

## تأثیر تمرین هوازی بر آنژیوژنز عضلانی و عوامل پایین دستی مسیر PI3KR2 بافت قلبی موش‌های صحرایی دیابتی

میرحجت موسوی نژاد<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت ۱۴/۱۰/۱۳۹۹ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۱۱/۰۴

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** با توجه به اثرگذاری دیابت بر فرآیندهای عروق زایی و از آنجائی که اثرات سودمند تمرین هوازی بر سیستم قلبی - عروقی به اثبات رسیده است، لذا پژوهش حاضر باهدف تعیین تأثیر تمرین هوازی بر آنژیوژنز عضلانی و عوامل پایین دستی مسیر PI3KR2 بافت قلبی موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

**مواد و روش کار:** تعداد ۲۰ سر رت نژاد ویستار با میانگین وزنی  $10/85 \pm 19/9$  گرم، تصادفی به دو گروه کنترل دیابتی ( $n=10$ )، و تمرینی دیابتی ( $n=10$ ) تقسیم و گروه‌ها بر اساس وزن همسان‌سازی شدند. دیابت از طریق ترکیب مصرف غذای پرچرب و تزریق استریتوزتوسین ایجاد شد. برنامه تمرینی شامل ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط بر روی نوارگردان بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، و پس از ناشتایی شبانه نمونه‌گیری بافت قلبی به عمل آمد. جهت اندازه‌گیری دانسیته مویرگی عضله قلبی از روش ایمونوهیستوشیمی (فعالیت آلکالین فسفاتاز) استفاده شد و بیان پروتئین‌های AKT و eNOS به روش الایزا اندازه‌گیری شد. برای مقایسه‌ی اختلاف میانگین‌ها از آزمون تی مستقل استفاده گردید و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** نتایج آزمون تی مستقل نشان داد، اجرای ۸ هفته تمرین هوازی موجب افزایش معنی‌دار تراکم مویرگی ( $p = 0/018$ ) و پروتئین‌های AKT و eNOS ( $p = 0/001$ ) بافت قلبی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج مطالعه حاضر که نشان‌دهنده توسعه آنژیوژنز و مسیرهای سیگنالینگ آن توسط تمرین هوازی در شرایط دیابتی هست، می‌توان بیان کرد تمرین هوازی می‌تواند به‌عنوان یک درمان غیر دارویی برای بهبود خون‌رسانی قلب افراد دیابتی مورداستفاده قرار گیرد.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین هوازی، آنژیوژنز، پایین‌دست PI3KR2، دیابت نوع ۲

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره نهم، ص ۶۴۸-۶۵۹، آذر ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: خوی، بلوار آیت‌ا... خویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت‌بدنی. تلفن: ۰۹۱۴۹۶۴۲۱۳۲

Email: mhmousavi@yahoo.com

### مقدمه

دارد که این عوارض را می‌توان به دودسته میکروواسکولار (شامل رتینوپاتی، نوروپاتی و نوروپاتی و ماکرو واسکولار (شامل بیماری عروق محیطی و بیماری قلبی-عروقی) تقسیم‌بندی کرد (۳). به‌طور کلی، دیابت از نقطه‌نظر عروقی و آنژیوژنز، بیماری متناقضی هست، زیرا از یک‌طرف 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 ملیتوس اشاره به حضور هم‌زمان شرایط پرو و آنتی آنژیوژنیک به‌صورت توأم در این بیماری دارد (۴). شواهد روزافزونی وجود دارد که نشان می‌دهد، دیابت باعث کاهش آنژیوژنز، کاهش قطر

شیوع گسترده بیماری دیابت در سال‌های اخیر، این بیماری را به یک نگرانی عمده بهداشت عمومی تبدیل کرده است (۱). در دهه‌های گذشته تعداد افرادی که از دیابت رنج می‌برند افزایش یافته است. بر اساس گزارش فدراسیون بین‌المللی دیابت، تا سال ۲۰۱۱ حدود ۳۶۵ میلیون نفر به این بیماری مبتلا بودند که انتظار می‌رود این رقم تا سال ۲۰۳۰ به ۵۵۲ میلیون نفر افزایش یابد (۲). مطالعات نشان می‌دهند که بیماری دیابت، فقط اختلال متابولیسم قند خون را ایجاد نمی‌کند، بلکه عوارض مزمنی را در ساختار و عملکرد عروق خونی در بافت‌های مختلف بدن به همراه

<sup>۱</sup> استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران (نویسنده مسئول)

مویرگ‌ها، کاهش نسبت مویرگ‌ها به فیبرها و تشکیل عروق جانبی قلب در انسان و مدل‌های حیوانی می‌گردد (۶ و ۵). اباسی و همکاران (۱۹۹۹) با مطالعه‌ای که بر روی 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 (۷). مطالعات ورنر و همکاران (۲۰۰۱) نیز از این یافته که رشد و توسعه‌ی عروق جانبی کرونر در بیماران دیابتی کاهش می‌یابد، حمایت کردند (۸). به‌علاوه، نشان داده شده است دیابت باعث کاهش قطر مویرگ‌ها، کاهش نسبت مویرگ‌ها به فیبرها، کاهش ظرفیت انتشار مویرگ‌ها و هم‌چنین اختلال در تنظیم همودینامیک عروق عضلات می‌شود (۹). دیابت بر روی فاکتورهای پروآنژیوتیک و آنتی‌آنژیوتیک نیز اثر می‌گذارد و این اثر باعث تغییر موازنه‌ی بین عوامل تحریک‌کننده و مهارکننده‌ی آنژیوتنز شده و در نتیجه با تغییر آنژیوتنز، بیماری‌های قلبی و عروقی افزایش می‌یابد (۱۱) و (۱۰). در مقابل، مطالعات نشان می‌دهد تمرین ورزشی، عملکرد اندوتلیال را بهبود بخشیده و کاهش دانسیته عروق ریز (میکرو واسکولار) را خنثی می‌کند (۱۲). در مجموع افزایش رشد مویرگی بر اثر تمرینات ورزشی در افراد دیابتی و سالم گزارش شده است، اما اثر این عمل آن‌گونه که در افراد سالم اتفاق می‌افتد معنی‌دار نیست (۱۳ و ۱۴).

