

The effects of two types of continuous and intermittent exercise training along with the drug atorvastatin on the expression of VEGFR and mir503 genes in the aortic tissue of diabetic model rats.

Maryam Mosapoor Ahmadi¹, Parvin Farzanegi^{1*}, Hajar Abbaszade¹, Farzaneh Farrokhi²

1.Department of Sports Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

2.Department of Biological Sciences and Technologies, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Received: 09 August 2024; Accepted: 28 November 2024, Published: 21 July 2025

Abstract:

Introduction: Disruption of natural angiogenesis is one of the key features of many pathological complications related to diabetes. The purpose of this research is to investigate the effect of two types of continuous and intermittent exercise along with the drug atorvastatin on the expression of VEGFR and mir503 genes in the aorta tissue of diabetic model rats.

Materials and methods: The current research was experimental. The research samples were 40 male rats, which were randomly divided into eight groups: 1) healthy control, 2) diabetic, 3) diabetic-saline (to control the disturbing effects of injection), 4) diabetic+continuous, 5) diabetic+intermittent, 6) diabetic+atorvastatin, 7) diabetic+continuous+atorvastatin, 8) diabetic+intermittent+atorvastatin. The rats performed two types of continuous and intermittent training 5 days a week for 8 weeks with increasing intensity. Atorvastatin was also injected intraperitoneally to the rats in the groups receiving atorvastatin daily at a dose of 20 mg per kilogram of body weight.

Result: The results showed that the level of VEGFR gene expression in the diabetic and diabetic-saline groups had a significant decrease compared to the healthy control group ($p \leq 0.001$). On the other hand, there was a significant increase in the intermittent-diabetes-atorvastatin group compared to the diabetes group ($p = 0.016$). Also, the results related to mir503 gene expression showed that diabetes and diabetes-saline groups had a significant increase compared to the healthy control group ($p \leq 0.001$). On the other hand, the intermittent diabetes, continuous diabetes, intermittent diabetes-atorvastatin and continuous diabetes-atorvastatin groups had a significant decrease compared to the diabetes group (respectively, $p = 0.031$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.001$). The diabetes-intermittent-atorvastatin and diabetes-continuous-atorvastatin groups also had a significant decrease compared to the diabetes-atorvastatin group (respectively, $p = 0.05$, $p = 0.022$). **Conclusion:** Based on the results obtained, both types of intermittent and continuous exercise training and a combination of exercise with the drug atorvastatin had an effect in increasing VEGFR and decreasing miR503 in the aortic tissue of diabetic rats, and these effects were more evident in the combination group of intermittent exercise and atorvastatin drug than in other groups. Therefore, it is possible that doing exercise along with atorvastatin can be effective in reducing cardiovascular complications caused by diabetes.

Keywords: Endurance training, Interval Training, Atorvastatin, VEGFR, MIRN503

¹. Corresponding author

Parvin Farzanegi

Address: Department of Sports Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Tel: 09112230233

Email: parvin.farzanegi@gmail.com

اثرات دو نوع تمرین ورزشی تداومی و تناوبی به همراه داروی آترواستاتین بر بیان ژن های VEGFR و mir503 بافت آئورت موش های صحرائی مدل دیابتی

مریم موسی پور احمدی^۱، پروین فرزانیگی^{۱*}، هاجر عباسزاده^۱، فرزانه فرخی^۲

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

۲- گروه علوم و فناوری های زیستی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۵/۱۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۸، تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۳/۳۱

چکیده:

هدف: اختلال در رگ‌زایی طبیعی یکی از ویژگی‌های کلیدی بسیاری از عوارض پاتولوژیک مرتبط با دیابت است، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات دو نوع تمرین ورزشی تداومی و تناوبی به همراه داروی آترواستاتین بر بیان ژن های VEGFR و mir503 بافت آئورت رت‌های مدل دیابتی بود.

