



# JAMS

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

دوره بیست و یکم، شماره سه، خرداد و تیر ۱۳۹۷

journal homepage: <http://jams.arakmu.ac.ir>



مقاله پژوهشی

## تأثیر تمرینات ورزشی روی بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده آن در بافت قلبی رت‌های دیابتی نوع ۲

سعید اسمعیلی<sup>۱</sup>، وازگن میناسیان<sup>۱\*</sup>، محمد بیات<sup>۲</sup>، هادی کرمی<sup>۳</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

۲. گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۳. گروه پزشکی مولکولی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت نوع ۲، یکی از عوامل موثر و بازدارنده کنترل گلوکز خون و ایجاد اختلالات عروقی است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تغییرات در بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده نوع ۱ آن در بافت قلبی رت‌های نر دیابتی نوع ۲ متعاقب سه شیوه مختلف تمرینی است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، ۶۰ سر رت به شکل تصادفی در ۵ گروه: کنترل سالم، کنترل دیابتی و گروه‌های دیابتی با تمرین استقامتی، مقاومتی و ترکیبی تقسیم شدند. القای دیابت از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوسین صورت گرفت و تمرینات ۵ جلسه در هفته، به مدت ۸ هفته انجام شد. بررسی سطوح بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده ۱ آن از طریق آزمایش RT-qPCR انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاکی از کاهش معنی‌دار بیان عامل رشد اندوتلیال عروقی در گروه‌های کنترل دیابتی، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی و افزایش معنی‌دار در بیان گیرنده ۱ آن در گروه کنترل دیابتی و تمام گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل سالم بود ( $p < 0.001$ ). مقایسه‌های انجام شده با گروه کنترل دیابتی نشان داد که در تمام گروه‌های تمرینی بیان ژن عامل رشد اندوتلیال عروقی افزایش، اما در گیرنده ۱ آن کاهش معنی‌داری ایجاد شده است ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** یافته‌ها حاکی از آن است که شیوه‌های تمرینی مختلف در بهبود رگ‌زایی موثرند، اما تمرینات ترکیبی در مقایسه با دیگر روش‌های تمرینی دارای برتری خاصی می‌باشند.

### اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۱۹

تاریخ انتشار: ۹۷/۰۳/۰۱

### واژگان کلیدی:

دیابت نوع ۲

عامل رشد اندوتلیال عروقی

گیرنده یک عامل رشد اندوتلیال عروقی

تمرینات ورزشی

\* نویسنده مسئول:

وازگن میناسیان

آدرس پستی: ایران، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: +98 913 202 0396

نمابر:

E-mail: v.minasian@spr.ui.ac.ir

## ۱. مقدمه

امروزه دیابت به یک نگرانی عمده سلامت عمومی جهانی تبدیل شده است (۱). در منطقه خاورمیانه و شمال آفریقا، بالاترین نرخ شیوع دیابت در جهان (۱۱ درصد)، کشور ایران بعد از مصر و پاکستان با تعداد ۴/۶ میلیون بیشترین شمار مبتلا به دیابت در این منطقه را دارد (۲). دیابت نوع ۲ با اختلال در تنظیم متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین نمایان و موجب تضعیف ترشح انسولین، مقاومت انسولینی یا ترکیبی از هر دو عارضه می‌گردد (۱). تغییرات پاتوفیزیولوژیکی با اختلال عملکرد سلول‌های بتا، مقاومت انسولینی و التهاب مزمن مشخص می‌شود که هر کدام به طور پیش‌رونده مانع کنترل گلوکز خون و ایجاد عوارض عروق ریز و بزرگ می‌شوند (۳). به طور کلی، دیابت از نقطه نظر عروقی و رگ‌زایی یک بیماری متناقض است، زیرا از یک طرف باعث افزایش عروق جدید در ارگان‌هایی مانند کلیه و چشم می‌گردد و از طرف دیگر موجب مهار رگ‌زایی در عروق کرونر قلب و عروق محیطی می‌شود. (۴). رگ‌زایی، به معنی جوانه زدن مویرگ‌های جدید از شبکه عروقی پیشین است و برای سلامت و تکامل طبیعی ضروری می‌باشد (۵). بسیاری از مطالعات نشان داده اند که دیابت باعث کاهش رگ‌زایی و تشکیل عروق جانبی در قلب و عضلات اسکلتی به هنگام ایسکمی در انسان و مدل‌های حیوانی می‌گردد. از این‌رو به عنوان یکی از عوامل خطرزای مهم در بروز اختلالات قلبی عروقی از جمله بیماری کرونری قلب، ایست قلبی، بیماری شریان‌های محیطی و میوپاتی قلبی به شمار می‌رود (۶). عامل رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF) یک عامل مهم و کلیدی در تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال است که موجب تشکیل عروق جدید می‌شود (۷). عامل رشد اندوتلیوم عروقی، یک پروتئین همودایمر متصل به هپارین، با وزن مولکولی ۴۵ کیلودالتون است که توانایی تحریک رگ‌زایی در موجود زنده و شرایط آزمایشگاهی را دارد (۸).