پروتئین عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) آبشار سیگنالینگ آنژیوتیک را از دو مسیر متفاوت راه‌اندازی می‌کند که یکی از این مسیرها، سیگنالینگ PI3K/Akt/eNOS می‌باشد. Akt فعال شده با فسفریله کردن پروتئین‌های BAD و کاسپاز ۹ سبب مهار آپوپتوز می‌شود. Akt با تأثیر بر فعالیت و بیان P21 و P27 و سیکلین D سبب پیشرفت سیکل سلولی می‌شود. همچنین Akt با فسفریله کردن نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیالی (eNOS)، آن را فعال کرده و منجر به مهاجرت سلولی می‌شود (۱۵). مسیر Akt/PI3K نقش کلیدی در فسفوریلاسیون eNOS دارد. فعال‌سازی PI3K منجر به فسفوریلاسیون PIP2 (فسفاتیدیل اینوزیتول دی فسفات) می‌شود که آن‌هم باعث فسفوریلاسیون و فعال‌سازی Akt (پروتئین کیناز سرین-ترئونینی که توسط کینازهای وابسته به فسفو اینوزیتید فعال می‌شود) می‌گردد. Akt فعال شده، فسفوریلاسیون eNOS را بهبود می‌بخشد. eNOS نیز از طریق HSP90 باعث سنتز و رهاسازی NO می‌شود (۱۶). منبع اصلی تولید اکسید نیتریک در سلول‌های اندوتلیال عروقی، eNOS است، که در طی تمرین ورزشی و شیراسترس فعال می‌شود. شیراسترس با تأثیر روی حس‌گرهای مکانیکی (پروتئین G، کانال‌های یونی و اینتگرین) که در غشای سلول‌های اندوتلیال قرار دارند، از طریق ۴ مسیر انتقال پیام مکانیکی یعنی مسیره‌های ERK /

از آنجایی که چربی و گلوکز در گردش خون بیماران دیابتی افزایش می‌یابد، به نظر می‌رسد که التهاب ایجاد شده در اثر انباشت بیش‌ازحد گلوکز در بافت‌های بدن و ایجاد لخته‌های خون و ترومبوز در رگ‌ها از میزان گردش خون بکاهد و عوامل آنژیوتنیک فرصت و شرایط بروز نیابند و رگ زایی کم شود (۱۸). مطالعه داسیلوا و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد، تمرین هوازی شنا باعث افزایش بیان mir126 می‌شود و این امر می‌تواند با آنژیوتنز قلبی ناشی از فعالیت ورزشی به‌وسیله‌ی تنظیم مستقیم مسیر VEGF و تنظیم غیرمستقیم اهداف آن مانند MAPK, PI3K/Akt/eNOS ارتباط داشته باشد (۱۹). باوجود این، بررسی پژوهش‌های انجام شده، نشان می‌دهد که هیچ مطالعه‌ای آثار هم‌زمان تمرین ورزشی و دیابت را بر عوامل پایین‌دستی مسیر VEGF/پروتئین‌های AKT و eNOS در آنژیوتنز قلبی بررسی نکرده است. بنابراین، مطالعه حاضر باهدف بررسی اثر تمرین استقامتی بر میزان بیان پروتئین‌های AKT و eNOS و عروق زایی بافت قلبی در رت‌های نر دیابتی انجام شد.

## مواد و روش کار

پژوهش حاضر از نوع پژوهش‌های بنیادی - توسعه‌ای می‌باشد که به‌صورت تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل انجام شد. شمای کلی طرح پژوهش در جدول ۱ گزارش شده است. تعداد ۲۰ سر رت نژاد ویستار در سن ۴ هفته‌گی با میانگین وزنی  $11/9 \pm$  ۹۸/۵ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط دمایی  $22C-20$ ، رطوبت ۵۰ درصد، کم سر و صدا و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته به‌صورت انفرادی در هر قفس نگه داری شدند. وزن بدن روزانه ثبت و رت‌ها با غذای مخصوص رت و آب تغذیه شدند. بعد از گذشت دو هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن مطلوب) رت‌ها با میانگین وزنی  $10/85 \pm$  ۱۹۱/۹ گرم تصادفی به دو گروه کنترل دیابتی ( $n=10$ )، و تمرینی دیابتی ( $n=10$ ) تقسیم و گروه‌ها بر اساس وزن همسان‌سازی شدند. در نهایت، در تجزیه و تحلیل داده‌ها، برای سنجش بیان پروتئین‌ها و

ناشتایی در دو گروه دیابتی انجام گرفت (۲۱). ۴۸ ساعت بعد از تزریق دارو، نمونه خونی از چشم حیوان جمع آوری و جداسازی سرم انجام و غلظت گلوکز با روش آنزیماتیک گلوکز اکسیداز با کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. غلظت گلوکز بالاتر از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر به‌عنوان دیابت تعریف (۲۰) و موش‌های صحرایی واجد شرایط وارد پژوهش شدند (پروتکل تمرینی در آزمایشگاه تخصصی دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد).

دانشیته مویرگی از گروه کنترل دیابتی ۸ سر و تمرینی دیابتی ۸ سر استفاده شد. دیابت در این پژوهش از طریق ترکیب مصرف غذای پرچرب و تزریق استرپتوزوتوسین ایجاد شد (۲۰). غذای مورد استفاده شامل ۵۸ درصد چربی، ۲۵ درصد پروتئین و ۱۷ درصد کربوهیدرات بود. این ترکیب غذایی به وسیله محقق به‌صورت دست ساز تهیه گردید (۷). رت‌ها به مدت دو هفته تحت مصرف غذای پرچرب قرار گرفتند. بعد از آن تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین به میزان ۳۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد بعد از ۶ ساعت

### جدول (۱): شمای کلی طرح پژوهش

مراحل	نگه داری و رسیدن به وزن مطلوب	مصرف غذای پرچرب	تزریق STZ	انجام تست تأیید دیابت	آشنا سازی	اعمال پروتکل تمرینی	تشریح و استخراج بافت
مدت	۲ هفته	۲ هفته	۴۸ ساعت بعد از تزریق STZ	۵ روز	۸ هفته	آخرین جلسه تمرینی	۴۸ ساعت بعد از
کنترل دیابتی	×	×	×	×	-	-	×
تمرین دیابتی	×	×	×	×	×	×	×

گزارش شده است. قابل ذکر است که پروتکل تمرینی، قبل از شروع مطالعه با انجام pilot study بر روی ۴ رت مورد تأیید قرار گرفت.

