

## تأثیر تمرین استقامتی بر سطوح پروتئین VEGF در بافت عضله قلبی رت‌های نر دیابتی شده با STZ

رحمان سوری<sup>۱\*</sup>، فیروز شرفی دهرحم<sup>۲</sup>، سیروس چوبینه<sup>۱</sup>، وحید ولی پور ده نو<sup>۳</sup>

۱- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، پردیس البرز، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

یافته / دوره بیستم / شماره ۳ / پاییز ۹۷ / مسلسل ۷۷

### چکیده

دریافت مقاله: ۹۷/۶/۳

پذیرش مقاله: ۹۷/۷/۷

مقدمه: ورزش عامل درمانی در افراد دیابتی است و فرآیند آنژیوژنز می‌تواند تحت تأثیر ورزش استقامتی قرار گیرد. هدف پژوهش بررسی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر روی نوار گردان بر سطوح VEGF در عضله قلبی رت‌های دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴ سر رت نر ویستار با وزن  $245 \pm 9/4$  گرم و سن ۸ هفته بطور تصادفی به گروه‌های کنترل (۶ سر)، تمرین (۶ سر)، دیابت (۶ سر) و دیابت تمرین (۶ سر) تقسیم شدند. دیابت بوسیله تزریق استرپتوزوتوسین (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) ایجاد شد. پروتکل تمرینی برای ۶ هفته و ۵ جلسه در هر هفته انجام شد. ۲۴ ساعت پس از پروتکل تمرینی، رت‌ها تشریح و بافت قلبی خارج گردید. سطوح پروتئین VEGF به روش الایزا اندازه‌گیری شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنوای یک‌طرفه استفاده شد.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که تمرین منجر به افزایش معنی‌دار VEGF در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه دیابت شد ( $P=0/008$ ). میزان VEGF در گروه دیابت در مقایسه با گروه‌های سالم و تمرینی کاهش معنی‌دار داشت ( $P=0/001$ ). VEGF در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه‌های کنترل و تمرین کاهش معنی‌داری داشت ( $P<0/05$ ). تمرین منجر به افزایش معنی‌دار VEGF در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد ( $P=0/001$ ).

بحث و نتیجه‌گیری: VEGF در گروه‌های سالم نسبت به گروه‌های دیابتی به شکل معنی‌داری بیشتر بود و تمرینات استقامتی موجب افزایش VEGF بافت قلبی شد. احتمالاً این افزایش اثرات مثبتی بر فرآیندهای تنظیمی آنژیوژنیک در بیماران دیابتی دارد. بنابراین، ورزش استقامتی می‌تواند استراتژی مناسبی برای توسعه روش‌های درمانی در بیماری دیابت شود. واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، آنژیوژنز، VEGF، بافت قلبی، دیابت.

\*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی، گروه فیزیولوژی.

پست الکترونیک: Soori@ut.ac.ir

## مقدمه

دیابت شیرین (Diabetes Mellitus (DM)) دسته‌ای از سندروم متابولیک هستند که با علائمی همچون قند خون بالا و عدم تحمل گلوکز، کمبود انسولین، اختلال در اثربخشی عمل انسولین و یا هر دو مشخص می‌شوند (۱). بعلاوه دیابت با ناهنجاری‌هایی در آنژیوژنز همراه است، به گونه‌ای که علت بسیاری از تظاهرات بالینی در افراد دیابتی مثل نقص در ترمیم زخم، افزایش خطر رد پیوند، ناهنجاری‌های جنینی در مادران دیابتی، تشکیل ناقص عروق جانبی کرونر و غیره با اختلال در آنژیوژنز ارتباط دارند (۲). به طور کلی، دیابت از نقطه نظر عروقی و آنژیوژنز، بیماری متناقضی است، زیرا از یک طرف باعث افزایش آنژیوژنز در اندام‌هایی مانند کلیه و چشم می‌شود و از طرف دیگر، موجب مهار آنژیوژنز در قلب و عروق محیطی می‌شود. لذا اصطلاح پارادوکس آنژیوژنز در دیابت اشاره به حضور همزمان شرایط پرو و آنتی آنژیوژنیک به صورت توأم در این بیماری دارد. شواهد روزافزونی وجود دارد که نشان می‌دهد دیابت باعث کاهش آنژیوژنز، کاهش قطر مویرگ‌ها، کاهش نسبت مویرگ‌ها به فیبرها و تشکیل عروق جانبی قلب در انسان و مدل‌های حیوانی می‌گردد (۳،۴). از طرفی می‌توان گفت که آنژیوژنز وابسته به تعادل دقیق بین تحریک کننده‌ها و مهار کننده‌های طبیعی درون بدن است. به طور کلی، این فرآیند تحت تأثیر عوامل مختلف بوده و در برگیرنده یک سری رخداد‌های سلولی از قبیل مهاجرت، تکثیر و تمایز سلول‌های اندوتلیال و در نهایت تشکیل عروق، بلوغ و بازسازی نهایی آنها است (۵). کاپورالی و همکاران در پژوهشی دریافتند که دیابت شیرین به وسیله یک سری سازوکارهای مولکولی که به طور کامل درک نشده‌اند، عملکرد سلول‌های اندوتلیال و رگ زایی ترمیمی پس از ایسکیمی را مختل می‌کنند (۶). بر اساس بسیاری از مطالعات، دیابت باعث کاهش آنژیوژنز و تشکیل عروق

جانبی در قلب و عضلات اسکلتی در زمان ایسکمی در انسان و مدل‌های حیوانی می‌گردد (۷،۸). این در حالیست که شدت و مدت و تکرار و نوع ورزش می‌تواند بر پاسخ عوامل رشدی تأثیر بگذارد (۹). لازم به گفتن است که چگالی مویرگی در قلب ایسکیمیک بیماران دیابتی به وضوح کمتر از آن چیزی است که در افراد با قلب نرمال دیده می‌شود (۱۰).

مهم‌ترین عامل آنژیوژنیک عامل رشد اندوتلیال رگی (vascular endothelial growth factor (VEGF)) است. VEGF یک گلیکوپروتئین همودینامیک پایه‌ای متصل به هپارین با وزن مولکولی ۴۵۰۰ دالتون است که برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و آنژیوژنز در طی رشد و توسعه شبکه مویرگی ضروری است (۱۱،۱۲)؛ بنابراین می‌توان گفت که آنژیوژنز ناشی از افزایش بیان فاکتور VEGF است که این خود می‌تواند از پیشرفت سرطان (پروستات) به وسیله فرآیند آنژیوژنز جلوگیری کند (۱۳). از طرفی تمرین هوازی باعث افزایش بیان mir-126 می‌گردد که این خود می‌تواند با آنژیوژنز قلبی ناشی از فعالیت ورزشی که به وسیله تنظیم مستقیم مسیر VEGF شکل می‌گیرد، مرتبط باشد (۱۴). VEGF موجب مهاجرت، تکثیر، تجزیه ماتریکس سلول‌های اندوتلیال، تشکیل شبکه‌های عروقی و همچنین تولید NO و آزادسازی آن در سلول‌های اندوتلیال می‌شود (۱۵)؛ بنابراین عملکرد طبیعی VEGF به وجود آوردن عروق خونی جدید طی تکامل جنینی، عروق خونی جدید پس از آسیب، در عضلات متعاقب تمرینات ورزشی و عروق جدید برای انشعاب عروق بسته شده است (۱۶). در پژوهشی دیگر بیان گردید که فاکتور VEGF یک میتوزن بسیار قوی برای سلول‌های اندوتلیال است که در آنژیوژنز دخیل است و اینکه VEGF عضله قلبی در بسیاری از بیماری‌های پاتولوژیک، از جمله دیابت و پیری کاهش می‌یابد که در این میان تمرینات ورزشی سطح VEGF را در قلب سالم بهبود می‌بخشند (۱۷).

