

اثر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ (ANGPT-1) و وضعیت اکسیدانی (TOS) بافت قلب در موش‌های صحرایی دیابتی

حجت اله شهاوند^۱، صدیقه حسین پور دلاور^{۲*}، ناصر بهپور^۳، حسن صفی خانی^۴، معصومه عزیزی^۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

۴- استادیار، گروه حرکات اصلاحی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۵- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران

یافته / دوره ۲۲ / شماره ۴ / زمستان ۹۹ / مسلسل ۸۶

چکیده

دریافت مقاله: ۹۹/۸/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۹/۹/۱۹

مقدمه: بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس در معرض خطر افزایش آنتی‌اکسیدان و در دراز مدت ایجاد ضایعات عروقی می‌باشند. از این رو هدف از این مطالعه بررسی اثر یک دوره تمرین هوازی بر بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ (ANGPT-1) و وضعیت اکسیدانی (TOS) بافت قلب در موش‌های صحرایی دیابتی است.

مواد و روش‌ها: ۳۰ سر موش صحرایی نر به ۳ گروه ۱۰ تایی گروه دیابت تمرین، کنترل دیابت و سالم تقسیم شدند. حیوانات گروه‌های دیابتی از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. برنامه تمرینی ورزشی شامل ۶ هفته تمرین روی نوار گردان بود. پس از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرین برای بررسی اثر تمرین، نمونه‌های بافت قلب به منظور اندازه‌گیری بیان ژن ANGPT-1 و TOS استخراج گردید. برای مقایسه اختلاف معنادار بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه با سطح آماري $P < 0.05$ استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میزان بیان ژن ANGPT-1 و وضعیت تام اکسیدان در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه کنترل دیابت افزایش معنادار داشت ($P = 0.001$) و بین میزان بیان ژن ANGPT-1 بین دو گروه کنترل دیابت و سالم کنترل تفاوت معنادار وجود نداشت ($P = 0.397$).

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین استقامتی با اثر مثبت بر بیان ژن ANGPT-1 و بهبود وضعیت تام اکسیدان بافت قلب موش‌های دیابتی باعث بهبود قلب دیابتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، ANGPT-1، TOS، قلب، دیابت.

مقدمه

بعد از یک قرن پیشرفت پزشکی، مردم امروزه بیشتر از گذشته با دیابت درگیر هستند و روش‌های پیشگیری فعلی که تا حدودی با افزایش امید به زندگی همراه است بیش از پیش مد نظر محققان قرار گرفته است (۱). قرار گرفتن طولانی مدت در شرایط قندخون بالا به عنوان یکی از عمده‌ترین عوامل بروز دیابت شناخته شده است. این در حالی است که 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 دارد (۲،۳).

بدین ترتیب بیماران مبتلا به دیابت در معرض خطر فشار خون بالا، آتروژنز، بیماری عروق کرونری و انفارکتوس قلبی قرار می‌گیرند (۳). نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که دیابت باعث کاهش قطر مویرگ‌ها، کاهش نسبت مویرگ‌ها به فیبرها، کاهش ظرفیت انتشار مویرگ‌ها و افزایش فشار اکسایشی عضلات می‌شود (۴).

از آنجایی که فعالیت ورزشی، نقش مؤثری در سلامت جسمی و روانی از طریق کاهش یا تعدیل عوامل خطرزای سلامتی دارد، همواره مد نظر متخصصان بوده است، به طوری که انجمن دیابت آمریکا (ADA) انجام تمرینات منظم بدنی هوازی با شدت‌های متوسط یا زیاد را برای بیماران دیابتی توصیه کرده است (۵). متعاقب تمرینات ورزشی، سازگاری‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک عمده‌ای در بدن انسان رخ می‌دهد. از مهم‌ترین سازگاری‌ها اتساع عروقی و افزایش چگالی مویرگی و آنژیوژنز است که از طریق افزایش شیر استرس ناشی از افزایش جریان خون طی فعالیت بدنی اعمال می‌شود (۵).

به خوبی مشخص شده است که ورزش منظم، چندین مورد بیماری مانند فشار خون بالا و بیماری قلبی عروقی را پیشگیری و درمان می‌کند (۶). تشکیل مویرگ جدید و افزایش چگالی مویرگی یکی از مهم‌ترین تغییراتی است که

در طی فعالیت ورزشی روی می‌دهد و این امر در نهایت منجر به انتقال بهتر و بیشتر اکسیژن به تار عضلانی می‌گردد. این فرآیند متأثر از تعامل آنژیوژنیک و عوامل آنژیوژنتیک است. آنژیوپوئیتین-۱ (ANGPT-1) فرآیند آنژیوژن (Angiopoietin-1) اگرچه شروع‌کننده فرایند آنژیوژن نیست ولی تغییراتی در جهت باثبات‌سازی و بی‌ثبات‌سازی عروقی را موجب می‌گردد (۷) و از جمله عامل آنژیوژنیک اصلی است که باعث افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیال و سرعت رشد مجدد عروق در ناحیه انفارکتوس می‌شود (۸). مطالعه در زمینه اثر فعالیت بدنی بر این عامل بسیار محدود است و از جمله تحقیقات صورت گرفته مطالعه‌ای بود که در آن به بررسی اثر تمرین استقامتی بلند مدت و میان مدت بر سطوح ANGPT-1 قلب موش‌ها پرداخته شد و این نتیجه‌گیری شد که در بین گروه تمرینی بلند مدت و میان مدت، میزان بیان ژن ANGPT-1 تنها در گروه تمرینی میان مدت افزایش معناداری داشت (۹).