تمرین هوازی به مدت ۸ هفته و ۶ جلسه در هفته بر روی نوار گردان موتوردار انجام شد (۲۳ و ۲۲) که خلاصه آن در جدول ۲

### جدول (۲): پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط بر روی نوار گردان

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

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)

انجام شد (در این مرحله شستشو تا ۶ مرتبه ادامه یافت). ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا به هر چاهک اضافه و پلیت ها در تاریکی حدود ۳۰ دقیقه، انکوبه شدند. ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول متوقف کننده به هر چاهک اضافه و بلافاصله مقدار OD چاهکها با الیزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شدند. با توجه به منحنی استاندارد حاصل از OD چاهکهای استاندارد، میزان کمی پروتئین مربوطه محاسبه گردید.

جهت اندازه گیری دانسیته مویرگی عضله قلبی از روش ایمونوهیستوشیمی (فعالیت آلکالین فسفاتاز) استفاده شد. برای این منظور، لام ها پس از شارژ کردن در محلول پلی الیزین (Poly-E-lysine) به مدت سه دقیقه شست و شو و به طور کامل در آب مقطر حرکت داده شد. پس از بیرون آوردن و خارج شدن آب از لام های داخل رک، به مدت ۷۲ ساعت زمان نیاز است تا لام ها خشک شود. پس از خارج شدن لام ها در جعبه چیده و در این زمان لامها شارژ شده می باشد.

عضله منجمد را که کمی از حالت انجماد در آمده بر روی قالب با چسب مخصوص چسبانده و در دستگاه فروزن سکنش با دمای منفی ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده و برش داده می شود. پس از آن نمونه ها به مدت ۵ دقیقه در محلول متانول ثابت و بعد از آن به مدت ۱۵ دقیقه در محلول بافر سالین شست و شو داده شد. در مرحله بعد پس از خشک کردن اطراف نمونه ها به ترتیب ۵ دقیقه در آب اکسیژنه و آب مقطر قرار گرفت. ماده سوپر بلاک نیز به مدت ۵ دقیقه روی آن ریخته و آنتی بادی NCL-31 اضافه شد. همچنین محلول آلکان فسفاتاز را نیز به مدت ۲ ساعت روی لام اضافه کرده و پس از آن به مدت ۵ دقیقه در محلول PBS شست و شو و به مدت ۲ ساعت در محلول پست پرایمری (محلولی که بعد از اولین آنتی ژن و آنتی بادی اضافه می شود) با حرکت دورانی به شیکر قرار گرفت. مجدداً محلول به مدت ۱۰ دقیقه با PBS (فسفات بافر سالین) شست و شو داده شد. در مرحله بعد محلول پلیمر ثانوی نیز به مدت ۲ ساعت روی نمونه انکوبه شد. از دی ای بی کرموزن یک قطره به ۱۹ قطره از سوبسترا اضافه شد. پس از آن ۵ قطره محلول از ۲۰ قطره فوق را روی لام اضافه کرده به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شست و شو داده می شود. در مراحل آخر نمونه ها را به مدت ۳۰ ثانیه با رنگ زمینه ای همتوکسیلین رنگ کرده و لام ها خشک و در هوای آزاد با چسب اینتلان مانت شد. در

پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین، و پس از ناشتایی شبانه نمونه گیری انجام شد. موش ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۵ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلوزین (۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) بی هوش شدند. سپس قفسه سینه حیوان شکافته شد و برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، خون مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. عضله قلبی آن ها تحت شرایط استریل جدا شد. بافت مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد.

انجام تست الیزا به منظور اندازه گیری eNOS و Akt: تست الیزا برای سنجش میزان پروتئین های مذکور با استفاده از کیت تجاری اختصاصی اندازه گیری (Akt ELISA Kit). Catalog no.: ABIN2114824، شرکت eNOS ELISA Kit و antibodies، شرکت ABIN367489. انجام شد.

روش کار: در چاهک های پلیت های ۹۶ خانه ای مخصوص الیزا ۱۰۰ میکرو لیتر از آنتی بادی اختصاصی ( Capture Anti body) به سایتوکاین اضافه شد و پلیت ها در دمای اتاق به مدت یک شب در یخچال قرار داده شدند. محتویات داخل چاهک ها، تخلیه و با بافر شستشو PBS، یک مرتبه شستشو داده شدند. ۳۰۰ میکرو لیتر از بافر بلاک کننده به چاهک ها اضافه و پلیت ها به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق و بر روی روتاتور با دور ملایم انکوبه شدند. محتویات داخل چاهک ها تخلیه و با بافر شستشو، ۳ مرتبه شستشو داده شدند. پس از سومین شستشو با ضربه های پی در پی (Tapping) پلیت بر روی کاغذ خشک کن، باقیمانده مایعات داخل چاهک ها نیز تخلیه شدند. مایع رویی حاصل از هموژنایز بافت تومور از فریزر ۷۰ - درجه سانتی گراد خارج و پس از آن که محتویات آن کاملاً ذوب شد، از آن در مرحله بعد استفاده گردید. مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه ها و استانداردها با غلظت های ۱۰۰۰، ۴۰۰، ۱۶۰، ۶۴، ۲۵، ۶، ۲، ۱۰، ۴، ۱ و ۰٫۱ pg/ml و ۱۰۰ میکرو لیتر ۱% PBS-BSA به عنوان بلانک در چاهک هایی که از قبل در نظر گرفته شده بود، به صورت سه تایی ریخته و پلیت ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و بر روی روتاتور با دور ملایم انکوبه شدند. ۱۰۰ میکرو لیتر از Detection Anti body به هر چاهک اضافه و پلیت ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و بر روی روتاتور با دور ملایم انکوبه شدند. ۱۰۰ میکرو لیتر از Streptoavidin-HRP به هر چاهک اضافه و پلیت ها در شرایط تاریکی به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. شستشوی پلیت ها همانند قبل

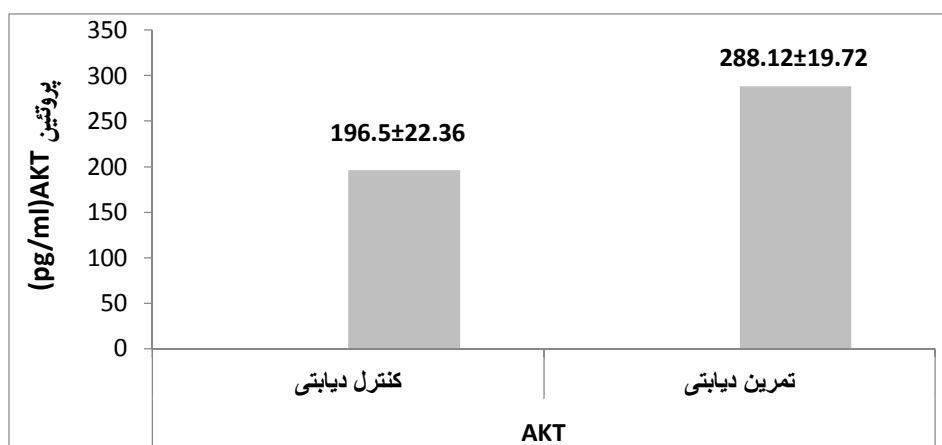
انجام گردید و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

