

The effect of aerobic training with royal jelly on the expression of BCL-2, Bax and Bax / BCL2 ratio in pancreatic tissue of obese rats

Mahbobeh Khonakdar, Saqqa Farajtabar Behrestaq*, Amir Taghipour, Babisan Askari

Department of Physical Education and Sport Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.

* Corresponding author e-mail: farajtabarp@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Obesity is considered as a global disease. The purpose of this study was to evaluate the effect of aerobic exercise with royal jelly on the expression of BCL-2, Bax and the ratio of BCL2/Bax in the pancreatic tissue of obese rats.

Materials and Methods: In this research, 40 5-week-old male Wistar rats were randomly divided into two groups of normal diet (ND) and high-fat diet (HFD). Rats in the ND group were fed a standard diet (23% protein, 65% carbohydrates, and 12% fat) and the HFD group were fed a high-fat diet (17% protein, 43% carbohydrates, and 40% fat) for eight weeks. Then, the rats were divided into 5 groups: normal diet, high-fat diet, high-fat-exercise (HFDT), high-fat-supplemented (HFDRj) and high-fat-exercise-supplemented (HFDTRj) groups. The training group performed incremental aerobic training for 8 weeks and 5 days per week. Also, the supplement groups were daily given 100 mg of royal jelly mixed in distilled water.

Results: The results showed that induction of obesity through the consumption of high-fat foods increases BCL-2 gene expression and significantly decreases BAX gene expression in the high-fat group compared to the control group. Also, endurance exercises and gel supplementation decreased BCL-2 gene expression and increased BAX gene expression in the experimental groups compared to the high-fat group and these changes were more noticeable in the combined group.

Conclusion: It is possible that aerobic training along with the use of royal jelly can be an effective strategy in improving the condition of obesity through the process of apoptosis.

Keywords: Endurance training, Royal jelly, BAX, BCL-2, obesity

Received: Oct 26, 2023

Revised: Jan 27, 2024

Accepted: Feb 10, 2024

How to cite this article: Khonakdar M, Farajtabar Behrestaq S, Taghipour A, Askari JB. The effect of aerobic training with royal jelly on the expression of BCL-2, Bax and Bax / BCL2 ratio in pancreatic tissue of obese rats. Daneshvar Medicine 2024; 31(6):26-36. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.18375.1414

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and build up the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

تأثیر تمرین هوازی همراه با مصرف ژل رویال بر بیان BCL-2، Bax و نسبت Bax/BCL2 بافت پانکراس موش‌های صحرایی چاق

محبوبه خندکار، سقا فرج تبار بهرستاق*، امیر تقی پور، بابی سان عسکری

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

Email: farajtabarp@yahoo.com

*نویسنده مسئول: سقا فرج تبار بهرستاق

چکیده

مقدمه و هدف: چاقی به عنوان یک بیماری جهانی در نظر گرفته می‌شود. هدف از انجام این پژوهش، تبیین اثر تمرین هوازی همراه با مصرف ژل رویال بر بیان BCL-2، Bax و نسبت Bax/BCL2 بافت پانکراس موش‌های صحرایی چاق بود.

مواد و روش‌ها: ۴۰ سر موش صحرایی نر ۵ هفته‌ای ویستار به صورت تصادفی به دو گروه رژیم غذایی نرمال (ND) و رژیم غذایی پرچرب (HFD) تقسیم شدند. موش‌های گروه ND به مدت ۸ هفته با غذای استاندارد (۲۳ درصد پروتئین، ۶۵ درصد کربوهیدرات و ۱۲ درصد چربی) و گروه HFD از رژیم غذایی پرچرب (۱۷ درصد پروتئین، ۴۳ درصد کربوهیدرات و ۴۰ درصد چربی) استفاده کردند. سپس موش‌ها به ۵ گروه رژیم غذایی نرمال، پرچرب، پرچرب-تمرین (HFDT)، پرچرب-مکمل (HFDRj) و پرچرب-تمرین-مکمل (HFDRj) تقسیم شدند. گروه تمرین به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته تمرین هوازی فزاینده را انجام دادند. همچنین به گروه‌های مکمل، روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم ژل رویال مخلوط شده در آب مقطر خوراندند.

نتایج: نتایج نشان داد القای چاقی از طریق مصرف غذاهای پرچرب موجب افزایش بیان ژن BCL-2 و کاهش معنی‌دار بیان ژن BAX در گروه پرچرب در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین تمرینات استقامتی و مکمل ژل موجب کاهش بیان ژن BCL-2 و افزایش بیان ژن BAX در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه پرچرب شد که این روند تغییرات در گروه ترکیبی محسوس‌تر بود.

نتیجه‌گیری: احتمال دارد تمرینات استقامتی همراه با مصرف ژل رویال بتواند راهبردی مؤثر در بهبود وضعیت چاقی از طریق فرایند آپوپتوز باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، ژل رویال، BAX، BCL-2، چاقی

