

Effect of aerobic training and royal jelly on some factors of cardiac apoptosis in obese rats

Mostafa Kazemi*, Seyedeh Fatemeh Hosseini, Ghasem Torabi Palat Kaleh

Department of Physical Education and Sport Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

* Corresponding author e-mail: sport.tmr@gmail.com

Citation: Kazemi M, Hosseini F, Torabi Palat Kaleh Gh. Effect of aerobic training and royal jelly on some factors of cardiac apoptosis in obese rats. Daneshvar Medicine 2022; 30(5):49-61.
doi: 10.22070/DANESHMED.2022.16345.1226

Abstract

Background and Objective: Obesity is associated with dyslipidemia, which leads to elevated triglyceride levels, apoptosis and compromised cardiac function. The aim of this study was to investigate the effect of aerobic training (AT) and royal jelly (RJ) on apoptosis indices in cardiomyocytes in high-fat diet-induced obese rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 45 male rats were randomly divided into five groups (n=9): Normal Diet (ND), High-Fat Diet (HFD), High-Fat Diet+Training (HFDT), High-Fat Diet+Royal Jelly (HFDRJ), and High-Fat Diet+Training+Royal Jelly (HFDTRJ). The supplement groups received 100 mg of royal jelly (kg/body weight) diluted in distilled water orally during the intervention period. The aerobic exercise program included treadmill running with an intensity of 50-60% oxygen consumption (VO₂max), 5 days/week for 8 weeks. Data were analyzed using ANOVA at p<0.05.

Results: HFD decreased Bcl2 (p=0.006), increased BAX (p=0.006) and BAX/Bcl2 (p=0.006). AT, RJ as well as the combination of AT with RJ increased Bcl2 and decreased BAX and BAX/Bcl2 (p≤0.05). Increase in Bcl2 and decrease in BAX and BAX/Bcl2 were significant in HFDTRJ group compared to HFDT and HFDRJ groups (p≤0.05).

Conclusion: Combining AT with RJ may improve apoptotic markers in cardiomyocytes by affecting BAX and Bcl2 expression and control HFD-induced cardiomyocytes damage on the apoptotic pathway.

Keywords: Exercise, Heart, Obesity, Royal Jelly, BAX and Bcl2

Received: 17 July 2022

Last revised: 04 Oct 2022

Accepted: 23 Oct 2022

اثر تمرین هوازی و ژل رویال بر برخی شاخص‌های آپوتوز بافت قلب موش‌های چاق

نویسندگان: مصطفی کاظمی*، سیده فاطمه حسینی، قاسم ترابی پلت کله

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

Email: sport.tmr@gmail.com

*نویسنده مسئول: مصطفی کاظمی

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه و هدف: چاقی با بی‌نظمی چربی همراه بوده و منجر به افزایش سطوح تری‌گلیسرید، آپوتوز و اختلال در عملکرد قلب می‌شود. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین هوازی (AT) ژل رویال (RJ) بر شاخص‌های آپوتوز سلول‌های قلبی موش‌های صحرایی چاق ناشی از رژیم غذایی پرچرب بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۵ موش صحرایی نر به طور تصادفی به پنج گروه (n=۹): رژیم غذایی نرمال (ND)، رژیم غذایی پرچرب (HFD)، رژیم غذایی پرچرب+تمرین (HFD+RJ)، رژیم غذایی پرچرب+ژل رویال (HFD+RJ) و رژیم غذایی پرچرب+تمرین+ژل رویال (HFD+RJ+AT) تقسیم شدند. گروه‌های مکمل، طی دوره مداخله روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم RJ (به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) رقیق شده در آب مقطر را به صورت خوراکی دریافت کردند. برنامه تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با شدت ۶۰-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی (VO₂max)، پنج روز در هفته به مدت هشت هفته بود. داده‌ها با استفاده از ANOVA در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: HFD باعث کاهش Bcl2 ($p=0.006$)، افزایش BAX ($p=0.006$) و BAX/Bcl2 ($p=0.006$) شد. AT، RJ و همچنین ترکیب AT با RJ باعث افزایش Bcl2 و کاهش BAX/Bcl2 شد ($p \leq 0.05$). افزایش Bcl2 و کاهش BAX/Bcl2 در گروه HFD+RJ نسبت به گروه HFD و HFD+RJ معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری: ترکیب AT و RJ ممکن است با تاثیر بر بیان Bcl2 و BAX باعث بهبود شاخص‌های آپوتوز در سلول‌های قلبی شده و آسیب قلبی ناشی از HFD را بر مسیر آپوتوز کنترل کند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ورزشی، قلب، چاقی، ژل رویال، BAX و Bcl2

دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۸

آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۱/۰۹/۰۶

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳

مقدمه

قطعه شدن DNA باعث محافظت عضلات قلبی در موش‌های چاق می‌شود (۱۱). با این وجود برخی پژوهش‌ها افزایش سرعت آپوپتوز را به دنبال فعالیت ورزشی گزارش دادند (۱۲،۱۳). علاوه بر فعالیت ورزشی نشان داده شده که برخی مواد غذایی با منشأ طبیعی نیز می‌تواند بر بهبود عملکرد قلبی و جلوگیری از آسیب‌های ناشی از چاقی نقش داشته باشد. یکی از این مواد غذایی ژل رویال (RJ) است. RJ از غده هیپوفارنکس زنبورهای کارگر ترشح شده و به دلیل خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بسیار مورد توجه است. RJ از مواد زیستی فعالی مختلفی مانند آب (۶۰-۵۰ درصد)، پروتئین (۱۸ درصد)، کربوهیدرات‌ها (۱۵ درصد)، چربی‌ها (۶-۳ درصد)، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و نمک‌های معدنی (۵/۵ درصد) تشکیل شده است (۱۴،۱۵). RJ حاوی بسیاری از ترکیبات فعال و آنتی‌اکسیدان‌ها مانند پلی‌فنول‌ها است (۱۶). همچنین دارای اثرات ضد تومور، آنتی‌اکسیدان، ضد دیابت، ضد حساسیت، ضد باکتری، ضد التهاب و فشار خون است. ویتامین‌های زیادی در RJ مانند فولات، اینوزیتول، ریپوفلاوین، ویتامین B6 وجود دارد (۱۷). در پژوهشی نشان داده شده RJ قادر است با تاثیر بر مسیر کاسپاز و Bcl-2 باعث کاهش آسیب بافت عضلانی ناشی از فلوراید در موش‌های صحرایی شود (۱۸). همچنین در مطالعات آزمایشگاهی نیز اثر مثبت RJ بر بیان نسبی BCL2 و BAX در تخمک و همچنین HAS2، BAX، BCL2، PTGS2 و STAR در سلول‌های کومولوس نشان داده شد (۱۹). با این وجود در مطالعه‌ای روی سلول‌های انسانی نشان داده شد که دوز بالای RJ باعث افزایش مرگ سلولی و کاهش نسبت بقای سلول به تکثیر سلولی شده و باعث آسیب سلولی می‌شود (۲۰). با توجه به تناقض در یافته‌ها در آپوپتوز عضله قلبی به دنبال فعالیت ورزشی و همچنین مصرف RJ از یک طرف و همچنین از طرف دیگر با توجه به اهمیت AT و مصرف مکمل‌های طبیعی برای کنترل چاقی و تاثیری که بر سلامت سیستم قلبی عروقی و سلامتی دارد، این موضوع یکی از چالش‌های جدی است که می‌تواند ذهن پژوهشگران را به خود جلب نماید. همچنین فرض محقق این است که اثر همزمان AT با

شیوع چاقی در سراسر جهان افزایش یافته و به حد همه‌گیری رسیده است (۱). چاقی با اختلال در ساختار و عملکرد قلب همراه بوده و منجر به افزایش عوامل خطرزای قلبی عروقی مانند فشار خون بالا، دیس لیپیدمی و التهاب شده است (۲). در مجموع، این عوامل باعث ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی (CVD) شده که عامل ۳۰ درصد مرگ و میرها در سطح جهان است (۳). نتایج مطالعات نشان داده که مصرف بیش از حد رژیم غذایی پرچرب با اختلال در عملکرد سلول‌های قلبی، آسیب به میتوکندری و تنظیم افزایشی پروتئین‌های آپوپتوزی عضلات قلب همراه است (۴،۵). آپوپتوز یکی از مهمترین عوامل ایجاد CVD بوده و مطالعات نشان می‌دهد عواملی همچون ایسکمی، سالمندی و چاقی باعث تشدید آپوپتوز شده و از این طریق باعث گسترش CVD می‌شود (۶،۷). آپوپتوز، برنامه خودکشی فیزیولوژیکی سلولی بوده و ممکن است در بسیاری از بی‌نظمی‌های بالینی قلب نقش داشته باشد. آپوپتوز توسط گروهی از خانواده Bcl2^۱ کنترل می‌شود. علاوه بر Bcl2^۱، Bax^۲ نیز از پروتئین‌های مهم تنظیم‌کننده آپوپتوز می‌باشد. Bcl2 به عنوان پروتئین ضدآپوپتوزی، سلول قلبی را در مقابل مرگ سلولی محافظت کرده، در حالی که Bax یک پروتئین پیش‌آپوپتوزی می‌باشد و به طی آپوپتوز تنظیم افزایشی دارد. افزایش نسبت Bax به Bcl2 به عنوان یک معیار برای القا آپوپتوز در بافت‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸). 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 می‌باشد (۹). فعالیت ورزشی هوازی (AT) یکی از برنامه‌های تمرینی است که در پژوهش‌ها بررسی شده است. در پژوهشی نشان داده شده که AT به مدت ۱۲ هفته باعث بهبود نشانگرهای آپوپتوز در بافت قلبی موش‌های چاق شد (۱۰). همچنین بیان شده که ۹ هفته AT با شدت متوسط با کاهش فعالیت کاسپاز و همچنین کاهش قطعه

^۱ B- Cell Lymphoma 2^۲ Bcl-2-Like Protein 4

پروتکل تمرین

قبل از شروع تمرین اصلی و به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط نوارگردان، موش‌ها در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰-۸ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه AT شامل دویدن روی نوارگردان (شرکت تجهیز گستر امید ایرانیان، ساخت ایران، ۱۰ لاین) با شیب صفر درصد به مدت هشت هفته و پنج روز هفته بود. در هفته اول موش‌ها یک برنامه تمرینی هوازی فزاینده را روی نوارگردان 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 رسیده و زمان فعالیت نیز به ۶۰ دقیقه افزایش یافت (جدول ۱) (۲۲). به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان)، شد؛ بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرک صوتی استفاده شده و پس از شرطی نمودن موش‌ها به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد.

