Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of six weeks of progressive aerobic training on some angiogenic and inflammatory factors of the heart of male Wistar rats with diabetes

Erfanikia Mohsen[1], Mohammad Fathi[2*], Masoud Rahmati, Eftekhar Mohammadi[4]

1. MS in Exercise Physiology, Dept. of Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran.,
2. Associate Professor at Dept. of Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: 0000-0002-2113-365X
3. Professor at Dept. of Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran
4. Ph.D. Student in Exercise Physiology, Dept. of Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran,

Abstract

Background and Aim: By causing inflammation in the heart, diabetes provides the basis for cardiovascular diseases. The aim of the present study is to investigate the effect of six weeks of progressive aerobic exercise on angiogenic and inflammatory factors of the heart of diabetic male Wistar rats. **Materials and Methods:** 40 male Wistar rats (weight 253.09 ± 12.92 grams, age 8-10 weeks) were randomly divided into four groups: control, diabetic, exercise, and diabetes + exercise. Induction of diabetes was done through intraperitoneal injection of streptozotocin solution at the rate of 50 mg/kg. An increase in blood glucose level of 300 mg/dL was considered as a diabetic sample. The training protocol consisted of six weeks of progressive aerobic training, five sessions per week on the treadmill. 48 hours after the end of the exercise, all the samples were unconscious and then, following the ethical principles, heart isolation was performed. The gene expression of vascular endothelium growth factor (*vegf*) and tumor necrosis factor-alpha (*tnfα*) in left ventricular tissue was measured by Real-Time PCR method. One-way analysis of variance, Tukey's post hoc test and Graph Pad version 8 software were used for statistical analysis and the level of statistical significance was considered as $P<0.05$. **Results:** The results showed that the expression of the *vegf* gene in the left ventricle of the heart in the diabetic group was significantly increased compared to the healthy group ($p<0.0001$), and the expression of the *tnfα* gene in the heart tissue was significantly decreased in the diabetic group compared to the healthy group ($p<0.0001$). The expression of *vegf* gene in the diabetes+exercise group increased significantly compared to the diabetic group ($p=0.0036$) and the expression of *tnfα* gene decreased significantly in the diabetes+exercise group compared to the diabetic group ($p<0.0001$). **Conclusion:** Six weeks of progressive aerobic training can possibly have an effect on reducing inflammation and increasing vascularity in diabetic samples as a suitable non-pharmacological method, and this effect is carried out by modulating the expression of *vegf* and *tnfα* genes.

Keywords: Diabetes, Progressive aerobic training, Vascular endothelium growth factor, Tumor necrosis factor alpha.

***Corresponding Author, Address: Dept. of Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, Lorestan University,**

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

Khorramabad, Iran. Fathi.m@lu.ac.ir

اثر شش هفته تمرین هوازی پیشرونده بر برخی عوامل رگ‌زایی و التهابی قلب رت‌های نر ویستار مبتلا به دیابت

محسن عرفانی کیا[1]، محمد فتحی[2*]، مسعود رحمتی[3]، افتخارمحمدی[4]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان

۲- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان

۳- استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان

۴- دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

چکیده

زمینه و هدف: دیابت با ایجاد التهاب در قلب، زمینه ابتلاء به بیماری‌های قلبی عروقی را فراهم می‌کند. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی پیشرونده بر عوامل رگ‌زایی و التهابی قلب رت‌های نر ویستار دیابتی شده است. **روش تحقیق:** تعداد ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار (وزن ۱۲/۹۲± ۲۵۳/۰۹ گرم، سن ۱۰-۸ هفته) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، دیابتی، تمرین و دیابت + تمرین تقسیم شدند. القای دیابت از طریق تزریق درون صفاقی محلول استروپتوزتوسین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام پذیرفت. افزایش سطح گلوکز خون به مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان نمونه دیابتی در نظرگرفته شد. پروتکل تمرین شامل شش هفته تمرین هوازی پیشرونده، پنج جلسه در هفته بر روی نوار گردان بود. ۴۸ ساعت پس از پایان تمرین، تمام نمونه‌ها بی‌هوش و سپس با رعایت اصول اخلاقی، عمل جداسازی قلب صورت گرفت. میزان بیان ژن فاکتور رشد آندوتلیوم عروقی(*vegf*) و فاکتور نکروز تومور آلفا (*tnfα*) بافت بطن چپ به روش Real -Time PCR اندازه‌گیری شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، تعقیبی توکی و نرم‌افزار گراف پد نسخه ۸ برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده و سطح معنی‌داری آماری هم $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** نتایج نشان دادکه بیان ژن *vegf* بطن چپ قلب در گروه دیابتی، نسبت به گروه سالم بطور معناداری افزایش یافت ($p<۰/۰۰۰۱$)، و بیان ژن *tnfα* بافت قلب در گروه دیابت نسبت به گروه سالم بطور معناداری کاهش یافت ($p<۰/۰۰۰۱$). بیان ژن *vegf* در گروه دیابت+ تمرین نسبت به گروه دیابتی به طور معناداری افزایش یافت ($p=۰/۰۳۶$) و بیان ژن *tnfα* در گروه دیابت+ تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معناداری کاهش یافت ($p<۰/۰۰۰۱$). **نتیجه‌گیری:** شش هفته تمرین هوازی پیشرونده احتمالاً می تواند به عنوان یک شیوه مناسب غیر دارویی بر کاهش التهاب و افزایش رگزایی در نمونه‌های دیابتی تاثیر داشته باشد که این اثر از طریق تعدیل بیان ژن‌های *vegf* و *tnfα* صورت می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: ورزش هوازی، دیابت، فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی، عامل نکروز توموری آلفا.

