The effect of eight weeks of crocetin extract along with aerobic exercise on the expression of VEGF and endothelin-1 gene in heart tissue of elderly diabetic rats

Shahram Pouya[1], Khosro Jalali Dehkordi[2*1], Farzaneh Taghian[3], Mehdi Kargarfard[4], Seyed Ali Hoseini[5]

1. Ph.D. student, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2. Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran khosrojalali@khuisf.ac.ir
3. Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
4. Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
5. Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Marvdasht, Iran

Received: 12 July 2024; Accepted: 06 January 2025, Published: 21 June 2025

Abstract

Background and aims: Diabetes is one of the main risk factors for cardiovascular diseases that lead to impaired endothelial function and defective angiogenesis. The purpose of this study is to investigate the effect of eight weeks of consumption of crocetin extract along with aerobic exercise on the expression of VEGF and endothelin-1 gene in the heart tissue of preterm rats. Diabetes and elderly diabetes were performed

Methods In this experimental study, 25 elderly female c57bl6 male mice with diabetes, aged 14-16 weeks and weighing 30-35 grams, were divided into groups (1) diabetic (2) diabetic + aerobic exercise (3) diabetic + crocetin (4) Diabetics + aerobic exercise + crocetin and (5) healthy control were divided. Aerobic exercise group did intermittent aerobic exercise for eight weeks, five sessions a week, and 40 mg/kg dose of streptozotocin (STZ) was injected. They also received 30 mg/kg/day crocetin. The expression of VEGF and endothelin 1 genes was measured by Real Time PCR technique. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for data analysis. was ($P \geq 0.05$).

Results: The expression values of VEGF and endothelin 1 in the diabetes group were significantly higher than other groups ($P=0.05$); The gene expression values of VEGF and endothelin 1 in the diabetic +aerobic exercise and diabetic+ crocetin and diabetic+ aerobic exercise+ crocetin groups were significantly lower than the diabetic group ($P=0.05$).

Conclusion: It seems that interval aerobics and crocetin both alone and simultaneously are effective in improving angiogenesis in diabetic heart tissue. Therefore, it is recommended to use periodic aerobics and crocetin in diabetic conditions of old age.

[1] . Corresponding author
Khosro Jalali Dehkordi
Address: Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
Tel:09131854997
Email:khosrojalali@khuisf.ac.ir

Keywords: Exercise, crocetin, angiogenesis, heart, elderly, diabetes

اثر هشت هفته مصرف عصاره کروستین همراه با تمرین هوازی بر بیان ژن VEGF و اندوتلین -۱ بافت قلب موش‌های دیابتی سالمند

شهرام پویا[۱]،خسرو جلالی دهکردی[۱*۲] ،فرزانه تقیان[۳] ،مهدی کارگر فرد[۴] ،سید علی حسینی[۵]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش،گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان(خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۲. دانشیار،گروه فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان(خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۳. استاد،گروه فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان(خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۴. استاد،گروه فیزیولوژی دانشکده علوم ورزشی،دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۵. استاد،گروه فیزیولوژی ورزش، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۲۲، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۷، تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۳/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: دیابت از عوامل خطر اصلی بیماری‌های قلبی عروقی هستند که منجر به اختلال در عمل‌کرد اندوتلیال و رگزایی معیوب می‌شوند .مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته مصرف عصاره کروستین همراه با تمرین هوازی بر بیان ژن VEGF و اندوتلین -۱ بافت قلب موش‌های پیش دیابتی و دیابتی سالمند انجام گرفت

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش نر c57bl6 ماده سالمند مبتلا به دیابت با سن ۱۴-۱۶ هفته و وزن ۳۰-۳۵ گرم به گروه‌های ((۱)دیابتی (۲)دیابتی+تمرین هوازی(۳)دیابتی+کروستین(۴)دیابتی+تمرین هوازی+کروستین و(۵)کنترل سالم تقسیم شدند.. گروه تمرین هوازی به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته تمرین هوازی تناوبی انجام دادند و دوز ۴۰ mg/kg استروپتوزتوسین[۲] (STZ) تزریق شد. همچنین کروستین را ۳۰ mg/kg/day به صورت تزریق صفاقی دریافت کردند. میزان بیان ژن های VEGF و اندوتلین ۱توسط تکنیک Real Time PCR سنجیده شد.جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد (P≤۰/۰۵).

یافته‌ها: مقادیر بیان‌ژنی VEGF و اندوتلین ۱ در گروه دیابت به طور معنی داری بالاتر از سایر گروهها بود (P=۰/۰۰۱)؛ مقادیر بیان ژنی VEGF و اندوتلین ۱ در گروه دیابتی+تمرین هوازی و دیابتی+کروستین و دیابتی+تمرین هوازی+کروستین به طور معنی داری پایین تر از گروه دیابتی بود (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد هوازی تناوبی و کروستین هم به تنهایی و هم به طور همزمان در بهبود آنژیوژنز در بافت قلب مبتلا به دیابت موثر باشند. لذا استفاده از هوازی تناوبی و کروستین در شرایط دیابتی سالمندی توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تمرین، کروستین، آنژیوژنز، قلب، سالمند، ،دیابت

