Original Article

The effect of regular swim training with two different time periods on serum levels of NO, VEGF, and TGF-β1 in diabetic male rats

Parvin Farzanegi[1*]

1- Associated Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

**Corresponding Address: Postal Code: 4816119318, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran*
Email: Parvin.farzanegi@gmail .com

Received: 05/Feb/2017, Accepted: 19/Jun/2017

Abstract

Objective: Diabetes is known to accelerate endothelial cell dysfunction. Meanwhile, an adequate physical activity is recommended as a nonpharmacological treatment. Hence, the aim of the present study is to evaluate the effect of two different time periods of regular swimming exercise on serum levels of NO, VEGF, and TGF-β1 in diabetic male rats.

Methods: We randomly divided 28 male Wistar rats into ۴ groups of 7 rats per group - control, diabet, diabet-train 30, and diabet-train 60. Diabetes was induced using alloxan (90 mg/kg, intraperitoneal injection) in rats. The animals performed swimming training for 30 and 60 min for 5 weekly sessions, for a total of 8 weeks. The rats were killed 72 h after the last training session and was measured the levels of glucose, insulin, NO, VEGF, and TGF-β1. One-way ANOVA was used for statistical analysis ($p \leq 0.05$).

Results: Diabetes increased the levels of glucose, insulin and TGF-β1, whereas it significantly reduced NO and VEGF levels. After 8 weeks, 30 min- swimming training, causing reverse of health changes compared to diabetes ($p<0.05$). 60 min- training did not make significant change ($p>0.05$). But there were significant differences in the levels of glucose, NO, and TGF-β1 between the two groups that trained for 30 and 60 min.

Conclusion: It seems swimming training with enough time, which is sought for diabetic patients, can lead to a protective effect against cardiovascular disease by impacting the endothelial function factors in these patients.

Keywords: Diabetes, NO, VEGF, TGF-β1, Swimming

Pathobiology Research, Vol. 20 (2017), No.2, Pages: 37-48

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

مقاله اصیل

بررسی اثر یک دوره تمرین منظم شنا با دو مدت متفاوت بر سطوح سرمی نیتریک اکساید، عامل رشد اندوتلیوم عروقی و عامل تغییر دهنده رشد بتا -۱ در موش‌های صحرایی نر دیابتی

پروین فرزانگی[1*]

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، ساری، کدپستی: ۴۸۱۶۱۱۹۳۱۸، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، دانشکده علوم انسانی
Email: farzanegi@gmail.com

دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۱۶ پذیرش مقاله: ۹۶/۰۳/۲۹

چکیده

هدف: یکی از پیامدهای دیابت، اختلال در عملکرد اندوتلیال است و فعالیت ورزشی مناسب به‌عنوان راه‌کاری غیر دارویی توصیه می‌شود. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، مقایسه تأثیر دو مدت متفاوت تمرین منظم شنا بر سطوح سرمی نیتریک اکساید، عامل رشد اندوتلیوم عروقی و عامل تغییر دهنده رشد بتا -۱ در موش‌های صحرایی نر دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: ۲۸ سر موش صحرایی نر ویستار به‌صورت تصادفی به ٤ گروه (۷ تایی) کنترل-سالم، دیابت، دیابت- تمرین ۳۰ دقیقه‌ای و دیابت- تمرین ٦۰ دقیقه‌ای تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون صفاقی آلوکسان (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) القا شد. آزمودنی‌ها به‌مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه در هفته، تمرین شنای ۳۰ و ٦۰ دقیقه را انجام دادند. ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، کشته وسپس سطوح گلوکز، انسولین، نیتریک اکساید، فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی و عامل تغییر دهنده رشد بتا -۱ اندازه‌گیری شد. از آزمون واریانس یک طرفه نیز برای تحلیل داده‌ها استفاده شد (P=۰/۰۵).

نتایج: القای دیابت موجب افزایش میزان گلوکز، انسولین و عامل تغییر دهنده رشد بتا -۱ و کاهش معنی‌دار نیتریک اکساید، عامل رشد اندوتلیوم عروقی شد. پس از ۸ هفته تمرین ۳۰ دقیقه‌ای شنا موجب معکوس شدن این تغییرات نسبت به گروه دیابت شد (P<۰/۰۵). ولیکن تمرین ٦۰ دقیقه‌ای تغییر معنی‌دار ایجاد نکرد (P>۰/۰۵). همچنین تفاوت معنی‌دار در سطوح گلوکز، نیتریک اکساید و عامل تغییر دهنده رشد بتا -۱ بین دو گروه تمرین ۳۰ و ٦۰ دقیقه‌ای مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تمرین شنا با مدت کافی که متناسب با شرایط دیابت باشد، می‌تواند با تأثیر بر عوامل عملکرد اندوتلیال اثر حفاظتی در برابر بیماری‌های عروقی در این بیماران داشته باشد.

کلیدواژگان: دیابت، نیتریک اکساید، عامل رشد اندوتلیوم عروقی، عامل تغییر دهنده رشد بتا -۱، تمرین شنا

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶، صفحات: ۳۷-۴۸

مقدمه

دیابت (Diabetes) یک اختلال مزمن متابولیکی است که توسط مقادیر بالای قند مشخص می‌شود [۱]. بر اساس گزارش‌های آماری در حال حاضر بیش از ۳۰۰ میلیون نفر در سراسر دنیا مبتلا به دیابت هستند و تخمین زده شده تا سال ۲۰۳۰ به بیش از ۵۰۰ میلیون نفر خواهد رسید [۲]. یکی از مشخصه‌های دیابت نوع ۲ مقاومت به انسولین است که به‌نظر

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

می‌رسد مسبب اختلال در عملکرد اندوتلیال (Endothelial cell dysfunction: ECD) از طریق افزایش چربی، انسولین و استرس اکسیداتیو (Oxidative stress) باشد [۳]، به‌طوری که اعلام شده بیماری‌های قلبی و عروقی در افراد دیابتی نسبت به افراد عادی شایع‌تر است [٤].