***نویسنده مسئول، آدرس: خرم آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی؛**

پست الکترونیک: Fathi.m@lu.ac.ir

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

مقدمه

نقص در تولید و یا عملکرد انسولین سبب بروز دیابت می‌شود که با افزایش سطح گلوکز خون (دیابت در آمریکا، ۲۰۱۰) و افزایش دو تا چهار برابری احتمال ابتلاء به بیماری های قلبی و عروقی و در نتیجه مرگ و میر همراه اســت (داوری و دیگران، ۲۰۲۲). دیابت رگ‌زایی در بافت‌های مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهد به گونه‌ایی که موجب افزایش آن در چشــم و کلیه و کاهش آن در قلب می‌شود(گوستافسون[1] و دیگران، ۱۹۹۹). تحریک یا توقف رگزایی تحت تاثیر عوامل متعددی مانند ایسکمی بافت، التهاب، هیپوکسی، عوامل رشد رگی، مولکول‌های چسبنده، سایتوکین‌های التهابی و نیتریک اکساید قرار دارد (روزبیانی و دیگران، ۲۰۱۸). با توجه به اثر دیابت بر کاهش رگ‌زایی در قلب و عضلات اسکلتی در زمان ایسکمی (والتنبرگر،[2] ۲۰۰۷). این موضوع سبب افزایش عوامل خطرزا در قلب و ایجاد بیماری‌های قلبی و عروقی در افراد دیابتی می شود (والتنبرگر، ۲۰۰۷). مشخص شده که فاکتور رشد اندوتلیال عروقی[3] (VEGF) و گیرنده‌های آن نقش مهمی در پاســخ به ایســکمی و تشــکیل عروق جانبی کرونر جهت حفظ عملکرد میوکارد و بقای ســلول‌های آن دارند (مارفلا[4] و دیگران، ۲۰۰۴). به نظر می‌رســد که بیان VEGF و گیرنده‌های آن در بافت قلب نمونه‌های دیابتی می‌تواند حیاتی باشد، زیرا به علت عدم تشکیل عروق جانبی در پاسخ به ایسکمی، عوارض قلبی عروقی و مرگ و میر در بیماران دیابتی افزایش می‌یابد (چو[5] و دیگران، ۲۰۰۲). بر خلاف نمونه‌های دیابتی بیان VEGF در اثر ایســکمی میوکارد در افراد غیردیابتی افزایش می‌یابد که نشــانه‌ای از شــکل‌گیری عروق جانبی در آترواســکلروز کرونر اســت، اتفاقی که در بیماران دیابتی رخ نمی‌دهد و با نام کاردیومیوپاتی شــناخته شــده اســت (پدرســون ۲۰۱۷). کاردیومیوپاتی دیابتی موجب نقص در عملکرد قلب و در نهایت نارســایی آن می‌شــود (فنتس[6] و دیگران، ۲۰۱۴). ســطوح بالای گلوکز و اختلال در ســطح چربی‌ها به طور مســتقیم باعث افزایش ترشــح و تنظیم ســیتوکین‌ها، کموکاین‌ها و مولکول های چســبنده در ســلول‌های قلبی می‌شــود (فراتی[7] و دیگران، ۲۰۱۷) که با تعدیل مســیرهای سیگنالینگ متعدد از جمله فاکتور هسته ای کاپا[8] (NF-kB) همراه هست (فراتی[9] و دیگران، ۲۰۱۷). مسیر سیگنالینگ NF-kB بیان حدود ۲۰۰ ژن مانند مولکول‌های چســبان، اینترلوکین‌ها، کموکاین‌ها، ســیتوکین‌ها و عوامل رگ‌زایی را کنترل می‌کند (لورنزو[10] و دیگران، ۲۰۱۱).

عامل نکروز تومور آلفا[11] (TNFα) و گونه‌های اکسیژن واکنشی[12] (ROS) از جمله این عوامل هستند. در دیابت نوع دو افزایش بیان TNFα به عنوان یک ســایتوکین پیش‌التهابی در بیماری‌های قلبی و عروقی باعث تولید ROS و در نتیجه ســبب اختلال عملکرد اندوتلیال می‌شود (یانگ[13] و دیگران، ۲۰۰۹).

---

1. Gustafsson
2. Waltenberger
3. Vascular endothelial growth factor
4. Marfella
5. Chou
6. Fuentes
7. Frati
8. Nuclear factor kappa B
9. Frati
10. Lorenzo
11. Tumor necrosis factor alpha
12. Reactive oxygen species
3. Yang
4. Erekat

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

در مورد تاثیر ورزش بر VEGF و TNFα بافت عضـــله قلبی نمونه‌های دیابتی مطالعاتی صـــورت گرفته اســـت، به عنوان مثال در مطالعه‌ای مشـخص شـد که تمرینات هوازی (با سـرعت ۱۸ متر در دقیقه، ۴۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته و چهار هفته دویدن روی نوارگردان) سبب افزایش VEGF بافت قلب موش‌های دیابتی نوع یک می شود (ارکت[1] و دیگران، ۲۰۱۴) و یا در مقابل دیده شد که هشـــت هفته تمرین اســـتقامتی اثر معناداری بر ســـطوح بیان ژن *vegf* و اندوتلین- ۱ در بافت قلب موش‌های صـــحرایی مبتلا به دیابت ندا شت (منظمی و دیگران، ۲۰۲۲). همچنین در مطالعه‌ای مشخص شد که ۱۲ هفته فعالیت شنا باعث کاهش معنی‌دار سطوح TNFα گروه دیابت تمرین در مقایسه با گروه کنترل می شود (تکسیرا[2] و دیگران، ۲۰۱۱). برخی از این موارد در نمونه‌های انسانی نیز گزارش شده ا ست (کادگلو[3] و دیگران، ۲۰۰۷) با برر سی مطالعات صورت گرفته تناقضاتی در نتایج آنها دیده می شود، ضمن اینکه مشخص شده که اثر فعالیت‌های ورزشی بر فاکتورهای VEGF و TNFα متفاوت است بنابراین برای بررسی دقیق‌تر اثر فعالیت‌های ورزشی بر بیان این دو ژن در نمونه‌های دیابتی به پژوهش‌های بیشـــتری نیاز اســـت. بنابراین هدف پژوهش حاضـــر بررســـی تاثیر یک دوره تمرین هوازی فزاینده شش هفته‌ای) بر بیان ژن‌های *vegf* و *tnfα* در بافت بطن چپ رت‌های نر دیابتی نژاد ویستار بود.

