

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین هوازی همراه با مکمل یاری عصاره دانه انگور بر بیان VEGF و

VEGFR-2 در بافت قلب رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین

مریم شیرانی بیدآبادی^۱، جمشید بنایی بروجنی^{۱*}، سعید کشاورز^۱، محمد کریمی^۲

۱- مرکز تحقیقات طب ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه صنعتی قم، قم، ایران

*مسئول مکاتبات: jamshid.banaii@gmail.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1938778.1292

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۳

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی به تنهایی یا همراه با مکمل یاری عصاره دانه انگور بر بیان VEGF و VEGFR-2 در بافت قلب رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین (STZ) اجرا شده است. پژوهش حاضر از نوع بنیادی و تجربی می باشد. تعداد ۳۲ سر رت ویستار نر دیابتی به صورت تصادفی در چهار گروه هشت تایی شامل گروه‌های کنترل، مکمل، تمرین و تمرین + مکمل تقسیم شدند. دیابت نوع ۱ با تزریق STZ به میزان ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن القا شد. برنامه تمرین هوازی به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته با شدت هفتاد درصد اجرا شد. مصرف عصاره هسته انگور نیز به صورت روزانه بود. بعد از دوره تمرینی موش‌ها کشته شده و بافت قلب جدا شد. بیان ژن‌های VEGF و VEGFR-2 در بافت قلب اندازه‌گیری شد. یافته‌های حاضر نشان داد که بیان VEGF بافت قلب در گروه‌های تمرین، مکمل و تمرین + مکمل در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری بیشتر است ($p < 0/05$). علاوه بر این، بیان VEGFR-2 در گروه‌های تمرین و تمرین + مکمل در مقایسه با گروه کنترل و مکمل افزایش معناداری را نشان داد ($p < 0/05$). نتایج حاضر نشان داد که تمرین هوازی به تنهایی و همراه با مکمل یاری عصاره هسته انگور نقش مهمی در افزایش بیان عوامل آنژیوژنیک در بافت قلب رت‌های دیابتی نوع ۱ دارد. با وجود این، مصرف عصاره هسته انگور به همراه تمرین هوازی نمی‌تواند تاثیر سینرژیک بر بیان VEGF و VEGFR-2 داشته باشد.

کلمات کلیدی: تمرین ورزشی، دیابت، آنژیوژن، انگور.

مقدمه

است که نقش مهمی در فرآیندهای بیولوژیک مختلف از قبیل ترمیم زخم، توسعه جنینی، چرخه قاعدگی، التهاب و پاتورن بیماری‌های مختلف از قبیل سرطان، رتینوپاتی دیابت و روماتوئید آرتریت دارد (۳۵). محققان کاهش چگالی مویرگی بافت قلب و تغییرات در سطوح پلاسمایی عوامل آنژیوژنیک را در رت‌های دیابتی در مقایسه با رت‌های سالم نشان داده‌اند که بر

بیماری‌های قلبی-عروقی یکی از دلایل عمده مرگ و میر در بیماران دیابتی است و چندین اختلال طولانی-مدت ناشی از دیابت با مختل شدن فرآیند آنژیوژن همراه است، به نحوی که آنژیوژن غیر طبیعی در برخی شرایط پاتولوژیک از قبیل رتینوپاتی دیابت مشاهده شده است (۵). آنژیوژن، تشکیل رگ‌های خونی مویرگی جدید از رگ‌های کوچک موجود

VEGF بر سلول‌های اندوتلیال و پیش‌ساز اندوتلیال از طریق VEGFR-2 تنظیم می‌شوند و به دنبال متصل شدن به VEGF، VEGFR-2، آبخاری از رخدادهای پیام‌رسانی را تحریک می‌کند که با دیمریزه شدن و اتوفسفوریلاسیون شروع می‌شود و با فسفوریلاسیون پروتئین‌های پایین دست متعدد از قبیل پروتئین کیناز C، فسفولیپاز C- γ و فسفاتیدیل اینوزیتیل کیناز ۳ (PI3K) ادامه پیدا می‌کند (۲۴). دیابت با مختل شدن فرآیند آنژیوژنز همراه است، به نحویکه آنژیوژنز غیر طبیعی در برخی شرایط پاتولوژیک از قبیل رتینوپاتی دیابت مشاهده شده است که باعث بروز سکت و انواع بیماریهای مرتبط با قلب خواهد شد (۵). از عواملی که میتوان روی آنژیوژنز و عوامل مرتبط با آن مقابله کند می‌توان به انجام تمرینات منظم ورزشی اشاره کرد. عوامل مختلفی می‌توانند بر فرآیند آنژیوژنز در پاسخ به فعالیت ورزشی استقامتی تاثیرگذار باشند که از جمله آنها می‌توان به هایپوکسی موضعی، کشش عضلانی، انقباض و تنش برشی اشاره کرد (۵). تمرین ورزشی یکی از عوامل تاثیرگذار بر کنترل گلیسمیک و بهبود مدیریت دیابت نوع ۱ (۱۳) و نوع ۲ (۳۲) می‌باشد که بر فرآیند آنژیوژنز نیز تاثیر می‌گذارد و نقش آن در افزایش رگزایی و همچنین افزایش عوامل آنژیوژنیک بافت قلب مشاهده شده است (۲۱). محققان افزایش رگزایی بافت قلب و آنژیوژنز آن به دنبال تمرین ورزشی را به افزایش سطوح عوامل آنژیوژنیک از قبیل VEGF و گیرنده آن (VEGFR-2) نسبت داده‌اند که افزایش آنژیوژنز در بافت قلب با بهبود عملکرد میوکاردی همراه بود (۱۵). علاوه بر تمرین ورزشی، عصاره هسته انگور نیز نقش مهمی در کاهش التهاب و هایپرگلیسمی در نمونه‌های دیابتی دارد و به عنوان یک مکمل ضددیابتی موثر شناخته شده است (۱۶). اگرچه تاثیر عصاره هسته انگور بر فرآیند آنژیوژنز فیزیولوژیک از جمله در بافت قلب

