۱-۲	۱۴-۱۶	۵-۷
	۳-۴	۲۱-۱۹	۱۲-۱۰
	۵-۶	۲۵-۲۳	۱۷-۱۵
	۷-۸	۲۸-۲۹	۲۲-۲۱
تناوبی	۱-۲	۱۴-۱۶	۶ ست ۵/۲ دقیقه ای
	۳-۴	۱۹-۲۱	*
	۵-۶	۲۵-۲۴	*
	۷-۸	۲۹-۲۸	*

نحوه مصرف آترواستاتین

آترواستاتین در گروه های دارو و دارو+تمرین، به صورت روزانه با دوز ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به آن ها تزریق شد (۲۵).

نحوه جداسازی نمونه های بافتی

پس از اتمام دوره تمرینی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی با ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین و زایلازین رت ها بی هوش شدند و نمونه گیری بافتی انجام شد. بدین ترتیب بافت قلب آنها جدا و در محیط ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری و سپس به آزمایشگاه برای اندازه گیری متغیرهای NF-κB ارسال شد. بافت با استفاده از یک میلی مول محلول تریزول لیز و با دستگاه همگن کننده بافت، هموژن شد. در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲۵ میلی لیتر کلروفرم صورت گرفت. RNA استخراج شده با یک میلی لیتر اتانول سرد ۷۰ درصد شستشو و خشک شدند. سپس به آن آب استریل (۱/۵ میکرولیتر بر میلی گرم بافت) اضافه شد. برای سنج کمی RNA استخراج شده از دستگاه بیوفتومر با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده است. استخراج cDNA برای هر نمونه سه مرحله ساخت cDNA انجام گرفت. بدین ترتیب که در ابتدا ۸ میکروگرم از RNA استخراج شده را با ۰/۸ میکرولیتر از آنزیم Dnase I و ۲ میکرولیتر از بافر ۱۰x آن و آب DEPC خورده مخلوط کرده و حجم نمونه به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. محصول ایجاد شده را بدون ورتکس کردن و به آرامی مخلوط کرده و سپس با برنامه ریز در دستگاه ترموسایکر انکوبه شد: ۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد، ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد، ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد. پس از اتمام مراحل ترموسایکلر ۲۸۰ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد و برای استفاده در QPCR در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای هر نمونه cDNA نیز، یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر b2m به عنوان کنترل داخلی، برای آزمون حضور cDNA تهیه شد. نمونه ها به آرامی و بدون ورتکس مخلوط شده و در دستگاه RT-PCR با برنامه ریز PCR قرار گرفتند. ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد، واکنش از مرحله دوم به بعد، برای ۴۰ سیکل تکرار شد. Cts مربوط به واکنش ها توسط نرم افزار دستگاه RT-PCR استخراج و در نهایت CT Mean سه مرتبه ثبت شد. پرایمرهای

