

Research Paper



The Effect of Regular Aerobic Training and Melatonin Consumption on the Activity of NF- κ B and Nrf2 genes and Oxidant Factors in the Heart tissue of Male Wistar Rats Model of Type 1 Diabetes

Ali Aminiparsa¹ , Marina Shariati^{2,*} , Motahareh Joband¹ 

1. Department of Physical Education & Sport Sciences, Islamic Azad University, Ahvaz Branch. Ahvaz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Physical Education & Sport Sciences, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

Use your device to scan
and read the article online



Citation Aminiparsa A, Shariati M, Joband M. [The Effect of Regular Aerobic Training and Melatonin Consumption on the Activity of NF- κ B and Nrf2 genes and Oxidant Factors in the Heart tissue of Male Wistar Rats Model of Type 1 Diabetes (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2024; 23(3):233-244. 10.32592/JSMJ.23.3.233

 <https://doi.org/10.32592/JSMJ.23.3.233>

ABSTRACT

Background and Objectives NF- κ B and Nrf2 are key regulators of oxidative stress. This study investigated the effects of regular aerobic exercise and melatonin on NF- κ B and Nrf2 gene expression and oxidative stress markers in the heart tissue of diabetic male rats.

Subjects and Methods Forty male Wistar rats were randomly assigned to five groups: control, diabetic, diabetic + melatonin, diabetic + exercise, and diabetic + melatonin + exercise. Diabetes was induced by streptozotocin. Exercise groups underwent 42 days of treadmill running (15 m/min, 30 min/day). Melatonin (10 mg/kg) was administered intraperitoneally for 42 days. Heart tissue was analyzed for NF- κ B and Nrf2 gene expression (real-time PCR) and oxidative stress markers (MDA and TAC, ELISA).

Results Combined aerobic exercise and melatonin significantly decreased NF- κ B gene expression while increasing Nrf2 expression compared to the diabetic group. Moreover, MDA levels were reduced, and TAC levels were elevated in the treatment groups.

Conclusion Aerobic exercise and melatonin supplementation synergistically ameliorated diabetic cardiomyopathy by attenuating oxidative stress and inflammation. These findings suggest a potential preventive role for this combined intervention.

Keywords Diabetes, Aerobic exercise, Melatonin, Oxidative stress, Cardiomyopathy

Received: 04 Dec 2023

Accepted: 01 May 2024

Available Online: 08 May 2024

* Corresponding Author:

Marina Shariati

Address: Department of Physical Education & Sport Sciences, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

Tel: +98-9166174528

E-Mail: marina.shariati@yahoo.com

Extended Abstract

Introduction

Diabetes is a chronic and common metabolic disease worldwide. Diabetic cardiomyopathy is the most important cause of death in diabetic patients. Oxidative stress and chronic inflammation change the homeostatic metabolic regulation points, which leads to glucose intolerance. Excessive production of reactive oxygen species (ROS) in the mitochondria of diabetic people arises not only from intracellular hyperglycemia in small vessels but also from increased fat oxidation and lipid toxicity in the heart. Increased ROS levels stimulate inflammation by activating transcription factors such as nuclear factor kappa B (NF- κ B), which subsequently upregulates the expression of pro-inflammatory cytokines. In such conditions, the cellular system reacts after exposure to oxidative stress by activating defence pathways and activating transcription factors such as Nuclear factor-erythroid 2 related factor 2 (Nrf2). NRF2 is the main regulator of the antioxidant defense system in oxidative stress conditions, which has a protective role against stress damage. Based on the above, non-pharmacological interventions such as regular aerobic exercise and melatonin supplementation play an important role in reducing complications related to diabetes, including diabetic cardiomyopathy. Also, given the pivotal roles of NF- κ B and Nrf2 in modulating oxidative stress and inflammation, both implicated in diabetic cardiomyopathy, their gene expression analysis is crucial. The limited research on the impact of aerobic exercise and melatonin on NF- κ B and Nrf2 gene expression in the diabetic heart, as well as the absence of studies specifically examining their combined effect on these genes, underscores the need for further investigation. Therefore, this study investigated the effect of melatonin consumption on the activity of NF- κ B, Nrf2 genes and oxidant factors in the heart tissue of male desert rats model of type 1 diabetes.

Methods

In this experimental research, 40 8-week-old Wistar rats with a weight range of 204 ± 11.3 grams were obtained from the Animal Breeding Center of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, and placed in groups of four in standard polycarbonate cages at a temperature of 22 ± 2 . The rats were kept under 12:12 light-dark cycle with free access to water and rat special food. Following a one-week acclimatization period to the laboratory environment, including familiarization with light guide handling, rats were randomly assigned to five groups (n=8) including: 1- diabetes control, 2- diabetes+melatonin, 3- diabetes+exercise, 4- diabetes + melatonin + exercise, and 5- healthy control. After 12 hours of food deprivation, induction of diabetes was performed by intraperitoneal injection of streptozotocin solution (Sigma, St. Louis, MO), dissolved in 0.05 M citrate buffer with a pH of 4.5: 50 mg per kilogram of body weight to induce type 1 diabetes. Desert rats whose blood sugar exceeding 250 mg/dL were considered diabetic. Two weeks after the induction of diabetes, melatonin supplementation (10 mg/kg body weight)

was initiated concurrently with the aerobic exercise protocol. Melatonin, dissolved in ethanol-containing saline, was administered intraperitoneally daily for six weeks.

A six-week aerobic exercise protocol was implemented, consisting of five treadmill running sessions per week. Each session lasted 30 minutes at a speed of 15 meters per minute. At the conclusion of the six-week training program, 48 hours after the last training session, the rats were anesthetized by intraperitoneal injection of a combination of ketamine (90 mg/kg body weight) and xylazine (10 mg/kg body weight). Under sterile conditions, the abdominal cavity was opened and the heart tissue of the animals was subjected to biochemical analysis. After being washed with distilled water, the hearts of the animals were immediately frozen in a freezer at -70°C . Gene expression of NF- κ B and Nrf2 was assessed by real-time PCR, while malondialdehyde (MDA) levels and total antioxidant capacity (TAC) were determined using ELISA. The Shapiro-Wilk test was used to determine the normality of the data. To check the significance of the difference between the groups, one-way analysis of variance was used, and in case of significance, Tukey's post hoc test was used to determine the difference between the averages of two groups. Data analysis was done using SPSS-22 software at a significant level of $P > 0.05$.

