

اثر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروسستین بر بیان برخی شاخص‌های آنژیوژنز بافت قلب موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند

شهرام پویا^۱، خسرو جلالی دهکردی^{۱*}، فرزانه تقیان^۱، مهدی کارگر فرد^۲، سید علی حسینی^۲

^۱گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران، ^۲گروه فیزیولوژی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران،
^۳گروه فیزیولوژی ورزش، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران
تاریخ وصول: ۱۴۰۲/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: دیابت با بروز اختلالات قلبی و متابولیکی همراه است. اگرچه نقش مطلوب فعالیت بدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها در سلامت افراد گزارش شده است، ولی اثر هم‌زمان تمرین تناوبی هوازی و کروسستین در آنژیوژنز در بافت قلب به خوبی شناخته نشده است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروسستین بر بیان برخی شاخص‌های آنژیوژنز بافت قلب موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند بود.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۴۰۱ انجام شد. ۴۵ سر موش نر سالمند مبتلا به دیابت با سن ۱۶-۱۴ هفته و وزن ۳۵-۳۰ گرم به گروه‌های: پیش‌دیابتی، پیش‌دیابتی+تمرین هوازی، پیش‌دیابتی+کروسستین، پیش‌دیابتی+تمرین هوازی+کروسستین، دیابتی، دیابتی+تمرین هوازی، دیابتی+کروسستین و دیابتی+تمرین هوازی+کروسستین تقسیم شدند. جهت بررسی اثر مدل‌سازی بر متغیرها ۵ سر موش صحرایی در گروه کنترل سالم قرار گرفتند. تمرین هوازی تناوبی به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته تمرین انجام شد و دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استروپتوزتوسین (STZ) تزریق شد. موش‌ها کروسستین را به میزان ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز به صورت تزریق صفاقی دریافت کردند. میزان بیان ژن‌های FGF و No به وسیله تکنیک Real time RT-PCR سنجیده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: مقادیر بیان ژنی FGF-2 در گروه پیش‌دیابت+تمرین هوازی+مکمل کروسستین و گروه دیابت+تمرین هوازی+مکمل کروسستین به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بود ($p \leq 0.05$)، مقادیر بیان ژنی NO در گروه پیش‌دیابت+تمرین هوازی+مکمل کروسستین و گروه دیابت+تمرین هوازی+مکمل کروسستین به طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود ($p \leq 0.05$). مقادیر انسولین و گلوکز در گروه پیش‌دیابت+تمرین هوازی+مکمل کروسستین و گروه دیابت+تمرین هوازی+مکمل کروسستین به طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود ($p \leq 0.05$).

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

واژه‌های کلیدی: تمرین، کروسستین، آنژیوژنز، قلب، سالمند، پیش‌دیابت، دیابت

*نویسنده مسئول: خسرو جلالی دهکردی، اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، گروه فیزیولوژی ورزش

Email: khosrojalali@khuif.ac.ir

مقدمه

با توجه به پیشرفت علم پزشکی در جهان امروزی و افزایش امید به زندگی جمعیت سالمندان رو به افزایش است. پیری با اختلال در عملکرد بیولوژیک همراه است و باعث بروز بیماری گوناگونی از جمله دیابت، افزایش فشارخون و نارسایی قلبی و عروقی می‌شود (۱). دیابت قندی یک بیماری مزمن جدی و پیچیده است و عاملی عمده در به وجود آمدن مشکلات سلامتی در سراسر جهان است. همچنین پیش دیابت به عنوان عامل مهم خطر ابتلا به دیابت نوع ۲، به وسیله تغییرات قند خون بالاتر از سطح نرمال و پایین‌تر از آستانه دیابت مشخص می‌شود. براساس نظریه متخصصان انجمن دیابت آمریکا نزدیک به ۷۰ درصد افراد پیش دیابتی در نهایت به دیابت مبتلا می‌شوند. بنابراین تشخیص و درمان وضعیت پیش دیابتی مهم است (۲). اختلال عملکرد سلول‌های بتای لانگرهانس و مقاومت به انسولین نقش مهمی در ایجاد این بیماری دارد. شیوع بیماری‌های قلبی - عروقی ۴-۲ برابر افراد سالم است (۳). آمار دیابتی‌ها در سال ۱۹۹۷ حدود ۱۲۵ میلیون نفر بوده است که برآورد اخیر سازمان جهانی بهداشت نشان می‌دهد در سال ۲۰۲۵ تعداد دیابتی‌ها در جهان به ۳۰ میلیون نفر افزایش یابد و در ایران نیز بیش از ۱۰ درصد جمعیت بالغ را دیابتی‌ها تشکیل می‌دهند که نیمی از آن‌ها از دیابت خود هنوز بی‌اطلاعند (۴). از طرفی بیماری‌های قلبی علل اصلی مرگ و میر در بیشتر کشورهای صنعتی و در حال توسعه بوده که