[۱]. **نویسنده مسوول**
خسرو جلالی دهکردی
آدرس: گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان(خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
تلفن: ۰۹۱۳۱۸۵۴۹۹۷
ایمیل: khosrojalali@khuisf.ac.ir

[2] Streptozotocin

مقدمه

سازمان بهداشت جهانی دیابت را به‌عنوان یک اختلال متابولیکی چندگانه که با هایپرگلیسمی[1] (افزایش غیر طبیعی قند خون) مزمن همراه با اختلالات متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین ناشی از نقص در ترشح انسولین، عمل‌کرد انسولین یا هر دو مشخص می‌شود، تعریف کرده است (شباب و همکاران[2]،۲۰۲۰). پژوهش‌گران بر این باورند که بیماری دیابت موجب کاهش رشد و توسعه عروق جانبی کرونر، کاهش قطر مویرگ‌ها به فیبر، کاهش ظرفیت انتشار مویرگ‌ها و همچنین اختلال در تنظیم همودینامیک عروق عضلات می‌شود (ژانگ و همکاران[3]،۲۰۲۴). امروزه ده‌ها نوع فاکتور آنژیوژنیکی و آنژیواستاتیکی شناسایی شده است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به VEGF (فاکتور آنژیوژنیکی) اشاره کرد. پروتئین VEGF (فاکتور رشد اندوتلیال عروقی) قوی‌ترین میتوژن مخصوص سلول‌های اندوتلیال است که وقتی به گیرنده‌های خود بر روی سلول‌های اندوتلیال متصل شود، می‌تواند باعث تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول‌ها شود. همچنین VEGF مانع از مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول‌های اندوتلیال می‌شود. (سیفی و همکاران،۲۰۲۳). بررسی های انسانی نیز نشان گر این بود که تزریق داخل عضله میوکارد یا تزریق شریانی VEGF ، به طور بارزی عروق جانبی را در بیماران با سندروم ایسکیمی افزایش می دهد .لذا امروزه VEGF درمانی به عنوان یک درمان جدید در بیماران با انسداد عروق کرونر یاعروق محیطی پیشنهاد و استفاده می شود(دالی و همکاران[4]،۲۰۲۳). اندوتلین[5] عامل منقبض کننده عروقی به شمار می آید که ازاندوتلیوم آزاد می شود و محل اصلی سنتز آن، بیشتر سلول های اندوتلیال است .اندوتلین شامل نوع ۱ ، ۲ و ۳ است و همگی دارای ۲۱ اسیدآمینه هستند و فقط در چند نوع اسیدآمینه، باهم اختلاف دارند که در میان آن ها اندوتلین- ۱ نسبت به بقیه از غلظت بالاتری برخوردار است(اسمیجر و همکاران[6]،۲۰۲۱) . اندوتلین- ۱ ،تنگ کننده قوی عروقی است که به وسیله سلولهای اندوتلیال عروقی ترشح می شود .این ماده به عنوان قویترین تنگ کننده عروقی شناخته شده است و اثر انقباضی آن ده برابر بیشتر از آنژیوتانسین- ۲ ،وازوپرسین و نوروپپتید Y است ازطرف دیگر، اندوتلین- ۱ در ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز دخالت دارد(دابک و همکاران،۲۰۲۲) .در عروق آترواسکلروتیک، تغییرات مشخص و بارز سلولی بااختلال در روند انتقال یون های کلسیم همراه است .با وجود پیشرفت های قابل توجه در علوم پزشکی، هنوز آترواسکلروز یکی از علل اصلی بیماری های قلبی-عروقی محسوب می شود افزایش غلظت اندوتلین- ۱ به عنوان یکی از عوامل مهم ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز مطرح است(ایزدی و همکاران،۲۰۲۰) . تمرین منظم ورزشی به عنوان یک مداخله درمانی برای پیشگیری و درمان دیابت نوع ۲ پذیرفته شده است. زیرا این امر به طور مثبت روی متابولیسم انرژی و حساسیت به انسولین تأثیر می‌گذارد (کان و همکاران[7]،۲۰۱۹). در دستورالعمل پزشکی ورزشی کالج آمریکا، تمرینات استقامتی با شدت متوسط به مدت ۳۰ دقیقه در روز به مدت ۵ روز در هفته به طور کلی ۱۵۰ دقیقه در هفته یا تمرین استقامتی با شدت شدید به مدت ۲۰ دقیقه در روز، ۳ روز در هفته و در کل ۷۵ دقیقه در هفته برای اکثر بزرگسالان توصیه می‌شود (کاظمی و همکاران،۲۰۲۳). اخیراً تمرینات اینتروال با شدت بالا (HIIT[8]) از ۴ تا ۶ دوره‌ی ۳۰ ثانیه‌ای

1 .Hyperglycemia
2 . Shabab et al
3 . Zhang et al
4 . Daulay et al
5 . Endothelin
6 . Smeijer et al
7 . Kon et al
8. High-intensity interval training