گیرنده نوع ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی (Flt-1) توسط طیف وسیعی از سلول‌های عروقی و غیرعروقی از جمله ماکروفاژها، مونوسیت‌ها، سلول‌های عضله صاف، سلول‌های عصبی و تومورها بیان می‌شود (۹). ایزوفرم‌های گیرنده نوع ۱ به عنوان گیرنده‌های مجازی یا تله عمل می‌کنند. به گونه ای که عامل رشد اندوتلیوم عروقی را درگیر و موجب کاهش ذخیره زیستی آن برای گیرنده‌های محرک رگ‌زایی (Flk-1) می‌شوند (۵). بنابراین به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی رگ‌زایی در اوایل رشد محسوب می‌شود، اما نقش مهمی در رگ‌زایی در شرایط پاتولوژیک دارد (۱۰).

تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت‌های ورزشی به طور همزمان اثرات مطلوبی بر تمام عوامل خطرزای قلبی عروقی دارند و نقش آن‌ها در کنار دارو درمانی کاملاً شناخته شده است. تمرینات ورزشی در صورت ایجاد شرایط هایپوکسی بافتی، یکی از مهم‌ترین عوامل تحریک بیان ژن عامل رشد اندوتلیوم عروقی هستند (۱۱). ارکات از طریق مطالعه ایمونوهیستوشیمی بافت قلب رت‌های دیابتی نشان داد که تمرینات استقامتی روی تردمیل افت تنظیمی عامل رشد اندوتلیوم عروقی را به طور قابل ملاحظه‌ای بهبود می‌دهد (۱۲). مطالعه نورشاهی در بافت تومور و شکرچی زاده در پلاسمای رت‌های سالم نشان داد که تمرینات مقاومتی اثر قابل ملاحظه‌ای بر عامل رشد اندوتلیال عروقی در بافت تومور و پلاسمای خون رت‌های سالم ندارد (۱۳، ۱۴). از سوی دیگر، فرناندز، افزایش بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی پس از تمرینات حاد مقاومتی را گزارش کرد (۱۵). شدت، مدت و نوع ورزش به احتمال زیاد در میزان کسب فواید حاصل نقش کلیدی بازی می‌کنند، با این حال موثرترین استراتژی ورزش برای بهبود و کنترل گلوکز در بیماران دیابتی نوع ۲ به طور کامل مشخص نشده است (۱۶). اکثر تحقیقات روی عوامل رگ‌زایی در پلاسمای بافت تومور و شرایطی هم‌چون نفروپاتی و رتینوپاتی صورت گرفته است. هم‌چنین اثرگذاری تمرینات مقاومتی بر میزان عامل رشد اندوتلیوم عروقی، چالش‌برانگیز

مدت ۸ هفته اجرا شد. در ضمن در شروع و پایان هر جلسه تمرینی ۵ دقیقه برای گرم کردن و سرد کردن (شدت ۱۶ متر در دقیقه) در نظر گرفته شد. (۱۸).

تمرینات مقاومتی شامل ۵ جلسه تمرین در هفته به مدت ۸ هفته بود که در هر جلسه ۱۰ مرتبه بالا رفتن از نردبان مخصوص (ارتفاع یک متر، ۲۶ پله و شیب ۸۰ درجه) با ۲ دقیقه استراحت بین هر تکرار انجام می‌شد. حداکثر ظرفیت حمل بار قبل از تمرین ۷۵ درصد وزن بدن رت‌ها تعیین شد و با هر بار بالا رفتن ۳۰ گرم به وزنه اضافه می‌شد تا جایی که حیوان پس از ۳ مرتبه تحریک لمسی دم قادر به بالا رفتن نباشد.

در تکرارهای ۱۰-۵ رت‌ها با ۱۰۰ درصد بار تا مرحله واماندگی به تمرین ادامه می‌دادند. در ابتدای چهار هفته اول (مرحله افزایش بار) حداکثر ظرفیت حمل بار تعیین می‌شد (۱۹، ۲۰). برنامه تمرین ترکیبی شامل تمرینات استقامتی و مقاومتی بود که به صورت یک جلسه در میان مطابق پروتکل تمرینات هوازی و مقاومتی، ۵ جلسه در هفته، به مدت ۸ هفته انجام می‌شد (جدول ۱).