شکل ۱، میانگین مقادیر پروتئین AKT بافت قلبی در دو گروه کنترل دیابتی و تمرین دیابتی را نشان می‌دهد. تمرین هوازی باعث افزایش معنی‌دار بیان پروتئین AKT گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی شد. نتایج آزمون تی مستقل نشان داد، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مورد مطالعه وجود دارد  $(t_{14} = -8/68, p = 0/00)$ .

این مرحله لام‌ها جهت شمارش و بررسی آماده بود. تراکم مویرگی (Capillary density) به صورت تعداد در فیلد میکروسکوپی گزارش شد.

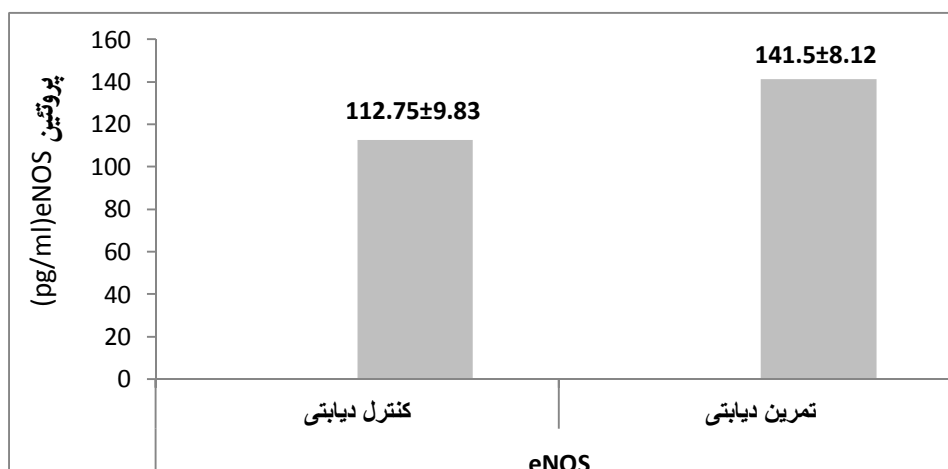
با توجه به اهداف و فرضیه‌های پژوهش، ابتدا آمار توصیفی برای توصیف، طبقه بندی و تنظیم داده‌های خام متغیرهای پژوهش از طریق میانگین، انحراف استاندارد، رسم جداول و نمودارها استفاده شده است. در بخش تجزیه و تحلیل استنباطی، برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، استفاده شد. سپس برای مقایسه‌ی اختلاف میانگین‌ها از آزمون تی مستقل استفاده گردید. تمامی عملیات آماری آزمون بر حسب اهداف ویژه‌ی پژوهش، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-23



شکل (۱): میانگین مقادیر پروتئین AKT بافت قلبی گروه‌های مورد مطالعه پس از دوره تمرینی.

نسبت به گروه کنترل دیابتی شد. نتایج آزمون تی مستقل نشان داد، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مورد مطالعه وجود دارد  $(t_{14} = 6/37, p = 0/00)$ .

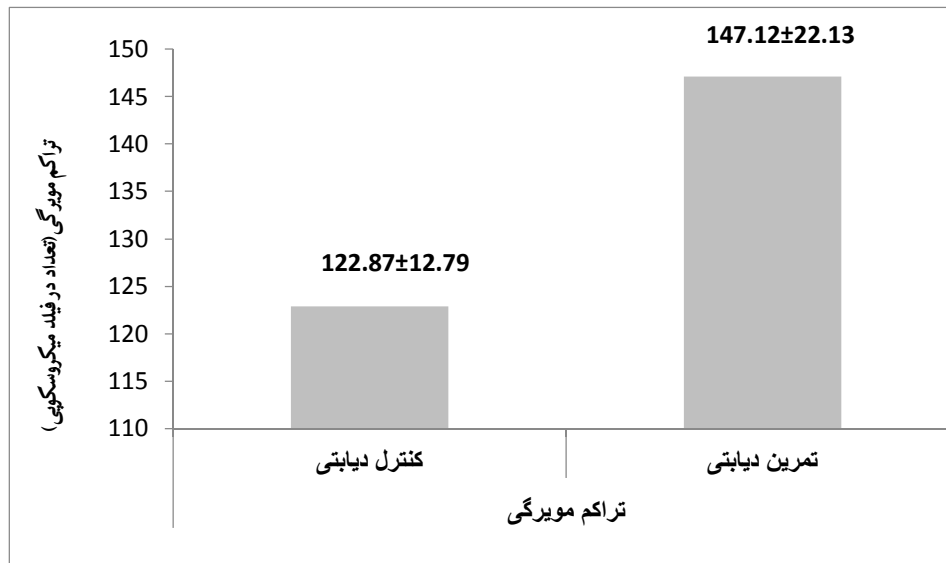
شکل ۲، میانگین مقادیر پروتئین eNOS بافت قلبی در دو گروه کنترل دیابتی و تمرین دیابتی را نشان می‌دهد. تمرین هوازی باعث افزایش معنی‌دار بیان پروتئین eNOS گروه تمرین دیابتی



شکل (۲): میانگین مقادیر پروتئین eNOS بافت قلبی گروه‌های مورد مطالعه پس از دوره تمرینی.

نسبت به گروه کنترل دیابتی شد. نتایج آزمون تی مستقل نشان داد، تفاوت معنی داری بین دو گروه مورد مطالعه وجود دارد ( $t_{14} = -2/68, p = 0/018$ ).

شکل ۳، میانگین مقادیر تراکم مویرگی عضله قلبی در دو گروه کنترل دیابتی و تمرین دیابتی را نشان می‌دهد. تمرین هوازی باعث افزایش معنی دار تراکم مویرگی عضله قلبی گروه تمرین دیابتی



شکل (۳): میانگین مقادیر تراکم مویرگی بافت قلبی گروه‌های مورد مطالعه پس از دوره تمرینی.

