

Original Article

The effect of eight weeks of high intensity interval training on Let-7a, NO and VEGF levels in cardiac tissue of young rats with type 2 diabetes

Bagherinia M¹, Abedi B¹, Fatolahi H²

1- Department of Exercise Physiology, Mahallat Branch, Islamic Azad University, Mahallat, I.R. Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, I.R. Iran.

Received: 2021/07/24 | Accepted: 2021/12/28

Abstract:

Background: Diabetes interferes with some of the factors that contribute to cardiac angiogenesis. So, this study aimed to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on VEGF, NO and Let-7a in young rats with type 2 diabetes.

Materials and Methods: The present study is an experimental study in which the statistical population consisted of young rats (8 weeks) with type 2 diabetes. A total of 24 young rats (8 weeks old) were divided into three groups: diabetic + HIIT, healthy + HIIT + healthy control. ELISA was used to measure VEGF and NO and Real time PCR was used for Le7-a.

Results: Diabetes + HIIT group had more VEGF compared to healthy control group ($P=0.005$) and healthy + HIIT group had more VEGF than healthy control group ($P=0.001$). The healthy + HIIT group also had higher VEGF than the diabetes + HIIT group ($P=0.005$). The diabetes + HIIT group had more NO than the healthy control group ($P=0.041$) and the healthy + HIIT group had more NO compared to the healthy control group ($P=0.005$). Also, the difference between the healthy + healthy group in comparison with the diabetes + healthy group was not significant in terms of NO ($P=0.07$). The diabetic + healthy group had more Let-7a than the healthy control group ($P=0.009$) and the healthy + HIIT group had more Let-7a than the healthy control group ($P=0.001$). Also, the healthy + HIIT group had a higher Let-7a value compared to the diabetes + HIIT group ($P=0.001$).

Conclusion: The findings of this study showed that HIIT increases VEGF, Let-7a and NO in diabetic and healthy rats. However, the increase in these variables was higher in healthy samples than in diabetic samples.

Keywords: Type 2 diabetes, High-intensity interval training, Angiogenesis

*Corresponding Author

Email: abedi@iaumahallat.ac.ir

Tel: 0098 8642 357 570

Fax: 00988 6432 57555

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2022; Vol. 26, No 1, Pages 30-37

Please cite this article as: Bagherinia M, Abedi B, Fatolahi H. The effect of eight weeks of high intensity interval training on Let-7a, NO and VEGF levels in cardiac tissue of young rats with type 2 diabetes. Feyz 2022; 26(1): 30-7.

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر سطوح NO و VEGF Let-7a در بافت قلب موش‌های صحرایی جوان مبتلا به دیابت نوع ۲

مریم باقری‌نیا^۱، بهرام عابدی^{۲*}، حسین فتح‌الهی^۳

خلاصه:

سابقه و هدف: دیابت، باعث اختلال در برخی از عوامل مؤثر در آنزیوژن قلبی می‌شود. بنابراین هدف از این تحقیق، تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر سطوح VEGF، NO و Let-7a در رت‌های جوان مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تحقیق حاضر، از نوع تجربی می‌باشد که جامعه آماری آن را رت‌های جوان (۸ هفته) مبتلا به دیابت نوع دو تشکیل داد. تعداد ۲۴ سر رت جوان در سه گروه دیابتی + ورزش تناوبی، سالم + تمرین تناوبی و کنترل سالم تقسیم شدند. برای سنجش VEGF و NO از روش الایزا و برای سنجش Let-7a از روش Real time PCR استفاده شد.

نتایج: گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.001$) و گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.005$) بیشتری داشت. گروه سالم + تمرین نیز در مقایسه با گروه دیابت + تمرین، مقدار VEGF بیشتری داشت ($P=0.005$). گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.041$) و گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.005$) NO بیشتری داشت. همچنین تفاوت بین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین از نظر مقدار NO معنادار نبود ($P=0.07$). گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.009$) و گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.001$) از Let-7a بیشتری برخوردار بود. همچنین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین مقدار Let-7a بیشتری داشت ($P=0.001$).

نتیجه‌گیری: تمرین تناوبی باعث افزایش VEGF، NO و Let-7a در موش‌های صحرایی دیابتی و سالم می‌شود. اما افزایش این متغیرها در نمونه‌های سالم بیشتر از نمونه‌های دیابتی بود.