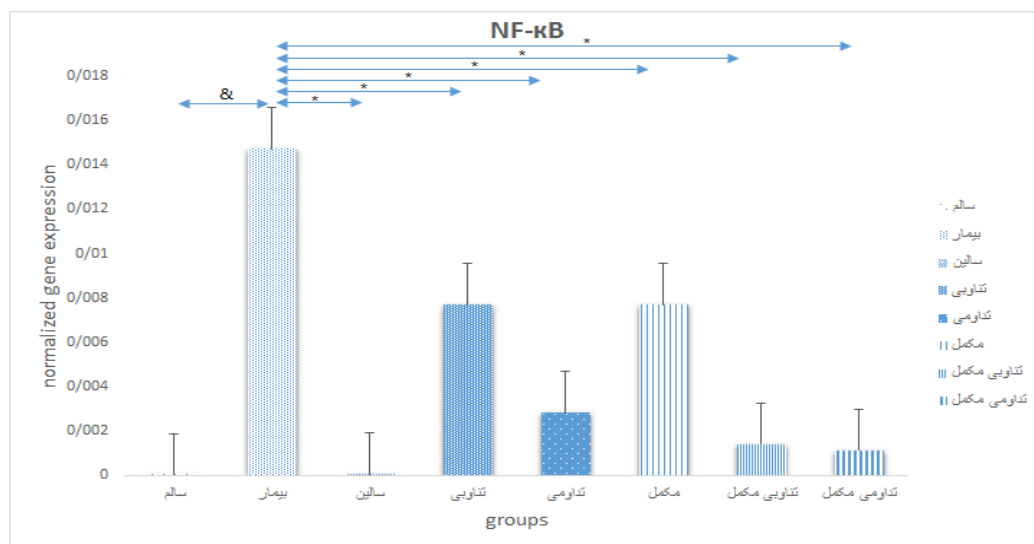
مورد استفاده در این پژوهش در جدول آورده شده است. کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف مورد نظر از فرمول ۲ به توان منفی $\Delta\Delta CT$ استفاده شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت طبقه‌بندی داده‌های حاصل از این پژوهش، از آمار توصیفی استفاده شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده گردید. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها و تعامل بین آنها از تحلیل واریانس یک طرفه و در صورت معنی دار بودن داده‌ها برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. یافته‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P \leq 0.05$) بررسی شدند و برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نیز از نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۲۰ استفاده گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند.

یافته‌ها

نتایج تحلیل واریانس یک طرفه بر سطوح NF-κB گروه‌های مختلف پژوهش نشان‌دهنده آن است که؛ ارزش F محاسبه شده (۴۱/۸۳۷) و معنی داری آن در سطح $P=0.000$ حاکی از وجود تفاوت معنی داری بین سطوح NF-κB در گروه‌های مختلف پژوهش است. جدول تعقیبی توکی نشان داد که القای دیابت منجر به افزایش معنی دار بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌ها نسبت به گروه کنترل سالم شد ($P=0.000$)، که انجام تمرین تناوبی ($P=0.0001$) و تداومی ($P=0.0005$) منجر به کاهش معنی دار بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی گردید. آترواستاتین به‌تنهایی ($P=0.005$) و در ترکیب با تمرینات تداومی ($P=0.0008$) و تناوبی ($P=0.0009$) سبب کاهش معنی دار این ژن نسبت به گروه دیابت گردید (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه میانگین سطوح NF-κB در گروه‌های مختلف پژوهش

* تغییرات معنی دار نسبت به گروه بیمار & تغییرات معنی دار نسبت به گروه سالم

بحث

دیابت منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌ها نسبت به گروه کنترل سالم شد، که انجام تمرین تناوبی و تداومی منجر به کاهش بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی گردید، که این کاهش در گروه تمرین تداومی معنی‌دار بود و به مقادیر گروه کنترل سالم نزدیکتر بود.