ساسو و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند بیمارانی که تحت عمل جراحی به ای پس شریان کرونر قرار گرفته‌اند افزایش بیان ناشی 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 نشان‌دهنده وضعیت فعال آن است، کاهش شدیدی را نشان داده است. این پدیده خود منجر به کاهش فعالیت eNOS و Akt (یک سرین ترئونین کیناز) که عوامل اصلی مسیر پیام رسانی VEGF است، می‌شود. این دو مطالعه پیشنهاد می‌کند عملکرد VEGFR1 در شرایط دیابت طبیعی است، اما فعال‌سازی Flk-1 طبیعی نمی‌باشد (۲۵). بنابراین، احتمالاً Flk-1 گیرنده اصلی درگیر در انتقال سیگنال VEGF است و از راه 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. (۲۶).

در راستای نتایج پژوهش حاضر، مطالعه ایمیتسو و همکاران (۲۰۰۶) که با عنوان ((فعالیت بدنی تنظیم منفی ناشی از فرایند پیری در آبشار سیگنالینگ آنژیوژنیک VEGF قلب را بهبود می‌بخشد))، انجام شد، نشان داد که VEGF فرایند آنژیوژن را از طریق فعال‌سازی آبشار سیگنالینگ آنژیوژنیک و از طریق مسیر

## بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، میزان بیان پروتئین AKT بافت قلبی در گروه تمرین دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی افزایش معنی داری را نشان می‌دهد. هر چند تا به حال، پژوهشی درباره تأثیر هم‌زمان دیابت و تمرین ورزشی بر میزان بیان پروتئین‌های eNOS و AKT گزارش نشده است، اما مطالعاتی چند، به‌طور مستقل اثرات تمرین ورزشی و دیابت را بر بیان AKT و eNOS مورد بررسی قرار داده‌اند. بر اساس بسیاری از مطالعات، دیابت باعث کاهش رگ زایی و تشکیل عروق جانبی در قلب و عضلات اسکلتی در زمان ایسکیمی در انسان و مدل‌های حیوانی می‌شود (۵، ۷ و ۱۱). دیابت هم‌چنین با آرتریوژنز ناقص همراه است. 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 که میزان shear stress و افزایش جریان خون را احساس می‌کنند و ۲- مونوسیت‌های در گردش که در رشد عروق جانبی به کار گرفته می‌شوند) دچار نقص عملکردی می‌شوند (۲۴). هایپرگلیسمی باعث نقص پیام رسانی در پایین دست VEGFR2 در سلول‌های اندوتلیال می‌شود، هم‌چنین، پاسخ کموتوکسیک و مهاجرت مونوسیت‌ها که توسط گیرنده VEGFR1 در پاسخ به VEGF انجام می‌شود، دچار نقص می‌شود.

AKT و نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی (eNOS) انجام می‌دهد. در این کار پژوهشی، قلب سه گروه موش مورد بررسی قرار گرفت؛ موش‌های جوان بی‌تحرك، موش‌های مسن بی‌تحرك و موش‌های مسن تمرین کرده (هشت هفته تمرین شنا). نتایج نشان داد، میزان تغییرات AKT در سه گروه معنی‌دار نبود اما نسبت AKT فسفریله به AKT همچنین نسبت eNOS فسفریله به eNOS قلب در گروه تمرینی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. آن‌ها از نتایج این پژوهش نتیجه گرفتند که افزایش بیان عوامل آنژیوژنیک این مسیر سیگنالینگ در اثر تمرین ورزشی، باعث افزایش تراکم مویرگی قلب می‌شود که از این طریق فرآهمی اکسیژن و مواد مغذی بافت قلبی بهبود می‌یابد و نهایتاً فیبروزی شدن و آپوتوز سلولی به تأخیر می‌افتد. بنابراین فعالیت ورزشی در افراد مسن می‌تواند، عوامل خطر آفرین قلبی ناشی از افزایش سن را کاهش دهد. بر اساس گزارش این محققین، مهار بیان eNOS در شرایط زیستی در حیوانات، باعث کاهش بیان VEGF و کاهش عروق زایی و دانسیته مویرگی در قلب می‌شود (۲۷).

نتایج مطالعه حاضر هم راستا با مطالعه ناتان و همکاران (۲۰۱۲)، نشان داد که تمرین هوازی باعث افزایش بیان mir126 و عوامل پایین دستی مسیر PI3KR2، یعنی Akt و eNOS می‌شود. در مطالعه این محققین، موش‌های ماده و بیستار در سه گروه دسته بندی شدند: بی‌تحرك (S)، تمرین ۱ (T1 تمرین با حجم متوسط) و تمرین ۲ (T2 تمرین با حجم بالا). T1 شامل تمرین شنا به مدت ۶۰ دقیقه در روز، ۵ جلسه در هفته به مدت ۱۰ دقیقه با ۵٪ اضافه بار بدن بود. T2 دارای پروتکل مشابه با T1 تا هفته هشتم بود ولی در هفته نهم، دو جلسه در روز و در هفته دهم ۳ جلسه در روز تمرین انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که نسبت مویرگ تار قلبی در T1 (۵۸٪) و T2 (۱۰۱٪) نسبت به گروه بی‌تحرك افزایش یافت. همچنین افزایش در بیان پروتئین مؤلفه‌های مسیر پیام رسان PI3K/Akt/eNOS در گروه‌های تمرینی مشاهده شد. این مطالعه نشان داد تمرین هوازی، باعث افزایش بیان mir126 می‌شود و این امر می‌تواند با آنژیوژنز قلبی ناشی از فعالیت ورزشی از راه تنظیم غیرمستقیم مسیر VEGF و تنظیم مستقیم اهداف آن که با افزایش در مسیرهای آنژیوژنز مانند MAPK, PI3K/Akt/eNOS هم‌گرا می‌شود، مرتبط باشد (۱۹).