از آن‌جایی که در شرایط دیابت، رگ‌زایی (Angiogenesis) در اندام‌هایی مانند کلیه و چشم، افزایش و در قلب و عروق محیطی، مهار می‌شود [۵]، این بیماری از نظر عروقی و رگ‌زایی دارای تناقض است. عوامل متعددی در رگ‌زایی دخیل هستند که از آن‌ها می‌توان به نیتریک اکساید (Nitric Oxide: NO) و عامل رشد اندوتلیوم عروقی (Vascular endothelial growth factor: VEGF) اشاره نمود که تولید و فعالیت زیستی آن‌ها در دیابت کاهش می‌یابد [٦]. NO مولکولی تنظیمی با تأثیرات وسیع متابولیکی، عروقی و سلولی است که از اکسیداسیون گروه گوانیدین، ال – آرژینین نشأت می‌گیرد و عامل اتساع عروقی است و تقریباً در تمام بافت‌ها یافت می‌شود و در پاسخ به محرک‌هایی مانند کمبود اکسیژن در بافت و تنش برشی (Shear stress) سلول‌های اندوتلیال ترشح می‌شود [۷]. کاهش میزان NO باعث مهار اتساع عروقی شده و در خون بیماران دیابتی کمتر از افراد سالم است [۸]. VEGF نیز یکی از عوامل مهم در رگ‌زایی است که در مهاجرت، تکثیر، تجزیه ماتریکس سلول‌های اندوتلیال، تشکیل شبکه‌های عروقی و همچنین تولید NO و آزادسازی آن در سلول‌های اندوتلیال مؤثر است [۹]. بر اساس شواهد تجربی، توانایی برای ترمیم بافت از طریق رگ‌زایی، که نیاز به حضور VEGF دارد، در شرایطی مانند افزایش سن و دیابت دچار اختلال می‌شود [۸، ۹]. به‌طوری که کاهش بیان و گیرنده‌های آن در بافت کلیه موش‌های مسن (٢٤ ماهه) در مقایسه با موش‌های جوان (٤ ماهه) توسط محققین گزارش شد [۱۰]. از طرف دیگر؛ سایتوکین‌ها (Cytokines) نقش کلیدی در روندهای التهابی دارند. یکی از مهم‌ترین این سایتوکین‌ها، عامل تغییر دهنده رشد بتا –۱ (Transforming growth factor-β1: TGF-β1) است. یک مولکول پروتئینی با وزن مولکولی ۲۵ کیلو دالتون که در شرایط دیابت، افزایش می‌یابد. سه ایزوفرم TGF-β به نام‌های TGF-β1، β2 و β3 در پستانداران شناخته شده است که $TGF-\beta_1$ قوی‌ترین پروموتور در تجمع ماتریکس خارج سلولی است و سایتوکینی کلیدی در چاقی و مقاومت انسولینی معرفی شده است [۱۱]. TGF-ß1 نقش مهمی را در ایجاد تغییرات ساختاری مانند گلومرواسکلروز (Glomerulosclerosis) و فیبروز بینابینی کلیوی مرتبط با پیری ایفا می‌کند و ممکن است به‌عنوان یک عامل فیبروژنیک عمل کند و حداقل بخشی از فیبروز بینابینی کلیوی در پیری، به افزایش آن مربوط شود [۱۲]. VEGF و $TGF-\beta_1$ سبب القای رگ‌زایی می‌شوند اما دارای آثار مخالف مرگ برنامه‌ریزی شده سلول نیز در سلول‌های اندوتلیال هستند. VEGF سلول‌های اندوتلیال را از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) محافظت می‌کند ولی $TGF-\beta_1$ محرک مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است [۱۳] و همچنین $TGF-\beta_1$ محرک کاهش حجم عصلانی نیز هست [١٤].

بر اساس نتایج تحقیقات، دیابت سبب کاهش رگ‌زایی و تشکیل عروق جانبی قلب در انسان و مدل‌های حیوانی می‌شود [۱۵]. مطالعات نشان دادند فعالیت بدنی نیز سبب افزایش رگ‌زایی می‌شود که از طریق افزایش تنش برشی ناشی از افزایش جریان خون طی فعالیت بدنی اعمال می‌شود [١٦]. تغییرات متوالی در تنش برشی منجر به افزایش فعالیت زیستی NO و VEGF می‌شود [۱۷]. مایورانا (Maiorana) و همکاران (۲۰۰۱) گزارش دادند تمرینات ترکیبی هوازی و مقاومتی سبب افزایش پاسخ اتساع عروقی حاصل از افزایش جریان خون در بیماران دیابت نوع ۲ شده است [۱۸]. همچنین نتایج یک مطالعه نشان داد فعالیت ورزشی مزمن موجب کاهش سختی عروق در موش‌های مسن می‌شود که با کاهش کلاژن I و III، بیان TGF-β1 همراه بود، در حالی‌که در موش‌های جوان تغییری مشاهده نشد [۱۹]. کواک (Kwak) و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند فعالیت ورزشی موجب کاهش سطح TGF-ß1 در بافت بطن

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

چپ موش‌های مسن شد [۲۰]. با این وجود تأثیر فعالیت ورزشی شنا بر سطوح مکانیسم‌های مؤثر بر ساختار و عملکرد اندوتلیالی بافت کلیه بسیار محدود است.