NF-κB جزو فاکتور رونویسی هسته‌ای است که کدگذاری ژن‌های مختلف از جمله فاکتورهای التهابی را کنترل می‌کند (۲۶). فعال‌شدن NF-κB نقش مهمی را در فرایندهای التهابی، پاسخ‌های ایمنی و مرگ سلولی به‌واسطه اتصال به پروموتور ژن‌های مختلف مانند TNF-α، IL-1β و سیکلواکسیژناز ۲ بازی می‌کند (۲۷). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که در پی نوروپاتی دیابتی در مدل‌های آزمایشی سطح فاکتورهای آپوپتوزی از جمله NF-κB در بافت عصبی افزایش می‌یابد (۲۸). در رت‌های دیابتی شده بیان NF-κB در گانگلیون ریشه پشتی افزایش می‌یابد که همراه با نوروپاتی محیطی است (۲۹). هایپرگلیسمی یکی از عوارض دیابت است که با افزایش تشکیل ROS و AGE^۱ سبب فعال‌سازی NF-κB می‌شود (۳۰). هم‌چنین، چن^۲ و همکاران (۲۰۱۱) و استلر^۳ و همکاران (۲۰۱۴) فعال‌سازی سیگنالینگ NF-κB را با افزایش تخریب پروتئین عضله و با اختلال در تنظیم هموستاتیک توده عضلانی در دیابت مرتبط دانستند (۳۱، ۳۲). هم‌چنین افزایش سطح اینترلوکین‌ها و سایتوکاین‌هایی مانند TNF-α و IL-1β در پاسخ به فعال‌سازی NF-κB سبب تشدید نوروپاتی و افزایش حساسیت به درد در نوروپاتی دیابتی می‌شود (۲۷)، بنابراین بکارگیری عواملی که می‌تواند تولید یا فعال‌سازی آن‌ها را مهار کند، ممکن است سبب تأخیر یا توقف عوارض ناشی از دیابت شوند. لذا در این پژوهش افزایش بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌های دیابتی ممکن است سبب القای آپوپتوز و توسعه کاردیومیوپاتی گردد. انجام تمرینات تناوبی و تداومی بیان ژن NF-κB بافت قلب رت‌های دیابتی را کاهش داد که ممکن است از این طریق از پیشرفت کاردیومیوپاتی جلوگیری نماید. هم‌راستا با این مطالعه تقی‌آبادی و همکاران (۲۰۱۹) کاهش میزان بیان ژن NF-κB در بافت قلبی رت‌های دارای هایپرگلیسمی در پی ۸ هفته تمرین هوازی را گزارش کردند (۱۱). هم‌چنین، یک‌دوره تمرین هوازی باعث کاهش بیان و میزان فعالیت NF-κB در عضلات اسکلتی (۳۳) و بافت ریه‌ی (۳۴) موش‌های صحرایی دیابتی گردید. هم‌چنین، در پژوهشی توسط ون لیو و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده شد که فعالیت ورزشی با شدت متوسط با توقف سیگنالینگ NF-κB آتروفی عضله در موش‌های دیابتی را کاهش می‌دهد (۱۵). به‌نظر می‌رسد کاهش مشاهده شده در بیان ژن NF-κB مربوط به کاهش HMGB1، AGEها و آنزیم NADPH اکسیداز به دنبال تمرینات ورزشی باشد. مشخص شده است که تحت تأثیر فعالیت‌های ورزشی هوازی میزان فعالیت آنزیم NADPH اکسیداز در بافت قلبی رت‌های دیابتی (۳۵) و میزان AGEها نیز در گردش خون موش‌های مسن (۳۶) کاهش می‌یابد. از طرفی کاهش پروتئین HMGB1 نیز به دنبال تمرینات ورزشی مورد تأیید قرار گرفته است (۱۱، ۳۷). بررسی‌ها نشان می‌دهد که HMGB1 و AGEها با اتصال به گیرنده‌های خود از طریق مسیرهای مختلف باعث فعال‌سازی NF-κB در بافت‌های مختلف بیماران دیابتی می‌شوند (۳۸). همین‌طور، نقش NADPH اکسیداز از طریق تولید گونه‌های اکسیژن فعال در ترشح و انتقال هسته‌ای NF-κB مشخص شده است (۳۹). از این‌رو، به‌نظر می‌رسد کاهش موارد مذکور به دنبال تمرینات ورزشی، در کاهش میزان بیان ژن NF-κB تأثیرگذار باشند. در این پژوهش تمرینات تداومی اثر بهتری نسبت به تمرینات تناوبی به‌جای گذاشت، لذا این تمرینات در آزمودنی‌های دیابتی می‌تواند با تأثیر بر سیگنالینگ NF-κB

¹ Advanced glycation end-products

² Chen

³ Ostler

از پیشرفت کاردیومیوپاتی دیابتی جلوگیری نماید. از محدودیت‌های پژوهش عدم اندازه‌گیری سیگنالینگ پایین دست NF-κB، ژن‌های خانواده BCL-2 و همچنین کاسپاز به علت هزینه‌های مالی بالا می‌باشد، شاید اندازه‌گیری این عوامل درک بهتری از اثر محافظتی فعالیت ورزشی در پیشگیری از پیشرفت کاردیومیوپاتی ارائه می‌کند. همچنین طول دوره‌ی تمرینی از دیگر محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌باشد، دوره‌های طولانی‌تر تمرین برای بررسی سازگاری ناشی از فعالیت ورزشی بر مسیرهای آپوپتوز قلبی دقیق‌تر می‌باشد.