منجر به ناتوانی قابل توجه و کاهش بهره‌وری نیروی انسانی نیز شده است (۵). دیابت با ناهنجاری‌هایی در آنژیوزن همراه است و از نظر عروقی و آنژیوزن یک بیماری متناقض می‌باشد، زیرا از یک طرف باعث افزایش آنژیوزن در اندام‌هایی مانند کلیه و چشم می‌شود و از طرف دیگر موجب مهار آنژیوزن و تشکیل عروق جانبی در قلب و عروق محیط در انسان و مدل‌های حیوانی می‌گردد (۶).^۱ با وجود افزایش آگاهی از اثرات تخریبی دیابت در مورد آنژیوزن بافت قلبی سازو کارهای مولکولی درگیر در این پدیده به طور دقیق شناخته نشده است. یکی از مهم‌ترین سازگاری حاصله در سطح عضله اسکلتی و قلبی، افزایش چگالی مویرگی یا رگ زایی (آنژیوزن) است (۷). اکثر مرگ‌های رخ داده در بیماران دیابتی به دلیل اختلالات عروقی است. فاکتورهای متعددی در رگ‌زایی دخیل هستند که از آنها می‌توان به نیتریک اکساید (NO)^(۱) و فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF2)^(۲) اشاره نمود. NO به وسیله آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (eNOS)^(۳) از ال آرژنین ساخته شده است و از اندوتلیوم عروق در پاسخ به تحریک فیزیولوژیکی و مکانیکی رها می‌شود که نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی متعدد از جمله سبب گشاد شدن رگ‌ها، ممانعت از تجمع پلاکت‌ها و همچنین ممانعت از چسبندگی لکوسیت‌ها دارد. به نظر می‌رسد که افزایش حاد و فوری شیراسترس بیشتر

1-Nitric Oxide

2-Fibroblast growth factor 2

3-Endothelial NOS

موجب ترشح اتساع کننده‌های عروقی به ویژه نیتریک اکساید می‌شود و از این طریق عروق متسع می‌شوند. فعال شدن مسیر $PI3K-AKT^{(1)}$ و eNOS مشتق گرفته از NO منجر به بهبود عملکرد اندوتلیالی و نجات سلول‌های مختل شده میوکارد می‌شود (۸). همچنین فاکتور رشد فیبرو بلاست (FGF-2) در تکثیر، بقا و تمایز سلولی نقش دارد. FGF-2 عضوی از خانواده فاکتورهای رشد اتصال دهنده به هیپارین است که گیرنده‌های تیروزین کیناز را متصل می‌کند. در قلب، بیان FGF-2 در فرآیند بازسازی قلب، تنظیم مثبت نشان داده شد، در نهایت نشان داده شد که FGF2 برای تکثیر همانژیوبلاست، پیش‌ساز مشترک سلول‌های خون‌ساز و اندوتلیال حیاتی است (۹). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعالیت بدنی نیز سبب افزایش رگ‌زایی می‌شود که از طریق افزایش استرس سایشی ناشی از جریان خون طی فعالیت بدنی اعمال می‌شود. تغییرات متوالی در استرس سایشی منجر به افزایش فعالیت زیستی NO و FGF-2 می‌شود. نتایج تحقیق صحافیان و همکاران نشان داد که مصرف مکمل کافئین و جنسینگ باعث افزایش NO بافت قلب موش‌های صحرایی متعاقب تمرین شد (۱۰). بررسی‌ها نشان داد که تمرین ورزشی به خصوص تمرین تناوبی هوازی با تغییر در نیازهای سوخت و ساز عضلات قلبی و اسکلتی در عضلات اسکلتی و قلبی، باعث کاهش مقاومت به انسولین و افزایش حساسیت انسولینی بیماران دیابتی در هر دو مدل انسانی و حیوانی شده و از این طریق می‌تواند به عنوان محرکی