سطوح گلوکز خون در رت‌ها توسط گلوکومتر بیور (مدل GL42، آلمان) در هر مرتبه بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی اندازه‌گیری شد.

سطوح گلوکز خون پیش-پس آزمون در هفته اول و هشتم از طریق خون‌گیری از انتهای دم رت‌ها اندازه‌گیری شد. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین ورزشی (پس از ۱۴ ساعت ناشتایی)، رت‌ها از طریق تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلن (مرک، آلمان) بیهوش شدند. پس از ایجاد شکاف در قسمت جلوی سینه، بافت قلب به سرعت جدا و پس از پاک‌سازی از بافت چربی و همبند در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

است. بنابراین، بررسی همزمان تنوعی از مداخلات ورزشی در شرایط دیابت نوع ۲ و هم‌چنین بررسی بافتی بیان mRNA عامل رشد اندوتلیوم عروقی و گیرنده آن در قلب می‌تواند در روشن ساختن تاثیر مداخلات ورزشی بر پاسخ‌های رگ‌زایی قلب در شرایط دیابت نوع ۲ بسیار مفید باشد. بنابراین در پژوهش حاضر، اثر تمرینات ورزشی استقامتی، مقاومتی و ترکیبی روی میزان بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی و گیرنده نوع ۱ آن در بافت قلبی رت‌های نر دیابتی نوع ۲ مورد مطالعه قرار گرفته است.

## ۲. ملاحظات اخلاقی

این مطالعه و پروتکل‌های آزمایشی به شماره IR.U.I.REC.1396.13 توسط کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان مورد تایید قرار گرفته است.

## ۳. مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، از ۶۰ سر رت نر ویستار (وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و سن ۶ تا ۸ هفته) استفاده شد. رت‌ها به پنج گروه کنترل سالم (HC)، کنترل دیابتی (DC)، دیابتی با تمرین استقامتی (DET)، دیابتی با تمرین مقاومتی (DRT) و دیابتی با تمرین ترکیبی (DET+DRT) تقسیم شدند. حیوانات در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی، رطوبت ۵۵ درصد و درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزادانه به آب و غذا) در قفس‌های پلی‌اتیلن ۶ تایی نگه‌داری شدند. القاء دیابت نوع ۲ در رت‌ها، از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) انجام شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق برای اطمینان از دیابتی شدن، رت‌هایی که میزان گلوکز خون آن‌ها بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی لیتر بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند (۱۷). برنامه تمرین استقامتی روی یک نوارگردان ۵ کاناله مخصوص جوندگان، ۵ روز در هفته به

**جدول ۱. برنامه تمرینات استقامتی و مقاومتی و ترکیبی**

نوع تمرین	متغیرهای تمرین	مرحله آشنایی	مرحله افزایش بار (هفته ۴-۱)	مرحله تثبیت بار (هفته ۸-۵)
استقامتی	شدت	۴۰٪ VO <sub>2</sub> max	۷۵٪ VO <sub>2</sub> max	۷۵٪ VO <sub>2</sub> max
	سرعت	۱۰ متر در دقیقه	۲۷ متر در دقیقه	۲۷ متر در دقیقه
	مدت	۱۵-۱۰ دقیقه	۲۰ + ۲ دقیقه	۶۰ دقیقه
مقاومتی	شدت تکرار ۱	وزن بدن	۵۰ درصد وزن بدن	۵۰ درصد وزن بدن
	شدت تکرار ۲	۲۰ درصد وزن بدن	۷۵ درصد وزن بدن	۷۵ درصد وزن بدن
	شدت تکرار ۳	۳۰ درصد وزن بدن	۹۰ درصد وزن بدن	۹۰ درصد وزن بدن
	شدت تکرار ۴	۳۵ درصد وزن بدن	۱۰۰ درصد وزن بدن	۱۰۰ درصد وزن بدن
	شدت تکرار ۵-۸	۳۵ درصد وزن بدن	۱۰۰ درصد وزن بدن	۱۰۰ درصد وزن بدن
ترکیبی	جلسات تمرین فرد	تمرین استقامتی مطابق با پروتکل گروه تمرین استقامتی		
	جلسات تمرین زوج	تمرین مقاومتی مطابق با پروتکل گروه تمرین مقاومتی		

۵۰ میلی گرم بافت قلب با اضافه کردن ۱ میلی مول معرف RNX Plus (سینا ژن، ایران) هموزن گردید. سپس کلیه مراحل، مطابق دستورالعمل کیت استخراج RNA تا تهیه RNA خالص انجام شد. محلول RNA استخراج شده با آنزیم DNase I از هر گونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب کننده RNA پاک‌سازی شد. در مرحله بعد، ۵ میکروگرم از RNA استخراج شده مطابق پروتکل کیت مورد استفاده First

(standard cDNA synthesis، تاکارا، ژاپن) و به وسیله پرایمرهای Oligo-dT به cDNA تبدیل گردید. آزمایش RT-qPCR با دستگاه Light cycler 96 (Roche) و با استفاده از رنگ SYBR Green I (یکتا تجهیز، ایران) و پرایمرهای طراحی شده توسط نرم افزار Primer3 انجام شد (جدول ۲).