جدول ۱. قرارداد تمرین

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
شدت (متر)	۱۵	۱۶	۱۸	۲۰	۲۱	۲۳	۲۵
مدت (دقیقه)	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰

نحوه مصرف ژل رویال (RJ)

پودر RJ از شرکت (Bulk Supplements Co, Ltd Henderson, USA) خریداری شد. گروه مکمل، روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم RJ (به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) رقیق شده در آب مقطر را به صورت خوراکی دریافت کردند (۲۳).

روش نمونه‌گیری از بافت قلب

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg)

مصرف RJ می‌تواند اثر بیشتری نسبت به هر کدام بر شاخص‌های آپوتوز بافت قلب در موش‌های چاق داشته باشد. با وجود این، سازوکارهای سلولی AT و RJ به خوبی شناسایی نشده است. لذا در این پژوهش اثر همزمان AT و RJ بر بیان Bax و Bcl2 عضله قلبی موش‌های صحرائی چاق مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی بوده و تعداد ۴۵ سر موش صحرائی نر ۸ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزن ۹/۳۷ \pm ۱۸۷/۵۱ گرم از مؤسسه پاستور تهیه شد و به آزمایشگاه حیوانی منتقل شدند. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معناداری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵٪ (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم افزار (Medcalc 18.2.1 سر در هر گروه) تعیین شد. حیوانات مورد آزمایش به صورت جداگانه در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت $55/6 \pm 4$ درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش‌ها به دو گروه رژیم غذایی عادی ($n=8$ ، ND) و رژیم غذایی پرچرب (HFD، $n=36$) تقسیم شدند. موش‌های گروه ND به مدت هشت 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 استفاده کردند. غذای پرچرب شامل ۱۷ درصد پروتئین، ۴۳ درصد کربوهیدرات و ۴۰ درصد چربی بود. غذای استاندارد و غذای پرچرب با هماهنگی مؤسسه پاستور تهیه شد (۲۱). بعد از هشت هفته همه موش‌ها به ۵ گروه: رژیم غذایی عادی (ND)، پرچرب (HFD)، پرچرب-تمرین (HFDT)، پرچرب-ژل رویال (HFDRJ) و پرچرب-تمرین-ژل رویال (HFDTRJ) تقسیم شدند. بعد از دوره القای چاقی و در شروع دوره تمرینی و خوراندن مکمل، رژیم غذایی پرچرب به رژیم غذایی عادی تغییر یافت.

Roche Real-time PCR با استفاده از دستگاه LightCycler 480 Real Time PCR Detection System انجام شد. برای اندازه‌گیری mRNA، امیکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم RNase-1 (Promega) و free DNase-I (Promega) تیمار شد. واکنش Real-time PCR با استفاده از دستگاه SYBR Green qPCR Master Mix انجام شد. قرارداد چرخه‌های حرارتی مورد استفاده -Real time PCR شامل: ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ دور ۳۰° ثانیه‌ای در حرارت ۹۵°، ۳۰ ثانیه در ۶۰° و ۵ ثانیه در ۷۲° بود. سپس در دمای ۷۲° درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شد. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای طبیعی سازی بیان ژن از فرمول (کنترل) -ct (هدف) $\Delta ct = ct$ استفاده گردید. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن‌ها با Δct ، برای کمی‌کردن نتیجه حاصل از تغییرات ct نمونه‌ها، این عدد در فرمول $2^{-\Delta ct}$ وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لون، برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و سطح معناداری آزمون‌ها $p \geq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

میانگین وزن گروه‌ها قبل و در دوره القای چاقی و همچنین بعد از القای چاقی در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است.

بی‌هوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی و شست‌وشو با سالیین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و ۱۱:۳۰ به اتمام رسید.

روش اندازه‌گیری بیان ژن‌ها

طراحی و آماده‌سازی آغازگرها (پرایمر): جدول ۲ الگوی آغازگر را نمایش می‌دهد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲. توالی آغازگرهای BAX و Bcl2 به همراه ژن کنترل

Genes	Primer Sequences
β -Actin	Forward: 5'-AGGAGTACGATGAGTCCGGC-3' Reverse: 5'-CGCAGCTCAGTAACAGTCCG-3'
BAX	Forward: 5'-CTAGAGGATGGCTGCACTAAACA-3' Reverse: 5'-AAGCAAACAGGGCCAATGT-3'
Bcl2	Forward: 5'-GCAAGATGCACATTACCCTCT-3' Reverse: 5'-CAGCGTGTGATCTTGCAC-3'

انجام Real time-PCR

۲۰ میلی‌گرم از بافت با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوب شده، سپس با استفاده از محلول تیازول، RNA کل سلول‌ها استخراج و با استفاده از کیت RNeasy (کیازن، آلمان) خالص‌سازی شد. به منظور اطمینان از غلظت مناسب RNA استخراج شده، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ (ND-1000 NANODROP spectrophotometer 385) خوانده شد. طبق شیوه‌نامه شرکت سازنده (Thermo Scientific, USA) سنتز شده و جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. cDNA سنتز شده با استفاده از Thermo Scientific, SYBR Green master mix (USA) و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۲ تکثیر شد.

