

## مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال هشتم، شماره دوم؛

پاییز و زمستان ۱۴۰۰؛ صفحات ۶۱-۶۹

مقاله پژوهشی

Open Access

## اثرات ۸ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی به همراه مصرف مکمل رزوراترول بر بیان ژن‌های Beclin-

## 1 و LC3I-II بافت قلب رت‌های نر دیابتی

سیده زلیخا هاشمی چاشمی<sup>۱\*</sup>، سوری حیدری<sup>۲</sup>، خسرو جلالی دهکردی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۰



با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت [www.jahssp.azaruniv.ac.ir/](http://www.jahssp.azaruniv.ac.ir/) مشاهده کنید

## چکیده

**هدف:** کاردیومیوپاتی دیابتی عارضه‌ای از دیابت نوع دو است که می‌تواند منجر به اتوفازی سلولی عضله قلب از طریق پروتئین‌های Beclin-1 و LC3 شود. هدف از این پژوهش بررسی اثرات ۸ هفته تمرین تداومی و تناوبی هوازی به همراه مصرف مکمل رزوراترول بر بیان ژن‌های Beclin-1 و LC3 بافت قلب رت‌های نر دیابتی بود. **روش شناسی:** به این منظور تعداد ۵۶ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین (سن ۵۰-۴۰ هفته و وزن ۳۷۳-۴۳۰ گرم) به طور تصادفی به ۸ گروه (n=۷) کنترل (C)، دیابتی (D)، سالی (S)، رزوراترول (Sup)، تمرین تداومی (E)، تمرین تناوبی (HIIT)، تمرین تداومی/مکمل (E+Sup)، تمرین تناوبی/ رزوراترول (HIIT+Sup) تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام شد. رت‌های تمرین تداومی سه روز در هفته به مدت ۸ هفته و با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه تمرین کردند. پروتکل تمرین تناوبی نیز شامل ۱۰ ست یک دقیقه‌ای با شدت ۵۰ درصد و دو دقیقه استراحت بین ست‌ها بود و با سرعت ۱۴ متر در دقیقه شروع و هر هفته دو متر در دقیقه به سرعت افزوده شد. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دو راهه در سطح  $\alpha \leq 0.05$  تحلیل شدند. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد Beclin-1 و LC3 در گروه القای دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه (C) سالم داشت ( $P=0.001$ ). در مقایسه با گروه دیابتی، گروه دیابتی+تمرین+مکمل افزایش معنی‌داری را در Beclin-1 و LC3 نشان داد ( $P=0.001$ ). **نتیجه‌گیری:** تمرینات ورزشی به همراه مصرف مکمل رزوراترول می‌تواند باعث افزایش فاکتورهای اتوفازی Beclin-1 و LC3 شود که موجب مهار آپوپتوز و کاهش آسیب بافت قلب در بیماران دیابتی می‌شود.

## واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، رزوراترول، دیابت، Beclin-1، LC3I-II

**نحوه ارجاع:** سیده زلیخا هاشمی چاشمی، سوری حیدری، خسرو جلالی دهکردی. "اثرات ۸ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی به همراه مصرف مکمل رزوراترول بر بیان ژن‌های Beclin-1 و LC3I-II بافت قلب رت‌های نر دیابتی". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۰؛ ۸(۲): ۶۹-۶۱

این مقاله با تبعیت از مجوز CC By 4.0 با دو شرط استناد به نویسنده و استفاده برای مقاصد غیرتجاری به طور رایگان در دسترس می‌باشد. استفاده، توزیع، بازتولید محتوای آن فقط برای اهداف غیرتجاری مجاز است و در غیر این صورت باید از سازنده اثر اجازه گرفته شود.

حق چاپ متعلق به نویسندگان و امتیاز انتشار آن متعلق به مجله "مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش" است که توسط دانشگاه شهید مدنی آذربایجان منتشر می‌شود.

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

DOI: 10.22049/JAHSSP.2021.27432.1391

DOR: 20.1001.1.26766507.1400.8.2.8.4



Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

## Effects of 8 weeks of continuous and intermittent aerobic training with resveratrol supplementation on Beclin-1 and LC3I-II genes expression in heart tissue of diabetic male rats

Seyede Zolaikha Hashemi Chashmi<sup>1\*</sup>, Souri Haidari<sup>2</sup>, Khosro Jalali Dehkordi<sup>3</sup>

Receive 2021 October 2 ; Accepted 2021 November 24

### Abstract

**Aim:** Diabetic cardiomyopathy is a complication of type 2 diabetes that can lead to myocardial cell autophagy through Beclin-1 and light chain 3 proteins. The aim of this study was to evaluate the effects of 8 weeks of continuous and intermittent aerobic exercise with resveratrol supplementation on Beclin-1 and LC3 gene expression in the heart tissue of diabetic male rats. **Methods:** For this purpose, 56 male Wistar rats with mean (age 40-50 weeks and weight 430-373 g) were randomly divided into 8 groups (n = 7) control (C), diabetic (D), saline (S), Resveratrol (Sup), Continuous exercise (E), Interval exercise (HIIT), Continuous exercise/Supplement (E+Sup), Interval exercise/Resveratrol (HIIT+Sup). Diabetes was diagnosed by intraperitoneal injection of streptozotocin at a dose of 50 mg / kg body weight. Continuous training rats trained three days a week for 8 weeks at a speed of 15 meters per minute. The intermittent training protocol also included 10 one-minute sets with an intensity of 50% vo<sub>2</sub>max on the treadmill and two minutes of rest between sets, starting at 14 meters per minute and increasing rapidly by two meters per minute each week. Data were analyzed using two-way analysis of variance at the  $\alpha$  ( $\alpha \leq 0.05$ ) level. **Results:** The results showed that Beclin-1 and LC3 in the diabetic induction group had a significant decrease compared to the healthy control group (P = 0.001). Compared with the diabetic group, the diabetic + exercise + supplement group showed a significant increase in Beclin-1 and LC3 (P = 0.001). **Conclusion:** Exercise combined with resveratrol supplementation can increase Beclin-1 and LC3 autophagy factors" which inhibit apoptosis and reduce heart tissue damage in diabetics.