اختلال در مسیرهای آنژیوژنیک در وضعیت دیابت تاکید دارد (۲۱). بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که اندازه قلب و عملکرد قلبی هر دو وابسته به آنژیوژنز هستند و مختل شدن رشد هماهنگ بافت و آنژیوژنز در قلب، به تبدیل هایپرتروفی سازشی قلبی و در نهایت نارسایی قلبی منجر می‌شود (۲۸). فرآیند آنژیوژنز طبیعی به تعادل پیچیده بین عوامل آنژیوژنیک (VEGF، FGF، TGF- β) و آنژیوستاتیک (آنژیوستاتین، اندوستاتین، ترومبوسپوندین) وابسته است (۳۰) که در بین آنها، VEGF و گیرنده‌های آن مانند VEGFR-2 از جمله اصلی‌ترین عوامل موثر بر فرآیند آنژیوژنز هستند (۱).

اگرچه فهرست عوامل آنژیوژنیک شناخته شده روز به روز در حال افزایش است، اما VEGF یکی از اولین و اصلی‌ترین عوامل آنژیوژنیک شناخته شده است و اعتقاد بر این است که تنظیم کننده عمده آنژیوژنز فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد (۲۲). VEGF تا حدود زیادی خاص اندوتلیال است که این ویژگی VEGF را از سایر عوامل رشدی متمایز می‌کند (۲). VEGF دو عملکرد بیولوژیک عمده را از خود به نمایش می‌گذارد: یکی ظرفیت VEGF برای تحریک کردن تکثیر سلول‌های اندوتلیال و دیگری توانایی آن برای افزایش نفوذپذیری عروقی، همچنین بقا و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال را افزایش می‌دهد (۳۱). اگرچه سه گیرنده برای VEGF شناسایی شده‌اند، اما مطالعات صورت گرفته نشان داده‌اند که فعال-سازی VEGFR2 برای تسهیل تمامی اثرات پیش آنژیوژنیک، تکثیری و بقای مرتبط با VEGF کافی است (۳۶). VEGFR-2 عمدتاً در سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شود (۹). این گیرنده نه تنها در تکثیر و تمایز اندوتلیال و نفوذپذیری عروقی نقش دارد، بلکه در سایر عملکردهای سلول‌های اندوتلیال از قبیل بقا و تحرک نیز ایفای نقش می‌کند (۸). بیشتر اعمال

در گروه‌های دوتایی و در محیطی با دما و رطوبت استاندارد با چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. رت‌ها در طول پژوهش به صورت آزادانه به آب و غذای استاندارد (تهیه به صورت پلت از شرکت بهپرور ایران) و مخصوص دسترسی داشتند. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل پژوهش، اصول اخلاقی و حرفه‌ای کار با حیوانات رعایت شد. تعداد ۳۲ سر رت ویستار دیابتی نوع ۱ به صورت تصادفی در چهار گروه هشت‌تایی شامل گروه‌های کنترل، تمرین هوازی، مکمل عصاره هسته انگور و همچنین تمرین هوازی+عصاره هسته انگور تقسیم شدند که به مدت هشت هفته در معرض مداخله (تمرین، عصاره هسته انگور یا ترکیب آنها) قرار گرفتند.

القای دیابت نوع ۱ در رت‌ها با یک بار تزریق درون صفاقی محلول استرپتوزوسین (STZ) تهیه شده از شرکت Sigma-Aldrich کشور آلمان حل شده در بافر سیترات (pH = ۴/۵ و غلظت ۰/۱ مولار) و به میزان ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان انجام شد. ۱۴ روز پس از تزریق STZ، غلظت گلوکز خون در نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده از دم حیوانات و با استفاده از گلوکومتر (ساخت شرکت Medisign کره جنوبی) اندازه‌گیری شد. ملاک دیابتی بودن، غلظت گلوکز خون ناشتایی بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود (۳). برای گروه کنترل نیز به منظور یکسان‌سازی اثر تزریق بافر سیترات ۰/۱ مولار با همان حجم مشابه به صورت درون صفاقی تزریق شد (۳).

مرحله آشنایی و تمرین هوازی به این صورت بود که در مرحله آشنایی با نوارگردان (هفته اول) موش‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه با شیب صفر درجه روی نوارگردان ۱۰ کاناله ویژه جوندگان به صورت پنج روز متوالی راه رفتند. زمان شروع تمرین بین ساعت‌های ۷ تا ۱۱ صبح در هر روز بود.