واژگان کلیدی: دیابت نوع ۲، ورزش تناوبی با شدت بالا، آنزیوژن

دو ماهنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۱، فروردین - اردیبهشت ۱۴۰۱، صفحات ۳۷-۳۰

مقدمه

دیابت با ناهنجاری‌هایی در آنزیوژن همراه است [۱] و از نظر عروقی و آنزیوژن یک بیماری متابلاست می‌باشد. زیرا از یک طرف باعث افزایش آنزیوژن در اندام‌های مانند کلیه و چشم می‌شود و از طرف دیگر موجب مهار آنزیوژن و تشکیل عروق جانبی در قلب و عروق محیطی در انسان و مدل‌های حیوانی می‌گردد [۲]. در تأیید این موضوع، عباسی و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که بیماران دیابتی میزان عروق جانبی کرونر کمتری دارند [۳]. Werner و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که رشد و توسعه عروق جانبی کرونر در بیماران دیابتی کاهش بافتی است [۴].

با وجود افزایش آگاهی از اثرات تخریبی دیابت در مردم آنزیوژن بافت قلبی، سازوکارهای مولکولی در گیر در این پدیده به طور دقیق شناخته نشده‌اند. فاکتور رشد مشتق از اندوتیلیوم یا VEGF به عنوان یکی از عوامل آنزیوژنیک یک پروتئین همودیم براندشونده به هپارین با وزن مولکولی ۴۵ کیلو Dalton است که توانایی فعالیت پروآنزیوژنیک هم در شرایط *in vivo* و هم در شرایط *in vitro* دارد [۵]. برخی از مطالعات گزارش کرده‌اند که بیان mRNA قلب را در هر دو گروه انسان‌ها و حیوانات دیابتی کاهش می‌یابد [۶]. در بیماران دیابتی با نارسایی قلبی، سطوح رونویسی mRNA VEGF و VEGFR (VEGFR) کاهش پیدا می‌کند، همچنین عملکرد آن‌ها در رگ‌زایی میوکارد نیز دچار اختلال می‌گردد [۷]. دیگر مطالعات نشان داده است، که بین NO و VEGF عملکرد متقابل وجود دارد [۸]. نیتریک اکساید یک متسعکنده عروقی قوی است [۹]. شواهد، بیانگر این است که سطوح پایه تولید و فعالیت زیستی نیتریک اکساید در دیابت نوع ۲ ناشی از هیپرأنسولینیمی کاهش زیادی می‌یابد [۱۰]. بهنحوی که مقادیر آن در بافت قلب نیز کاهش می‌یابد [۱۱]. از سوی دیگر مطالعات نشان داده است که تغییرات در microRNAها با بیماری‌های قلبی - عروقی در ارتباط است

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران

۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران

۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد پردیس، دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس، ایران

* **لشان نویسنده مسئول:**

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد محلات، ایران

تلفن: ۰۸۶۴۳۲۵۷۵۵۵

.

پست الکترونیک: abedi@iaumahallat.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۵/۰۲ تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۰

مواد و روش‌ها

این مقاله استخراج شده از رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد محلات می‌باشد و با کد اخلاق IR.IAU.QOM.RES.1399.037 حاضر از نوع تجربی می‌باشد که جامعه آماری آن را رت‌های جوان (۸ هفته‌ای) مبتلا به دیابت نوع دو تشکیل می‌دهد. در این تحقیق، تعداد ۲۴ سر رت جوان (۸ هفته‌ای) سالم از انسیتو پاستور خردباری شد. تمامی رت‌ها در دانشگاه علوم پزشکی قم و در شرایط استاندارد (میانگین دمای ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، رطوبت نسبی ۵۰ درصد) با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه رت، در قفس نگهداری شدند. پس از آشنازی با محیط جدید، رت‌ها به سه گروه دیابتی - ورزش تنابی، گروه سالم + تمرین تنابی و گروه کنترل (بدون انجام ورزش) تقسیم شدند. تعداد ۸ سر رت انتخاب و با تزریق استرپتوزوتوسین تکدوز (STZ) دیابتی شدند. حیوانات، پس از ۸ ساعت محرومیت از غذا، با تزریق استرپتوزوتوسین تکدوز حل شده در بافر سدیم سیترات (PH=۵/۴) به میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) به روش درون‌صفاقی دیابتی شدند. ۴۸ ساعت بعد از تزریق، رت‌ها از نظر ابتلاء به دیابت بررسی شدند. برای تأیید دیابت، ۴ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات، یک قطره خون بر روی نوار گلوكومتری قرار گرفت و به‌وسیله دستگاه گلوكومتر، نوار خوانده شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر [۸] به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. گروه‌های تمرینی، فعالیت مربوط به خود را شامل ۵ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، سپس تمرین اصلی دویden بر روی نوار گردان مخصوص جوندگان (متشكل از ۱۲ تکرار تمرینی با شدت ۹۰-۹۵ درصد VO_{2max}) به مدت ۱ دقیقه و دوره‌های استراحتی فعال با شدت ۵۰ درصد VO_{2max} به مدت ۱ دقیقه) اجرا کردند. بعد از اتمام تمرین اصلی، ۵ دقیقه سرد کردن با شدت پایین اجرا شد. گفتنی است که تمام شرایط زیستی برای گروه کنترل، به جز پروتکل‌های اصلی تمرین در روز آزمایش، شیوه گروه‌های تمرین بود. برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه تجزیه و تحلیلگر گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام شده پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد مورد استفاده قرار گرفت. بر این اساس، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، آزمون با دویden رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع شد. سپس سرعت نوار گردان هر ۲ دقیقه یکبار به میزان ۰/۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویden نباشند. سرعتی که در آن، رت‌ها به واماندگی می‌رسیدند، به عنوان حداکثر