**Keywords:** Aerobic exercise, Resveratrol, Diabetes, Beclin-1, lc3.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit [jahssp.azaruniv.ac.ir](http://jahssp.azaruniv.ac.ir)

1. Assistant Prof., Dept. of Exercise Physiology, Payame Noor University, Tehran, Iran.(Corresponding Author):  
Email: z\_hch@yahoo.com

2. Instructor, Dept. of Exercise Physiology, Payame Noor University, Tehran Iran.

3. Dept of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan Iran.

**Cite as:** Seyede Zolaikha Hashemi Chashmi, Souri Haidari, Khosro Jalali Dehkordi: " Effects of 8 weeks of continuous and intermittent aerobic training with resveratrol supplementation on Beclin-1 and LC3I-II genes expression in heart tissue of diabetic male rats". Applied Health Studies in Sport Physiology. 2021; 8 (2),61-69.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. © 2021 The Authors. JAHSSP published by Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

DOI: 10.22049/JAHSSP.2021.27432.1391

DOR: 20.1001.1.26766507.1400.8.2.8.4



## مقدمه

احتمالی مرتبط با آن‌ها هستند. در این راستا در سال‌های اخیر تاثیرات مدل‌های تغذیه‌ای مانند رزوراترول به عنوان دارویی چند عملکردی بر فرایندهای اتوفاژی این رویداد مهم سلولی توجه بسیاری از محققان را به سوی خود جلب کرده است (۹). رزوراترول که یک پلی فنل طبیعی و فیتوالکسین است که در طبیعت از گیاهان در مقابل قارچ‌ها محافظت می‌کند. با پیشرفت مطالعات حیوانی اثرات رزوراترول بر بیماری‌های مختلفی کشف شد و نشان داده شد که از سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت، آسیب ایسکمیک و آلزایمر جلوگیری می‌کند و دارای طیف گسترده‌ای از خواص بیولوژیک است (۱۰).

اما فعالیت بدنی هم در مقابل بیماری‌های قلبی-عروقی راه حل کاربردی مناسبی به شمار می‌رود که باعث کاهش عوامل خطرزای قلبی، جلوگیری از تخریب میوکارد و افزایش عملکرد قلب می‌شود (۱۱). در سال‌های اخیر تمرینات ورزشی به عنوان یک مداخله‌ی ورزشی موثر شناخته شده است که می‌تواند منافع مشابه و بیشتری با شدت‌های متفاوت به همراه داشته باشد. همچنین به عنوان محرکی قوی برای سازگاری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود. سازگاری سلولی با فعالیت بدنی می‌تواند به عوامل سلولی و مولکولی مربوط باشد و با ایجاد هیپرتروفی و تجدید کاردیومیوسیت‌ها منجر به رشد قلبی شود (۱۲-۱۴). اتوفاژی طی تمرین ورزشی برای محدود کردن آسیب بافتی و بازگرداندن یکپارچگی بافت، موجب خاتمه دادن پاسخ‌های التهابی و ایجاد سیگنال‌های مستقیم برای سازگاری می‌شود. مسیرهای اتوفاژی توسط پروتئین‌های تغییر یافته/ اندامک با هدف حفظ و بازیافت منابع سلولی فعال می‌شوند (۱۵). جوکار و همکاران با بررسی ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوی پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 در بافت عضله قلب رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان دادند که تمرین تناوبی باعث کاهش FOXO3a و Beclin-1 در کاردیومیوسیت‌های دیابتی شد (۱۶). با توجه به اثرات مثبت فیزیولوژیکی تمرینات ورزشی، تاثیر احتمالی مکمل رزوراترول و همچنین نقش احتمالی این مداخلات در بهبود عملکرد قلبی مبنی بر تحریک بیان ژن‌های Beclin-1، LC31 و LC3II، تصور می‌شود که احتمالاً ترکیب مداخلات تمرین هوازی+تناوبی+مکمل رزوراترول و همچنین تمرین هوازی تناوبی+مکمل رزوراترول می‌توانند نقش موثرتری را در بهبود بیان ژن‌های Beclin-1، LC31 و LC3II در رت‌های نر دیابتی نوع دو داشته باشند. بنابراین پژوهش حاضر از لحاظ بررسی تاثیر تمرین و مصرف مکمل رزوراترول بر وضعیت اتوفاژی کاردیومیوسیت‌های رت نژاد ویستار نوآوری دارد و نتایج آن می‌تواند از لحاظ کاربردی حائز اهمیت باشد.