باعث آزاد شدن NO و افزایش VEGF می‌شود، یعنی اینکه NO در فعال شدن مسیر سیگنالی VEGF نقش کلیدی ایفا می‌کند (۲۱). همچنین می‌توان گفت که بیماری دیابت با عوارض ناتوان کننده از جمله تأثیر تخریب کننده بر آنژیوژنز، می‌تواند دستگاه‌های مختلف بدن از جمله دستگاه قلبی و عروقی را تحت تأثیر قرار دهد و موجب بیماری‌های قلبی و عروقی گردد که عوارض ناشی از این بیماری‌ها عمر افراد مبتلا به دیابت را کاهش و تقریباً تمام ناتوانی‌های ناشی از دیابت، نظیر اختلال‌های ثانویه به بیماری عروق کرونر، نارسایی قلب و فشارخون بالا را به وجود آورد. علاوه بر این با توجه به تأثیرات مثبت تمرینات استقامتی بر سطح سرمی VEGF در افراد سالم و دیابتی، می‌توان بیان کرد که این نوع تمرین در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی که از مهم‌ترین عوارض اصلی مرگ و میر و ناتوانی افراد مبتلا به دیابت است، نقش دارد که احتمالاً مسیرها و سازوکارهایی مانند PGC-1  $\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated HIF1 و receptor gamma coactivator 1-alpha) (Hypoxia inducible factor-1) نیز در این فرآیند دخیل باشند (۲۲). لذا با توجه به تحقیقات انجام شده، امروزه از VEGF درمانی به عنوان یک درمان جدید در بیماران با انسداد عروق کرونر یا عروق محیطی پیشنهاد و استفاده می‌شود (۱۰). از این رو در کنار درمان‌های دارویی، سایر درمان‌ها همواره مورد توجه پزشکان و در عین حال پژوهشگران این حوزه‌ها بوده است. در این میان فعالیت ورزشی به یقین یکی از بهترین درمان‌های غیر دارویی است (۲۱) به طوری که تاکنون پاسخ عوامل آنژیوژنز به فعالیت‌های ورزشی مورد بحث و جدل بوده، چرا که سازوکارهای درگیر در این پدیده به طور کامل مشخص نشده‌اند و متخصصین امر ادامه پژوهش‌ها را با پروتکل‌های مختلف اجتناب ناپذیر می‌دانند؛ بنابراین هدف این پژوهش بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر بیان فاکتور VEGF در بافت عضله قلبی رت‌های ویستار دیابتی است.

همچنین لی و همکاران در پژوهشی که بر روی رت‌ها انجام دادند به این نتایج رسیدند که سلول‌های آندوتلیال دارای عملکرد منحصر به فردی در زیست شناسی عروقی هستند، آنها می‌توانند پاسخ‌های ایمنی و آنژیوژنزی را تعدیل و نقش کلیدی را در هموئوستاز عروقی به شکل محافظت از دیواره عروقی از محرک‌ها پاتولوژیکی بعمل آورند. به نظر می‌رسد که آنژیوژنز پاتولوژیکی عاملی در توسعه چنین بیماری‌هایی است و آنژیوژنز یک مؤلفه حیاتی است که مرتبط با سیگنال‌های التهابی عروقی است (۱۸). کردی و همکاران در پژوهشی تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید بر بیان ژن VEGF در عضله نعلی رت‌های نر سالم انجام دادند که بر اساس یافته‌های این تحقیق، افزایش سطح بیان ژن VEGF در هر دو گروه تمرینی، احتمالاً باعث عملکرد پروآنژیوژنزی سلول‌های آندوتلیال می‌شود و افزایش  $VO_{2max}$  ناشی از افزایش فرآیند آنژیوژنز است. از طرفی تمرین تناوبی شدید ممکن است باعث سازگاری سریع‌تری نسبت به تمرینات تداومی هوازی در بدن موجودات زنده شود (۱۹). از طرفی می‌دانیم تمرینات ورزشی باعث تغییرات گوناگونی در عملکرد قلبی و عروقی می‌شوند که از جمله آنها می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های هوازی و رشد فرآیند آنژیوژنز در عضله قلبی و عضله اسکلتی اشاره کرد (۲۰). از آنجایی که چربی و گلوکز در گردش خون بیماران دیابتی افزایش می‌یابد به نظر می‌رسد که التهاب ایجاد شده در اثر انباشت بیش از حد گلوکز در بافت‌های بدن و ایجاد لخته‌های خون و ترومبوز در رگ‌ها، از میزان گردش خون بکاهد و عوامل آنژیوژنیکی مثل NO و VEGF شرایط بروز نیابند و آنژیوژنز کاهش یابد. ولی مشاهده شده که در افراد دیابتی که به فعالیت‌های ورزشی می‌پردازند، عوامل بازدارنده آنژیوژنز کنترل و عوامل پیش برنده آنژیوژنز تقویت می‌شوند و اینکه افزایش تنش برشی هنگام شروع تکثیر سلول‌های آندوتلیال و فرآیند آنژیوژنز

(Diabetic and Exercise) ۲. گروه دیابت (Diabetic) ۳. گروه تمرین سالم (Exercise) و ۴. گروه کنترل (Control). همچنین رت‌های گروه‌های تمرینی، از هفته دوازدهم زندگی به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین استقامتی انجام دادند و پس از آخرین جلسه تمرینی تشریح شدند. لازم به ذکر است که تمامی گروه‌ها همزمان تشریح شدند و کلیه مراحل و آزمایش‌ها در تمام گروه‌ها به شکل مشابه انجام گرفت.

### روش القای دیابت

پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، با تزریق درون صفاقی محلول استرپتوزوتوسین ((STZ) (Sigma, St. ) (۵۰ mg/Kg; MOLouis, حل شده در بافر سیترات تازه (۵ mol/L; ۰/۵، ۴/۵ PH) دیابت القاء گردید (۲۳). به رت‌های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق گردید. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحی کوچک توسط لانس بر روی ورید دم رت، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفت و نوار توسط دستگاه گلوکومتر Roche Diagnostics K.K, Tokyo, Japan اندازه‌گیری و رت‌هایی که قند خون آنها بالاتر از ۳۰۰ mg/dL بود، به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. با توجه به اینکه قند خون تمامی رت‌های صحرائی مورد تزریق قرار گرفته بالاتر از این مقدار بود، لذا القاء دیابت در تمام ۱۲ رت صحرائی گروه‌های دیابتی تأیید شد. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون در خلال دوره تمرینی، قند خون رت‌ها هر ۱۴ روزی یک بار به طور منظم اندازه‌گیری می‌شد (۲۴).