دیگر نتیجه پژوهش کاهش ژن NF-κB بافت قلب رت‌های دیابتی در اثر مصرف داروی آترواستاتین به‌تنهایی و در ترکیب با تمرین ورزشی بود. افزودن داروی آترواستاتین به فرایند درمان همراه با تمرین منظم ورزشی، باعث بهبود قابل ملاحظه میزان آسیب در بافت قلب موش‌های دیابتی شده است. از طرف دیگر، با توجه به اینکه میزان بهبودی در گروه آترواستاتین، کمتر از گروه ترکیبی (آترواستاتین+تمرین) بوده است، بنابراین می‌توان بخشی از بهبودی میزان آسیب در گروه ترکیبی به اثرات مفید تمرین ورزشی منظم نسبت داد که به نظر می‌رسد در حضور داروی آترواستاتین بروز کرده است، نشان داده شده است که داروی استاتینی علاوه بر کاهش کلسترول LDL، دارای اثرات گسترده‌ای بر عملکرد عروقی هستند. این اثرات شامل کاهش اندوتلین-1 گردش خون، کاهش فعالیت عصبی سمپاتیک و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن است. استاتین‌ها به‌عنوان اتساع‌دهنده‌های عروقی عمل می‌کنند و باعث افزایش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی (eNOS)، تولید نیتریک اکساید (NO) و در نتیجه بهبود عملکرد اندوتلیال می‌شوند (۲۵). همچنین نشان داده شده است که این داروها باعث اعمال اثرات ضدالتهابی، ضداکسیدانی، رگ‌زایی و پیشگیری از توسعه عوارض ناشی از دیابت بر بافت قلب می‌گردند (۴۰). ژیانو مین^۱ و همکاران یافتند که (۱) غیرفعال‌سازی مداوم PP2Ac، ناشی از GSK-3β فعال‌شده، در کاردیومیوسیت‌های تحت درمان با گلوکز بالا منجر به فعال‌سازی مداوم مسیر سیگنالینگ NF-κB و شروع آپوپتوز می‌شود. (۲) فسفوریلاسیون IKK/IκBα و انتقال هسته‌ی NF-κB در کاردیومیوسیت‌های تحت درمان با گلوکز بالا به‌طور قابل توجهی مهارشده بودند و آپوپتوز توسط درمان با آترواستاتین از طریق غیرفعال‌سازی GSK-3β و متعاقب آن فعال‌سازی PP2Ac کاهش یافت. (۳) فعال‌سازی GSK-3β، فسفوریلاسیون IKK/IκBα و انتقال هسته‌ی NF-κB، اما نه فعال‌سازی PP2Ac در آزمودنی‌های دیابتی تحت درمان با آترواستاتین سرکوب شد. ناهنجاری‌های بافت‌شناسی، فیبروز، آپوپتوز و اختلال عملکرد قلب هم‌چنین توسط تجویز آترواستاتین در آزمودنی‌های دیابتی بهبود یافته بود (۴۱).

آترواستاتین یک مهارکننده‌ی ردوکتاز HMG-CoA است و به‌عنوان داروی کاهنده‌ی کلسترول استفاده می‌شود. در مطالعات اخیر، این دارو پیشرفت DCM تجربی را، احتمالاً با اثر حفاظتی در برابر آپوپتوز، و مستقل از خواص کاهش‌دهنده‌ی کلسترول کاهش داد (۴۲). اثرات ضد آپوپتوتیک و محافظت قلبی آترواستاتین با مهار فعال‌سازی پایدار سیگنالینگ NF-κB توضیح داده می‌شود (۴۱).