[۱۲]. در این میان میکرو RNA های Let-7 غیرکدکننده‌ای هستند که از ۲۲ نوکلوتید تشکیل شده‌اند [۱۳]. به طور تحریبی تأیید شده است که میکرو RNA های Let-7 در طیف گسترده‌ای از گونه‌ها، از جمله انسان حفظ می‌شوند و خانواده از آن‌ها شناسایی شده است [۱۴]. در HUVECs Let-7 بسیار بیان می‌شود، و مشخص گردیده است که نقش مهمی در آنژیوژن دارد [۱۶، ۱۵]. علیرغم این که در مورد بیان Let-7 در بافت نمونه‌های دیابتی نتایج مستدلی ارائه نشده است، اما مطالعات پیشین نشان داده است که سطح Let-7 پلاسمایی در بیماران مبتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی و دیابت نوع ۲ پایین‌تر است. سطوح Let-7 می‌تواند بعد از درمان‌هایی که اغلب در بیماران برای کاهش خطر یا پیشرفت بیماری‌های قلبی - عروقی استفاده می‌شود، به سطح عادی بازگردد [۱۸، ۱۷]. از سوی دیگر نقش ورزش در دیابت و تنظیم آنژیوژن قلبی و تأثیر آن بر عوامل آنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک بسیار حائز اهمیت است. انجمن دیابت آمریکا و انجمن اروپایی مطالعه دیابت، هر دو به طور قاطع انجام فعالیت ورزشی را در کنترل دیابت مؤثر دانستند [۱۹]. هرچند مطالعات موجود نشان‌دهنده تأثیر تمرین ورزشی بر برخی از عوامل آنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک است. با این حال همه انواع تمرینات بر این عوامل مؤثر نیستند. به عنوان مثال ماهر و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که تمرین مقاومتی تأثیر معناداری بر آنژیوژن و VEGF در رت‌های دیابتی ندارد [۸]. اما Vizvari و همکاران (۲۰۱۹) افزایش معنادار NO و سرمی را در زنان مبتلا به دیابت نوع ۲ در اثر تمرین هوایی نشان دادند [۲۰]. در مورد Let-7a در افراد دیابتی و یا آنژیوژن قلبی تحقیق مشخصی یافته نشد، اما تحقیق عیسی‌نژاد و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد که تمرین هوایی به افزایش Let-7a در موش‌های مبتلا به سرطان پستان منجر می‌شود [۲۱]. توجه به این که هایپوکسی، اهمیت بسیاری در آنژیوژن دارد و با در نظر داشتن تأثیر تمرینات تنابی با شدت بالا در ایجاد هایپوکسی، به‌نظر می‌رسد که این نوع تمرینات از طریق ایجاد هایپوکسی می‌توانند در رگ‌زایی مؤثر باشند. چنان‌چه قبل‌اگفته شد، دیابت باعث مهار آنژیوژن و تشکیل عروق جانبی در قلب و عروق محیطی می‌گردد، درنتیجه این احتمال وجود دارد که تمرینات تنابی با توجه به ایجاد شرایط هایپوکسی به نتایج مطلوبی در القای آنژیوژن در نمونه‌های دیابتی منجر شود. بنابراین هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر هشت‌هفته تمرین تنابی با شدت بالا بر سطوح NO، VEGF، a-VEGF و Let-7a در رت‌های جوان مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد.

استخراج RNA و سنتز cDNA در بافت قلب برای بررسی بیان microRNA let-7 مراحل استخراج RNA براساس پروتکل ترایزول انجام شد، سپس برای استخراج let-7 microRNA let-7 پس از اضافه نمودن ایزوپروپانول محلول رویی به مدت ۱ شبانه روز در دمای -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری و بهترتیب، مراحل بعدی استخراج انجام شد. برای ساخت cDNA از کیت Stratagene مطابق با پروتکل شرکت، استفاده شد.