برای آنژیوژنز، رشد مویرگی، تعداد میتوکندری و ظرفیت اکسایشی باشد. به نظر می‌رسد علاوه بر فعالیت بدنی، رژیم غذایی مناسب نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همچنین با توجه به ماهیت تمرینات ورزشی و چالش برانگیز بودن تأثیر آن در آنژیوژنز، به نظر می‌رسد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در کنار تمرینات ورزشی بتواند اثر مطلوب‌تری بر سلامت این افراد داشته باشد (۱۱).^۱ در این میان زعفران و ترکیبات آن فعالیت‌های پزشکی - بیولوژیکی قابل توجهی را نشان داده‌اند. گزارش شده است که ترکیبات مشتق شده از زعفران مانند کروسستین اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی با مهار اکسیداسیون لیپوپروتئین و کاهش گلوکز خون اثرات قابل توجهی بر بیماری دیابت نوع دوم دارد (۱۲). مشخص شده است که کروسستین در هیپرتروفی قلبی القا شده با نوراپی نفرین با مهار پراکسیداسیون چربی‌ها و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز و گلوکاتون پراکسیداز اثر حفاظتی ایجاد نموده است (۱۳). تحریک آنژیوژن و کاهش گلوکز نشان دهنده سازگاری مهم تمرین ورزشی در بهبود جریان خون و توسعه تحویل انسولین برای حذف گلوکز می‌باشد. 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 پژوهش‌ها محدودی به

1-Phosphatidylinositol 3-kinase

بررسی تأثیر تمرین هوازی و کروسستین بر متغیرهای مسیر سیگنالینگ آنژیوژنز در بافت قلب پیش دیابتی و دیابتی سالمند پرداخته‌اند، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروسستین بر بیان ژن برخی شاخص‌های آنژیوژنز بافت قلب موش‌های سالمند مبتلا به پیش دیابت و دیابت بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۴۰۱ انجام شد. تعداد ۴۸ سر موش نر سالمند با محدوده سنی ۱۶-۱۴ هفته و محدوده وزنی ۳۰-۳۵ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی مرکز رویان اصفهان تهیه گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه تخصصی فیزیولوژی ورزشی به واحد دانشگاه آزاد اصفهان به مدت یک هفته جهت سازگاری در این محیط نگهداری شدند. نکته قابل توجه این که در تمام دوره این تحقیق حیوانات در شرایط استاندارد شامل چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته، دمای محیط ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شدند. همچنین تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات در این تحقیق بر اساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) انجام شد.

موش‌های نر c57bl6 سالمند پیش‌دیابتی در حالت ۱۲ ساعت ناشتا تحت تزریق صفاقی تک دوز ۲۰