دوچرخه سواری با شدت تمام و ۴ تا ۴:۳۰ دقیقه بازگشت برای القای سازگاری‌های متابولیکی، مشابه با تمرینات استقامتی مرسوم معرفی شده است(شباب و همکاران،۲۰۲۳).کروستین، از مهمترین متابولیت ها در زعفران آپوکاروتنوئیدهای کروستین و کروسین می باشند .رنگ زعفران بطور عمده به میزان و کیفیت حضور ماده کروسین بستگی دارد که خود فرم استری گلیکوزیله شده ماده کروستین توسط آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز می باشد(سو و همکاران[1]،۲۰۲۱) یکی موادی که خاصیت آنتی اکسیدانی دارد کروستین زعفران می باشد کروستین یک اسید دیکاربوکسیلیک آپوکاروتنوئید طبیعی است که در گل زعفران یافت می شود و ساختار شیمیایی کروستین هسته مرکزی کروسین را تشکیل می دهد این ترکیب مسوول رنگ زعفران می باشد(جی گیوثر و همکاران[2]،۲۰۱۲) مشخص شده است که کروستین در هایپرتروفی قلبی القا شده با نوراپی نفرین برا مهار پراکسیداسیون چربی ها و بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز وگلوتاتیون پراکسیداز اثر حفاظتی ایجاد نموده است.بنابر یافته های محققین اثر هایپوگلیسمیک عصاره زعفران می تواند با مکانیسم هایی نظیر کاهش مقاومت به انسولین ، تحریک جذب گلوکز به وسیله بافت های محیطی، و ممانعت از جذب گلوکز روده ای اعمال گردد (میلاد جردی و همکاران،۲۰۱۵). با توجه به شواهد و مدارک ذکر شده، زعفران و مواد موثره آن به ویژه کروسین، کروستین و سافرانال دارای آثارحفاظت کنندگی و تعدیل کنندگی بر روی آسیب های قلبی عروقی،کاهش مقاومت به انسولین وکاهش قندخون در دیابت و همچنین کاهش استرس اکسیداتی و کلیوی و بهبود کار گوارش درمطالعات درون تنی و برون تنی می باشند(مقدسی و همکاران،۲۰۲۴).با وجود افزایش اطلاعات به دست آمده از اثرات مخرب دیابت نوع دو بر آنژیوژنز ،ساز و کار مولکولی مربوط به اثر تمرین هوازی تناوبی بر مسیر آنژیوژنز در بافت قلب به طور دقیق شناخته نشده است و پژوهش ها محدودی به بررسی تاثیر تمرین هوازی و کروستین بر متغیرهای مسیر سیگنالینگ آنژیوژنز در بافت قلب پیش دیابتی و دیابتی سالمند پرداخته اند.از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروستین بر ببیان ژن برخی شاخص های آنژیوژنز بافت قلب موش های سالمند مبتلا به پیش دیابت و دیابت انجام شد.

روش پژوهش

این مطالعه از نوع تحقیقات تجربی می باشد که به لحاظ استفاده از نتایج دارای جنبه کاربردی است. اصول اخلاقی مراحل اجرایی کار رعایت گردید.آزمودنی های این تحقیق ۲۵ سر موش نر c57bl6 با محدوده سنی۱۴-۱۶ هفته و محدوده وزنی ۳۵-۳۰ گرم که به صورت (۱)دیابتی (۲)دیابتی+تمرین هوازی(۳) دیابتی+کروستین(۴) دیابتی+تمرین هوازی+کروستین(۵) سالم تقسیم شدند. موش های نر c57bl6 به عنوان نمونه تحقیق از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی مرکز رویان اصفهان خریداری شدند.

روش القا دیابت

موش های c57bl6 سالمند دیابتی در حالت ۱۲ ساعت ناشتا تحت تزریق صفاقی تک دوز ۴۰ mg/kg استروپتوزتوسین (STZ) حل شده در بافر سیترات قرار گرفتند و ۴ روز پس از تزریق STZ گلوکز خون موش های صحرایی با استفاده از گلوکومتر اندازه گیری شد در این تحقیق موش های صحرایی با گلوکز خون بالای ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان موش های دیابتی شناخته

[1] . Su et al
[2] . G Gutheil

خواهند شد (مقدسی و همکاران،۲۰۲۴).این نکته قابل ذکر است که تعداد ۴ سر موش صحرایی پس از القای دیابت به دلیل واکنش فردی بهSTZ تلف شدند و در انتها تعداد ۲۵سر موش صحرایی وارد گروه های تحقیق شدند.

پروتکل تمرین تناوبی هوازی

گروه های تمرین پس از یک هفته آشناسازی با نوار گردان، با سرعت ۷-۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، برای اندازه گیری حداکثر سرعت دویدن برای طراحی تمرین یک آزمون وامانده ساز انجام دادند. برای این بدست آوردن حداکثر سرعت دویدن موش های صحرایی، ابتدا به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه گرم کردند و در ادامه به ازای هر سه دقیقه یک متر بر دقیقه به سرعت آن ها افزوده شد تا به واماندگی برسند. واماندگی به حالتی اتلاق گردید که موش صحرایی دیگر قادر به دویدن بر نوار گردان نباشد و یا در یک دقیقه سه بار متوالی به انتهای نوارگردان برخورد نماید.؛ هفته اول سازگاری تمرینی با سرعت ۷-۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه اجرا شد سپس در ادامه جهت انجام تمرین تناوبی هوازی شامل دویدن با تناوب سرعت متفاوت۷،۱۰،۱۳،۱۰،۷ در هفته اول و سرعت در هفته هشتم۱۰،۱۳،۱۶،۲۵،۱۹،۱۶،۱۳،۱۰ روی تردمیل بود. سرعت در طول تناوبی هوازی به تدریج از ۷ به ۲۵ متر در دقیقه طی ۸ هفته افزایش یافت. تمرینات تناوبی هوازی برای هشت هفته، پنج جلسه در هفته انجام شد و ۵ دقیقه در ابتدای تمرین برای گرم کردن و ۵ دقیقه در انتهای تمرین برای سرد کردن در نظر گرفته شد؛ شدت تمرین برای گرم کردن و سرد کردن معادل ۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن در نظر گرفته شد(حق پرست و همکاران[1]،۲۰۲۲) .

