

## The effect of regular swim training with two different time periods on serum levels of NO, VEGF, and TGF- $\beta$ 1 in diabetic male rats

Parvin Farzanegi<sup>1\*</sup>

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- $\beta$ 1 in diabetic male rats.

**Methods:** We randomly divided 28 male Wistar rats into 4 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- $\beta$ 1. One-way ANOVA was used for statistical analysis ( $p \leq 0.05$ ).

**Results:** Diabetes increased the levels of glucose, insulin and TGF- $\beta$ 1, 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1, Swimming

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

# 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 فرزاتگی\*<sup>۱</sup>

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

پذیرش مقاله: ۹۶/۰۳/۲۹

دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۱۶

## چکیده

هدف: یکی از پیامدهای دیابت، اختلال در عملکرد اندوتلیال است و فعالیت ورزشی مناسب به عنوان 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 و بیستار به صورت تصادفی به ۴ گروه (۷ تایی) کنترل - سالم، دیابت، دیابت - تمرین ۳۰ دقیقه‌ای و دیابت - تمرین ۶۰ دقیقه‌ای تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون صفاقی آلوکسان (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) القا شد. آزمودنی‌ها به مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه در هفته، تمرین شنا ۳۰ و ۶۰ دقیقه را انجام دادند. ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، کشته و سپس 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 ( $P=0/05$ ).

**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 ( $P<0/05$ ). ولیکن تمرین ۶۰ دقیقه‌ای تغییر معنی‌دار ایجاد نکرد ( $P>0/05$ ). همچنین تفاوت معنی‌دار در سطوح گلوکز، نیتریک اکساید و عامل تغییر دهنده رشد بتا - ۱ بین دو گروه تمرین ۳۰ و ۶۰ دقیقه‌ای مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** به نظر 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 آسیب‌شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶، صفحات: ۳۷-۴۸

## مقدمه

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 به نظر

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

## اثر تمرین شنا بر سطوح NO، VEGF و TGF-β1 در موش های دیابتی

TGF-β1 (factor-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-β1 قوی‌ترین پروموتور در تجمع ماتریکس خارج سلولی است و سایتوکینی کلیدی در چاقی و مقاومت انسولینی معرفی شده است [۱۱]. TGF-β1 نقش مهمی را در ایجاد تغییرات ساختاری مانند گلومرواسکلروز (Glomerulosclerosis) و فیروز بینابینی کلیوی مرتبط با پیری ایفا می‌کند و ممکن است به‌عنوان یک عامل فیبروز نیک عمل کند و حداقل بخشی از فیروز بینابینی کلیوی در پیری، به افزایش آن مربوط شود [۱۲]. VEGF و TGF-β1 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-β1 محرک مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است [۱۳] و همچنین TGF-β1 محرک کاهش حجم عضلانی نیز هست [۱۴].

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 [۱۶]. 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 حالی که در موش‌های جوان تغییری مشاهده نشد [۱۹]. کواک (Kwak) و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند فعالیت ورزشی موجب کاهش سطح TGF-β1 در بافت بطن

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 [۴].

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 [۶]. NO مولکولی تنظیمی با تأثیرات وسیع متابولیکی، عروقی و سلولی است که از اکسیداسیون گروه گوآنیدین، ال- آرژنین 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 (۲۴ ماهه) در مقایسه با موش‌های جوان (۴ 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

ازای هر کیلوگرم وزن رت)، با سالین ۰/۹ درصد به صورت محلول و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی به شکل داخل صفاقی به گروه های دیابت و تمرین ۳۰ و ۶۰ دقیقه ای 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، گلوکز خون رت‌ها اندازه گیری شد. غلظت گلوکز خون بیشتر از ۲۵۰ میلی گرم در دسی لیتر به عنوان دیابتی شدن موش‌ها در نظر گرفته شد [۱۱].

### برنامه تمرینی

آزمودنی‌های گروه‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه تمرین شنا قبل از شروع برنامه اصلی، پنج جلسه به مدت یک هفته، هر بار به مدت پنج دقیقه به منظور آشنایی با شنا، تمرین داده شدند. برنامه تمرینی اصلی به صورت تمرینات شنا در تانکر شنای ویژه جوندگان در ۸ هفته و هر هفته به مدت پنج روز و هر روز ۳۰ و ۶۰ دقیقه در آب  $2 \pm 32$  درجه سانتی گراد 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 میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (Xylazine) (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شده و خون‌گیری از بطن چپ به میزان ۵ سی سی انجام شد. بلافاصله در فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی گراد برای اندازه‌گیری سطوح گلوکز، انسولین، NO، VEGF و TGF- $\beta$ 1 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