Results

The results of the one-way analysis of variance test showed that the induction of diabetes caused a significant increase in NF- κ B gene expression in diabetic rats compared to the healthy control group ($P < 0.05$). Also, the level of NF- κ B gene expression in diabetes+melatonin, diabetes+exercise, and diabetes+melatonin+exercise groups was lower than that in the control diabetes group, but the difference was not statistically significant ($P < 0.05$). The results of the one-way analysis of variance test showed that induction of diabetes caused a significant decrease in the expression of the Nrf2 gene in diabetic rats compared to the healthy control group ($P < 0.05$). Also, the level of Nrf2 gene expression in the diabetes + melatonin + exercise group was significantly higher than that in the control diabetes group ($P < 0.05$). On the other hand, the level of Nrf2 gene expression in the diabetes+melatonin, and diabetes+exercise groups was higher compared with the control diabetes group, but the difference was not statistically significant ($P < 0.05$). The results of the one-way analysis of variance test showed that the induction of diabetes caused a significant increase in the amount of MDA in diabetic rats compared to the healthy control group ($P < 0.05$). Also, the amount of MDA in the diabetes+melatonin, diabetes+exercise, and diabetes+melatonin+exercise groups was lower than that in the control diabetes group, but the difference was not statistically significant ($P < 0.05$). The results of the one-way analysis of variance test showed that induction of diabetes led to a significant decrease in the amount of TAC in diabetic rats compared to the healthy control group ($P < 0.05$). Also, the amount of TAC in the diabetes + melatonin + exercise group was significantly higher than that in the control diabetes

group ($P < 0.05$). On the other hand, the amount of TAC in the diabetes + melatonin, diabetes + exercise groups were higher compared with the control diabetes group, but the difference was not statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusion

Diabetes causes diabetic cardiomyopathy by increasing Nrf2 and NF- κ B genes, which are important regulators of oxidative stress and inflammatory process. The use of aerobic exercises and melatonin can modulate Nrf2 and NF- κ B genes in the context of diabetic cardiomyopathy. Also, the results of the current research showed the synergistic effect of exercise training and melatonin supplementation on the improvement of factors related to diabetic cardiomyopathy.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

ethical principles of working with animals, according to the ethical guidelines of the national institutes for the care and use of laboratory animals (Helsinki protocol 2006) approved by the Islamic Azad University of Ahvaz branch (Ethics code: IR, IAU, AHVZ.REC1400/073).

Funding

There is no fund.

Authors contributions

Study concept and design: Marina Shariati ,and Ali Aminiparsa ;analysis and interpretation of data :Marina Shariati ;drafting of the manuscript :Marina Shariati ; critical revision of the manuscript for important intellectual content :Marina Shariati ,and Ali Aminiparsa, and Motahareh Joband ;statistical analysis :Marina Shariati, and Ali Aminiparsa.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors thank all those who have cooperated in this research

مقاله پژوهشی

اثر تمرینات هوازی منظم و مصرف ملاتونین بر فعالیت ژن های NF-κB و Nrf2 و عوامل اکسیدانی در بافت قلب رت های ویستار نر مدل دیابت نوع ۱

علی امینی پارسا^۱، مارینا شریعتی^{۲*}، مطهره جویند^۱۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایرانUse your device to scan
and read the article online**Citation** Aminiparsa A, Shariati M, Joband M. [The Effect of Regular Aerobic Training and Melatonin Consumption on the Activity of NF-κB and Nrf2 genes and Oxidant Factors in the Heart tissue of Male Wistar Rats Model of Type 1 Diabetes (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2024; 23(3):233-244. 10.32592/JSMJ.23.3.233 <https://doi.org/10.32592/JSMJ.23.3.233>

چکیده



زمینه و هدف تحقیقات نشان داده است که ژن های NF-κB، Nrf2 به عنوان تنظیم کننده های استرس اکسیداتیو هستند. هدف تحقیق حاضر اثر تمرینات هوازی منظم و مصرف ملاتونین بر فعالیت ژن های NF-κB و Nrf2 و عوامل اکسیدانی در بافت قلب رت های ویستار نر مدل دیابت نوع ۱ در بافت قلب رت های نر دیابتی بود.

روش بررسی ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی شامل دیابت، ۲- دیابت+ملاتونین، ۳- دیابت+تمرین، ۴- دیابت+ملاتونین+تمرین و ۵- سالم کنترل تقسیم شدند. مدل دیابت با تزریق ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین القا شد. گروه های تمرینی ۴۲ روز تمرین هوازی اجباری (شدت: ۱۵ متر در دقیقه؛ ۳۰ دقیقه) را با استفاده از تردمیل جوندگان انجام دادند. همچنین در گروه های تجویز ملاتونین، رت ها ۱۰ mg/kg ملاتونین (داخل صفاقی) را به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. پس از نمونه برداری از بافت قلب ژن های NF-κB و Nrf2 به روش ریل تایم پی سی آر اندازه گیری شدند.

یافته ها ورزش به همراه تجویز ملاتونین باعث کاهش معنی دار بیان ژن NF-κB شد. از سوی دیگر، میزان بیان ژن Nrf2 در گروه های تیمار نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت. همچنین، سطح MDA در بافت قلب در رت های ویستار به علاوه ورزش ملاتونین به طور معنی داری کاهش یافت. ولی سطح TAC در بافت قلب گروه درمان در مقایسه با رت های دیابتی افزایش یافت.

نتیجه گیری نتایج نشان داد که ورزش به همراه مکمل ملاتونین می تواند آسیب های قلبی ناشی از دیابت را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب بافت قلب بهبود بخشد و نقش پیش گیری کننده در کاردیومیوپاتی دیابتی داشته باشند.

کلیدواژه ها دیابت، تمرین هوازی، ملاتونین، استرس اکسیداتیو، کاردیومیوپاتی

تاریخ دریافت: ۱۳ آذر ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۲ اردیبهشت ۱۴۰۳

تاریخ انتشار: ۱۹ اردیبهشت ۱۴۰۳

نویسنده مسئول:

مارینا شریعتی

نشانی: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

تلفن: ۹۸-۹۱۶۶۱۷۴۵۲۸

رایانامه: marina.shariati@yahoo.com

مقدمه

سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی داشته باشد [۱۵].

