

Original Article

The effect of aerobic training on VEGF expression in diabetic rats

Hamdollah Hadi^{1*}, AbbasAli Gaeini², Pejman Mo'tamedi³, Hamid Rajabi³

¹School of Physical Education and Sport Sciences, Police University, Tehran, Iran

²School of Physical Education and Sport Sciences, Tehran University, Tehran, Iran

³School of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

*Corresponding author; E-mail: amir.hadi1@gmail.com

Received: 12 January 2015 Accepted: 25 April 2015 First Published online: 11 October 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 December; 39(5):81-90

Abstract

Background: Aerobic training is a well-supported as a useful component of an exercise. One of the most common adaptations that occur in this type of training is creating new vessels and increased angiogenesis factors. Aerobic training can be effective on angiogenesis. The aim of this study was to investigate the effect of aerobic training on (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) expression in diabetic rats.

Methods: 40 Rats divided to two categories equally, diabetic and non-diabetics rats. In case group, diabetes was created through a combination of streptozotocin (STZ) and high-fat meal. Then each category of diabetic and non-diabetic animals will be divided into two groups: \ training (6 days per week on a motorized treadmill) and non-training. At first, the rat began for 10 minutes a day and at a speed of 10 meters per minute, with a slope of 10%.Speed and duration of the exercise, gradually increased, until the duration and intensity of exercise respectively to arrive 1 hour and 26 meters per minute. 48 hours after completion of training period, Cardiac muscle will be removed and immediately placed into liquid nitrogen. Cardiac protein expression of VEGF investigated with method of Elisa. For data analysis, One Way Anova and tukey test will be used to find differences between groups.

Results: Diabetes significantly decreased cardiac expression of VEGF protein level (control group: 480.67 ± 14.77 compared with diabetic group: 360.12 ± 33.35 ; $P < 0.001$). Also, 8 weeks of aerobic training significantly increased cardiac VEGF protein level in healthy (control group: 480.67 ± 14.77 compared with training group: 621.4 ± 34.06 ; $P < 0.001$) and diabetic rats (diabetic group: 360.12 ± 33.35 compared with diabetic training group: 471.88 ± 25.55 ; $P < 0.001$).

Conclusion: It seems aerobic training can via angiogenic path incurred diabetes improvement. Also, as for results of yielded from this study and kindle regulatory processes by VEGF that via aerobic training be impressed, it is get worth strategy that it can lead in diabetes on development of new therapy methods.

Keywords: Aerobic Training, Angiogenesis, VEGF, Diabetes

How to cite this article: Hadi H, Gaeini A.A, Mo'tamedi P, Rajabi H. [The effect of aerobic training on VEGF expression in diabetic rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 December;39(5):81-90. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر تمرین هوازی بر میزان عامل رشد اندوتلیال عروقی در موش های صحرایی دیابتی

حمداله هادی^{۱*}، عباسعلی گائینی^۲، پژمان معتمدی^۳، حمید رجبی^۴^۱دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه علوم انتظامی امین، تهران، ایران^۲دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران^۳دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

*نویسنده رابط: ایمیل: amir.hadi1@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۲ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۵ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۷/۱۹

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۶ آذر و دی؛ ۳۹ (۵): ۸۱-۹۰

چکیده

زمینه: تمرین هوازی به عنوان جزء سودمند برنامه تمرینی می تواند به منظور بهبود استقامت قلبی عروقی و ظرفیت عملکردی در افراد به کار برده شود. به نظر می رسد تمرینات هوازی می توانند از طریق افزایش آنژیوژنز، بیماران دیابتی را تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرین هوازی بر میزان عامل رشد اندوتلیال عروقی در موش های صحرایی دیابتی بود.

روش کار: ۴۰ رت به دو دسته مساوی ۲۰ تایی دیابتی و سالم تقسیم شدند. در رت های دیابتی، دیابت از طریق ترکیب تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین و مصرف غذای پرچرب ایجاد شد. سپس هر دسته به دو گروه تمرین هوازی به مدت ۸ هفته (۶ جلسه در هفته بر روی نوار گردان موتوردار) و بدون تمرین تقسیم شدند. در ابتدا، موش های صحرایی به مدت ۱۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب ۱۰٪ تمرین خود را آغاز کردند. سرعت و مدت تمرین به تدریج افزایش یافت تا این که مدت و شدت تمرین به ترتیب به ۱ ساعت در روز و ۲۶ متر در دقیقه رسید. ۴۸ ساعت پس از اتمام دوره تمرینی عضله قلبی آن ها تحت شرایط استریل جدا گردید. میزان بیان پروتئین VEGF به وسیله روش الیزا مورد اندازه گیری قرار گرفت. جهت تجزیه تحلیل اطلاعات از آزمون تحلیل واریانس یک سویه و آزمون تعقیبی توکی و نرم افزار Spss16 استفاده شد.

یافته ها: نتایج مطالعه نشان داد که دیابت موجب کاهش معنی دار میزان بیان پروتئین VEGF (گروه کنترل: $480/67 \pm 14/77$ در برابر گروه دیابتی: $360/12 \pm 33/35$) می شود ($P < 0/001$). هم چنین نتایج نشان داد که تمرین هوازی به مدت ۸ هفته موجب افزایش معنی دار میزان بیان پروتئین VEGF در گروه های سالم (گروه کنترل: $480/67 \pm 14/77$ در برابر گروه تمرینی سالم: $621/4 \pm 34/06$) و دیابتی (گروه دیابتی: $360/12 \pm 33/35$ در برابر گروه تمرینی دیابتی: $471/8 \pm 25/55$) می شود ($P < 0/001$).