اثرات ضد جهش‌زایی استاتین‌ها برای انواع مختلف سلول (سلول‌های تخمدان همستر چینی، سلول‌های HeLa، رده سلولی فیبروبلاست اولیه موش BK4، سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسانی، سلول‌های عضله صاف عروق انسان) که در معرض عوامل مختلف آسیب DNA قرار دارند، توصیف می‌شود، از جمله اشعه ماوراء بنفش و یونیزان و ترکیبات شیمیایی (سیس پلاتین، دوکسوروبیسین، اتوپوزید). توضیح داده شد که استاتین‌ها شامل مهار ایزوپرنیلاسیون پروتئین و به‌دنبال آن کاهش مسیرهای سیگنال دهی JNK/SAPK و NF-κB از طریق غیرفعال‌سازی Ras- و Rho-GTPases هستند (۴۳). استاتین‌ها هم‌چنین

¹ Xiao-min

می‌توانند از طریق تنظیم مسیر سیگنالینگ p53 و جلوگیری از فعال شدن Chk-1 (۴۴)، تشکیل شکستن رشته DNA را مختل کنند، آپوپتوز را با تنظیم مثبت بیان ترومبومودولین^۱ و افزایش فعال سازی پروتئین C کاهش دهند و ترمیم آسیب اکسیداتیو DNA را از طریق تحریک مسیر NBS تقویت کنند (۴۰).

نتیجه‌گیری

در اثر القای دیابت بیان ژن NF-κB بافت قلب افزایش معنی‌داری یافت، اما انجام تمرینات تداومی و تناوبی به‌همراه مصرف داروی آترواستاتین این روند رو برعکس و به سطح بیان ژن گروه کنترل سالم نزدیک کرد. لذا این احتمال وجود دارد که فعالیت ورزشی منظم در ترکیب با مصرف داروی آترواستاتین به‌تواند از طریق کاهش ژن NF-κB بافت قلب و مهار مسیر سیگنالینگ NF-κB از توسعه کاردیومیوپاتی که در اثر القای دیابت به‌وجود آمده، جلوگیری نماید و دارای اثر حفاظتی بر قلب رت‌های دیابتی باشد. ضمن اینکه تمرین ورزشی و داروی آترواستاتین دارای اثر هم‌افزایی بودند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1402.040 انجام شد. بدین‌وسیله، نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی اعلام می‌دارند.

منابع

1. Zhang, H., Zhang, Y., Sheng, S., Xing, Y., Mou, Z., Zhang, Y., ... & Jing, Q. (2023). Relationship Between Physical Exercise and Cognitive Impairment Among Older Adults with Type 2 Diabetes: Chain Mediating Roles of Sleep Quality and Depression. *Psychology Research and Behavior Management*, 817-828. [Doi: 10.2147/PRBM.S403788]
2. Ouyang, C., You, J., & Xie, Z. (2014). The interplay between autophagy and apoptosis in the diabetic heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 71, 71-80. [Doi: 10.1016/j.yjmcc.2013.10.014]
3. Somaratne, J. B., Whalley, G. A., Poppe, K. K., ter Bals, M. M., Wadams, G., Pearl, A., ... & Doughty, R. N. (2011). Screening for left ventricular hypertrophy in patients with type 2 diabetes mellitus in the community. *Cardiovascular diabetology*, 10(1), 1-8. [Doi: 10.1186/1475-2840-10-29]
4. Bertoni, A. G., Tsai, A., Kasper, E. K., & Brancati, F. L. (2003). Diabetes and idiopathic cardiomyopathy: a nationwide case-control study. *Diabetes care*, 26(10), 2791-2795. [Doi: 10.2337/diacare.26.10.2791]
5. Cai, L., & Kang, Y. J. (2003). Cell death and diabetic cardiomyopathy. *Cardiovascular toxicology*, 3, 219-228. [Doi: 10.1385/CT:3:3:219]
6. Pan, Y., Wang, Y., Zhao, Y., Peng, K., Li, W., Wang, Y., ... & Liang, G. (2014). Inhibition of JNK phosphorylation by a novel curcumin analog prevents high glucose-induced inflammation and apoptosis in cardiomyocytes and the development of diabetic cardiomyopathy. *Diabetes*, 63(10), 3497-3511. [Doi: 10.2337/db13-1577]