مواد و روش ها: پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. نمونه های پژوهش، ۴۰ سر موش صحرائی نر بودند که در هشت گروه به صورت تصادفی تقسیم‌بندی شدند: (۱) کنترل-سالم، (۲) دیابتی، (۳) دیابتی-سالین (برای کنترل اثرات مزاحم تزریق)، (۴) دیابتی+تداومی، (۵) دیابتی+تناوبی، (۶) دیابتی+آترواستاتین، (۷) دیابتی+تداومی+آترواستاتین، (۸) دیابتی+تناوبی+آترواستاتین. موش ها دو نوع تمرین تداومی و تناوبی را ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته با شدت فزاینده انجام دادند. آترواستاتین نیز به صورت روزانه با دوز ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به رت های گروه های دریافت کننده آترواستاتین تزریق می شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میزان بیان ژن VEGFR در گروه دیابت و دیابت-سالین در مقایسه با گروه کنترل-سالم کاهش معنی داری داشته اند ($p \leq 0/001$). در مقابل گروه دیابت-تناوبی-آترواستاتین در مقایسه با گروه دیابت افزایش معنی‌داری داشته است ($p=0/016$). همچنین، نتایج مربوط به بیان ژن mir503 نشان داد که گروه دیابت و دیابت-سالین در مقایسه با گروه کنترل-سالم افزایش معنی داری داشته اند ($p \leq 0/001$). در مقابل گروه های دیابت-تناوبی، دیابت تداومی، دیابت-تناوبی-آترواستاتین و دیابت-تداومی-آترواستاتین در مقایسه با گروه دیابت کاهش معنی‌داری داشته اند (به ترتیب $p=0/031$ ، $p \leq 0/001$ ، $p \leq 0/001$ ، $p \leq 0/001$). گروه های دیابت-تناوبی-آترواستاتین و دیابت-تداومی-آترواستاتین نیز نسبت به گروه دیابت-آترواستاتین کاهش معنی داری داشتند (به ترتیب، $p=0/05$ ، $p=0/022$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج بدست آمده هر دو نوع تمرین ورزشی تناوبی و تداومی و ترکیبی از تمرین با داروی آترواستاتین در افزایش VEGFR و کاهش mir503 بافت آئورت رت‌های دیابتی اثر داشته که این اثرات در گروه ترکیبی از تمرین تناوبی و داروی آترواستاتین از سایر گروه ها مشهودتر بوده است. بنابراین این احتمال می رود که انجام تمرین ورزشی به همراه داروی آترواستاتین بتواند در کاهش عوارض قلبی عروقی ناشی از بیماری دیابت مؤثر باشد.

واژه های کلیدی: تمرینات ورزشی تداومی، تمرینات ورزشی تناوبی، آترواستاتین، VEGFR، mir503

۱. نویسنده مسوول

پروین فرزانیگی

نشانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۲۲۳۰۲۳۳

ایمیل: parvin.farzanegi@gmail.com

مقدمه

دیابت یک اختلال متابولیک مزمن است که با هیپرگلیسمی و مقاومت به انسولین مشخص می شود و منجر به طیف وسیعی از عوارض قلبی عروقی می شود (۱). بیماری های قلبی عروقی یکی از شدیدترین عوارض مرتبط با دیابت شیرین^۱، به ویژه دیابت نوع ۲ است. دیابت شیرین از طریق مکانیسم هایی مانند اختلال عملکرد اندوتلیال، استرس اکسیداتیو و اختلال در رگ زایی باعث ایجاد اختلال در عروق می شود (۲). بیان گیرنده های فاکتور رشد اندوتلیال عروقی^۲ و microRNA-503 عوامل مهمی هستند که بر رگ زایی و ترمیم اندوتلیال تأثیر می گذارند. VEGFR، به ویژه VEGFR2، نقش مهمی در تشکیل رگ های خونی ایفا می کند و به طور قابل توجهی در شرایط دیابتی کاهش می یابد و آسیب عروقی را تشدید می کند (۳)، در حالی که بیان بیش از حد miR-503 با هدف قرار دادن VEGFR2، تکثیر و ترمیم سلول های اندوتلیال عروقی را مهار می کند و منجر به افزایش عوارض عروقی در شرایط دیابتی می شود (۴، ۵). بنابراین، هدف قرار دادن بیان VEGFR2 و miR-503 راهبردهای درمانی بالقوه ای را برای کاهش عوارض عروقی در دیابت ارائه می دهد. مطالعات اخیر نشان می دهد که بازایی سیگنالینگ VEGFR2 می تواند مکانیسم های ترمیم عروقی را در بیماران دیابتی بهبود بخشد و اثرات هیپرگلیسمی و استرس اکسیداتیو بر عروق را کاهش دهد (۶). همچنین، تعدیل بیان miR-503 یک رویکرد درمانی امیدوارکننده برای بهبود سلامت عروق در دیابت ارائه می دهد. از سوی دیگر، ورزش منظم، اعم از مداوم و متناوب، در کاهش عوارض عروقی در دیابت نیز موثر است. نشان داده شده است که فعالیت بدنی منظم، به ویژه ورزش های هوازی، باعث بهبود نتایج قلبی عروقی در جمعیت دیابتی می شود. ورزش مداوم شامل فعالیت با شدت متوسط پایدار است و با بهبود عملکرد اندوتلیال، حساسیت به انسولین و کاهش استرس اکسیداتیو مرتبط است (۵). ورزش متناوب، مانند تمرین تناوبی با شدت بالا، به طور متناوب بین تلاش های با شدت بالا و دوره های استراحت جایگزین می شود و پیشرفت های برتری را در آمادگی قلبی عروقی و ترمیم اندوتلیال ارائه می دهد (۷). شواهد در حال ظهور نشان می دهد که ورزش می تواند بیان ژن های کلیدی درگیر در سلامت عروق، از جمله VEGFR2 و miR-503 را تعدیل کند (۶). در موش های مدل دیابتی، ورزش مداوم و متناوب نشان داده شده است که سیگنال دهی VEGFR2 را افزایش می دهد و بیان miR-503 را کاهش می دهد و باعث ترمیم عروق و کاهش عوارض دیابت می شود (۳). از طرفی، آتورواستاتین که یک استاتین شناخته شده است، برای کاهش کلسترول استفاده می شود، مزایای قلبی عروقی بیشتری از جمله تعدیل بیان ژن مربوط به عملکرد اندوتلیال را نشان داده است (۶). آتورواستاتین، یک مهارکننده قوی آنزیم ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلووتاریل کوآنزیم A ردوکتاز^۳، در درجه اول برای کاهش کلسترول تجویز می شود، اما مزایای قلبی عروقی گسترده تری از جمله تأثیر آن بر عملکرد اندوتلیال و بیان ژن را نشان داده است (۸). نشان داده شده است که آتورواستاتین بیان VEGFR2 را افزایش می دهد، باعث تقویت رگ زایی و بهبود ترمیم اندوتلیال در شرایط دیابتی می شود (۶). علاوه بر این، آتورواستاتین استرس اکسیداتیو و التهاب را در بافت های عروقی کاهش می دهد و اثرات محافظتی آن را بیشتر می کند (۱). مطالعات اخیر نشان می دهد که آتورواستاتین همچنین بیان miR-503 را کاهش می دهد، تکثیر سلول های اندوتلیال را بازایی می کند و نتایج عروقی را در مدل های دیابتی بهبود می بخشد (۴). این امر پتانسیل این دارو را برای استفاده در ترکیب با مداخلات ورزشی برای تعدیل بیشتر بیان ژن و بهبود سلامت عروق برجسته می کند. لذا این پژوهش به بررسی دو نوع تمرین (تداومی و تناوبی) و داروی آتورواستاتین بر بیان ژن های VEGFR و miR503 بافت آئورت رت های مدل