نتیجه گیری: بنابراین به نظر می رسد تمرین هوازی می تواند از طریق فعال سازی مسیر آنژیوژنیک بافت قلب باعث تعدیل اثرات مخرب بیماری دیابت گردد. لذا فرایندهای تنظیمی به وسیله (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) که به وسیله تمرین هوازی تحت تأثیر قرار می گیرند، می تواند استراتژی بسیار با ارزشی در توسعه روش های درمانی جدید در بیماری دیابت باشد.

کلید واژه ها: تمرین هوازی، آنژیوژنز، عامل رشد اندوتلیال عروقی، دیابت

نحوه استناد به این مقاله: هادی ح^{*}، گائینی ع، معتمدی پ، رجبی ح. تأثیر تمرین هوازی بر میزان عامل رشد اندوتلیال عروقی در موش های صحرایی دیابتی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹ (۵): ۸۱-۹۰

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از مهم ترین عوامل خطر برخی اختلالات نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی و بیماری های قلبی عروقی محسوب می شود (۱). به علاوه، دیابت با ناهنجاری هایی در آنژیوژنز نیز همراه است، به گونه ای که علت بسیاری از تظاهرات بالینی در افراد دیابتی مثل نقص در ترمیم زخم، افزایش خطر رد پیوند، ناهنجاری های جنینی در مادران دیابتی، تشکیل ناقص عروق جانبی کرونری و ... با اختلال در آنژیوژنز ارتباط دارد (۲). به هر حال، دیابت از دیدگاه عروقی و آنژیوژنیک بیماری متناقض می باشد، چرا که از یک طرف باعث افزایش آنژیوژنز در اندام هایی مانند کلیه و چشم می شود و از طرف دیگر موجب مهار آنژیوژنز در قلب و عروق محیطی می شود (۳). بر اساس بسیاری از مطالعات، دیابت باعث کاهش آنژیوژنز و تشکیل عروق جانبی در قلب در انسان و مدل های حیوانی می شود. این عوامل باعث کاهش پرفیوژن و خون رسانی به میوکارد و افزایش مرگ و میر می شود. در تایید این موضوع، Abaci و همکاران با مطالعه ای که در ۴۱۰ فرد مبتلا به بیماری عروق کرونر انجام دادند (۲۰۵) فرد دیابتی و ۲۰۵ فرد غیردیابتی) مشاهده کردند بیماران دیابتی میزان عروق جانبی کرونر کمتری دارند (۴). مطالعات Werner و همکاران نیز از کاهش رشد و توسعه عروق جانبی کرونر در بیماران دیابتی، حمایت کردند (۵). به علاوه، نشان داده شده است دیابت باعث کاهش قطر مویرگ ها، کاهش نسبت مویرگ ها به فیبرها، کاهش ظرفیت انتشار مویرگ ها و هم چنین اختلال در تنظیم همودینامیک عروق عضلات می شود (۶). با وجود افزایش آگاهی از اثرات تخریبی دیابت در مورد آنژیوژنز بافت قلبی، ساز و کارهای مولکولی درگیر در این پدیده به طور دقیق شناخته نشده اند. در مطالعات متعدد نشان داده شده است که (Vascular Endothelium Growth Factor, VEGF)، یک فاکتور موثر در رشد، تکثیر و مهاجرت سلول های اندوتلیال است (۷)، و نقش زیادی در ایجاد آنژیوژنز دارد. این اثر آنژیوژنزی هم در مطالعات *in vitro* و هم *in vivo* مشاهده شد. بررسی های انسانی نیز نشانگر این بود که تزریق داخل عضلانی میوکارد یا تزریق شریانی VEGF، به طور بارزی عروق جانبی را در بیماران با سندروم ایسکمی افزایش می دهد (۸). لذا امروزه VEGF درمانی به عنوان یک درمان جدید در بیماران با انسداد عروق کرونر یا عروق محیطی پیشنهاد و استفاده می شود (۴). در عضلات اسکلتی و قلبی، دیابت تاثیر منفی و ورزش تاثیر مثبت ایجاد می کند. عضله اسکلتی ظرفیت قابل توجهی در برخورد با تغییرات و نیازهای سوخت و سازی در زمان تمرین و ورزش دارد. تمرین، آنژیوژنز را در داخل و سرتاسر عضله و هم چنین سازگاری را در رشد مویرگی و محتوی میتوکندریایی و ظرفیت اکسیداتیو ایجاد می کند. شواهد مختلف نشان داده است که افزایش جریان خون به تنهایی