## روش شناسی

تعداد ۵۶ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین سنی ۴۰ تا ۵۰ هفته‌ای با میانگین وزن ۳۷۳-۴۳۰ گرم شرکت داشتند. دمای محیط  $20 \pm 2$  درجه سانتیگراد و

کاردیومیوسیت‌های دیابتی یک نوع بیماری قلبی است که در افراد دیابتی سبب التهاب و ضعف عضلات قلب، بیماری‌هایی مانند آترواسکلروز و فشار خون بالا می‌شود. با این حال سازوکار دقیق مرگ سلولی در کاردیومیوسیت‌های دیابتی هنوز مشخص نیست (۱). اتوفاژی فرآیندی است که در آن وزیکول‌های با غشا دو لایه می‌توانند پروتئین‌ها و اندامک‌های آسیب دیده را برای تخریب، به لیزوزوم انتقال دهند و انرژی تولید کنند (۲). علاوه بر این اتوفاژی یک فرآیند کاتابولیکی درون سلولی است که مواد سیتوپلاسمی مانند مولکول‌های استفاده نشده و پاتوژن مهاجم را به صورت وابسته در لیزوزوم تخریب می‌کند. یکی از مسیرهای مهم در کاردیومیوسیت‌های قلبی مسیر FOXO3a/Beclin-1 است (۳). بیماری دیابت می‌تواند از طریق این مسیر منجر به اتوفاژی سلولی در سلول‌های قلب شود. یکی از پروتئین‌های کلیدی در بحث اتوفاژی پروتئین Beclin است. پروتئین Beclin یک جزء اصلی از کمپلکس Beclin/PIK3 و یک کمپلکس لیپید کیناز درگیر در اتوفاژی هسته است. این پروتئین با پروتئین‌های BCL-2 یا PI3K کلاس III در تعامل است و نقش مهمی در تنظیم اتوفاژی و مرگ سلولی ایفا می‌کند (۴). تغییر در سطوح پروتئین Beclin-1 قلب در بسیاری از شرایط بیماری مشاهده شده است. این پروتئین در مرحله آغازین اتوفاژی با تشکیل غشای ایزوله یک ساختار دو غشایی ایجاد کرده و مواد سیتوپلاسمی را درگیر می‌کند تا اتوفاژی تشکیل شود. Beclin-1 یک مولکول کلیدی در کنترل فعالیت اتوفاژی است و فعالیت آن توسط سازوکارهای متعددی تنظیم می‌شود با این حال Beclin-1 با تنظیم اتوفاژی و آپوپتوزی نقش مهمی را به عنوان چهار راه مرگ سلولی ایفا می‌کند (۵) در واقع اتوفاژی شامل تشکیل وزیکول دو غشایی است که سیتوپلاسم و ارگانل‌ها را احاطه می‌کند و سپس با لیزوزوم ادغام می‌شود. بنابراین محتوای لیزوزوم را تخریب می‌کند. حدود ۳۰ ژن ویژه اتوفاژی را تنظیم می‌کنند که از بین این ژن‌ها LC3 I نقش مهمی در اتوفاژی پستانداران ایفا می‌کند و معمولاً به عنوان نشانگر تشکیل اتوفاگوزوم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶) LC3 یعنی اتصال LC3 به فسفاتیدیل اتانول آمین است. برخلاف LC3 (یا LC3-1)، LC3-II بر روی غشای اتوفاگوزوم باقی می‌ماند و بنابراین به کارگیری آن به عنوان مارکر خاص اتوفاژی مناسب است. پس از کامل شدن وزیکول، Atg4 ترکیب LC3-II از غشای بیرونی اتوفاگوزوم در فرآیندی به نام دکنتروگاسیون حذف می‌کند، اما LC3-II همراه غشای داخلی اتوفاگوزوم باقی می‌ماند و به این ترتیب تا حدی پس از ادغام لیزوزوم تجزیه می‌شود (۷). لیانگ و همکاران چنین گزارش کردند که ژن‌های مرتبط با اتوفاژی (Atg 14 و p62/SQSTM1) و بیان پروتئین‌های LC3-II و Atg5 در عضلات اسکلتی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ کاهش قابل توجهی داشت (۸) بنابراین پژوهشگران همواره به دنبال اتخاذ راهکارهای مناسب برای تعدیل مرگ سلولی مختل شده و یا افزایش یافته و آسیب‌های



دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتی‌فیوژ شدند. نهایتاً نمونه‌های حاصل سریعاً در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شده تا برای بررسی‌های بعدی جهت اندازه‌گیری بیومارکرهای اتوفازی مورد مطالعه قرار گیرند.

### ارزیابی‌های بافتی

پس از ۸ هفته، کلیه رت‌ها با تزریق محلول کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلارین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش و سپس کشته شدند سپس بافت عضله قلبی از بدن حیوان برداشته شد و در سرم شست و شو قرار گرفت و بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد شده برای سنجش‌های بعدی با دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد (۲۲).

### بررسی مولکولی بافت عضله قلب با روش Real Time PCR

جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیژن، آلمان) انجام شد. برای این کار، میزان ۲۰۰ لاندای کبازول به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- انکوبه شد و به منظور لیز شدن نمونه‌ها میزان ۱۰۰ لاندای کلروفورم به مدت ۱ دقیقه به آنها اضافه شد. محلول حاصل، با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتی‌فیوژ گردید. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود به آرامی برداشته و در یک میکروتیوب DEPC شده قرار داده شد. ۱ سی سی ایزوپروپانول بر روی RNA شفاف ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه به هم زده شد. نمونه‌ها در سانتی‌فیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس مایع رویی دور ریخته شد و روی رسوب آن ۱ سی سی الکل ۷۰ درصد اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتی‌فیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. مایع رویی تخلیه گردید و پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد. میزان ۲۰ لاندای آب مقطر ۶۰ درجه بر روی پلاک ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه بر روی صفحه‌ی ۶۰ درجه قرار داده شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل ساخت cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده ( Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. درجه خلوص RNA به کمک دستگاه NonoDrop و با روش اسپکتروفتومتری بر اساس جذب نور در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین میزان غلظت RNA نمونه‌ها در بازه 500-765 ng/μL بوده است. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های Beclin-1 و LC3 و GAPDH در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکروژن انجام شد. از ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. بیان ژن‌ها به وسیله روش  $\Delta\Delta CT2$  انجام شده است که میزان فولد چنگ را نشان می‌دهد (۲۳). در ابتدا نمونه‌ها در بافر ۷/۰ در دمای چهار درجه سانتی

چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت  $5 \pm 55$  درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند و به طور تصادفی به ۸ گروه (n:۷) کنترل (C)، دیابتی (D)، سالی (S)، رزواترول (Sup)، تمرین تداومی (E)، تمرین تناوبی (HIIT)، تمرین تداومی/مکمل (E+Sup)، تمرین تناوبی/رزواترول (HIIT+Sup) تقسیم شدند. نحوه دیابتی کردن رت‌ها به این صورت بود که به دلیل مسن بودن رت‌ها داروی استریتوزوتوسین با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد و با بررسی نمونه خون از گوشه چشم و گلوکز ناشتایی بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر از دیابتی بودن مطمئن شدیم (۱۷). قبل از شروع پروتکل اصلی، آزمودنی‌های گروه تمرین و گروه رزواترول/تمرین به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت با تردمیل، در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. پروتکل تمرین تداومی ۸ هفته انجام شد که در هفته آغازین با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه، زمان ۵ دقیقه شروع و هر جلسه به سرعت، ۱ تا ۲ متر بر دقیقه و به زمان نیز ۲ تا ۴ دقیقه افزوده شد به طوری که در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان به ۶۰ دقیقه رسید. بعد از هفته چهارم شدت و مدت تمرین تا هفته آخر ثابت ماند (۱۸). پروتکل تمرین تناوبی شامل ۱۰ ست یک دقیقه‌ای با شدت ۵۰ درصد  $vo_{2max}$  و دو دقیقه استراحت بین ست‌ها بود و با سرعت ۱۴ متر در دقیقه شروع و هر هفته دو متر در دقیقه به سرعت افزوده می‌شد (۱۸) میزان ۱ گرم پودر رزواترول (شرکت نوترابو آمریکا، با درجه فارماکولوژی و خلوص ۹۹/۸۷ درصد) با غلظت ۱۰ mg/ml به عنوان استوک ساخته شد. برای هر بار تجویز، ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۷ درصد یا ۱۰ درصد در آب به ازاء هر رت تهیه شده و رزواترول را در آن معلق نموده و سپس تجویز شد (۱۹، ۲۰) به منظور کاهش خطا برای کلیه آزمودنی‌ها محلول به صورت یکجا تهیه شد. در گروه‌های مکمل و مکمل/تمرین/رزواترول با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه راس ساعت ۹ صبح به صورت درون صفاقی به مدت ۸ هفته تزریق شد.

مصرف مکمل رزواترول بر اساس پژوهش‌های قبلی تهیه شد (۲۱). برای هر بار تجویز رزواترول، ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۷ درصد یا دی ۱ متیل سولفوکساید ۱۰ درصد با آب به ازاء هر رت تهیه و رزواترول را در آن معلق نموده و تجویز شد. برای کاهش درصد خطا برای کلیه آزمودنی‌ها محلول به صورت یکجا تهیه شد و در گروه‌های مکمل و مکمل/تمرین با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به مدت ۸ هفته به آنان تزریق شد. نمونه‌گیری بافت قلبی پس از اتمام دوره تحقیق، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۴-۱۲ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات، با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلارین کشته شدند. نمونه‌های قلبی جدا و در داخل فسفات بافر سالی  $PH=7$  در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هموژنیزه شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ rpm با



نتایج مطالعه حاضر که در جدول ۳ آمده است، نشان داد بیان ژنی **Beclin-1**، **LC3II** و **LC3I** در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت ( $p = 0/001$ ) این در حالی بود که در گروه‌های دیابتی با مداخله تمرین تناوبی و تناوبی و مکمل رزوراترول (به صورت جداگانه) تغییرات معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ).

جدول ۳ نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه در شاخص‌های اتوفازژی در مقایسه با گروه دیابتی، سالیین و کنترل، گروه تمرین تناوبی + رزوراترول افزایش معنی‌داری را در **Beclin-1** نشان داد ( $p = 0/001$ ). گروه تمرین تناوبی + رزوراترول افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه تناوبی، تناوبی و مکمل افزایش معنی‌دار داشت ( $p = 0/001$ ). علاوه بر این در مقایسه با گروه دیابتی، سالیین و کنترل، گروه تمرین تناوبی + رزوراترول، افزایش معنی‌داری را در **Beclin-1** نشان داد ( $p = 0/001$ ). گروه تمرین تناوبی + رزوراترول در مقایسه با گروه تناوبی، تناوبی و مکمل افزایش معنی‌دار داشت ( $p = 0/001$ ). همچنین گروه دیابتی و سالیین نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری در **Beclin-1** نشان داد ( $p = 0/001$ ). بین تمرین تناوبی + رزوراترول با گروه تمرین تناوبی + رزوراترول در **Beclin-1** تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $p = 0/2$ ) (شکل ۲).