¹ . Diabetes Mellitus

² . Vascular endothelial growth factor receptor

³ . 3-Hydroxy-3-Methyl glutaryl CoA Reductase

دیابتی پرداخته است.

مواد و روش ها

تهیه و نگهداری حیوانات

نمونه‌های پژوهش حاضر را موش‌های آزمایشگاهی تشکیل می‌دادند. با توجه به این که آزمودنی‌ها در آزمایشگاه به لحاظ بسیاری از متغیرها تحت کنترل بودند، از این رو پژوهش حاضر از نوع تجربی می‌باشد. در این مطالعه تجربی تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن حدود ۶ تا ۸ هفته در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری انتخاب و وارد پژوهش شدند. سپس آن‌ها در ۸ گروه بصورت تصادفی تقسیم بندی شدند که شامل (۱) کنترل-ساله، (۲) دیابتی، (۳) دیابتی-سالین (برای کنترل اثرات مزاحم تزریق)، (۴) دیابتی+تداومی، (۵) دیابتی+تناوبی، (۶) دیابتی+آترواستاتین، (۷) دیابتی+تداومی+آترواستاتین، (۸) دیابتی+تناوبی+آترواستاتین بودند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد اخلاق NO.19.33.2018 تأیید شد. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه در قفس‌هایی از جنس پلی کربنات، دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت 55 ± 5 درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب قرار گرفتند. جیره غذایی آزمودنی‌ها، امولسیون پر چرب بود که هر روز صبح به میزان ۱۰ میلی لیتر به ازای هر کیلو گرم وزن بدن به صورت گاوژ دریافت می‌کردند. امولسیون پرچرب که از روش زو و همکاران تهیه شد شامل: ۴۰۰ گرم روغن ذرت، ۱۵۰ گرم ساکاروز، ۸۰ گرم پودر کامل شیر، ۱۰۰ گرم کلسترول، ۱۰ گرم سدیم دیاکسیکولات، ۴/۳۶ گرم توئین ۸۰، ۱/۳۱ گرم پروپیلن گلیکول، ۵/۲ گرم مولتی ویتامین، ۱۰ گرم نمک، ۵/۱ گرم مواد معدنی مخلوط و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر، بود (۹). در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در دسترس آن‌ها بود.

القای دیابت

پس از گروه بندی موش‌ها برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد که به صورت درون صفاقی و تک دوز به آن‌ها تزریق شد و برای اطمینان از دیابتی بودن موش‌ها، نمونه‌های خونی از گوشه چشم جهت سنجش گلوکز تهیه شد و میزان گلوکز بالاتر از ۱۲۶ میلی گرم بر دسی لیتر، دیابتی در نظر گرفته شد (۱۰).