برای رشد مویرگ ها در عضله کافی خواهد بود و این موضوع (رشد مویرگ ها) به علت افزایش در نیروهای همودینامیکی، استرس پاره کننده Shear stress، فشار دیواره ها، کشش و فشار دوره ای است که باعث تغییر مهاجرت و تکثیر سلول های اندوتلیال می شود که البته در سیستم های آزمایشگاهی مشاهده شد (۹). به علاوه بررسی های مختلف به اثر ورزش در عضلات افراد دیابتی نیز پرداخته اند. تمرینات مختلف می توانند اثرات متعددی داشته باشند. به عنوان مثال تمرین هوازی باعث افزایش شبکه مویرگی عضلات انسان و حیوانات می گردد (۱۰). در مجموع، مطالعات مختلف نشان داده اند دیابت باعث کاهش آنژیوژنز، کاهش قطر مویرگ ها، کاهش نسبت مویرگ ها به فیبرها و تشکیل عروق جانبی قلب در انسان و مدل های حیوانی می شود (۱۱). هم چنین، بررسی ها مختلف نشان داده اند تمرین ورزشی، باعث افزایش آنژیوژنز در افراد سالم و بیماران دیابتی می شود. روشن شدن این فرایندهای تنظیمی به وسیله VEGF و شناسایی ساز و کارهای جدید که به وسیله تمرین ورزشی تحت تاثیر قرار می گیرند، استراتژی بسیار با ارزشی است که می تواند به توسعه روش های درمانی جدید در بیماری دیابت منجر شود. بنابراین با توجه به موارد ذکر شده و با توجه به نوپا بودن بحث آنژیوژنز در حیطه علوم ورزشی و دیابت در کشور، هدف از تحقیق حاضر تعیین تاثیر تمرین هوازی بر میزان بیان عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در عضله قلبی موش های صحرایی دیابتی می باشد.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع آزمایشگاهی می باشد که به صورت تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل انجام شد. ۴۰ رأس رت نژاد ویستار در سن ۴ هفتهگی با میانگین وزنی $98/5 \pm 11/9$ از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط دمایی $22^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت ۵۰ درصد و کم سر و صدا) و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته به صورت انفرادی در هر قفس نگه داری شدند. وزن بدن به طور روزانه ثبت و رت ها با غذای مخصوص رت و آب تغذیه شدند. بعد از گذشت دو هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن مطلوب) رت ها با میانگین وزنی $191/9 \pm 10/85$ به چهار گروه کنترل سالم ($n=10$)، تمرینی سالم ($n=10$)، کنترل دیابتی ($n=10$)، و تمرینی دیابتی ($n=10$) تقسیم و بر اساس وزن همسان سازی شدند. دیابت در این تحقیق از طریق ترکیب مصرف غذای پرچرب و تزریق استرپتوزوتوسین ایجاد شد (۱۲). غذای مورد استفاده شامل ۵۸ درصد چربی، ۲۵ درصد پروتئین و ۱۷ درصد کربوهیدرات بود (۱۲). این ترکیب غذایی به وسیله محقق به صورت دست ساز و با همکاری شرکت کانی دام تهیه گردید. رت های گروه دیابتی به مدت دو هفته تحت مصرف غذای

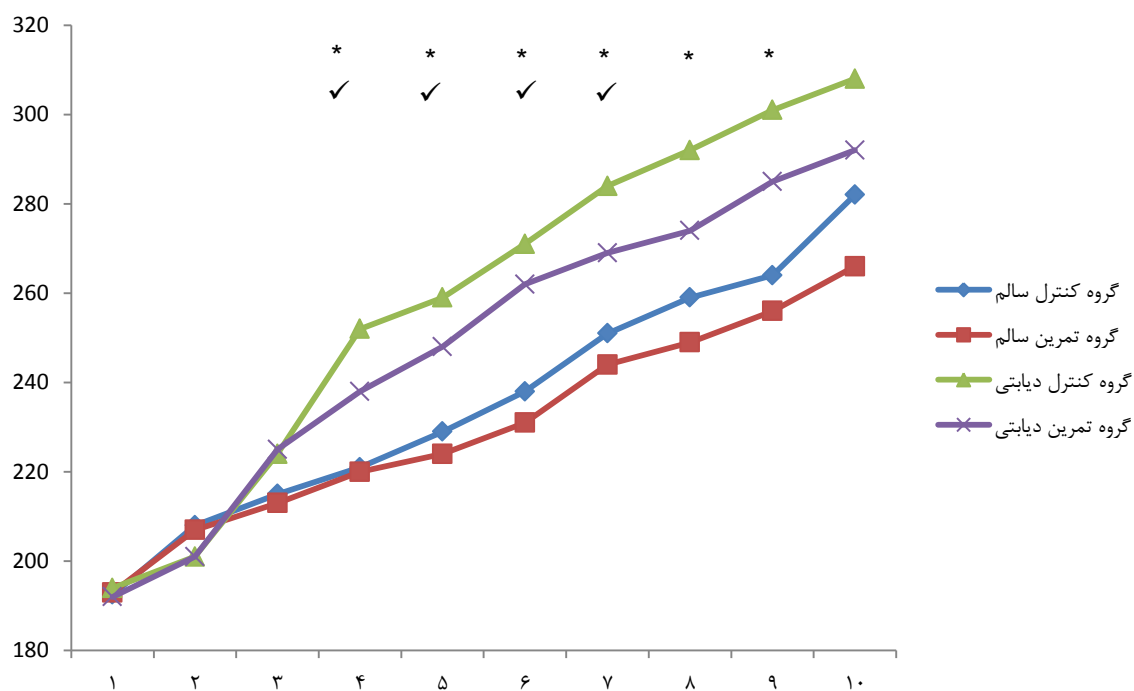
یافته‌ها

همان‌گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، نتایج مربوط به اندازه‌گیری وزن حیوانات نشان داد که کاهش اندک در وزن بدن در هفته بعد از القای دیابت در گروه‌های دیابتی مشاهده و پس از آن روند افزایش وزن در تمامی گروه‌ها به صورت طبیعی ادامه یافت. بعد از گذشت ۴ هفته از زمان شروع مصرف غذای پر چرب توسط گروه‌های دیابتی، اختلاف وزن بین گروه کنترل دیابتی و تمرین دیابتی با سایر گروه‌ها معنی‌دار شد و این اختلاف تا پایان تحقیق برای گروه کنترل و دو هفته قبل از اتمام تمرین برای گروه تمرین دیابتی ادامه داشت. مقادیر گلوکز سرمی موش‌های صحرایی پس از القای دیابت و پس از هشت هفته تمرین هوازی در نمودار ۲ ارائه شده است. القای دیابت موجب افزایش معنی‌دار گلوکز سرمی در گروه‌های دیابتی و تمرین دیابتی گردید ($p < 0/001$). هم چنین ۸ هفته تمرین هوازی باعث کاهش معنی‌دار گلوکز سرمی در گروه تمرین دیابتی گردید ($p < 0/001$). نمودار ۳ میانگین مقادیر پروتئین VEGF عضله قلبی در چهار گروه کنترل، کنترل تمرین، دیابت و دیابت تمرین را نشان می‌دهد. هم چنین نتایج مربوط به آزمون آنالیز واریانس یک سویه، برای مقادیر پروتئین VEGF عضله قلبی را در چهار گروه کنترل، کنترل تمرین، دیابت و دیابت تمرین نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس یک سویه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین چهار گروه مورد مطالعه وجود دارد ($F=130/903$ و $p < 0/001$) نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و کنترل تمرین (افزایش معنی‌دار گروه کنترل تمرین) ($p < 0/001$)، کنترل و دیابت (کاهش معنی‌دار گروه دیابت) ($p < 0/001$) و دیابت و کنترل تمرین (افزایش معنی‌دار گروه کنترل تمرین) ($p < 0/001$) هم چنین دیابت و دیابت تمرین (افزایش معنی‌دار گروه دیابت تمرین) ($p < 0/001$) وجود دارد، در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و دیابت تمرین ($p = 0/917$) مشاهده نشد.