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- $\beta$ 1 افزایش می‌یابد و بیشتر فعالیت‌های مورد بررسی از نوع مقاومتی و هوازی (عموماً تردمیل) بودند و به طور 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 ۶۰ دقیقه بر سطوح NO، VEGF و TGF- $\beta$ 1 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 ۴۸-۵۰ 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 به صورت تصادفی به ۴ گروه کنترل - سالم، دیابت، دیابت - تمرین ۳۰ دقیقه‌ای و دیابت - تمرین ۶۰ دقیقه‌ای تقسیم شدند (۷ سر در هر گروه). حیوانات طی پژوهش، در قفس پلی اتیلنی ۱۵×۱۵×۳۰ سانتی‌متری با دمای  $2 \pm 22$  درجه سانتی گراد و میزان رطوبت ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند و آب و غذای پلت مورد نیاز به صورت 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 میلی گرم به

## اثر تمرین شنا بر سطوح NO، VEGF، TGF-β1 در موش های دیابتی

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 ( $P=0/000$ ) و مقاومت به انسولین ( $P=0/003$ ) و ادامه کاهش انسولین ( $P=0/004$ ) نسبت به گروه دیابت شد (جدول ۱). ولی ۶۰ دقیقه تمرین شنا فقط سبب کاهش معنی‌دار گلوکز و مقاومت به انسولین ( $P=0/007$ ) نسبت به گروه دیابت ( $P=0/000$ ) شد. در حالی‌که در میزان انسولین ( $P=0/26$ ) تغییر معنی‌دار مشاهده نشد. در ضمن بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، بین گروه‌های تمرینی ۳۰ و ۶۰ دقیقه در سطوح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ( $P>0/05$ ) (جدول ۱).

القای دیابت موجب کاهش معنی‌دار سطوح پلاسمایی NO شد. ولیکن ۸ هفته تمرین شنا در گروه تمرین ۳۰ دقیقه‌ای سبب افزایش معنی‌دار ( $P=0/01$ ) سطوح NO نسبت به گروه دیابت ( $P=0/003$ ) شد (جدول ۱). ولی ۶۰ دقیقه تمرین شنا سبب افزایش معنی‌دار NO نسبت به گروه دیابت ( $P=0/984$ ) نشد. در ضمن بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، بین گروه‌های تمرینی ۳۰ و ۶۰ دقیقه نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ( $P=0/001$ ) (شکل ۱).

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،  $18 \times 22/5$  استفاده شد.

غلظت NO، VEGF، TGF-β1 با روش الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) و با استفاده از کیت‌های مخصوص شرکت Bosterbio (چین)، با حساسیت به ترتیب 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  $P<0/05$  با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ تجزیه و تحلیل آماری شد.

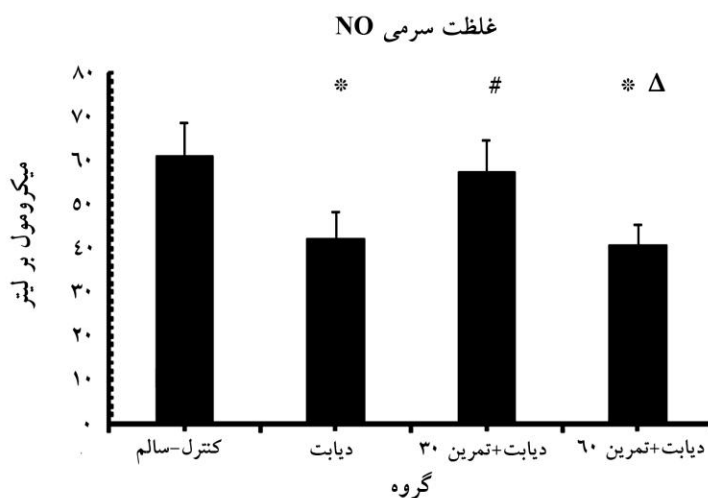
## نتایج

میانگین سطوح سرمی گلوکز، انسولین و مقاومت به

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

P-value	گروه‌ها				متغیرها
	دیابت-تمرین ۶۰	دیابت-تمرین ۳۰	دیابت	کنترل-سالم	
۰/۰۰۱	۱۵/۵±۱۹۲	۲۳/۱±۱۸۳	۳۰/۲±۲۷۱	۱۵/۵±۱۰۸	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۰/۰۰۱	۱/۶۶±۷/۴۷	۱/۳۸±۸/۵۷	۱/۳۸±۹/۷۲	۲/۹±۱۳/۵۵	انسولین (میکرو واحد بر میلی‌لیتر)
۰/۰۱۱	۰/۹۸±۳/۵۴	۰/۸۳±۳/۸۷	۰/۹۵±۶/۵	۱/۵±۳/۶۱	مقاومت به انسولین (HOMA-IR)