یکی دیگر از مداخلات درمانی در دیابت استفاده از ملاتونین می‌باشد. ملاتونین به طور گسترده‌ای برای برخی موارد درمانی استفاده می‌شود، یا به عنوان یک داروی تجویز شده یا به عنوان یک مکمل بدون نسخه پزشکی، در بسیاری از کشورها قابل یافت می‌باشد. ملاتونین، یک هورمون عصبی درون‌زا است که توسط غده صنوبری (pineal gland) ترشح می‌شود و دارای انواع عملکردهای فیزیولوژیکی است [۱۶]. همچنین مشخص شده است که ملاتونین در تنظیم هومئوستاز گلوکز و خطر دیابت با تأثیرات جزئی بر چاقی نقش دارد [۱۷]. گیرنده‌های ملاتونین ممکن است پتانسیل درمانی داشته باشند زیرا آنها به خانواده گیرنده‌های پروتئین جفت شده G تعلق دارند [۱۷] و می‌تواند در اثربخشی درمان دارویی در کنترل گلیسمیک و عوارض دیابت مرتبط با هایپرگلیسمی موثر باشد.

بر اساس مطالب گفته شده مداخلات غیردارویی از جمله تمرینات هوازی منظم و همچنین مکمل ملاتونین نقش مهمی در کاهش عوارض مرتبط با دیابت از جمله کاردیومیوپاتی دیابتی دارد. همچنین با توجه به نقش ژن‌های NF-KB و Nrf2 به عنوان تنظیم کننده‌های مهم استرس اکسیداتیو و فرآیند التهابی به عنوان عوامل مرتبط با کاردیومیوپاتی دیابتی اندازه‌گیری این ژن‌ها اهمیت دارد. با توجه به مطالعات محدود در حیاطه تأثیر تمرین هوازی و ملاتونین بر بیان ژن NF-KB و Nrf2 در قلب بیماران دیابتی و نبود تحقیقی که به طور خاص به بررسی اثر تعاملی تمرین هوازی و مکمل ملاتونین بر این ژن‌ها انجام شده باشد، ضرورت تحقیق حاضر را نشان می‌دهد.

با توجه به مطالب گفته شده تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر مصرف ملاتونین بر فعالیت ژن‌های NF-KB، Nrf2 و عوامل اکسیدانی در بافت قلب رت‌های ویستار نر مدل دیابت نوع ۱ طراحی شد.

روش بررسی

در پژوهش تجربی حاضر تعداد ۴۰ سر رت نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با محدوده وزنی 11.3 ± 2.4 گرم از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در گروه‌های چهارتایی در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات در شرایط دمایی 22 ± 2 درجه سانتیگراد تحت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه رت نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، آشناسازی با نورگردان و دستکاری، رت‌ها به طور تصادفی به پنج گروه (n=8) شامل: ۱- دیابت کنترل، ۲- دیابت+ملاتونین، ۳- دیابت+تمرین، ۴- دیابت+ملاتونین+تمرین و ۵- سالم کنترل تقسیم شدند.

بیماری دیابت یک بیماری متابولیک مزمن و شایع در سطح جهان می‌باشد [۱]. آخرین برآوردها نشان می‌دهد که شیوع جهانی دیابت ۴۲۵ میلیون نفر در سال ۲۰۱۷ میلادی بود و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۴۵ میلادی به ۶۲۹ میلیون نفر افزایش یابد [۲]. دیابت به یکی از چالش‌های کلیدی پزشکی و اجتماعی تبدیل شده است. پیشگیری و درمان بهتر این بیماری از اولویت‌های اصلی سیستم‌های مراقبت بهداشتی می‌باشد [۱]. در کشور ایران، دیابت در رأس بیماری‌های غیرواگیر کشور قرار دارد و بروز سالانه دیابت نوع ۱ را در ایران ۳/۷ مورد در هر صد هزار نفر برآورد کرده‌اند [۴].

کاردیومیوپاتی دیابتی مهم‌ترین علت مرگ در بیماران دیابتی است [۵]. در همین راستا، التهاب و استرس اکسیداتیو به عنوان عوامل خطر اختلال عملکرد قلبی پس از دیابت به خوبی مستند شده است [۶، ۷]. استرس اکسیداتیو و التهاب مزمن باعث تغییر نقاط تنظیم متابولیک هموستاتیک می‌شود، که منجر به عدم تحمل گلوکز می‌شود. چندین مکانیسم خاص دیابت به پریشانی اکسیداتیو برجسته در قلب کمک می‌کند که منجر به ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی می‌شود. تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS-reactive oxygen species) در میتوکندری در افراد دیابتی نه تنها به دلیل هیپرگلیسمی داخل سلولی در عروق ریز ایجاد می‌شود، بلکه نتیجه افزایش اکسیداسیون چربی و سمیت چربی در قلب است [۶].

افزایش ROS با تحریک فاکتورهای رونویسی مانند فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-kB-Nuclear factor kappa B) باعث التهاب می‌شود که می‌تواند بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی را تحریک کند [۸]. در چنین شرایطی، سیستم سلولی پس از قرار گرفتن در معرض استرس اکسیداتیو با فعال کردن مسیرهای دفاعی و فعال کردن فاکتورهای رونویسی مانند فاکتور هسته ای اریتروئید ۲ مرتبط با فاکتور ۲ (Nuclear factor-2 related factor 2 (Nrf2-erythroid 2 related factor 2) واکنش نشان می‌دهد [۹]. NRF2 تنظیم کننده اصلی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در شرایط استرس اکسیداتیو است که نقش محافظتی در برابر آسیب‌های استرس دارد [۱۰]. در این زمینه، چندین مطالعه نشان داد که کاهش Nrf2 منجر به کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اختلال عملکرد میوکارد می‌شود [۱۱].