### پروتکل تمرینی پژوهش

در پژوهش حاضر از تمرین استقامتی با شدت متوسط (۵۵-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) استفاده شد (۲۵)، بدین صورت که گروه‌های ورزشی در معرض تمرین نوار گردان (تردمیل حیوانی مدل آدرخش، شرکت مهندسی پیشرو اندیشه صنعت، ایران) برای ۵ جلسه در

لذا با توجه به اینکه در پژوهش‌های قبلی در خصوص تأثیر این شیوه از فعالیت‌های ورزشی استقامتی بر سطوح پروتئینی VEGF در بافت عضله قلبی در رت‌های دیابتی پرداخته نشده همچنین با توجه به پروتکل تمرینی متفاوت این پژوهش، دلیلی بر متفاوت بودن و نوآوری پژوهش حاضر است.

### مواد و روش‌ها

#### ویژگی‌های حیوانات

پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به همراه گروه کنترل بود و به شیوه آزمایشگاهی با کد LU.ECRA. 2017.1 از کمیته اخلاق در پژوهش حیوانات دانشگاه لرستان انجام شد. ۲۴ سر رت‌های نر نژاد ویستار در محدوده وزنی  $245 \pm 9/4$  گرم و سن ۸ هفته به طور تصادفی به عنوان نمونه انتخاب شدند. تمامی رت‌ها در اتاقی در محل نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان نگهداری شدند. رت‌ها در گروه‌های سه‌تایی در محیطی با میانگین دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه رت، دسترسی آزاد داشتند. غذای رت‌ها از شرکت خوراک دام پارس تهران تهیه شد. در تمام مراحل پژوهش، رت‌ها توسط یک نفر جابجا و دست‌کاری شدند. در پژوهش حاضر، کار با حیوانات بر اساس کلیه اصول اخلاقی تأیید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه لرستان و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی مطالعه درد (International Association for the Study of Pain) انجام پذیرفت.

#### گروه‌بندی آزمودنی‌ها

پس از آشنایی با محیط آزمایشگاه و نوارگردان، ۱۲ سر از رت‌های نر ویستار مورد القای دیابت قرار گرفتند. پس از تأیید دیابت، ۲۴ رت به روش تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی بدین شرح تقسیم شدند: ۱. گروه دیابت تمرین

حاصل توسط هموژنایزر به خوبی هموژن شد و مخلوط هموژن شده در 10000 g به مدت 5 دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی جهت سنجش بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. به منظور سنجش میزان پروتئین VEGF از روش الایزا استفاده شد. در این مطالعه از کیت شرکت CUSABIO کشور ژاپن با حساسیت کمتر از ۰/۹۷ پیکوگرم در میلی‌لیتر و دامنه تشخیص ۹-۳/۲۵۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر استفاده شد.

ابتدا ۷ چاهک به عنوان استاندارد و یک چاهک به عنوان بلانک و به تعداد نمونه‌ها چاهک‌ها از کیت جدا شد و به ترتیب به هر چاهک ۱۰۰ میکرو لیتر محلول استاندارد (سریال استاندارد تهیه شده)، بلانک (محلول رقیق کننده استاندارد) و نمونه هموژن شده افزوده شد. سپس روی آنها به وسیله پلاستیک مخصوص پوشانده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. در ادامه چاهک‌ها را از محلول خالی و از شستشوی آنها اجتناب شد. در ادامه کار، به چاهک‌ها ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول A افزوده و دوباره به وسیله پلاستیک مخصوص روی چاهک‌ها پوشانده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. سپس چاهک‌ها خالی و به هر کدام ۳۵۰ میکرو لیتر از محلول شستشو افزوده شد و پس از یک تا دو دقیقه خالی شدند. این عمل سه مرتبه تکرار و پس از مرتبه آخر که چاهک‌ها خالی از محلول شده بودند بر روی دستمال کاغذی به طور معکوس قرار داده شد تا محلول داخل چاهک‌ها کاملاً خشک شود. در ادامه به چاهک‌ها ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول B اضافه و روی چاهک‌ها دوباره پوشانده شد و ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس همان مرحله‌ای که چاهک‌ها خالی و به هر کدام ۳۵۰ میکرو لیتر از محلول شستشو اضافه شده بود دوباره و به تعداد ۵ مرتبه تکرار شد. سپس به چاهک‌ها ۹۰ میکرو لیتر از سوبسترا افزوده شد و پس از پوشاندن چاهک‌ها با روکش جدید، به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در این مدت

هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به تدریج افزایش یافت. جهت رسیدن به سازگاری‌های به دست آمده در حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند. همچنین در این پروتکل، ۳ دقیقه برای گرم کردن و ۳ دقیقه نیز برای سرد کردن در نظر گرفته شد. در مدت زمان انجام پروتکل تمرینی، خستگی شدید در آزمودنی‌ها مشاهده نشد. لازم به ذکر است که خستگی شدید موجب بالا رفتن لاکتات خون می‌گردد و از این طریق ممکن است عوارض دیابت را افزایش دهد (۲۶). لازم به ذکر است که با توجه مقالات پیشین و با توجه به دیابتی بودن نمونه‌ها که امکان مرگ و میر آنها افزایش می‌یابد، در این پژوهش شش هفته تمرین استقامتی انتخاب گردید. پروتکل تمرینی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. پروتکل تمرینی

هفته‌ها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
مدت تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
سرعت نوار گردان (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸

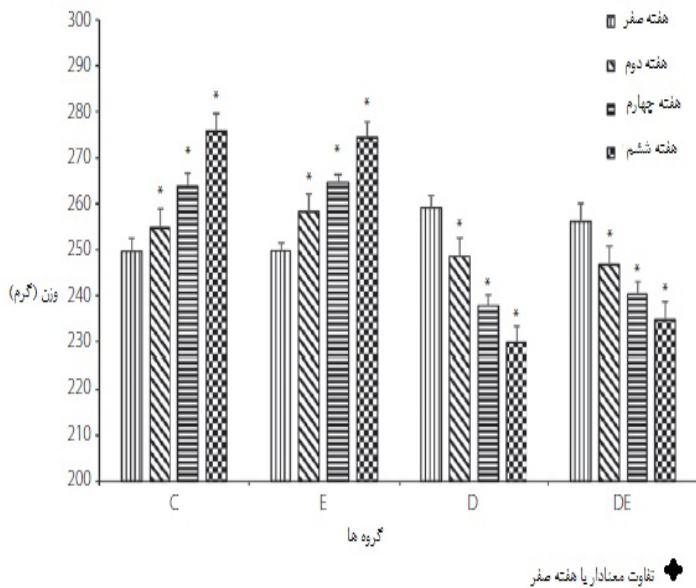
### استخراج و آماده سازی بافت

بیست و چهار ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (۱-۵ mg/kg) و زیپلازین (۱-۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. سپس قفسه سینه حیوان شکافته شد و تحت شرایط استریل، بافت قلبی جدا و در داخل فریزر با دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شد (۲۷).