روش تحقیق

در این پژوهش تجربی که با تایید کمیته اخلاق دانشـگاه لرسـتان (LU.ECRA 2020.69) صـورت گرفت، تعداد ۴۰ سـر رت نر نژاد ویســـتار (وزن ۱۲/۹۲± ۲۵۳/۰۹ گرم و سـن هشـت تا ۱۰ هفته) از شـرکت علم یاوران آفتاب لرسـتان خریداری شـد. به منظور سـازگاری با محیط، رت‌ها به مدت یک هفته در شـرایط اسـتاندارد میانگین دمای ۲±۲۲ درجه سـانتیگراد و چرخه روشـنایی – تاریکی ۱۲:۱۲ سـاعت و با دسـترسـی آزاد به آب و غذای ویژه رت) در قفس‌های از جنس پلی‌کربنات در حیوان خانه دانشـگاه علوم پزشـکی لرستان نگهداری شدند، سپس به طور تصادفی به چهار گروه ۱۰ تایی (۱) کنترل، ۲) دیابتی، ۳) تمرین و ۴) دیابت +تمرین تقسیم شدند. برای شـناسـایی و همچنین انتخاب تصـادفی رت‌ها در گروه‌های مورد مطالعه، از ابتدای پروتکل پژوهشـی، روی دم آنها شـماره‌ی درج شد. بر مبنای همان شماره و درج آن روی برگه‌های کاغذ به صورت تصادفی هر شماره به یک گروه اختصاص داده شد، تا اینکه همه گروه‌ها تکمیل شـدند. در تمام مراحل پژوهش، رت‌ها توسـط یک نفر دسـتکاری اعمال تمرین، جابجای بین قفس و نوارگردان، پاک کردن قفس‌ها و ..) شدند. در مراحل ابتدایی، به منظور آشنایی با شرایط آزمایشگاه و نوارگردان، همه رت‌ها به مدت دو هفته، (پنج روز در هفته ۱۵-۱۰ دقیقه و با سـرعت پنج تا ۱۰ متر در دقیقه) بر روی نوارگردان راه رفتند. پس از پایان دوره آشـناسـازی و ۱۲ سـاعت محرومیت از غذا با تزریق درون صـفاقی محلول STZ ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن) دیابت نوع دو القاء شـد. به رت‌های ویسـتار غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق گردید. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم، یک قطره خون از رت‌های دیابتی بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شـد و نوار توسـط دسـتگاه گلوکومتر (مدل ایزیگلو[4]، شـرکت اینفوپیا کره جنوبی) اندازه‌گیری شـد. برای بررسـی قند خون، در پایان هر هفته قند خون گروه‌های دیابتی اندازه‌گیری می‌شـد. رت‌های ویستار به مدت دو هفته پس از تزریق STZ بدون هیچ‌گونه مداخله‌ای در آزمایشگاه نگهداری شدند.

مطابق جدول ۱ تمرین هوازی پیشـــرونده برای گروه تمرین و گروه تمرین + دیابت اعمال گردید (رحمتی و دیگران، ۲۰۱۵). در طی

5. Teixeira
6. Kadoglou

4. EasyGluco

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

دوره تمرین هشت تا ۱۰ صبح) دو گروه تمرین و دیابت + تمرین، در معرض تمرین هوازی با نوار گردان (شیب صفردرجه) برای پنج جلسه در هفته و به مدت شش هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. جهت تثبیت سازگاری‌های به دست آمده، متغیرهای تمرینی (شدت، سرعت و مدت) در هفته پنجم و ششم ثابت نگه داشته شد. برای وادا شتن به حرکت در طول تمرین از یک برس نرم ا ستفاده شد. در طول مطالعه پنج رت تلف شد (سه سر از گروه دیابتی+تمرین و دو سر از گروه دیابتی)؛ بنابراین برای مساوی‌سازی همه گروه‌ها، از گروه دیابتی+تمرین یک سر و از گروه کنترل و گروه تمرین هر کدام به صورت تصادفی سه سر حذف شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین ۱۰ در صد و زایلازین دو در صد رت‌ها بی‌هوش و سپس تحت شرایط استریل بافت قلب آنها جدا شد.

جدول ۱. جزئیات پروتکل تمرینی

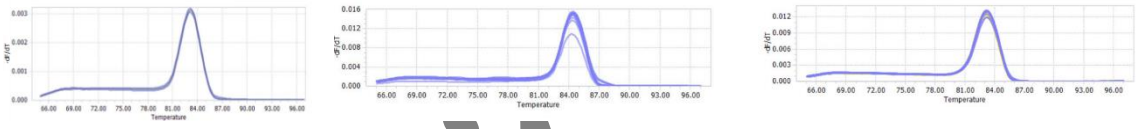
متغیر / هفته	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
زمان تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
سرعت (متر/دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸-۱۷	۱۸-۱۷

بعد از عمل جداسازی قلب، بافت بطن چپ رت‌ها جدا و بلافاصله در نیتروژن مایع فریز و تا زمان آغاز استخراج RNA در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با ا ستفاده از کیت ا ستخراج RNA شرکت پارس طوس و طبق پروتکل آن ا ستخراج RNA انجام شد. پس از استخراج RNA، جهت اندازه گیری میزان غلظت RNA استخراج شده و کیفیت آن، میزان جذب نوری ۵ میکرولیتر از محلول RNA (با د ستگاه نانو دراپ طیف سنج پیشرو پژوهش، ایران)، در طول موج ۲۶۰ نانومتر قرائت شد. همچنین نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ به منظور بررسی میزان آلودگی RNA با پروتئین تعیین گردید. در صورتی که مقادیر نسبت حاصله بالاتر از ۱/۸ بود کیفیت RNA مطلوب در نظر گرفته شد (شکل ۱). برای حصول اطمینان از اینکه RNA استخراج شده هیچ‌گونه آلودگی با DNA ندارد و در مواردی که امکان طراحی پرایمرهای اگزون-اگزون وجود نداشت RNA استخراج شده توسط آنزیم DNase شرکت سیناژن و بر ا ساس د ستورالعمل آن تیمار شد. به این صورت که به یک میکروتیوب RNase free، یک میکروگرم RNA، یک میکرولیتر x reaction buffer حاوی MgCl2، پنج میکرولیتر آنزیم DNase I که حاوی یک واحد از آنزیم مربوطه اضافه شد و با ا ستفاده از آب مقطر RNase free، حجم آن به ۱۰ میکرولیتر ر سانده شد. سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ دقیقه انکوبا سیون انجام شد. به منظور جلوگیری از هیدرولیز RNA یک میکرولیتر از EDTA 50Mm به آن اضافه شد و ۱۰ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. طبق پروتکل از کیت سنتز (cDNA Easy cDNA Synthesis Kit) شرکت پارس طوس برای سنتز cDNA استفاده شد.