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۰۴

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۱۱/۰۷

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۱

مقدمه

چاقی در حال حاضر به عنوان یک بیماری جهانی در نظر گرفته می‌شود. چاقی حالتی از التهاب مزمن با درجه پایین است که باعث مجموعه‌ای از اختلالات متابولیک مختلف از جمله مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲، فشار خون بالا، بیماری قلبی عروقی، دیس لیپیدمی و حتی سرطان می‌شود (۱). در مطالعات بیان شده است چاقی با بسیاری از نشانگرهای استرس اکسیداتیو از جمله افزایش قند خون، افزایش سطح چربی بافت، ضعف در دفاع آنتی‌اکسیدانی، افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد و التهاب مزمن همراه بوده و مصرف بیش از حد رژیم غذایی پرچرب با اختلال در عملکرد سیستم‌های بدن و تنظیم افزایش پروتئین‌های آپوپتوزی نیز همراه است (۲). آپوپتوز که به عنوان مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی نیز شناخته می‌شود، فرایندی با ویژگی‌های ریخت‌شناسی معمولی شامل کاهش اندازه سلول، تراکم سیتوپلاسم، دفع غشای پلاسمایی و تکه‌تکه شدن کروماتین است. وظایف اصلی آن در ارگانیس‌ها حذف فیزیولوژیکی سلول‌های غیرطبیعی در طول توسعه و حفظ هموستاز بافت است (۳). یک سیستم آپوپتوزیک ناکارآمد می‌تواند منجر به حذف بیش از حد سلول‌های طبیعی یا طولانی شدن بقای سلول‌های غیرطبیعی شود (۴). نتایج مطالعات حاکی از آن است که در اثر عوامل درونی یا بیرونی مانند چاقی، ایسکمی و سال‌خوردگی میزان آپوپتوز تشدید می‌شود و مقدمات بروز انواع بیماری‌ها رو موجب می‌شود (۵). در این بین، آپوپتوز سلول‌های بتای لوزالمعده نقش مهمی در پاتوژنز و پیشرفت چاقی دارد (۶). در مسیر آپوپتوز پروتئین‌های مهم از جمله خانواده *Bcl-2*، نقش مهمی به عنوان ضدآپوپتوز در کنترل آپوپتوز و اعضای پروآپوپتوز (*BAX*, *BAK*, *BOK*) دارند. ارتباط بین فعال‌سازی مسیر آپوپتوز و القای آپوپتوز از طریق مسیرهای بیرونی و درونی، شامل بیان بیش از حد *Bcl-2 Associated X (Bax)*، کاسپازهای ۳، ۸، ۹، *Bcl-2* و *Sox-1* است. در این بین پروتئین‌های خانواده *Bcl-2* با تنظیم نفوذپذیری غشای میتوکندریایی نقش حیاتی در انتقال سیگنال‌های آپوپتوز درون‌سلولی دارند (۷).

با توجه به مطالب فوق، محققان به‌طور پیوسته در پی کشف روشی جهت به حداقل رساندن عوارض چاقی و آپوپتوز هستند و در همین راستا معتقدند که فعالیت بدنی منظم می‌تواند تأثیرات مفیدی بر افراد چاق از طریق کاهش احتمالی فشار اکسایشی داشته باشد. اما اینکه چه تمرینی و با چه شدتی؟ سؤالاتی هستند که همیشه ذهن پژوهشگران را در این زمینه درگیر کرده است. تعدادی از پژوهشگران بیان کردند که یک جلسه فعالیت ورزشی شدید تا ۴۸ ساعت می‌تواند موجب سرعت‌بخشیدن فرایند آپوپتوز شود (۸). این در حالی است که انجام تمرینات ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش روند آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود. وینشتین و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین روی تردمیل موجب کاهش بیان پروتئین *AIF* و نسبت *Bax/Bcl-2* در عضله نعلی رت‌های صحرائی نر تمرین‌کرده در مقایسه با رت‌های صحرائی تمرین‌نکرده شد (۹). از طرف دیگر، نتایج پژوهش جعفری و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که تمرین ورزشی سبب کاهش پروتئین پیش‌آپوپتوزی در عضله قلبی در موش‌های سالم می‌شود. تغییر در نسبت *Bax/Bcl-2* برای القای آپوپتوز بسیار مهم است و این نسبت نشان می‌دهد که سلول در معرض آپوپتوز قرار می‌گیرد یا خیر؟ تغییر در نسبت *Bax/Bcl-2* دلیل رهايش سيتوکروم C از میتوکندری به درون سیتوزول است. سیتوکروم C سیتوزولی به *Apaf-1* متصل می‌شود و باعث فعال‌سازی کاسپاز ۳ و *PARP* می‌شود که نشان از نقش مهم کاسپازها در آپوپتوز است (۱۰). به‌طور کلی *Bcl-2* باعث تنظیم برنامه فعال‌سازی کاسپاز، مستقل از سیتوکروم C، *Apaf-1* کاسپاز-۸، آپوپتوزوم می‌شود که به نظر می‌رسد برای تقویت سریع‌تر نسبت به آغاز آبشار کاسپاز است (۱۱). از طرفی محققان معتقدند داروهای گیاهی در کنار ارزان‌بودن و قابل دسترس‌بودن فاقد عوارض جانبی هستند. در بین این گیاهان، ژل رویال ماده‌ای است که دارای خصوصیتی از جمله سفید، چسبنده و ژله بوده و از غدد هیپوفارینگیل و غدد لنفاوی موجود در سر زنبورهای کارگر ترشح می‌شود. حدود ۱۸۵ ترکیب آلی در ژل رویال شناخته شده است؛ علاوه‌براین، تعداد قابل