پرچرب قرار گرفتند، در حالی که گروه‌های سالم غذای طبیعی مصرف می‌کردند. بعد از آن تزریق درون صفاقی استریوتوزوتوسین به میزان 35 mg/Kg حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد بعد از ۶ ساعت ناشتایی در دو گروه دیابتی انجام گرفت (۱۳). ۴۸ ساعت بعد از تزریق دارو، نمونه خونی از چشم حیوان جمع‌آوری و جدا سازی سرم انجام و غلظت گلوکز با روش آنزیماتیک گلوکز اکسیداز با کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. غلظت گلوکز بالاتر از 300 mg/dl به عنوان دیابت تعریف و رت های واجد شرایط وارد تحقیق شدند. پروتکل تمرینی بدین صورت بود که: تمرین هوازی به مدت ۸ هفته ۶ جلسه در هفته بر روی نوارگردان موتوردار انجام شد (جدول ۱). قابل ذکر است که پروتکل تمرینی قبل از شروع مطالعه با انجام pilot study بر روی ۴ رت سالم و دیابتی مورد تایید قرار گرفت. سنجش متغیرهای وابسته بدین صورت بود: پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین، و پس از ناشتایی شبانه نمونه‌گیری انجام شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۵ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلوزین (۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس قفسه سینه حیوان شکافته شد و برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، خون مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. عضله قلبی آن‌ها تحت شرایط استریل جدا شد. بافت مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد. نمونه‌های خون که مستقیماً از قلب گرفته شده، در لوله‌های فالتون جمع‌آوری و داخل یخچال نگه‌داری شد. پس از انعقاد نمونه‌های خون با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سرم آن جداسازی و جهت مراحل بعدی تحقیق به فریزر با دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. آماده‌سازی نمونه‌های بافتی اینگونه صورت گرفت: ابتدا نمونه‌ها از حالت فریز خارج شدند و مدتی در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها وزن شده و مقدار ۵۰-۱۰۰ میلی گرم از هر نمونه در میکروتیوب ۱/۵ کدگذاری شده قرار داده شدند. نمونه‌ها روی یخ گذاشته شدند تا دیگر مراحل کار انجام گیرد. (Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) ELISA Kit, antibodies, USA، شماره کاتالوگ ABIN772617 با حساسیت $> 2 \text{ pg/ml}$) و با استفاده از دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. در تجزیه و تحلیل داده‌ها، جهت سنجش میزان بیان پروتئین VEGF از گروه کنترل سالم ۹ راس، تمرینی سالم ۱۰ راس، کنترل دیابتی ۸ راس و تمرینی دیابتی ۸ راس استفاده شد. برای تایید نرمالیتی داده‌ها از آزمون کلوموگراف اسمیرنف، آزمون آنالیز داده‌های بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌سویه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار آماری spss16 در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

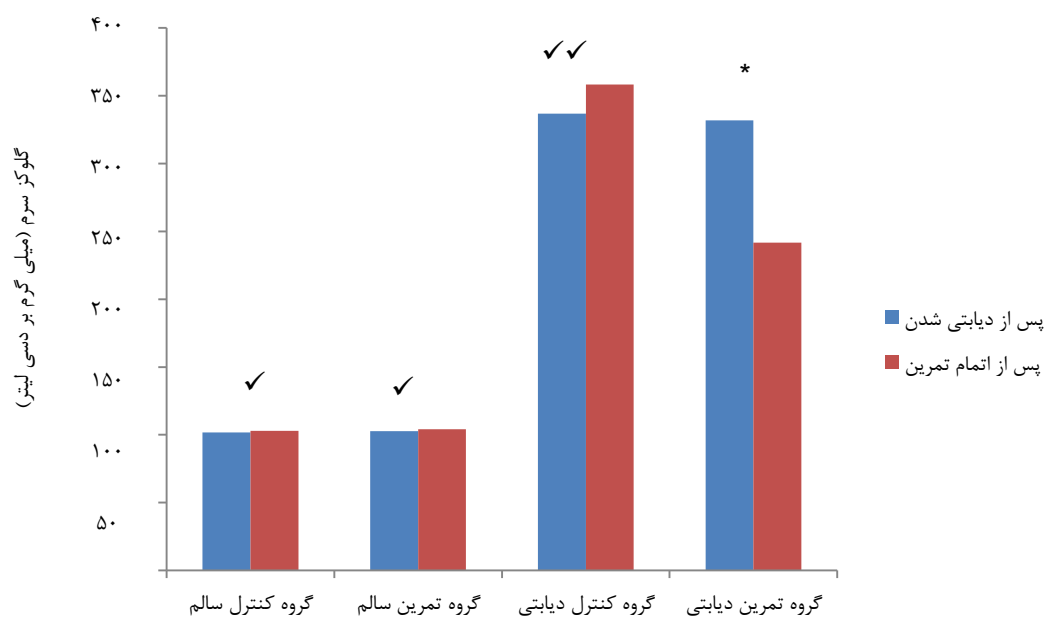
جدول ۱: پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط بر روی نوار گردان