همچنین، یافته‌های مطالعه حاضر افزایش معنی‌دار میزان بیان پروتئین eNOS را پس از ۸ هفته تمرین استقامتی در گروه تمرین دیابتی نشان داد. یافته‌های مطالعه حاضر هم راستا با مطالعه هوبن و همکاران (۲۰۰۴)، لافلین و همکاران (۲۰۰۱)، لیود و همکاران (۲۰۰۵) و ناتان و همکاران (۲۰۱۲) می‌باشد. هوبن و همکاران (۲۰۰۴)، عنوان کردند که فشارهای مکانیکی تولیدی ناشی از

عضلات باعث تحریک آزادسازی NO و افزایش eNOS می‌شود و متعاقب آن تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که NO در فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ VEGF نقش کلیدی ایفا می‌کند (۲۸). لافلین و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند، فعالیت‌های ورزشی بلندمدت، eNOS را افزایش می‌دهد و باعث بهبود آمادگی قلبی-عروقی می‌شود (۲۹). لیود و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند، تمرینات ورزشی استقامتی میزان mRNA و پروتئین eNOS را افزایش می‌دهد (۳۰).

در تناقض با مطالعه حاضر، شکرچی زاده و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه‌ای که با عنوان "اثر تمرینات مقاومتی بر مقدار پلاسمایی نیتریک اکساید، عامل رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده نوع یک آن در رت‌های نرمال" انجام دادند نشان داده شد، میزان پلاسمایی NO, VEGF و VEGFR1 در گروه تمرین با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است. در نتیجه محققان گفته‌اند تمرینات مقاومتی اثری بر مقدار پلاسمایی عوامل مؤثر بر آنژیوژنز حداقل در حیوانات سالم نداشته باشند که دلایلی مانند زمان تمرین، شدت آن و همچنین زمان نمونه‌گیری می‌توانند بر نتایج مؤثر باشند (۱۳). به گونه‌ای که در مطالعه شکرچی زاده و همکاران، ۴ هفته تمرین مقاومتی مورد استفاده قرار گرفته است، در حالی که در پژوهش حاضر، ۸ هفته تمرین استقامتی به کار گرفته شده است. دسته و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای که به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر روی رت‌های سالم و دیابتی می‌پرداخت، گزارش کردند که تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش بیان mir126 و پروتئین‌های raf1 و VEGF در موش‌های سالم می‌شود ولی این افزایش در موش‌های دیابتی معنی‌دار نیست (۳۱). مهرو و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود عنوان کردند، دیابتی‌هایی که به فعالیت ورزشی می‌پردازند، عوامل بازدارنده رگ زایی کنترل شده و عوامل پیش برنده رگ زایی تقویت می‌شود. در این پژوهش که باهدف بررسی تغییرات عوامل تحریکی رگ‌زایی ناشی از تمرین مقاومتی فزاینده در رت‌های دیابتی انجام شد، تعداد ۲۴ سر رت نر و بیستار با همگن سازی بر اساس وزن به دو گروه کنترل و تمرین تقسیم شدند. نتایج این تحقیق نشان داد، هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معنی‌دار VEGF و NO سرم رت‌های نر دیابتی نشده است بلکه موجب کاهش معنی‌دار قند خون گردیده است، اگرچه میزان انسولین خون بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. به نظر می‌رسد تمرینات مقاومتی علیرغم بهتر شدن مقادیر گلوکز، تأثیر مثبتی بر عوامل تحریکی رگ‌زایی در رت‌های دیابتی ندارد. این محققین علت تفاوت در نتایج مطالعه خود با دیگر پژوهش‌ها را در نوع آزمودنی‌های مورد مطالعه عنوان کردند زیرا، آزمودنی‌های این پژوهش، رت‌های دیابتی بودند و دیابت باعث التهاب در بدن رت

می‌شود و فعالیت ورزشی مقاومتی برای مقابله با این التهاب اثر بخش بوده است، و از طرفی با توجه به اینکه دوره تمرین هشت هفته بوده است، به نظر می‌رسد شدت التهاب ایجاد شده در رت‌ها زیاد بوده و تمرین مقاومتی تنها توانسته با کاهش عوامل رگزایی مقابله کند و افزایش معناداری در این مقادیر در گروه تمرین دیده نشد (۱۸). به نظر می‌رسد رابطه‌ای دو طرفه بین eNOS و VEGF در فرایند رگ‌زایی وجود دارد (۳۲). پژوهش‌ها نشان داده‌اند در افراد دیابتی و در مدل‌های حیوانی دیابتی، رگ‌گشایی ناشی از NO کاهش می‌یابد. این کاهش شل شدن عروق را ناشی از کاهش تولید NO در اثر افزایش گلوکز و به دلیل افزایش گونه‌های اکسیژن‌واکنش دهنده می‌دانند. به دلیل این که NO تولیدی ناشی از eNOS در تنظیم فشار خون و جریان خون بافت‌ها نقش اساسی دارد، کاهش فعالیت eNOS می‌تواند در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های قلبی عروقی مانند آترواسکلروزیس، فشار خون، کاهش رگ‌زایی و آسیب‌های میکروواسکولار نقش داشته باشد (۳۳).

یافته دیگر مطالعه حاضر نشان داد، میزان تراکم مویرگی بافت قلبی در گروه تمرین دیابتی پس از ۸ هفته تمرین هوازی افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. اباسی برای نخستین بار اعلام نمود که دیابت ملیتوس باعث کاهش معنی‌داری در رشد و توسعه‌ی عروق جانبی کرونر قلبی می‌شود (۷). نتیجه کار پژوهشی چو و همکاران (۲۰۰۲) که بر روی رت‌های مبتلا به دیابت انجام شده بود، نیز نشان داد که بیان فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF) که یک بیومارکر کلیدی در فرآیند آنژیوژنز است در عضله میوکارد این حیوانات در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشت (۲۶). اثر تمرینات استقامتی بر تراکم مویرگی در مطالعات بسیاری بررسی شده که تغییرات آن در حیوانات و افراد دیابتی با نتایج متفاوت (کاهش یا افزایش میزان تراکم مویرگی) گزارش شده است (۳۴). موافق با نتایج پژوهش حاضر، فرامرزی و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای که به بررسی تأثیر دو نوع تمرین اینتروال با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط بر بافت قلبی و عوامل آنژیوژنیک آن در موش‌های دیابتی پرداخته‌اند، بیان شده است که تمرین از طریق افزایش فاکتورهای پرو آنژیوژنیک و کاهش عوامل آنتی‌آنژیوژنیک، باعث افزایش چگالی مویرگی و کاهش فیبروزی شدن بافت بطن چپ این حیوانات می‌شود (۳۵). مطالعه ایمیتسو و همکاران نیز نشان داد که تمرین هوازی شنا به مدت ۸ هفته، باعث افزایش دانسیته مویرگی عضله قلبی در رت‌های مسن می‌شود. همچنین اثرات یک برنامه تمرینی استقامتی بر تراکم مویرگی بررسی شده که نتایج آن نشان داد، تراکم مویرگی به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است (۲۷) که نتایج به دست آمده،