امروزه به نقش استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز ضایعات بیماری دیابت بیشتر توجه شده است (۱۰). هنگامی که تولیدات سیستم آنتی‌اکسیدانی در برابر گونه‌های اکسیژن فعال شده برابر و متعادل نباشند، استرس اکسیداتیوها بیشتر شده و آنها فعال‌تر می‌شوند و تحت چنین شرایطی گونه‌های اکسیژن فعال شده توانایی وارد کردن آسیب‌های مختلف بر چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک سلول‌ها را دارند (۱۱،۱۲). فقدان تعادل در این فرآیندها موجب استرس اکسیداتیو می‌شود که اگر این استرس شدید یا طولانی باشد، رادیکال‌های آزاد در واکنش با قسمت‌های مختلف سلولی و پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپید باعث آسیب به DNA حتی مرگ سلولی می‌شود. در نتیجه این فرایند باعث تسریع در پیدایش بیماری‌های مختلف از جمله سرطان و دیابت پیری می‌شود (۱۳). از آنجایی که ارزیابی مولکول‌های اکسیدانی مختلف عملی نیست و اثرات

استرپتوزوتوسین دیابتی شدند و ۶ هفته فعالیت ورزشی روی نوار گردان داشتند، ۲) گروه کنترل دیابت (Diabet control: DC) به تعداد ۱۰ سر موش صحرایی که از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) Streptozotocin دیابتی شده اما در برنامه تمرینی شرکت داده نشدند، ۳) گروه سالم کنترل (HC: Healthy control) شامل ۱۰ موش صحرایی که درگیر هیچ فعالیتی نبودند.

پس از گروه بندی حیوانات القای دیابت پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، در ۲۰ سر از حیوانات با یکبار تزریق درون صفاقی ۴۵ mg/kg محلول STZ Sigma, St. Louis MO, USA، تهیه شده در بافر سیترات تازه ۰/۵ مولار با pH=۴,۵ صورت پذیرفت و به حیوانات گروه DC نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق شد. شرط القای دیابت این بود که قند خون آنها بالاتر از ۴۸۰ mg/dl باشد. بدین ترتیب در گروه های DT و DC ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانس روی ورید دم موش های صحرایی، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتری اندازه گیری شد. موش های صحرایی که قند خون آنها بالاتر از مقدار از پیش تعیین شده بود، به عنوان موش های صحرایی دیابتی در مطالعه حاضر استفاده گردیدند.

۴۸ ساعت پس از این که مشخص شد موش ها دیابتی شده اند پروتکل ورزشی شروع گردید. تمرین استقامتی روی نوار گردان با شدت متوسط در تحقیق حاضر انجام گردید. به طوری که گروه های تمرین استقامتی روی نوار گردان برای ۵ جلسه در هفته و به مدت ۶ هفته تمرین کردند. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به تدریج افزایش یافت در حالی که شیب صفر در نظر گرفته شد. فرآیند افزایش سرعت و مدت تمرین بدین شرح بود: از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه

اکسیدانی آنها افزایشی است، ارزیابی وضعیت اکسیدانی تام (Total Oxidation Status: TOS) موجب صرفه جویی در وقت و هزینه می شود (۱۴). فعالیت ورزشی از طرفی با افزایش فشار اکسایشی احتمال تولید رادیکال های آزاد را افزایش می دهد اما از طرفی با افزایش القای عوامل آنتی اکسیدانی سبب کاهش استرس اکسایشی می گردد (۱۵). به عنوان مثال در مطالعه ای تأثیر دوازده ماه تمرینات نظارتی (شامل تمرینات هوازی، مقاومتی و انعطاف پذیری) را روی افراد دیابتی بررسی کردند. مشاهده گردید تمرینات نظارتی موجب بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و کاهش اکسیدان ها می شود (۱۶).

بنابراین از آنجایی که تمرین استقامتی منظم به منظور درمان نسبی بیماران دیابتی استفاده می شود و بافت عضله قلبی نیز با قرارگیری طولانی مدت در برابر یک محرک ویژه مانند کاهش تغذیه، فعالیت بدنی و غیره می تواند سازگاری پیدا کند، بررسی برخی از سازگاری های مرتبط با شرایط استرس اکسایشی با فعالیت ورزشی استقامتی منظم دو چندان می شود. بدین ترتیب با وجود مطالعات اندکی در زمینه سازگاری های فعالیت بدنی بر استرس اکسایشی بافت قلب دیابتی و نبود مطالعه ای در زمینه بررسی بیان ژن ANGPT-1 در بافت قلب دیابتی بنا به بررسی تحقیقات صورت گرفته، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ۶ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن ANGPT-1 و TOS بافت قلب در موش های صحرایی دیابتی بود.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر با کد کمیته اخلاق پژوهش بر حیوانات به شماره IR.KUMS.REC.1399.126 از نوع تجربی با طرح پس آزمون به همراه گروه کنترل است. در این پژوهش تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی به ۳ گروه مساوی ۱۰ تایی تقسیم شدند: ۱) گروه دیابت تمرین (DT: Diabet training) به تعداد ۱۰ سر موش صحرایی که از طریق تزریق درون صفاقی

نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ آنها بیش از ۱/۸ بود برای تشکیل دادن cDNA استفاده شدند. سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری AmpliSence صورت پذیرفت.

پرایمرهای تصادفی هگزامر در واکنش‌هایی با حجم ۲۰ μL مطابق دستورالعمل شرکت انجام شدند. به منظور تأیید بیان ژن مورد نظر، ابتدا واکنش روی بافت‌های مورد نظر انجام گردید و در صورت تأیید بیان ژن مورد نظر به منظور بررسی مقایسه‌ای بیان ژن‌ها از آزمون PCR در زمان حقیقی استفاده گردید.

برای طراحی پروب و پرایمر از نرم افزار Beacon designer TM7/01 استفاده شد. واکنش‌های PCR با استفاده از آنزیم Taq polymerase در واکنش‌هایی با حجم ۲۵ μL انجام شدند. نمونه cDNA بافت قلب به عنوان کنترل مثبت و یک نمونه واکنش فاقد cDNA به عنوان کنترل منفی در هر واکنش PCR در نظر گرفته شدند. به منظور مشاهده محصول PCR از ژل آگاروز ۲ درصد تهیه شده در محلول بافر TAE استفاده شد. برای ارزیابی تغییرات بیان ژن‌ها روش مقایسه‌ای $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ، دستگاه Mini Option Tm محصول شرکت بیوراد و کیت تجاری qPCR Probe Master Bioneer استفاده شدند. مقادیر بیان ژن‌های مورد نظر در مقایسه با بیان GAPDH در هر بافت با نرم افزار ژن ارزیابی و بر اساس رابطه $2^{-\Delta\Delta C_t}$ گزارش گردید.

تحلیل آماری

برای تحلیل داده‌ها به ترتیب از آزمون توصیفی و استنباطی استفاده گردید به صورتی که از آزمون شپروویک برای طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد و پس از به دست آمدن تجانس میانگین واریانس‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه با سطح معناداری $P < 0.05$ استفاده گردید.

برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۷-۱۸ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت (۱۷). برای رسیدن به سازگاری‌های به دست آمده در حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه‌داشته شدند.

قبل از شروع انجام پروتکل، در طول دوره تمرینی و پس از اتمام آن گلوکز از انتهای دم هر یک از حیوانات پس از ۱۲ ساعت ناشتا توسط گلوکومتر اندازه گرفته شد. با گذشت ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات توسط تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین و زایلازین بیهوش شدند و پس از آن تحت شرایط استریل بافت قلب آنها توسط متخصص آناتومی جدا شد و در دمای منفی 70°C نگهداری شدند. برای سنجش وضعیت TOS برای یکنواخت‌سازی، پس از جدا کردن بافت قلب و برش قسمتی از آن (بطن چپ)، بخش مد نظر در بافر لیزکننده به نسبت ۱۰ به ۱ قرار داده و با استفاده از هموژناز شیشه‌ای با ۱۰ ضربه روی یخ هموژنیز شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آن با کیت تجاری TOS شرکت Rel Diagnostic Assay ساخت کشور ترکیه با استفاده از روش فتومتریک انجام گردید. استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری TRIZOL و مطابق با روش ارائه شده توسط شرکت انجام شد. به منظور حذف DNA، تمام نمونه‌های RNA به مدت ۱ ساعت با آنزیم Dnase و مطابق روش ارائه شده توسط شرکت تیمار شدند. غلظت و میزان خلوص نمونه‌های RNA پس از قرائت جذب آنها در طول موج 260 nm و نیز محاسبه نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ با استفاده از اسپکتروفوتومتر بیوفتومتر (اپندورف، آلمان) تعیین گردید. نمونه‌هایی که

جدول ۱. توالی پرایمر ژن ANGPT-1

Genes	Forward	Reverse	bp	Accession No.
GAPDH	AGTTCAACGGCACAGTCAAG	TACTCAGCACCAGCATCACC	119	XM_017593963.1
ANGPT-1	CCTTATGCTAACAGGAGGTTGG	CTGGGTCCTTTGAAGTAGTGC	129	NM_053546