### آنالیز سطوح VEGF

#### آماده سازی بافت برای انجام آزمایش الایزا

ابتدا بافت را با محلول بافر خنک (PBS) جهت خارج کردن خون اضافه شستشو داده شد و بافت در یک ظرف حاوی یک میلی لیتر بافر لیزکننده قرار داده و ظرف در یخ قرار داده شد (بافت قبلاً وزن شده بود). سپس مخلوط



شکل ۱. تغییرات وزن (Mean±SEM) در گروه‌های مختلف. تغییرات سطوح گلوکز خون

با اندازه‌گیری گلوکز خون، مشخص شد موش‌های دیابتی ۴۸ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین، دچار هایپر-گلیسمی شدند و پیش از شروع تمرین میزان گلوکز خون گروه دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر از گروه سالم بود ( $P=0/001$ ) و این اختلاف معنی‌دار در طول ۶ هفته پروتکل تمرین استقامتی بین گروه‌های دیابتی و غیردیابتی وجود داشت ( $P=0/001$ ). همچنین بعد از اتمام پروتکل تمرین، غلظت گلوکز خون گروه دیابت تمرین از گروه دیابت به شکل معنی‌داری کمتر بود ( $P=0/001$ ) (شکل ۲). این نتایج نشان داده که تزریق STZ، موجب شده سطوح گلوکز خون در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌های غیر دیابتی افزایش یابد. از سوی دیگر تمرین استقامتی، دارای اثرات عکس آن بوده و موجب کاهش سطوح گلوکز خون، در گروه دیابتی تمرین کرده شد.

رنگ محلول داخل چاهک‌ها به آبی پررنگ تغییر یافت و سپس به چاهک‌ها ۵۰ میکرو لیتر از محلول متوقف کننده (Stop Solution) افزوده شد و به آرامی محلول چاهک‌ها با تکان دادن میکروپلیت مخلوط شدند تا رنگ چاهک‌ها به رنگ زرد تغییر یافت. در نهایت چاهک‌ها به وسیله پلیت ریدر (الایزا ریدر) در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شدند.

## آنالیز آماری

نتایج آزمون کلموگروف-اسمیرنف نشان داد که داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند؛ بنابراین، برای تجزیه و تحلیل آنها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری  $P<0/05$  در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ تجزیه و تحلیل شدند.

## یافته‌ها

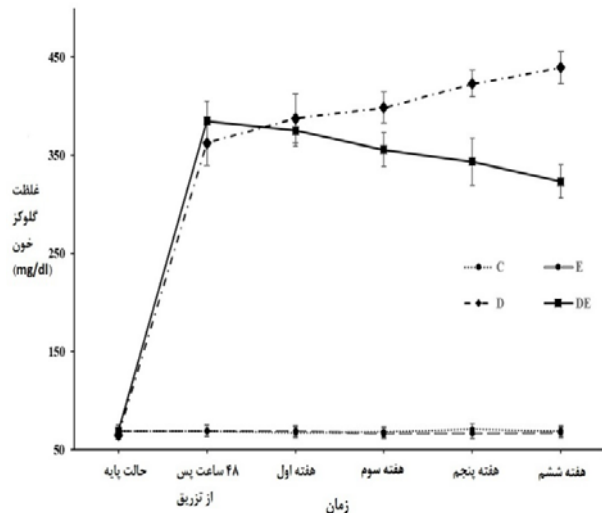
### تغییرات وزن

رت‌های گروه‌های تمرین سالم و دیابتی تمرین به طور مستمر پروتکل ۶ هفته‌ای تمرین استقامتی را انجام دادند. با مشاهده نتایج آماری مشخص شد میانگین وزن رت‌ها قبل از تزریق دارای اختلاف معنی‌داری نبود ( $P>0/05$ )؛ اما در پایان پروتکل تمرینی، وزن گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه‌های غیر دیابتی به طور معنی‌داری کاهش داشت ( $P<0/05$ ). به طوری که وزن گروه دیابت کنترل نسبت به کنترل سالم و وزن گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه تمرین سالم به طور معنی‌داری کمتر بود (به ترتیب  $P=0/003$  و  $P=0/004$ ). این در حالی بود که میانگین وزن گروه‌های تمرین سالم و کنترل سالم اختلاف معنی‌داری نداشتند ( $P=0/09$ ). همچنین با وجود مشاهده افزایش میانگین تغییرات وزن گروه دیابت تمرین نسبت به دیابت کنترل پس از ۶ هفته تمرین این افزایش معنی‌دار نبود ( $P=0/08$ ) (شکل ۱).

تمرین سالم کاهش داشته و این کاهش معنی دار می باشد ( $P=0/001$ ). از طرفی سطح VEGF در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه های کنترل و تمرین سالم دارای کاهش معنی داری می باشد (به ترتیب:  $P=0/001$  و  $P=0/016$ ). علاوه بر تمرین منجر به افزایش معنی دار VEGF در گروه تمرین سالم نسبت به گروه کنترل شد ( $P=0/001$ ).

### بحث و نتیجه گیری

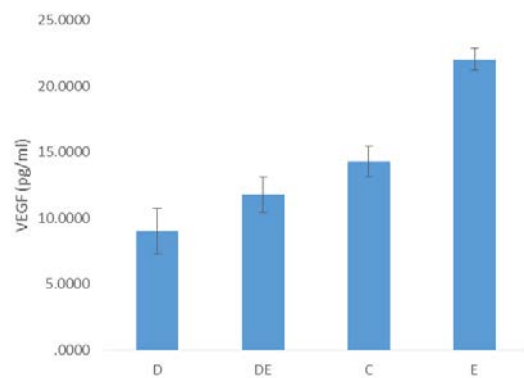
نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مقادیر VEGF در بافت عضله قلبی رت های نر ویستار گروه دیابت تمرینی نسبت به گروه دیابت به شکل معنی داری افزایش یافت. بنابراین می توان گفت بیماری دیابت عامل کاهش آنژیوژنز قلبی می شود و این نتیجه با مطالعات قبلی همخوانی دارد چرا که بر عکس دیابت، تمرین موجب افزایش سطح VEGF می شود و این امر خود می تواند فرآیند آنژیوژنز قلبی را توسعه دهد. در همین راستا تانگ و همکاران در پژوهش خود دریافتند که فعالیت های ورزشی بر فاکتورهای رشدی تأثیر دارند به طوری که افزایش سطح پروتئین VEGF در هر دو مدل انسانی و حیوانی در پی تمرینات ورزشی گزارش شده است. اما شدت و مدت و تکرار و نوع ورزش می تواند بر پاسخ عوامل رشدی تأثیر بگذارد. بنابراین با توجه به پژوهش های انجام شده می توان گفت که VEGF عامل کلیدی مهمی در ایجاد سازگاری های مختلف آنژیوژنی پس از انجام تمرینات استقامتی است (۹). در پژوهشی دیگر میزان تراکم مویرگی بافت قلبی در گروه تمرین دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی افزایش معنی داری را نشان داد (۱۹) و این افزایش تراکم مویرگی بافت قلبی در گروه دیابت تمرینی در پژوهش یاد شده می تواند ناشی از افزایش سطح VEGF باشد. در پژوهشی دیگر بشیری و همکاران نشان دادند که تمرین استقامتی موجب افزایش معنی داری مقدار سرمی VEGF و تراکم مویرگی عضله قلبی گروه دیابت تمرینی نسبت به گروه دیابت کنترل می شود (۲۲) که این خود می تواند