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه در شاخص‌های اتوفازژی

| متغیرها  | عامل              | F      | سطح معناداری |
|----------|-------------------|--------|--------------|
| Beclin-1 | تمرین             | ۱۵/۳۶۳ | ۰/۰۰۰۱       |
|          | رزوراترول         | ۸۵/۶۳۹ | ۰/۰۰۰۱       |
|          | تمرین * رزوراترول | ۳/۹۷۸  | ۰/۰۲         |
| LC3II    | تمرین             | ۹۵/۰۵۱ | ۰/۰۰۰۱       |
|          | رزوراترول         | ۹۶/۶۰۱ | ۰/۰۰۰۱       |
|          | تمرین * رزوراترول | ۲/۱۰۴  | ۰/۰۳         |
| LC3I     | تمرین             | ۵۰/۳۴۱ | ۰/۰۰۰۱       |
|          | رزوراترول         | ۹۵/۱۵۰ | ۰/۰۰۰۱       |
|          | تمرین * رزوراترول | ۳/۹۵۵  | ۰/۰۴         |

گردد با هم‌وزنیزه کننده همگن شدند. کل RNAها از بافت با استفاده از کیت RNA-PLUS (SinaClon RN7713) استخراج شدند. ساخت cDNA با استفاده از کیت cDNA شرکت Thermo science آلمان طبق دستورالعمل شرکت سازنده در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت انجام شد. بیان ژن‌های مورد نظر با روش PCR Real-Time و با دستگاه RealQ-PCR 29 Mater Mix Kit (Amplicon دانمارک) در ۴۰ سیکل انجام شد. برای هر نمونه از هر بافت دو میکروتیوب در نظر گرفته شد. به این معنی که هر نمونه به صورت دوگانه یا duplicate ارزیابی شد.

جدول ۱. پروتکل دستگاه گرمایی ریل تایم آر تی پی سی آر

| No. of cycles  | temperature | time |
|----------------|-------------|------|
| دنا توره اولیه | 95          | 5min |
| 32 سیکل        | 95          | 30s  |
|                | ۶۰          | 30s  |
|                | 72          | 30s  |
| اکستشن انتهایی | 72          | 5min |

جدول ۲. توالی پرایمرها

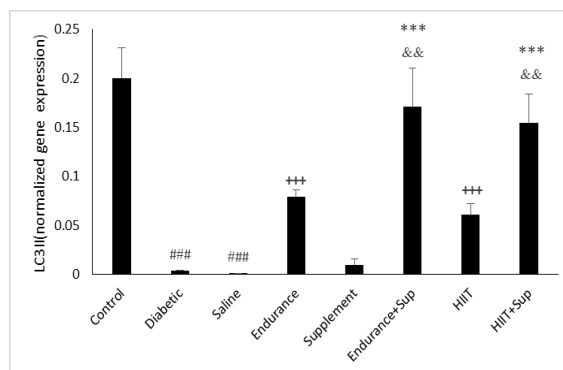
| شماره شناسایی   | ژن های   | 5 هدف  | 3 | محل توالی                              | اندازه محصول |
|-----------------|----------|--|---|--|--------------|
| NM_012 675.3    | Beclin-1 | Forward<br>CAAGATCCTGGACCGTGTC<br>A<br>Reverse<br>GGCACTTCTGTGGACATC<br>ATC    |   | 279-<br>298<br>445-<br>468             | ۱۹۰          |
| NM_031 512.2    | LC3-1    | Forward<br>TACAGCAGATACGCGACC<br>AG<br>Reverse<br>TTCACCAGCAGGAAGAAG<br>GC     |   | 177-<br>196<br>350-<br>369             | ۱۹۳          |
| NM_001 031461.1 | LC3-11   | Forward<br>AGGTGTACGAGACGAGA<br>AGGAC<br>Reverse<br>TACTGAGAGCGTAGGTGA<br>CATC |   | 177-<br>196<br>350-<br>369             | ۲۰۰          |
| XM_017 593963.1 | GAPDH    | Forward<br>ACACCCACTCCTCCACCTT<br>TG<br>Reverse<br>TCCACCACCTGTGCTGT<br>AG     |   | 1087<br>-<br>1109<br>1178<br>-<br>1200 | ۱۱۲          |

پس از تأیید نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک، برای تعیین معنادار بودن تفاوت میانگین متغیرهای پژوهش، از آزمون آنالیز واریانس دوراهه استفاده شد. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، به وسیله نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ در سطح معناداری حداقل  $P \leq 0/05$  تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