همسو با نتایج مطالعه حاضر است. همسویی نتایج مطالعات مذکور با مطالعه حاضر، احتمالاً ناشی از کافی بودن شدت و مدت تمرین بوده که برنامه تمرینی استفاده شده توانسته است، کشش مورد نیاز و تنش برشی را برای تولید رگ ایجاد کند که احتمالاً می‌تواند در افزایش تعداد سلول‌های اندوتلیال نیز مؤثر واقع شده باشد. مطالعات انجام گرفته بر روی انسان نیز حاکی از آن است که تمرین مقاومتی (سه بار در هفته؛ سه ست با ۱۰ تکرار بیشینه) توانسته است، باعث ایجاد رگ‌زایی شود. در مقابل، نتایج مطالعات لیود (۳۶) و شکرچی زاده و همکاران (۱۳) نشان داد که یک جلسه تمرین یک ساعته بر روی نوارگردان با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه و شیب ۱۰ درصد، نتوانست میزان آنژیوژنز را افزایش دهد. آن‌ها پیشنهاد کردند که تکرار دوره‌ای تمرین در طی هفته‌های بیشتر، می‌تواند تراکم مویرگی را در عضله اسکلتی بالا ببرد. این محققین عدم تغییر در تراکم مویرگی و نسبت آن به فیبر را کافی نبودن مدت زمان و شدت تمرین پیش بینی کردند، که این نتایج با یافته‌های پژوهش ما در تضاد است. برنامه تمرینی استفاده شده در مطالعه حاضر (با شدت بالا) توانسته است، بافت عضله قلبی موش‌های دیابتی را تحت تأثیر قرار داده و تراکم مویرگی را افزایش دهد که دلیل این تغییرات می‌تواند ناشی از عدم تعادل بین تحریک کننده‌ها و بازدارنده‌های آنژیوژنز (تنظیم مثبت فاکتورهای آنژیوژنیک) در اثر تمرین باشد. در مطالعه جنسون و همکاران (۲۰۰۴)، نتایج نشانگر این بود که تمرین استقامتی تراکم مویرگی را در طول چهار هفته افزایش می‌دهد در حالی که هیچ افزایشی پس از هفت هفته تمرین مشاهده نشد (۳۷). این نتایج نیز با یافته‌های مطالعه حاضر متناقض است. به نظر می‌رسد شدت بالاتر تمرین در مطالعه حاضر، دلیل احتمالی تفاوت با مطالعه جنسون و همکارانش باشد. از علل احتمالی مطرح شده در توجیه افزایش تراکم مویرگی در اثر تمرین استقامتی در حیوانات دیابتی، می‌توان به افزایش بیان فاکتورهای آنژیوژنیک از قبیل VEGF و تغییرات در تعادل فاکتورهای رشد (افزایش نسبت فاکتورهای پرو آنژیوژنیک به آنتی آنژیوژنیک) اشاره کرد (۳۸).

در مطالعات پژوهشی، می‌تواند محدودیت‌هایی وجود داشته باشد که بر یافته‌های تحقیق اثرگذار باشد. در این کار پژوهشی، محدودیت‌هایی وجود داشت که برخی از آن‌ها از جمله جنس، سن، نژاد رت‌ها، نوع تمرین، مدل دیابتی تحت کنترل در آمد ولی دمای محیط نگهداری حیوانات که در مدت اجرای پروتکل تمرینی، سعی بر ثابت نگه داشتن دمای ۲۲ درجه بود، لیکن این متغیر در دامنه ۲۰ - ۲۴ نوسان داشت. همچنین، ترکیب غذای استفاده شده برای گروه‌های سالم از نظر مقادیر مواد معدنی و ویتامینی توسط موسسه‌ی تهیه کننده‌ی غذا دارای تغییراتی بود.



برای بهبود پرفیوژن قلب مورد استفاده قرار گیرد. یافته‌های به دست آمده، دانش ما را در مورد سازو کارهای آنژیوژنز در دیابت و تمرین هوازی افزایش داده و نشان می‌دهد VEGF و مسیر مرتبط با آن (PI3K/Akt/eNOS) یک هدف درمانی احتمالی برای شرایط پاتولوژیکی درگیر در آنژیوژنز می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

از همه کسانی که ما را در انجام پژوهش حاضر یاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد ۸ هفته تمرین هوازی، می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار میزان بیان پروتئین‌های eNOS و AKT و تراکم مویرگی بافت قلبی موش‌های صحرایی دیابتی شود. بنابراین، به نظر می‌رسد تمرین هوازی می‌تواند از طریق مسیر VEGF/ mir126/PI3KR2 باعث بهبود بیماران دیابتی گردد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر که نشان‌دهنده توسعه آنژیوژنز توسط تمرین هوازی در شرایط دیابتی می‌باشد، می‌توان بیان کرد تمرین هوازی می‌تواند به‌عنوان یک درمان غیر دارویی