پروتکل تمرین ورزشی

قبل از شروع پروتکل اصلی، برای آشنایی از فعالیت، موش‌ها به مدت یک هفته با تواتر پنج جلسه و به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر از تردمیل استفاده شد. برنامه تمرینی شامل دو پروتکل تمرین تداومی و تناوبی بود. برنامه تمرین تداومی هفته اول با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه برای مدت زمان پنج دقیقه شروع به دویدن روی تردمیل کرد. سپس هر هفته با افزایش سرعت ۱ تا ۲ متر بر دقیقه به مدت ۱ تا ۲ دقیقه بر زمان دویدن افزوده شد. به طوری که در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان دویدن به ۱۳ تا ۱۴ دقیقه رسید و در هفته هشتم سرعت دویدن به ۲۸ تا ۲۹ متر بر دقیقه و مدت زمان ۲۱ تا ۲۲ دقیقه رسید. تعداد جلسات تمرین تداومی پنج مرتبه در هر هفته انجام شد (جدول ۱). از سویی دیگر برنامه تمرین تناوبی شامل شش ست ۲/۵ دقیقه ای بود که بین هر ست مدت زمان چهار دقیقه استراحت در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است تمرین تناوبی برای مدت ۵

جلسه در هفته انجام شد (جدول ۲). هم‌چنین رت های گروه کنترل بدون هیچ‌گونه تمرینی هشت هفته را پشت سر گذاشتند (۱۱).

جدول ۱. پروتکل تمرین تداومی

مدت	سرعت	هفته
۷-۵	۱۶-۱۴	۲-۱
۱۰-۱۲	۱۹-۲۱	۴-۳
۱۵-۱۷	۲۳-۲۵	۶-۵
۲۱-۲۲	۲۹-۲۸	۸-۷

جدول ۲. پروتکل تمرین تناوبی

مدت	سرعت	هفته
۶ ست ۲/۵ دقیقه ای	۱۶-۱۴	۲-۱
*	۲۱-۱۹	۴-۳
*	۲۴-۲۵	۶-۵
*	۲۸-۲۹	۸-۷

مصرف آترواستاتین

آترواستاتین تهیه شده از شرکت داروسازی سبحان دارو در گروه های آترواستاتین و آترواستاتین+تمرین، به صورت روزانه با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به آن‌ها تزریق شد (۱۲).

بافت برداری و اندازه گیری متغیرها

پس از اتمام دوره تمرینی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی با ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) رت‌ها بی‌هوش شدند و نمونه‌گیری بافتی انجام شد. بدین ترتیب بافت آئورت آن‌ها جدا و در محیط ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به آزمایشگاه برای اندازه گیری متغیرهای VEGFR و mir503 ارسال شد. بافت با استفاده از یک میلی مول محلول تریزول لیز و با دستگاه همگن کننده بافت، هموژن شد. در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲۵ میلی لیتر کلروفرم صورت گرفت. RNA استخراج شده با یک میلی لیتر اتانول سرد ۷۰ درصد شستشو و خشک شدند. سپس به آن آب استریل (۱/۵ میکرولیتر بر میلی گرم بافت) اضافه شد. برای سنجش کمی RNA استخراج شده از دستگاه بایوفتومر با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده است. استخراج cDNA برای هر نمونه سه مرحله ساخت cDNA انجام گرفت. بدین ترتیب که در ابتدا ۸ میکروگرم از RNA استخراج شده را با ۰/۸ میکرولیتر از آنزیم Dnase I و ۲ میکرولیتر از بافر ۱۰x آن و آب DEPC خورده مخلوط کرده و حجم نمونه به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. محصول ایجاد شده را بدون ورتکس کردن و به آرامی مخلوط کرده و سپس با برنامه‌ریز در دستگاه ترموسایکر انکوبه شد. ۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه

سانتیگراد، ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد. پس از اتمام مراحل ترموسایکلر ۲۸۰ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد و برای استفاده در QPCR در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای هر نمونه cDNA نیز، یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر b2m به عنوان کنترل داخلی، برای آزمون حضور cDNA تهیه شد. نمونه ها به آرامی و بدون ورتکس مخلوط شده و در دستگاه RT-PCR با برنامه ریز PCR قرار گرفتند. ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد، واکنش از مرحله دوم به بعد، برای ۴۰ سیکل تکرار شد. Cts مربوط به واکنش ها توسط نرم افزار دستگاه RT-PCR استخراج و در نهایت CT Mean سه مرتبه ثبت شد. جهت کمی سازی مقادیر بیان ژن های مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

روش آماری

جهت طبقه بندی داده های حاصل از این پژوهش، از آمار توصیفی استفاده شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیروویلک استفاده گردید. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها و تعامل بین آن ها از تحلیل واریانس یک طرفه و در صورت معنی دار بودن داده ها برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. یافته ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P \leq 0/05$) بررسی شدند و برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها نیز از نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۲۲ استفاده گردید. تمامی داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار آرایه شدند.