¹ thrombomodulin

7. Chen, S. L., Hu, Z. Y., Zuo, G. F., Li, M. H., & Li, B. (2014). I (f) current channel inhibitor (ivabradine) deserves cardioprotective effect via down-regulating the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and attenuating apoptosis in diabetic mice. *BMC Cardiovascular Disorders*, 14, 1-10. [Doi: 10.1186/1471-2261-14-150]
8. Nizamutdinova, I. T., Guleria, R. S., Singh, A. B., Kendall Jr, J. A., Baker, K. M., & Pan, J. (2013). Retinoic acid protects cardiomyocytes from high glucose-induced apoptosis through inhibition of NF-κB signaling Pathway. *Journal of cellular physiology*, 228(2), 380-392. [Doi: 10.1002/jcp.24142]
9. Sadighi, A., Abdi, A., Azarbayjani, M. A., & Barari, A. (2019). Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats. *KAUMS Journal (FEYZ)*, 23(5), 495-502. [Available from: <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3792-en.html>] [In Persian]
10. Sharma, A., Tate, M., Mathew, G., Vince, J. E., Ritchie, R. H., & De Haan, J. B. (2018). Oxidative stress and NLRP3-inflammasome activity as significant drivers of diabetic cardiovascular complications: therapeutic implications. *Frontiers in physiology*, 9, 114. [Doi: 10.3389/fphys.2018.00114]
11. Hoseinabadi, H. T., Esfarjani, F., Marandi, S. M., & Karami, H. (2019). Effects of eight weeks of aerobic training on expression levels of the HMGB1-RAGE/TLR4-NF-κB proinflammatory pathway in cardiac tissue of male rats with hyperglycemia. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 20(5). [Available from: <http://ijem.sbm.ac.ir/article-1-2477...>] [In Persian]
12. Gleeson, M., Bishop, N. C., Stensel, D. J., Lindley, M. R., Mastana, S. S., & Nimmo, M. A. (2011). The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature reviews immunology*, 11(9), 607-615. [Doi: 10.1038/nri3041]
13. Wang, S. Y., Zhu, S., Wu, J., Zhang, M., Xu, Y., Xu, W., ... & Liu, J. (2020). Exercise enhances cardiac function by improving mitochondrial dysfunction and maintaining energy homeostasis in the development of diabetic cardiomyopathy. *Journal of Molecular Medicine*, 98, 245-261. [Doi: 10.1007/s00109-019-01861-2]
14. Seo, D. Y., Lee, S., Figueroa, A., Kwak, Y. S., Kim, N., Rhee, B. D., ... & Han, J. (2012). Aged garlic extract enhances exercise-mediated improvement of metabolic parameters in high fat diet-induced obese rats. *Nutrition Research and Practice*, 6(6), 513-519. [Doi: 10.4162/nrp.2012.6.6.513]
15. Liu, H. W., & Chang, S. J. (2018). Moderate exercise suppresses NF-κB signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1α Axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. *Frontiers in physiology*, 9, 636. [Doi: 10.3389/fphys.2018.00636]
16. Sinitsky, M., Asanov, M., Sinitskaya, A., Shishkova, D., Khutornaya, M., Minina, V., & Ponasenko, A. (2023). Atorvastatin Can Modulate DNA Damage Repair in Endothelial Cells Exposed to Mitomycin C. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6783. [Doi: 10.3390/ijms24076783]
17. Koh, K. K. (2000). Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovascular research*, 47(4), 648-657. [Doi: 10.1016/S0008-6363(00)00146-2]
18. Winter-Vann, A. M., & Casey, P. J. (2005). Post-prenylation-processing enzymes as new targets in oncogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 5(5), 405-412. [Doi: 10.1038/nrc1612]