جدول ۳. میانگین وزن گروه‌ها قبل و در دوره القای چاقی

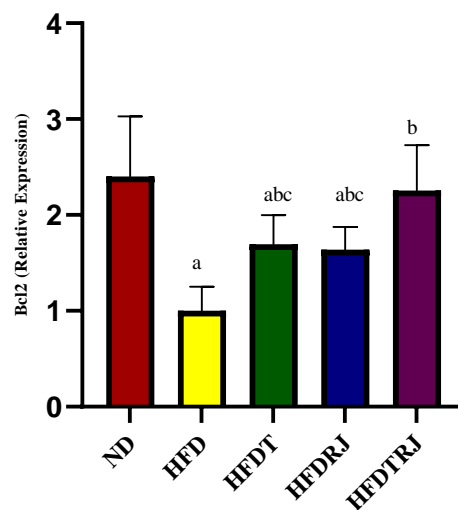
دوره	قبل از القای چاقی		القای چاقی			گروه بندی	سن (هفته) گروه‌ها
	موش ۸ هفته‌ای	بعد از سازگاری	هفته اول	هفته دوم	هفته چهارم		
سن (هفته) گروه‌ها	هشت	نه	ده	یازده	دوازده	سیزده	چهارده
ND (n=۹)	۱۸۷/۵۱±۹/۳۷	۲۰۰/۵۱±۱۶/۲۶	۲۱۱/۳۳±۱۹/۳۴	۲۱۶/۳۳±۱۷/۶۶	۲۴۵/۲۲±۱۶/۵۱	۲۵۷/۲۲±۲۲/۸۱	۲۷۰/۱۱±۲۷/۵۵
HFD (n=۳۶)			۲۰۹/۶۱±۲۲/۷۴	۲۳۳/۵۶±۱۳/۹۰	۲۷۱/۸۹±۲۱/۲۰	۳۱۰/۵۸±۲۱/۶۸	۳۵۰/۸۳±۴۱/۰۱

جدول ۴. میانگین وزن گروه‌ها بعد از القای چاقی

سن (هفته) گروه‌ها	اعمال متغیر مستقل				
	شروع هفته اول	هفته دوم	هفته چهارم	هفته ششم	هفته هشتم
ND (n=۹)	۲۷۰/۱۱ ± ۲۷/۵۵	۲۸۱/۷۸ ± ۲۴/۱۳	۲۹۱/۵۵ ± ۳۲/۹۴	۲۹۷/۸۸ ± ۳۶/۰۶	۳۱۰/۸۸ ± ۳۸/۹۵
HFD (n=۹)	۳۴۳/۶۶ ± ۵۰/۹۰	۳۸۴/۳۳ ± ۲۳/۵۴	۴۱۰/۴۴ ± ۴۷/۶۵	۴۳۵/۱۱ ± ۸۱/۸۶	۴۶۱/۱۱ ± ۳۷/۹۴
HFDTRJ (n=۹)	۳۵۲/۸۸ ± ۴۲/۷۲	۳۷۴/۲۲ ± ۲۳/۳۸	۳۸۹/۷۷ ± ۴۳/۳۳	۴۱۱/۵۵ ± ۳۷/۵۶	۴۱۴/۰۰ ± ۴۹/۰۵
HFDTRJ (n=۹)	۳۴۸/۴۴ ± ۳۷/۹۸	۳۷۷/۱۱ ± ۲۳/۱۲	۳۹۸/۸۸ ± ۵۱/۶۸	۴۱۵/۸۸ ± ۵۱/۶۸	۴۲۳/۷۷ ± ۴۹/۱۱
HFDTRJ (n=۹)	۳۵۸/۳۳ ± ۳۶/۹۷	۳۶۸/۴۴ ± ۲۱/۴۸	۳۷۸/۶۶ ± ۴۵/۴۳	۳۸۷/۲۲ ± ۵۰/۳۱	۳۹۰/۵۵ ± ۴۰/۱۲

تفاوت HFDTRJ و HFDTRJ ($P=۰/۰۱۶$) و HFDTRJ ($P=۰/۰۰۰۱$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. علاوه بر این بین گروه HFDTRJ با گروه‌های HFDTRJ ($P=۰/۰۴۲$) و HFDTRJ ($P=۰/۰۲۰$) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان Bcl2 بافت قلبی بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=۴۳/۱۶۹$, $P=۰/۰۰۰۱$) (نمودار ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد بین گروه‌های ND با HFD ($P=۰/۰۰۰۱$)، HFDTRJ ($P=۰/۰۰۲$) و HFDTRJ ($P=۰/۰۰۶$)، HFDTRJ ($P=۰/۰۰۷$) و همچنین بین گروه HFD با HFDTRJ ($P=۰/۰۰۷$)،

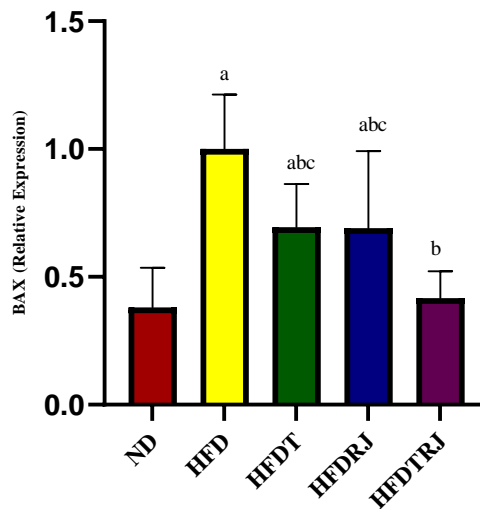


نمودار ۱. تغییرات بیان Bcl2 بافت قلب در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ($P \leq ۰/۰۰۵$)

a تفاوت با ND، b تفاوت با گروه HFD، c تفاوت با گروه HFDTRJ. ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین ژل رویال