فعالیت بدنی و ورزش منظم، اصلاح رژیم غذایی و دارودرمانی برای کاهش عوارض ناشی از دیابت پیشنهاد شده است [۱، ۱۲، ۱۳]. همچنین مطالعات نشان داده است که تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی تأثیر مستقیمی بر کاهش عوارض ناشی از دیابت دارد [۱۴]. در این راستا راهکارهای مختلفی از جمله یک احتمال این است که فعالیت‌های ورزشی هم نقش جاذب کننده (کاهش سطح رادیکال‌های آزاد) و هم تقویت کننده

جندی شاپور

بی‌هوش شدند. برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، تحت شرایط استریل، پس از شکافتن حفره شکمی، بافت قلب حیوانات به دقت جدا و پس از شستشو با آب مقطر، بلافاصله در فریزر با دمای -70°C درجه سانتیگراد برای اندازه‌گیری ژن‌های NF- κ B و Nrf2 و سطوح مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde-MDA) و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (Total antioxidant capacity-TAC)، قرار داده شد.

ریل تایم پی سی آر (Real Time-PCR)

حدود ۵۰ میلی گرم از بافت قلب جهت استخراج RNA کل به نسبت ۱ به ۱۰ با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول در دمای 4°C درجه سانتیگراد، به مدت ۱۰ دقیقه، با دور 12000 g سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با محلول کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در دمای 4°C درجه سانتیگراد، به مدت ۱۵ دقیقه، با دور 12000 g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند.

بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت یک به ۰/۵ با محلول ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد و سپس در دمای 4°C درجه سانتیگراد، به مدت ۱۰ دقیقه، با دور 12000 g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در محلول اتانول شستشو و در 120 L آب RNAsw-free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع گردید. طبق شرکت (Eppendorf - Germany) و به نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تلخیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA تک رشته ای از پرایمر (Oligo dt MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد.

از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژنهای NF- κ B و Nrf2 به صورت کمی استفاده شد، هر واکنش PCR با استفاده از دستگاه (PCR master mix Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems, Foster City, CA). طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل 94°C درجه سانتی گراد برای ۲۰ ثانیه، $58-60^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و 72°C درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. ضمن اینکه از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. نسبت بیان ژن های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه ای چرخه آستانه (Threshold Cycle) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده ها در فرمول $R=2^{-(\Delta\Delta\text{CT})}$ میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری سطوح فعالیت آنزیم‌های قلبی: سطوح MDA و TAC با استفاده از روش الایزا تعیین شد.

القاء دیابت

بعد از پایان پروتکل آشناسازی و متعاقب ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، القاء دیابت با تزریق درون صفاقی محلول استروپتوزوتوسین (Sigma, St. Louis, MO)؛ حل شده در بافر سترات $M\ 0/05$ با $\text{PH: } 4/5$ ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به منظور ایجاد دیابت نوع ۱ صورت گرفت [۱۸]. به رت‌های غیردیابتی نیز معادل حجمی بافر سترات $M\ 0/05$ با $\text{PH } 4/5$ به صورت درون صفاقی تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانسست روی ورید دم، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و نوار توسط دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت روشه آلمان) اندازه گیری و رت‌های صحرائی که قند خون آنها بیشتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود، به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند [۱۸، ۳]. در طول دوره برنامه تمرینی هر هفته و نیز پایان دوره، قند خون رت‌ها اندازه گیری شد.

تزریق ملاتونین

دو هفته پی از القای دیابت، همراه با شروع پروتکل تمرین هوازی، مکمل ملاتونین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت درون صفاقی، حل شده در سالیین حاوی اتانول، به طور روزانه و به مدت ۶ هفته تزریق گردید [۱۹].

پروتکل تمرین هوازی

پروتکل تمرین هوازی در تحقیق حاضر به مدت شش هفته اجرا شد. ابتدا به منظور خوگیری به شرایط آزمایشگاه، نوارگردان ۵ روز در هفته، به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان مخصوص حیوانات راه رفتند. سپس گروه‌های ورزشی تحت تمرینات ورزشی با تواتر تمرین ۵ جلسه تمرین در هفته، به مدت ۶ هفته قرار گرفتند [۲۰]. سرعت و مدت تمرین هر هفته به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۴ تا ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۴ تا ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته چهارم و ۱۷ تا ۱۸ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته پنجم و ششم افزایش یافت. جهت رسیدن سازگاری های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند. تمام جلسات تمرینی در پایان سیکل خواب حیوانات و بین ساعت ۱۶-۱۸ عصر برگزار گردید [۲۰].

استخراج نمونه و روش اندازه گیری

در پایان شش هفته برنامه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها به وسیله تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۹۰ میلی-گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)

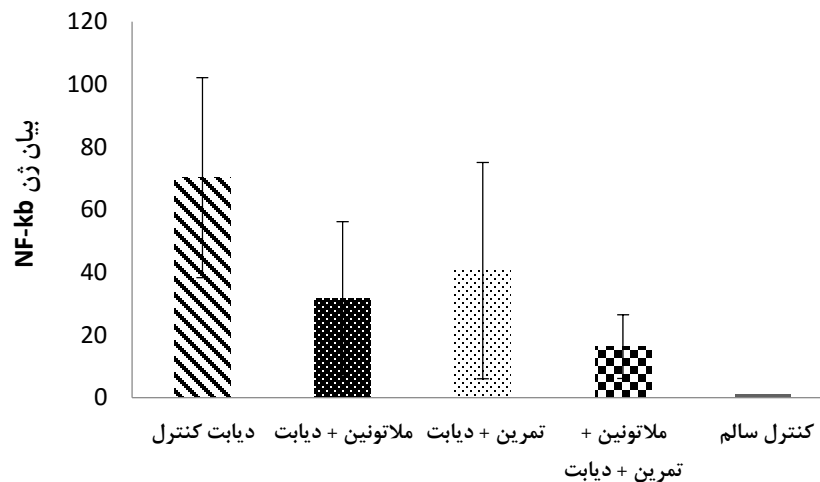
گروه‌های دیابت+ملاتونین، دیابت+تمرین و دیابت+ملاتونین+تمرین نسبت به گروه دیابت کنترل پائین‌تر بود اما از نظر آماری معنادار نبود ($P > 0.05$) (نمودار ۱).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که القاء دیابت موجب کاهش معنادار در میزان بیان ژن Nrf2 رت‌های دیابت در مقایسه با گروه سالم کنترل شد ($P < 0.05$). همچنین میزان بیان ژن Nrf2 در گروه دیابت+ملاتونین+تمرین به طور معناداری نسبت به گروه دیابت کنترل بالاتر بود ($P < 0.05$). از طرفی میزان بیان ژن Nrf2 در گروه‌های دیابت+ملاتونین، دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت کنترل بالاتر بود اما از نظر آماری معنادار نبود ($P > 0.05$) (نمودار ۲).