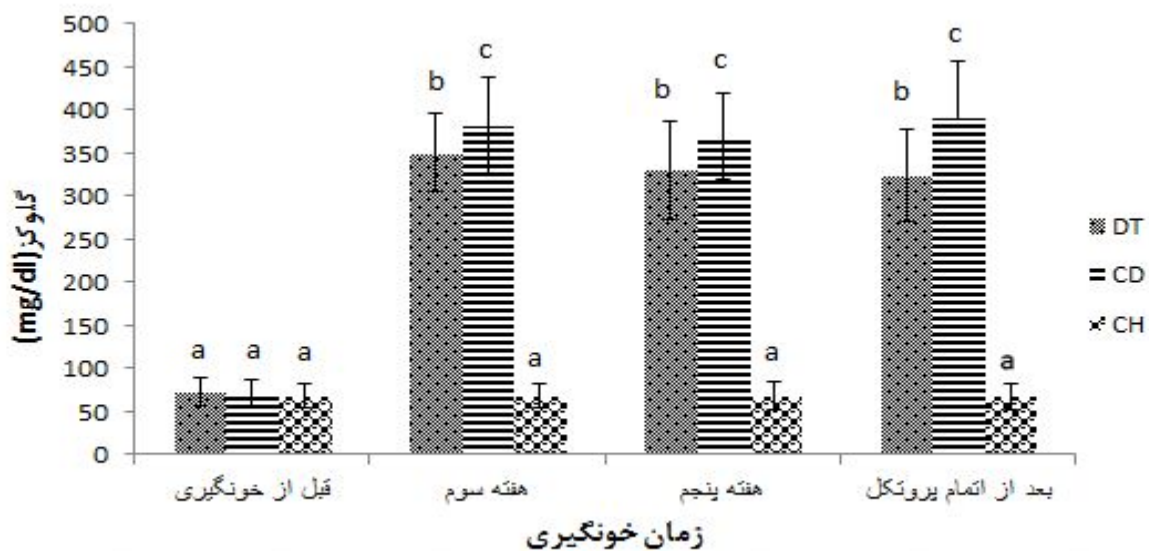
یافته‌ها

در شروع برنامه تمرینی سطح گلوکز خون به صورت معناداری پس از القای دیابت توسط سترپتوزوتو سین در موش‌های گروه‌های دیابتی افزایش یافت و پس از ۶ هفته تمرین استقامتی در مقایسه با گروه سالم همچنان اختلاف معناداری داشت ($P < 0.001$) و این افزایش گلوکز در طول دوره تمرینی نیز ادامه داشت، اما باید بیان نمود که در پایان برنامه تمرینی، غلظت گلوکز خون گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه کنترل دیابت به صورت معناداری پایین‌تر بود (نمودار ۱).

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل بافت قلب در جدول ۲ و ۳ نشان داده شده است. در جدول ۲ میانگین و انحراف استاندارد مقادیر ANGPT-1 و TOS به نمایش

گذاشته شده است و آزمون لون نشان داد که تجانس واریانس بین گروه‌ها برقرار بوده است. نتایج آزمون تعقیبی LSD (جدول ۳) نشان داد که پس از ۶ هفته تمرین استقامتی، میزان بیان ژن ANGPT-1 در گروه دیابت تمرین نسبت به کنترل دیابت و سالم کنترل افزایش معناداری ($P = 0.001$) داشت و بین میزان بیان ژن گروه کنترل دیابت و گروه سالم کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت ($P = 0.397$).

نتایج نشان داد که میزان TOS در گروه دیابت تمرین کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت داشت ($P = 0.001$). در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه کنترل نیز کاهش معناداری وجود داشت ($P = 0.016$). نمودارهای ۲ و ۳ این تغییرات را به صورت آشکار نشان می‌دهند.



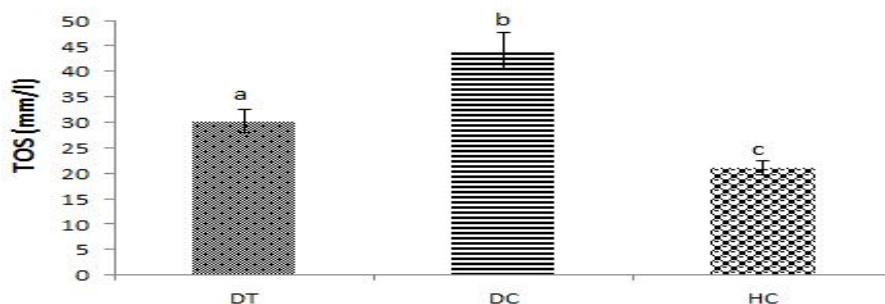
نمودار ۱: سطح سرمی گلوکز ناشتا (Mean \pm SEM) در موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف
a, b, c بیانگر وجود اختلاف آماری معنادار در بین گروه‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

جدول ۲. نتایج آزمون توصیفی برای بیان ژن ANGPT-1 و سطح TOS

فاکتورها	گروهها	میانگین	انحراف استاندارد	آزمون لون P
ANGPT-1	تمرین دیابت	۱/۰۷	۰/۰۴	۰/۹۷۱
	کنترل دیابت	۰/۸۹	۰/۰۲	
	سالم کنترل	۰/۹۲	۰/۰۱	
TOS	تمرین دیابت	۳۰/۲۹	۲/۲۱	۰/۰۸۲
	کنترل دیابت	۴۳/۹۰	۳/۶۶	
	سالم کنترل	۲۱/۱۰	۱/۳۶	