مشخص نیست، برخی محققان گزارش کرده‌اند که مکمل‌یاری عصاره هسته انگور در نمونه‌های سرطانی از طریق سرکوب مسیر پیام‌رسانی گیرنده VEGF (VEGFR) منجر به مهار فرآیند آنژیوژنز در بافت تومور می‌شود (۳۴). با توجه به اینکه از علل اصلی مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته دیابت است و از آنجایی که در دیابت مختل شدن فرآیند آنژیوژنز اتفاق می‌افتد، به نحویکه آنژیوژنز غیرطبیعی در برخی شرایط پاتولوژیک از قبیل رتینوپاتی دیابت مشاهده شده است و از طرفی با توجه به اینکه از راه‌های جلوگیری از شرایط پاتولوژیک موجود در دیابت تمرینات ورزشی مختلف و همچنین رژیم غذایی مناسب است لذا این پژوهش طراحی شده است که نشان دهد آیا هشت هفته تمرین هوازی به تنهایی می‌تواند بر شاخص‌های آنژیوژنز منتخب تاثیر بگذارد؟ آیا مصرف مکمل عصاره دانه انگور می‌تواند به تنهایی روی این شاخصها در موشهای دیابتی شده تاثیر بگذارد؟ و در نهایت اینکه اثر همزمان مکمل عصاره دانه انگور و تمرین هوازی بعد از هشت هفته روی این شاخص‌ها در موشهای یاد شده به چه شکلی خواهد بود؟ لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی همراه با مکمل‌یاری عصاره دانه انگور بر بیان VEGF و VEGFR-2 در بافت قلب رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی، تعداد ۳۲ سر رت ویستار نر با دامنه وزن اولیه ۲۲۰-۱۶۰ گرم از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از آنکه رت‌ها به محیط آزمایشگاهی منتقل شدند، به مدت یک هفته با محیط آزمایشگاهی جدید سازگار شدند. بدین منظور، رت‌ها

۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اواپراتور خشک شد و بعد از تبخیر متانول، عصاره خالص در ظرف باقی ماند که پس از جمع‌آوری، دور از نور و رطوبت نگه‌داری شد و مورد استفاده قرار گرفت (۲۶). در مطالعه حاضر، مصرف عصاره هسته انگور به صورت گاوآذ و در دوز ۴۰ mg/kg در روز در نظر گرفته شده بود (۱۱).

رت‌ها در تمام گروه‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین هوازی یا مصرف عصاره هسته انگور در شرایط کاملاً مشابه و در حالت ناشتایی حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و قفسه سینه شکافته و بافت قلب جمع‌آوری شد و تجزیه و تحلیل ژن‌ها صورت گرفت. برای اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر، ابتدا بافت قلب با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس ۰/۱ گرم (۱۰۰ میلی‌گرم) از پودر ساخته شده با ۱ میلی‌لیتر بافر (PBS) هموژنیزه شد و آنگاه محلول استخراج شده از آن به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و از سوپرناتانت (محلول رویی) آن برای سنجش شاخص‌های مورد نظر استفاده شد. میزان بیان ژن‌های VEGF و VEGFR-2 در بافت قلب با استفاده از روش Real Time PCR ارزیابی شد.

تمامی داده‌های حاصل از پژوهش حاضر با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ تجزیه و تحلیل شد. نخست به منظور اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌های تحقیق، از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد که نتایج آن نرمال بودن توزیع داده‌ها را نشان داد. برای مقایسه تغییرات بین گروهی از آزمون آنالیز واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. همچنین، سطح معناداری نیز ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

در طول هفته دوم و سوم سرعت تردمیل و مدت تمرین به تدریج افزایش یافت. موش‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در روز با سرعت متوسط ۲۸ متر در دقیقه (شدتی معادل ۷۰ الی ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و حجم تمرینی ۸/۴ کیلومتر در هفته) به اجرای تمرین هوازی پرداختند. پس از اتمام برنامه تمرینی، به منظور اجرای سرد کردن، سرعت دستگاه به طور معکوس کاهش داده می‌شد تا سرعت دستگاه به صفر برسد. این رویه تا پایان هفته هشتم تمرینی ادامه یافت (۱۴، ۱۹). برنامه تمرین هوازی هشت هفته‌ای در جدول ۱ گزارش شده است.