شکل ۲. تغییرات میانگین سطح گلوکز خون در رت های گروه های مختلف. حروف نامشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنی دار در بین گروه ها می باشد ( $P<0/05$ ).

### تأثیر ورزش و بیماری دیابت بر سطح VEGF

نتایج نشان داد که پس از ۶ هفته تمرین استقامتی تفاوت معنی داری در سطوح VEGF در بین گروه های مختلف مشاهده شد. به طوری که افزایش سطح VEGF به ترتیب در بین گروه های تمرین سالم، کنترل، دیابت تمرین و دیابت مشاهده شد (شکل ۳، جدول ۲).



شکل ۳. سطوح VEGF در گروه های مختلف.

جدول ۲. نتایج آمار استنباطی

آنالیز واریانس		نتایج آزمون لون		متغیر
sig	f	sig	f	VEGF (پیکو گرم بر میلی لیتر)
0/001	111/260	0/670	0/525	

همچنین، یافته ها نشان داد که تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی دار سطوح VEGF در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه دیابت شد ( $P=0/008$ ). همچنین، میزان VEGF در گروه دیابت در مقایسه با گروه های کنترل و

طوری که VEGF نقش مهمی در بهبود زخم‌های دیابتی و کاهش آن دارد (۱۷).

همسویی نتایج بیشتر تحقیقات انجام شده در این زمینه با نتایج تحقیق حاضر احتمالاً ناشی از کافی بودن شدت و مدت تمرین بوده که برنامه تمرینی مورد استفاده افزایش سطح VEGF را به همراه داشته و توانسته شرایط مورد نظر را برای تولید فرآیند آنژیوژنز بافت‌ها، بخصوص بافت عضله قلبی در بیماران دیابتی را ایجاد و به عنوان یک عامل درمانی مناسب پذیرفته شود.

یکی دیگر از نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین استقامتی موجب کاهش معنی‌دار سطح VEGF در بافت عضله قلبی رت‌های نر ویستار در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل و تمرین سالم می‌گردد. باید خاطر نشان کرد که نتیجه آمده در مطالعه اخیر با مطالعات مختلفی که در گذشته انجام شده همخوانی دارند. به طوری که دیابت موجب کاهش آنژیوژنز عروق جانبی در قلب و عضلات اسکلتی در زمان ایسکمی در انسان و مدل‌های حیوانی می‌شود (۱۰، ۳۱، ۳۲). در همین راستا چو و همکاران با مطالعه‌ای که بر روی بافت اندوتلیال قلبی رت-های دیابتی انجام دادند دریافتند که سطح VEGF در میوکارد قلبی موش‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد (۳۳). در مطالعه دیگر نشان داده شده که تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌داری مقدار سرمی VEGF و تراکم مویرگی عضله قلبی در گروه‌های سالم کنترل و سالم تمرینی نسبت به گروه دیابت کنترل می‌شود (۲۲). همچنین اریکت و همکارانش در پژوهشی به بررسی تأثیر تمرینات تردمیل بر بیان سطح VEGF عضلات قلبی موش‌های صحرایی دیابتی پرداختند و دریافتند که تمرینات ورزشی سطح VEGF عضله قلبی به طور معنی‌داری در گروه دیابت کنترل پایین‌تر از سالم کنترل می‌باشد به طوری که می‌توان گفت که تمرینات ورزشی باعث بهبود و کنترل

تأییدی بر نتایج پژوهش حاضر باشد. در حالی که برخی مطالعات عدم تغییر فاکتور VEGF را گزارش کرده‌اند - (۲۸)؛ که این کاهش موقتی می‌تواند 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، پس می‌توان گفت که این کاهش به این معنی نیست که فعالیت تمرینی میزان تولید VEGF را کاهش می‌دهد (۲۹).

در پژوهشی دیگر سینگ و همکاران که به مقایسه سطح VEGF در مبتلایان به دیابت نوع ۱ و گروه کنترلی سالم پرداختند، دریافتند که سطح VEGF پلاسما در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ و در مقایسه با کنترل سالم، افزایش ۳۷ درصدی داشته است و اینکه سطوح VEGF با نیازهای انسولین و شاخص توده بدنی مرتبط است ولی با سطح قند خون ارتباط ندارد و سطوح VEGF در بیماران مبتلا به T1D و رتینوپاتی در مقایسه با بیماران بدون عوارض میکرو عروقی مشابه بوده است و در نهایت اینکه سطح VEGF با سن فرد و سن شروع T1D ارتباط ندارد و در میان افراد مبتلا به T1D تفاوتی در میزان VEGF بین مردان و زنان وجود ندارد (۳۰). همچنین اریکت و همکارانش در پژوهشی به بررسی تأثیر تمرینات تردمیل بر بیان سطح VEGF عضلات قلبی رت‌های صحرایی دیابتی پرداختند و دریافتند که تمرینات ورزشی به طور معنی‌داری باعث افزایش سطح VEGF در گروه دیابت تمرینی نسبت به دیابت کنترل می‌گردد. می‌توان گفت که چنین تمریناتی باعث بهبود و کنترل دیابت ناشی از سطح VEGF عضله قلبی می‌شود (۳۱). نتایج این پژوهش با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. لین و همکاران نیز در پژوهشی به بررسی اثر VEGF بر کاهش زخم‌های دیابتی بین گروه‌های دیابتی و کنترل طبیعی پرداختند و دریافتند که سطح VEGF در گروه‌های کنترل طبیعی نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌داری پیدا کرده به