جدول۱: برنامه تمرینی هوازی تناوبی(HIIT)

هفته	سرعت(M/min)	مدت زمان(Min)	تعداد روز
سازگاری	۱۰-۷	۱۰	۵
اول	۷،۱۰،۱۳،۱۰،۷	۱۰،۳،۱۹،۳،۱۰	۵
دوم	۷،۱۰،۱۳،۱۵،۱۲،۱۰،۷	۵،۳،۳،۳،۲۳،۳،۳،۵	۵
سوم	۱۰،۱۳،۱۶،۱۷،۱۶،۱۳،۱۰	۵،۳،۳،۲۳،۳،۳،۵	۵
چهارم	۱۰،۱۳،۱۶،۱۸،۱۶،۱۳،۱۰	۵،۳،۳،۲۳،۳،۳،۵	۵
پنجم	۱۰،۱۳،۱۶،۱۹،۱۶،۱۳،۱۰	۵،۳،۳،۲۳،۳،۳،۵	۵
ششم	۱۰،۱۳،۱۶،۲۰،۱۶،۱۳،۱۰	۵،۳،۳،۲۳،۳،۳،۵	۵
هفتم	۱۰،۱۳،۱۶،۲۱،۱۸،۱۵،۱۲،۱۰	۵،۳،۳،۲۰،۳،۳،۳،۵	۵
هشتم	۱۰،۱۳،۱۶،۲۵،۱۹،۱۶،۱۳،۱۰	۵،۳،۳،۲۰،۳،۳،۳،۵	۵

مصرف کروستین

جهت مکمل کروستین (Sigma-Aldrich) روزانه ۳۰ میلی گرم در هر کیلوگرم به ازای وزن هر موش به صورت گاواژ خورانده شد(۱۶).

[1] . Haghparast et al

تشریح و نمونه برداری

برای انجام تشریح و نمونه برداری ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی، موش های صحرایی به وسیله محلول کتامین ۵۰ mg/ml و زیلازین ۲۰ mg/ml، بی‌هوش شدند. جهت تشخیص بی هوشی متخصصین آزمایشگاه از روش های آزمون درد استفاده نمودند و پس از اطمینان از بی هوشی کامل، حفره سینه ای موش های صحرایی شکافته شد و پس از کنار زدن سایر بافت ها و قطع شریان های ورودی و خروجی به قلب، بافت قلب موش های صحرایی به دقت استخراج شد و بلافاصله در تانک ازت غوطه ور گردید. در ادامه بافت قلب تا زمان اندازه گیری متغیر ها در دمای ۸۰- نگهداری شد.

روش اندازه گیری مقادیر بیان ژنی VEGFو ET-1

جهت اندازه گیری سطوح بیان ژنی VEGFو ET-1 از روش Time PCR استفاده شد. برای این منظور ابتدا مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت از قلب جدا شد، استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام شد. برای اطمینان از کیفیت RNA، با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت امریکا) استفاده شد. علاوه بر این برای بررسی کیفیت RNA از فرمول (C (µg/µl) = A260× ε× d/1000) استفاده گردید. در ادامه پس از سنتز cDNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده در کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) از بر اساس راهنمای ژن‌های VEGFو ET-1 در سایت PUBMED واکنش رونویسی معکوس انجام شد. برای تعیین کارایی و اختصاصی بودن پرایمرها از پیش پرایمرها با استفاده از نرم افزار موجود در سایت NCBI ارزیابی گردید، همچنین جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژنی متغیرهای تحقیق با استفاده از ژن کنترل داخلی TBP استفاده شد و پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه Time PCR و پس از رسیدن نمونه ها به آستانه بیان (Cycle Treshold) جهت کمی سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

جدول ۲: توالی پرایمر متغیرهای تحقیق

نام ژن	توالی پرایمر	دما (درجه سانتی گراد)
B2m	*F: ACAGTTCCACCCGCCTCACATT* *R: TAGAAAGACCAGTCCTTGCTGAAG*	۶۰
***Endothelin* -1**	*F:* GAGACTGGAACACAACCATAGCC *R:* AGAACACGAGCCCGAAGGTGAT	۶۰
VEGF	*F:* TGGACCTTCCAGGATGAGGACA *R:* GTTCATCTCGGAGCCTGTAGTG	۶۰

روش اندازه گیری انسولین و گلوکز سرمی:

میزان غلظت گلوکز با کمک دستگاه گلوکومتر (Alpha TRAK, Zoetis, USA) و میزان غلظت انسولین (ab277390) توسط کیت Abcam به روش الایزا اندازه گیری شد.