روزهای تمرین	سرعت	شیب	مدت تمرین
روز اول	۱۰ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۱۰ (min)
روز دوم	۱۱ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۱۵ (min)
روز سوم	۱۲ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۲۰ (min)
روز چهارم	۱۳ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۲۵ (min)
روز پنجم	۱۴ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۳۰ (min)
روز ششم	۱۵ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۳۵ (min)
روز اول	۱۶ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۴۰ (min)
روز دوم	۱۷ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۴۰ (min)
روز سوم	۱۸ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۴۵ (min)
روز چهارم	۱۹ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۵۰ (min)
روز پنجم	۲۰ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۵۵ (min)
روز ششم	۲۱ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۶۰ (min)
هفته سوم	۲۲ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۶۰ (min)
هفته چهارم	۲۳ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۶۰ (min)
هفته پنجم	۲۴ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۶۰ (min)
هفته ششم	۲۵ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۶۰ (min)
هفته هفتم	۲۶ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۶۰ (min)
هفته هشتم	۲۶ (m/min)	۱۰٪ (۶ درجه)	۶۰ (min)



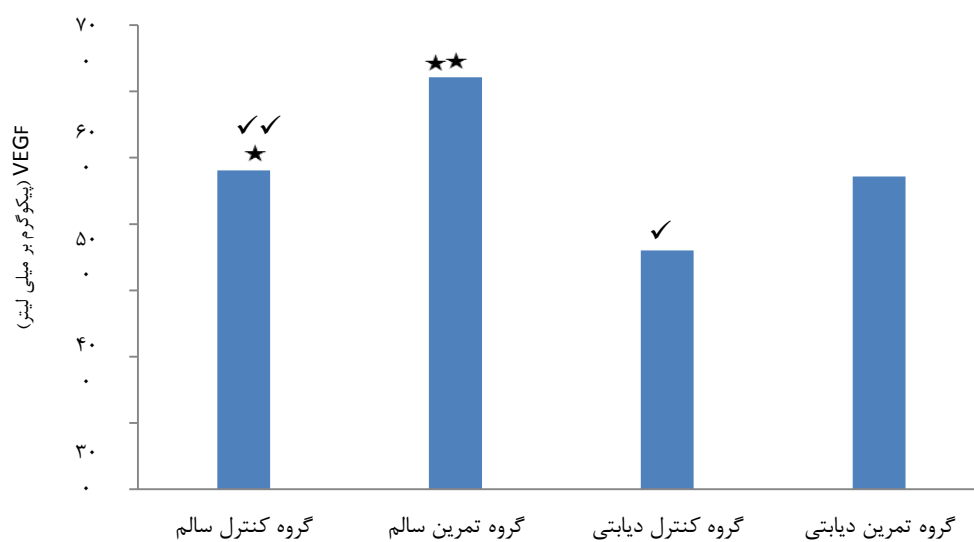
نمودار ۱. تغییرات وزن بدن در گروه های مختلف تحقیق

★ تفاوت معنی دار بین گروه کنترل دیابتی با گروه های سالم
 ✓ تفاوت معنی دار بین گروه دیابتی تمرین با گروه های سالم



نمودار ۲: تغییرات گلوکز سرمی در چهار گروه مورد مطالعه پس از دیابتی شدن و پس از اتمام ۸ هفته تمرین هوازی

- ★ تفاوت معنی دار پس از القای دیابت و پس از اتمام ۸ هفته تمرین هوازی
- ✓ تفاوت معنی دار بین گروه های سالم و گروه های دیابتی قبل و پس از اتمام ۸ هفته تمرین هوازی
- ✓✓ تفاوت معنی دار بین گروه کنترل دیابتی و گروه تمرین دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی



نمودار ۳: میانگین مقادیر بیان پروتئین VEGF بافت قلبی گروه های مورد مطالعه پس از دوره تمرینی

- ★ نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه کنترل سالم و تمرین سالم
- ★ نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه تمرین سالم و تمرین دیابتی
- ✓ نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه کنترل دیابتی و تمرین دیابتی
- ✓✓ نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه کنترل سالم و کنترل دیابتی