دیابت ناشی از سطح VEGF عضله قلبی می‌گردد (۳۱)؛ بنابراین می‌توان گفت با توجه به اینکه پژوهش اخیر بر روی بافت عضله قلبی و با پروتکل تمرینی متفاوت انجام شده ولی باز از همسویی نتایج چنین پژوهش‌هایی با نتایج مطالعه اخیر می‌توان این چنین استنباط کرد که دیابت عامل مهمی در کاهش سطح VEGF در عضلات قلبی است، این در حالی است که سطح آن در افراد غیر دیابتی بیشتر و این افزایش سطح VEGF را می‌توان با انجام فعالیت‌های استقامتی توسعه و موجب افزایش آنژیوژنز به ویژه در بافت عضله قلبی شد و از عوارض ناشی از دیابت جلوگیری کرد. در تحقیق دیگری که با انجام ۴ هفته تمرین مقاومتی بر روی رت‌های دیابتی و سالم انجام داده شده، نتایج نشان داد که در هر دو گروه تغییری در میزان مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های فرآیند آنژیوژنز یعنی NO و VEGF دیده نشده است (۳۴). تناقض در نتایج تأثیر فعالیت‌های بدنی بر روی فاکتور رشد آندوتلیال عروق لزوماً نشان دهنده این نیست که فعالیت بدنی میزان تولید VEGF را کاهش می‌دهد، بلکه ممکن است که کاهش موقتی این فاکتور ناشی از اتصال VEGF به گیرنده‌های موجود بر روی سلول‌های آندوتلیال (۳۵)، یا اثر نوع تمرین و وجود مسیرها سیگنالی و سازوکارهای دیگری در این فرآیند دخیل باشند.

از طرفی یکی دیگر از نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که تمرین استقامتی موجب افزایش سطح VEGF در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه دیابت می‌شود، ولی نسبت به گروه‌های کنترل و تمرین سالم سطح آن کمتر می‌باشد. در همین راستا و در مطالعات دیگر کاهش دو برابری برخی فاکتورهای VEGF در میوکارد افراد دیابتی در مقایسه با افراد غیر دیابتی دیده شده است (۳۶) و از طرفی نشان داده شده که تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌داری مقدار سرمی VEGF و تراکم مویرگی عضله قلبی در گروه‌های سالم کنترل و سالم تمرینی نسبت به

گروه دیابت تمرین می‌شود که نتایج آن با نتایج پژوهش حاضر که در بافت قلبی صورت گرفته همخوانی خوبی دارد. علاوه بر این با توجه به تأثیر مثبت تمرین هوازی بر آنژیوژنز در افراد سالم و دیابتی، می‌توان بیان کرد که این نوع تمرین در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی که از عوارض مهم و عامل اصلی مرگ و میر و ناتوانی افراد مبتلا به دیابت است نقش دارد (۲۲). همچنین مشاهده شده است در همه افراد بویژه در افراد دیابتی که به فعالیت‌های ورزشی می‌پردازند، عوامل باز-دارنده آنژیوژنز کنترل و عوامل پیش برنده رگ زایی تقویت می‌شود (۲۱)؛ بنابراین با توجه به همسو بودن نتایج خیلی از پژوهش‌های انجام شده با نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت که دیابت یک عامل مهم در افزایش سطح مهارکننده‌های آنژیوژنری قلبی و عروقی تلقی می‌شود، به طوری که این افزایش در افراد مبتلا به دیابت نسبت به افراد سالم و تمرین کرده بیشتر مشاهده گردیده است که با انجام تمرینات استقامتی مناسب در بین تمامی گروه‌ها می‌توان سطح VEGF را در بافت عضله قلبی افزایش و فرآیند آنژیوژنز فیزیولوژیکی را توسعه و از بیماری‌های قلبی و عروقی بخصوص بیماری‌های قلبی و عروقی ناشی از دیابت جلوگیری کرد.

در این پژوهش نیز این نتیجه حاصل شده است که تمرینات استقامتی موجب افزایش معنی‌دار سطح VEGF در گروه تمرین سالم نسبت به گروه کنترل می‌شود؛ که در این زمینه مطالعات مختلفی انجام شده است که تا حدودی با نتایج مطالعه اخیر همپوشانی دارد، به عنوان مثال نورشاهی و همکارانش در یک پژوهش مشابه که بر روی رت‌های صحرائی انجام دادند این نتیجه به دست آمد که تمرینات استقامتی سطح VEGF را در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهند (۳۷). در مطالعه دیگر بشیری و همکاران نشان دادند که تمرین استقامتی به مدت هشت هفته موجب

افزایش معنی‌داری مقدار سرمی VEGF و تراکم مویرگی عضله قلبی در رت‌های سالم می‌شود (۲۲). همچنین در مطالعه‌ای به بررسی آنژیوژنز و فاکتورهای آن با استفاده از یک برنامه تمرینی نوار گردان (۴ بار در روز و به مدت ۲۴ روز) بر روی عضلات اسکلتی رت‌های نر پرداختند که نتایج آن نشان داد که پدیده آنژیوژنز در روز دوازدهم تمرین، در رت‌ها اتفاق افتاده است. به طوری که افزایش بیان VEGF در ساعات اولیه تمرینی حادث شده است. همچنین در این پژوهش پیشنهاد شده است که افزایش مقدار پروتئین VEGF منجر به ایجاد پدیده آنژیوژنز می‌گردد و با وجود پیشرفت تمرین، اگر چه بیان پروتئین VEGF کاهش می‌یابد اما پدیده آنژیوژنز همچنان اتفاق می‌افتد، همچنین تأثیر تمرینات استقامتی موجب افزایش سطح NO و متعاقباً فعال‌سازی HIF-1 و به دنبال آن افزایش سطح سرمی VEGF دارد که این خود موجب تحریک فرآیند آنژیوژنز می‌شود (۳۸). همچنین می‌توان گفت که VEGF عروقی، عامل مهمی در فرآیند رشد است که نقش‌های متنوعی را در عروق کرونری و فرآیند آنژیوژنز ایفا می‌کند و اینکه این فاکتور، نقش مهم و ضروری را در حفظ سیستم‌های عروقی و غیر عروقی پس از تولد دارد (۳۹)؛ بنابراین این طور به نظر می‌رسد که افزایش سطح VEGF ناشی از تمرینات استقامتی، عامل مهمی در توسعه پدیده آنژیوژنز و افزایش سلول‌های بافت قلبی است که این خود یک عامل مهم و یک برتری در افراد تمرین کرده نسبت به تمرین نکرده می‌باشد.

اعظمیان جزی و همکاران در پژوهشی به تأثیر ترکیبی تمرین استقامتی و داروی پورواستاتین (prostanoids) بر تظاهر پروتئین VEGF در رت‌ها پس از انفارکتوس تجربی میوکارد پرداختند و دریافتند که ترکیب تمرین و داروی پورواستاتین نسبت به تمرین تنها و یا داروی تنها، تأثیر مطلوب‌تری بر فرآیند آنژیوژنز و تظاهر VEGF پس از انفارکتوس میوکارد دارد (۴۰).