**جدول ۲. پرایمرهای استفاده شده در انجام RT-qPCR**

نام ژن	توالی پرایمر	طول قطعه (bp)	دمای ذوب (T <sub>m</sub> )
بتا اکتین	پیشرو CGTTGACATCCGTAAGACCTC	110	59.08
	معکوس TAGGAGCCAGGGCAGTAATCT		60.06
عامل رشد اندوتلیوم عروقی	پیشرو TGTGAGCCTTGTTCAGAGCG	252	60.60
	معکوس GACGGTGACGATGGTGGTGT		62.43
گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی	پیشرو CGACACTCTTTTGGCTCCTTCTAAC	83	61.81
	معکوس TGACAGGTAGTCCGCTTTACTTCG		62.05

پس از انجام آزمایش qPCR، مقادیر مربوطه توسط ژن بتا اکتین نرمالیزه و میزان تغییر نسبت به گروه‌های دیگر مقایسه شدند. برای تحلیل داده‌ها از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. تحلیل داده‌ها در سطح  $\alpha = 0/05$  انجام شد.

با استفاده از نتایج RT-qPCR، سطح بیان نسبی ژن عامل رشد اندوتلیوم عروقی و گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی در بافت قلبی گروه‌های مورد مطالعه با روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه شد.

## ۴. یافته‌ها

در پس آزمون نیز افزایش معنی‌دار سطح گلوکز خون در گروه کنترل دیابتی، تمرین استقامتی و مقاومتی ( $p < 0/001$ ) مشاهده شد. در مقایسه با گروه کنترل دیابتی پس از مداخلات ورزشی، تمام گروه‌های تمرینی کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز خون نشان دادند ( $p < 0/001$ ). از سوی دیگر در مقایسه شیوه‌های مختلف تمرینی با یکدیگر، گروه تمرین ترکیبی نسبت به گروه تمرین مقاومتی کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز خون نشان داد ( $p < 0/05$ ) (جدول ۳).

نتایج حاکی از افزایش وزن آزمودنی‌ها در پس آزمون است که همسو با رشد طبیعی آن‌ها است. اما کاهش معنی‌داری در وزن گروه‌های تمرین استقامتی ( $p < 0/01$ ) و ترکیبی ( $p < 0/001$ ) در مقایسه با گروه کنترل سالم مشاهده شد. همچنین در مقایسه گروه‌های تمرینی با یکدیگر، گروه تمرین ترکیبی نسبت به گروه تمرین مقاومتی کاهش معنی‌داری در وزن بدن نشان داد ( $p < 0/05$ ).

در ارتباط با سطوح گلوکز خون، نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار در سطح گلوکز خون پیش آزمون تمام گروه‌ها پس از القاء دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم بود ( $p < 0/001$ ).

**جدول ۳. تغییرات سطوح گلوکز خون ناشتا و وزن بدن در گروه‌های مختلف (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)**

گروه‌ها	وزن بدن (گرم)	گلوکز خون (میلی گرم در دسی‌لیتر)
	پس آزمون	پیش آزمون
کنترل سالم	۲۴۱/۹ $\pm$ ۲۱	۲۷۹/۴ $\pm$ ۳۸
کنترل دیابتی	۲۲۳/۶ $\pm$ ۳۶	۲۵۰/۶ $\pm$ ۴۸
دیابتی با تمرین استقامتی	۲۲۴/۳ $\pm$ ۲۰	۲۲۷/۴ $\pm$ ۳۸
دیابتی با تمرین مقاومتی	۲۱۹/۲ $\pm$ ۸	۲۶۱/۷ $\pm$ ۳۷
دیابتی با تمرین ترکیبی	۲۱۵/۲ $\pm$ ۱۹	۲۱۳/۹ $\pm$ ۳۳

\* و # نشان‌گر تفاوت معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) به ترتیب نسبت به گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی

& نشان‌گر تفاوت معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) در مقایسه گروه‌های تمرینی با یکدیگر