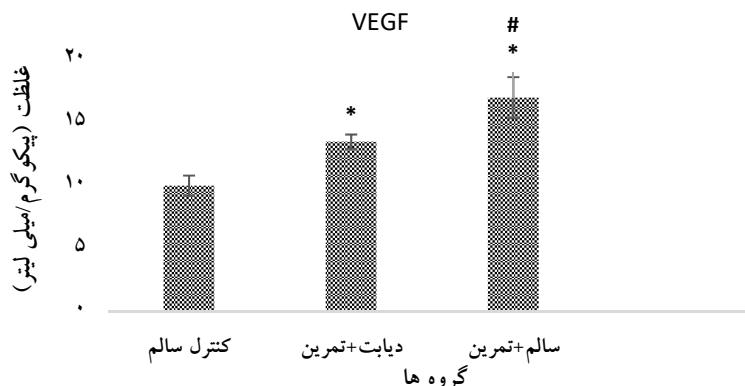
Real Time-PCR ابتدا غلظت مطلوب cDNA و پرایمر مربوط به let-7 microRNA با استفاده از آزمایش سریال غلظت، مشخص شد. برنامه Real Time-PCR روی دستگاه کوربیت، شامل ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه ۴۵ سیکل، ۹۵ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه به مدت ۱۵ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۲۰ ثانیه بود. از U6 به عنوان ژن کنترل داخلی let-7 استفاده شد. پرایمرهای طراحی و استفاده شده در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱- پرایمرهای مورد استفاده

	آغازگر جلویی	آغازگر برگشتی	NCBI
LET-7A	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	----	NR_029725
U6	GCGCGTCGTGAAGCGTTC	G TGCAGGGTCCGAGGT	NR_003027

نتایج

نتایج آزمون آماری آنوا نشان داد که در بین گروه‌های تحقیق، از نظر مقدار VEGF تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.001$). آزمون تعقیبی بونفرونی نیز مشخص کرد که گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.005$) و گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.001$) از VEGF بیشتری برخوردار است. همچنین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین مقدار VEGF بیشتری داشت ($P=0.005$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱- مقایسه سطح پلاسمایی VEGF در گروه‌های مختلف تحقیق

* = معنادار در مقایسه با گروه کنترل، # = معنادار در مقایسه با گروه دیابت + تمرین

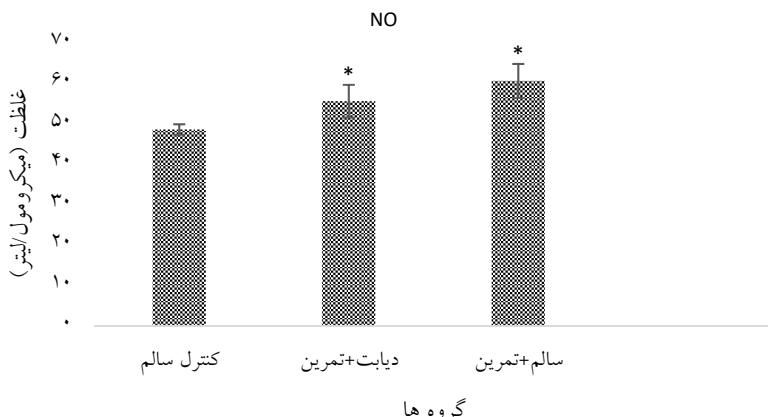
سرعت در نظر گرفته شد [۲۲]. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها با استفاده از ترکیبی از داروی کاتامین ۷۵ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین ۱۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق درونصفاقی بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، قفسه سینه را شکافته و خون به طور مستقیم از قلب آن‌ها گرفته و همچنین قلبشان استخراج شد. سپس نمونه‌ها بلا فاصله به میکروتیوب منتقل و در ازت مایع قرار داده شدند و برای سنجش‌های بعدی، به فریزر با دمای -۸۰ درجه سانتی گراد انتقال یافتند. برای بررسی Rat VEGF در سرم از روش الایزا استفاده شد (ELISA kit, Cusabio Biotech) مطابق روش انجام آزمایش که در بروشور کیت توصیه شده بود، رفتار شد. درخصوص سنجش میزان نیتریک اسید از واکنش رنگ‌سنگی شیمیایی با توجه به واکنش گریس با استفاده از کیت Nitric Oxide Assay Kit, Cayman, (USA) استفاده شد.

روش آماری

در این تحقیق برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده از آزمون شاپرروویلک استفاده شد. در صورت طبیعی بودن داده‌ها از آزمون‌های پارامتریک شامل آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه دو به دوی گروه از آزمون تعقیبی بونفرونی جهت بررسی متغیرها استفاده شد. تمامی بررسی‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (شیکاگو) و در سطح معناداری $P \leq 0.05$ انجام شد.