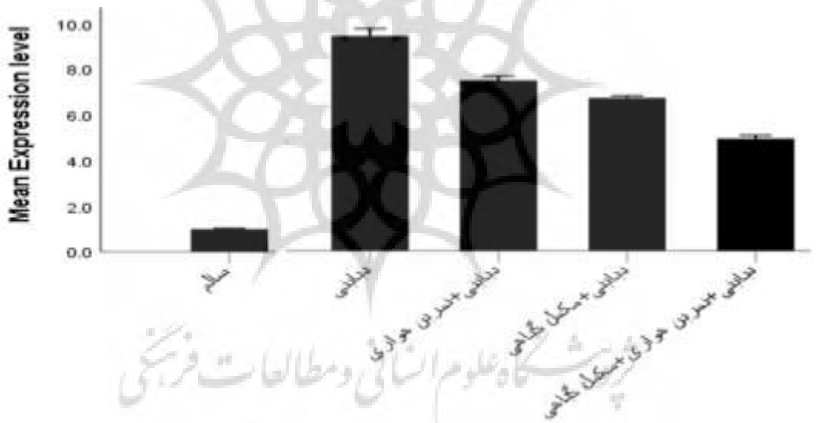
روش تجزیه و تحلیل داده ها

جهت تجزیه و تحلیل داده ها در این تحقیق ابتدا برای بررسی طبیعی بودن توزیع یافته ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. در ادامه با توجه به طبیعی بودن توزیع یافته ها جهت بررسی تفاوت بین گروه ها از آزمون آنالیز واریانس یک راهه استفاده شد و برای تعیین محل تفاوت بین گروه ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism 8.3.3 انجام شد ($P\leq ۰/۰۵$).

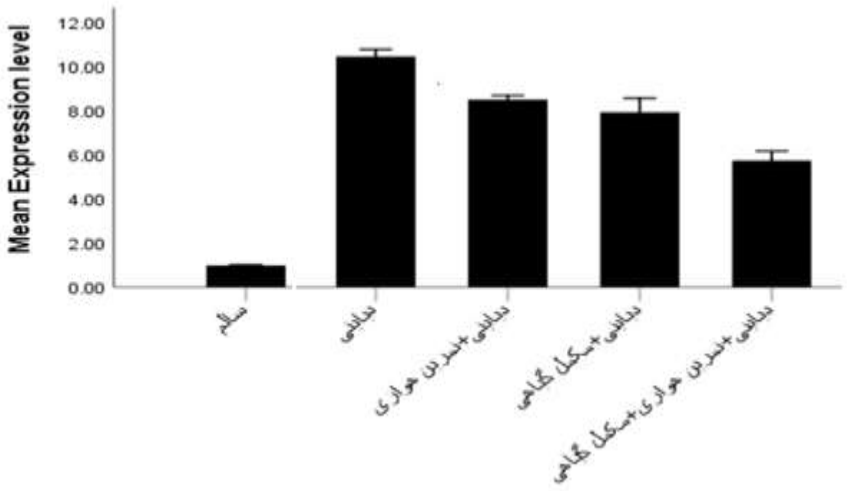
یافته‌ها

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیرVEGF($P=۰/۰۰۱$) و ET-1 ($P=۰/۰۰۱$) در بافت قلب موش های صحرایی مبتلا به دیابت در گروه های تحقیق وجود دارد.

همچنین مقادیر VEGFدر گروه های دیابتی ($P=۰/۰۰۱$) افزایش معنی داری نسبت به گروه سالم داشت. اما در گروههای دیابتی+تمرین هوازی($P=۰/۰۰۱$) و دیابتی+مکمل گیاهی($P=۰/۰۰۱$) و دیابت+تمرین هوازی +مکمل گیاهی ($P=۰/۰۰۱$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی دار داشت. همچنین مقادیر ET-1 در گروه های دیابتی ($P=۰/۰۰۱$) افزایش معنی داری نسبت به گروه سالم داشت. اما در گروه های دیابتی+تمرین هوازی ($P=۰/۰۰۱$) و دیابتی+مکمل گیاهی($P=۰/۰۰۱$) و دیابت+تمرین هوازی +مکمل گیاهی ($P=۰/۰۰۱$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی دار داشت. (شکل۳)