نسخه در انتشار ویرایش نشده

شکل ۱. نتایج بررسی کیفیت RNA بر روی ژل حضور دو باند RNA ریبوزومی S۱۸ و S۲۸ را نشان می دهد که تاییدی است بر کیفیت مناسب RNA استخراج شده.

به منظور ارزیابی بیان ژن‌های مورد مطالعه از دستگاه Q200 (RunMei، چین) و کیت تجاری Realtime Stem Gene Gene Stem Avin SYBR Green 2x Master mix +ROX)، ایران) بر پایه Syber Green استفاده شد. تعداد سیکل‌های انجام واکنش برای هر ژن ۳۰ سیکل در نظر گرفته شد. واکنش real time-PCR بر روی نمونه‌ها با تکرار دو بار برای هر نمونه و در مورد هر ژن انجام شد و مقادیر میانگین Ct رقت‌های مختلف در دو بار تکرار محاسبه شد. نتایج با استفاده از روش مقایسه‌ای ΔΔCt و با استفاده از نرم‌افزار RunMei QC3.2 مورد ارزیابی قرار گرفت. از ژن *gapdh* به عنوان کالیبراتور استفاده گردید. نتایج براساس فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ گزارش گردید. توالی و مشخصات پرایمر ژن‌های مورد مطالعه در جدول ۲ مشخص شده است.



شکل ۲. از راست به چپ نمودار تحلیل دمای ذوب ژن‌های *gadh*، *vegf* و *tnfα* در محدوده دمایی ۶۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد که به ترتیب عبارتند از ۸۲/۸، ۸۴/۱ و ۸۳/۱ درجه سانتی‌گراد

جدول ۲. توالی و مشخصات پرایمر ژن‌های مورد مطالعه همراه با ژن کنترل

ژن‌ها	توالی پرایمر	PS	کد ژن‌ها
gapdh F	AGTTCAACGGCACAGTCAAG	۱۱۹	XM_017593963.1
gapdh R	TACTCAGCACCAGCATCACC		
vegfb F	ACCTCTGAGCATGGAACTCA	۱۴۸	NM_053549
vegfb R	CATGAGGATCTGCATTCGGAC		
tnfα F	AACACACGAGACGCTGAAGT	۱۱۹	NM_012675.3
tnfα R	TCCACTCAGGCATCGACATT		

در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های میانگین و انحراف استاندارد و از آمار استنباطی برای آزمون فرضیه‌ها استفاده شد. نتایج آزمون شاپیرو –ویلک نشان داد، توزیع داده‌ها اولیه طبیعی است. همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون نیز مورد بررسی قرار گرفت که همگنی آنها نیز تایید شد. برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه استفاده شد. با توجه به معنی‌دار شدن تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام تحلیل‌های آماری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

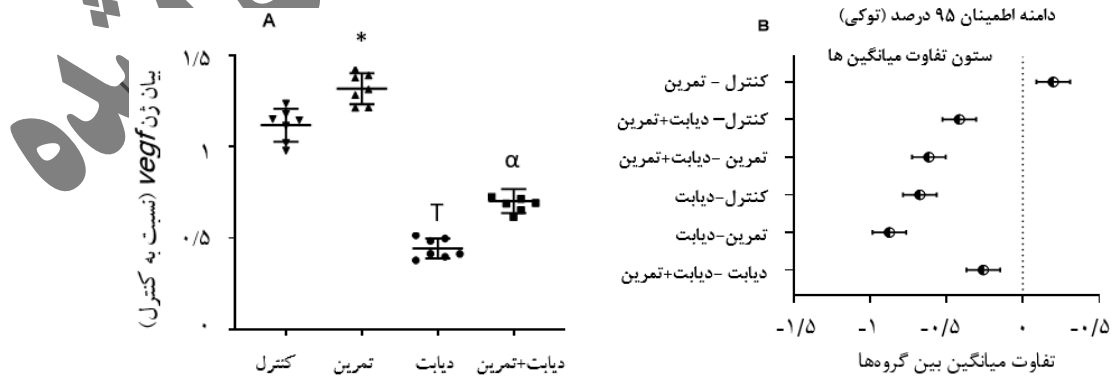
از نرم‌افزار گراف پد نسخه هشت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها

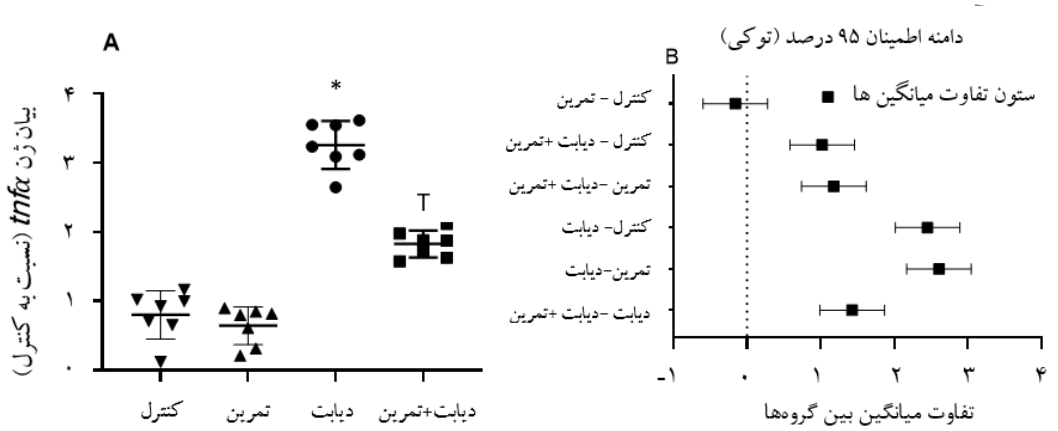
نتایج تزریق STZ و اثر آن در وزن و سطح گلوکز خون رت‌های دیابتی در جدول ۳ قابل مشاهده است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین بیان ژن‌های *vegf* در بافت عضله قلب رت‌های نر نژاد ویستار در بین چهار گروه مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن *vegf* بافت قلب در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم بطور معناداری بیشتر بود (p<۰/۰۰۰۱). همچنین بیان ژن *vegf* بافت قلب گروه دیابت + تمرین نسبت به گروه دیابتی بطور معناداری بیشتر بود (p=۰/۰۰۳۶). بیان ژن *vegf*بافت قلب در گروه تمرین در مقایسه با گروه دیابت به طور معنی‌داری بیشتر بود (p<۰/۰۰۰۱). بیان ژن *vegf* بافت قلب گروه تمرین نسبت به گروه دیابت +تمرین بطور معناداری بیشتر بود (p=۰/۰۰۰۳). بیان ژن *vegf* بافت قلب گروه تمرین نسبت به گروه کنترل بطور معناداری بیشتر بود (p=/۰۰۳۵). همچنین نتایج آزمون توکی نشان داد که بیان ژن *tnfα* بافت قلب گروه دیابت نسبت به گروه سالم بطور معناداری کمتر بود (p<۰/۰۰۰۱). بیان ژن *tnfα* بافت قلب گروه دیابت+ تمرین نسبت به گروه دیابت بطور معناداری کمتر بود (p<۰/۰۰۰۱). بیان ژن *tnfα*بافت قلب گروه تمرین در مقایسه با گروه دیابت کاهش معناداری داشت (p<۰/۰۰۰۱). بیان ژن *tnfα* بافت قلب گروه تمرین نسبت به گروه دیابت+ تمرین بطور معناداری کمتر بود (p=۰/۰۰۰۵). در اشکال ۳ و ۴ تفاوت میانگین بیان ژن‌های مورد مطالعه نشان داده شده است.

جدول شمارهٔ ۳. مقایسهٔ تغییرات وزن بدن (گرم) گلوکز خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در گروه‌های مورد مطالعه

شاخص	زمان	کنترل	دیابتی	تمرین	دیابت + تمرین
وزن بدن	پیش آزمون	۲۲۲±۱۹	۲۱۷±۲۶	۲۲۶±۲۲	۲۱۸±۲۳
	پس از آزمون	۲۸۴±۱۵	۲۲۳±۱۳	۲۷۳±۱۵	۲۲۹±۱۷
تغییرات وزن پس‌آزمون از پیش‌آزمون		۶۲ ± -۴	۶/۱ ± -۱۲/۹	۴۷ ± -۷	۱۱ ± -۵/۷
گلوکزخون	پیش آزمون	۸۹/۹±۷/۴	۹۱/۵±۶/۹	۸۸/۲±۸/۳	۸۸/۶±۹/۷
	پس آزمون	۹۱/۸±۱۲/۸	۳۱۴/۱۸±۸/۴	۸۶/۶ ± ۵/۴	۳۰۱/۱۱±۷/۱
تغییرات گلوکز پس‌آزمون از پیش‌آزمون		۲ ± ۵/۲	۲۲۲/۸ ± ۲/۰۶	-۱/۵۷ ± -۳/۲	۲۱۲/۸ ± -۲/۵



شکل ۳. در نمودار A تفاوت بین گروه‌ها در میزان بیان ژن *vegf* مشخص شده است. همانطور که نمودار نشان می‌دهد، بین میانگین‌ها تفاوت معنی دار وجود دارد. * تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل، T تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین و کنترل، α تفاوت معنی‌دار با گروه دیابت، تمرین و کنترل. در نمودار B با استفاده از آزمون توکی گروه‌ها دو به دو با هم مقایسه شده‌اند که نشان می‌دهد بین تمامی گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد.



شکل ۴. مقایسه بیان ژن *tnfα* و تفاوت بین گروه‌ها را نشان می‌دهد. سطح معناداری ($p<۰/۰۵$) درنظر گرفته شده است. نمودار A نشان می‌دهد که بین گروه‌ها در میزان بیان ژن *tnfα* تفاوت معنادار است * تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل و تمرین، T تفاوت معنی‌دار با گروه دیابت، تمرین و کنترل. نمودار B نشان می‌دهد که جز تفاوت بین گروه کنترل با تمرین معنی‌دار نیست در بقیه موارد اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار ست.

بحث

نتایج نشان داد که القای دیابت با داروی استرپتوزوتوسین باعث کاهش معنادار بیان ژن *vegf* در بافت قلب رت‌های دیابتی شده در مقایسه با رت‌های گروه کنترل سالم شد. مشخص شده که تشکیل عروق جانبی ناکافی در پاسخ به ایسکمی باعث افزایش عوارض قلبی عروقی و مرگ و میر در بیماران دیابتی می‌شود (چو[1] و دیگران، ۲۰۰۲). به عنوان یک نتیجه از پاسخ سلولی ضعیف به هیپوکسی، بیشتر ژن‌های مورد هدف مانند فاکتور مرتبط با هایپوکسی بافت[2] (HIF-1α) در شرایط دیابت کاهش می‌یابد. از این رو، محتویات فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده (VEGFR2 VEGF 2) در بطن بیماران مبتلا به دیابت کاهش می یابد (هوانگین[3] و دیگران، ۲۰۱۴). تمرین مقاومتی و تمرین استقامتی به ترتیب سبب افزایش سرعت سه تا چهار و پنج تا شش برابری جریان خون می‌شوند و نیروی همودینامیکی که در اثر تمرین بر دیواره عروق ایجاد می‌شود به عنوان شیراسترس[4] (تنش برشی) منجر به آزادشدن فاکتور VEGF می گردد (نورشاهی و دیگران، ۲۰۱۳). هیپوکسی یکی از مهم‌ترین عوامل القاء کننده میزان VEGF است و بیان افزایش ژن *vegf* تحت شرایط کاهش محتوای اکسیژن نا شی از حالت‌های پاتولوژیک مختلف گزارش شده ا ست (کرمیشوا،[5] ۲۰۰۸). کاهش