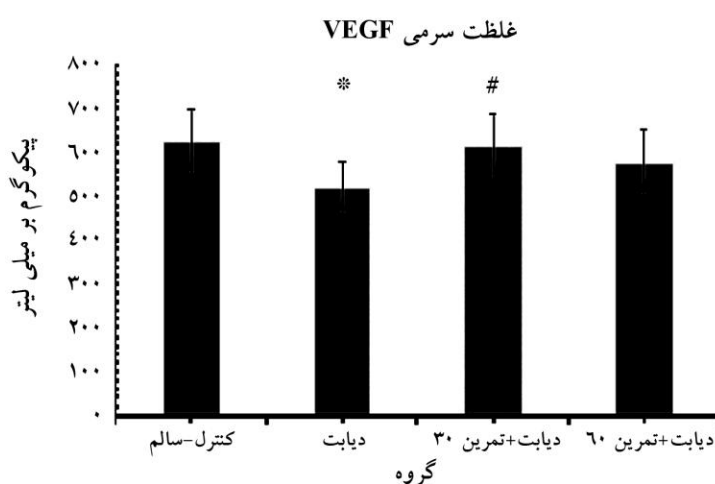
مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.



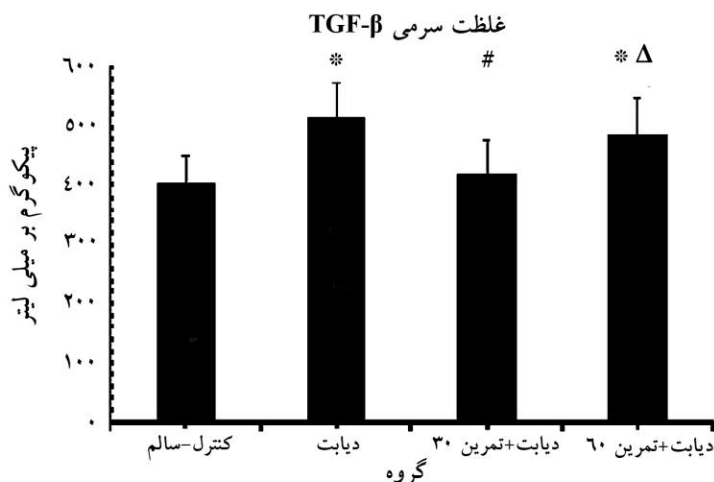
شکل ۱ تأثیر ۳۰ و ۶۰ دقیقه تمرین منظم شنا بر سطح سرمی NO؛ \* وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل در سطح معنی داری  $P \leq 0/01$ ، # وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه دیابت در سطح معنی داری  $P \leq 0/01$ ؛ Δ وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه ۳۰ دقیقه تمرین شنا در سطح معنی داری  $P \leq 0/01$

پلاسمایی  $TGF-\beta_1$  شد. ولیکن ۸ هفته تمرین شنا در گروه تمرین ۳۰ دقیقه ای منجر به کاهش معنی دار سطوح  $TGF-\beta_1$  نسبت به گروه دیابت ( $P=0/001$ ) شد. تمرین ۶۰ دقیقه منجر به کاهش معنی دار در سطوح پلاسمایی  $TGF-\beta_1$  در مقایسه با گروه دیابت ( $P=0/055$ ) نشد. در ضمن بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی بین گروه های تمرینی ۳۰ و ۶۰ دقیقه نیز اختلاف معنی دار مشاهده شد ( $P=0/019$ ) (شکل ۳).

همچنین القای دیابت موجب کاهش معنی دار سطوح پلاسمایی VEGF شد. ولیکن ۸ هفته تمرین شنا منجر به افزایش معنی دار ( $P=0/009$ ) سطوح پلاسمایی VEGF در گروه تمرینی ۳۰ دقیقه شد؛ ولی تمرین ۶۰ دقیقه، سبب تغییر معنی دار در مقایسه با گروه دیابت ( $P=0/15$ ) نشد. همچنین بین گروه های تمرینی ۳۰ و ۶۰ دقیقه نیز اختلاف معنی دار مشاهده نشد ( $P=0/574$ ) (شکل ۲). در پایان، القای دیابت موجب افزایش معنی دار سطوح



شکل ۲ تأثیر ۳۰ و ۶۰ دقیقه تمرین منظم شنا بر سطح سرمی VEGF؛ \* وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل در سطح معنی داری  $P \leq 0/01$ ، # وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه دیابت در سطح معنی داری  $P \leq 0/01$