در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.005$) NO بیشتری داشت. همچنین تفاوت بین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین از نظر مقدار NO معنادار نبود ($P=0.07$). (نمودار شماره ۲).

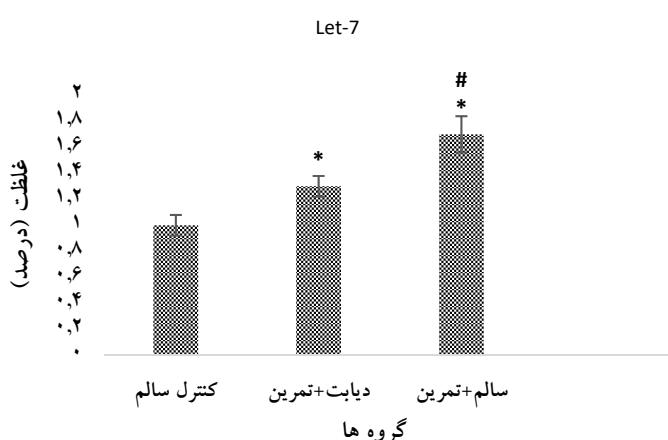
از سوی دیگر نتایج آزمون آماری آنوا نشان داد که در بین گروههای تحقیق از نظر مقدار NO تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.03$). در همین راستا آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.041$) و گروه سالم + تمرین



نمودار شماره ۲- مقایسه سطح پلاسمایی NO در گروههای مختلف تحقیق
*= معنادار در مقایسه با گروه کنترل

کنترل ($P=0.001$) از Let-7a بیشتری برخوردار است. همچنین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین مقدار- Let-7a بیشتری داشت ($P=0.001$) (نمودار شماره ۳).

نتایج آزمون آماری آنوا نشان داد که در بین گروههای تحقیق از نظر Let-7a تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0.01$). آزمون تعقیبی بونفرونی نیز مشخص کرد که گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($P=0.009$) و گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه



نمودار شماره ۳- مقایسه سطح بیان Let-7a در گروههای مختلف تحقیق
#= معنادار در مقایسه با گروه کنترل، #*= معنادار در مقایسه با گروه دیابت + تمرین

بحث رت‌های جوان مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد. نتایج نشان داد که گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل و گروه سالم + تمرین از Let-7a بیشتری برخوردار است.

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر سطح پلاسمایی NO و VEGF در

اعمال شده، متفاوت است و از طرفی محرك آزادشدن mRNAVEGF و پروتئين VEGF ممکن است متفاوت باشد [۳۲]. بر این اساس ماهرو و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که تمرین مقاومتی تأثیر معناداری بر آنژیوژنر و VEGF در رت‌های دیابتی ندارد [۸]. اما Soori و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تمرین استقامتی باعث افزایش VEGF بافت قلب رت‌های دیابتی می‌شود [۳۳]. قربان‌زاده و همکاران (۲۰۱۷) افزایش VEGF را در نمونه‌های دیابتی در اثر ورزش هوایی گزارش کردند [۳۴]. در مورد افزایش VEGF در اثر ورزش، عوامل مختلفی مؤثر است؛ اما در این تحقیق VEGF افزایش Let-7a بررسی و به عنوان مکانیزم تأثیر ورزش بر گزارش شد. هر چند دیگر محققان TGF- β را نیز مؤثر می‌دانند [۳۵]. VEGF از فاکتورهای مهم در آنژیوژنر است که در مهاجرت، تکثیر، تجزیه ماتریکس سلول‌های اندوتیال، تشکیل شبکه‌هایعروقی و همچنین تولید NO و آزادسازی آن در سلول‌های اندوتیال مؤثر است [۳۶] و از آپوپتوز سلول‌های اندوتیال جلوگیری کرده، اتساع رگ‌های خونی را نیز تنظیم می‌کند [۸]. بین NO و VEGF عملکرد متقابل وجود دارد [۸]. در همین راستا نتایج پژوهش حاضر نشان داد که گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل و گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین نفاوت بین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین از نظر مقدار NO معنادار نبود. Grijalva و همکاران (۲۰۰۸) نیز افزایش معنادار NO را در رت‌های دیابتی در اثر ۹ هفته تمرین هوایی گزارش کردند [۳۷]. هر چند Krause و همکاران (۲۰۱۳) تغییر معناداری در مقدار NO در اثر ورزش هوایی در افراد دیابتی گزارش نکردند [۳۸]. احتمالاً مدت زمان تمرین و یا شدت از دلایل نتایج متفاوت باشد. در افزایش NO در اثر ورزش عوامل مختلفی می‌تواند مؤثر باشد که Let-7a از آن جمله است. در همین راستا Bao و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که افزایش بیان Let-7a باعث افزایش NO می‌شود [۳۸]. به نظر می‌رسد که دیابت باعث کاهش Let-7a و به دنبال آن کاهش آن افزایش VEGF و NO می‌شود. اما تمرین از طریق افزایش Let-7a باعث افزایش VEGF و NO شد. در مطالعات نشان داده است که بین NO و VEGF دیگر مطالعات محدود است که مکانیزم‌های تأثیر ورزش تناوبی بر NO در نمونه‌های دیابتی و سالم مشخص گردید که از نقاط قوت این پژوهش محسوب می‌شود. در تحقیق حاضر به علت محدودیت در بودجه پژوهشی گروه کنترل دیابتی در نظر گرفته نشد، همچنین مقدار HIF1 و TGF- β نیز بررسی نشد که از محدودیت‌های تحقیق به شمار می‌رود.