همچنین در پژوهشی دیگر که بر روی عضله قلبی رت‌های نر سالم انجام شد، نتایج آن نشان داد که بیان ژن VEGF در هر دو گروه تمرینی هوازی تداومی و تناوبی شدید افزایش معنی‌داری وجود داشته و احتمالاً باعث عملکرد پروآنژیوژنزی سلول‌های اندوتلیال می‌شود، از طرفی تمرین تناوبی شدید ممکن است باعث سازگاری سریع‌تری نسبت به تمرینات تداومی هوازی در بدن موجودات زنده شود (۱۹). همچنین نشان داده شده که تمرین استقامتی موجب افزایش تراکم مویرگی در طول چهار هفته می‌شود، در حالی که هیچ افزایشی را پس از هفت هفته مشاهده نگردیده است (۴۱). این در حالی است که تمرینات ورزشی بویژه تمرینات استقامتی می‌توانند از طریق فعال‌سازی مسیر Akt (Serine-threonine Kinase, Akt) و افزایش سطح Endothelial nitric oxide synthase, eNOS را در عضله قلبی افزایش می‌دهد (۴۰). در اینجا می‌توان به این مطلب اشاره کرد که با توجه به اینکه افزایش سطح VEGF با تراکم مویرگی در ارتباط است، حال همخوانی نتایج چهار هفته اول با نتایج پژوهش حاضر خود تأییدی بر نتایج پژوهش حاضر و عدم همخوانی نتایج هفته پایانی پژوهش یاد شده با پژوهش حاضر می‌تواند ناشی از شدت تمرین یا برخی متغیرهای دیگری مثل مسیرهای سیگنالینگ متفاوت باشد.

بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، چنین به نظر می‌رسد که دیابت شیرین موجب کاهش سطح VEGF بافت عضله قلبی می‌شود و از طرفی سطوح VEGF در گروه‌های سالم نسبت به گروه‌های دیابتی به شکل معنی‌داری بیشتر است. این در حالی است که تمرینات استقامتی موجب افزایش سطح VEGF در بافت عضله قلبی می‌شود که این خود با تأثیر مثبت بر فرآیندهای تنظیمی آنژیوژنیک موجب بهبود بیماران دیابتی و قلبی و عروقی می‌شود. یافته‌های مطالعه حاضر

که نشان دهنده توسعه فرآیند آنژیوژنز توسط تمرین هوازی در شرایط دیابتی است، خود نشان دهنده این مطلب است که تمرینات هوازی می‌توانند به عنوان یک درمان غیر دارویی، برای بهبود خون‌رسانی قلب مورد استفاده قرار گیرند. یافته‌های به دست آمده دانش ما را در مورد سازوکارهای آنژیوژنز در دیابت و تمرین هوازی افزایش می‌دهد که این خود موجب پیدایش استراتژی با ارزشی در جهت توسعه روش‌های درمانی جدید در بیماران دیابتی و قلبی و عروقی می‌شود. برای نتیجه‌گیری بهتر در خصوص نقش تمرین هوازی بر میزان VEGF و تأثیر آن بر توسعه آنژیوژنز قلبی در شرایط دیابتی، توصیه می‌شود عوامل پایین‌دستی و بالادستی مرتبط با فاکتور VEGF و تمرینات متفاوت دیگری در مطالعه بعدی مورد بررسی قرار گیرد.

#### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر، مستخرج از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی، با کد شناسایی ۲۰۲۷/۰۱ از پردیس البرز دانشگاه تهران است. بدین وسیله از مسئولین دانشگاه و تمامی اساتید و افرادی که زمینه انجام تحقیق حاضر را فراهم نمودند، نهایت تقدیر و تشکر را دارم.

## References

1. Szweda N, taczmański T. miRNA in type2 diabetes. *Clini Diabetol*. 2016; 5(3): 95-99.
2. Martin A, Komada MR, Sane DC. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus. *Med Res Rev*. 2003; 23(2): 117-145.
3. 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): 1-10.
4. Salehi E, Khazaei M, Rashidi B, Haghjooye Javanmard Sh. Effect of rosiglitazone on coronary angiogenesis in diabetic and control rats. *Journal of Isfahan medical school (RPS)*. 2011; 29(134): 1-8. (In Persian).
5. Mansouri K, Seifi A, Mostafaie A, Mohammadi motllagh H.R. The study of mechanisms and causes associated with angiogenesis. *Scientific journal of Kurdistan university of medical sciences*. 2012; 19: 96-107. (In Persian).
6. Caporali A, Meloni M, Vollenkle C, Bonci-Newby GB, Addis R et al. Deregulation of mir-503 contribute to diabetes mellitus induced impairment of endothelial function and reparative angiogenesis after limb ischemia. *American heart association*. 2011; 123: 282-291.
7. 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 Med J*. 2008; 29(8): 1099-1104.
8. Li B, Wang H, Zhou G, Zhang J, Su X, Huang Z. VEGF loaded biomimetic scaffolds: a promising approach to improve angiogenesis and osteogenesis in an ischemic environment. *RSC Adv*. 2017; 7: 4253-4259.
9. Tang K, Breen E, Gerber HP, Ferrara NM, Wagner P. Capillary regression in vascular endothelial growth factor deficient skeletal muscle. *American physiological genomics*. 2004; 18:63-69.
10. Abacı A, Oğuzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Unal S, Arınç H, Ergin A. Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. *American Heart association*. 1999; 99: 2239-2242.
11. Iversen N, Krstrup P, Rasmussen HN, Rasmussen UF, Saltin B, Pilegaard H. Mitochondrial biogenesis and angiogenesis in skeletal muscle of the elderly. *Exp Gerontol*. 2011; 46(8): 670-678.
12. Schlager O, Giurgea A, Schuhfried O, Seidinger D, Hammer A, Groger M, et al. Exercise training increases endothelial progenitor cells and decreases asymmetric atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2011; 217(1): 240-248.
13. Eisermann K, Fraizer G. The Androgen receptor and VEGF: Mechanisms of androgen regulated angiogenesis in prostate cancer. *Cancers*. 2017; 9(32): 1-10.
14. Da Silva ND, Fernandes T, Soci UP, Monteiro AW, Phillips MI, Oliveira EM. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA-126 expression and angiogenesis. *Medsci sports exerc*. 2012; 44(8):1453-62.
15. Rooeigari M, ghaedi K, Mohammadinejad P. Assessment of Mir126 expression level in benign and malignant tissue of breast cancer and its correlation with HER2 receptor status.