انگور مورد استفاده گونه‌ی ویتیس وینی فرا (*Vitis vinifera*)، از زیرجنس Euvitis و تیره آمپلیداسه (*Ampelidaceae*) و نژاد انگور ایرانی انتخاب و به تایید گروه کشت و توسعه انستیتو گیاهان دارویی تهران رسید. بعد از خریداری انگور قرمز، اقدام به جدا سازی دانه‌ها از تفاله انگور قرمز به طور دستی گردید. دانه‌ها شستشو سپس در هوای آزاد و به دور از نور آفتاب در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه خشک شدند. دانه‌های خشک شده تا مرحله تشکیل پودر خرد و آسیاب شدند. جداسازی چربی دانه به روش سوکسله و با استفاده از حلال هگزان انجام پذیرفت. در این روش ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم پودر هسته انگور در داخل کاغذ صافی ریخته و در دستگاه سوکسله قرار داده شد و عمل سوکسلاسیون ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان به مدت یک ساعت انجام گرفت؛ در ادامه عصاره هگزانی تهیه شده با دستگاه روتاری و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و سپس در آرکون و در همان دما خشک گردید. پودر حاصل به روش سوکسله با استفاده از حلال متانول با دو بار تکرار و صاف کردن توسط کاغذ صافی پردازش و در نهایت برای جدا کردن عصاره از حلال متانول محلول متانولی حاوی عصاره در محیط خلاء و دمای

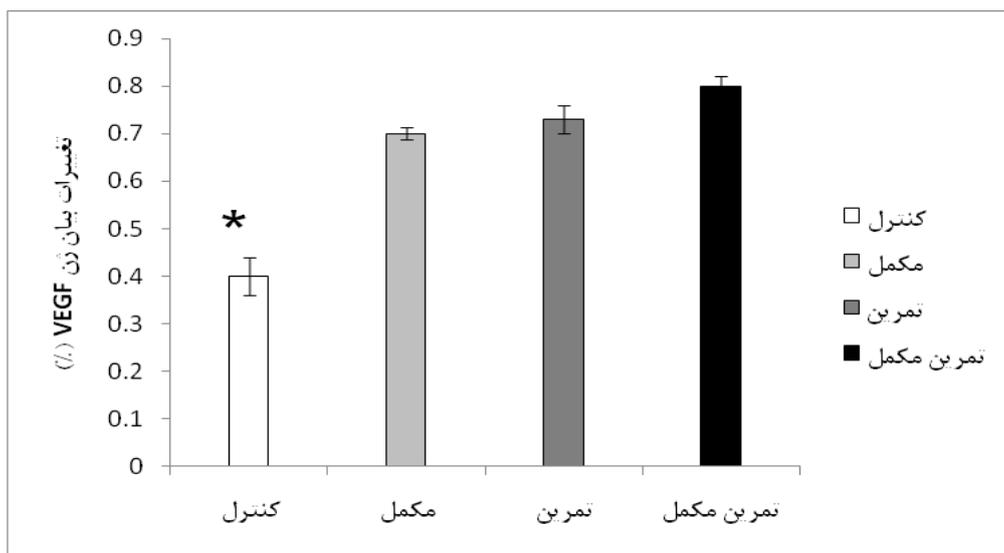
جدول ۱- پروتکل تمرینی استقامتی

هفته	مدت زمان دویدن	سرعت دویدن	شدت دویدن
اول	۱۵ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۲۵ تا ۳۰ درصد VO2max
دوم	۲۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۷۰ تا ۷۵ درصد VO2max
سوم	۳۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۷۰ تا ۷۵ درصد VO2max
چهارم	۴۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۷۰ تا ۷۵ درصد VO2max
پنجم	۵۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۷۰ تا ۷۵ درصد VO2max
ششم	۶۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۷۰ تا ۷۵ درصد VO2max
هفتم	۶۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۷۰ تا ۷۵ درصد VO2max
هشتم	۶۰ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۷۰ تا ۷۵ درصد VO2max

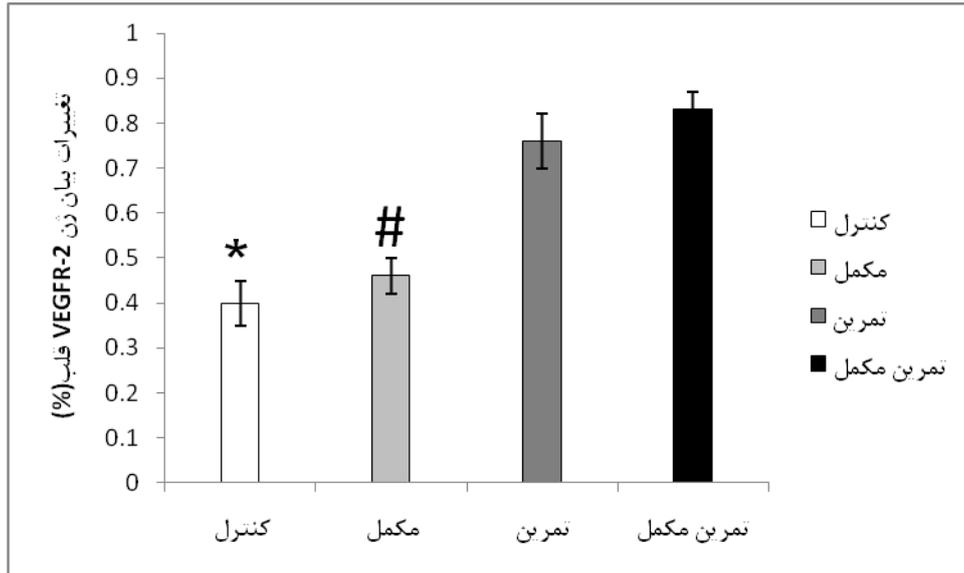
نتایج

بین گروه‌های پژوهش اختلاف معنی دار وجود دارد ($p > 0/001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که بیان ژن VEGFR-2 بین گروه کنترل با گروه‌های تمرین مکمل ($p > 0/001$) و تمرین ($p > 0/001$) و گروه مکمل با گروه‌های ($p = 0/008$) و تمرین ($p = 0/001$) اختلاف معنی دار وجود دارد (شکل ۲).