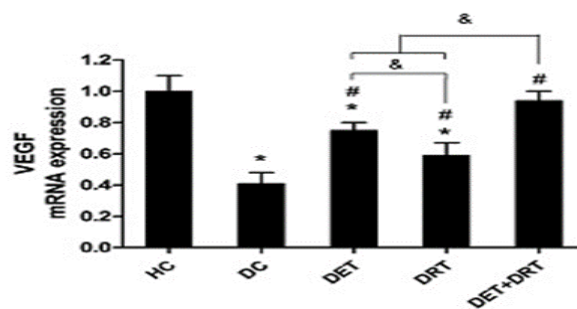
تمرین استقامتی، مقاومتی ( $p < 0/001$ ) و ترکیبی ( $p < 0/05$ ) نسبت به گروه کنترل سالم وجود داشت. در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، تمام گروه‌های تمرینی کاهش معنی‌داری در بیان گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی نشان دادند ( $p < 0/001$ ) و در مقایسه گروه‌های تمرینی با یکدیگر، گروه تمرین ترکیبی کاهش معنی‌داری در بیان گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی نسبت به گروه تمرین استقامتی و مقاومتی نشان داد ( $p < 0/001$ ) (نمودار ۲).

نتایج کاهش معنی‌دار بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی در گروه‌های کنترل دیابتی، تمرین استقامتی و قدرتی را نسبت به گروه کنترل سالم نشان داد ( $p < 0/001$ ). در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، تمام گروه‌های تمرینی افزایش معنی‌داری در بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی نشان دادند ( $p < 0/001$ ). همچنین، در مقایسه گروه‌های تمرینی با یکدیگر، گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه تمرین مقاومتی ( $p < 0/01$ )، و گروه تمرین ترکیبی نسبت به هر دو گروه افزایش معنی‌داری در بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی نشان داد ( $p < 0/001$ ) (نمودار ۱). در مقابل، افزایش معنی‌داری در بیان گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی در گروه کنترل دیابتی و گروه‌های

رژیم غذایی با سوکروز بالا در این مطالعه است. اما در مطالعه ما دیابت نوع ۲ از طریق تزریق استروپتوزوسین القاء شده است که موجب التهاب گسترده تری در بافت‌های هدف و اختلال در بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی و نقص در سیگنالینگ آن از طریق افزایش بیان گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی شده است. یک مکانیسم بالقوه برای کاهش بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی در میوکارد در حالت‌های مقاومت انسولینی و دیابت، از دست دادن بیان ژن عامل رشد اندوتلیوم عروقی ناشی از انسولین است. انسولین می‌تواند بیان mRNA عامل رشد اندوتلیوم عروق را با فعال کردن

مسیر PI3 kinase / Akt افزایش دهد. پیشنهاد شده است که حتی با افزایش یا عدم تغییر در سطوح عامل رشد اندوتلیوم عروقی، مسیر سیگنالینگ عامل رشد اندوتلیوم عروقی طی دیابت، به واسطه افزایش گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی ناقص است و دیابت به عنوان عامل مقاومت فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی در نظر گرفته شده است. اتصال گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی با میل ترکیبی بالا با عامل رشد اندوتلیوم عروقی، موجب کاهش فعالیت عامل رشد اندوتلیوم عروقی، تکثیر سلول‌های اندوتلیال و رگ‌زایی می‌شود. بنابراین گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی به عنوان آنتاگونیست عامل رشد اندوتلیوم عروقی مقابل Flk-1 در فرآیند تحریک رگ‌زایی عمل می‌کند (۲۳). نتایج این مطالعه در ارتباط با مداخلات ورزشی نشان داد که تمرینات استقامتی، مقاومتی و ترکیبی پس از هشت هفته توانستند سازگاری‌های منفی ایجاد شده را به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش داده و موجب تحریک رگ‌زایی گردند. مطالعه مطهری‌راد، کاهش بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی بلافاصله و ۲ ساعت پس از یک جلسه تمرین در آزمودنی‌های سالم را نشان داد که با نتایج ما هم‌خوانی ندارد و علت آن احتمالاً زمان کوتاه تمرین برای ایجاد سازگاری می‌باشد (۲۴). اما با پژوهش رودریگوئز و ارکات، همسو است (۱۲، ۲۵). اما در ارتباط با تاثیر تمرینات مقاومتی نتایج چالش‌برانگیز است.