یک هفته)، ۸ سر موش در گروه رژیم غذایی نرمال (ND) و ۳۲ سر موش در گروه رژیم غذایی پرچرب (HFD) قرار گرفتند. موش‌های گروه ND به مدت ۸ هفته با غذایی استاندارد (۲۳ درصد پروتئین، ۶۵ درصد کربوهیدرات و ۱۲ درصد چربی) تغذیه شدند. در همین مدت موش‌های گروه HFD از رژیم غذایی پرچرب (۱۷ درصد پروتئین، ۴۳ درصد کربوهیدرات و ۴۰ درصد چربی) استفاده کردند (۱۵). چاق شدن موش‌ها با شاخص لی ارزیابی شد. بدین ترتیب که موش‌های با مقادیر بالای ۳۱۰ بر اساس شاخص لی، چاق محسوب شدند. بعد از ۸ هفته همه موش‌ها به صورت تصادفی به ۵ گروه: رژیم غذایی نرمال (ND)، پرچرب (HFD)، پرچرب-تمرین (HFDT)، پرچرب-مکمل (HFDRj) و پرچرب-تمرین-مکمل (HFDTRj) تقسیم شدند. در ادامه پژوهش، رژیم غذایی پرچرب به رژیم غذایی استاندارد تغییر یافت. سپس تمام موش‌ها قبل از شروع تمرین اصلی و به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط تردمیل، یک هفته و پنج جلسه در هفته، به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰-۸ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. در ادامه موش‌های گروه تمرین برنامه تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با شیب صفر درصد به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته را بدین ترتیب انجام دادند که در هفته اول موش‌ها یک برنامه تمرینی هوازی فزاینده را روی تردمیل با شدت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه انجام دادند. بعد از آن شدت فعالیت از ۱۵ متر در دقیقه به ۲۵ متر در دقیقه در هفته هفتم رسید و زمان فعالیت نیز به ۶۰ دقیقه افزایش یافت (جدول ۱). با توجه به منع استفاده شده، این شدت تمرین معادل ۶۰-۵۰ درصد VO_{2max} در موش‌های چاق بود (۱۶). برای تحریک موش‌ها جهت دویدن در جلسات اول، از محرک صوتی (ضربه به دیواره تردمیل) همراه با محرک الکتریکی با ولتاژ کم استفاده شد. پس از شرطی کردن موش‌ها با ترکیب دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد.

توجهی ترکیبات زیست فعال شامل ۱۰ هیدروکسی ۲ دکانویک اسید (HAD)، اسید چرب، پروتئین، آدنوزین مونوفسفات (AMP)، اکسید NI، آدنوزین، استیل کولین و پلی فنول‌ها در این ژل وجود دارد (۱۲). ترکیبات مختلف فنولی موجود در ژل رویال باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ماده می‌شود. ژل رویال و ویتامین C به عنوان مهارکننده رادیکال آزاد باعث کاهش آسیب‌های اکسیداتیو در کبد موش می‌شود (۱۳). همچنین بیان شده که ۸ هفته فعالیت هوازی شنا همراه با مصرف ژل رویال باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌های آرایمری شده با تری‌متیل‌تین می‌شود (۱۴). با این حال، در دانش ما، یافته‌ها در خصوص اثربخشی هم‌زمان تمرین هوازی و ژل رویال در خصوص عوامل مؤثر در آپوپتوز به ویژه در آزمودنی‌های چاق محدود است. درک این نکته که فعالیت ورزشی منظم چگونه و با چه سازوکاری باعث فعال شدن مسیر آپوپتوز در چاقی می‌شود، بسیار مفید است. از طرفی یافتن ترکیبات غذایی گیاهی که بتواند به طور طبیعی نقش مؤثری در بهبود عوامل مضر چاقی داشته باشد، از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین محققان درصدد پاسخ‌گویی به این سؤال هستند که آیا تمرین هوازی و ژل رویال بر بیان Bax، BCL-2 و نسبت Bax/Bcl-2 بافت پانکراس موش‌های صحرایی چاق تأثیر دارد؟

مواد و روش‌ها

برای انجام تحقیق آزمایشی حاضر ۴۰ سر موش صحرایی نر ۵ هفته‌ای نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهیه شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف با ابعاد ۱۵ × ۱۵ × ۳۰ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد در دمای محیطی با ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵ تا ۶۵ درصد نگهداری شده و با غذاهای تولید مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت تغذیه شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از

جدول ۱. پروتکل تمرین

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
۱۵	۱۶	۱۸	۲۰	۲۱	۲۳	۲۵	۲۵
۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۰

استفاده از کیت یکتا تجهیز آزما (تهران، ایران) و با توجه به دستور عمل شرکت سازنده صورت گرفت. از طرف دیگر تمام پرایمرها به وسیله نرم افزار Allele IDv7.8 طراحی شد و از ژن $\beta 2m$ (بتا ۲ میکروگلوبولین) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. تمام پرایمرها به صورت اتصال آگرون-آگرون طراحی شده و برای اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و به کارگیری از ژل آگاروز ۱/۵ درصد استفاده شد. در نهایت برای اندازه‌گیری mRNA، 1 میکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم RQ1 retro- (Promega) DNase-I و RNase-free و واکنش Real-time transcribed (RT) PCR با استفاده از دستگاه SYBR Green qPCR Master Mix انجام شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل: 95°C به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن 40 سیکل 15°C ثانیه‌ای در حرارت 95°C ، 55 ثانیه در 60°C و 5 ثانیه در دمای 72°C بود. سپس در دمای 72°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شد.

از آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) و آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

نتایج

میانگین وزن گروه‌ها قبل، در دوره القای چاقی و پس از القای چاقی در جدول‌های ۲ و ۳ ارائه شده است.