یافته ها

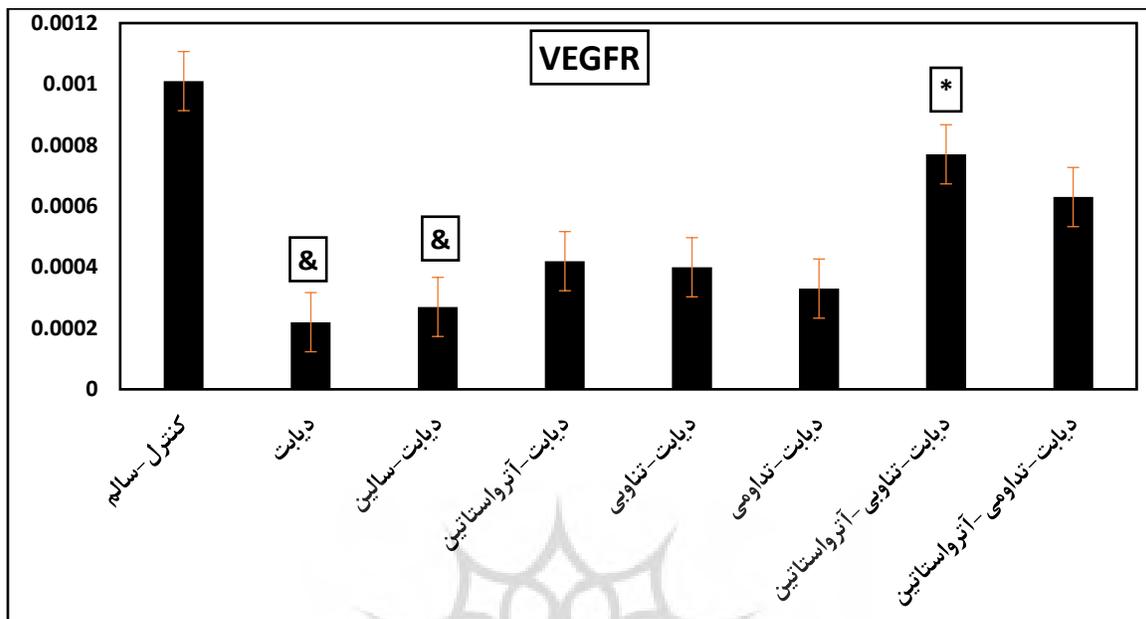
میانگین و انحراف استاندارد وزن و گلوکز گروه های مختلف پژوهش در جدول ۳ نمایش داده شده است.

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد وزن و گلوکز در گروه های مختلف

گروه متغیر	کنترل- سالم	دیابت- سالین	دیابت- آترواستاتین	دیابت- تناوبی	دیابت- تداومی	دیابت- تناوبی- آترواستاتین	دیابت- تداومی- آترواستاتین
گلوکز	۹۰±۱۲	۲۴۰±۱۲	۲۴۲±۱۱	۲۴۱±۱۲	۲۳۷±۱۴	۲۳۸±۹/۵	۲۳۸±۱۰
وزن بیش آزمون (گرم)	۳۳۵/۵±۳۳/۲	۳۳۲/۷۵±۴۸/۴۶	۳۳۳/۶۷±۳۵/۷۸	۳۳۲±۳۷/۹	۳۳۶±۲۳	۲۳۶±۱۲	۳۳۴/۱±۳۷/۸
وزن پس از هشت هفته (گرم)	۳۳۴/۸۷±۲۳/۹	۳۳۰/۸۷±۴۹/۵۶	۳۳۱/۸۸±۴۵/۶۴	۳۲۵±۳۸/۹	۳۱۷±۲۱	۳۱۸±۲۱/۶۲	۳۱۴/۳۷±۳۹/۲

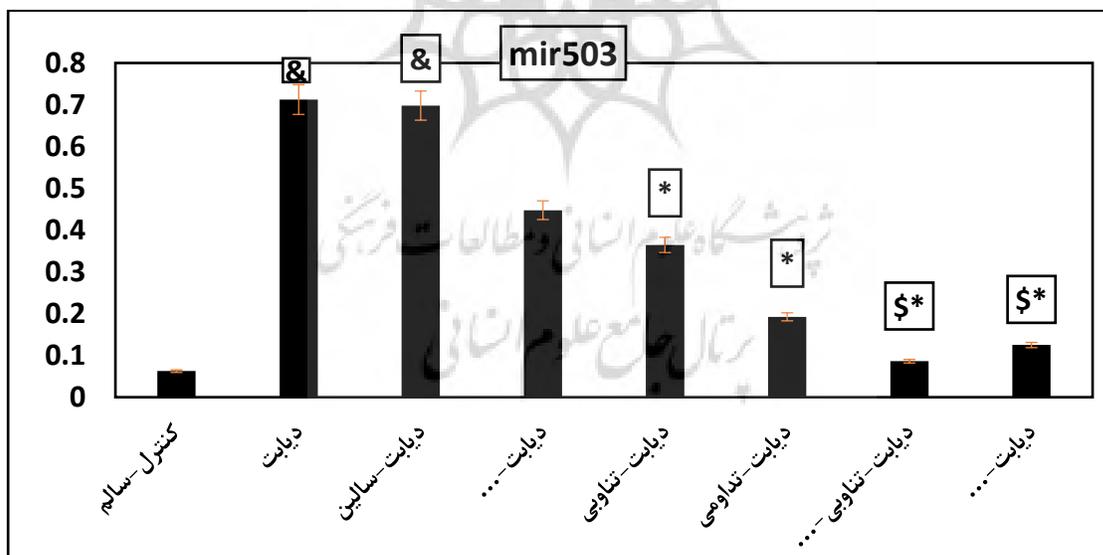
تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد تفاوت معنی داری در میزان بیان ژن VEGFR و mir503 بین گروه های مختلف پژوهش وجود دارد ($p \leq 0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد میزان بیان ژن VEGFR در گروه دیابت و دیابت-سالین در مقایسه با گروه کنترل-سالم کاهش معنی داری داشته اند ($p \leq 0/001$). در مقابل گروه دیابت-تناوبی-آترواستاتین در مقایسه با گروه دیابت ($p = 0/016$) افزایش معنی داری داشته است (نمودار ۱). همچنین، نتایج آزمون توکی مربوط به بیان ژن mir503 نشان داد که گروه دیابت و دیابت-سالین در مقایسه با گروه کنترل-سالم افزایش معنی داری داشته اند ($p \leq 0/001$). در مقابل گروه های دیابت-تناوبی ($p = 0/031$)، دیابت تداومی ($p \leq 0/001$)، دیابت-تناوبی-آترواستاتین ($p \leq 0/001$) و دیابت-تداومی-