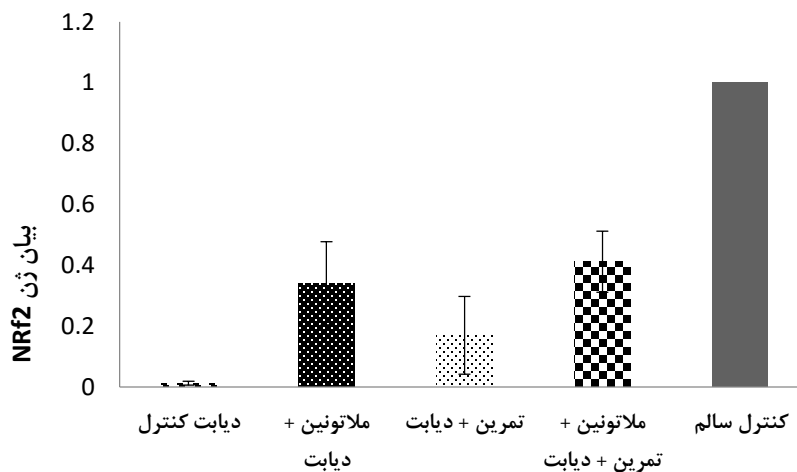
جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. برای بررسی معنی دار بودن اختلاف بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه و در صورت معنی داری، جهت تعیین تفاوت بین میانگین‌های دو گروهی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-22 در سطح معنی داری ($P < 0.05$) انجام شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که القاء دیابت موجب افزایش معنادار در میزان بیان ژن NF-KB رت‌های دیابت در مقایسه با گروه سالم کنترل شد ($P < 0.05$). همچنین میزان بیان ژن NF-KB در



نمودار ۱. مقایسه میانگین تغییرات میزان بیان ژن NF-KB در رت‌های گروه‌های مختلف.

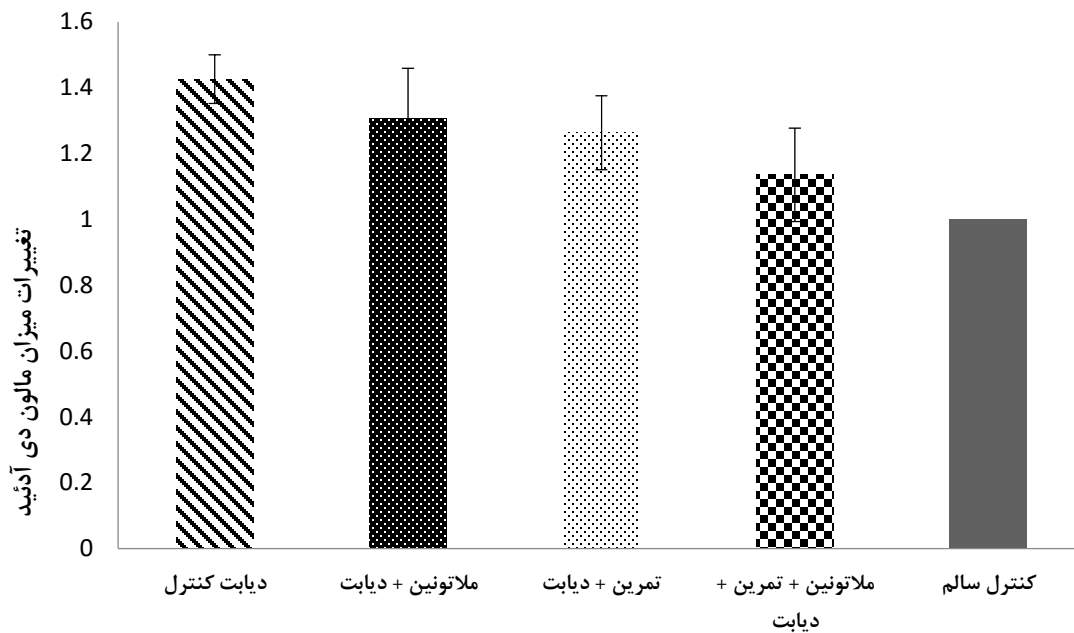


نمودار ۲. مقایسه میانگین تغییرات میزان بیان ژن Nrf2 در رت‌های گروه‌های مختلف.