19. Wang, C. Y., Liu, P. Y., & Liao, J. K. (2008). Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends in molecular medicine*, *14*(1), 37-44. [Doi: 10.1016/j.molmed.2007.11.004]
20. Efimova, E. V., Ricco, N., Labay, E., Mauceri, H. J., Flor, A. C., Ramamurthy, A., ... & Kron, S. J. (2018). HMG-CoA reductase inhibition delays DNA repair and promotes senescence after tumor irradiation. *Molecular cancer therapeutics*, *17*(2), 407-418. [Doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0288]
21. Graaf, M. R., Richel, D. J., van Noorden, C. J., & Guchelaar, H. J. (2004). Effects of statins and farnesyltransferase inhibitors on the development and progression of cancer. *Cancer treatment reviews*, *30*(7), 609-641. [Doi: 10.1016/j.ctrv.2004.06.010]
22. Nilsson, S., Huelsenbeck, J., & Fritz, G. (2011). Mevalonate pathway inhibitors affect anticancer drug-induced cell death and DNA damage response of human sarcoma cells. *Cancer letters*, *304*(1), 60-69. [Doi: 10.1016/j.canlet.2010.12.022]
23. Haydont, V., Bourcier, C., Pocard, M., Lusinchi, A., Aigueperse, J., Mathé, D., ... & Vozenin-Brotans, M. C. (2007). Pravastatin Inhibits the Rho/CCN2/extracellular matrix cascade in human fibrosis explants and improves radiation-induced intestinal fibrosis in rats. *Clinical cancer research*, *13*(18), 5331-5340. [Doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0625]
24. Zou, Y., Li, J., Lu, C., Wang, J., Ge, J., Huang, Y., ... & Wang, Y. (2006). High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life sciences*, *79*(11), 1100-1107. [Doi: 10.1016/j.lfs.2006.03.021]
25. Zeng, H., & Liu, Z. (2019). Atorvastatin induces hepatotoxicity in diabetic rats via oxidative stress, inflammation, and anti-apoptotic pathway. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, *25*, 6165. [Doi: 10.12659/MSM.915790]
26. Amirpour-najafabadi, B., Gholami, M., Zarie, P., Hossieni, S., & Sadegh, M. (2018). Effect of sodium valproate on adjusting increased hippocampal levels of NF-KB, S100B and GFAP following alloxan induced diabetes. *SJKU*, *23*(5), 78-87. [Available from: <http://sjku.muk.ac.ir/article-1-3586-fa.html>]
27. Kempuraj, D., Thangavel, R., Natteru, P. A., Selvakumar, G. P., Saeed, D., Zahoor, H., ... & Zaheer, A. (2016). Neuroinflammation induces neurodegeneration. *Journal of neurology, neurosurgery and spine*, *1*(1). [PMCID: PMC5260818] [PMID: 28127589]
28. Jia, D., Heng, L. J., Yang, R. H., & Gao, G. D. (2014). Fish oil improves learning impairments of diabetic rats by blocking PI3K/AKT/nuclear factor-κB-mediated inflammatory pathways. *Neuroscience*, *258*, 228-237. [Doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.11.016]
29. Zhang, H. H., Hu, J., Zhou, Y. L., Qin, X., Song, Z. Y., Yang, P. P., ... & Xu, G. Y. (2015). Promoted interaction of nuclear factor-κB with demethylated purinergic P2X3 receptor gene contributes to neuropathic pain in rats with diabetes. *Diabetes*, *64*(12), 4272-4284. [Doi: 10.2337/db15-0138]
30. Oyenih, A. B., Ayeleso, A. O., Mukwevho, E., & Masola, B. (2015). Antioxidant strategies in the management of diabetic neuropathy. *Biomed Res Int*, *2015*(515042), 515042. [Doi: 10.1155/2014/515042]
31. Chen, G. Q., Mou, C. Y., Yang, Y. Q., Wang, S., & Zhao, Z. W. (2011). Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes. *Life sciences*, *89*(1-2), 44-49. [Doi: 10.1016/j.lfs.2011.04.018]
32. Ostler, J. E., Maurya, S. K., Dials, J., Roof, S. R., Devor, S. T., Ziolo, M. T., & Periasamy, M. (2014). Effects of insulin resistance on skeletal muscle growth and exercise capacity in type 2