همچنین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین مقدار Let-7a بیشتری داشت. در مورد بیان Let-7 در بافت نمونه‌های دیابتی نتایج مشخصی ارائه نشده است، اما برخی مطالعات نشان داده است که سطح Let-7 پلاسمایی در بیماران قلبی - عروقی و دیابت نوع ۲ پایین‌تر است، اما می‌تواند بعد از درمان به سطح عادی بازگردد [۱۸,۱۷]. اعضای خانواده Let-7 بالغ، حاوی توالی‌های یکسان هستند و در ترتیبی برای سرکوب بیان یک مجموعه مشترک از mRNAهای هدف اقدام می‌کنند [۲۴,۲۳]. Brennan و همکاران (۲۰۱۷) در تحقیقی نشان دادند که کاهش در Let-7a نمونه‌های دیابتی باعث افزایش التهاب و گسترش تصلب شرايين می‌گردد [۲۳]. نقش مهمی در آنژیوژنر دارد [۱۵]. اگرچه شبکه سیگنالی دقیق آن هنوز مشخص نشده است، اما نشان داده شده است که بسیاری از عوامل مرتبط با آنژیوژنر در رگ‌زایی تنظیم شده با Let-7 مشارکت دارند: مانند ترومبوپیوندین-۱، ترومبوپیوندین-۲، tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1)، Kinase insert domain، c-Met و Neuropilin-1 (NRP1) receptor (KDR) /vascular endothelial growth factor receptor (TEK / Tie-2 receptor 2 (vegfr2) مسیر سیگنالی HIF1 α /let-7/argonaute 1(AGO1)/VEGF را در رگ‌زایی ناشی از هیپوکسی پیشنهاد کردند. HIF1 به عنوان یک تنظیم کننده کلیدی، باعث بیش تر تغییری بیان Let-7a و اهداف AGO1 از جمله Let-7a شده، به دنبال آن افزایش بیان VEGF و آنژیوژنر می‌گردد [۱۶]. دیگر مطالعات نیز نشان داده اند که TGF- β باعث کاهش بیان Let-7a می‌گردد [۲۷]. K.O. و همکاران (۲۰۱۹) Let-7a نشان دادند که دیابت باعث افزایش معنادار TGF- β می‌شود. Cerychova و همکاران (۲۰۱۸) کاهش HIF1 را در نمونه‌های دیابتی گزارش کردند [۲۹]. بنابراین می‌توان تغییرات در مقادیر Let-7a و HIF1 و TGF- β در اثر ورزش را از مکانیزم‌های مؤثر بر HIF1 دانست. چنان‌چه Wang و همکاران (۲۰۱۸) افزایش HIF1 در اثر ورزش هوایی را نشان دادند [۳۰]. Ren و همکاران (۲۰۱۷) نیز کاهش TGF- β را در اثر ورزش گزارش کردند [۳۱]. همچنان پیش‌تر گفته شد که Let-7a از طریق افزایش VEGF می‌تواند در آنژیوژنر مؤثر باشد. نتایج ما نشان داد که گروه دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل و گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه کنترل از VEGF بیشتری برخوردار است. همچنین گروه سالم + تمرین در مقایسه با گروه دیابت + تمرین مقدار VEGF بیشتری داشت. هر چند در مورد اثربخشی تمرینات تناوبی تحقیق مستدلی یافت نشد، اما میزان ترشح فاکتورهای آنژیوژنیک، بسته به نوع محرك

mekanizm‌های اثر ورزش بر آنژیوژنز را مشخص ساخت. افزایش این متغیرها در نمونه‌های سالم بیشتر از نمونه‌های دیابتی بود.