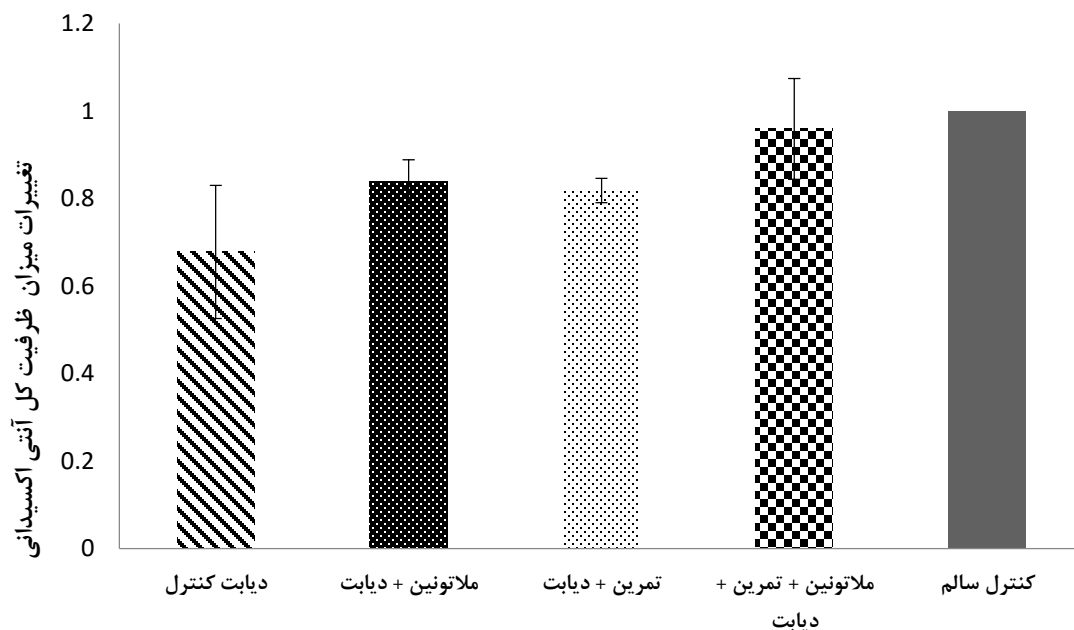
جندی شاپور

کاهش معنادار در میزان TAC رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه سالم کنترل شد ($P < 0.05$). همچنین میزان TAC در گروه دیابت+ملاتونین+تمرین به طور معناداری نسبت به گروه دیابت کنترل بالاتر بود ($P < 0.05$)؛ از طرفی میزان TAC در گروه‌های دیابت+ملاتونین، دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت کنترل بالا تر بود اما از نظر آماری معنادار نبود ($P > 0.05$) (نمودار ۴).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که القاء دیابت موجب افزایش معنادار در میزان MDA رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه سالم کنترل شد ($P < 0.05$). همچنین میزان MDA در گروه‌های دیابت+ملاتونین، دیابت+تمرین و دیابت+ملاتونین+تمرین نسبت به گروه دیابت کنترل پائین‌تر بود اما از نظر آماری معنادار نبود ($P > 0.05$) (نمودار ۳). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که القاء دیابت موجب



نمودار ۳. مقایسه میانگین تغییرات میزان MDA در رت‌های گروه‌های مختلف.



نمودار ۴. مقایسه میانگین تغییرات میزان TAC در رت‌های گروه‌های مختلف.

بحث

[۳۲، ۳۳]. در همین خصوص احمدی و همکاران گزارش کردند که ملاتونین دارای انواع فعالیت های بیولوژیکی و درمانی مطلوب مانند آنتی اکسیدان، ضد التهاب، ضد تومور، ضد دیابت و محافظت از قلب است و یکی از مکانیسم اثرهای ملاتونین بر کاهش عوارض دیابت، مسیر سیگنالینگ Nrf2 است که برخی از اثرات درمانی و بیولوژیکی ملاتونین را توضیح می دهد [۳۴]. ژانگ و همکاران نیز در تحقیقشان نشان دادند که ملاتونین با کاهش استرس اکسیداتیو و از طریق تنظیم مسیر Sirt1/Nrf2 در برابر سمیت قلبی ناشی از دوکوروبیسین محافظت می کند [۳۵]. با توجه به اینکه لیپوتوکسیتی از عوامل ایجاد کننده استرس اکسیداتیو مرتبط با کاردیومیوپاتی دیابتی می باشد [۳۶]. می توان اثرات تعدیل کننده ملاتونین بر ژن های Nrf2 و NF-KB، به عنوان تنظیم کننده های مهم استرس اکسیداتیو و فرآیند التهابی [۱۱، ۲۶] و در نتیجه کاهش عوارض قلبی ناشی از دیابت را توجیه کرد [۳۷، ۳۸].

در پایان، با توجه به داده های به دست آمده از این مطالعه، پیشنهاد می شود که ملاتونین می تواند با سرکوب آبخار التهاب و تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در بافت قلبی رت های دیابتی، اثر هم افزایی بر اثربخشی مثبت ورزش هوازی داشته باشد. با این حال، مطالعات سلولی و مولکولی اضافی برای روشن شدن مکانیسم های اساسی ملاتونین و کارایی ورزش در کاردیومیوپاتی دیابتی ضروری است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان گفت که دیابت با افزایش ژن های Nrf2 و NF-KB، به عنوان تنظیم کننده های مهم استرس اکسیداتیو و فرآیند التهابی موجب کاردیومیوپاتی دیابتی می شود و استفاده از تمرینات هوازی و ملاتونین می توانند موجب تعدیل ژن های Nrf2 و NF-KB مرتبط با کاردیومیوپاتی دیابتی شوند. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده اثر هم افزایی تمرینات ورزشی و مکمل ملاتونین بر عوامل مرتبط با کاردیومیوپاتی دیابتی بود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

پژوهش حاضر با کد IR.IAU.AHVAZ.REC.1400.073 در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز به ثبت رسیده است.

حامی مالی

این مقاله حامی مالی ندارد.

مشارکت نویسندگان

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات هوازی و مصرف ملاتونین موجب افزایش TAC و کاهش NF-KB، MDA و Nrf2 در بافت قلب نمونه های نسبت به گروه دیابت کنترل شد. یکی از عوارض دیابت، کاردیومیوپاتی دیابتی است که یکی از علل اصلی مرگ و میر در بیماران دیابتی است [۸]. بر اساس آزمایش های قبلی، تزریق استرپتو-زوتوسین از طریق تخریب سلول های بتای پانکراس منجر به دیابت می شود که موجب کاهش تولید و ترشح انسولین از پانکراس می شود و در نتیجه هومئوستاز گلوکز را مختل کند [۲۱]. در شرایط هیپرگلیسمی، گلوکز اضافی و مقدار زیاد اسیدهای چرب یک بستر اضافی را ایجاد می کند که از طریق گلیکولیز و بتا اکسیداسیون متابولیزه می شود که منجر به تجمع الکترون های دهنده NADH و FADH2 در بافت ها می شود. این بیومولکول ها شیب پروتون بسیار بالایی را در سراسر غشای داخلی میتوکندری ایجاد می کنند؛ در نهایت، این فرآیند فسفوریلاسیون اکسیداتیو را مختل می کند و تولید ATP را کاهش می دهد. متعاقباً تولید ROS افزایش می یابد و با فعال کردن مسیر پلیول، هگزوزامین ها باعث تولید سایتوکین های پیش التهابی می شوند (۷). نتایج مطالعه حاضر مطابق با مطالعات قبلی بود که افزایش بیان ژن NF-KB (۲۲، ۲۳) و Nrf2 (۲۴) در بافت قلبی رت های دیابتی را نسبت به گروه های سالم گزارش کردند. چندین داده مستند نشان داده است که سرکوب سیستم های آنتی اکسیدانی و تحریک آبخارهای التهابی در طول دیابت رخ می دهد [۲۵]. Nrf2 و NF-KB تنظیم کننده های مهم استرس اکسیداتیو و فرآیند التهاب هستند [۱۱، ۲۶].