بررسی تغییرات بین گروهی نشان داد که بین گروه‌های پژوهش اختلاف معنی دار وجود دارد ($p / 001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که بیان ژن VEGF بین گروه کنترل با گروه‌های مکمل ($p = 0/009$)، تمرین مکمل ($p > 0/001$) و تمرین ($p > 0/001$) اختلاف معنی دار وجود دارد (شکل ۱). همچنین بررسی آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که



شکل ۱- تغییرات سطوح ژن VEGF قلب در گروه‌های پژوهش. * اختلاف معنی دار بین گروه کنترل با همه گروه‌ها. داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف استاندارد ($p > 0/05$).



شکل ۲- تغییرات سطوح ژن VEGFR-2 قلب در گروه‌های پژوهش. * نشان اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با گروه تمرین و تمرین مکمل. # نشان اختلاف معنی‌دار گروه مکمل با گروه تمرین و تمرین-مکمل. داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف استاندارد ($p > 0/05$).

بحث

اعمال می‌شود (۴). VEGF در بافت‌های مختلف بیان می‌شود و بیان VEGF در بافت قلب نمونه‌های سالم مشاهده شده است (۲۳). بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که کاهش سطح قلبی VEGF منجر به افزایش خطر مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی در بیماران مبتلا به مقاومت به انسولین و دیابت می‌شود (۷، ۲۰).

گزارش شده است که بیماری دیابت یکی از عوامل تاثیرگذار بر فرآیند آنژیوژنز از جمله در بافت قلب است که با کاهش چگالی مویرگی در میوکارد همراه است و محققان کاهش چگالی مویرگی میوکارد را به کاهش در سطوح سرمی VEGFR-2 در نمونه‌های دیابتی نسبت داده‌اند (۲۱). با وجود این، یافته‌های حاضر نشان داد که تمرین هوازی، مکمل عصاره هسته انگور و ترکیب آنها در رت‌های دیابتی نوع ۱ منجر به تنظیم افزایشی بیان VEGF می‌شود و یک راهکار جبرانی برای کاهش مشاهده شده در بیان

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی به تنهایی یا همراه با مکمل‌یاری عصاره هسته انگور بر بیان میوکاردی VEGF و VEGFR-2 در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین اجرا شده است. یافته اصلی مطالعه حاضر این بود که بیان VEGF بافت قلب در گروه‌های تمرین هوازی، مکمل عصاره هسته انگور و تمرین هوازی+مکمل عصاره هسته انگور در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری بیشتر است. علاوه بر این، میزان بیان VEGFR-2 در گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی+مکمل عصاره هسته انگور در مقایسه با گروه-های کنترل و مکمل عصاره هسته انگور افزایش معناداری را نشان داد. VEGF عامل آنژیوژنیک عمده است که مهاجرت، تکثیر، تمایز و بقای سلول‌های اندوتلیال را افزایش می‌دهد، نفوذپذیری عروق را بیشتر کرده و گشاد شدن عروق را تنظیم می‌کند و بیشتر تاثیرات آنژیوژنیک VEGF بواسطه VEGFR-2

تمرین شنا در بافت قلب می‌باشد (۱۸). علاوه بر نقش تمرین ورزشی در افزایش فرآیند آنژیوژنز میوکارد در رت‌های دیابتی نوع ۱، ولی‌زاده و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین استقامتی در رت‌های دیابتی نوع ۲ نیز منجر به افزایش بیان VEGF و VEGFR-2 در بافت قلب می‌شود که محققان تغییرات در بیان VEGF و VEGFR-2 را به کاهش میزان مقاومت به انسولین و گلوکز، افزایش فسفوریلاسیون Akt و افزایش بیان eNOS نسبت دادند (۳۳) که متاسفانه در مطالعه حاضر تغییرات در سطوح موارد فوق مورد بررسی قرار نگرفته است و شناسایی سازوکار تاثیرگذاری تمرین ورزشی در افزایش بیان VEGF و VEGFR-2 نیازمند بررسی‌های بیشتر و اجرای مطالعات آتی است.

علاوه بر تمرین ورزشی، نتایج حاضر نشان داد که هشت هفته مکمل‌یاری عصاره هسته انگور به تنهایی تاثیری بر بیان VEGFR-2 ندارد، اگرچه افزایش معنادار بیان VEGF بعد از مکمل‌یاری عصاره هسته انگور مشاهده شد. متاسفانه در رابطه با تاثیر عصاره هسته انگور به تنهایی یا همراه با تمرین ورزشی بر بیان عوامل آنژیوژنیک در بافت قلب اطلاعی در دست نیست. باوجود این، گزارش شده است که عصاره هسته انگور در برخی شرایط پاتولوژیک از قبیل سرطان، منجر به مهار فرآیند آنژیوژنز در بافت تومور می‌شود که پیامد آن کاهش رشد و بهبود نمونه‌های سرطانی است که این تاثیرات تاحدودی بواسطه تنظیم کاهشی فعالیت مسیر VEGF اعمال می‌شود (۱۷)، (۳۴). اگرچه تاثیرات عصاره هسته انگور بر فرآیند آنژیوژنز بافت قلب بررسی نشده است، اما محققان در پژوهشی دریافتند که مصرف سایر مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل ال‌آرژنین به مدت چهار هفته در رت‌ها منجر به تنظیم افزایشی بیان VEGF در بافت قلب و عضلانی (نعلی) به صورت غیر معنادار در