HFDTRJ و HFDTRJ ($P=0/017$)، HFDTRJ ($P=0/019$) و HFDTRJ ($P=0/0001$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. علاوه بر این بین گروه HFDTRJ با گروه‌های HFDT ($P=0/040$) و HFDTRJ ($P=0/044$) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

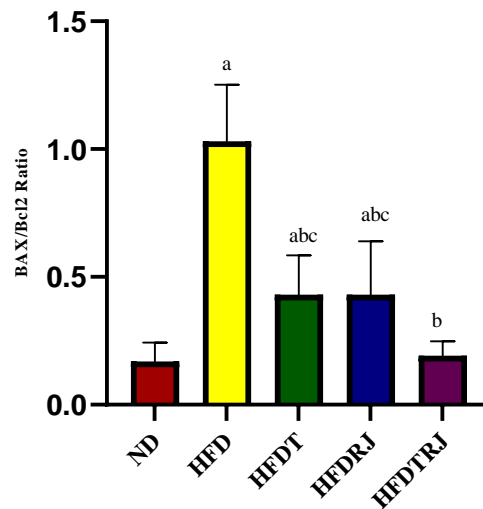
همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان BAX بافت قلبی بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=14/241$, $P=0/0001$) (نمودار ۲). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد بین گروه‌های ND با HFD ($P=0/0001$)، HFDT ($P=0/015$) و HFDTRJ ($P=0/016$) و همچنین بین گروه HFD با HFDT



نمودار ۲. تغییرات بیان BAX بافت قلب در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (در سطح $P \leq 0/05$)
 a تفاوت با ND، b تفاوت با گروه HFD، c تفاوت با گروه HFDTRJ. ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDT: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین-ژل رویال

HFDT ($P=0/0001$)، HFDTRJ ($P=0/0001$) و HFDTRJ ($P=0/0001$) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. علاوه بر این بین گروه HFDTRJ با گروه‌های HFDT ($P=0/021$) و HFDTRJ ($P=0/020$) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات نسبت BAX/ Bcl2 بافت قلبی بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($P=0/0001$)، ($F=14/241$) (نمودار ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد بین گروه‌های ND با HFD ($P=0/0001$)، HFDT ($P=0/010$) و HFDTRJ ($P=0/009$) و همچنین بین گروه HFD با



نمودار ۳. تغییرات نسبت BAX/ Bcl2 بافت قلب در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (در سطح $P \leq 0.05$)

a تفاوت با ND، b تفاوت با گروه HFD، c تفاوت با گروه HFDTRJ

ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-ژل رویال، HFDTRJ: رژیم غذایی پرچرب-تمرین-ژل رویال.

بحث

دادند که AT با کاهش BAX و افزایش کاسپاز-۳ و Bcl2 در بافت قلبی موش‌های صحرائی باعث تعدیل آپوتوز می‌شود (۳۱). با این وجود صفرزاده گرگری و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که دو ماه تمرین تداومی تاثیر معنی‌داری بر سطوح BAX و Bcl2 و همچنین نسبت BAX/Bcl2 در موش‌های مسموم شده با آب اکسیژنه ندارد (۳۲). شاید تفاوت در نمونه‌های مورد پژوهش (چاق در مقابل مسموم شده با آب اکسیژنه) باعث تفاوت در این یافته‌ها شده است. شواهد نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی منظم، به عنوان یک روش درمانی و سبک زندگی، برای بسیاری از بیماری‌ها مفید است. به عنوان مثال، AT التهاب ناشی از چاقی را در عضلات اسکلتی و کبد کاهش می‌دهد (۳۳). فعالیت ورزشی استرس اکسیداتیو را در بافت قلبی از طریق مهار بیان گیرنده LOX-1 کاهش داده (۳۴)، علاوه بر این توانبخشی قلبی با فعالیت ورزشی می‌تواند میزان بستری شدن در بیمارستان، مرگ و میر ناشی از بیماری قلبی عروقی را کاهش داده و باعث بهبود کیفیت زندگی شود (۳۵). چن و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند AT منظم به طور موثری از افزایش وزن جلوگیری کرده و متابولیسم چربی را در موش‌های

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که شاخص ضد آپوتوزی Bcl2 در گروه HFD نسبت به گروه ND کاهش معنی‌داری داشت، همچنین میزان Bax و نسبت Bax/Bcl2 نیز در گروه HFD به طور معنی‌داری افزایش یافت. گزارش‌های قبلی نشان داده‌اند چاقی با التهاب مزمن (۲۴)، که شامل افزایش سیتوکین‌های التهابی (۲۵) و جذب لکوسیت به بافت‌های التهابی (۲۶) همراه است. این فرآیندها فیبروز و آپوتوز کاردیومیوسیت را آغاز کرده و در نهایت منجر به اختلال عملکرد قلبی می‌شود (۲۷). همان‌طور که نشان داده، بین التهاب مزمن و عوارض مرتبط با چاقی ارتباط وجود دارد (۲۸). وانگ و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که التهاب میوکارد ناشی از HFD احتمالاً به صورت اثر مستقیم و غیرمستقیم باعث افزایش سطح پروتئین فیبروزیک و آپوتوز می‌شود (۲۹). با این وجود در پژوهش حاضر نشان داده شد که AT باعث معکوس شدن این روند در موش‌های HFD شد. در این راستا قجری و همکاران (۱۳۹۸) نشان دادند که یک دوره تمرین استقامتی Bcl2 قلبی موش‌ها را افزایش داده و به طور همزمان باعث کاهش معنی‌دار در BAX شده است (۳۰). همچنین صدیقی و همکاران (۱۳۹۸) در پژوهشی نشان