گزارش شده است که تمرینات ورزش با شدت کم باعث کاهش سطح MDA و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در بافت قلب می شود [۲۷]. این شواهد نشان می دهد که ورزش مکانیسم پاتولوژیک کاردیومیوپاتی دیابتی را با تعدیل استرس اکسیداتیو افزایش یافته و در نتیجه کاهش التهاب بهبود می بخشد [۲۸]. در مطالعه حاضر، نتایج نشان داد که شش هفته تمرین هوازی در رت های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین بیان ژن Nrf2 را در بافت قلب نسبت به گروه دیابتی به طور معنی داری افزایش داد. این نتایج با نتایج مطالعات ماتزینگر (Matzinger) و راجاسکاران (Rajaskaran)، چن (Chen) و همکاران، ۲۰۱۴ و جیانگ (Jiang) و همکاران، مطابقت دارد که گزارش کردند Nrf2 می تواند بیان آنتی اکسیدان ها را از طریق آنزیم های آنتی اکسیدانی تنظیم کند [۲۹-۳۱].

همچنین یافته های ما نشان دهنده اثرات مثبت مکمل ملاتونین در تعدیل ژن های Nrf2 و NF-KB در بافت قلب رت های دیابتی بود. مطالعات متعدد نشان دهنده تأثیر مصرف ملاتونین بر عوارض مختلف دیابت است

طراحی و مفهوم سازی: مارینا شریعتی و علی امینی پارسا. تحلیل و تفسیر داده ها: مارینا شریعتی؛ تدوین نسخه خطی: مارینا شریعتی؛ بازنگری انتقادی نسخه خطی برای محتوای مهم فکری: مارینا شریعتی و علی امینی پارسا و مطهره جویند. تجزیه و تحلیل آماری: مارینا شریعتی و علی امینی پارسا

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تمامی کسانی که در انجام این تحقیق همکاری کرده اند تشکر می کنند.

References

- [1] Ghalavand A, Azadi M, Mohammadpour Z, Ghalavand N, Ghalavand M, Ghalavand M. Cognitive Complications of Type 1 Diabetes: A Narrative Review Study. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2023 Jan 21;21(6):910-22.
- [2] Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine*. 2019 Jan 1;47(1):22-7. [[10.1016/j.mpmed.2014.09.007](#)] [PMID]
- [3] Ghalavand A, Motamedi P, Rajabi H, Khaledi N. Effect of diabetes induction and exercisettraining on the level of ascorbic acid and muscle SVCT2 in male Wistar rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2020 May 19.
- [4] Ghalavand A, Saki H, Nazem F, Khademitab N, Behzadi Nezhad H, Behbodi M, Zeighami F. The effect of ganoderma supplementation and selected exercise training on glycemic control in boys with type 1 diabetes. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2021 Sep 23;20(4):356-65.
- [5] Hölscher ME, Bode C, Bugger H. Diabetic cardiomyopathy: does the type of diabetes matter?. *International journal of molecular sciences*. 2016 Dec 18;17(12):2136. [[10.3390/ijms17122136](#)] [PMID]
- [6] De Geest B, Mishra M. Role of oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. *Antioxidants*. 2022 Apr 15;11(4):784. [[10.3390/antiox11040784](#)] [PMID]
- [7] Cai LU, Kang YJ. Oxidative stress and diabetic cardiomyopathy: a brief review. *Cardiovascular toxicology*. 2001 Sep;1:181-93. [[10.1385/ct:1:3:181](#)] [PMID]
- [8] Bugger H, Abel ED. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. *Diabetologia*. 2014 Apr;57:660-71. [[10.1007/s00125-014-3171-6](#)] [PMID]
- [9] Jimenez MT, Frenis K, Hahad O, Steven S, Cohen G, Cuadrado A, Muenzel T, Daiber A. Protective actions of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) and downstream pathways against environmental stressors. *Free Radical Biology and Medicine*. 2022 Jul 1;187:72-91. [[10.1016/j.freeradbiomed.2022.05.016](#)] [PMID]
- [10] Saha S, Buttari B, Panieri E, Profumo E, Saso L. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation. *Molecules*. 2020 Nov 23;25(22):5474. [[10.3390/molecules25225474](#)] [PMID]
- [11] Sussan TE, Rangasamy T, Blake DJ, Malhotra D, El-Haddad H, Bedja D, Yates MS, Kombairaju P, Yamamoto M, Liby KT, Sporn MB. Targeting Nrf2 with the triterpenoid CDDO-imidazolide attenuates cigarette smoke-induced emphysema and cardiac dysfunction in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009 Jan 6;106(1):250-5. [[10.1073/pnas.0804333106](#)] [PMID]
- [12] Wing RR, Goldstein MG, Acton KJ, Birch LL, Jakicic JM, Sallis Jr JF, Smith-West D, Jeffery RW, Surwit RS. Behavioral science research in diabetes: lifestyle changes related to obesity, eating behavior, and physical activity. *Diabetes care*. 2001 Jan 1;24(1):117-23. [[10.2337/diacare.24.1.117](#)] [PMID]
- [13] Ghalavand A, Ghobadi MR. Effect of Exercise and Insulin Signaling on Glucose Transporter Type 4 in Skeletal Muscles: A narrative review. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2023 Mar 27.
- [14] Hosseinpour Delavar S, Boyerahmadi A, Soleymani A, Ghalavand A. Effect of eight weeks of aerobic interval training and urtica dioica supplement on some inflammatory indicators and glycemic control in men with type 2 diabetes. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2020 Jun 21;19(2):123-35.
- [15] Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra MC, Hardeland R. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Current topics in medicinal chemistry*. 2002 Feb 1;2(2):181-97. [[10.2174/1568026023394443](#)] [PMID]
- [16] Liu S, Guo Y, Yuan Q, Pan Y, Wang L, Liu Q, Wang F, Wang J, Hao A. Melatonin prevents neural tube defects in the offspring of diabetic pregnancy. *Journal of Pineal Research*. 2015 Nov; 59(4):508-17. [[10.1111/jpi.12282](#)] [PMID]
- [17] Karamitri A, Jockers R. Melatonin in type 2 diabetes mellitus and obesity. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019 Feb;15(2): 105-25. [[10.1038/s41574-018-0130-1](#)] [PMID]
- [18] Kumar A, Ilavarasan R, Jayachandran T, Deecaraman M, Aravindan P, Padmanabhan N, Krishan MR. Anti-diabetic activity of *Syzygium cumini* and its isolated compound against streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2008 Sep 1;2(9):246-9.
- [19] Shirazi A, Asadi-Amoli F, Sakhaee S, Ghazi-Khansari M, Avand A. Radioprotective effect of melatonin in reducing oxidative stress in rat lenses. *Cell Journal (Yakhteh)*. 2011;13(2):79. [PMID]
- [20] Chae CH, Jung SL, An SH, Jung CK, Nam SN, Kim HT. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. *Journal of physiology and biochemistry*. 2011 Jun;67:235-41. [[10.1007/s13105-010-0068-9](#)] [PMID]
- [21] Ghalavand A, Motamedi P, Rajabi H, Khaledi N. Effect of diabetes induction and exercisettraining on the level of ascorbic acid and muscle SVCT2 in male Wistar rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2020 May 19.
- [22] Li L, Luo W, Qian Y, Zhu W, Qian J, Li J, Jin Y, Xu X, Liang G. Luteolin protects against diabetic cardiomyopathy by inhibiting NF-κB-mediated inflammation and activating the Nrf2-mediated antioxidant responses. *Phytomedicine*. 2019 Jun 1;59:152774. [[10.1016/j.phymed.2018.11.034](#)] [PMID]
- [23] Thomas CM, Yong QC, Rosa RM, Seqqat R, Gopal S, Casarini DE, Jones WK, Gupta S, Baker KM, Kumar R. Cardiac-specific suppression of NF-κB signaling prevents diabetic cardiomyopathy via inhibition of the renin-angiotensin system. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2014 Oct 1;307(7):H1036-45. [[10.1152/ajpheart.00340.2014](#)] [PMID]
- [24] Chen J, Zhang Z, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its prevention by nrf2: current status. *Diabetes & metabolism journal*. 2014 Oct 17;38(5):337-45. [[10.4093/dmj.2014.38.5.337](#)] [PMID]
- [25] Luc K, Schramm-Luc A, Guzik TJ, Mikolajczyk TP. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. *Journal of Physiology & Pharmacology*. 2019 Dec 1;70(6). [[10.26402/jpp.2019.6.01](#)] [PMID]
- [26] Magesh S, Chen Y, Hu L. Small molecule modulators of K eap1-N rf2-ARE pathway as potential preventive and therapeutic agents. *Medicinal research reviews*. 2012 Jul;32(4):687-726. [[10.1002/med.21257](#)] [PMID]