آترواستاتین ($p \leq 0/001$) در مقایسه با گروه دیابت کاهش معنی داری داشته اند. گروه های دیابت-تناوبی-آترواستاتین ($p=0/05$) و دیابت-تداومی-آترواستاتین ($p=0/022$) نیز نسبت به گروه دیابت-آترواستاتین کاهش معنی داری داشتند (نمودار ۲).



نمودار ۱. مقایسه میانگین بیان ژن VEGFR در گروه های مختلف پژوهش

&: نشانه معنی داری نسبت به گروه کنترل، *: نشانه معنی داری نسبت به گروه دیابت و دیابت-سالین



نمودار ۲. مقایسه میانگین بیان ژن mir503 در گروه های مختلف پژوهش

&: نشانه معنی داری نسبت به گروه کنترل، *: نشانه معنی داری نسبت به گروه دیابت و دیابت-سالین، \$: نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت-آترواستاتین

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطوح VEGFR گروه دیابت نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار و گروه های تداومی، تناوبی،

تناوبی-مکمل و تداومی-مکمل نسبت به گروه دیابت به گروه دیابت افزایش یافت که این افزایش تنها در گروه تناوبی-مکمل معنی دار بود. در مقابل، بیان ژن mir503 گروه دیابت نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار و گروه های تناوبی، تداومی، تناوبی-مکمل و تداومی-مکمل نسبت به گروه دیابت کاهش معنی دار یافتند. مطالعات نشان دادند که VEGFR در همکاری با پروتئین VEGF آثار خود را اعمال می کند. فعالیت بیولوژیکی ژن VEGF از طریق گیرنده های این پروتئین، از جمله VEGFR1، VEGFR2 و VEGFR3 صورت می گیرد (۱۳)، همان گونه که در مطالعات گزارش شده زمانی که بیان mRNA پروتئین VEGF در پی تمرینات ورزشی افزایش یافته، mRNA پروتئین VEGFR نیز افزایش نشان داده است (۱۴، ۱۵). در تحقیق رحیمی و همکاران (۲۰۲۳) گزارش شده که VEGFR در آنژیوژنز ناشی از ایسکمی که با تمرین ورزشی همراه بوده است، نقش دارد (۱۴). وقتی که به وسیله روش های آزمایشگاهی خاص VEGFR را سرکوب نمودند، فعالیت های مرتبط با اتساع عروقی مختل شدند (۱۶). این موضوع اهمیت وجود VEGFR در سیگنالینگ مربوط به فعالیت های اندوتلیالی را نشان می دهد. در پژوهش حاضر تمرینات تناوبی و تداومی به تنهایی افزایش معنی داری را در بیان ژن VEGFR در رت های دیابتی ایجاد نموده، اما تمرینات تناوبی در ترکیب با داروی آترواستاتین بیان ژن VEGFR را با افزایش معنی دار مواجه نمود. احتمالاً وجود شرایط پاتولوژیک دیابت می تواند دلیل این نتایج باشد. از طرفی، miRNAها در پاتوژنز بیماری های متابولیک قلبی نقش دارند و مسیرهای تنظیمی آن را می توان در دیابت نوع ۲ مشاهده کرد. تمرینات ورزشی بیان miRNAهایی مانند miR-503-5p را چه در کوتاه مدت و چه در دراز مدت تعدیل می کند که با تنظیم اهدافی که بر فرآیندهای سلولی و مولکولی کلیدی مختلف تأثیر می گذارند، اغلب در جهت مخالف آن چیزی که در پاتوژنز توضیح داده شده است، عمل می کنند (۱۷). وی و همکاران (۲۰۲۲) طی پژوهشی نشان دادند که بیان نابجا و بیش از حد miR-503-5p می تواند به طور معنی داری بیان VEGF را مهار کند، هم چنین بیان بیش از حد miR-503-5p در سلول های اندوتلیال ورید ناف انسانی و سلول های سرطانی کولون منجر به سطوح بیان کمتر VEGFR و