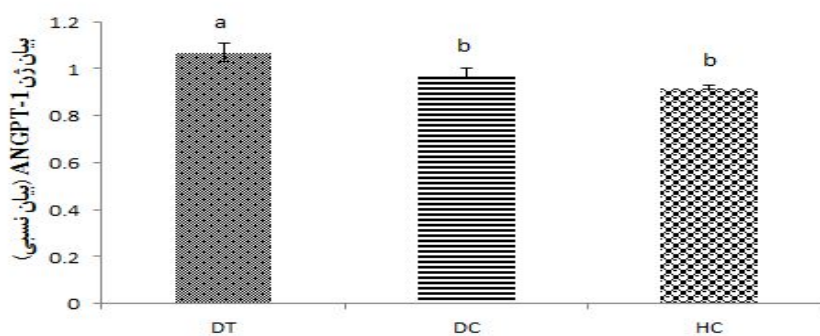
جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی شفه برای ژن ANGPT-1 و سطح TOS

آزمون تعقیبی TOS		آزمون تعقیبی ANGPT-1		تحلیل واریانس یک راهه	
P	گروهها	P	گروهها	P	فاکتورها
#۰/۰۰۰	DC	HC	۰/۳۹۷	DC	HC
#۰/۰۱۶	DT		#۰/۰۰۱	DT	۰/۰۰۱
#۰/۰۰۰	HC	CD	۰/۳۹۷	HC	DC
#۰/۰۰۱	DT		#۰/۰۰۱	DT	
#۰/۰۱۶	HC	DT	#۰/۰۰۱	HC	DT
#۰/۰۰۱	DC		#۰/۰۰۱	DC	۰/۰۰۱



نمودار ۲. Mean±SEM میزان TOS بافت قلب پس از شش هفته تمرین استقامتی بر اساس آزمون تحلیل واریانس یک راهه در موش‌های گروه‌های مختلف. حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنادار در بین گروه‌ها می باشد ($P < 0.05$).

DT: دیابت تمرین، DC: کنترل دیابت و HC: سالم کنترل



نمودار ۳. Mean±SEM بیان ژن ANGPT-1 بافت قلب پس از شش هفته تمرین استقامتی بر اساس آزمون تحلیل واریانس یک راهه در موش‌های گروه‌های مختلف. حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنادار در بین گروه‌ها می باشد ($P < 0.05$).

DT: دیابت تمرین، DC: کنترل دیابت و HC: سالم کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

دیابت عوارض عمده‌ای در اغلب ارگان‌های بدن ایجاد کرده، باعث بروز عوارض زودرس و یا دیررس بیمه - ماری می‌شود - که به - دنب - سال آن موجب ناتوانی، از کار افتادگی، هزینه‌های بالای درمانی و مرگ و میر می‌شود (۱۸). تحقیقات نشان داده‌اند که عضله قلب متناسب با نوع محرک ارائه شده توسط فعالیت بدنی استقامتی یا قدرتی به‌طور ساختاری و به نحو کارآمدی سازگار می‌شود (۱۹). به طوری که فعالیت بدنی منجر به تغییرات بافتی در سطح بیان ژن (۲۰) از جمله تغییر در میزان بیوژنز میتوکندرایی و زنجیره میوزین MHC عضله قلب می‌شود (۲۱، ۲۲).

در مطالعه حاضر به بررسی اثر ۶ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن ANGPT-1 و TOS بافت قلب در موش‌های صحرایی دیابتی پرداخته شد. بنابر نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر ۶ هفته تمرین استقامتی موجب کاهش معنادار غلظت گلوکز خون در گروه تمرین دیابتی شد. نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهند که ورزش برای کاهش سطح گلوکز پلاسما در طول ورزش و پس از آن مفید واقع می‌شود. همچنین نشان داده شده است که ورزش حساسیت انسولینی را افزایش می‌دهد (۲۲).

در برخی مطالعات بیان شده است که کاهش گلوکز خون پس از فعالیت ورزشی ریشه در بهتر شدن عملکرد انسولینی و بهبود پاسخ سلول‌ها به انسولین دارد. بنابراین افزایش برداشت گلوکز ناشی از فعالیت ورزشی ممکن است ریشه در افزایش بیان GLU4-4 و IRS-1 در فعالیت ورزشی داشته باشد (۲۳).

تمرینات بدنی منظم و مستمر، موجب ایجاد سازوکارهای مفیدی در عملکرد قلب می‌شود و در آماده‌سازی سلول‌ها برای مقابله با سطوح بالاتر استرس اکسیداتیو و بیماری‌های مرتبط با این ارگان نقش دارد که از جمله این تمرینات، تمرین استقامتی است (۲۵). به

دنبال روند تحقیقاتی، محققان تمایل زیادی به آشکار شدن نتیجه تمرینات استقامتی برای روشن ساختن الگوی تغییر مولکولی بازسازی بافت قلب پس انجام تمرین نشان داده‌اند. از جمله شاخص‌های اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر میزان بیان ژن ANGPT-1 بود. این فاکتور نیز میتوزن مخصوص سلول آندوتلیال می‌باشد زیرا گیرنده آن تنها بر سلول‌های آندوتلیال وجود دارد (۲۶).