میلی‌گرم بر کیلوگرم استروپتوزتوسین (STZ)^(۱) حل شده در بافر سیترات قرار گرفتند. همچنین موش‌های c57bl6 سالمند دیابتی در حالت ۱۲ ساعت ناشتا تحت تزریق صفاقی تک دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استروپتوزتوسین (STZ) حل شده در بافر سیترات قرار گرفتند و ۴ روز پس از تزریق STZ گلوکز خون موش‌های صحرایی با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شد. در این تحقیق موش‌های صحرایی با گلوکز خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان موش‌های دیابتی شناخته خواهند شد (۱۴).^(۱) این نکته قابل ذکر است که تعداد ۴ سر موش صحرایی پس از القای دیابت به دلیل واکنش فردی به STZ تلف شدند و در انتها تعداد ۴۵ سر موش صحرایی وارد گروه‌های تحقیق شدند. در ادامه ۴۸ سر موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت به طور تصادفی به گروه‌های؛ پیش دیابتی، پیش دیابتی+تمرین هوازی، پیش دیابتی+کروسستین، پیش دیابتی+تمرین هوازی+کروسستین، دیابتی، دیابتی+تمرین هوازی، دیابتی+کروسستین و دیابتی+تمرین هوازی+کروسستین تقسیم شدند. این نکته قابل ذکر است که جهت بررسی اثر القا پیش دیابت و دیابت تعداد ۵ سر موش صحرایی سالم در گروه کنترل سالم قرار گرفتند.

گروه‌های تمرین پس از یک هفته آشناسازی با نوار گردان، با سرعت ۱۰-۷ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، برای اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن برای طراحی تمرین یک آزمون وامانده ساز انجام دادند.

1-Stroptozetocin(STZ)

برای این به دست آوردن حداکثر سرعت دویدن موش‌های 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 آنها افزوده شد تا به واماندگی برسند. واماندگی به حالتی اطلاق 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 متفاوت ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۰، ۷ در هفته اول و سرعت در هفته هشتم ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۵، 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 (۱۵).

جهت مکمل کروسستین (Sigma-Aldrich) روزانه ۳۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به ازای وزن هر موش به صورت گاوآژ خورانده شد (۱۶).

برای انجام تشریح و نمونه‌برداری ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی به وسیله محلول کتامین

۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زیلازین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، بی‌هوش شدند. جهت تشخیص بی‌هوشی متخصصین آزمایشگاه از روش‌های آزمون درد استفاده نمودند و پس از اطمینان از بی‌هوشی کامل، حفره سینه‌ای موش‌های صحرایی شکافته شد و پس از کنار زدن سایر بافت‌ها و قطع شریان‌های ورودی و خروجی به قلب، بافت قلب موش‌های صحرایی به دقت استخراج شد و بلافاصله در تانک ازت غوطه‌ور گردید. در ادامه بافت قلب تا زمان اندازه‌گیری متغیرها در دمای ۸۰- نگهداری شد.

جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژنی FGF و NO از روش qReal 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 آمریکا) استفاده شد. علاوه بر این برای بررسی کیفیت RNA از فرمول ($3 \times d/1000$) $C = A260$ (میکروگرم بر میکرو لیتر) 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 FGF و NO 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 میزان غلظت گلوکز با کمک دستگاه گلوکومتر گردید، همچنین جهت اندازه گیری سطوح بیان ژنی متغیرهای تحقیق با استفاده از ژن کنترل داخلی TBP استفاده شد و پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه qReal Time PCR و پس از رسیدن نمونه ها به آستانه بیان (Cycle Threshold) جهت کمی سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد (جدول ۲).

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

داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism و آزمون های آماری شاپیرو-ویلک، آنالیز واریانس یک راهه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

جدول ۱: برنامه تمرین هوازی تناوبی

هفته	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت زمان (دقیقه)	تعداد روز
سازگاری	۷-۱۰	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

جدول ۲: توالی پرایمر متغیرهای تحقیق

نام ژن	توالی پرایمر	دما (درجه سانتی گراد)
B2M	F: ACAGTTCCACCCGCCTCACATT R: TAGAAAGACCAGTCCTTGCTGAAG	۶۰
FGF	F: TGCTGGCTTCTGTGAGTAGTG R: GCCCAGTTCGTTTCAGTGCCA	۵۳
NO	F: AGCGACAATTTGACATCCAAC R: CTCTCTGAAGACGCCCTTG	۵۸

یافته ها

انسولین ($p=0/001$) و بیان ژن FGF ($p=0/001$) و NO

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیر گلوکز ($p=0/001$) و دیابت در گروه های تحقیق وجود دارد.