شکل ۳: سطوح بیان ژنی VEGF در بافت قلب موش های صحرایی در گروه های تحقیق



شکل ۴: سطوح بیان ژنی ET-1 در بافت قلب موش های صحرایی در گروه های تحقیق

بحث

با توجه به مطالب ارایه شده در ارتباط با عوامل موثر بر عروقی شدن قلبی هنگام فعالیت ورزشی که عبارت بودند از هایپوکسی، نیروهای همودینامیک،متابولیت ها، اتساع کننده های عروقی، سایتوکاین ها و انواع کشش و نتایج پژوهش گذشته مبنی بر ارتباط مثبت و معنی دار بین تمرین استقامتی این عوامل می توان امیدوار بود این شیوه تمرینی بر آنژیوزنز قلبی موثر باشد(ژانگ و همکاران،۲۰۱۸). لذا هدف از پژوهش حاضر تعیین حاضر اثر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروستین بر بیان برخی شاخص های آنژیوژنز بافت قلب موش های دیابتی سالمند بود.نتایج این پژوهش نشان داد، که نتایج تحقیق ما نشان داد که تمرین و کروستین باعث کاهش VEGF موش های دیابت شد. سوری و همکاران ۲۰۱۸ نشان دادند که تمرین استقامتی باعث افزایش VEGF بافت قلب رت های دیابتی می شود . بهبود عملکرد اندوتلیال در افراد دیابت می تواند در نتیجه تأثیرپذیری بیشتر شریان ها به تمرینات ورزشی باشد. تخریب مسیر سیگنالینگ وازودیلاسیون و حذف تولید نیتریک اکساید با واسطه انسولین به دنبال مقاومت انسولینی یکی از عوامل مؤثر در دیسفانکشن اندوتلیال می باشد. این نتایج نشان می دهد که آثار مفید تمرین ورزشی در افزایش NO است به وسیله بهبود کاهش عوامل التهابی بافت چربی شکمی واسطه شوند. از طرف دیگر بهبود کنترل گلیسمیک که با بهبود مسیر پیام رسانی نسفاتین و اپلین احتمالا منجر به کاهش مسیرشده است یکی از سازوکارهای دیگر ناشی از تمرین ورزشی در بهبود عملکرد اندوتلیال، تنش برشی است که باعث افزایش NO تولید می شود(ایزدی و همکاران،۲۰۱۸).منظمی و همکاران به بررسی فرایند رگ‌زایی به تشکیل عروق خونی جدید از عروق موجود اطلاق می‌شود که رویدادی مهم در فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی است. در این تحقیق نقش تمرین استقامتی توأم با مصرف عصارۀ چوب دارچین روی بیان برخی نشانگرهای رگ‌زایی در موش‌های صحرایی نر دیابتی‌شده با استروپتوزتوسین (STZ) بررسی شد.در این تحقیق تجربی ۲۴ سر موش صحرایی نر دیابتی‌شده با STZ 50 mg/kg با وزن تقریبی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم و محدودۀ سنی ۸ تا ۱۰ هفته، به صورت تصادفی به چهار گروه ۱. کنترل دیابتی، ۲. دیابتی+مصرف دارچین، ۳. دیابتی+تمرین استقامتی و ۴. دیابتی+مصرف دارچین+تمرین استقامتی تقسیم شدند. به‌منظور بررسی اثر القای دیابت بر متغیرهای پژوهش شش سر موش صحرایی در گروه کنترل سالم قرار گرفتند. در ادامه گروه‌های ۳ و ۴ به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته و هر جلسه ۱۰-۳۰ دقیقه، با سرعت ۱۰-۱۸ متر بر دقیقه به تمرین استقامتی پرداختند و گروه‌های ۲ و ۵ روزانه 200 mg/kg عصارۀ دارچین را به‌صورت گاواژ دریافت کردند سطوح بیان ژنی اندوتلین-۱ و eNOS و در

گروه کنترل دیابتی به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل سالم بود. سطوح eNOS و VEGF در گروه تمرین، گروه مصرف دارچین و گروه تمرین استقامتی+ دارچین تفاوت معناداری با گروه کنترل دیابتی نداشت. اما سطوح اندوتلین-۱ در گروه تمرین استقامتی+ دارچین بالاتر از گروه کنترل دیابتی بود. به‌نظر می‌رسد تمرین استقامتی با روش تحقیق حاضر و عصارهٔ پوست دارچین با این مقدار اثر معناداری بر برخی نشانگرهای آنژیوژنز در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت ندارد، هرچند با توجه به محدودیت اطلاعات در خصوص سازوکار اثر استروپتوزتوسین بر آنژیوژنز در بافت قلب تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است .بنابراین، این مطالعات اثر محافظتی قلبی کروستین را نشان دادند، که ممکن است با تعدیل فعالیت های آنزیمی آنتی اکسیدانی مرتبط باشد و می تواند اثرات مکانیسم های مرتبط با ROS را محدود کند، آسیب های قلبی عروقی را بهبود بخشد و برای درمان CVD مفید باشد(رحبی و همکاران،۲۰۱۵). نشان داده شده است که زعفران می تواند جریان کلسیم القا شده به وسیله نوراپی نفرین و کلرو پتاسیم در آئورت جدا شده رت به صورت وابسته به دوز مهار نماید که احتمالا ناشی از اثر آنتاگونیستی زعفران بر روی کانال های کلسیم است. همچنین مشخص شده است که کروستین (۱۵و۳۰mg.kg) به صورت وابسته به دوز و میزان قابل توجهی اتساع وابسته به اندوتلیال آئورت را به حد کنترل می رساند(کوهپایه و همکاران،۲۰۲۱). از طرفی دیگر نتایج تحقیقات نشان داده که افزایش غلظت اندوتلین ۱ به عنوان قوی ترین عوامل تنگ کننده عروق در افراد مبتلا به دیابت مشاهده شده است (رینولد و همکاران[1]،۲۰۱۷). به طوری که کاستو و همکاران همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه خود نشان دادند که سطح اندوتلین ۱ پلاسما درافراد مبتلا به دیابت نوع دوم به دلیل دفع زیاد آلومین ادرای افزایش یافت و این نشان دهنده اختلال در عملکرد اندوتلیال در بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم است. همچنین مطالعات نشان داده اند که افزایش سطوح پلاسمایی اندوتلین ۱ با ویژگی های سندروم مقاومت به انسولین مرتبط است(کامپیا و همکاران[2]،۲۰۱۴ ، زارعی و همکاران،۲۰۲۰). بنابراین می توان نتیجه گرفت که تمرین هوازی و مصرف مکمل کروستین با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش مقاومت به انسولین باعث کاهش اندوتلین ۱ در موش های دیابتی شد.به طور کلی به نظر می رسد تمرین هوازی و مصرف کروستین هم به تنهایی و هم به طور همزمان می توانند در بهبود آنژیوژنز در بافت قلب متعاقب شرایط دیابت موثر باشد. لذا استفاده از کروستین توام با تمرینات هوازی تناوبی در شرایط دیابتی سالمندی توصیه می شود. این مطالعه چندین محدودیت داشت که از جمله بررسی سایر مسیرهای سیگنالینگ نظیر HIF ، عدم اندازه گیری بیان پروتئین با تکنیک های وسترن بلات و ایمنو هیستوشیمیایی بود که پیشنهاد می شود پژوهش های آتی این موارد را در نظر بگیرند