- International & Iranian Genetic Congress. 2016; 21-23. (In Persian).
16. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, Cross MJ. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signaling and therapeutic inhibition. *Cellular signalling*. 2007; 19(10): 2003-2012.
  17. Lin Ch, Yin G, Ou M, Zheng S. The effects of HIF-1 $\alpha$  and VEGF on wound healing in diabetic mice. *Biomedical research*. 2017; 28(18): 8121-8124.
  18. Lee A, Papangeli L, Park Y, Jeong HN, Kang H, JO HN et al. APPAR $\gamma$ -dependent miR424/503-CD40 axis regulates Inflammation mediated angiogenesis. *Scientific reports*. 2017; doi:10.1038/s41598-017-02852-4.
  19. Kordi M R, Nekouei A, Shafiee A, Hadidi A. The effect of eight weeks high intensity aerobic continuous and interval training on gene expression of vascular endothelial growth factor in soleus muscle of healthy male rats. *AMUJ*. 2016; 18(101): 53-62.
  20. Tang K, Xia FC, Wagner PD, & Breen EC. Exercise induced VEGF transcriptional activation in brain, lung, and skeletal muscle. *Respir physiol neurobiol*. 2010; 170(1): 16-22.
  21. Mahrou M, Gaeini AA, Chobbineh S, Javidi M. Changes in stimulating factors of angiogenesis induced by progressive resistance training in diabetic Rats. *Iranian journal of diabetes and metabolism*. 2014; 14(1): 1-8. (In Persian).
  22. Bashiri J, Gaeini AA, Abdi H. Endurance training affects muscular angiogenesis and serum VEGF concentration in diabetic rats. *Koomesh*. 2015; 17(1): 123-132 (In Persian).
  23. Falah S, Kordi M, Ahmadzadeh S, Ravasi A, Hedayati M. Effectof 8 weeks of endurance training on rest levels and response of visfatin and insulin resistance index to acute endurance exercise in diabetic rats. *Sport physiology and management inves tiga toins*. 2012; 8: 83-93. (In Persian).
  24. Wei M, Ong L, Smith MT, Ross FB, Schmid K, Hoey AJ et al. The streptozotocin diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. *Heart lung circ*. 2003; 12(1): 44-50.
  25. Kurd M, Valipour Dehnou V, Tavakoli SA, Gahreman DE. Effects of endurance training on hippocampus DJ-1, cannabinoid receptor type 2 and blood glucose concentration in diabetic rats. *J Diabetes Investig*; 2018; doi: 10.1111/jdi.12868:1-8
  26. Chen S-R, Pan H-L. Hypersensitivity of spinothalamic tract neurons associated with diabetic neuropathic pain in rats. *Journal of neurophysiology*. 2002; 87(6): 2726-2733.
  27. Goss G. Theory and Practice of Histological techniques. Dimethylarginine in peripheral arterial disease: A randomized controlled trial. *Atherosclerosis*. 2011; 217: 240-248.
  28. Kraus RM, Stallings III HW, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance trained men. *J Appl Physiol*. 2004; 96: 1445-1450.
  29. 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. *J Physiol.* 2003; 550: 217-225.
30. Singh K, Sandler S, Espes D. The increased circulating plasma levels of vascular endothelial growth factor in patients with Type I diabetes do not correlate to metabolic control. *J Diabetes Res.* 2017; doi.org/10.1155/2017/6192896.
  31. Erekat NS, Al-Jarrah MD, Khatib AJ. Treadmill exercise training improves vascular endothelial growth factor expression in the cardiac muscle of Type I diabetic rats. *Cardiol Res.* 2014; 5(1): 23-29.
  32. Boodhwani M, Sodha NR, Mieno S, Xu S-H, Feng J, Ramlawi B, Clements RT, Sellke FW. Functional, cellular, and molecular characterization of the angiogenic response to chronic myocardial ischemia in diabetes. *American Heart association.* 2007; 116(II): 131-137.
  33. 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. *American Heart association.* 2002; 105: 373-379.
  34. Shekarchizadeh P, Gharakhanlou R, Karimain J. Changes of plasma angiogenic factor during chronic resistance exercise in type I diabetic rats. *Pak J Med Sci.* 2012. 28(2): 328-332. (In Persian).
  35. Kraus RM, Stallings HW, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance trained men. *J Appl Physiol.* 2004; 96(4): 1445-1450
  36. Khazaei M, Salehi E, Amjadi F S. Angiogenesis in health and disease: role of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Journal of Isfahan medical school.* 2011; 29(132): 1-15. (In Persian).
  37. Nourshahi M, Hedayati M, Nemati J, Ranjbar Kamal Gholamali M. Effect of 8 weeks endurance training on serum vascular endothelial growth factor and endostatin in wistar rats. *Koomesh.* 2012; 13(14): 474-479. (In Persian).
  38. Lloyd PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 284(5): 1668-1678.
  39. Shim J W, Madsen J R. VEGF Signaling in neurological disorders. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(1): 275.
  40. Azamian Jazi A, Haffezi MR, Opera H, Abdi H. The effect of endurance exercise training and atorvastatin on VEGF in rat following experimental myocardial infarction. *Scientific journal of Ilam university of medical sciences.* 2016; 24(4): 21-33. (In Persian).
  41. Jensen L, Bangsbo J, Hellsten Y. Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2004; 557(2): 571-582.

## Effect of endurance training on VEGF protein level in tissue of cardiac muscle in STZ-induced diabetic Wistar rats

**Soori R<sup>\*1</sup>, Sharafi Dehrahm F<sup>2</sup>, Choobineh S<sup>1</sup>, Valipour Dehnou V<sup>3</sup>**

1. Associate professor, Department of exercise Physiology, Tehran University, Tehran, Iran, Soori@ut.ac.ir

2. Ph.D. Student of Sport Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Campus Alborz University of Tehran, Tehran, Iran.

3. Associate professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

Received: 25 Aug 2018 Accepted: 29 Sep 2018

### Abstract

**Background:** Exercise is considered as the important treatment in diabetic patients and the process of angiogenesis in diabetes can be affected by exercise. The purpose was to investigate the effect of 6 weeks of endurance training in the form of treadmill running on VEGF levels in cardiac muscle of diabetic rats.

**Materials and Methods:** 24 male Wistar rats weighing  $245 \pm 9.4$  g and 8 weeks old were randomly assigned to control (n=6), exercise (n=6) diabetic (n=6) and diabetic and exercise (n=6). Diabetes was induced by streptozotocin (50 mg/kg). The training was performed for 6 weeks and 5 sessions per week. 24 hours after the protocol, the rats were sacrificed and their cardiac tissue extracted. The VEGF levels were measured by ELISA. To analyze data, one-way ANOVA was used.

**Results:** Training results showed a significant increase in VEGF in the diabetic group compared to the control group ( $p=0.008$ ). The level of VEGF in the diabetic group was significantly reduced compared with the control and exercise groups ( $p=0.001$ ). The level of VEGF in the diabetic and exercise group was significantly lower than the control and exercise groups ( $P<0.05$ ). Exercise significantly increased VEGF in the exercise group compared to the control group ( $p=0.001$ ).

**Conclusion:** VEGF levels were significantly higher in healthy groups than in diabetic groups and training increased the level of VEGF in the cardiac muscle, and possibly this increased levels of VEGF has positive effects on angiogenic processes in diabetic patients. Therefore, endurance training could be a valuable strategy to develop therapies for diabetes.

**Keywords:** Aerobic training, Angiogenesis, VEGF, Cardiac tissue, Diabetes.

\***Citation:** Sour R, Sharafi Dehrahm F, Choobineh S, Valipour Dehnou V. Effect of endurance training on VEGF protein level in tissue of cardiac muscle in STZ-induced diabetic Wistar rats. *Yafte*. 2018; 20(3):110-124.