1. Chou
2. Hypoxia-Inducible Factor-1
3. Howangyin
4. Share stress
5. Karamysheva

تنش اکسیژن و یا افزایش فعالیت متابولیک ممکن است محرکی برای القای رگ‌زایی در پاسخ به ورزش باشد (اگینتون،[1] ۲۰۰۹). در هنگام ورزش جریان خون در قلب در حدود ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می‌یابد که سبب ایجاد تنش برشی و افزایش فشار بر دیواره‌های عروق و موجب آزاد شدن *vegf* می‌گردد (ولی زاده و دیگران، ۲۰۱۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شش هفته تمرین هوازی پیشرونده می‌تواند مقدار بیان ژن *vegf* را در بافت قلب رت‌های دیابتی+ تمرین در مقایسه با گروه دیابتی را بطور معناداری افزایش دهد. هر چند نوع پروتکل تمرینی و شرایط پژوهشی ممکن است متفاوت باشد، اما مشخص شده که تمرینات ورزشی با نوارگردان به طور قابل توجهی بیان ژن *vegf* در بافت قلب موش‌های دیابت +تمرین در مقایسه با موش‌های دیابت را افزایش می‌دهد (ارکت[2] و دیگران، ۲۰۱۴). در پژوهشی دیگر گزارش شد که ۱۰ هفته تمرین استقامتی، باعث افزایش بیان ژن *vegf* و *vegfr2* در بافت قلب موش‌های گروه دیابت+تمرین در مقایسه با گروه دیابتی می‌شود (ولی زاده و دیگران، ۲۰۱۸). گزارش شده که تمرین استقامتی به مدت هشت هفته می‌تواند میزان بیان ژن *vegf* گروه تمرین دیابتی در مقایسه با دیابت کنترل را به طور معنی‌داری افزایش دهد (شهوند و دیگران، ۲۰۲۱)، هرچند همه نتایج در این زمینه یکسان نیستند، به عنوان نمونه گزارش شده که فعالیت استقامتی تاثیری بر NO (یکی از مارکرهای رگ‌زایی) نمونه‌های دیابتی ندارد (بختیاری و دیگران، ۲۰۱۹). همچنین گزارش شده که فعالیت استقامتی در نشانگرهای رگ‌زایی تغییری ایجاد نمی‌کند (تیجسن[3] و دیگران، ۲۰۰۶). ممکن است تفاوت‌های موجود در نتایج ناشی از عواملی مانند شدت تمرین، نوع تمرین یا نوع بافت ارزیابی شده باشد، چون مشخص شده مجموعه‌ای از عوامل مکانیکی، متابولیکی، هورمونی، میزان و شدت فعالیت‌بدنی بر میزان فاکتور VEGF تاثیرگذار است (شهیدی و دیگران، ۲۰۱۹). علاوه بر این به نظر می‌رسد هایپرلیپیدمی، هیپرگلیسمی و افزایش التهاب در اثر انباشت بیش از حد گلوکز در بافت و سلول‌های اندوتلیال متعاقب دیابت و ایجاد لخته‌های خون و ترومبوز در رگ‌ها از میزان گردش خون بکاهد و عوامل رگ‌زایی نتوانند اثرگذار باشند و این امر مانع رگ‌زایی و ایجاد عروق جدید متعاقب فعالیت ورزشی شوند (کرمیشوا،[4] ۲۰۰۸). همچنین مشخص شده که تمرینات مقاومتی نسبت به تمرینات استقامتی تنش‌برشی کمتری ایجاد می‌کند، از آنجا که تنش‌برشی با افزایش نیتریک اکساید[5] NO و متعاقبا فعال شدن فاکتور HIF-1 نقش کلیدی در افزایش سرم VEGF دارد (قهرمانی و کربلایی‌فر ۲۰۱۹)، بنابراین می‌توان انتظار داشت که حتی نوع تمرین در میزان رگ‌زایی تاثیرگذار باشد. در هنگام فعالیت‌های ورزشی عوامل مختلفی سبب رگ‌زایی عضله اسکلتی و قلبی می‌شود که مهمترین این عوامل هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها، اتساع کننده‌های عروقی، انقباض عضلانی، برخی از سایتوکین‌ها وانواع کشش‌ها هستند (نورشاهی و دیگران، ۲۰۱۳). میزان بیان ژن و پروتئین فاکتور TNFα در بیماران مبتلا به دیابت بیشتر است و حتی میزان این فاکتور در پلاسمای آنها به طور قابل چشمگیری افزایش می‌یابد (نورشاهی و دیگران، ۲۰۱۳). از آنجایی که بافت چربی منبع اصلی تولید TNFα در گردش خون است (پدرسون،[6] ۲۰۱۳)، احتمال دارد چاقی و یا التهاب‌های ناشی از آن در این افراد باعث افزایش این فاکتور در خون شود. شواهدی وجود دارد که پیشرفت مزمن هیپرتروفی پاتولوژیکی، فیبروز و اختلال عملکرد بطن با افزایش موضعی سیتوکین‌ها از جمله TNFα همراه است (فنتس[7] و دیگران، ۲۰۱۳). در این پژوهش مشخص شد که بیان ژن *tnfα* در بافت قلب دیابت نسبت به