نتیجه گیری

نتایج نشان داد تمرین هوازی تناوبی و مصرف عصاره کروستین باعث کاهش بیان VEGFو اندوتلین ۱ در قلب موش های دیابت شد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر تمرین تناوبی هوازی و مصرف کروستین می تواند باعث بهبود عملکرد اندوتلیال و در نتیجه کاهش مشکلات عروقی در شرایط دیابتی شود.

تقدیر و تشکر

[1] . Reynolds
[2] .Campia

این مقاله حاصل پایان نامه دوره دکتری تخصص فیزیولوژی ورزش با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1401.383 دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان(خوراسگان) می باشد.نگارندگان این مقاله کمال قدردانی و تشکر از کلیه دوستان وهمکاران عزیز که مارا در انجام این پژوهش یاری رساندند ابراز می دارند.

حامی مالی

این مقاله حامی مالی ندارد.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی برای نویسندگان وجود ندارد.

منابع

Campia U, Tesauro M, Di Daniele N, Cardillo C. The vascular endothelin system in obesity and type 2diabetes: Pathophysiology and therapeutic implications. Life sciences. 2014; 118(2):149-55 . DOI: 10.1016/j.lfs.2014.02.028

Dąbek J, Piotrkowicz J, Głogowska-Ligus J, Domagalska-Szopa M, Szopa A, Schreiber L. Expression of the Endothelin-1 Gene and Its Type a Receptor including Physical Activity among Patients with Acute Myocardial Infarction. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022 Jun 14;19(12):7289. DOI: 10.3390/ijerph19127289 . ##

Daulay ER, Munir D, Lelo A, Putranto TA, Icksan AG, Haryuna TS, Eyanoer PC, Tobing TC. Effect of intra-arterial heparin flushing (IAHF) to prestin and vascular endothelial growth factor (VEGF) level in hearing loss patients. Pharmacia. 2023 ; 31;70(2):351-8. DOI :10.5455/medarh.2023.77.218-221 ##

G Gutheil W, Reed G, Ray A, Anant S, Dhar A. Crocetin: an agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer. Current Pharmaceutical Biotechnology 2012; 13(1): 173. DOI: 10.2174/138920112798868566 .

Haghparast Azad M, Niktab I, Dastjerdi S, Abedpoor N, Rahimi G, Safaeinejad Z, et al. The combination of endurance exercise and SGTC (Salvia–Ginseng–Trigonella–Cinnamon) ameliorate mitochondrial markers' overexpression with sufficient ATP production in the skeletal muscle of mice fed AGEs-rich high-fat diet. Nutrition & metabolism. 2022; 5;19(1):17. DOI:10.1186/s12986-022-00652-w

Izadi MR, Afousi AG, Fard MA, Bigi MAB. High-intensity interval training lowers bloodpressure and improves apelin and NOx plasma levels in older treated hypertensive individuals. Journal of Physiology and Biochemistry. 2018;74(1):47-55 DOI: 10.1007/s13105-017-0602-0.

Izadi MR, Aghdasi A, Akbari Neda, Bababegi M. Investigating the effect of high-intensity interval training on cardio-respiratory fitness levels, endothelin-1 and nitric oxide levels in obese people. Journal of Jiroft University of Medical Sciences.2020;9(4);789-798. DOI: http://journal.jmu.ac.ir##

Kazemi Pordanjani M, Banitalebi E, Roghani M, Hemmati R. Ursolic acid enhances the effect of exercise training on vascular aging by reducing oxidative stress in aged type 2 diabetic rats. Food Science & Nutrition. 2023;11(2):696-708. DOI: 10.1002/fsn3.3105

Kohpayeh Z,Farsi S, Hoseyni A,Fathi E. The effect of continuous and intermittent exercise training with crocin consumption on the expression of AP-1 and NF-κB genes in heart tissue of obese male Wistar rats. Applied sports physiology research paper.2021;17(33);161-171 DOI: https://asp.journals.umz.ac.ir/article_3364_0bd5a69e23fbf938f2895e1d53502873.pdf