چنانچه پیشتر اشاره شد با افزایش سن و دیابت، تولید و فعالیت زیستی NO و VEGF کاهش و TGF-β1 افزایش می‌یابد و بیشتر فعالیت‌های مورد بررسی از نوع مقاومتی و هوازی (عموماً تردمیل) بودند و به‌طور خاص کمتر از شنا استفاده شده است و پژوهشی تأثیر مدت فعالیت بر سطوح سرمی این عوامل را گزارش نداده است. بنابراین با توجه به نقش حمایتی فعالیت بدنی در رگ‌زایی در شرایط دیابت و افزایش سن، همچنین تأثیر مدت فعالیت بر بهبود عوامل مورد بررسی، اثر یک دوره تمرین منظم شنا با دو مدت متفاوت ۳۰ و ٦۰ دقیقه بر سطوح NO، VEGF و TGF-β1 در موش‌های صحرایی نر دیابتی نژاد ویستار (Wistar) بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش تجربی حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد IR.IAU.SARI.REC.1396.54 به تصویب رسید و با استفاده از طرح پس آزمون همراه با گروه کنترل، روی ۲۸ سر رت نر بالغ ٤۸–۵۰ هفته‌ای نژاد ویستار و میانگین وزنی ۲۵۰–۳۰۰ گرم انجام شد. حیوانات از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی تهیه و پس از سازگاری دو هفته‌ای با محیط جدید به‌صورت تصادفی به ٤ گروه کنترل– سالم، دیابت، دیابت– تمرین ۳۰ دقیقه‌ای و دیابت– تمرین ٦۰ دقیقه‌ای تقسیم شدند (۷ سر در هر گروه). حیوانات طی پژوهش، در قفس پلی اتیلنی ۱۵×۱۵×۳۰ سانتی‌متری با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند و آب و غذای پلت مورد نیاز به‌صورت آزادانه در دسترس داشتند. پلت از شرکت به پرور (کرج، تهران) تهیه شد.

برای القای دیابت، تزریق داخل صفاقی یک دوز آلوکسان مونوهیدرات (Alloxan monohydrate) (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن رت)، با سالین ۰/۹ درصد به‌صورت محلول و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی به شکل داخل صفاقی به گروه های دیابت و تمرین ۳۰ و ٦۰ دقیقه‌ای تزریق شد. پس از ۷۲ ساعت برای تشخیص دیابتی شدن آن‌ها، چند قطره خون از سینوس چشم در حالت ناشتایی گرفته شد و با استفاده از دستگاه گلوکومتر، گلوگز خون رت‌ها اندازه‌گیری شد. غلظت گلوکز خون بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌عنوان دیابتی شدن موش‌ها در نظر گرفته شد [۱۱].

برنامه تمرینی

آزمودنی‌های گروه‌های ۳۰ و ٦۰ دقیقه تمرین شنا قبل از شروع برنامه اصلی، پنج جلسه به‌مدت یک هفته، هر بار به‌مدت پنج دقیقه به‌منظور آشنایی با شنا، تمرین داده شدند. برنامه تمرینی اصلی به‌صورت تمرینات شنا در تانکر شنای ویژه جوندگان در ۸ هفته و هر هفته به‌مدت پنج روز و هر روز ۳۰ و ٦۰ دقیقه در آب ۲ ± ۳۲ درجه سانتی‌گراد اجرا شد [۱۱]. همچنین پنج دقیقه زمان قبل و بعد از تمرین برای گرم و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد.

۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۰–۱۲ ساعت ناشتایی، خون‌گیری انجام شد. موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (Ketamine) (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (Xylazine) (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شده وخون‌گیری از بطن چپ به میزان ۵ سی‌سی انجام شد. بلافاصله در فریزر با دمای ۷۰– درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطوح گلوکز، انسولین، NO، VEGF و TGF-β1 نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه‌روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ صبح آغاز الی ۱۱:۳۰ انجام شد.

سطح گلوکز پلاسما با روش رنگ‌سنجی آنزیمی بر اساس واکنش گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز (پارس آزمون، تهران) و سطح انسولین با روش رادیوایمونواسی (Radioimmunoassay) با استفاده از کیت DRG rat insulin high range ELA 3985 ساخت شرکت International Inc

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

DGR (امریکا) انجام شد. همچنین برای بررسی مقاومت به انسولین از شاخص HOMA-IR (Homeostatic model assessment/ insulin resistance) که بر اساس حاصل ضرب غلظت گلوکز ناشتای پلاسما (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در غلظت انسولین ناشتای سرم (میکرو واحد بر میلی‌لیتر) تقسیم بر ثابت، ۲۲/۵×۱۸ استفاده شد.

غلظت NO، VEGF و TGF-β1 با روش الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) و با استفاده از کیت‌های مخصوص شرکت Bosterbio (چین)، با حساسیت به‌ترتیب ۱۰ میکرومول/لیتر، ۱ پیکوگرم/ میلی‌لیتر، ۱۰ پیکوگرم/ میلی‌لیتر سنجش شد.

برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک (Shapiro wilk test) و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون (Levene's test) استفاده شد. سپس فرضیه‌های پژوهش، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (one way Analysis of Variance: ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey's follow-up test) در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵، با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ تجزیه و تحلیل آماری شد.

نتایج

میانگین سطوح سرمی گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین آزمودنی‌ها در جدول ۱ ارایه شده است. بر اساس نتایج ANOVA القای دیابت موجب افزایش معنی‌دار سطوح گلوکز و مقاومت به انسولین و کاهش انسولین شد. ولیکن ۸ هفته تمرین شنا در گروه تمرین ۳۰ دقیقه‌ای سبب کاهش معنی‌دار گلوکز (P = ۰/۰۰۰) و مقاومت به انسولین (P=۰/۰۰۳) و ادامه کاهش انسولین (P=۰/۰۰٤) نسبت به گروه دیابت شد (جدول ۱). ولی ٦۰ دقیقه تمرین شنا فقط سبب کاهش معنی‌دار گلوکز و مقاومت به انسولین (P = ۰/۰۰۷) نسبت به گروه دیابت (P=۰/۰۰۰) شد. در حالی‌که در میزان انسولین (P = ۰/۲٦) تغییر معنی‌دار مشاهده نشد. در ضمن بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، بین گروه‌های تمرینی ۳۰ و ٦۰ دقیقه در سطوح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۱).