1. Egginton
2. Erekat
3. Thijssen
4. Karamysheva
5. Nitric oxide
6. Pedersen
7. Fuentes

گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش داشت که نشان می‌دهد دیابت سبب افزایش بیان این عامل التهابی در بافت قلب می‌شود. ورزش اثرات ضدالتهابی دارد و با افزایش قابل توجه IL-6 و IL-10 باعث مهار TNFα می‌شود. به نظر می‌رسد IL-6 مشتق از عضله دارای اثرات ضدالتهابی مستقیم بوده و به عنوان مکانیسمی برای بهبود و تحمل گلوکز ایفای نقش می‌کند (پدرسون، ۲۰۱۷). ورزش در درجه اول باعث افزایش IL-6 و به دنبال آن افزایش IL-1ra و IL-10 می‌شود (متور[1] و پترسون، ۲۰۰۸). IL-10 با حذف تولید سایتوکین های پیش‌التهابی، به ویژه TNFα فرآیندهای التهابی را تعدیل می‌کند (باتیستا[2] و دیگران، ۲۰۰۹). در تایید یافته‌های این پژوهش مشخص شد که ۱۲ هفته ورزش شنا باعث می‌شود که سطوح TNFα گروه دیابت تمرین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یابد (تکسیرا دلموس،[3] ۲۰۱۱). مشخص شده که تمرین مقاومتی سبب کاهش معنادار TNFα در بافت قلب رت‌های دیابتی نوع ۲ می‌شود (ماسدو سانتیاگو[4] و دیگران، ۲۰۱۸). این موضوع در مطالعاتی که تمرینات مقاومتی فزاینده و یا تناوبی را اعمال کرده بودند نیز تایید شد (الهی و دیگران، ۲۰۱۳). هرچند نتایج برخی مطالعات با نتایج این مطالعه همسو نبود (کادگلو[5] و دیگران، ۲۰۰۷). بخشی از اثر مطلوب فعالیت ورزشی در افراد دیابتی، ناشی از تاثیر آن برای مهار فاکتور رونویسی NF-κB و در نتیجه محافظت در برابر مقاومت به انسولین ناشی از TNFα است که ممکن است در نوع تاثیرگذاری دخیل باشد (چن[6] و دیگران، ۲۰۱۴). فعالیت‌بدنی منظم در برابر انواع بیماری‌های مزمن مرتبط با التهاب درجه پایین محافظت ایجاد می‌کند و ممکن است به عنوان عاملی برای طیف وسیعی از بیماری‌های مزمن مفید باشد (متور[7] و دیگران، ۲۰۰۸). این پژوهش نیز همانند سایر پژوهش‌ها محدودیت‌هایی داشت. ازجمله محدودیت‌های این پژوهش عدم اندازه‌گیری میزان پروتئین این ژن‌ها و سطوح پلاسمایی و همچنین سایر سایتوکین‌های ضدالتهابی بود که می‌توانست در کنار ارزیابی بیان این ژن‌ها اطلاعات کامل‌تری را ارائه دهد. با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد تمرین ورزشی هوازی فزاینده می‌تواند با برخی عوامل مهار رگ‌زایی در بافت قلب دیابتی مقابله کرده و موجب فعال‌شدن برخی عوامل رگ زایی در بیماران دیابتی شود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد یک دوره تمرین هوازی پیشرونده بتواند به عنوان یک شیوه مناسب غیردارویی برکاهش التهاب و افزایش رگ‌زایی در نمونه‌های دیابتی نقش داشته باشد که احتمالا این اثر از طریق تعدیل بیان ژن *vegf* و *tnfα* صورت می‌گیرد.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی بین نویسندگان در اجرای و نوشتار این پژوهش وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول بود. بدین وسیله از معاونت پژوهش دانشگاه لرستان که زمینه اجرای این پژوهش را فراهم آورد تشکر می‌شود.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

1. Mathur
2. Batista
3. Teixeira de Lemo
4. Macedo Santiago
5. Kadoglou
6. Chen
7. Mathur

منابع

American Diabetes, A. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. ***Diabetes Care,*** 33 Suppl 1(Suppl 1), **S62-69**.

Bakhtiari, F., Matin Homaee, H., & Ghazalian, F. (2019). The Effects of 4 Weeks Aerobic Training on Oxidative and Angiogenesis Markers of Cardiac Tissue in Type 2 Diabetic Male Wistar Rats. Armaghane Danesh, 24**(5), 892-905. (in presian)**

Batista, M. L., Jr., Lopes, R. D., Seelaender, M. C., & Lopes, A. C. (2009). Anti-inflammatory effect of physical training in heart failure: role of TNF-alpha and IL-10. Arq Bras Cardiol, 93**(6), 643-651.**

Chen, Y. W., Apostolakis, S., & Lip, G. Y. (2014). Exercise-induced changes in inflammatory processes: Implications for thrombogenesis in cardiovascular disease. Ann Med, 46**(7), 439-455.**

Chou, E., Suzuma, I., Way, K. J., Opland, D., Clermont, A. C., Naruse, K., . . . King, G. L. (2002). Decreased cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in insulin-resistant and diabetic States: a possible explanation for impaired collateral formation in cardiac tissue. Circulation, 105**(3), 373-379.**

Davari, F., Alimanesh, Z., Alimanesh, Z., Salehi, O., & Hosseini, S. A. (2022). Effect of training and crocin supplementation on mitochondrial biogenesis and redox-sensitive transcription factors in liver tissue of type 2 diabetic rats. Arch Physiol Biochem, 128**(5), 1215-1220.**

Egginton, S. (2009). Invited review: activity-induced angiogenesis. Pflugers Arch, 457**(5), 963-977.**

Elahi, A., Khaledi, N., Motamedi, P., Askari, H., & Rajabi, H. (2020). The Effect of Progressive Resistance Training and High-Intensity Interval Training on Cardiac Nuclear Factor-Kappa B Gene Expression and Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF-α) in Male Diabetic Rats. Journal of Isfahan Medical School, 38**(575), 317-324. [In Presian]**

Erekat, N. S., Al-Jarrah, M. D., & Al Khatib, A. J. (2014). Treadmill Exercise Training Improves Vascular Endothelial Growth Factor Expression in the Cardiac Muscle of Type I Diabetic Rats. Cardiol Res, 5**(1), 23-29.**