آپوپتوزی و سرطانی می‌باشد. به عنوان مثال، بوسله و همکاران (۲۰۲۰) نشان داده‌اند که ترکیبات پلی‌فنول‌ها فعالیت ضد سرطانی خود را از طریق چندین روش از جمله حذف سلول از طریق تغییر مسیرهای سیگنالینگ، سرکوب فعالیت‌های چرخه سلولی و تحریک آپوپتوز و همچنین ضد متاستاز و ضد رگ‌زایی نشان می‌دهند (۴۵). کوپوستین اسکین و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داده‌اند که فلاونوئیدها اثرات ضد سرطانی 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 (۴۶). اخیراً حسین‌زاده و همکاران (۱۴۰۰) نیز نشان دادند که مصرف RJ در موش‌های چاق با تاثیر بر بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی باعث محافظت قلب در برابر HFD می‌شود (۴۷). در این پژوهش نسبت Bax به Bcl2 نیز به دنبال AT و مصرف RJ بهبود یافت. نسبت Bax به Bcl2 معیاری برای نشان دادن احتمال آپوپتوز در میتوکندری می‌باشد که Bcl2 با فعالیت پیش‌آپوپتوزی Bax با جلوگیری از جابجایی آن در میتوکندری مخالفت می‌کند. ورود Bax به میتوکندری و رهای سیتوکرم C باعث شروع سیگنالینگ آپوپتوتیک آبشارهای کاسپاز پایین دستی می‌شود (۳۹). همراستا با این نتایج کواک و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که فعالیت ورزشی باعث کاهش نسبت Bax به Bcl2 در بطن چپ موش‌های مسن می‌شود (۴۰). با این وجود لیو و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که فعالیت استقامتی موجب افزایش نسبت Bax به Bcl2 در عضلات اسکلتی موش‌های می‌شود (۴۱). شاید تفاوت در عوامل موثر بر تمرین مثل شدت، مدت، نوع تمرین و همچنین بافت مورد بررسی 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 AT و RJ باعث اثرات هم‌افزایی شده و منجر به این نتایج شده است. همانطور که قبلاً اشاره شده AT و مکمل RJ با تاثیر بر وضعیت اکسیدانی می‌تواند در بهبود آپتوز نقش داشته باشد. در این راستا حسین‌زاده و همکاران (۱۴۰۰) در

HFD کاهش می‌دهد. علاوه بر این، سطح سرمی β -1L، کاسپاز-۱ و NLRP3 در تمام موش‌هایی که تحت درمان با فعالیت ورزشی قرار گرفتند کاهش یافت. همچنین فعالیت ورزشی نشانگرهای آپوپتوز و فیروز را در بافت قلبی موش‌های HFD مانند کاسپاز-۳، Bax و رسوب کلاژن I را کاهش داد. این نتایج نشان داد که AT منظم به طور موثر تغییر شکل قلب را بهبود می‌بخشد (۳۶). سازوکار بهبود شاخص‌های آپوپتوز ناشی از فعالیت ورزشی ممکن است ناشی از تاثیر فعالیت ورزشی بر میتوکندری باشد. در این پژوهش عملکرد میتوکندری با افزایش میزان Bcl2 به عنوان مهمترین عامل مهار آپوپتوز بهبود یافته است. مهمترین نقش میتوکندری در آپوپتوز، مهار رهاسازی سیتوکرم C به درون سیتوزول بوده و منجر به افزایش پتانسیل غشای میتوکندری می‌شود. این پتانسیل برای تولید انرژی ATP و حفظ هومئوستاز سلولی ضروری می‌باشد (۳۷). علاوه بر مهار رهاسازی سیتوکرم C، فعالیت‌های بدنی با کاهش گونه‌های فعال اکسیژن در میتوکندری‌ها در کاهش آپوپتوز قلب نقش دارند (۳۸).

از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش معنی‌دار Bcl2 و همچنین کاهش معنی‌دار Bax به دنبال مصرف RJ بود. هم‌راستا با پژوهش حاضر اصلان و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که RJ 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 پروتئین‌های Bcl-2، COX-2، TNF- α و GSK3 را کاهش می‌دهد (۴۲). همچنین همین محققین در پژوهش دیگری نشان دادند که RJ با تاثیر بر کاسپاز-۳ و Bcl2 باعث محافظت از عضلات اسکلتی در برابر آسیب ناشی از فلوراید می‌شود (۱۸). البلوی و همکاران (۲۰۲۲) نیز در پژوهشی نشان دادند که RJ با افزایش بر سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx، CAT و SOD و همچنین بیان ژن‌های کاسپاز-۳ و Bax باعث کاهش سرعت پیشرفت تومور می‌شود (۴۳). مطالعات قبلی نشان داده که RJ حاوی چندین ترکیب فعال‌زیستی مانند پپتیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب (مانند ۱۰-هیدروکسی دکانویک اسید)، پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها (مانند پینوسمبرین، کوئرستین و گالاتین) است (۴۴). و این ترکیبات دارای اثرات ضد

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب پایان‌نامه در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی انجام شد. بدین وسیله، نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از افراد شرکت‌کننده در این پژوهش اعلام می‌دارند.