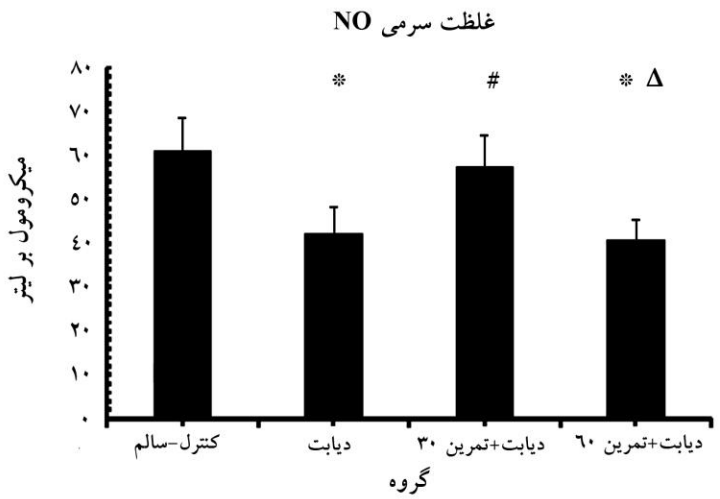
القای دیابت موجب کاهش معنی‌دار سطوح پلاسمایی NO شد. ولیکن ۸ هفته تمرین شنا در گروه تمرین ۳۰ دقیقه‌ای سبب افزایش معنی‌دار (P = ۰/۰۱) سطوح NO نسبت به گروه دیابت (P=۰/۰۰۳) شد (جدول ۱). ولی ٦۰ دقیقه تمرین شنا سبب افزایش معنی‌دار NO نسبت به گروه دیابت (P=۰/۹۸٤) نشد. در ضمن بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، بین گروه‌های تمرینی ۳۰ و ٦۰ دقیقه نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P=۰/۰۰۱) (شکل ۱).

جدول ۱ میانگین سطوح سرمی گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین بعد از اجرای تمرین و نتایج آنالیز واریانس یک طرفه

متغیرها / گروه‌ها	کنترل -سالم	دیابت	دیابت -تمرین ۳۰	دیابت -تمرین ٦۰	P-value
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۵/۵±۱۰۸	۳۰/۲±۲۷۱	۳۳/۱±۱۸۳	۱۵/۵±۱۹۲	۰/۰۰۱
انسولین (میکرو واحد بر میلی‌لیتر)	۲/۹±۱۳/۵۵	۱/۳۸±۹/۷۲	۱/۳۸±۸/۵۷	۱/٦٦±۷/٤۷	۰/۰۰۱
مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	۱/۵±۳/٦۱	۰/۹۵±٦/۵	۰/۸۳±۳/۸۷	۰/۹۸±۳/۵٤	۰/۰۱۱

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

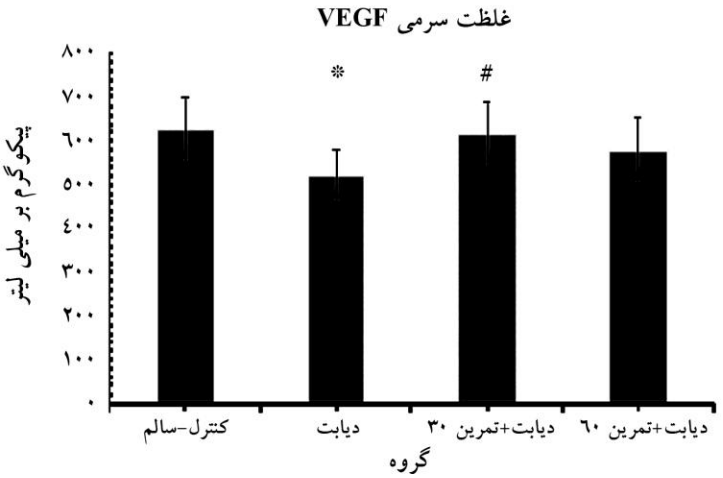
[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]



شکل ۱ تأثیر ۳۰ و ۶۰ دقیقه تمرین منظم شنا بر سطح سرمی NO؛ *: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۱، #: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابت در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۱، Δ: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه ۳۰ دقیقه تمرین شنا در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۱

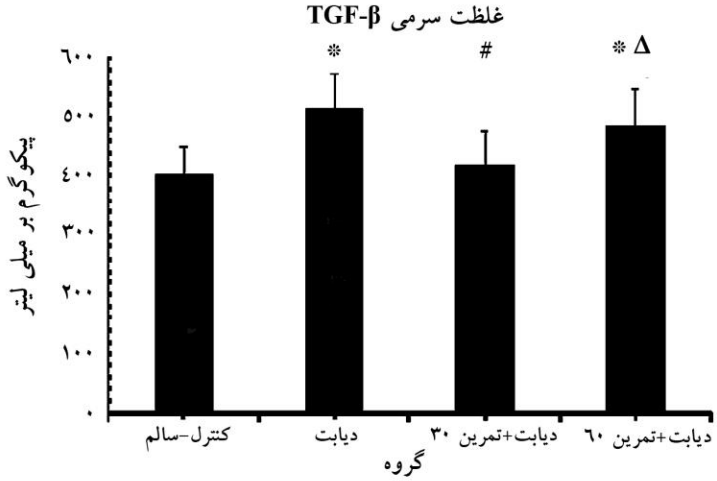
همچنین القای دیابت موجب کاهش معنی‌دار سطوح پلاسمایی VEGF شد. ولیکن ۸ هفته تمرین شنا منجر به افزایش معنی‌دار (P=۰/۰۰۹) سطوح پلاسمایی VEGF درگروه تمرینی ۳۰ دقیقه شد؛ ولی تمرین ۶۰ دقیقه، سبب تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه دیابت (P=۰/۱۵) نشد. همچنین بین گروه‌های تمرینی ۳۰ و ۶۰ دقیقه نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P=۰/۵۷۴) (شکل ۲).