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که دیابت موجب کاهش معنی‌دار میزان پروتئین VEGF عضله قلبی می‌شود. بر اساس بسیاری مطالعات، دیابت باعث کاهش رگ‌زایی و تشکیل عروق جانبی در قلب و عضلات اسکلتی در زمان ایسکمی در انسان و مدل‌های حیوانی می‌گردد (۱۶-۴۰). توجیه سلولی و مولکولی ارائه شده برای این موضوع بدین صورت است که در این بیماری، دو نوع سلول اصلی درگیر در فرایند آرتریوژنز (۱- سلول‌های اندوتلیال و ۲- مونوسیت‌های در گردش) دچار نقص عملکردی می‌شوند (۱۷). هایپرگلیسمی باعث نقص سیگنالینگ در پایین دست VEGFR2 در سلول‌های اندوتلیال می‌گردد، هم‌چنین پاسخ کموتوکسیک و مهاجرت مونوسیت‌ها که توسط گیرنده VEGFR1 در پاسخ به VEGF میانجی شده، دچار نقص می‌شود. والتنبرگر اذعان نمود که فعال‌سازی VEGFR1 در مونوسیت‌های افراد دیابتی طبیعی است (۱۸). Sasso و همکاران نیز گزارش کردند که بیمارانی که تحت عمل جراحی بای پس شریان کرونری قرار گرفته‌اند بیان افزایش یافته‌ای از VEGF را در میوکارد در مقایسه با افراد غیردیابتی نشان داده‌اند. در حالی که میزان VEGFR1,2 در آن‌ها کاهش یافته است. مهم‌تر آن که میزان فسفوریلاسیون Flk-1 که نشان دهنده وضعیت فعال آن است، کاهش شدیدی را نشان داده است. این پدیده خود منجر به کاهش فعالیت eNOS و Akt (یک سرین ترئوپونین کیناز) که فاکتورهای اصلی مسیر سیگنالینگ VEGF است، می‌گردد. این دو مطالعه نشان می‌دهند که عملکرد VEGFR1 در شرایط دیابت طبیعی است، اما فعال‌سازی Flk-1 طبیعی نمی‌باشد (۱۹). بنابراین احتمالاً Flk-1 گیرنده اصلی درگیر در انتقال سیگنال VEGF است و از طریق فعال‌سازی Akt-1 و ERK1/2 عملکرد سلولی را تنظیم می‌کند. Akt-1 به نوبه خود باعث فعال‌سازی eNOS و تولید NO می‌شود که برای تکثیر سلول‌های اندوتلیال و مهار آپوپتوز لازم است. هم‌چنین فعالیت VEGFR1 احتمالاً برای حفظ یکپارچگی عروق در بافت‌های بالغین ضروری است (۲۰). اما نقش VEGFR1 در سیگنالینگ VEGF بحث برانگیز است. نظر به این که این گیرنده علاوه بر اندوتلیوم در طیف وسیعی از سلول‌های تک هسته‌ای شامل مونوسیت‌ها بیان می‌شود (۲۱)، کاهش VEGF منجر به کاهش رشد و بلوغ عروق جانبی، کاهش تراکم مویرگی به خصوص به دنبال انفارکتوس میوکارد و نهایتاً کاهش تعداد عروق کوچک در قلب می‌شود. همه این عوامل باعث کاهش پرفیوژن و خون‌رسانی به میوکارد و افزایش مرگ و میر می‌شود (۲۲). دیابت بر روی فاکتورهای پروآنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک اثر می‌گذارد که این اثر باعث تغییر موازنه بین عوامل تحریک‌کننده و مهارکننده رگ‌زایی شده و در نتیجه با تغییر رگ‌زایی، بیماری‌های قلب و عروق افزایش می‌یابد. علی‌رغم افزایش آگاهی از اثرات ضد و نقیض

دیابت در مورد رگ‌زایی، ساز و کارهای مولکولی درگیر در این پدیده دقیقاً شناخته نشده است. گفته می‌شود رگ‌زایی مهار شده در دیابت، احتمالاً مرتبط با تجزیه نامناسب غشا پایه، تغییرات در تعادل فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌هایی که پایداری عروقی را تنظیم می‌کند و یا مشکلات در مسیر انتقال سیگنال است. در مطالعه حاضر هم‌چنین مشخص شد که مقدار پروتئین VEGF عضله قلبی در گروه‌های سالم و دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. تأثیر فعالیت بدنی بر عامل رشد اندوتلیال عروق خون‌داری نتایج متناقضی است. برخی مطالعات نشان دادند که فعالیت تمرینی حاد (استفاده از چرخ کارسنج با بار ۴۰ واتی و افزایش ۲۰ واتی در هر دقیقه) میزان فاکتور رشد اندوتلیال عروق سرم را افزایش می‌دهد (۲۳) در حالی که برخی دیگر عدم تغییر این فاکتور و حتی کاهش غلظت آن را گزارش کردند (۲۴). کاهش VEGF به دنبال فعالیت حاد به این معنی نیست که فعالیت تمرینی، میزان تولید VEGF را کاهش می‌دهد، اما امکان دارد که کاهش موقتی این فاکتور در پاسخ به تمرین ناشی از اتصال VEGF به گیرنده‌های موجود بر روی سلول‌های اندوتلیال باشد که این اتصال محرکی برای رخ دادن فرآیند آنژیوژنز در عضله قلبی و اسکلتی است (۲۵). هم‌چنین در پژوهشی دیگر نشان داده شده افزایش میزان فاکتور رشد اندوتلیال عروق سرم دو ساعت بعد از فعالیت می‌تواند ناشی از انتقال VEGF عضله اسکلتی به داخل جریان خون باشد (۲۶). هم‌چنین، در تناقض با مطالعه حاضر، Shekarchizadeh و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه‌ای که با عنوان "اثر تمرینات مقاومتی بر سطح پلاسمایی نیتریک اکساید، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده نوع یک آن در رت‌های نرمال" انجام دادند نشان دادند که میزان پلاسمایی NO، VEGF و VEGFR1 در گروه تمرین با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است. در نتیجه محققان گفته‌اند تمرینات مقاومتی اثری بر سطح پلاسمایی عوامل موثر بر آنژیوژنز حداقل در حیوانات سالم نداشته است که دلایلی مانند زمان تمرین، شدت آن و هم‌چنین زمان نمونه‌گیری می‌تواند بر نتایج موثر باشند (۱۱). به گونه‌ای که در مطالعه Shekarchizadeh و همکاران، ۴ هفته تمرین مقاومتی مورد استفاده قرار گرفته است، در حالی که در تحقیق حاضر، ۸ هفته تمرین هوازی به کار گرفته شده است. در مطالعه دیگر Liyod و همکاران نیز به بررسی آنژیوژنز فاکتورهای آن با استفاده از برنامه تمرینی نوارگردان (۴ بار در روز به مدت ۲۴ روز) بر روی عضلات اسکلتی رت‌ها پرداختند. نتایج این مطالعه بیانگر این بود که پدیده رگ‌زایی در روز ۱۲ تمرین در رت‌ها اتفاق افتاده است. هم‌چنین آنها افزایش بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروق را نیز در طی اولین ساعت برنامه تمرینی گزارش کردند. در این مطالعه پیشنهاد شده است که افزایش سطح پروتئین