- [27] Georgieva NV, Stoyanchev K, Bozakova N, Jotova I. Combined effects of muscular dystrophy, ecological stress, and selenium on blood antioxidant status in broiler chickens. *Biological Trace Element Research*. 2011 Sep;142:532-45. [[10.1007/s12011-010-8782-2](https://doi.org/10.1007/s12011-010-8782-2)] [PMID]
- [28] Zheng J, Cheng J, Zheng S, Zhang L, Guo X, Zhang J, Xiao X. Physical exercise and its protective effects on diabetic cardiomyopathy: what is the evidence?. *Frontiers in endocrinology*. 2018 Dec 3;9:729. [[10.3389/fendo.2018.00729](https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00729)] [PMID]
- [29] Matzinger M, Fischhuber K, Heiss EH. Activation of Nrf2 signaling by natural products-can it alleviate diabetes?. *Biotechnology advances*. 2018 Nov 1;36(6):1738-67. [[10.1016/j.biotechadv.2017.12.015](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.015)] [PMID]
- [30] Chen J, Zhang Z, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its prevention by nrf2: current status. *Diabetes & metabolism journal*. 2014 Oct 17;38(5):337-45. [[10.4093/dmj.2014.38.5.337](https://doi.org/10.4093/dmj.2014.38.5.337)] [PMID]
- [31] Jiang T, Huang Z, Lin Y, Zhang Z, Fang D, Zhang DD. The protective role of Nrf2 in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2010 Apr 1;59(4):850-60. [[10.2337/db09-1342](https://doi.org/10.2337/db09-1342)] [PMID]
- [32] Pourhanifeh MH, Hosseinzadeh A, Dehdashtian E, Hemati K, Mehrzadi S. Melatonin: new insights on its therapeutic properties in diabetic complications. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2020 Dec;12:1-20. [[10.1186/s13098-020-00537-z](https://doi.org/10.1186/s13098-020-00537-z)] [PMID]
- [33] Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2005 Aug 1;59(7):365-73. [[10.1016/j.biopha.2005.07.002](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2005.07.002)] [PMID]
- [34] Ahmadi Z, Ashrafzadeh M. Melatonin as a potential modulator of Nrf2. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2020 Feb;34(1):11-9. [[10.1111/fcp.12498](https://doi.org/10.1111/fcp.12498)] [PMID]
- [35] Zhang W, Wang X, Tang Y, Huang C. Melatonin alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity via inhibiting oxidative stress, pyroptosis and apoptosis by activating Sirt1/Nrf2 pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023 Jun 1;162:114591. [[10.1016/j.biopha.2023.114591](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114591)] [PMID]
- [36] Ke J, Pan J, Lin H, Gu J. Diabetic cardiomyopathy: A brief summary on lipid toxicity. *ESC Heart Failure*. 2023 Apr;10(2):776-90. [[10.1002/ehf2.14224](https://doi.org/10.1002/ehf2.14224)] [PMID]
- [37] Xiong Z, Li Y, Zhao Z, Zhang Y, Man W, Lin J, Dong Y, Liu L, Wang B, Wang H, Guo B. Mst1 knockdown alleviates cardiac lipotoxicity and inhibits the development of diabetic cardiomyopathy in db/db mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2020 Aug 1;1866(8):165806. [[10.1016/j.bbadis.2020.165806](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165806)] [PMID]
- [38] Patel R, Parmar N, Palit SP, Rathwa N, Ramachandran AV, Begum R. Diabetes mellitus and melatonin: Where are we?. *Biochimie*. 2022 Nov 1;202:2-14. [[10.1016/j.biochi.2022.01.001](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2022.01.001)] [PMID]