متعاقباً مهار مسیر سیگنالینگ AKT شد (۱۸). علاوه بر این، بیان بیش از حد miR-503-5p هم لنفانژیوژنز و هم رگ زایی را در داخل بدن سرکوب کرد و به طور قابل توجهی از تومورزایی سلول های HT-29 در موش ها جلوگیری کرد (۱۹). در پژوهش حاضر تمرینات تناوبی و تداومی به تنهایی و در ترکیب با داروی آترواستاتین بیان ژن miR-503 رت های دیابتی را با کاهش معنی دار مواجه نمود، که ممکن است از این طریق در بهبود فاکتورهای رگ زایی و کاهش عوارض ناشی از دیابت نقش داشته باشند. تحقیقات نشان می دهد که کاهش miR-503-5p با افزایش VEGF و گیرنده های اختصاصی اش VEGFR، در حالی که مسیرهای سیگنالینگ AKT را تحریک می کند، می تواند برای پیشگیری از پیشرفت عوارض پاتولوژیک ناشی از دیابت کمک کننده باشد (۱۸، ۲۰). لذا استراتژی های درمانی برای تعدیل miR-503-5p در دیابت می تواند برای مهار پیشرفت اثرات پاتولوژیک مفید باشد. تحقیقات اخیر نشان می دهد که هم ورزش و هم آترواستاتین می توانند بیان miR-503 را کاهش دهند و ترمیم اندوتلیال و کاهش آسیب عروقی را در مدل های دیابتی افزایش دهند (۲۱). علاوه بر این، مداخلات ورزشی و عوامل دارویی مانند آترواستاتین در تنظیم مثبت بیان VEGFR2 و افزایش رگ زایی در بافت های دیابتی نشان داده شده است (۷). ترکیب تمرینات ورزشی با مداخلات دارویی مانند آترواستاتین اثرات هم افزایی بر سلامت عروق در جمعیت دیابتی نشان داده است (۵). ورزش با تعدیل بیشتر مسیرهای مولکولی مرتبط با رگ زایی و ترمیم اندوتلیال، اثرات آترواستاتین را افزایش می دهد. به عنوان مثال، ورزش مداوم ممکن است بهبودهای ثابتی در بیان VEGFR2 ایجاد کند، در حالی که ورزش متناوب تنظیم پویاتری در miR-503 را ارائه می دهد که منجر به بهبود سریع در سلامت عروق می شود (۳). نشان داده شده که هر دو تمرین ورزشی مداوم و متناوب، زمانی که با آترواستاتین ترکیب می شوند، سیگنال دهی VEGFR2 را به طور قابل توجهی

افزایش داده و بیان miR-503 را در موش‌های مدل دیابتی کاهش می‌دهند و یک استراتژی درمانی امیدوارکننده برای کاهش عوارض عروقی در دیابت ارایه می‌دهند (۲).

نتیجه گیری

همان گونه که از نتایج پژوهش حاضر پیداست بهترین نتیجه در گروه‌های ترکیبی تمرین تناوبی و تداومی به همراه داروی آتورواستاتین به دست آمد، که نشان از اثر هم‌افزایی تمرین ورزشی و داروی آتورواستاتین در تعدیل بیان ژن های VEGFR و mir503 بافت آئورت رت‌های دیابتی هستند، که ممکن است از این طریق در کاهش عوارض بیماری دیابت مؤثر باشند. با این وجود، اظهار نظر قطعی در این زمینه نیاز به پژوهش های بیشتری دارد. تحقیقات آتی باید بر بهینه سازی این مداخلات ترکیبی برای کاربرد بالینی در بیماران دیابتی و درک کامل مکانیسم های مولکولی درگیر در بهبود پیامدهای عروقی در جمعیت های دیابتی تمرکز کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از قسمتی از رساله دکتری نویسنده اول در رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری می باشد و با هزینه شخصی انجام شده است. نویسندگان از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش با آنها همکاری نموده اند تشکر و قدردانی می نمایند.