ملاحظات اخلاقی

همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای مؤسسه ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. همچنین این پژوهش با تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت با کد IR.IAU.M.REC.1400.028 به تصویب رسیده است.

تعارض و منافع

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

پژوهشی نشان دادند که ترکیب AT و RJ نسبت به هر کدام به تنهایی باعث بهبود فشار اکسایشی بافت قلب موش‌های HFD می‌شود (۴۷). همچنین در پژوهش دیگر نیز نشان داده شده که AT و مکمل بربرین کلراید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند باعث بهبود فشار اکسایشی در موش‌های دیابتی شود (۴۸).

نتیجه گیری

مطالعه ما نشان داد که رژیم غذایی پرچرب در موش‌های صحرایی باعث کاهش پروتئین ضد آپوتوزی Bcl2 و افزایش BAX و نسبت Bax/Bcl2 قلب شده و نقش بالقوه مهمی در پیشرفت آپوتوز قلبی دارد. درمان با AT و RJ، نشانگرهای آپوتوز قلبی را در موش‌های صحرایی HFD کاهش داده و عملکرد قلبی را بهبود می‌بخشد. بنابراین، تعامل AT و RJ یک راهبرد مؤثر برای بهبود آسیب قلبی مربوط به رژیم غذایی با چربی بالا می‌باشد.

منابع

- Ortega FB, Lavie CJ, Blair SN. Obesity and cardiovascular disease. *Circulation Research* 2016;118(11):1752-70. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306883.
- Apovian CM, Gokce N. Obesity and cardiovascular disease. *Circulation* 2012;125(9):1178-82. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.022541.
- WHO I. Obesity and overweight 2018.
- He Y, Shi M, Wu J, Sun Z, Guo J, Liu Y, et al. Effects of a high-fat diet on intracellular calcium (Ca²⁺) handling and cardiac remodeling in Wistar rats without hyperlipidemia. *Ultrastructural Pathology* 2020;44(1):42-51. doi: 10.1080/01913123.2019.1709932.
- Relling DP, Esberg LB, Fang CX, Johnson WT, Murphy EJ, Carlson EC, et al. High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. *Journal of Hypertension* 2006;24(3):549-61. doi: 10.1097/01.hjh.0000203846.34314.94.
- 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. doi: 10.1016/j.ahj.2019.09.016.
- 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):1-6. doi:10.5812/gct.101963
- Lee S-D, Kuo W-W, Wu C-H, Lin Y-M, Lin JA, Lu M-C, et al. Effects of short-and long-term hypobaric hypoxia on Bcl2 family in rat heart. *International Journal of Cardiology*

- 2006;108(3):376-84. doi: 10.1016/j.ijcard.2005.05.046.
9. Cury-Boaventura MF, Levada-Pires AC, Folador A, Gorjão R, Alba-Loureiro TC, Hirabara SM, et al. Effects of exercise on leukocyte death: prevention by hydrolyzed whey protein enriched with glutamine dipeptide. *European Journal of Applied Physiology* 2008;103(3):289. doi: 10.1007/s00421-008-0702-1.
 10. Lee S-D, Shyu W-C, Cheng I-S, Kuo C-H, Chan Y-S, Lin Y-M, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2013;23(6):566-73. doi: 10.1016/j.numecd.2011.11.002.
 11. Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. *Journal of Applied Physiology* 2008;105(6):1934-43. doi: 10.1152/japplphysiol.00037.2008.
 12. Javid Tabrizi N, Bashiri J, Narimani Rad M. Effect of 12 weeks of treadmill aerobic training on cytochrome c and caspase-9 gene expression in cardiac muscle of male rats. *Qom University of Medical Sciences Journal* 2017;11(6):1-9. URL: <http://journal.muq.ac.ir/article-1-869-en.html>
 13. Ho T-J, Huang C-C, Huang C-Y, Lin W-T. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, protects against excessive endurance exercise training-induced cardiac hypertrophy, apoptosis and fibrosis in rats. *European Journal of Applied Physiology* 2012;112(8):2943-55. doi: 10.1007/s00421-011-2270-z.
 14. Demir E, Aslan A. Protective effect of pristine C60 fullerene nanoparticle in combination with curcumin against hyperglycemia-induced kidney damage in diabetes caused by streptozotocin. *Journal of Food Biochemistry* 2020;44(11):e13470. doi: 10.1111/jfbc.13470.
 15. Aslan A, Gok O, Beyaz S, Ağca CA, Erman O, Zerek A. Ellagic acid prevents kidney injury and oxidative damage via regulation of Nrf-2/NF-κB signaling in carbon tetrachloride induced rats. *Molecular Biology Reports* 2020;47(10):7959-70. doi: 10.1007/s11033-020-05873-x.
 16. Hossen MS, Ali MY, Jahurul M, Abdel-Daim MM, Gan SH, Khalil MI. Beneficial roles of honey polyphenols against some human degenerative diseases: A review. *Pharmacological Reports* 2017;69(6):1194-205. doi: 10.1016/j.pharep.2017.07.002.
 17. 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
 18. Aslan A, Can MI, Gok O, Beyaz S, Parlak G, Ozercan IH. The inducing of caspase and Bcl-2 pathway with royal jelly decreases the muscle tissue damage exposed with fluoride in rats. *Environmental Science and Pollution Research* 2022;29(7):10547-57. doi: 10.1007/s11356-021-16456-z.
 19. Valiollahpoor Amiri M, Deldar H, Ansari Pirsaraei Z. Impact of supplementary royal jelly on in vitro maturation of sheep oocytes: genes involved in apoptosis and embryonic development. *Systems Biology in Reproductive Medicine* 2016;62(1):31-8. doi: 10.3109/19396368.2015.1088102.
 20. Jenkhetkan W, Thitiorul S, Jansom C, Ratanavalachai T. Molecular and cytogenetic effects of Thai royal jelly: modulation through c-MYC, h-TERT, NRF2, HO-1, BCL2, BAX and cyclins in human lymphocytes in vitro. *Mutagenesis* 2017;32(5):525-31. doi: 10.1093/mutage/gex020.
 21. Mostafavian M, Abdi A, Mehrabani J, Barari A. Effect of Eight Weeks of Aerobic Progressive Training with Capsaicin on Changes in PGC-1α and UPC-1 Expression in Visceral Adipose Tissue of Obese Rats With Diet. *Complementary Medicine Journal* 2020;10(2):106-17. <http://cmja.arakmu.ac.ir/article-1-733-en.html>
 22. Rocha-Rodrigues S, Rodríguez A, Gouveia AM, Gonçalves IO, Becerril S, Ramírez B, et al. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype

- modulation in rats fed a high-fat diet. *Life Sciences* 2016;165:100-8. doi: 10.1016/j.lfs.2016.09.023.
23. 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;17:1-13. doi: 10.1186/s12986-020-00458-8.
 24. Dake BL, Oltman CL. Cardiovascular, metabolic, and coronary dysfunction in high-Fat-Fed obesity-resistant/prone rats. *Obesity* 2015;23(3):623-9. doi: 10.1002/oby.21009.
 25. Saltiel AR, Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation* 2017;127(1):1-4. doi: 10.1172/JCI92035.
 26. Lee MK, Yvan-Charvet L, Masters SL, Murphy AJ, editors. The modern interleukin-1 superfamily: Divergent roles in obesity. *Seminars in Immunology* 2016;28(5):441-449. doi: 10.1016/j.smim.2016.10.001.
 27. Carvalheira JBC, Qiu Y, Chawla A. Blood spotlight on leukocytes and obesity. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2013;122(19):3263-7. doi: 10.1182/blood-2013-04-459446.
 28. Wu H, Ballantyne CM. Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. *The Journal of Clinical Investigation* 2017;127(1):43-54. doi: 10.1172/JCI88880.
 29. Wang Y, Qian Y, Fang Q, Zhong P, Li W, Wang L, et al. Saturated palmitic acid induces myocardial inflammatory injuries through direct binding to TLR4 accessory protein MD2. *Nature Communications* 2017;8(1):1-13. doi: 10.1038/ncomms13997.
 30. Ghajari H, Hosseini SA, Farsi S. The Effect of Endurance Training Along with Cadmium Consumption on Bcl-2 and Bax Gene Expressions in Heart Tissue of Rats. *Annals of Military and Health Sciences Research* 2019;17(1). doi:10.5812/amh.86795
 31. Sadighi A, Abdi A, Azarbayjani MA, Barari A. Effect of aerobic exercise on some factors of cardiac apoptosis in male rats. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences* 2019;23(5):495-502. URL: <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3792-en.html>
 32. 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
 33. Sun M, Dawood F, Wen W-H, Chen M, Dixon I, Kirshenbaum LA, et al. Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2004;110(20):3221-8. doi: 10.1161/01.CIR.0000147233.10318.23.
 34. 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.
 35. Riahi S, Mohammadi MT, Sobhani V, Soleimany M. Chronic effects of aerobic exercise on gene expression of LOX-1 receptor in the heart of rats fed with high fat diet. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2015;18(8):805. PMID: 26557970
 36. 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.
 37. Oh Y-S, Kwon H-Y, Jeong S-J, Park K-Y, Kim S-Y, Lee H-J, et al. Sojucktang induces apoptosis via loss of mitochondrial membrane potential and caspase-3 activation in KLE human endometrial cancer cells. *Chinese Science Bulletin* 2009;54(23):4387-92. doi.org/10.1007/s11434-009-0656-7

38. Razavi Majd Z, Matin Homae 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. URL: <http://jmp.ir/article-1-1344-en.html>
39. 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.
40. 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.
41. 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;2013:780719. doi: 10.1155/2013/780719. Epub 2013 Jan 9.
42. 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.
43. 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. doi: 10.1155/2022/7233997.
44. Martinello M, Mutinelli F. Antioxidant activity in bee products: A review. *Antioxidants*. 2021;10(1):71. doi: 10.3390/antiox10010071.
45. 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.
46. Kopustinskiene DM, Jakstas V, Savickas A, Bernatoniene J. Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*. 2020;12(2):457. doi: 10.3390/nu12020457.
47. 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/article-1-17599-en.html>
48. 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*. 2020;28(4):54-65. URL: <http://sjimu.medilam.ac.ir/article-1-6170-en.html>