### References:

- Raffort J, Hinault C, Dumortier O, Obberghen EV. Circulating microRNAs and diabetes: potential applications in medical practice. *Diabetologia* 2015; 58:1978-92.
- Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diab Res Clin Prac* 2011; 94:311-21.
- Kanharidis P, Wang B, Carew RM, Lan HY. Diabetes Complications: The MicroRNA Perspective. *DIABETES* 2011; 60: 1832-7.
- 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* 2011; 29(134).
- Boodhwani M, Sodha NR, Mieno S, Xu SH, Feng J, Ramlawi B, et al. Functional, cellular, and molecular characterization of the angiogenic response to chronic myocardial ischemia in diabetes. *Circulation* 2007; 116(11 Suppl): I31-7.
- 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.
- 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):2239-42.
- 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):2784-90.
- 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. *Circ Res* 2007; 101(9): 948-56.
- Khazaei M, Fallahzadeh A, Sharifi M, Afsharmoghaddam N, HaghjooJavanmardSh, Salehi E. Effects of diabetes on myocardial capillary density and serum biomarkers of angiogenesis in male rats. *CLINICS* 2011; 66(8):1419-24.
- 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.
- Fernandes T, Magalhães FC, Roque FR, Phillips MI, Oliveira EM. Exercise Training Prevents the Microvascular Rarefaction in Hypertension Balancing Angiogenic and Apoptotic Factors Role of MicroRNAs-16, -21, and -126. *Hypertension* 2012;59(2):513-20.
- 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: 65-73.
14. Shafiee A, Kordi MR, Gaeini AA, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mrna in soleus muscle healthy male rats. *J Arak Univ Med Sci* 2014; 17(84): 26-34.
  15. Gharbi S, Tavassoli M, Faghihi M. Association of Phosphatidylinositol 3-Kinases Mutations and Mtastasis in Isfahanian Breast Cancer Patients. *Journal of Isfahan University (Basic Sciences)* 2008; 2(31): 2-14.
  16. Roviezzo F, Cuzzocrea S, Lorenzo A Di, Brancaleone V, Mazzon E, Paola R Di, et al. Protective role of PI3-kinase-Akt-eNOS signalling pathway in intestinal injury associated with splanchnic artery occlusion shock. *Br J Pharmacol* 2007; 151: 377-83.
  17. Nourshahi M, Taheri chadorneshin H, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical. *Quarterly of the Horizon of Medical Sciences* 2013; 18(5): 286-296.
  18. Mahrouq M, Gaeini A, Javidi M, Chobbineh S. Changes in stimulating factors of angiogenesis, induced by progressive Resistance training in diabetic rats. *Int J Diabetes Metab* 2014; 14(1).
  19. DA Silva Junior ND, Fernandes T, Soci UP, Monteiro AWA, Phillips MI, Oliveira EM. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA-126 expression and angiogenesis. *Med Sci Sports Exerc* 2012; 44(8):1453-62.
  20. 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. *Iran J Diabetes Lipid Disord* 2012; 11: 223-36.
  21. 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. *J Appl Physiol* 2005; 98(3):804-9.
  22. Osborn BA, Daar JT, Laddaga RA, Romano FD, Paulson DJ. Exercise training increases sarcolemmal GLUT-4 protein and mRNA content in diabetic heart. *J Appl Physiol* 1997; 82:828-34.
  23. Leosco D, Rengo G, Iaccarino G, Golino L, Marchese M, Fortunato F, et al. exercise promotes angiogenesis and improves b-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. *Cardiovasc Res* 2008; 78(2):385-94.
  24. Waltenberger J. Impaired collateral vessel development in diabetes: potential cellular mechanisms and therapeutic implications. *Cardiovasc Res* 2001; 49(3):554-60.
  25. Sasso FC, Torella D, Carbonara O, Ellison GM, Torella M, Scardone M, et al. Increased vascular endothelial growth factor expression but impaired vascular endothelial growth factor receptor signaling in the myocardium of type 2 diabetic patients with chronic coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(5):827-34.
  26. 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):373-9.
  27. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauch T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H1290-8.
  28. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev* 2004; 56(4):549-80.
  29. Laughlin MH, Pollock JS, Amann JF, Hollis ML, Woodman CR, Price EM. Training induces nonuniform increases in eNOS content along the coronary arterial tree. *J Appl Physiol* 2001; 90(2): 501-10.

30. Lloyd PG, Prior BM, Li H, Yang HT, Terjung RL. VEGF receptor antagonism blocks arteriogenesis, but only partially inhibits angiogenesis, in skeletal muscle of exercise-trained rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288 (2): 759-68.
31. Dastaha S, Tofighi A, Tolouei Azar J, Alivand M. Aerobic exercise leads to upregulation of Mir-126 and angiogenic signaling in the heart tissue of diabetic rats. *Gene Reports* 2020; 21(2):100914.
32. Kimura H. Reciprocal regulation between nitric oxide and vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Biochim Pol* 2003; 50(1):49-59.
33. Snowling NJ, Hopkins WG. Effects of Different Modes of Exercise Training on Glucose Control and Risk Factors for Complications in Type 2 Diabetic Patients a meta-analysis. *Diabetes care* 2006; 29(11):2518-27.
34. Prior BM, Yang H, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol* 2004; 97: 1119-28.
35. Yazdani F, Shahidi F, Karimi P. The effect of 8 weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on cardiac angiogenesis factor in diabetic male rats. *J Physiol Biochem* 2020; 76: 291-299.
36. Lloyd PG, Yang HT, Terjung RL. Arteriogenesis and angiogenesis in rat ischemic hindlimb: role of nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: 2528-38.
37. 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: 571-82.
38. Salehi E, Amjadi F, Khazaei M. Angiogenesis in health and disease: role of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Journal of Isfahan Medical School* 2011; 29: 312-26.

## THE EFFECT OF AEROBIC TRAINING ON MUSCLE ANGIOGENESIS AND DOWNSTREAM FACTORS OF PI3KR2 PATHWAY IN CARDIAC TISSUE OF DIABETIC RATS

*Mirhojjat Mousavi Nezhad<sup>1</sup>*

*Received: 03 January, 2021; Accepted: 24 January, 2022*

### Abstract

**Background & Aims:** Regarding the effect of diabetes on vascularization processes, the beneficial effects of aerobic exercise on the cardiovascular system have been proven. This study aimed to determine the effect of aerobic exercise on muscle angiogenesis and downstream factors of the PI3KR2 pathway in cardiac tissue of diabetic rats.

**Materials & Methods:** Twenty diabetic male Wistar rats (mean weight, 191.9±10.85) were divided into two groups of control (n=10) and training (n=10) and the groups were matched based on weight. 48 hours after the last training session, cardiac tissue samples were taken after an overnight fast. Immunohistochemistry (alkaline phosphatase activity) was used to measure the cardiac muscle capillary density. Also, AKT and eNOS proteins were measured by ELISA method.

**Results:** Independent t-test showed that 8-week aerobic training significantly increased the capillary density (p=0.018) and also caused a significant increase in the expression of AKT and eNOS proteins as compared to control group (p=0.001).

**Conclusion:** The results of this study indicated the development of angiogenesis by aerobic exercise in diabetic conditions. According to the results of this study, it can be expressed that aerobic exercise can be used as a non-drug treatment to improve heart perfusion in diabetic patients.

**Keywords:** Aerobic exercise, Angiogenesis, Downstream PI3KR2, Type 2 diabetes

**Address:** Islamic Azad University - Khoy Branch, Khoy, West Azarbaijan, Iran

**Tel:** +989149642132

**Email:** mhmousavi@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(9): 659 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2021 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

<sup>1</sup> Department of Sports science, Khoy Branch, Islamic Azad University, Khoy, Iran (Corresponding Author)