میوکاردی VEGF به دنبال القای دیابت است. نتایج مطالعه حاضر در مطالعات قبلی نیز تایید شده است که افزایش معنادار بیان و سطح پروتئین VEGF را در بافت قلب رت‌های سالم به دنبال فعالیت ورزشی حاد و مزمن نشان داده‌اند (۱۰، ۲۹).

در تایید یافته‌های پیش رو، ارکات و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی نشان دادند که چهار هفته تمرین استقامتی روی نوارگردان در رت‌های دیابتی نوع ۱ منجر به افزایش معنادار بیان VEGF در بافت قلب می‌شود، در گروه سالم تمرین کرده نیز افزایش معنادار بیان VEGF در مقایسه با گروه کنترل سالم مشاهده شد. علاوه بر این، نتایج پژوهش فوق نشان داد که بیان میوکاردی VEGF در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم به صورت معناداری کمتر است که بر تنظیم کاهشی بیان VEGF میوکاردی بعد از تزریق STZ تاکید دارد. چوداری و همکاران (۲۰۱۶) نیز افزایش آنژیوژنز بافت قلب به دنبال شش هفته تمرین ورزشی اختیاری به تنهایی یا همراه با مصرف تستوسترون در رت‌های دیابتی شده با STZ را به افزایش بیان VEGF، کاهش سطوح گلوکز، افزایش فسفوریلاسیون Akt و همچنین کاهش میزان آپوپتوز در نتیجه تنظیم افزایشی بیان SDF-1a نسبت دادند (۶).

در پژوهشی دیگر و همسو با نتایج حاضر، لمیتسو و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی تاثیر هشت هفته تمرین شنا در رت‌های سالمند گزارش کردند که میزان بیان و سطح پروتئین VEGF و VEGFR-2 در بافت قلب گروه تمرین کرده در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشته است و بر همین اساس، محققان عنوان کردند که تمرین ورزشی می‌تواند تنظیم کاهشی مسیر پیام‌رسانی VEGF ناشی از سالمندی را بهبود ببخشد و اینکه تنظیم افزایشی VEGF و VEGFR-2 در بافت قلب مسئول بخشی از سازگاری‌های ناشی از

IR.IAUN.REC.1387.23 مورد تایید قرار گرفت. مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی است. از کسانی که ما را در انجام هرچه بهتر پژوهش حاضر یاری نمودند، نهایت تشکر را داریم.

منابع

1. Abhinand, C.S., Raju, R., Soumya, S.J., Arya, P.S., Sudhakaran, P.R. 2016. VEGF-A/VEGFR2 signaling network in endothelial cells relevant to angiogenesis. *Journal of cell communication and signaling*, 10(4): 347-354.
2. Behl, T., Kotwani, A. 2015. Exploring the various aspects of the pathological role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in diabetic retinopathy. *Pharmacological Research*, 99: 137-148.
3. Bugger, H., Abel, E.D. 2009. Rodent models of diabetic cardiomyopathy. *Disease Models and Mechanisms*, 2(9-10): 454-466.
4. Canavese, M., Altruda, F., Ruzicka, T., Schaubert, J. 2010. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in the pathogenesis of psoriasis—a possible target for novel therapies? *Journal of Dermatological Science*, 58(3): 171-176.
5. Carmeliet, P., Jain, R.K. 2000. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, 407(6801), 249-257.
6. Chodari, L., Mohammadi, M., Ghorbanzadeh, V., Dariushnejad, H., Mohaddes, G. 2016. Testosterone and voluntary exercise promote angiogenesis in hearts of rats with diabetes by enhancing expression of VEGF-A and SDF-1a. *Canadian Journal of Diabetes*, 40(5): 436-441.
7. Chou, E., Suzuma, I., Way, K.J., Opland, D., Clermont, A.C., Naruse, K., Aiello, L.P. 2002. Decreased cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in insulin-resistant and diabetic States: a possible explanation for impaired