این توضیح لازم است که پودر ژل رویال از شرکت Bulk (Supplements Co, Ltd (Henderson, USA خریداری شد. گروه مکمل، هر روز ۱۰۰ میلی‌گرم ژل رویال (به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) رقیق‌شده در آب مقطر را به صورت گاوژ دریافت کردند (۱۵). نهایتاً پس از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین هوازی، با تزریق درون صفاقی کتامین ($mg50-30/kg$) و زایلازین ($mg5-3/kg$) همه حیوانات بیهوش شدند. کل بافت پانکراس پس از جداسازی و شستشو با سالین سرد به وسیله فریز کلمپ منجمد و با استفاده از هاون چینی پودر شد. بافت پودر شده بی‌فاصله بعد از وزن‌کشی در داخل تیوب‌های شیشه‌ای قرار گرفته و به ازای هر ۵۰ میلی‌گرم بافت پودر شده ۱ سی‌سی بافر PBS به آن افزوده شد. مخلوط بافت و PBS توسط دستگاه هموژنایزر هموژن شده و به دنبال آن هموژنات تهیه‌شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 4°C درجه سانتی‌گراد با سرعت 7000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا شده و وارد تیوب‌های مخصوص شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال با دمای منفی 80°C درجه سانتی‌گراد تا لحظه اندازه‌گیری نگهداری شد. سپس تجزیه و تحلیل با استفاده از روش $\Delta(\Delta Ct)$ انجام شد. و برای انجام آنالیز بیان ژن، پس از مراحل استخراج RNA و حذف باقی‌مانده‌های DNA ژنومی، اقدام به سنتز cDNA به‌عنوان الگوی اولیه برای واکنش‌های RT-PCR شد. آنزیم رونوشت بردار معکوس همراه با دنوکسی نوکلئوتیدهای تری-فسفات (A,T,C,G) از روی mRNA، نخستین رشته DNA را سنتز کرد. در این مطالعه، سنتز cDNA با

جدول ۲. میانگین وزن گروه‌ها قبل و در دوره القای چاقی

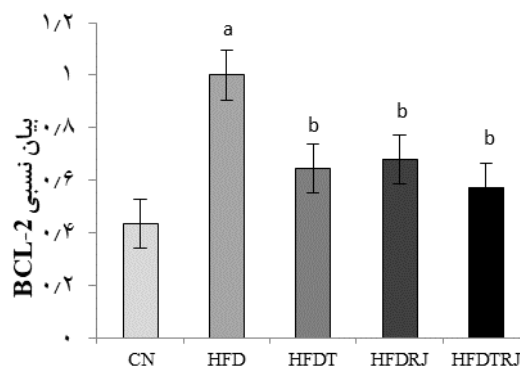
دوره	قبل از القای چاقی		القای چاقی				
	موش ۸ هفته‌ای	بعد از سازگاری	گروه‌بندی	هفته اول	هفته دوم	هفته چهارم	هفته هشتم
سن (هفته)	هشت	نه	گروه‌بندی	ده	یازده	دوازده	چهارده
گروه‌ها	$187/5 \pm 9/3$	$200/5 \pm 16/2$	ND	$211/3 \pm 19/3$	$216/3 \pm 17/6$	$245/2 \pm 16/5$	$257/2 \pm 22/8$
			HFD	$209/6 \pm 22/7$	$223/5 \pm 13/9$	$271/8 \pm 21/2$	$310/5 \pm 21/6$

جدول ۳. میانگین وزن گروه‌ها بعد از القای چاقی

اعمال متغیر مستقل					
سن (هفته)	شروع هفته اول	هفته دوم	هفته چهارم	هفته ششم	هفته هشتم
	هفته	هفته	بیست	بیست و دو	بیست و چهار
ND	۲۷۰/۱۱ ± ۲۷/۵۵	۲۸۱/۷۸ ± ۲۴/۱۳	۲۹۱/۵۵ ± ۳۲/۹۴	۲۹۷/۸۸ ± ۳۶/۰۶	۳۱۰/۸۸ ± ۳۸/۹۵
HFD	۳۴۳/۶۶ ± ۵۰/۹۰	۳۸۴/۳۳ ± ۲۳/۵۴	۴۱۰/۴۴ ± ۴۷/۶۵	۴۳۵/۱۱ ± ۸۱/۸۶	۴۶۱/۱۱ ± ۳۷/۹۴
HFDTRJ	۳۵۲/۸۸ ± ۴۲/۷۲	۳۷۴/۲۲ ± ۲۳/۳۸	۳۸۹/۷۷ ± ۴۳/۳۳	۴۱۱/۵۵ ± ۳۷/۵۶	۴۱۴/۰۰ ± ۴۹/۰۵
HFDTRJ	۳۴۸/۴۴ ± ۳۷/۹۸	۳۷۷/۱۱ ± ۲۳/۱۲	۳۹۸/۸۸ ± ۵۱/۶۸	۴۱۵/۸۸ ± ۵۱/۶۸	۴۲۳/۷۷ ± ۴۹/۱۱
HFDTRJ	۳۵۸/۳۳ ± ۳۶/۹۷	۳۶۸/۴۴ ± ۲۱/۴۸	۳۷۸/۶۶ ± ۴۵/۴۳	۳۸۷/۲۲ ± ۵۰/۳۱	۳۹۰/۵۵ ± ۴۰/۱۲

کاهش معنی‌داری در گروه‌های پرچرب-تمرین ($p=0/022$)، پرچرب-ژل رویال ($p=0/047$) و پرچرب-تمرین-ژل رویال ($p=0/004$) نسبت به گروه پرچرب مشاهده شد (نمودار ۱).