بیشتری در این حوزه انجام شود. در کل با مقایسه نتایج پژوهش حاضر با مطالعات قبلی، می توان بیان کرد که بیماری دیابت با عوارض ناتوان کننده از جمله تأثیر تخریب کننده بر آنژیوژنز می تواند دستگاه های مختلف بدن از جمله دستگاه قلبی عروقی را تحت تأثیر قرار دهد و موجب بیماری های قلبی عروقی گردد که عوارض ناشی از این بیماری ها، عمر افراد مبتلا به دیابت را کاهش و تقریباً تمام ناتوانی های ناشی از دیابت نظیر اختلال های ثانویه به بیماری عروق کرونر، نارسایی قلب و فشار خون بالا به وجود آورد. برای هر فرد مبتلا به دیابت در مرحله اول باید یک برنامه فعالیت بدنی و تمرین منظم در نظر گرفته شود. این برنامه باید بر اساس وضعیت سلامت و تناسب بدنی و متناسب با سن، جنسیت و وضعیت اجتماعی و نحوه درمان دارویی هر فرد تنظیم شود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر و مطالعات قبلی انجام شده در این حوزه، نشان داده شده است علاوه بر این که تمرین هوازی در پیشگیری از دیابت نوع ۲ موثر است، قدم اول در درمان دیابت نیز به شمار می رود. علاوه بر این با توجه به تأثیر مثبت تمرین هوازی بر آنژیوژنز در افراد سالم و دیابتی، می توان بیان کرد این نوع تمرین در کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی عروقی که از عوارض مهم و عامل اصلی مرگ و میر و ناتوانی افراد مبتلا به دیابت است، نقش دارد.

قدردانی

از تمامی کسانی که در انجام تحقیق حاضر یاری نمودند، تقدیر و تشکر می نمایم.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مولفان

ح، ع، گ و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده است.

فاکتور رشد اندوتلیال عروق منجر به ایجاد پدیده رگ زایی می شود در صورتی که با پیشرفت تمرین، بیان پروتئین فاکتور رشد اندوتلیال عروق کاهش یافته بود اما پدیده رگ زایی اتفاق افتاده بود (۲۷). در مطالعات دیگر با برنامه تمرینی متفاوت شامل یک جلسه فعالیت ورزشی مزمن و همچنین تمرین استقامتی نیز نتایج حاکی از افزایش بیان عامل رشد اندوتلیال عروق و گیرنده های آنها بود که میزان تراکم مویرگی نیز در آنها بهبود یافته بود. این مطالعات هم سو با مطالعه حاضر بهبودی را در میزان این عامل گزارش کرده اند (۲۸). Hansen و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز افزایش سطح پروتئین عامل رشد اندوتلیال عروق بعد از برنامه تمرین مقاومتی (۱۶ هفته، در ۶ دسته بندی به صورت، بدون تمرین، یک روز در هفته با حداکثر فعالیت، ۱-۲ بار در هفته، ۲-۳، ۳-۴ بار و بیشتر از ۵ بار در هفته) در بیماران قلبی عروقی را گزارش کردند که این نتایج نیز هم راستا با نتایج مطالعه حاضر است. البته نکته قابل ذکر این است که در مطالعه Hansen میزان بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروق در بیماران قلبی عروقی بررسی شده است در حالی که در این بررسی میزان بیان پروتئین در بافت قلبی مورد مطالعه قرار گرفت (۲۹). در مطالعه حاضر میزان پروتئین VEGF در اثر تمرین هوازی تغییر معنی داری را نشان داد که احتمالاً وجود مسیرها و ساز و کارهای دیگری مانند Hif-1 α و PGC-1 α نیز در این فرآیند دخیل می باشند.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دیابت نوع دوم موجب کاهش معنی دار میزان پروتئین VEGF عضله قلبی می شود. هم چنین نتایج حاکی از آن بود که ۸ هفته تمرین هوازی، می تواند موجب افزایش معنی دار میزان پروتئین VEGF عضله قلبی در حیوانات سالم و دیابتی شود. بنابراین به نظر می رسد تمرین استقامتی می تواند از طریق مسیر آنژیوژنیک باعث بهبود بیماران دیابتی گردد. هم چنین با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر و روشن شدن این فرایندهای تنظیمی به وسیله VEGF که به وسیله تمرین استقامتی تحت تأثیر قرار می گیرند، استراتژی بسیار با ارزشی به دست می آید که می تواند به توسعه روش های درمانی جدید در بیماری دیابت منجر شود. با این وجود، با توجه به عدم اندازه گیری عوامل بالا دستی و پایین دستی VEGF، به نظر می رسد بایستی مطالعات

References

1. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Ramazani M. The effect of chronic oral feeding of apium graveolens on learning and memory in diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants* 2008; 3(27): 98-105. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2008.05.567
2. Martin A, Komada MR, Sane DC. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus. *Medicinal research* 2003; 23(2): 117-145. doi: 10.1002/med.10024
3. Azadbakht L, Atabak S, Rajayee S, Zahedi M, Tehrani M, Esmailzadeh A. Soy Protein Intake, Cardiovascular Risks, CRP-Level and Kidney Function Among Type 2 Diabetic Patients with Nephropathy. *Zahedan Journal of Research in*