در بافت قلب موش های صحرایی مبتلا به

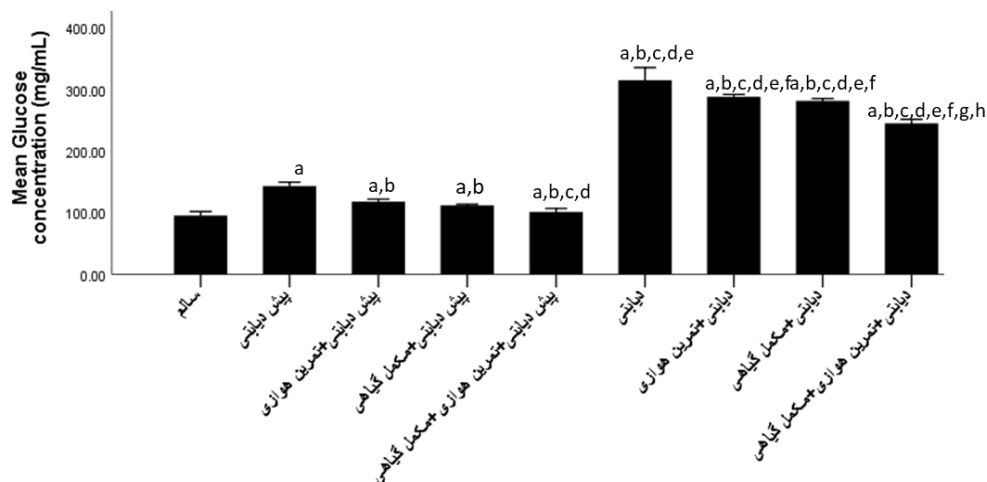
همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد مقادیر گلوکز و انسولین در گروه‌های پیش‌دیابتی ($p=0/001$) افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه سالم داشت، اما در گروه‌های پیش‌دیابتی+تمرین هوازی ($p=0/001$) و پیش‌دیابتی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) و پیش‌دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) و پیش دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) نسبت به گروه پیش دیابتی کاهش معنی‌دار داشت. همچنین مقادیر گلوکز و انسولین در گروه‌های دیابتی ($p=0/001$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت، اما در گروه‌های دیابتی+تمرین هوازی ($p=0/001$) و دیابتی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) و دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌دار داشت (شکل ۱ و ۲).

همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد مقادیر FGF در گروه‌های پیش دیابتی ($p=0/001$) کاهش معنی‌داری با گروه سالم داشت، اما در گروه‌های پیش دیابتی+تمرین هوازی ($p=0/001$) و پیش‌دیابتی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) و پیش‌دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) نسبت به گروه پیش دیابتی افزایش معنی‌دار داشت. همچنین مقادیر FGF در گروه‌های دیابتی ($p=0/001$) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت، اما در گروه‌های دیابتی+تمرین هوازی ($p=0/001$) و دیابتی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) و دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌دار داشت (شکل ۳).

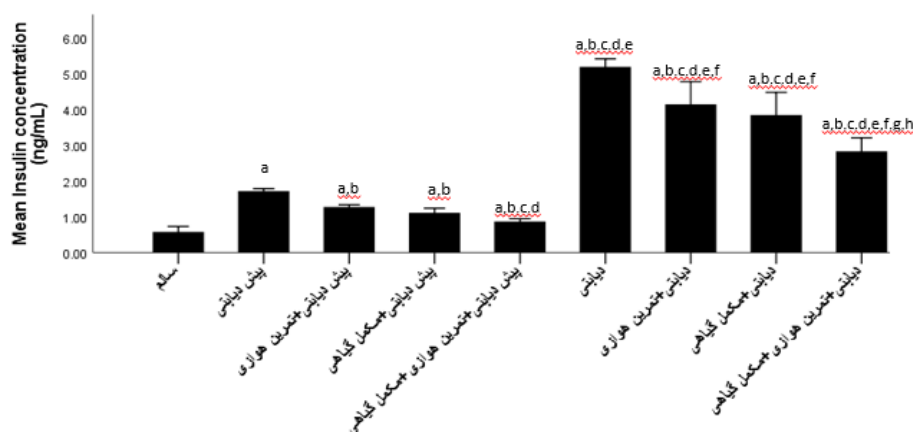
همچنین مقادیر NO در گروه‌های پیش‌دیابتی ($p=0/001$) افزایش معنی‌داری با گروه سالم داشت، اما در گروه‌های پیش‌دیابتی+تمرین هوازی ($p=0/001$) و پیش‌دیابتی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) و پیش‌دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) نسبت به گروه پیش‌دیابتی کاهش معنی‌دار داشت. همچنین مقادیر NO در گروه‌های دیابتی ($p=0/001$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت، اما در گروه‌های دیابتی+تمرین هوازی ($p=0/001$) و دیابتی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) و دیابت+تمرین هوازی+مکمل گیاهی ($p=0/001$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌دار داشت (شکل ۴).