نتایج نشان داد تمرین هوازی همراه با مصرف ژل رویال بر بیان ژن BCL-2 بافت پانکراس موش‌های صحرایی چاق در گروه‌های مختلف تأثیر دارد ($F=7/046$, $p=0/001$) نتایج افزایش معنی‌داری را در میزان تغییرات ژن BCL-2 در گروه پرچرب نسبت به کنترل-سالم نشان داد. همچنین



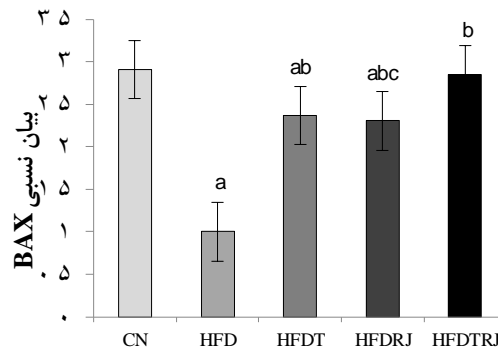
نمودار ۱. تغییرات بیان نسبی BCL-2 بافت پانکراس در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p < 0/05$).

a تفاوت با CN، b تفاوت با گروه HFD.

CN: کنترل-سالم، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین-ژل رویال.

پرچرب-تمرین ($p=0/000$)، پرچرب-ژل رویال ($p=0/000$) و پرچرب-تمرین-ژل رویال ($p=0/000$) نسبت به گروه پرچرب و از طرف دیگر گروه پرچرب-تمرین-ژل رویال ($p=0/04$) نسبت به گروه پرچرب-ژل رویال مشاهده شد (نمودار ۲).

یافته دیگر تحقیق نشان داد که تمرین هوازی همراه با مصرف ژل رویال بر بیان ژن BAX بافت پانکراس موش‌های صحرایی چاق در گروه‌های مختلف تأثیر دارد ($F=46/523$, $p=0/001$) نتایج کاهش معنی‌داری را در میزان تغییرات ژن BAX در گروه پرچرب نسبت به کنترل-سالم نشان داد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های



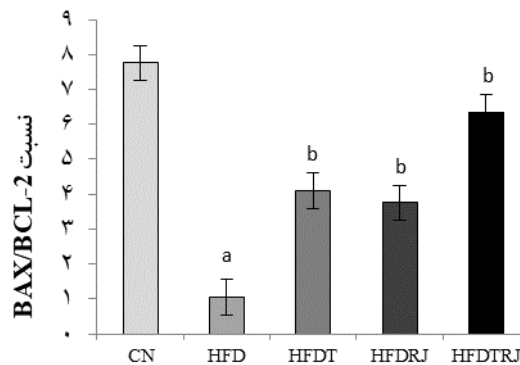
نمودار ۲. تغییرات بیان نسبی BAX بافت پانکراس در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با CN، b تفاوت با گروه HFD، c تفاوت با گروه HFDTRJ.

CN: کنترل-سالم، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDT: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFDRJ: رژیم غذایی پرچرب-ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین-ژل رویال.

داد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های پرچرب-تمرین ($p=0.000$)، پرچرب-ژل رویال ($p=0.000$) و پرچرب-تمرین-ژل رویال ($p=0.000$) نسبت به گروه پرچرب مشاهده شد (نمودار ۳).

نتایج همچنین نشان داد که تمرین هوازی همراه با مصرف ژل رویال بر نسبت Bax/BCL-2 بافت پانکراس موش‌های صحرائی چاق در گروه‌های مختلف تأثیر دارد ($p=0.001$)، $F=46.523$). نتایج کاهش معنی‌داری را در میزان نسبت Bax/BCL-2 در گروه پرچرب نسبت به کنترل-سالم نشان



نمودار ۳. تغییرات نسبت BAX/BCL-2 بافت پانکراس در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با CN، b تفاوت با گروه HFD.

CN: کنترل-سالم، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDT: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFDRJ: رژیم غذایی پرچرب-ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین-ژل رویال.

گروه پرچرب در مقایسه با گروه کنترل شده است. در تبیین این یافته می‌توان عنوان کرد که اتصال مستقیم پروتئین‌های BH خاص با Bax سبب می‌شود در غشای

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش بیان BCL-2 و کاهش بیان Bax

آزمودنی‌های چاق استفاده شده است؛ درحالی‌که در تحقیق صفرزاده از موش‌های مسموم‌شده با آب اکسیژنه استفاده شد. به‌طور کلی تأثیرات مثبت فعالیت بدنی در تحقیقات مختلفی نشان داده شده است. فعالیت ورزشی استرس اکسیداتیو را در بافت قلبی از طریق مهار بیان گیرنده LOX-1 کاهش می‌دهد (۲۱). فعالیت ورزشی می‌تواند سبب کاهش آزادشدن سیتوکروم C شود و انتقال پیام‌های آپوپتوز پایین‌دست را مسدود کند. همچنین می‌تواند سبب افزایش لنفوکاین B شود و روی پروآپوپتوتیک‌ها اثر بگذارد و نقش ضدآپوپتوزی ایفا کند. از آنجا که چاقی می‌تواند سبب افزایش فشار اکسایشی شود، ورزش طولانی‌مدت می‌تواند با کاهش NADPH فعالیت بنیان‌های آزاد را کاهش دهد (۲۲). همچنین سازوکار بهبود شاخص‌های آپوپتوز ناشی از فعالیت ورزشی ممکن است ناشی از تأثیر فعالیت ورزشی بر میتوکندری باشد. در این پژوهش عملکرد میتوکندری با افزایش میزان BCL-2 به‌عنوان مهم‌ترین عامل مهاری آپوپتوز بهبود یافته است. مهم‌ترین نقش میتوکندری در آپوپتوز، مهار رهاسازی سیتوکروم C به درون سیتوزول بوده و منجر به افزایش پتانسیل غشای میتوکندری می‌شود. این پتانسیل برای تولید انرژی ATP و حفظ هومئوستاز سلولی ضروری است. علاوه بر مهار رهاسازی سیتوکروم C، فعالیت‌های بدنی با کاهش گونه‌های فعال اکسیژن در میتوکندری‌ها در کاهش آپوپتوز نقش دارند (۲۳).