33. diabetic mouse models. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 306(6), E592-E605. [Doi: 10.1152/ajpendo.00277.2013]
34. Liu, H. W., & Chang, S. J. (2018). Moderate exercise suppresses NF-κB signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1α Axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. *Frontiers in physiology*, 9, 636. [Doi: 10.3389/fphys.2018.00636]
35. Fashi, M., Agha-Alinejad, H., Mahabadi, H. A., Rezaei, B., Pakrad, B. B., & Rezaei, S. (2015). The effects of aerobic exercise on NF-κB and TNF-α in lung tissue of male rat. *Novelty in Biomedicine*, 3(3), 131-134. [Doi: 10.22037/nbm.v3i3.8001] [In Persian]
36. Sharma, N. M., Rabeler, B., Zheng, H., Raichlin, E., & Patel, K. P. (2016). Exercise training attenuates upregulation of p47 phox and p67 phox in hearts of diabetic rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016. [Doi: 10.1155/2016/5868913]
37. Gu, Q., Wang, B., Zhang, X. F., Ma, Y. P., Liu, J. D., & Wang, X. Z. (2014). Contribution of receptor for advanced glycation end products to vasculature-protecting effects of exercise training in aged rats. *European Journal of Pharmacology*, 741, 186-194. [Doi: 10.1016/j.ejphar.2014.08.017]
38. Giallauria, F., Cirillo, P., D'agostino, M., Petrillo, G., Vitelli, A., Pacileo, M., ... & Vigorito, C. (2011). Effects of exercise training on high-mobility group box-1 levels after acute myocardial infarction. *Journal of cardiac failure*, 17(2), 108-114. [Doi: 10.1016/j.cardfail.2010.09.001]
39. Wu, H., Sheng, Z. Q., Xie, J., Li, R., Chen, L., Li, G. N., ... & Xu, B. (2016). Reduced HMGB 1-mediated pathway and oxidative stress in resveratrol-treated diabetic mice: a possible mechanism of cardioprotection of resveratrol in diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. [Doi: 10.1155/2016/9836860]
40. Clark, R. A., & Valente, A. J. (2004). Nuclear factor kappa B activation by NADPH oxidases. *Mechanisms of ageing and development*, 125(10-11), 799-810. [Doi: 10.1016/j.mad.2004.08.009]
41. Yarahmadi, S., Farahmandian, N., Fadaei, R., Koushki, M., Bahreini, E., Karima, S., ... & Fallah, S. (2023). Therapeutic potential of resveratrol and atorvastatin following high-fat diet uptake-induced nonalcoholic fatty liver disease by targeting genes involved in cholesterol metabolism and miR33. *DNA and cell biology*, 42(2), 82-90. [Doi: 10.1089/dna.2022.0581]
42. Ren, X. M., Zuo, G. F., Wu, W., Luo, J., Ye, P., Chen, S. L., & Hu, Z. Y. (2016). Atorvastatin alleviates experimental diabetic cardiomyopathy by regulating the GSK-3β-PP2Ac-NF-κB signaling axis. *PLoS One*, 11(11), e0166740. [Doi: 10.1371/journal.pone.0166740]
43. Abdel-Hamid, A. A., & Firgany, A. E. D. L. (2015). Atorvastatin alleviates experimental diabetic cardiomyopathy by suppressing apoptosis and oxidative stress. *Journal of molecular histology*, 46, 337-345. [Doi: 10.1007/s10735-015-9625-4]
44. Gnad, R., Kaina, B., & Fritz, G. (2001). Rho GTPases are involved in the regulation of NF-κB by genotoxic stress. *Experimental cell research*, 264(2), 244-249. [Doi: 10.1006/excr.2001.5165]
45. Damrot, J., Nübel, T., Epe, B., Roos, W. P., Kaina, B., & Fritz, G. (2006). Lovastatin protects human endothelial cells from the genotoxic and cytotoxic effects of the anticancer drugs doxorubicin and etoposide. *British journal of pharmacology*, 149(8), 988-997. [Doi: 10.1038/sj.bjp.0706953]