بحث

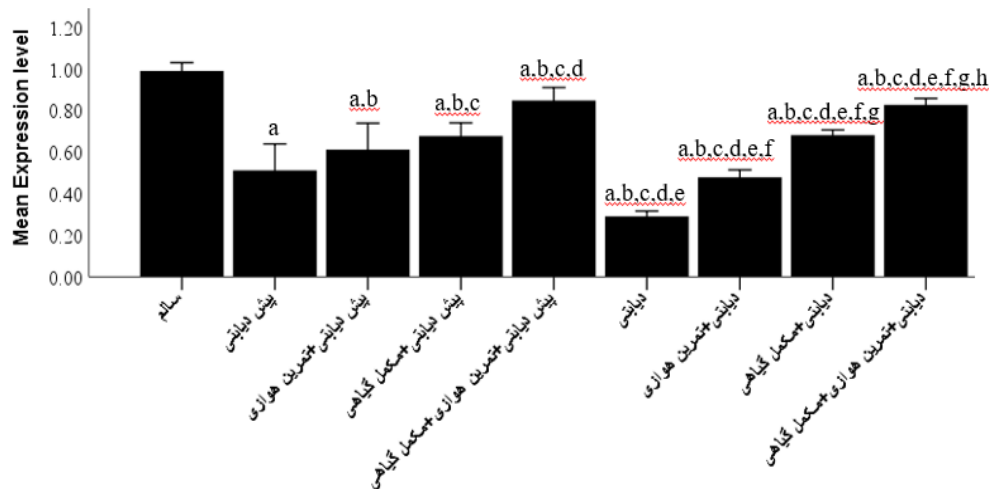
به نظر می‌رسد شرایط سالمندی و ابتلا به بیماری‌های متابولیکی موجب نقض عملکرد ارگان‌های درون سلولی از جمله میتوکندری می‌گردد، اما با توجه به پیشینه تحقیق، نقش مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کروسستین در بیماری‌های دیابت و تمرینات هوازی در آنژیوژنز میتوکندری و بهبود متابولیسم سلولی، اما اثر هم‌زمان این دو مداخله برای بهبود بیوژنز میتوکندریایی در بافت قلب پرسش سوال پژوهش بود، لذا هدف از پژوهش تعیین و بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروسستین بر بیان برخی شاخص‌های آنژیوژنز بافت قلب موش‌های پیش دیابتی و دیابتی سالمند بود.