Kon, M., Ebi, Y., & Nakagaki, K. . Effects of a single bout of high-intensity interval exercise on C1q/TNF-related proteins. Applied physiology, nutrition, and metabolism.2019; 44(1), 47-51. DOI:10.1139/apnm-2018-0355

Kostov K, Blazhev A, Atanasova M, Dimitrova A. Serum concentrations of endothelin-1 and matrix metalloproteinases-2,-9 in pre-hypertensive and hypertensive patients with type 2 diabetes. International journal of molecular sciences. 2016,1182 . DOI: 10.3390/ijms17081182

Miladjerdi A, Haghighatdost F, Azadbakh L. Toxicity of saffron, crocin and its crostin against cancer and normal cells: a systematic review. Clinical excellence.2015;4(1);33-53 DOI: http://ce.mazums.ac.ir/article-۱-۸۰۰-fa.html.

Moghadasi M, Akbari F, Najafi P. Interaction of aerobic exercise and crocin improves memory, learning and hypocampic tau and neurotrophins gene expression in rats treated with trimethytin as a model of Alzheimer's disease. Molecular biology reports. 2024;51(1):111. DOI: 10.1007/s11033-023-09197-4

Monazami AM,Etemad Z,Nazari A,Mohamadi M. The effect of eight weeks of endurance training combined with the consumption of cinnamon stick extract on the expression of angiogenic markers in the heart tissue of streptotocin treated diabetic male rats. Physiology of exercise and physical activity journal.2022;5(1);11-20. DOI: 10.52547/joeppa.15.1.11

Rajabi A, Seyahkohian M,Akbarnejad A. Comparison of the effect of a therapeutic exercise program and oral consumption of saffron on the levels of IL-6, TNF-a and glycemic control in obese women with type 2 diabetes.2015,25(66);20-33. DOI: file:///C:/Users/JLL-101/Downloads/524139716603.pdf

Reynolds LJ, Credeur DP, Manrique C, Padilla J, Fadel PJ, Thyfault JP. Obesity, type 2 diabetes, andimpaired insulin-stimulated blood flow: role of skeletal muscle NO synthase and endothelin-1. Journal of applied physiology. 2017; 122(1):38-47 DOI: 10.1152/japplphysiol.00286.2016 .

Seyfi F ,Landi KH, The effect of moderate intensity endurance training on the expression of angiogenesis factors and oxidative stress of the heart in rats. Journal of Ardabil University of Medical Sciences.2020;20(3):361-37 .DOI:1http://jarums.arums.ac.ir/article-1-1953-fa.html [In persion] ##

Shabab S, Mahmoudabady M, Gholamnezhad Z, Fouladi M, Asghari AA. Diabetic cardiomyopathy in rats was attenuated by endurance exercise through the inhibition of inflammation and apoptosis. Heliyon. 2024 ; 15;10(1). DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e23427 ##

Shabab S, Mahmoudabady M, Gholamnezhad Z, Niazmand S, Fouladi M, Emadi ZM. Endurance Exercise Prevented Diabetic Cardiomyopathy through the Inhibition of Fibrosis and Hypertrophy in Rats. Reviews in Cardiovascular Medicine. 2024 ; 16;25(5):173. DOI:10.31083/j.rcm2505173

Smeijer JD, Kohan DE, Webb DJ, Dhaun N, Heerspink HJ. Endothelin receptor antagonists for the treatment of diabetic and nondiabetic chronic kidney disease. Current opinion in nephrology and hypertension. 2021; 1;30(4):456-65. DOI: 10.1097/MNH.0000000000000716 ##

Soori R, CHoobine S. Effect of endurance training on VEGF protein level in tissue of cardiac muscle in STZ-induced diabetic Wistar rats. Yafteh 2018; 20: 110-24. DOI:.org/10.29252/aassjournal.7.1.11

Su X, Yuan C, Wang L, Chen R, Li X, Zhang Y, et al. The beneficial effects of saffron extract on potential oxidative stress in cardiovascular diseases. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2021; 19: 1-14. DOI:10.1155/2021/6699821

Zanatta CM, Gerchman F, Burttet L, Nabinger G, Jacques-Silva MC, Canani LH, et al. Endothelin-1levels and albuminuria in patients with type 2diabetes mellitus. Diabetes research and clinical practice. 2008; 80(2):299-304. DOI: 10.1016/j.diabres.2007.12.024

Zarei M, Beheshti Nasr SMB, Hamedinia M, Taheri Chadorneshin H, Askari Majdabadi H. Effects of 12 weeks of combined aerobic-resistance exercise training on levels of chemerin, omentin and insulin resistance in men with type 2 diabetes. Koomesh. 2020; 22(1):155-63 DOI: http://koomeshjournal.semums.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-161-1&sid=1&slc_lang=en

Zhang F, Lin JJ, Tian HN, Wang J. Effect of exercise on improving myocardial mitochondrial function in decreasing diabetic cardiomyopathy. Experimental Physiology. 2024 Feb;109(2):190-201. DOI: 10.1113/EP091309 ## .

Zhang J, Wang Y, Dong X, Liu J. Crocetin attenuates inflammation and amyloid-β accumulation in APPsw transgenic mice. Immunity & Ageing. 2018;15(1):1-8. DOI: 10.1186/s12979-018-0132-9