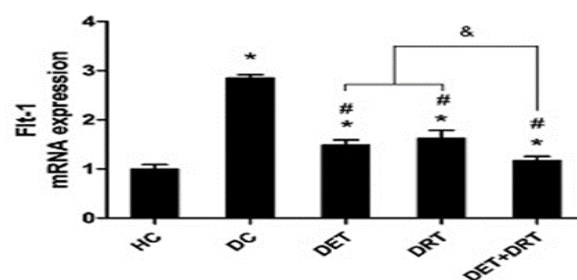
شکرچی‌زاده و نورشاهی تفاوت معنی‌داری در مقادیر عوامل رگ‌زایی پلازما (نیتریک اکساید، عامل رشد اندوتلیوم عروقی



**نمودار ۱.** تغییرات بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی

\* و # نشان‌گر تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) به ترتیب نسبت به گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی

& نشان‌گر تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در مقایسه گروه‌های تمرینی با یکدیگر



**نمودار ۲.** تغییرات بیان گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی

\* و # نشان‌گر تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) به ترتیب نسبت به گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی

& نشان‌گر تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در مقایسه گروه‌های تمرینی با یکدیگر

## ۵. بحث

مطالعات متعددی به بررسی تغییرات عامل رشد اندوتلیوم عروقی در شرایط پاتولوژیک و همچنین اثرات تمرینات ورزشی مختلف روی رگ‌زایی در شرایط فیزیولوژیک پرداخته‌اند. در این مطالعه، تاثیر مداخلات ورزشی مختلف روی یکی از مهم‌ترین عوامل درگیر در رگ‌زایی و گیرنده آن در بافت قلبی رت‌های دیابتی نوع ۲ بررسی شد. نتایج حاصل حاکی از افزایش قابل توجه در سطوح گلوکز خون و بیان گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی و همچنین کاهش بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی بافت قلب رت‌ها پس از القاء دیابت نوع ۲ بود که نشان دهنده رابطه مستقیم بیان گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی و ارتباط معکوس بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی با افزایش سطح گلوکز خون در نتیجه دیابت نوع ۲ است. این نتایج با پژوهش هازاریکا، گائو و خزائی همسو است (۵، ۲۳-۲۱). اما نتایج ما با تحقیق نانز هم‌خوانی ندارد که احتمالاً به دلیل وجود شرایط پری دیابت از طریق

حالی که تحقیق حاضر به بررسی همزمان اثر چند نوع مداخله ورزشی در سطح بیان مهم‌ترین عامل رگ‌زایی و گیرنده آن در بافت قلب دیابتی پرداخته است. البته بررسی‌های تکمیلی وسترن بلات و ایمونوهیستوشیمی عوامل مورد مطالعه بر غنای پژوهش خواهد افزود.

#### ۶. نتیجه‌گیری

یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های بدن در پاسخ به تمرینات ورزشی افزایش چگالی مویرگی است (۲۸). نتایج این تحقیق نشان داد هر دوی ورزش‌های هوازی و مقاومتی، بهبود متعادلی در فرایند آنژیوژنز در شرایط دیابت نوع ۲ ایجاد می‌کنند، اگر چه ترکیب آن‌ها ممکن است موثرتر واقع شود. همان‌گونه که در نتایج این تحقیق اشاره شد احتمال تشکیل عروق جانبی در قلب رت‌های دیابتی که فعالیت مستمر ورزشی دارند نسبت به رت‌های دیابتی غیر فعال بسیار بیشتر است و باعث کاهش مرگ و میر ناشی از ایسکمی در شرایط دیابت نوع ۲ در آن‌ها می‌شود. بنابراین، شواهد از به کارگیری استراتژی‌های ورزشی به عنوان بخشی از مدیریت درمان برای بیماران با امراض مزمن، هم‌چون دیابت نوع ۲ حمایت می‌کند.

#### ۷. تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی و معنوی معاونت پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه اصفهان صورت گرفته است. نویسندگان از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش همکاری و مساعدت نمودند کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

#### ۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

#### ۹. تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

و گیرنده ۱ محلول آن) و هم‌چنین نسبت عامل رشد اندوتلیوم عروقی به گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی بین دو گروه کنترل و تمرین مقاومتی گزارش نکرده اند (۱۳، ۱۴). نتایج ما با این تحقیقات همخوانی ندارد که البته مطالعه شکرچی زاده روی رت‌های سالم و مطالعه نورشاهی روی بافت تومور بوده است. اما با مطالعه فرناندز و کیم، همسو است (۱۵، ۱۹). از آن‌جا که در بیماران دیابتی آتروفی عضلانی اتفاق می‌افتد، تمرینات مقاومتی از الزامات تمرینی این بیماران محسوب می‌شود (۲۶). تمرینات ورزشی استقامتی و مقاومتی به سبب افزایش ۵ تا ۶ و ۳ تا ۴ برابری سرعت جریان خون، از طریق افزایش سیگنالینگ Akt / تنش برشی خون و هم‌چنین عوامل موضعی القاء شده با HIF-1 $\alpha$  باعث افزایش رگ‌زایی می‌شوند. ارتباط بین رگ‌زایی وابسته به تمرینات ورزشی استقامتی و مقاومتی، با رشد میوسیت‌های قلبی ممکن است تا حدی با فعالیت و نقش‌های متفاوت Akt توضیح داده شود. تحقیقات نشان داده است بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی عضلاتی که در معرض اضافه بار، انقباض و هایپریمیا هستند افزایش می‌یابد و از آن‌جا که در فعالیت‌های ورزشی مقاومتی سلول‌های اندوتلیال تحت کشش قرار می‌گیرند سرعت رهاسازی آن افزایش می‌یابد (۲۷). در این مطالعه با توجه به ماهیت پویا و دینامیک تمرین مقاومتی، VO<sub>2</sub> max، جریان و فشار خون هم‌چون تمرینات استقامتی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در مقایسه برنامه‌های تمرینی به کار رفته، نتایج این مطالعه نشان داد که تمرینات ترکیبی در کاهش گیرنده ۱ عامل رشد اندوتلیوم عروقی نسبت به هر یک از تمرینات استقامتی و مقاومتی به تنهایی برتری دارد. در افزایش بیان عامل رشد اندوتلیوم عروقی نیز نتایج نشان داد که تمرینات استقامتی نسبت به تمرینات مقاومتی و تمرینات ترکیبی نسبت به هر دو موثرتر است. کاهش بیشتر وزن و گلوکز خون گروه تمرین استقامتی نسبت به مقاومتی و تمرین ترکیبی نسبت به هر دو از این نظریه حمایت می‌کند. این نتایج با مطالعه فرناندز (۲۰۱۳) همخوانی دارد (۱۵). اغلب تحقیقات مشابه به بررسی سرمیک عامل رشد اندوتلیوم عروقی و استفاده از یک نوع مداخله ورزشی خاص پرداخته اند. در



## References

- DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*. 2015; 1:15019.
- Dagogo-Jack S. Diabetes mellitus in developing countries and underserved communities. 1nd ed. Switzerland: Springer. 2017; 52-54.
- DeFronzo R. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. *The Claude Bernard Lecture 2009. Diabetologia*. 2010; 53(7):1270-87.
- Al-Harris ES, Al-Janabi AA, Al-Toriahi KM, Yasseen AA. Over expression of vascular endothelial growth factor in correlation to Ki-67, grade, and stage of breast cancer. *Saudi medical journal*. 2008; 29(8):1099-104.
- Smith GA, Fearnley GW, Harrison MA, Tomlinson DC, Wheatcroft SB, Ponnambalam S. Vascular endothelial growth factors: multitasking functionality in metabolism, health and disease. *Journal of inherited metabolic disease*. 2015; 38(4):753-63.
- Waltenberger J. Impaired collateral vessel development in diabetes: potential cellular mechanisms and therapeutic implications. *Cardiovascular research*. 2001; 49(3):554-60.
- Gao Y, Zhao Y, Pan J, Yang L, Huang T, Feng X, et al. Treadmill exercise promotes angiogenesis in the ischemic penumbra of rat brains through caveolin-1/VEGF signaling pathways. *Brain Res*. 2014; 1585:83-90.
- Shibuya M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (VEGFR) signaling in angiogenesis: a crucial target for anti- and pro-angiogenic therapies. *Genes & cancer*. 2011; 2(12):1097-105.
- Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2016; 17(10):611-25.
- Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical science*. 2005; 109(3):227-41.
- Thiagarajan H, Thiyagamoorthy U, Shanmugham I, Nandagopal GD, Kaliyaperumal A. Angiogenic growth factors in myocardial infarction: a critical appraisal. *Heart failure reviews*. 2017; 22(6):665-83.
- Erekat NS, Al-Jarrah MD, Al Khatib AJ. Treadmill exercise training improves vascular endothelial growth factor expression in the cardiac muscle of type I diabetic rats. *Cardiology Research*. 2014; 5(1):23.
- Shekarchizadeh P, Khazaei M, Gharakhanlou R, Karimian J, Safarzadeh AR. [The Effects of Resistance Training on Plasma Angiogenic Factors in Normal Rats]. *Journal of isfahan medical school*. 2012; 30(176):1-9.
- Nourshahi M, Babaei A, Bigdeli MR, Ghasemi BM. The effect of six weeks of resistance training on tumor tissue VEGF and endostatin in mice with breast cancer. *Sport Biosciences*. 2013; 5(17):27-46.
- Fernandez-Gonzalo R, Lundberg TR, Tesch PA. Acute molecular responses in untrained and trained muscle subjected to aerobic and resistance exercise training versus resistance training alone. *Acta Physiologica*. 2013; 209(4):283-94.
- Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Spectrum*. 2015; 28(1):39-44.
- Punitha I, Rajendran K, Shirwaikar A, Shirwaikar A. Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2005; 2(3):375-81.
- Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiology & behavior*. 2015; 147:78-83.
- Kim H-J, So B, Son JS, Song HS, Oh SL, Seong JK, et al. Resistance training inhibits the elevation of skeletal muscle derived-BDNF level concomitant with improvement of muscle strength in zucker diabetic rat. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2015; 19(4):281.
- Kim J-y, Choi MJ, So B, Kim H-j, Seong JK, Song W. The Preventive Effects of 8 Weeks of Resistance Training on Glucose Tolerance and Muscle Fiber Type Composition in Zucker Rats. *Diabetes & metabolism journal*. 2015; 39(5):424-33.
- 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):948-56.
22. Gao L, Yu D-m. Molecular mechanism of limbs' postischemic revascularization improved by perindopril in diabetic rats. *Chinese medical journal*. 2008; 121(21):2129-33.
23. Khazaei M, Fallahzadeh AR, Sharifi MR, Afsharmoghaddam N, Javanmard SH, Salehi E. Effects of diabetes on myocardial capillary density and serum angiogenesis biomarkers in male rats. *Clinics*. 2011; 66(8):1419-24.
24. Motahari Rad M, Attarzadeh Hosseini SR. Response of vascular endothelial growth factor and endostatin to a session activity before and after a period of L-arginine supplementation in active men. *AMUJ*. 2017; 20(119):78-88.
25. Rodrigues B, Jorge L, Mostarda CT, Rosa KT, Medeiros A, Malfitano C, et al. Aerobic exercise training delays cardiac dysfunction and improves autonomic control of circulation in diabetic rats undergoing myocardial infarction. *Journal of cardiac failure*. 2012; 18(9):734-44.
26. Reed JL, Pipe AL. Practical approaches to prescribing physical activity and monitoring exercise intensity. *Canadian Journal of Cardiology*. 2016; 32(4):514-22.
27. Olver TD, Ferguson BS, Laughlin MH. Chapter Ten-Molecular Mechanisms for Exercise Training-Induced Changes in Vascular Structure and Function: Skeletal Muscle, Cardiac Muscle, and the Brain. *Progress in molecular biology and translational science*. 2015; 135: 227-57.
28. Higashi Y, Murohara T. *Therapeutic Angiogenesis*. 1nd ed. Singapore: Springer.2017; 229.