در پایان، القای دیابت موجب افزایش معنی‌دار سطوح پلاسمایی $TGF\text{-}\beta_1$ شد. ولیکن ۸ هفته تمرین شنا در گروه تمرین ۳۰ دقیقه‌ای منجر به کاهش معنی‌دار سطوح $TGF\text{-}\beta_1$ نسبت به گروه دیابت (P=۰/۰۰۱) شد. تمرین ۶۰ دقیقه منجر به کاهش معنی‌دار در سطوح پلاسمایی TGF-ß1 در مقایسه با گروه دیابت (P=۰/۵۵۵) نشد. در ضمن بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی بین گروه‌های تمرینی ۳۰ و ۶۰ دقیقه نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P=۰/۰۱۹) (شکل ۳).



شکل ۲ تأثیر ۳۰و ۶۰ دقیقه تمرین منظم شنا بر سطح سرمی VEGF؛ *: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۱، #: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابت در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۱

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]



شکل ۳ تأثیر ۳۰ و ۶۰ دقیقه تمرین منظم شنا بر سطح سرمی TGF-β1؛ *: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت بـه گـروه کنتـرل در سـطح معنـی‌داری P≤۰/۰۱، #: وجـود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دیابت در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۱، Δ: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه ۳۰ دقیقه تمرین شنا در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۱

بحث

در پژوهش تجربی حاضر اثـر هشـت هفتـه تمـرین شـنا به‌مدت‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه بر رت‌های دیابتی مطالعه شد. بـر اساس نتایج به‌دست آمده القای دیابت موجب کاهش معنی‌دار در سـطوح سـرمی انسـولین، NO و VEGF (بـه‌ترتیـب ۲۹ درصد، ۳۱ درصد و ۱۷ درصد) و افزایش معنی‌دار در سـطوح گلوکز، مقاومت به انسولین و (TGF-β1 به‌ترتیب ۲۵۶ درصد، ۱۸۰ درصد و ۲۶ درصد) شد، ولـیکن پـس از هشـت هفتـه، تمرین ۳۰ دقیقه‌ای شنا سبب افزایش معنی‌دار در سطوح سرمی NO و VEGF (بـه‌ترتیـب ۳۶/۱۴ درصـد و ۱۸/۲۸ درصـد) و ادامه روند کاهش انسولین (۱۲ درصد) و کاهش سطح سرمی TGF-β1 (۱۹/۷۷ درصـد) نسـبت بـه گـروه دیابـت شـد. در حالی‌که تمرین شنای ۶۰ دقیقه سبب تغییر معنی‌دار هیچ یک از این عوامل نسبت به گروه دیابت نشد. شایان ذکر است که بین تمرین شنای ۳۰ و ۶۰ دقیقه در سـطوح سـرمی NO و TGF-β1 نیز اختلاف معنی‌دار وجـود داشـت. مقایسـه تـأثیر مـدت فعالیت در این پژوهش، از تأثیر مثبت ۳۰ دقیقـه تمـرین شـنا نسبت به ۶۰ دقیقه بر این آزمودنی‌ها حمایت می‌کند.

کاهش تولیـد و فعالیـت زیسـتی NO ناشـی از مقاومـت انسولینی در دیابت، سبب عـدم انبسـاط عروقـی و پـر فشـار خونی می‌شود [۶]. در نتیجـه افـزایش تولیـد و فعالیـت NO سبب کاهش فشار خون و بهبود حساسیت انسولینی مـی‌شـود که فعالیت بدنی منظم به‌عنوان راه‌کار غیر دارویی مورد توجـه محققان قرار دارد. فعالیت بدنی منظم سبب کنتـرل اخـتلال در متابولیسم قند، چربی و مقاومت انسولینی می‌شـود کـه از ایـن راه پیامدهای این عوامل خطرزا کاهش می‌یابد [۲۱]. از دیگـر عوامل مهم، افزایش تنش برشی ناشی از فعالیـت بـدنی اسـت کـه سـبب افـزایش فعالیـت زیسـتی NO و بهبـود عملکـرد اندوتلیال عروقی مـی‌شـود [۶]. تـنش برشـی سـبب افـزایش نیتریـک اکسـاید سـنتتاز (Nitric Oxide Synthase: NOS) در سلول اندوتلیال می‌شود کـه NOS بـه همـراه کلسـیم آزاد شده از سلول و با کمک کمـپلکس NADPH موجـب تبـدیل ال- سیستئین به ال-سیترولین و افزایش NO می‌شود کـه البتـه فعالیت ورزشی می‌تواند اتساع عروق وابسته به NO را بـدون افـزایش در بیـان NOS انـدوتلیومی بهبـود بخشـد و آن را از طریق افزایش دفاع آنتی اکسیدانی مانند افزایش سـوپر اکسـید دیسـموتاز (Superoxide dismutases: SOD) و افـزایش گلوتـاتیون پروکسـیداز (Glutathione peroxidase) توجیـه

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

می‌کند [۷، ۲۲]. در این راستا جلالی و همکاران (۲۰۱٤) افزایش معنی‌دار NO سرمی در موش‌های نر متعاقب هشت هفته تمرین استقامتی مشاهده کردند [۲۲]. دیگر مشاهدات نیز افزایش انتشار NO ناشی از فعالیت بدنی را گزارش دادند [۱۸] که با نتایج پژوهش حاضر همسو است. افزایش غلظت NO سرمی ناشی از فعالیت را می‌توان به دلیل کاهش استرس اکسایشی و افزایش دفاع آنتی اکسیدانی ناشی از فعالیت بدنی توجیه کرد.