Frati, G., Schirone, L., Chimenti, I., Yee, D., Biondi-Zoccai, G., Volpe, M., & Sciarretta, S. (2017). An overview of the inflammatory signalling mechanisms in the myocardium underlying the development of diabetic cardiomyopathy. Cardiovasc Res, 113**(4), 378-388.**

Fuentes-Antras, J., Ioan, A. M., Tunon, J., Egido, J., & Lorenzo, O. (2014). Activation

of toll-like receptors and inflammasome complexes in the diabetic cardiomyopathy-associated inflammation. Int J Endocrinol, 20 **(14), 84782-7.**

Ghahramani, M., & Karbalaeifar, S. (2019). The Effect of Interval Training on Cardiac Angiogenesis Capacity in Rats with Myocardial Infarction. Report of Health Care, 5**(1), 9-16.**

Gustafsson, T., Puntschart, A., Kaijser, L., Jansson, E., & Sundberg, C. J. (1999). Exercise-induced expression of angiogenesis-related transcription and growth factors in human skeletal muscle. Am J Physiol, 276**(2), H679-685.**

Howangyin, K. Y., & Silvestre, J. S. (2014). Diabetes mellitus and ischemic diseases: molecular mechanisms of vascular repair dysfunction. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 34**(6), 1126-1135.**

Kadoglou, N. P., Iliadis, F., Angelopoulou, N., Perrea, D., Ampatzidis, G., Liapis, C. D., & Alevizos, M. (2007). The anti-inflammatory effects of exercise training in patients with type 2 diabetes mellitus. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 14**(6), 837-843.**

Karamysheva, A. F. (2008). Mechanisms of angiogenesis. Biochemistry (Mosc), 73**(7), 751-762.**

Lorenzo, O., Picatoste, B., Ares-Carrasco, S., Ramirez, E., Egido, J., & Tunon, J. (2011). Potential role of nuclear factor kappaB in diabetic cardiomyopathy. Mediators Inflamm, 20**(11), 652-9.**

Macedo Santiago, L. A., Neto, L. G. L., Borges Pereira, G., Leite, R. D., Mostarda, C. T., de Oliveira Brito Monzani, J., . . . Navarro, F. (2018). Effects of Resistance Training on Immunoinflammatory Response, TNF-Alpha Gene Expression, and Body Composition in Elderly Women. J Aging Res, 20**(18), 146702-5.**

Marfella, R., Esposito, K., Nappo, F., Siniscalchi, M., Sasso, F. C., Portoghese, M., . . . Giugliano, D. (2004). Expression of angiogenic factors during acute coronary syndromes in human type 2 diabetes. Diabetes, 53**(9), 2383-2391.**

Mathur, N., & Pedersen, B. K. (2008). Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. Mediators Inflamm, 20(**8), 1095-02.**

Monzemi, A. H., Etemad, Z., Nazari, A., & Mohammadi, M. (2022). The effect of eight weeks of endurance training along with cinnamon extract consumption on expression of angiogenic markers in endothelial dysfunction of the coronary arteries in streptozotocin-diabetic male rats. Journal of Sport and Exercise Physiology, 15**(1), 11-20.**

Nourshahi, M., Taheri Chadorneshin, H., & Ranjbar, K. (2013). The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *Quarterly of the* Horizon of Medical Sciences, 185**(1), 286-296. (in presian).**

Pedersen, B. K. (2017). Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. Eur J Clin Invest, 47**(8), 600-611.**

Rahmati, M., Gharakhanlou, R., Movahedin, M., Mowla, S. J., Khazani, A., Fouladvand, M., & Jahani Golbar, S. (2015). Treadmill training modifies KIF5B motor protein in the STZ-induced diabetic rat spinal cord and sciatic nerve. Arch Iran Med, 18**(2), 94-101.**

Roozbahani, M., Jamshidian, H., Mahmoudi, E., & Arshi, A. (2018). Angiogenesis: A Review of Molecular Mechanism. The Scientific Journal of Iranian Blood Transfusion Organization, 15**(1), 59-70. (in presian).**

Shahavand, H., Hosseinpour Delavar, S., Behpoor, N., Safikhani, H., & Azizi, M. (2021). Effect of aerobic exercise on vascular endothelial growth factor-B (VEGF-B) gene expression and total tissue antioxidant status (TAS) in diabetic rats. Journal of Applied Exercise Physiology, 17**(33), 73-87.**

Shahidi, F., Yazdani, F., Gaieni, A., & Karimi, P. (2019). Comparison of the effect of eight weeks of moderate continuous and sever interval training on cardiac angiogenesis in wistar male diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders, 18**(5), 236-245. (in presian).**

Teixeira de Lemos, E., Pinto, R., Oliveira, J., Garrido, P., Sereno, J., Mascarenhas-Melo, F., . . . Reis, F. (2011). Differential effects of acute (extenuating) and chronic (training) exercise on inflammation and oxidative stress status in an animal model of type 2 diabetes mellitus. Mediators Inflamm, 20**(11), 253-61.**

Thijssen, D. H., Vos, J. B., Verseyden, C., van Zonneveld, A. J., Smits, P., Sweep, F. C., . . . de Boer, H. C. (2006). Haematopoietic stem cells and endothelial progenitor cells in healthy men: effect of aging and training. Aging Cell, 5**(6), 495-503.**

Vali Zadeh, S., Motamedi, P., Karami, H., & Rajabi, H. (2018). The Effects of Endurance Training on Gene Expression of VEGF and VEGFR2 of Cardiac Tissue in Type 2 Diabetic Male Wistar. Journal of Arak University of Medical Sciences, 21**(6), 107-118. (in presian).**

Waltenberger, J. L. (2007). New Horizons in Diabetes Therapy: The Angiogenesis Paradox in Diabetes: Description of the Problem and Presentation of a Unifying Hypothesis. Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry, **7, 87-93.**

Yang, J., Park, Y., Zhang, H., Xu, X., Laine, G. A., Dellsperger, K. C., & Zhang, C. (2009). Feed-forward signaling of TNF-alpha and NF-kappaB via IKK-beta pathway contributes to insulin resistance and coronary arteriolar dysfunction in type 2 diabetic mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 296**(6), H1850-1858.**