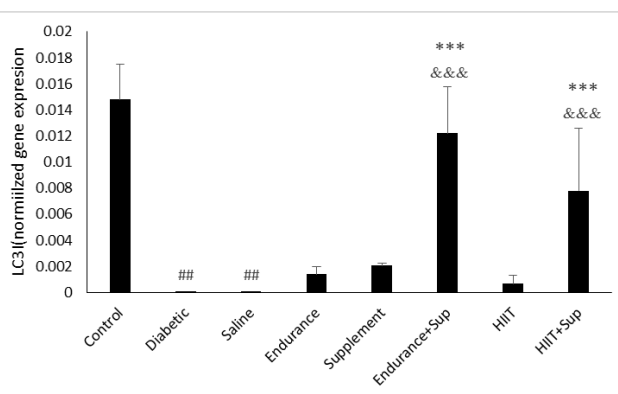


براین گروه‌های دیابتی با مداخله تمرین تداومی و تناوبی همراه با مکمل رزوراترول (به طور جداگانه) تغییرات معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نشان دادند. فرایند پیری و کاهش عملکرد جسمانی به همراه سبک زندگی غیر فعال به ویژه در سنین بالا، دسته از افراد را بیشتر از بقیه افراد جامعه در معرض بیماری‌هایی مانند دیابت نوع ۲ قرار می‌دهد (۲۴). کاردیومیوپاتی دیابتی یکی از مهم‌ترین عوارض ناشی از دیابت نوع ۲ است و آن را به عنوان بیماری ویژه‌ی عضله‌ی قلب می‌دانند. در این عارضه هرگونه اختلال غیرعادی در گلوکز پلاسما و میزان انسولین، سلول‌های عضله‌ی قلبی را مستعد مرگ سلولی می‌کند (۲۵). براند و همکاران به بررسی تاثیر تمرینات ورزشی در نشانگرهای اتوفاژی (پروتئین Beclin-1) در عضله اسکلتی پرداختند تمرینات ورزشی به مدت ۸ هفته دوچرخه‌سواری با شدت متوسط همراه با ۳۰ ثانیه سرعت هر ۱۰ دقیقه تمرین متوسط ۳۰ ثانیه سرعت انجام می‌شد) بود محتوای پروتئین Beclin-1 در زمان قبل، شروع و پایان تمرینات ورزشی اندازه‌گیری شد. در گروه تمرینات دوچرخه‌سواری مداوم با شدت متوسط محتوای پروتئین Beclin-1 در زمان شروع و پایان تمرین ورزشی نسبت به زمان قبل از تمرین ورزشی افزایش معناداری را نشان داد، اما در گروه تمرین دوچرخه سواری با شدت متوسط همراه با ۳۰ ثانیه سرعت، تغییر معنی‌داری در محتوای پروتئین Beclin-1 مشاهده نشد (۲۵). نتایج تحقیق برند و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا می‌باشد. این احتمال وجود دارد که تمرینات ورزشی می‌تواند فرایند اتوفاژی را تغییر دهند. اگر اتوفاژی تنظیم شود، می‌تواند از طریق تخریب پروتئین‌های دناتوره شده و تولید اسیدهای آمینه در سلول‌های میوکارد زمینه‌ی اصلی رشد و بقای میوکارد را و ایسکمی میوکارد را فراهم کند. ایسکمی میوکارد می‌تواند اتوفاژی را برای حفظ سطح ATP در سلول‌ها القا کند، بنابراین متابولیسم و عملکرد انرژی میوکارد را حفظ کرده و بقای سلول میوکارد را تقویت می‌کند. میوکارد غنی از میتوکندری است در حالی که محیط نامطلوب می‌تواند منجر به آسیب میتوکندری شود بنابراین فاکتورهای آپوپتوزی را آزاد کرده و باعث آپوپتوز می‌شود (۲۶). در تحقیقی دیگر کیم و همکاران به بررسی اتوفاژیک به تمرینات ورزشی در عضله اسکلتی در رت‌های مسن و جوان پرداختند. تمرین به مدت ۸ هفته با سرعت ۱۶/۴ متر در دقیقه با شیب ۵ درجه به مدت ۴۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته اجرا شد. محتوای Beclin-1 در هر دو گروه جوان و پیر تمرین دیده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته است اما این کاهش در عضله دوقلو معنی‌دار نبود (۲۷). نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق حاضر ناهمسو بود. مسیر پروتئین‌های Beclin-1 توسط سازوکارهای تنظیمی پیچیده‌ای تنظیم می‌شود که می‌توان به سیگنال‌های ورودی گوناگون از جمله مواد مغذی، فاکتورهای رشدی، هورمون‌ها، غلظت کلسیم داخل سلولی، میزان ATP، هیپوکسی باشد. مسیر اصلی تنظیم کننده این عوامل مسیر MTORC1 است که در پاسخ‌های سلولی مانند رشد، تکثیر، سنتز پروتئین و اتوفاژی فعال



شکل ۳. سطوح بیان ژنی LC3II در بافت قلب رت‌های نر در گروه‌های تحقیق

کنترل (Control)، دیابتی (Diabetic)، سالی (Saline)، رزوراترول (Supplement)، تمرین تداومی (Endurance)، تمرین تناوبی (HIIT)، تمرین تداومی/مکمل (Endurance+Supplement)، تمرین تناوبی/رزوراترول (HIIT+Sup) (P≤۰/۰۰۱)\*\*\* افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های Diabetic، Control، Saline و Supplement. && (P≤۰/۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های HIIT، Endurance و Supplement. +++ (P≤۰/۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های Diabetic و Saline. #### (P≤۰/۰۰۱) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه (Control)



شکل ۴. سطوح بیان ژنی LC3I در بافت قلب رت‌های نر در گروه‌های تحقیق

کنترل (C)، دیابتی (D)، سالی (S)، رزوراترول (Sup)، تمرین تداومی (E)، تمرین تناوبی (HIIT)، تمرین تداومی/مکمل (E+Sup)، تمرین تناوبی/رزوراترول (HIIT+Sup) (P≤۰/۰۰۱)\*\*\* افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های Diabetic، Control، Saline و Supplement. && (P≤۰/۰۱) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های HIIT، Endurance و Supplement. #### (P≤۰/۰۰۱) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه (Control)

### بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر بیان‌کننده تخریب بافتی و به هم‌ریختگی انسجام سلول‌های کاردیومیوسیت همراه با کاهش ژن‌های Beclin-1 و LC3II و LC3I در ناحیه قلب به دنبال القای دیابت در نمونه‌های حیوانی بود. علاوه

نشان دادند که فعالیت بدنی منظم نه تنها به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن کمک نموده بلکه سبب کاهش سطح استرس اکسیداتیو می‌گردد و احتمالاً با کاهش میزان آپوپتوز کمک زیادی به کاهش شدت این بیماری می‌کند. از طرفی دیگر فعالیت ورزشی نه تنها بایوپتوز میتوکندری‌ها بلکه حذف میتوکندری‌های ناقص و قدیمی را از طریق پویایی میتوکندری و اتوفاژی تحریک می‌کند. رزوراترول با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بالای خود شرایط استرس اکسیداتیو و التهاب را به ویژه در سالمندان کاهش داده و با مهار آپوپتوز سبب بهبود این بیماری می‌گردد. در نهایت می‌توان گفت که مصرف توام رزوراترول و تمرینات ورزشی منظم و تناوبی از طریق کاهش پراکسیداسیون چربی و فعال سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی از قلب در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند. علاوه بر این در پاسخ به نوع و شدت تمرین به نظر می‌رسد که نقش سایر پروتئین‌های درگیر در فرایند اتوفاژی میوسیت‌ها قابل توجه باشند. همچنین مکانیسم‌هایی مانند نکروز و آپوپتوز نیز دخیل هستند (۳).