مقایسه با گروه کنترل می‌شود، اما افزایش معنادار بیان VEGF در گروه تمرین+ال-آرژنین مشاهده شد و تمرین ورزشی به تنهایی نیز نتوانست افزایش معناداری در بیان VEGF ایجاد کند (۲۹). شاید دوره کوتاه مداخله باعث شده است که تمرین ورزشی و مکمل‌یاری ال-آرژنین به تنهایی برخلاف مطالعه حاضر نتوانند تاثیر معناداری بر بیان میوکاردی VEGF داشته باشند و مطالعه حاضر تاثیر معنادار هشت هفته تمرین ورزشی و مصرف عصاره هسته انگور بر بیان قلبی VEGF را نشان داد. باوجود یافته‌های حاضر مبنی بر اینکه بخشی از تاثیرات مثبت تمرین ورزشی و مصرف عصاره هسته انگور به تنهایی یا در ترکیب باهم از طریق تنظیم افزایشی بیان VEGF و گیرنده آن اعمال می‌شود، اما به دلیل محدودیت‌های مطالعه حاضر از جمله عدم بررسی تغییرات در میزان انسولین و گلوکز، عدم بررسی چگالی مویرگی در بافت قلب و همچنین عدم بررسی سایر عوامل آنژیوژنیک و بویژه عوامل بازدارنده آنژیوژن، سازوکارهای دقیق تاثیر تمرین ورزشی، عصاره هسته انگور و بویژه تمرین+عصاره هسته انگور باید در مطالعات آتی مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی به تنهایی و همراه با مکمل‌یاری عصاره هسته انگور نقش مهمی در افزایش بیان عوامل آنژیوژنیک در بافت قلب رت‌های دیابتی نوع ۱ دارد. باوجود این، مصرف عصاره هسته انگور به همراه تمرین هوازی نمی‌تواند تاثیر سینرژیک بر بیان VEGF و VEGFR-2 داشته باشد.

تشکر و قدردانی

لازم به ذکر است که این پژوهش در کمیته پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد با کد اخلاق

16. Griffin, L. E., Witrick, K. A., Klotz, C., Dorenkott, M.R., Goodrich, K.M., Fundaro, G., Neilson, A.P. 2017. Alterations to metabolically active bacteria in the mucosa of the small intestine predict anti-obesity and anti-diabetic activities of grape seed extract in mice. *Food and Function*, 8(10): 3510-3522.
17. Huang, S., Yang, N., Liu, Y., Gao, J., Huang, T., Hu, L., Zhang, X. 2012. Grape seed proanthocyanidins inhibit colon cancer-induced angiogenesis through suppressing the expression of VEGF and Ang1. *International journal of molecular medicine*, 30(6): 1410-1416.
18. Iemitsu, M., Maeda, S., Jesmin, S., Otsuki, T., Miyauchi, T. 2006. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *American Journal of Physiology-heart and Circulatory Physiology*, 291(3): H1290-H1298.
19. Jashni, H. K., Mohebbi, H., Delpasand, A., Jahromy, H. K. 2015. Caloric restriction and exercise training, combined, not solely improve total plasma adiponectin and glucose homeostasis in streptozocin-induced diabetic rats. *Sport sciences for health*, 11(1): 81-86.
20. Jesmin, S., Zaedi, S., Shimojo, N., Iemitsu, M., Masuzawa, K., Yamaguchi, N., Miyauchi, T. 2007. Endothelin antagonism normalizes VEGF signaling and cardiac function in STZ-induced diabetic rat hearts. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 292(4): E1030-E1040.
21. Khazaei, M., Fallahzadeh, A.R., Sharifi, M.R., Afsharmoghaddam, N., Javanmard, S.H., Salehi, E. 2011. Effects of diabetes on myocardial capillary density and serum angiogenesis biomarkers in male rats. *Clinics*, 66(8): 1419-1424.
22. Melincović, C.S., Boşca, A.B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mihiu, C., Istrate, M., Mihiu, C.M. 2018. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key collateral formation in cardiac tissue. *Circulation*, 105(3): 373-379.
8. Claesson-Welsh, L. 2016. VEGF receptor signal transduction—A brief update. *Vascular pharmacology*, 86: 14-17.
9. Cross, M. J., Dixelius, J., Matsumoto, T., Claesson-Welsh, L. 2003. VEGF-receptor signal transduction. *Trends in biochemical sciences*, 28(9): 488-494.
10. Czarkowska-Paczek, B., Zendzian-Piotrowska, M., Bartłomiejczyk, I., Przybylski, J., Gorski, J. 2010. Skeletal and heart muscle expression of PDGF-AA and VEGF-A after an acute bout of exercise and endurance training in rats. *Medical Science Monitor*, 16(5): BR147-BR153.
11. Doustar, Y. 2011. Effect of grape seed extract on cardiomyocyte apoptosis in streptozotocin induced diabetic rats. *Medical Science Journal of Islamic Azad University-Tehran Medical Branch*, 21(3); 168-174.
12. Erekat, N.S., Al-Jarrah, M.D., Al Khatib, A.J. 2014. Treadmill exercise training improves vascular endothelial growth factor expression in the cardiac muscle of type I diabetic rats. *Cardiology Research*, 5(1): 23.
13. Farinha, J.B., Krause, M., Rodrigues-Krause, J., Reischak-Oliveira, A. 2017. Exercise for type 1 diabetes mellitus management: general considerations and new directions. *Medical Hypotheses*, 104: 147-153.
14. Garekani, E.T., Mohebbi, H., Kraemer, R.R., Fathi, R. 2011. Exercise training intensity/volume affects plasma and tissue adiponectin concentrations in the male rat. *Peptides*, 32(5): 1008-1012.
15. Ghahramani, M., Karbalaefifar, S. 2019. The Effect of Interval Training on Cardiac Angiogenesis Capacity in Rats with Myocardial Infarction. *Report of Health Care*, 5(1): 9-16.