شکل ۳ تأثیر ۳۰ و ۶۰ دقیقه تمرین منظم شنا بر سطح سرمی TGF-β1؛ \* وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل در سطح معنی داری  $P \leq 0.01$ ، # وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه دیابت در سطح معنی داری  $P \leq 0.01$ ، Δ وجود اختلاف معنی دار نسبت به گروه ۳۰ دقیقه تمرین شنا در سطح معنی داری  $P \leq 0.01$

## بحث

انسولینی در دیابت، سبب عدم انبساط عروقی و پر فشار خونی می شود [۶]. در نتیجه افزایش تولید و فعالیت NO سبب کاهش فشار خون و بهبود حساسیت انسولینی می شود که فعالیت بدنی منظم به عنوان راه کار غیر دارویی مورد توجه محققان قرار دارد. فعالیت بدنی منظم سبب کنترل اختلال در متابولیسم قند، چربی و مقاومت انسولینی می شود که از این راه پیامدهای این عوامل خطرزا کاهش می یابد [۲۱]. از دیگر عوامل مهم، افزایش تنش برشی ناشی از فعالیت بدنی است که سبب افزایش فعالیت زیستی NO و بهبود عملکرد اندوتلیال عروقی می شود [۶]. تنش برشی سبب افزایش نیتریک اکساید سنتتاز (Nitric Oxide Synthase: NOS) در سلول اندوتلیال می شود که NOS به همراه کلسیم آزاد شده از سلول و با کمک کمپلکس NADPH موجب تبدیل ال - سیستئین به ال - سیترولین و افزایش NO می شود که البته فعالیت ورزشی می تواند اتساع عروق وابسته به NO را بدون افزایش در بیان NOS اندوتلیومی بهبود بخشد و آن را از طریق افزایش دفاع آنتی اکسیدانی مانند افزایش سوپر اکسید دیسموتاز (Superoxide dismutases: SOD) و افزایش گلوکوتاتیون پروکسیداز (Glutathione peroxidase) توجیه

در پژوهش تجربی حاضر اثر هشت هفته تمرین شنا به مدت های ۳۰ و ۶۰ دقیقه بر رت های دیابتی مطالعه شد. بر اساس نتایج به دست آمده القای دیابت موجب کاهش معنی دار در سطوح سرمی انسولین، NO و VEGF (به ترتیب ۲۹ درصد، ۳۱ درصد و ۱۷ درصد) و افزایش معنی دار در سطوح گلوکز، مقاومت به انسولین و (TGF-β1 به ترتیب ۲۵۶ درصد، ۱۸۰ درصد و ۲۶ درصد) شد، ولیکن پس از هشت هفته، تمرین ۳۰ دقیقه ای شنا سبب افزایش معنی دار در سطوح سرمی NO و VEGF (به ترتیب ۳۳/۱۴ درصد و ۱۸/۲۸ درصد) و ادامه روند کاهش انسولین (۱۲ درصد) و کاهش سطح سرمی TGF-β1 (۱۹/۷۷ درصد) نسبت به گروه دیابت شد. در حالی که تمرین ۶۰ دقیقه سبب تغییر معنی دار هیچ یک از این عوامل نسبت به گروه دیابت نشد. شایان ذکر است که بین تمرین ۳۰ و ۶۰ دقیقه در سطوح سرمی NO و TGF-β1 نیز اختلاف معنی دار وجود داشت. مقایسه تأثیر مدت فعالیت در این پژوهش، از تأثیر مثبت ۳۰ دقیقه تمرین شنا نسبت به ۶۰ دقیقه بر این آزمودنی ها حمایت می کند. کاهش تولید و فعالیت زیستی NO ناشی از مقاومت

می‌کند [۷، ۲۲]. در این راستا جلالی و همکاران (۲۰۱۴) 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 آنتی‌اکسیدانی ناشی از فعالیت بدنی توجیه کرد.