### نتیجه‌گیری

در نهایت می‌توان بیان کرد که استفاده از مکمل رزوراترول در کنار تمرینات ورزشی خواه از نوع تناوبی، خواه از نوع تناوبی با تنظیم مثبت فاکتور Beclin-1 و LC3 در کنترل تخریب عضله به ویژه عضله قلب موثر می‌باشد. با این وجود تاثیر دیگر تمرینات و مصرف مکمل رزوراترول بر وضعیت آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها نیاز به مطالعات و بررسی بیشتری دارد.

**تقدیر و تشکر:** از تمام کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی می‌گردد. این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد سلامی با کد IR.IAU.SARI.REC.1397.011 تصویب شده است.

### تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

### منابع

- Jiang Y-J, Sun S-J, Cao W-X, Lan X-T, Ni M, Fu H, et al. Excessive ROS production and enhanced autophagy contribute to myocardial injury induced by branched-chain amino acids: Roles for the AMPK-ULK1 signaling pathway and  $\alpha 7nAChR$ . *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2021;1867(1):165980.
- Kanamori H, Takemura G, Goto K, Tsujimoto A, Mikami A, Ogino A, et al. Autophagic adaptations in diabetic cardiomyopathy differ between type 1 and type 2 diabetes. *Autophagy*. 2015;11(7):1146-60.
- Jokar M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. The Effect of an 8-Week Endurance

می‌شود. مسیر MTORC1 با تنظیم پروتئین‌های ARG13,ULK1 و FIP200 می‌تواند مهارکننده یا فعال‌کننده سازوکار اتوفاژی باشد (۲۸). گائو و همکاران در پژوهشی با بررسی ۳۶ رت نر اسپرادیوگاولی در دو گروه کنترل و دیابتی شده ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا به مدت ۶ هفته و تزریق درون صفاقی STZ (۳ میلی‌لیتر در kg وزن بدن) اظهار داشتند که ابتلا به دیابت با افزایش در شاخص‌های اتوفاژی مانند نسبت LC3-II به LC3I، beclin-1، کاهش در پروتئین P62 و افزایش در فیبروز (تنظیم مثبت کلاژن نوع I و III) همراه بوده است (۲۹) 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 می‌گردد این در حالی است که محققان اشاره کرده‌اند مسیر PI3K-Akt خود می‌تواند به عنوان هدف درمانی برای دیابت باشد (۲). در تناقض با یافته‌های مطالعه پیش رو مولر و همکاران چنین گزارش کردند که ژن‌های مرتبط با اتوفاژی (Atg14 و P62/SQSTM1) و بیان پروتئین‌های LC3 و Atg5 در عضلات اسکلتی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم کاهش قابل توجهی داشت (۹) در حالی که نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مداخله تمرینات تناوبی در آزمودنی‌های دیابتی توانست دارای اثرات محافظتی و تقابلی در مواجهه با اتوفاژی بیش‌فعال در مقایسه با گروه کنترل دیابتی داشته باشد به طوری که 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 LC3-II به LC3I به میزان ۶۰۵٪ که با کاهش در مقادیر اتوفاگروم‌ها در عضله پهن جانبی مردان سالم اشاره داشتند (۳۰). تمرینات استقامتی به عنوان یک درمان غیردارویی باعث بهبود عملکرد انقباضی قلب و هموستاز سلولی و محافظت از قلب در برابر طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها می‌شود (۲۲) جعفری و همکارانش در پژوهشی به بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید با و بدون تجویز کافئین بر بیان پروتئین‌های مرتبط با اتوفاژی در رت‌های دیابتی پرداختند نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که تمرین تناوبی می‌تواند به عنوان یک راهکار پیشگیرانه باعث تعدیل اتوفاژی میوکاری ناشی از دیابت شود (۳۱). غریب و همکارانش به بررسی تاثیر مکمل رزوراترول بر میزان پارامترهای آنتی‌اکسیدانی و پروفایل لیپیدی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی در بیماران دیابتی پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که رزوراترول نقش مهمی در کنترل هایپرگلیسمی و تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی دارد (۳۲). مهری و همکارانش اثر ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل رزوراترول بر نشانگر اکسایشی و آنتی‌اکسایش بافت کاردیومیوسیت رت‌های نر دیابتی مورد بررسی قرار دادند نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که تمرین هوازی و رزوراترول اثر بهبود دهنده بر آپوپتوز قلبی ناشی از القای دیابت دارند و می‌تواند به عنوان طب مکمل برای حفاظت میوکارد در برابر آپوپتوز ناشی از دیابت القا شده استفاده شوند (۳۳). تحقیقات اخیر