- Medical Sciences* 2012; **14**(2): 31-38. doi: 10.2337/dc07-2065
4. Abacı A, Oğuzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Ünal Ş, Arınç H, et al. Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. *Circulation* 1999; **99**(17): 2239-2242. doi: 10.1161/01.cir.99.17.2239
5. Werner GS, Ferrari M, Betge S, Gastmann O, Richartz BM, Figulla HR. Collateral function in chronic total coronary occlusions is related to regional myocardial function and duration of occlusion. *Circulation* 2001; **104**(23): 2784-2790. doi: 10.1161/hc4801.100352
6. Hazarika S, Dokun AO, Li Y, Popel AS, Kontos CD, Annex BH. Impaired Angiogenesis After Hindlimb Ischemia in Type 2 Diabetes Mellitus Differential Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 and Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1. *Circulation Research* 2007; **101**(9): 948-956. doi: 10.1161/circresaha.107.160630
7. Ferrara n, Davis T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Reviews* 1997; **18**: 4-25. doi: 10.1210/er.18.1.4
8. Harada K. Vascular endothelial growth factoe adminstration in chronic myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1996; **270**: 1791-1802.
9. Cully M, Downward J. Translational responses to growth factors and stress. *Biochemical Society Transactions* 2009; **37**(1): 284-288. doi: 10.1042/BST0370284
10. Mai J, Edgerton V, Barnard R. Capillary of red, white and intermediate muscle fibers in trained and untrained guinea pigs. *Experientia* 1970; **26**(11): 1222-1223. doi: 10.1007/bf01897977
11. Shekarchizadeh P, Khazaei M, Gharakhanlou R, Karimian J, Safarzadeh A.R. The Effects of Resistance Training on Plasma Angiogenic Factors in Normal Rats. *Journal of isfahan medical school* 2012; **30**(176): 1-9.
12. Nikoii R, Rajabi H, Gharakhanlou R, Atabi F, Omidfar K. The effect of endurance training on mitochondrial and sarcollema lactat transporters in skeletal and cardiac muscles in diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2012; **11**(3): 223-236.
13. Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *Journal of Applied Physiology* 2005; **98**(3): 804-809. doi: 10.1152/japplphysiol.01057.2004
14. Boodhwani M, Sodha NR, Mieno S, Xu S-H, Feng J, Ramlawi B, et al. Functional, cellular, and molecular characterization of the angiogenic response to chronic myocardial ischemia in diabetes. *Circulation* 2007; **116**: 31-37. doi: 10.1161/circulationaha.106.680157
15. Kivela R, Silvennoinen M, Lehti M, Jalava S, Vihko V, Kainulainen H. Exercise-induced expression of angiogenic growth factors in skeletal muscle and in capillaries of healthy and diabetic mice. *Cardiovasc Diabetol* 2008; **7**(13). doi: 10.1186/1475-2840-7-13
16. Taniyama Y, Morishita R, Aoki M, Nakagami H, Yamamoto K, Yamazaki K, et al. Therapeutic angiogenesis inducedby human hepatocyte growth factor gene in rat and rabbit hindlimb ischemia models: preclinical study for treatment of peripheral arterial disease. *Gene therapy* 2001; **8**(3): 181-189. doi: 10.1038/sj.gt.3301379
17. Waltenberger J. Impaired collateral vessel development in diabetes: potential cellular mechanisms and therapeutic implications. *Cardiovascular research* 2001; **49**(3): 554-560. doi: 10.1016/S0008-6363(00)00228-5
18. Waltenberger J, Lange J, Kranz A. Vascular Endothelial Growth Factor-A-Induced Chemotaxis of Monocytes Is Attenuated in Patients With Diabetes MellitusA Potential Predictor for the Individual Capacity to Develop Collaterals. *Circulation* 2000; **102**(2): 185-190. doi: 10.1161/01.CIR.102.2.185
19. Sasso FC, Torella D, Carbonara O, Ellison GM, Torella M, Scardone M, et al. Increased vascular endothelial growth factor expression but impairedvascular endothelial growth factor receptor signaling in the myocardium of type 2 diabetic patients with chronic coronary heart disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2005; **46**(5): 827-834. doi: 10.1016/j.jacc.2005.06.007
20. Chou E, Suzuma I, Way KJ, Opland D, Clermont AC, Naruse K, et al. 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* 2002; **105**(3): 373-379. doi: 10.1161/hc0302.102143
21. Simons M. Angiogenesis, Arteriogenesis, and DiabetesParadigm Reassessed? *Journal of the American College of Cardiology* 2005; **46**(5): 835-837. doi: 10.1016/j.jacc.2005.06.008
22. Van Golde JM, Ruiters MS, Schaper NC, Vöö S, Waltenberger J, Backes WH, et al. Impaired collateral recruitment and outward remodeling in experimental diabetes. *Diabetes* 2008; **57**(10): 2818-2823. doi: 10.2337/db08-0229
23. Van Craenenbroeck EM, Vrints CJ, Haine SE, Vermeulen K, Goovaerts I, Van Tendeloo VF, et al. A maximal exercise bout increases the number of circulating CD34+/KDR+ endothelial progenitor cells in healthy subjects. Relation with lipid profile. *Journal of Applied Physiology* 2008; **104**(4): 1006-1013. doi: 10.1152/japplphysiol.01210.2007
24. Gu J-W, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy

- volunteers. *BMC Physiology* 2004; **4**(1): 2. doi: 10.1186/1472-6793-4-2
25. Kraus RM, Stallings III HW, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *Journal of Applied Physiology* 2004; **96**(4): 1445-1450. doi: 10.1152/jappphysiol.01031.2003
26. Höffner L, Nielsen JJ, Langberg H, Hellsten Y. Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in human skeletal muscle interstitium. *The Journal of physiology* 2003; **550**(1): 217-225. doi: 10.1113/jphysiol.2002.037051
27. Liody PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2003; **284**(5): H1668-H78. doi: 10.1152/ajpheart.00743.2002
28. Hudlicka O, Brown M, Egginton S. Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiological Reviews* 1992; **72**(2): 369-417.
29. Hansen AH, Nielsen JJ, Saltin B, Hellsten Y. Exercise training normalizes skeletal muscle vascular endothelial growth factor levels in patients with essential hypertension. *Journal of Hypertension* 2010; **28**(6): 1176-1185. doi: 10.1097/hjh.0b013e3283379120