دیابت روی عوامل پیش‌برنده و مهارکننده رگ‌زایی نیز اثر می‌گذارد و این اثر باعث تغییر موازنه بین عوامل تحریک‌کننده و مهارکننده 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 [۶، 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 (3-Phosphatidylinositol Kinase: IP3K) و (Protein kinase B) AKT موجب افزایش عامل القاکننده هیپوکسی (Hypoxia inducible factor: HIF) می‌شود که این عامل با اثرگذاری بر ناحیه پیش‌برنده ژن VEGF سبب افزایش بیان آن می‌شود و احتمالاً، از این طریق باعث افزایش بیان ژن عوامل رگ‌زایی می‌شود [۲۳]. از سوی 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 به مدت ۸ هفته موجب افزایش معنی‌دار در مقدار سرمی VEGF در رت‌های دیابتی شد [۲۴]. لویس (Lloyd) 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]. مہری الوار و همکاران (۲۰۱۶) 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 VEGF و 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 [۲۶] 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؛ به نظر 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 به نظر می‌رسد التهاب ناشی از تمرین طولانی مدت ۶۰ 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 کوک و همکاران (۲۰۱۱) نیز کاهش معنی‌دار در سطح TGF- $\beta$ 1 بطن چپ موش‌های مسن بعد از ۱۲ هفته فعالیت مشاهده کردند [۲۰]. اسلامی و همکاران (۲۰۱۶) هم بعد از هشت هفته تمرین هوازی کاهش معنی‌دار



## اثر تمرین شنا بر سطوح NO، VEGF و TGF-β1 در موش های دیابتی

سه جلسه و هر جلسه سی دقیقه) نمود پیدا کرد ولی با افزایش زمان تمرین در هر جلسه به میزان دو برابر نقش مهارى مهمی در تقسیم و رشد سلول اعمال می کند. مطالعات نشان داده اند مسیر پیام رسانی TGF-β1 با Smad 2/3 آغاز و با Smad 4 ادامه می یابد 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 می افتد، برای جبران این آسیب های عضلانی به نظر می رسد انجام تمرینات شنا ۳۰ دقیقه ای می تواند اثر مهارى این مسیر را تعدیل کند، ولی تمرینات ۶۰ دقیقه ای به دلیل افزایش التهاب، این اثر را تشدید کند. متأسفانه روش تحقیق حاضر به صورتی نیست که بتوان راجع به این مسئله نظر قطعی داد و ضرورت انجام پژوهش های بیشتری در آینده احساس می شود. همچنین با توجه به این که این عامل در سرم و اندازه گیری آن ها در نمونه انسانی قابل انجام بوده است، استفاده از نمونه های حیوانی یکی از محدودیت های تحقیق است که امکان پیدا کردن نمونه های 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 آزمودنی ها، می تواند 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 می تواند به عنوان راه کاری غیر دارویی توصیه شود.

## تشکر و قدردانی

از کلیه کسانی که در این پژوهش محققان حاضر را یاری دادند، قدردانی می شود. این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی با شماره ۵-۸۷۶۸ است که با اعتبار مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری اجرا شده است.

در سطوح مغزی TGF-β1 مشاهده کردند [۲۷]. از طرف دیگر؛ فلینور (Fleenor) و همکاران (۲۰۱۰) نیز عدم کاهش معنی دار در بیان TGF-β1 شریان کاروتیدی موش های جوان را گزارش کردند [۱۹]. عدم تغییر در بیان پروتئینی TGF-β1 بافت قلبی موش های 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-β1 تأثیر می گذارند. یکی از مهم ترین عوامل تعیین کننده سطوح سرمی TGF-β1، ماکروفاژها و سلول های تک هسته ای خون مانند لنفوسیت ها هستند [۲۹]، به طوری که این بافت ها در پاسخ به التهاب TGF-β1 را ترشح و به درون جریان خون رها می کنند. بهبود در قدرت آنتی اکسیدانی بدن ناشی از فعالیت بدنی می تواند رهائش TGF-β1 از این بافت ها 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 می شود [۳۱]. برخی از مطالعات نشان دادند افزایش استرس اکسیداتیو، با افزایش بیان NADPH اکسیداز و کاهش فعالیت SOD، بیان TGF-β1 را افزایش می دهد. در واقع TGF-β1 خاصیت آنتی اکسیدانی دارد که در پاسخ به التهاب افزایش می یابد. انجام تمرینات هوازی در افراد مسن و دیابتی، قدرت آنتی اکسیدان بدن را افزایش می دهد [۳۲]. انجام این گونه تمرینات می تواند 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 یافته های به دست آمده از تمرینات ۳۰ دقیقه ای در تأیید فرضیه های موجود بود. به نظر می رسد تمرینات ۶۰ دقیقه ای نتوانست رهائش TGF-β1 را در بافت ها کاهش و به تعدیل سرمی آن همانند تمرینات ۳۰ دقیقه ای کمک کند. همچنین تغییرات مشاهده شده در سطح سرمی TGF-β1 وابسته به زمان است، به طوری که با گذشت زمان (هشت هفته، هر هفته

## 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, Esmailzadeh 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, Karani 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- $\beta$ 1 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

- induction of atrogen-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- $\beta$ 1-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, Joussem 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, Bartłomiejczyk 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*

- 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 homae 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)