تشکر و قدردانی

از پرسنل آزمایشگاه و همه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، تشکر می‌شود.

References:

- [1] Carmeliet P, Luttun A. The emerging role of the bone marrow-derived stem cells in (therapeutic) angiogenesis. *Thromb Haemost* 2001;86:289-97.
- [2] van Royen N, Piek JJ, Schaper W, Bode C, Buschmann I. Arteriogenesis: mechanisms and modulation of collateral artery development. *J Nucl Cardiol* 2001;8:687-93.
- [3] Abaci A, Oguzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Ünal Suk, Arinç Hs, et al. Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. *Circulation* 1999; 99: 2239-42.
- [4] Werner GS, Ferrari M, Betge S, Gastmann O, Richartz BM, Figulla HR. Collateral function in chronic total coronary occlusions is related to regional myocardial function and duration of occlusion. *Circulation* 2001;104:2784-90.
- [5] Hegde P, Wallin J, Mancoa Ch. Predictive markers of anti-VEGF and emerging role of angiogenesis inhibitors as immunotherapeutics. *Semin Cancer Biol* 2018; 52(Pt 2): 117-24.
- [6] Green DJ, Spence A, Halliwill JR, Cable NT, Thijssen DH. Exercise and vascular adaptation in asymptomatic humans. *Exp Physiol* 2011; 96: 57-70.
- [7] Yoon YS, Uchida S, Masuo O, Cejna M, Park J-S, Gwon HC, et al. Progressive attenuation of myocardial vascular endothelial growth factor expression is a seminal event in diabetic cardiomyopathy: restoration of microvascular homeostasis and recovery of cardiac function in diabetic cardiomyopathy after replenishment of local vascular endothelial growth factor. *Circulation* 2005; 11: 12073-85.
- [8] Mahrou M, Gaeini AA, Chobbineh S, Javidi M. Changes in stimulating factors of angiogenesis, induced by progressive resistance training in diabetic rats. *Ijdld* 2014; 14: 1-8.
- [9] Miao Y, Ajami NE, Huang TS, Lin FM, Lou CH, Wang YT, et al. Enhancer-associated long non-coding RNA LEENE regulates endothelial nitric oxide synthase and endothelial function. *Nat Commun* 2018; 9(1): 1-3.
- [10] Sokolovsk A, Dekante A, Baumane L, Pahirko L, Valeinis J, Dislere K, et al. Nitric oxide metabolism is impaired by type 1 diabetes and diabetic nephropathy. *Biomed Rep* 2020; 12.5: 251-258.
- [11] Jahangiri RJ, Farzanegi P, Habibian MH. The Effect of Aerobic Training and Arbotin on Cardiac Nitric Oxide, Tumor Necrosis Factor alpha, and Vascular Endothelial Growth Factor in Male Diabetic Rats. *Qom Univ Med Sci J* 2017;11:53-62. [in Persian]
- [12] Küçükali CI, Kürtüncü M, Coban A, Cebi M, Tüzün E. Epigenetics of multiple sclerosis: an updated review. *Neuromolecular Med* 2015;17:83-96.
- [13] Jiang S. Recent findings regarding let-7 in immunity. *Cancer Lett* 2018, 434: 130-131.
- [14] Berindan-Neagoe I, Calin GA. Molecular pathways: microRNAs, cancer cells, and microenvironment. *Clin Cancer Res* 2014;20:6247-53.
- [15] Kuehbacher A, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res* 2007; 101: 59-68.
- [16] Chen Z, Lai T-C, Jan YH, Lin FM, Wang WC, Xiao H, et al. Hypoxia-responsive miRNAs target argonaute 1 to promote angiogenesis. *J Clin Invest* 2013; 123: 1057-67.
- [17] Satoh M, Tabuchi T, Minami Y, Takahashi Y, Itoh T, Nakamura M. Expression of let-7i is associated with Toll-like receptor 4 signal in coronary artery disease: effect of statins on let-7i and Toll-like receptor 4 signal. *Immunobiology* 2012; 217: 533-9.
- [18] Santovito D, De Nardis V, Marcantonio P, Mandolini C, Paganelli C, Vitale E, et al. Plasma exosome microRNA profiling unravels a new potential modulator of adiponectin pathway in diabetes: effect of glycemic control. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: E1681-E5.
- [19] Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C. Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes care* 2004;27:2518-39.
- [20] Vizvari E, Farzanegi P, Abaszade Sourati H. Effect of Moderate Aerobic Training on Serum Levels of Angiogenic and Angiostatic Factors in Women with Type 2 Diabetes. *Sjimu* 2019; 27: 112-21. [in Persian]
- [21] Isanejad A, Alizadeh AM, Shalamzari SA, Khodayari H, Khodayari S, Khori V, et al. MicroRNA-206, let-7a and microRNA-21 pathways involved in the anti-angiogenesis effects of the interval exercise training and hormone therapy in breast cancer. *Life Sci* 2016; 151: 30-40.