بر اساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر این‌گونه مشاهده گردید که دیابت تأثیری بر میزان بیان ژن آن ندارد چنانچه بین بیان آن در گروه سالم کنترل و کنترل دیابت تفاوت معناداری وجود نداشت. اما تمرین استقامتی اثر مثبتی بر میزان بیان ژن آن داشت و باعث افزایش بیان ژن آن در بافت قلب گردید. هر چند در مورد فاکتور مذکور تحقیقات اندکی صورت گرفته است و تحقیقاتی هم که صورت گرفته با یکدیگر در تضاد هستند. چنان که در مطالعه‌هایی بیان شده است که ورزش و فعالیت بدنی بر بیان ژن این آنزیم اثر ندارد (۲۷، ۲۸) در حالی که در مطالعه دیگر افزایش بیان آن پس از یک دوره تمرین استقامتی مشاهده گردید. در پژوهشی، ۶ هفته رکاب زدن با شدت بالا موجب افزایش بیان ژن ANGPT-1 در آزمودنی‌هایی که اکسیژن مصرفی آنها افزایش یافته بود، شد (۲۹) که با نتیجه مطالعه حاضر هم‌سواست یا حتی در پژوهش دیگر این‌گونه بیان گردید که در پاسخ واسطه‌های آنژیوژنیک پلاسمایی به تمرین هوازی و عصاره آبی سیاه ولیک در رت‌های نر، غلظت ANGPT-1 پلاسما در گروه‌های تمرین، سیاه ولیک و ترکیب عصاره سیاه ولیک-تمرین کاهش داشت (۳۰). در واقع این‌گونه مطرح شده است که در عضلات اکسیداتیو آهسته در مقایسه با عضلات گلیکولیتیک، نسبت ANGPT-1 به ANGPT-2 سریع‌التر است که مبین عروقی شدن بیشتر این تارهای عضلانی و نیاز بالاتر به اکسیژن در این نوع تارها است (۳۱). چنانچه بیان شده است نسبت بالای ANGPT-1 به

ANGPT-2 باعث تسهیل جوانه زدن و شروع فرآیند آنژیوژنز می‌شود (۲۸،۲۷).

تغییرات ساختاری و عملکردی قلبی در مراحل بعدی دیابت رخ می‌دهد و این تغییرات رخ داده مزمن از پاسخ‌های قلبی حاد به افزایش ناگهانی سطوح گلوکز در مراحل اولیه دیابت منجر گردیده، به علاوه افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی در قلب دیابتی و استرس اکسیداتیو ناشی از آن باعث تغییر یافتن میوکارد و در نتیجه آپوپتوز و هایپرتروفی قلبی در شرایط بیماری دیابت می‌گردد (۳۲). بدین ترتیب از شاخص‌های دیگر اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر بررسی TOS بود که شاهد تأثیر معنادار تمرین بر سطوح آن در بافت قلب دیابتی بودیم.

این افزایش در TOS ممکن است ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش عوامل مرتبط با استرس اکسیداتیو باشد (۳۲). به علاوه مشخص گردید که بیماری دیابت بر TOS اثر منفی دارد و در گروه کنترل دیابت شاهد کاهش معنادار آن بودیم. از جمله دلایل افزایش استرس اکسیداتیو می‌توان به مسیر فعال‌سازی پپنه‌آل، افزایش نسبت $NADH/NAD^+$ درون سلولی و اختلال در متابولیسم نیتریک اکساید در شرایط بیماری دیابت اشاره نمود (۳۳) که با بالا رفتن شاخص‌های مذکور شاهد افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام خواهیم بود.

همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌توان به پژوهش صورت گرفته Kangralkar و همکاران اشاره نمود که بیان نمودند پس از ۸ هفته تمرین استقامتی روی نوار گردان وضعیت تام اکسیدانی در گروه تمرین دیابتی کاهش پیدا نمود (۳۴) که نشان‌دهنده نوعی سازگاری با استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش در شرایط دیابت است. در مطالعه دیگری نیز هم‌راستا با نتیجه تحقیق حاضر به بررسی اثر شش

هفته تمرین شنا بر وضعیت اکسیدانی بافت قلب موش‌های دیابتی پرداخته شد (۳۵) و نتایج نشان‌دهنده بهبود TOS در بافت قلب دیابتی بود. این گونه به نظر می‌رسد که تمرین استقامتی با شدت متوسط اثر مثبتی بر TOS بافت قلب دیابتی دارد.