30. Tahergorabi, Z., Khazaei, M. 2012. Imbalance of angiogenesis in diabetic complications: the mechanisms. *International Journal of Preventive Medicine*, 3(12): 827.
31. Takahashi, H., Shibuya, M. 2005. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical Science*, 109(3): 227-241.
32. Umpierre, D., Ribeiro, P.A., Kramer, C.K., Leitão, C.B., Zucatti, A.T., Azevedo, M.J., Schaan, B.D. 2011. Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Jama*, 305(17): 1790-1799.
33. Vali Zadeh, S., Motamedi, P., Karami, H., Rajabi, H. 2018. The effects of endurance training on gene expression of VEGF and VEGFR2 of cardiac tissue in Type 2 diabetic male wistar. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 21(6): 107-118.
34. Wen, W., Lu, J., Zhang, K., Chen, S. 2008. Grape seed extract inhibits angiogenesis via suppression of the vascular endothelial growth factor receptor signaling pathway. *Cancer Prevention Research*, 1(7): 554-561.
35. Zhao, T., Zhao, W., Chen, Y., Ahokas, R.A., Sun, Y. 2010. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A: role on cardiac angiogenesis following myocardial infarction. *Microvascular Research*, 80(2): 188-194.
36. Zheng, Y.-B., Meng, Q.-W., Zhao, W., Liu, B., Huang, J.-W., He, X., Lu, L.-G. 2014. Prognostic value of serum vascular endothelial growth factor receptor 2 response in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. *Medical Oncology*, 31(3): 843.
23. Melly, L.F., Marsano, A., Frobert, A., Boccardo, S., Helmrich, U., Heberer, M., Tevæarai, H.T. 2012. Controlled angiogenesis in the heart by cell-based expression of specific vascular endothelial growth factor levels. *Human Gene Therapy, Part B: Methods*, 23(5): 346-356.
24. Nagy, J.A., Dvorak, A.M., Dvorak, H.F. 2007. VEGF-A and the induction of pathological angiogenesis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2: 251-275.
25. Olfert, I. M., Baum, O., Hellsten, Y., Egginton, S. 2016. Advances and challenges in skeletal muscle angiogenesis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 310(3): H326-H336.
26. Shah, B.N., Seth A. 2009. Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry. 1st Edition, Elsevier India, 586 p.
27. Shen, M., Yu, M., Qiu, C., Zhang, G., Li, J., Fang, W., Wang, Q. 2021. Myocardial angiogenesis induced by exercise training involves a regulatory mechanism mediated by kinin receptors. *Clinical and Experimental Hypertension*, 43(5): 408-415.
28. Shiojima, I., Sato, K., Izumiya, Y., Schiekofer, S., Ito, M., Liao, R., Walsh, K. 2005. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(8): 2108-2118.
29. Suzuki, J. 2005. Microvascular angioadaptation after endurance training with l-arginine supplementation in rat heart and hindleg muscles. *Experimental Physiology*, 90(5): 763-771.

The Effect of Eight Weeks Aerobic Training Alone or Combined with Grape Seed Extract Supplementation on the Myocardial Expression of VEGF and VEGFR-2 in the Streptozotocin-induced Diabetic Rats

**Maryam Shirani Bidabadi¹, Jamshid Banai Boroujeni^{1*}, Saieed Keshavarz¹,
Mohammad Karimi²**

1- Sports Medicine Research Center, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Najafabad, Iran

2- Department of Exercise Physiology, Qom University of Technology, Qom, Iran

Abstract

The angiogenesis process is disrupted in the heart tissue during diabetes. In contrast, exercise training is one of the effective factors on the angiogenesis process. The present study was conducted aiming at investigating the effect of eight weeks aerobic training alone or combined with grape seed extract supplementation on the myocardial expression of VEGF and VEGFR-2 in the streptozotocin-induced (STZ) diabetic rats. Thirty-two diabetic male Wistar rats with initial weight of 160-220 g were randomly assigned to four groups including control, supplement, training, and training + supplement groups, each consisting of eight rats. Type1 diabetes induced by STZ injection (55 mg/kg/bw). Aerobic training conducted for eight weeks and five sessions per week. Grape seed extract supplement was administrated by oral gavage at a dose of 40 mg/kg daily. Two day after the last training session or grape seed extract supplementation, all rats were anesthetized by means of ketamine-xylazine injection and their heart tissues were removed. VEGF and VEGFR-2 gene expression in the heart tissue were determined by Real-time PCR method and data were analyzed by SPSS software and one-way ANOVA test. The present study's findings indicated that myocardial VEGF expression in training, supplement, and training + supplement groups were significantly higher compared to the control group ($p<0.05$). In addition, VEGFR-2 expression in training and training + supplement groups indicated a significant increase compared to control and supplement groups ($p<0.05$). The current study's finding indicated that aerobic training alone and in combination with grape seed extract supplementation played a key role in increasing the expression of myocardial angiogenic factors in type 1 diabetic rats. However, consumption of grape seed extract along with aerobic training cannot have a synergistic effect on VEGF and VEGFR-2 expression.

Keywords: Exercise Training, Diabetes, Angiogenesis, Grape