نتیجه‌گیری

تحقیقات قبلی نشان داده بود که دیابت بر a-7a و VEGF مؤثر بوده، باعث کاهش آن می‌شود. اما درمورد تأثیر ورزش بر آنژیوژنز و VEGF از طریق Let-7a به خصوص در نمونه‌های دیابتی نتایج روشنی گزارش نشده بود. اما این تحقیق نشان داد که تمرين تناوبی از طریق افزایش Let-7a باعث افزایش NO و VEGF (Let-7/VEGF/NO) و یکی از

- [22] Akbarzadeh A, Fattahi bafghi A. The effect of high intensity interval training combined with curcumin supplementation on Plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. *Jssu* 2018;25:961-9. [in Persian]
- [23] Brennan E, Wang B, McClelland A, Mohan M, Marai M, Beuscart O, et al. Protective effect of let-7 miRNA family in regulating inflammation in diabetes-associated atherosclerosis. *Diabetes* 2017;66:2266-77.
- [24] Bernsten D L, Jiang, X, Rom S. let-7 microRNAs: Their Role in Cerebral and Cardiovascular Diseases, Inflammation, Cancer, and Their Regulation. *Biomedicines* 2021, 9.6: 606.
- [25] Otsuka M, Zheng M, Hayashi M, Lee J-D, Yoshino O, Lin S, et al. Impaired microRNA processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice. *J Clin Invest* 2008;118:1944-54.
- [26] Bae ON, Wang JM, Baek SH, Wang Q, Yuan H, Chen AF. Oxidative Stress-Mediated Thrombospondin-2 Upregulation Impairs Bone Marrow-Derived Angiogenic Cell Function in Diabetes Mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33: 1920-7.
- [27] Park JT, Kato M, Lanting L, Castro N, Nam BY, Wang M, et al. Repression of let-7 by transforming growth factor- β 1-induced Lin28 upregulates collagen expression in glomerular mesangial cells under diabetic conditions. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014; 307: F1390-F403.
- [28] Ko JR, Seo DY, Kim TN, Park SH, Kwak H-B, Ko KS, et al. Aerobic Exercise Training Decreases Hepatic Asprosin in Diabetic Rats. *J Clin Med* 2019; 8: 666.
- [29] Cerychova R, Pavlinkova G. HIF-1, metabolism, and diabetes in the embryonic and adult heart. *Front Endocrinol* 2018; 9: 460.
- [30] Wang S, Tang Y, Zhang Z, Tang Z, Liu Y, Wang Z. Regulatory effects of HIF-1alpha on eNOS expressions in the vascular endothelium of pre-diabetic rats with aerobic exercise. *Biomedical Res* 2018.
- [31] Ren L, Sen U, Pushpakumar S. Exercise training reduces TGF- β mediated epithelial mesenchymal transition in diabetic kidney. *FASEB J* 2017; 31: 1086.5-5.
- [32] Nourshahi M, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *QHMS* 2013; 286-96. [in Persian]
- [33] 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. [in Persian]
- [34] Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Dariushnejad H, Abhari A, Chodari L, Mohaddes G. Cardioprotective effect of crocin combined with voluntary exercise in rat: role of mir-126 and mir-210 in heart angiogenesis. *Arq Bras Cardiol* 2017; 109: 54-62.
- [35] Shoeibi S, Mozdziak P, Mohamadi S. Important signals regulating coronary artery angiogenesis. *Microvasc Res* 2018; 117: 1-9.
- [36] Salehi E, Amjadi FS, Khazaei M. Angiogenesis in Health and Disease: Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). *JIMS* 2011; 29. [in Persian]
- [37] Grijalva J, Hicks S, Zhao X, Medikayala S, Kaminski PM, Wolin MS, et al. Exercise training enhanced myocardial endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Cardio Diabet* 2008; 7: 34.
- [38] Krause M, Josianne RK, Ciara O, Paul M, Gareth D, Davide S, et al. The effects of aerobic exercise training at two different intensities in obesity and type 2 diabetes: implications for oxidative stress, low-grade inflammation and nitric oxide production. *Eur J Appl Physiol* 2014; 114.2: 251-260.
- [39] Bao M-h, Zhang Y-w, Lou X-y, Cheng Y, Zhou H-h. Protective effects of let-7a and let-7b on oxidized low-density lipoprotein induced endothelial cell injuries. *PLoS One* 2014; 9: e106540.