از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم بررسی سایر عوامل مرتبط با آنژیوژنز و عوامل مرتبط با وضعیت آنتی‌اکسیدانی بود و از آنجایی که در زمینه اثر فعالیت‌های مختلف بدنی بر میزان بیان ژن ANGPT-1 تحقیقات محدود به نظر می‌رسد پیشنهاد می‌گردد که محققین به بررسی میزان تغییرات آن در پی تمرینات ورزشی بپردازند. در کل بر اساس نتایج پژوهش حاضر این گونه به نظر می‌رسد که که بیماری دیابت ظاهراً بر روند بیان ژن ANGPT-1 تأثیری منفی نداشت در حالی که باعث کاهش سطح TOS بافت قلب گردید علاوه بر این فعالیت بدنی با شدت متوسط اثر مثبت بر روند میزان بیان ژن ANGPT-1 و سطح TOS در بافت قلب دیابتی داشت.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دوره دکترای تخصصی دانشگاه آزاد واحد کرمانشاه می‌باشد. بدین وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از دوستان عزیز که در دانشگاه آزاد کرمانشاه ما را یاری رساندند اعلام می‌نماییم.

References

1. Wang C Y, Neil DL, Home P. Vision—An overview of prospects for diabetes management and prevention in the next decade. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2020; 143: 101-112.
2. 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 (3):311-321.
3. Kamishima K, Ogawa H, Jujo K, Yamaguchi J, Hagiwara N. Relationships between blood pressure lowering therapy and cardiovascular events in hypertensive patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus: The HIJ-CREATE sub-study. *DIABETES RES CLIN PR*. 2019; 149: 69-77.
4. Hayes KL. Pericytes in Type 2 Diabetes. In *Pericyte Biology in Disease*. Springer, Cham 2019; 265-278.
5. Moghetti P, Bacchi E, Donà S. Metabolic effect of breaks in sedentary time in subjects with type 2 diabetes. *Curr Opin Endocrinol and Diabetes* 2019; 1 (9):40-4.
6. Siddiqui NI, Nessa A, Hossain MA. Regular physical exercise: way to healthy life. *Mymensingh Med J*. 2010; 19:154-158.
7. Metheny- Barlow LJ, Lu Yuan LI. The enigmatic role of angiopoietin-1 in tumor angiogenesis. *Cell Res*.2003;13 (5):309-317.
8. Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K, Partanen J, Taipale J, Petrova TV, et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat Immunol*. 2004; 5(1):74-80.
9. Rosano JM, Cheheltani R, Wang B, Vora H, Kiani MF, CrabbeDL. Targeted delivery of VEGF after a myocardial infarction reduces collagen deposition and improves cardiac function. *Cardiovasc Eng Technol*. 2012; 3:237-247.
10. Ardakanizade M. The effects of mid-and long-term endurance exercise on heart angiogenesis and oxidative stress. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2018; Aug;21(8):800.
11. Jourkesh M, Sadri I, Kamyabnia M. The effects of a 4-week coffee berry supplementation on antioxidant status, endurance and anaerobic performance in college athletes. *Sport Sciences Quarterly Summer*. 2010; 2(4):67-85.
12. William D, Mc Ardle-Frank I. Katch. *Exercise Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott; 2007.p. 72-4.
13. Rami M, Habibi A, khajehlandi M. Effect of 6-weeks of endurance training on the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in the hippocampus of experimental diabetic male Wistar rats . *JSSU*. 2018; 26 (6):483-494.
14. Filaire E, Rouveix M, Massart A, Gladine C, Davicco MJ, Durand D. Lipid peroxidation and antioxidant status in rat: effect of food restriction and wheel running. *Eur Journal Of Appl Physiol*. 2009; 107(2): 243-250

15. Kazemzade y. Antioxidants and their adaptation to exercise. First Year. 3: 28-36 Kraus RM, Stallings HW, Yeager RC, Gavin TP. 2004. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J Appl Physiol*. 2005; 96(4):1445-1450.
16. Afrunde R, Khajehlandi M, Mohammadi R. comparison of the effect of 6 weeks aerobic training on the activity of catalase enzyme and malondialdehyde in heart tissue of healthy and streptozotocin-diabetic male Wistar rats. *Stud Med Sci*. 2019; 30 (5):337-346.
17. Chae CH, Jung SL, An SH, Jung CK, Nam SN, Kim HT (2011). Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. *Physiol Biochem*, 67(2): 235-241.
18. Vinetti G, Mozzini C, Desenzani P, Boni E, Bulla L, Lorenzetti I, et al. Supervised exercise training reduces oxidative stress and cardiometabolic risk in adults with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Scientific reports*. 2015; 5: 9238.
19. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2019 abridged for primary care providers. *Clinical Diabetes* (2019); 37(1):11-34.
20. Muhl C, Dassen W, Kuipers H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. *NETH HEART J*. 2008; 16(4):129-33. 8.
21. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, Sakai S, Kobayashi T, Fujii N, et al. Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat. *Am J Physiol Regul Integr*. 2001; 281(6):R2029-R36.
22. 9. Baldwin KM, Haddad F. Invited Review: Effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. *J Appl Physiol*. 2001; 90(1):345-357.
23. 10. O'Neill BT, Kim J, Wende AR, Theobald HA, Tuinei J, Buchanan J, et al. A conserved role for phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt signaling in mitochondrial adaptations that accompany physiological cardiac hypertrophy. *Cell metabolism* 2007; 6(4):294-306.
24. Chen Z, He Y, Song C, Dong Z, Su Z, Xue J. Sericin can reduce hippocampal neuronal apoptosis by activating the Akt signal transduction pathway in a rat model of diabetes mellitus. *Neural Regen. Res*. 2012; 7(3):197-201.
25. Hong-tao Y, Shu-gang L, Yong-cheng Z, editors. Exercise contribute to attenuation of inflammation and oxidative stress in adipose tissue of IR rats. *Proceedings of the 4th International Convention on Rehabilitation Engineering & Assistive Technology*; 2010: Singapore Therapeutic, Assistive & Rehabilitative Technologies (START) Centre.
26. Tofighi A, Babaea S, Rahmani F. The effect of long period of regular exercise on