دیابت روی عوامل پیش برنده و مهار کننده رگ‌زایی نیز اثر می‌گذارد و این اثر باعث تغییر موازنه بین عوامل تحریک کننده و مهار کننده رگ‌زایی می‌شود (تنظیم منفی) و در نتیجه با تغییر رگ‌زایی، بیماری‌های قلب و عروقی در این افراد افزایش می‌یابد [۹]. عوامل مؤثر بر ایجاد رگ‌زایی شامل عوامل همودینامیکی (Hemodynamic) مثل فعالیت فیزیکی، تنش برشی و کشش وارد بر دیواره عروق است و عوامل متابولیکی مانند عوامل رشد است [٦، ۹]. فرضیه‌هایی وجود دارد که تمرین منظم ممکن است موجب ظرفیت بیشتر VEGF سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های پارانشیمی یا حتی ماتریکس خارج سلولی در بافت‌های ورزشکاران شود. فعالیت بدنی سبب افزایش سطوح هورمون‌های رشدی می‌شود که افزایش مقادیر هورمون‌های رشدی از جمله هورمون رشد (سوماتوتروپین) و فعال‌سازی محور GH-IGF1 سبب افزایش میزان عوامل رگ‌زایی می‌شود. این محور از طریق فعال‌سازی فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز (Phosphatidylinositol 3-Kinase :IP3K) و AKT (Proteín kinas B) موجب افزایش عامل القا کنندهٔ هیپوکسی (Hypoxia inducible factor: HIF) می‌شود که این عامل با اثرگذاری بر ناحیهٔ پیشبرندهٔ ژن VEGF سبب افزایش بیان آن می‌شود و احتمالاً، از این طریق باعث افزایش بیان ژن عوامل رگ‌زایی می‌شود [۲۳]. ازسوی دیگر؛ هورمون رشد عاملی برای فعال‌سازی NOS اندوتلیالی و تولید NO است که این مسیر نیز می‌تواند از طریق رگ‌گشایی، عاملی برای رگ‌زایی باشد [۸]. مطابق با نتیجه پژوهش حاضر، در بررسی بشیری و همکاران (۲۰۱۵) تمرین استقامتی به‌مدت ۸ هفته موجب افزایش معنی‌دار در مقدار سرمی VEGF در رت‌های دیابتی شد [۲٤]. لوید (Lioyd) و همکاران (۲۰۰۳) نیز رگ‌زایی را در روز دوازدهم تمرینی و بیان ژن VEGF را در اولین ساعت برنامه تمرینی در رت‌ها گزارش کردند [۲۵]. مهری الوار و همکاران (۲۰۱٦) نیز تأثیر تمرین بر VEGF سرمی مردان غیر فعال را بررسی کردند که افزایش معنی‌دار نسبت به قبل از تمرین مشاهده شد که همبستگی بالایی با افزایش هورمون رشد را گزارش دادند [۸]. برخی مطالعات نیز عدم تغییر معنی‌دار یا کاهش را مشاهده کردند [۲۰]. شکرچی زاده و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود نشان دادند میزان پلاسمایی VEGFو NO در گروه تمرین مقاومتی با گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری نداشت [۱۵] که البته مدت پژوهش آن‌ها چهار هفته بوده و رت‌ها سالم بودند نه دیابتی که می‌تواند از دلایل تفاوت باشد. در حالی‌که برخی دیگر عدم تغییر این عامل و حتی کاهش غلظت آن را گزارش کردند [۲٦] که تناقض در نتایج به دلایل مختلف از جمله تفاوت در نوع و مدت تمرین و شرایط آزمودنی‌ها دارد. با توجه به این‌که یکی از مکانیسم‌های رهایش NO، فشار برشی است؛ به‌نظر می‌رسد تمرینات ۳۰ دقیقه‌ای شنا، تأثیر بیشتری بر رهایش NO و در نهایت افزایش VEGF داشته باشد و رگ‌زایی افزایش می‌یابد. همچنین بالا بودن سطح چربی و قند خون در دیابتی‌ها، موجب انباشته شدن بیش از اندازه قند در بافت‌های مختلف بدن و در نهایت تولید التهاب می‌شود. بنابراین به‌نظر می‌رسد التهاب ناشی از تمرین طولانی مدت ٦۰ دقیقه‌ای در موش‌های مسن با کاهش کشش دیواره اندوتلیال همانند تمرین ۳۰ دقیقه‌ای، موجب شود که عوامل رگ‌زایی (VEGF و NO) فرصت بروز پیدا نکنند [۱۰].