ژل رویال دارای آرایه قابل توجهی از ترکیبات فعال زیستی بوده که شامل پروتئین‌های اصلی ژل رویال ((MRJPs، 10-هیدروکسی-2-دسنوئیک اسید (HDA-10) و هورمون‌هاست، اما محدود به آنها نیست. تصور می‌شود که این اجزای فعال بیولوژیکی مسئول خواص مفید RJ به‌صورت جداگانه یا هم‌افزایی هستند. در میان اثرات دیگر، RJ دارای اثرات ضدسرطانی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی است (۲۴).

خارجی میتوکندری کانال الیگومری تشکیل شود. این عمل باعث ورود سیتوکروم C به سیتوزول می‌شود تا در آنجا به پروتئین سازش‌دهنده (Apaf-1) چسبیده و باعث فعال‌سازی کاسپاز ۹ و کاسپاز ۳ و شروع آبشار آپوپتوزی شود. همچنین پروتئین‌هایی نظیر Bad به BCL-2 متصل شده و با مهار توانایی آن برای اتصال به Bax سبب تشکیل کانال در غشای خارجی میتوکندری می‌شوند. این در حالی است که محرک‌های متعددی مسیر آپوپتوزی را شروع یا مهار می‌کنند (۱۷). بنابراین می‌توان اظهار کرد که دو پروتئین BAX و BCL-2 نقش مهمی در تعدیل فرایندهای مرگ سلولی ایفا می‌کنند؛ بنابراین عواملی که بتوانند نسبت Bax به BCL-2 را تغییر دهند، شرایط را به سمت آپوپتوز یا فرایند عکس آپوپتوز هدایت می‌کنند (۱۸). در شرایط نرمال، بین عوامل مهاری و محرک‌های آپوپتوزی تعادل برقرار است، اما در موقعیت‌های مختلف از جمله فعالیت بدنی این تعادل به هم می‌خورد. امروزه استراتژی‌های مختلفی برای مقابله با چاقی و کاهش عوارض ناشی از این عارضه پیشنهاد شده است. اثر فعالیت‌های بدنی و تمرین ورزشی یکی از زمینه‌های مورد علاقه در حوزه ورزش و اثر آن بر آپوپتوز است (۱۸). پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات استقامتی موجب کاهش معنی‌دار بیان BCL-2 و افزایش معنی‌دار بیان Bax در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه پرچرب شده است. نتایج تحقیق صدیقی و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که تمرین استقامتی با کاهش Bax و افزایش BCL-2 در بافت قلبی موش‌های صحرائی باعث تعدیل آپوپتوز می‌شود (۱۹). صفرزاده گرگری و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که دو ماه تمرین تداومی بر میزان بیان Bax و BCL-2 و همچنین نسبت Bax/BCL-2 در رت‌های مسموم‌شده با آب اکسیژنه تأثیر معنی‌داری ندارد (۲۰). دلیل تناقض‌یافته تحقیق صفرزاده و همکاران با پژوهش حاضر می‌تواند به نمونه‌های حیوانی مورد استفاده در پژوهش مربوط باشد. در تحقیق حاضر از

نسبت Bax به Bcl-2 در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه پرچرب افزایش معنی‌داری یافت. نسبت Bax به Bcl-2 معیاری برای نشان‌دادن احتمال آپوپتوز در میتوکندری است که Bcl-2 با فعالیت پیش آپوپتوزی Bax با جلوگیری از جابه‌جایی آن در میتوکندری مخالفت می‌کند. ورود Bax به میتوکندری و رهای سیتوکرم c باعث شروع سیگنالینگ آپوپتوتیک آبشارهای کاسپاز پایین‌دستی می‌شود (۳۱). هم‌راستا با این نتایج کوکاک و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که فعالیت ورزشی باعث کاهش نسبت Bax به Bcl-2 در بطن چپ موش‌های مسن می‌شود (۳۲). باین‌وجود لیو و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که فعالیت استقامتی موجب افزایش نسبت Bax به Bcl-2 در عضلات اسکلتی موش‌ها می‌شود (۳۳). شاید تفاوت در عوامل مؤثر بر تمرین نظیر مدت، نوع تمرین، شدت و همچنین نوع بافت باعث مغایرت در نتایج شود. از دیگر نتایج پژوهش حاضر بهبود شاخص‌های آپوپتوزی مورد مطالعه در گروه ترکیبی نسبت به گروه تمرین و مکمل بود. به نظر می‌رسد استفاده هم‌زمان از تمرین استقامتی و ژل رویال باعث اثرات هم‌افزایی شده و منجر به این نتایج شده است. همان‌طور که قبلاً اشاره شده تمرین استقامتی و مکمل ژل رویال با تأثیر بر وضعیت اکسیدانی می‌تواند در بهبود آپوپتوز نقش داشته باشد. در این راستا حسین‌زاده و همکاران (۲۰۲۲) در تحقیقی عنوان کردند که ترکیب AT و RJ نسبت به هر کدام به‌تنهایی باعث بهبود فشار اکسایشی بافت قلب موش‌های HFD می‌شود (۳۴).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج احتمال دارد تمرینات استقامتی همراه با مصرف ژل رویال بتواند راهبردی مؤثر در بهبود وضعیت چاقی از طریق فرایند آپوپتوز باشد؛ بنابراین توصیه می‌شود محققین از تمرینات هوازی همراه با ژل رویال جهت