حامی مالی

این مقاله حامی مالی ندارد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام میدارند که هیچگونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Yang J, Liu Z. Mechanistic pathogenesis of endothelial dysfunction in diabetic nephropathy and retinopathy. *Frontiers in endocrinology*. 2022 May 25;13:816400.
2. Wang J, Han Y, Huang F, Tang L, Mu J, Liang Y. Diabetic macrophage small extracellular vesicles-associated miR-503/IGF1R axis regulates endothelial cell function and affects wound healing. *Frontiers in Immunology*. 2023 May 23;14:1104890.
3. Dastah S, Tofighi A, Azar JT, Alivand M. Aerobic exercise leads to upregulation of Mir-126 and angiogenic signaling in the heart tissue of diabetic rats. *Gene Reports*. 2020 Dec 1;21:100914.
4. Ismail A, El-Mahdy HA, Eldeib MG, Doghish AS. miRNAs as cornerstones in diabetic microvascular complications. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2023 Jan 1;138(1):106978.
5. Paul S, Ali A, Katare R. Molecular complexities underlying the vascular complications of diabetes mellitus—A comprehensive review. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2020 Aug 1;34(8):107613.
6. Ahmedpour S, Barari A, Farzangi P. The Effect of Atorvastatin and Continuous Aerobic Exercise on the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Beta Gene in the Liver Tissue of Diabetic Rats. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2023 Jul 23;22(3):354-65.

7. Wang B, Gan L, Deng Y, Zhu S, Li G, Nasser MI, Liu N, Zhu P. Cardiovascular disease and exercise: from molecular mechanisms to clinical applications. *Journal of Clinical Medicine*. 2022 Dec;11(24).
8. Wu LM, Wu SG, Chen F, Wu Q, Wu CM, Kang CM, He X, Zhang RY, Lu ZF, Li XH, Xu YJ. Atorvastatin inhibits pyroptosis through the lncRNA NEXN-AS1/NEXN pathway in human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2020 Jan 1;293:26-34.
9. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, Zhang L, Wang Y. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life sciences*. 2006 Aug 8;79(11):1100-7.
10. Mozafari M, Nekooeian AA, Panjeshahin MR, Zare HR. The effects of resveratrol in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal hypertension: a study of antihypertensive mechanisms. *Iranian Journal of Medical Sciences*. 2015 Mar;40(2):152.
11. Linden MA, Fletcher JA, Morris EM, Meers GM, Laughlin MH, Booth FW, Sowers JR, Ibdah JA, Thyfault JP, Rector RS. Treating NAFLD in OLETF rats with vigorous-intensity interval exercise training. *Medicine and science in sports and exercise*. 2015 Mar;47(3):556.
12. Hanqing Zeng, Zhongtao Liu. Atorvastatin Induces Hepatotoxicity in Diabetic Rats via Oxidative Stress, Inflammation, and Anti-Apoptotic Pathway. *Med Sci Monit*, 2019; 25: 6165-6173.
13. Woloschuk A, Hodges GJ, Massarotto RJ, Klentrou P, Falk B. The skin blood flow response to exercise in boys and men and the role of nitric oxide. *European Journal of Applied Physiology*. 2020 Apr;120(4):753-62.
14. Rahimi H, Roozbayani M, Saremi A. The Effect of Eight Weeks of Aerobic Exercise on AT and TT Genotypes, rs1870377 Polymorphism of VEGFR Gene and Changes in Aerobic Performance of Untrained Women. *Journal of Animal Biology*. 2023 Feb 20;15(2):205-17.
15. Hyndman ME, Parsons HG, Verma S, Bridge PJ, Edworthy S, Jones C, Lonn E, Charbonneau F, Anderson TJ. The T-786→C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension. *Hypertension*. 2012 Apr 1;39(4):919-22.
16. Wu Y, Ding Y, Ramprasath T, Zou MH. Oxidative stress, GTPCH1, and endothelial nitric oxide synthase uncoupling in hypertension. *Antioxidants & redox signaling*. 2021 Mar 20;34(9):750-64.
17. Improta Caria AC, Nonaka CK, Pereira CS, Soares MB, Macambira SG, Souza BS. Exercise training-induced changes in microRNAs: beneficial regulatory effects in hypertension, type 2 diabetes, and obesity. *International journal of molecular sciences*. 2018 Nov 15;19(11):3608.
18. Wei L, Sun C, Zhang Y, Han N, Sun S. miR-503-5p inhibits colon cancer tumorigenesis, angiogenesis, and lymphangiogenesis by directly downregulating VEGF-A. *Gene Therapy*. 2022 Feb; 29(1-2):28-40.
19. Wang K, Wang B, Wang Z, Yang R. Alginate acid inhibits non-small cell lung cancer-induced angiogenesis via activating miR-506 expression. *Journal of natural medicines*. 2021 Jun;75: 553-64.
20. Lyttle BD, Vaughn AE, Bardill JR, Apte A, Gallagher LT, Zgheib C, Liechty KW. Effects of microRNAs on angiogenesis in diabetic wounds. *Frontiers in Medicine*. 2023 Mar 20; 10:1140979.
21. Improta-Caria AC, De Sousa RA, Roever L, Fernandes T, de Oliveira EM, Júnior RA, de Freitas Souza BS. MicroRNAs in type 2 diabetes mellitus: potential role of physical exercise. *Reviews in cardiovascular medicine*. 2022 Jan 17;23(1):29.