مطابق با نتایج ما کواک و همکاران (۲۰۱۱) نیز کاهش معنی‌دار در سطح TGF-β1 بطن چپ موش‌های مسن بعد از ۱۲ هفته فعالیت مشاهده کردند [۲۰]. اسلامی و همکاران (۲۰۱٦) هم بعد از هشت هفته تمرین هوازی کاهش معنی‌دار

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

در سطوح مغزی TGF-β1 مشاهده کردند [۲۷]. از طرف دیگر؛ فلینور (Fleenor) و همکاران (۲۰۱۰) نیز عدم کاهش معنی‌دار در بیان TGF-β1 شریان کاروتیدی موش‌های جوان را گزارش کردند [۱۹]. عدم تغییر در بیان پروتئینی $TGF-\beta_1$ بافت قلبی موش‌های نر جوان نژاد ویستار TGF-β1 متعاقب هشت هفته تمرین دویدن روی نوار گردان توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است [۲۸]. عوامل زیادی بر بیان $TGF-\beta_1$ تأثیر می‌گذارند. یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده سطوح سرمی $TGF-\beta_1$، ماکروفاژها و سلول‌های تک هسته‌ای خون مانند لنفوسیت‌ها هستند [۲۹]، به‌طوری که این بافت‌ها در پاسخ به التهاب $TGF-\beta_1$ را ترشح و به درون جریان خون رها می‌کنند. بهبود در قدرت آنتی اکسیدانی بدن ناشی از فعالیت بدنی می‌تواند رهایش $TGF-\beta_1$ از این بافت‌ها را کاهش و به تعدیل سطوح سرمی آن کمک نماید [۳۰] همچنین محققان اعلام داشتند ورزش با کنترل قندخون نیز سبب مهار تولید و آزاد سازی TGF-β می‌شود [۳۱]. برخی از مطالعات نشان دادند افزایش استرس اکسیداتیو، با افزایش بیان NADPH اکسیداز و کاهش فعالیت SOD، بیان $TGF-\beta_1$ را افزایش می‌دهد. در واقع TGF-β1 خاصیت آنتی اکسیدانی دارد که در پاسخ به التهاب افزایش می‌یابد. انجام تمرینات هوازی در افراد مسن و دیابتی، قدرت آنتی اکسیدان بدن را افزایش می‌دهد [۳۲]. انجام این گونه تمرینات می‌تواند منجر به کاهش محتوی mRNA ژن TGF-β1 و متعاقب آن بیان پروتئین این عامل پس از یک دوره تمرین طولانی مدت شود [۲۸]. در پژوهش حاضر یافته‌های به‌دست آمده از تمرینات ۳۰ دقیقه‌ای در تأیید فرضیه‌های موجود بود. به‌نظرمی‌رسد تمرینات ٦٠ دقیقه‌ای نتوانست رهایش TGF-β1 را در بافت‌ها کاهش و به تعدیل سرمی آن همانند تمرینات۳۰ دقیقه‌ای کمک کند. همچنین تغییرات مشاهده شده در سطح سرمی TGF-β1 وابسته به زمان است، به‌طوری که با گذشت زمان (هشت هفته، هرهفته سه جلسه و هر جلسه سی دقیقه) نمود پیدا کرد ولی با افزایش زمان تمرین در هر جلسه به میزان دو برابر نقش مهاری مهمی در تقسیم و رشد سلول اعمال می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند مسیر پیام‌رسانی TGF-β1 با Smad 2/3 آغاز و با Smad 4 ادامه می‌یابد که هدف عمده آن ممانعت از تکثیر و رشد سلولی است [۳۳]. از آن‌جایی که در افراد دیابتی تحلیل عضلانی و کاهش حجم عضلات اتفاق می‌افتد، برای جبران این آسیب‌های عضلانی به‌نظر می‌رسد انجام تمرینات شنا ۳۰ دقیقه‌ای می‌تواند اثر مهاری این مسیر را تعدیل کند، ولی تمرینات ٦٠ دقیقه‌ای به دلیل افزایش التهاب، این اثر را تشدید کند. متأسفانه روش تحقیق حاضر به‌صورتی نیست که بتوان راجع به این مسئله نظر قطعی داد و ضرورت انجام پژوهش‌های بیشتری در آینده احساس می‌شود. همچنین با توجه به این که این عامل در سرم و اندازه‌گیری آن‌ها در نمونه انسانی قابل انجام بوده است، استفاده از نمونه‌های حیوانی یکی از محدودیت‌های تحقیق است که امکان پیدا کردن نمونه‌های انسانی با شرایط مشابه و همگن میسر نبود.

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، زمان و شدت فعالیت بدنی متناسب با نوع بیماری و سن آزمودنی‌ها، می‌تواند با افزایش سطوح سرمی عواملی نظیر NO و VEGF و کاهش TGF-β1 سبب بهبود عملکرد اندوتلیال و به تبع آن کاهش در وقوع مشکلات عروقی در شرایط دیابت شود که در نتیجه فعالیت بدنی می‌تواند به‌عنوان راه‌کاری غیر دارویی توصیه شود.

تشکر و قدردانی

از کلیه کسانی که در این پژوهش محققان حاضر را یاری دادند، قدردانی می‌شود. این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی با شماره ۵-۸۷٦۸ است که با اعتبار مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری اجرا شده است.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

منابع

[1] Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. Glucose metabolism and hyperglycemia. Am J Clin Nutr 2008; 87(1): 217S-222S.

[2] Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Res Clin Pract 2011; 94(3): 311-21.

[3] Hamilton SJ, Watts GF. Endothelial dysfunction in diabetes: pathogenesis, significance, and treatment. Rev Diabet Stud 2013; 10(2-3): 133-56.

[4] White A, McKay GA, Fisher M. Drugs for diabetes: part 9 prescribing for patients with cardiac disease. Br J Cardiol 2012; 19: 85-9.

[5] Azadbakht L, Atabak S, Rajayee S, Zahedi M, Tehrani M, Esmaillzadeh A. Soy protein intake, cardiovascular risks, CRP-level and kidney function among type 2 diabetic patients with nephropathy. ZJRMS 2012; 14(2): 31-8. (Persian)

[6] Ghardashi Afousi AR, Gaeini A, Gholami Borujeni B. The effect of aerobic interval training on endothelial vasculature function in type 2 diabetes patient. IJRN 2016; 2(3): 27-39. (Persian)

[7] Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res 2010; 107(9): 1058-70.