یافته دیگر تحقیق حاضر نشان داد که مصرف ژل رویال موجب افزایش معنی‌دار Bcl-2 و کاهش معنی‌دار Bax در گروه‌های مصرف‌کننده ژل رویال در مقایسه با گروه پرچرب شد. هم‌راستا با پژوهش حاضر اصلان و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که مصرف ژل رویال با اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی خود باعث افزایش بیان پروتئین‌های کاسپاز ۳، کاسپاز ۶، کاسپاز ۹، Bax و BDNF بافت ریه شده و همچنین بیان کاهشی را در پروتئین‌های GSK3 و TNF- α ، COX-2، Bcl-2 موجب می‌شود (۲۵). همچنین محققان در پژوهش دیگری نشان دادند که ژل رویال با تأثیر بر کاسپاز ۳ و Bcl-2 باعث محافظت از عضلات اسکلتی در برابر آسیب ناشی از فلوراید می‌شود (۲۶). البلوی و همکاران (۲۰۲۲) نیز در پژوهشی نشان دادند که ژل رویال با افزایش بر سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx، CAT و SOD و همچنین بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و Bax باعث کاهش سرعت پیشرفت تومور می‌شود (۲۷). مطالعات قبلی نشان داده که ژل رویال حاوی چندین ترکیب فعال زیستی مانند پپتیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب (مانند -۱۳ هیدروکسی دکانویئیک اسید)، پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها (مانند پینوسمبرین، کوئرستین و گالانژین) است و این ترکیبات دارای اثرات ضدآپوپتوزی و سرطانی است (۲۸). بوسله و همکاران (۲۰۲۲) نشان داده‌اند که ترکیبات پلی‌فنول‌ها فعالیت ضدسرطانی خود را از طریق چندین روش از جمله حذف سلول از طریق تغییر مسیرهای سیگنالینگ، سرکوب فعالیت‌های چرخه سلولی و تحریک آپوپتوز و همچنین ضدمتاستاز و ضدگرزایی نشان می‌دهند (۲۹). کوپوستین اسکین و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داده‌اند که فلاونوئیدها اثرات ضدسرطانی و آپوپتوزی خود را از طریق مکانیسم‌های متعددی مانند اتوفاژی، کنترل فعالیت‌های آنزیم مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، سرکوب چرخه سلولی و مهار تکثیر سلول‌های سرطانی اعمال می‌کنند (۳۰). همچنین در پژوهش حاضر

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی اشخاصی که صمیمانه در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند، قدردانی می‌کنیم.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

کاهش عوارض منفی چاقی زیر نظر متخصص، و با احتیاط استفاده کنند.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی است. ضمناً این مطالعه دارای کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1401.231 است.

منابع

1. Azzu v, Vacca m, Virtue s, Allison m, Vidal-Puig a. Adipose tissue-liver cross talk in the control of whole-body metabolism: implications in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2020;158:1899-912.
2. Pagidipati NJ, Zheng Y, Green JB, mcguire dk, mentz rj, shah s, et al. association of obesity with cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and cardiovascular disease: insights from tecos. *American Heart Journal* 2020; 219:47-57.
3. Perez-Garijo A, Steller H. Spreading the word: nonautonomous effects of apoptosis during development, regeneration and disease. *Development* 2015; 142:3253-3262.
4. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. *aging (albany ny)* 2012; 4:330-349.
5. Pourrazi H, Asgharpour-Arshad M, Gholami F, Abbasi S. effect of high-intensity interval training on apoptotic gene expression in rat myocardial tissue. *Gene, Cell and Tissue* 2020; 7(2). sid. <https://sid.ir/paper/627998en>.
6. Bauer D, Werth F, Nguyen HA, Kiecker F, Eberle J. Critical role of reactive oxygen species (ros) for synergistic enhancement of apoptosis by vemurafenib and the potassium channel inhibitor tram -34 in melanoma cells. *Cell Death & Disease* 2017;8(2):e2594.
7. Rubio C, Mendoza C, Trejo C, Custodio V, Rubio-Osornio M, Hernández L, et al. Activation of the extrinsic and intrinsic apoptotic pathways in cerebellum of kindled rats. *Cerebellum* 2019; 18:750-760. doi: 10.1007/s12311-019-01030-8.
8. Würstle ML, Laussmann MA, Rehm M. the central role of initiator caspase-9 in apoptosis signal transduction and the regulation of its activation and activity on the apoptosome. *Experimental Cell Research* 2012; 318(11):1213-1220.
9. Vainshtein A, Kazak L, Hood DA. Effects of endurance training on apoptotic susceptibility in striated muscle. *Journal of Applied Physiology* 2011; 110(6):1638-1645.
10. Jafari A, Pourrazi H, Nikookheslat S, Baradaran B. effect of exercise training on bcl-2 and bax gene expression in the rat heart. *Gene cell Tissue* 2015; 2(4).
11. Mirakhori Z, Kordi M, Alizadeh SH, Gaieni AA, Et AL. The investigation of the preventive and therapeutic therapy assistance on the growth rate of the tumor, e2 and expression of 206-mir and er α tumor tissue of breast cancer. *Journal of Applied Exercise Physiology* 2016; 11:87-98.
12. Najafi G, Nejati V, Shalizer Jalali A, Zahmatkesh, E. Protective role of royal jelly in oxymetholone-induced oxidative injury in mouse testis. *iranian Journal of Toxicology* 2014; 8(25):1073-1080.
13. Anbara H, Shahrooz R, Malekinejad H, Saadati S. Investigating the antioxidant properties of royal jelly and vitamin c on enzymes, histomorphometric and liver cells apoptosis in mice suffering hemolytic anemia. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 2016; 6(2):178-187.
14. Azimpour M, Fathi M, Dezfoulian O. Effect of eight weeks of forced physical activity with royal jelly consumption on depression and anxiety levels and antioxidant capacity in trimethyltin-induced alzheimer's rats. *Journal of Applied Exercise Physiology* 2021; 17(33): 1-2.
15. Mesri Alamdari N, Irandoost P, Roshanravan N, Vafa M, Asghari Jafarabadi M, Alipour S, et al. Effects of royal jelly and tocotrienol rich fraction in obesity treatment of calorie-restricted obese rats: a focus on white fat browning properties and thermogenic capacity. *Nutrition & Metabolism* 2020; 17(1):1-13.
16. Gonçalves IO, Passos E, Rocha-Rodrigues S, Torrella JR, Rizo D, Santos-Alves E, et al. Physical exercise antagonizes clinical and anatomical features characterizing lieber-decarli diet-induced obesity and related metabolic disorders. *Clinical Nutrition* 2016;34(2):241-7.
17. Corsetti G, Pasini E, Assanelli D, Bianchi R. Effects of acute caffeine administration on nos and bax/bcl2 expression in the myocardium of rat. *Pharmacological Research* 2008; 57(1):19-25.
18. Kazior Z, Willis S J, Moberg M, Apró W, Calbet J A, Holmberg H C, et al. Endurance exercise enhances the effect of strength training on muscle fiber size and protein expression of akt and mtor. *PLoS One* 2016; 11(2):e0149082.