## ORIGINAL RESEARCH

### Effect of Exercise Training on Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor Gene Expression in Cardiac Tissue of Type 2 Diabetic Rats

Saeed Esmaeili<sup>1</sup>, Vazgen Minasian<sup>1\*</sup>, Mohamad Bayat<sup>2</sup>, Hadi Karami<sup>3</sup>

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

2. Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

3. Department of Molecular Medicine and Biotechnology, Faculty of Medical Sciences, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

#### ARTICLE INFORMATION

##### Article history:

**Received:** 19 February 2018

**Accepted:** 09 May 2018

**Published online:** 22 May 2018

##### Keywords:

Exercise training

Type 2 diabetes

Vascular endothelial growth factor

Vascular endothelial growth factor receptor 1

##### \* Corresponding Author:

Vazgen Minasian; Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Tel: +98 913 202 0396

Fax:

Email: [V.Minasian@spr.ui.ac.ir](mailto:V.Minasian@spr.ui.ac.ir)

#### ABSTRACT

**Background and Aim:** Type 2 diabetes is one of the effective and inhibiting factors in controlling blood glucose and vascular disorders. The aim of this study was to investigate the changes in the gene expression of vascular endothelial growth factor and its type 1 receptor in cardiac tissue of type 2 diabetic rats following three different training methods.

**Materials and Methods:** In this study, 60 rats were randomly divided into 5 equal groups: healthy control, diabetic control, and diabetic groups with endurance, resistance, and combined exercise training. Type 2 diabetes mellitus was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin and exercises were performed 5 sessions per week for 8 weeks. Evaluation of the levels of gene expression of vascular endothelial growth factor and its receptor 1 was performed by RT-qPCR.

**Findings:** The results showed a significant reduction in the expression of vascular endothelial growth factor in diabetic control, endurance training and resistance training groups, as well as a significant increase in expression of its receptor in diabetic control group and all training groups compared to healthy control group ( $p < 0.001$ ). Comparisons with the diabetic control group showed that in all training groups, the vascular endothelial growth factor gene expression increased, but in the its receptor 1 it was significantly decreased ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The findings suggest that different training exercises are effective in improving angiogenesis, but combined exercises have a certain superiority compared to other exercises.

© Copyright (2018) Arak University of Medical Sciences

##### Cite this article as:

Esmaeili S., Minasian V., Bayat M., et al. Effect of Exercise Training on Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor Gene Expression in Cardiac Tissue of Type 2 Diabetic Rats. J Arak Uni Med Sci. 2018; 21(3): 14-23.