- Aerobic Training and Curcumin Supplementation on Cardiomyocyte Apoptosis and MiRNAs Expression in Rats Exposed to Arsenic. 2020;12(48):39-60.
14. Ebadi B, Damirchi A, Alamdari K, Darbandi-Azar A, Naderi N. Cardiomyocyte mitochondrial dynamics in health and disease and the role of exercise training: A brief review. 2018;7(3):107-15.
  15. Mooren FC, Krüger K. Exercise, autophagy, and apoptosis. Progress in molecular biology and translational science. 2015;135:407-22.
  16. Jokar M, Sherafati Moghadam M. High intensity interval training inhibits autophagy in the heart tissue of type 2 diabetic rats by decreasing the content of FOXO3a and Beclin-1 proteins. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism. 2019;18(6):292-9.
  17. Mozafari M, Nekooeian AA, Panjeshahin MR, Zare HR. The effects of resveratrol in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal hypertension: a study of antihypertensive mechanisms. Iranian Journal of Medical Sciences. 2015;40(2):152.
  18. Salehi A, Abbaszadeh H, Farzanegi P. The Effect of Periodic Exercise and Resveratrol Supplementation on the Expression of Pparg Coactivator-1 Alpha and Pyruvate Dehydrogenase Kinase Genes in Gastrocnemius Muscle of Old Rats With Type 2 Diabetes. The Horizon of Medical Sciences. 2019;26(1):68-81.
  19. Hajighasem A, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis and lipid profile in the liver tissue of rats with nonalcoholic fatty liver disease. Report of Health Care. 2018;4(4):21-9.
  20. Mahdian H, Farzanegi P, Farzaneh-Hessari A. The effect of combined therapy with resveratrol, and continuous and interval exercises on levels of apoptotic biomarkers in heart tissue of male rats with non-alcoholic fatty liver. Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences. 2018;22(5):469-77.
  21. Delroz H, Abdi A, Barari A, Farzanegi P. The Effect of Eight Weeks of Aerobic Training Combined With Resveratrol on MFn1 and MFn2 Expression in Cardiac Myocytes in a Non-alcoholic Fatty Liver Animal Model. Complementary Medicine Journal. 2020;9(4):3878-89.
  22. Shabani M, Daryanoosh F, Salesi M, Kooshki Jahromi M, Fallahi AA. Effect of continuous training on the level of PPAR- $\gamma$  and PRDM16 proteins in adipose tissue in overweight diabetes rats. Journal of Inflammatory Disease. 2018;22(3):4-12.
  - Training Program on the Content of FOXO3a and Beclin-1 Proteins in Heart Muscle of Rats with Type 2 Diabetes. Journal of Inflammatory Disease. 2020;23(6):484-93.
  4. Munasinghe PE, Riu F, Dixit P, Edamatsu M, Saxena P, Hamer NS, et al. Type-2 diabetes increases autophagy in the human heart through promotion of Beclin-1 mediated pathway. International journal of cardiology. 2016;202:13-20.
  5. Wang C-Y, Chen C-C, Lin M-H, Su H-T, Ho M-Y, Yeh J-K, et al. TLR9 binding to beclin 1 and mitochondrial SIRT3 by a sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor protects the heart from doxorubicin toxicity. Biology. 2020;9(11):369.
  6. Xiao Y, Wu QQ, Duan MX, Liu C, Yuan Y, Yang Z, et al. TAX1BP1 overexpression attenuates cardiac dysfunction and remodeling in STZ-induced diabetic cardiomyopathy in mice by regulating autophagy. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2018;1864(5):1728-43.
  7. Xie Y-P, Lai S, Lin Q-Y, Xie X, Liao J-W, Wang H-X, et al. CDC20 regulates cardiac hypertrophy via targeting LC3-dependent autophagy. Theranostics. 2018;8(21):5995.
  8. Liang RK, Zhao YY, Shi ML, Zhang G, Zhao YJ, Zhang BG, et al. Skimmin protects diabetic cardiomyopathy in streptozotocin-induced diabetic rats. The Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 2021;37(2):136-44.
  9. 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):1-11.
  10. Kobayashi Y, Hara N, Sugimoto R, Mifuji-Moroka R, Tanaka H, Eguchi A, et al. The associations between circulating bile acids and the muscle volume in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Internal Medicine. 2017;56(7):755-62.
  11. Alabaf yousefi F, Pouzesh Jadidi R, BASHIRI J, Azali Alamdari K, Vakili J. The Effects of HIIT and Curcumin Supplementation on CD31+ Capillary Cell Count and the Expression of VEGF and MMP9 of Left Ventricle in Isoproterenol Induced Myocardial Infraction Model Rats %J Journal of Sport Biosciences. 2021;13(2):179-94.
  12. Tao L, Bei Y, Zhang H, Xiao J, Li X. Exercise for the heart: signaling pathways. Oncotarget. 2015;6(25):20773.
  13. Majidi A, Poozesh Jadidi R, Nourazar MAR, Bashiri J, Azali Alamdari KJSP. Effects of





30. 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.
31. Jafari A, 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. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2020;19(4):183-94.
32. Gharib M, Samani KG, 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. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2018;12(4):33-42.
33. Hosseinpour DS, Azizi M, Azarbaijani M, Farzangi P. Effect of 8 Weeks Aerobic Training and Supplementation of Resveratrol on Oxidative Marker MDA and Antioxidant SOD and GPX Cardiomyocytes Tissue in Streptozotocin-Diabetic Rats. 2020.
23. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *methods*. 2001;25(4):402-8.
24. Ebrahimi Z, Esmaeilzadeh Ghandehari MR, Veisi K. The Effect of Physical Activity Based on Intergenerational Programs on the Quality of Life of Older Adults. *Iranian Journal of Ageing*. 2020;14(4):406-21.
25. Brandt N, Gunnarsson TP, Bangsbo J, Pilegaard H. Exercise and exercise training-induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. *Physiological reports*. 2018;6(7):e13651.
26. Zhang Y, Chen N. Autophagy is a promoter for aerobic exercise performance during high altitude training. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018;2018.
27. Kim YA, Kim YS, Oh SL, Kim H-J, Song W. Autophagic response to exercise training in skeletal muscle with age. *Journal of physiology and biochemistry*. 2013;69(4):697-705.
28. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling at a glance. *Journal of cell science*. 2009;122(20):3589-94.
29. 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.