19. Sadighi A, Abdi A, Azarbayjani MA, Barari A. Effect of aerobic training and berberine chloride supplementation on oxidative stress indices in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ilam University of Medical Sciences* 2019;28(4):54-65.
20. Safrazadeh Gargari S, Matin Homaei H, Azarbayjani MA. Effects of continues exercise on BAX and BCL-2 heart proteins following by different dos of H2O2 consumption in rat male. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2018;26(4):363-79. doi: 10.22049/JASSP.2019.26218.1175
21. Machado MV, Vieira AB, Da Conceição FG, Nascimento AR, Da Nóbrega ACL, Tibirica E. Exercise training dose differentially alters muscle and heart capillary density and metabolic functions in an obese rat with metabolic syndrome. *Experimental Physiology* 2017;102(12):1716-28. doi: 10.1113/EP086416. Epub 2017 Oct 26.
22. Chen X, Li H, Wang K, Liang X, Wang W, Hu X, et al. Aerobic exercise ameliorates myocardial inflammation, fibrosis and apoptosis in high-fat-diet rats by inhibiting P2X7 purinergic receptors. *Frontiers in Physiology* 2019;1286. doi: 10.3389/fphys.2019.01286.
23. Razavi Majd Z, Matin Homaei H, Azarbayjani M, Farzanegi P. Effects of Concurrent Regular Aerobic Training and Garlic Extract on Cardiac Tissue Apoptosis Markers in Aged Rats with Chronic Kidney Disease. *Journal of Medicinal Plants* 2017;2(62):46-54.
24. Collazo N, Carpena M, Nuñez-Estevéz B, Otero P, Simal-Gandara J, Prieto M A. Health promoting properties of bee royal jelly: food of the queens. *Nutrients* 2021; 13:543.
25. Aslan A, Gok O, Beyaz S, Can MI, Parlak G, Gundogdu R, et al. Royal jelly regulates the caspase, Bax and COX-2, TNF- α protein pathways in the fluoride exposed lung damage in rats. *Tissue and Cell* 2022; 76:101754. doi: 10.1016/j.tice.2022.101754.
26. Guo J, Wang Z, Chen Y, Cao J, Tian W, Ma B, et al. Active components and biological functions of royal jelly. *Journal of Functional Foods* 2021; 82:104514. doi:10.1016/j.jff.2021.104514
27. Albalawi AE, Althobaiti NA, Alrdahe SS, Alhasani RH, Alaryani FS, BinMowyna MN. Antitumor activity of royal jelly and its cellular mechanisms against ehrlich solid tumor in mice. *BioMed Research International* 2022; 7233997.
28. Martinello M, Mutinelli F. Antioxidant activity in bee products: A review. *Antioxidants* 2021;10(1):71. doi: 10.3390/antiox10010071.
29. Bhosale PB, Ha SE, Vetrivel P, Kim HH, Kim SM, Kim GS. Functions of polyphenols and its anticancer properties in biomedical research: a narrative review. *Translational Cancer Research* 2020;9(12):7619. doi: 10.21037/tcr-20-2359.
30. Kopustinskiene DM, Jakstas V, Savickas A, Bernatoniene J. Flavonoids as Anticancer Agents *Nutrients* 2020;12(2):457. doi: 10.3390/nu12020457.
31. Koçtürk S, Kayatekin B, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. *European Journal of Applied Physiology* 2008;102(5):515-24. doi: 10.1007/s00421-007-0612-7.
32. Kwak H-B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *Journal of Exercise Rehabilitation* 2013;9(2):212. doi: 10.1007/s00421-007-0612-7.
33. Liu W, He W, Li H. Exhaustive training increases uncoupling protein 2 expression and decreases Bcl-2/Bax ratio in rat skeletal muscle. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013; 780719.
34. Hoseinzade I, Abdi A, Abbassi Dalooi A. Protective effect of aerobic training and royal jelly on oxidative stress in cardiomyocytes in obese rats. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2022;31(206):30- 42. <http://jmums.mazums.ac.ir/article1-17599-en.htm>