[8] Mehri Alvar Y, Sayevand Z, Erfani Adab. F, Heydari Moghadam R, Samavat Sharif MA, Karami S. The effects of five weeks' resistance training on some vascular growth factors in sedentary men. Sport Physiology 2016; 8(29): 15-30. (Persian)

[9] Salehi E, Amjadi FS, Khazaei M. Angiogenesis in Health and Disease: Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Journal of Isfahan Medical School (I.U.M.S) 2011; 29(132): 213-26. (Persian)

[10] Satoh M, Fujimoto S, Horike H, Ozeki M, Nagasu H, Tomita N, Sasaki T, Kashihara N. Mitochondrial damage-induced impairment of angiogenesis in the aging rat kidney. Lab Invest 2011; 91(2): 190-202.

[11] Habibian M, Saghafi, MR, Farzanegi P. The Effect of Regular Swimming Exercise on the Levels of Renal Matrix Mettaloproteinase-2 and Transforming Growth Factor-β1 in Rats with Diabetes. Journal of Kerman University of Medical Sciences 2016; 23(4): 446-56. (Persian)

[12] Ruiz-Torres MP, Bosch RJ, O'Valle F, Del Moral RG, Ramírez C, Masseroli M, Pérez-Caballero C, Iglesias MC, Rodríguez-Puyol M, Rodríguez-Puyol D. Age-related increase in expression of TGF-beta1 in the rat kidney: relationship to morphologic changes. J Am Soc Nephrol 1998; 9(5): 782-91.

[13] Ferrari G, Cook BD, Terushkin V, Pintucci G, Mignatti P. Transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) induces angiogenesis through vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated apoptosis. J Cell Physiol 2009; 219(2): 449-58.

[14] Mendias CL, Gumucio JP, Davis ME, Bromley CW, Davis CS, Brooks SV. Transforming growth factor-beta induces skeletal muscle atrophy and fibrosis through the

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

induction of atrogin-1 and scleraxis. Muscle Nerve 2012; 45(1): 55-9.

[15] Shekarchizadeh P, Khazaei M, Gharakhanlou R, Karimian J, Safarzadeh A. The effects of resistance training on plasma angiogenic factors in normal rats. Journal of Isfahan Medical School 2012; 30(176): 1-9. (Persian)

[16] Cully M, Downward J. Translational responses to growth factors and stress. Biochem Soc Trans 2009; 37(Pt 1): 284-8.

[17] Green DJ, Spence A, Halliwill JR, Cable NT, Thijssen DH. Exercise and vascular adaptation in asymptomatic humans. Exp Physiol 2011; 96(2): 57-70.

[18] Maiorana A, O'Driscoll G, Cheetham C, Dembo L, Stanton K, Goodman C, Taylor R, Green D. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. J Am Coll Cardiol 2001; 38(3): 860-6.

[19] Fleenor BS, Marshall KD, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor-β1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise. J Physiol 2010; 588(Pt 20): 3971-82.

[20] Kwak HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. FASEB J 2011; 25(3): 1106-17.

[21] Bazyar F, Banitalebi E, Amirhosseini SE. The Comparison of Two Methods of Exercise (intense interval training and concurrent resistance- endurance training) on Fasting Sugar, Insulin and Insulin Resistance in Women with Mellitus Diabetes. Armaghane Danesh 2016; 21(2): 123-34. (Persian)

[22] Jalali Z, Dabidi Roshan V. The effect of regular endurance exercises and galbanum supplement on vascular function during chronic hypertension in male wistar rats. Sport Biosciences (Harakat) 2014; 6(1): 95-113

[23] Poulaki V, Joussen AM, Mitsiades N, Mitsiades CS, Iliaki EF, Adamis AP. Insulin-like growth factor-I plays a pathogenetic role in diabetic retinopathy. Am J Pathol 2004; 165(2): 457-69.

[24] Bashiri J, Gaeini AA, Hadi H. Endurance training affects muscular angiogenesis and serum VEGF concentration in diabetic rats. Koomesh 2015; 17(1): 123-32. (Persian)

[25] 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.

[26] Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. BMC Physiol 2004; 4: 2.

[27] Eslami AH, Habibian M, Farzanegi P. Effect of swimming exercise and garlic extract consumption on some of growth factors involved in angiogenesis and neurogenesis in the brain tissue of old rats. Daneshvar Med 2016; 23(121): 13-20. (Persian)

[28] Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartlomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The effect of acute and prolonged endurance exercise on transforming growth factor-beta1 generation in rat skeletal and heart muscle. J Physiol

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]

Pharmacol 2009; 60(4): 157-62.

[29] Khadivi Borujeny A, Marandi M, Haghjooy Javanmard S, Rajabi H, Khadivi Borujeny Z, Khorshidi Behzadi M. Effect of eight weeks of resistance training on some signaling factors effecting on the satellite cell in wistar rats. Journal of Isfahan Medical School 2012; 30(207): 1-12.

[30] Glass DJ. Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. Nat Cell Biol 2003; 5(2): 87-90.

[31] Hering S, Jost C, Schulz H, Hellmich B, Schatz H, Pfeiffer H. Circulating transforming growth factor beta1 (TGF beta1) is elevated by extensive exercise. Eur J Appl Physiol 2002; 86: 406-10.

[32] Czarkowska-Paczek B, Bartlomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after strenuous physical exercise. J Physiol Pharmacol 2006; 57(2): 189-97.

[33] Moghadam V, Peeri M, Azarbijany MA, Matin homaee H. The protective effect of aerobic exercise on breast cancer by TGFβ protein and Smad and MMP2 gene in femal mice. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2017; 22(3): 60-73. (Persian)

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2022-01-17]