- lipid profiles and svcam-1, sicam-1 changes in obese women. The Journal of Urmia University of Medical Sciences. 2013; 24(7):499-508.
27. Gavin TP, Drew JL, Kubik CJ, Pofah WE, Hickner RC. Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. *Acta Physiol (Oxf)*. 2007;191 (2):139-146.
 28. Gustafsson T, Rundqvist H, Norrbom J, Rullman E, Jansson E, Sundberg CJ. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2007;103(3):1012-1020.
 29. Timmons JA, Jansson E, Fischer H, Gustafsson T, Greenhaff PL, Ridgen J, et al. Modulation of extracellular matrix genes reflects the magnitude of physiological adaptation to aerobic exercise training in humans. *BMC Biol*. 2005;3:19.
 30. Metheny- Barlow LJ, Lu Yuan LI. The enigmatic role of angiopoietin-1 in tumor angiogenesis. *Cell Res*. 2003;13(5):309-317.
 31. 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):H1668-78.
 32. Kakkar R, Kalra J, Mantha SV, Prasad K. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 1995; 151(2): 113-119.
 33. Veysel Kenan Ç, Zeynep Deniz Ş, İsmail S, Sevtap B. Comparison of Oxidant/Antioxidant, Detoxification Systems in Various Tissue Homogenates and Mitochondria of Rats with Diabetes Induced by Streptozocin. *EXP DIABETES RES*. 2012; Article ID 386831: 5 pages.
 34. Gül M, Atalay M, Hänninen O. Endurance training and glutathione-dependent antioxidant defence mechanism in heart of the diabetic rats. *J of Sports Science and Medicine*. 2003; 2(2): 52-61.
 35. Kangralkar VA, D Patil S, Bandivadekar RM. Oxidative stress and diabetes: a review. *Inte J of Pharmacols Apps*. 2010; 1(1): 38-45.
 36. Shojaee M, Farzanegi P, Habibian M. [Effect of Regular Aerobic Training and Arbutin on Cardiac Total Oxidant and Antioxidant Status in Alloxan-Induced Diabetic Rat]. *Mljgoums*. 2015; 9(1): 76-83.

Effect of one course of aerobic exercise on the gene expression of angiotensin-converting enzyme 1 (ACE1) and cardiac tissue oxidative status (TOS) in diabetic rats

Shahavand H¹, Hosseinpour Delavar S^{2*}, Behpur N³, Safikhani H⁴, Azizi M⁵

1. Phd student, Department of Physical Education and Sport Science, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

2. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
delavar2009@yahoo.com

3. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Sport Science Faculty, Razi University, Kermanshah, Iran,

4. Assistant Professor, Department of Corrective Exercise, Kermanshah branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

5. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran

Received: 31 Oct 2020

Accepted: 19 Dec 2020

Abstract

Background: Patients with diabetes mellitus are at high risk of antioxidants and in long-term vascular lesions. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effect of one course of aerobic exercise on the gene expression of angiotensin-converting enzyme 1 (ACE1) and cardiac tissue oxidative status (TOS) in diabetic rats.

Materials and Methods: 30 male Wistar rats were divided into 3 groups (n= 10) diabetic training, diabetic control and healthy control groups. Animals in diabetic groups were diabetic by intraperitoneal injection of streptozotocin. The exercise program consisted of 6 weeks of treadmill training. 24 hours after the last training session to evaluate the effect of exercise, cardiac tissue samples were extracted to measure gene expression of ACE1 and total oxidative status. One-way ANOVA with statistical level (P<0.05) was used to compare the differences between groups.

Results: The results showed that gene expression of ACE1 and TOS were significantly increased in the diabetic training group compared to the diabetic control group (P= 0.001) but only in the ACE1 there were no significant differences (P= 0.001) between two groups of diabetic control and healthy control (P>0.05).

Conclusion: It seems that endurance training has a positive effect on the expression of ACE1 gene and improves the overall antioxidant status of the heart tissue of diabetic rats and improve the diabetic heart.

Keywords: Training, ACE1, TOS, Heart, Diabetes

***Citation:** Shahavand H, Hosseinpour Delavar S, Behpur N, Safikhani H, Azizi M. Effect of one course of aerobic exercise on the gene expression of angiotensin-converting enzyme 1 (ACE1) and cardiac tissue oxidative status (TOS) in diabetic rats. *Yafte*. 2021; 22(4):25-36.