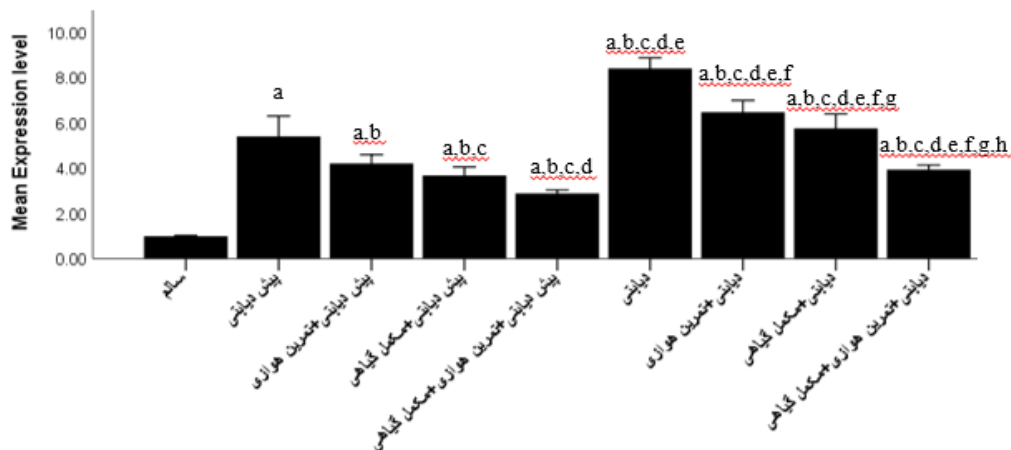
شکل ۱: سطوح گلوکز موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق. a: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه سالم با سایر گروه‌ها، b: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش دیابتی با سایر گروه‌ها، c: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، d: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش دیابتی با مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها، e: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، f: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها، g: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها



شکل ۲: سطوح انسولین موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق. a: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه سالم با سایر گروه‌ها، b: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش دیابتی با سایر گروه‌ها، c: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، d: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش دیابتی با مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها، e: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، f: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها، g: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها



شکل ۳: سطوح بیان ژنی FGF در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق. a: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه سالم با سایر گروه‌ها، b: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش‌دیابتی با سایر گروه‌ها، c: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش‌دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، d: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش‌دیابتی با مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها، e: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، f: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها و h: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها



شکل ۴: سطوح بیان ژنی NO در بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق. a: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه سالم با سایر گروه‌ها، b: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش‌دیابتی با سایر گروه‌ها، c: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش‌دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، d: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه پیش‌دیابتی با مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها، e: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی با سایر گروه‌ها، f: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها و h: نشان دهنده میزان معنی‌داری گروه دیابتی و تمرین هوازی و مکمل گیاهی با سایر گروه‌ها

نتایج این پژوهش نشان داد، که تمرین هوازی و مصرف کروسستین باعث افزایش FGF-2 بافت قلب موش‌های پیش‌دیابت و دیابت شد. در ارتباط با تأثیر تمرین هوازی و به طور خاص بر آنژیوژنز عضله قلبی نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌های خدیوی و همکاران همسو بود، نتایج تحقیق نشان داد که تمرین مقاومتی باعث افزایش FGF-2 در موش‌های نر ویستار شد (۱۷). همچنین اسلام دوست و همکاران نشان دادند که تمرین استقامتی باعث بیان HIF و عدم تغییر FGF-2 قلب موش صحرایی شد (۱۸). یکی از شاخص‌های رگ‌زایی فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) است. در بافت طبیعی عامل رشد فیبروبلاست پایه، در غشا و در ماتریکس خارج سلولی اندوتلیال رگ‌های خونی حضور دارد و تا زمانی که هیچ پپتید پیام‌رسانی وجود نداشته باشد، به صورت متصل به غشا باقی می‌ماند (۱۹). پایه FGF همچنین به عنوان BFGF یا FGF-2 شناخته می‌شود که به گروهی از FGF‌های ساختاری همولوگ تعلق دارد که با اتصال هپارین و فعالیت میتوژنیک بر روی انواع سلول‌های منشأ مزودرمال و نوروکتودرمال مشخص می‌شوند. BFGF از طریق مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT سبب بقا و زنده ماندن سلول‌های اندوتلیال می‌شود (۲۰)، همچنین از طریق مسیر PLC/DAG/RAS/RAF/ERK1,2 سبب رونویسی از فاکتورهایی می‌شود که منجر به میوژنز و هایپرتروفی سلول‌های قلبی می‌شوند. همچنین BFGF از طریق

مسیر پروتئین JAK/STAT/RAS سبب تحریک فرآیندهایی مانند؛ تکثیر، تمایز، چسبندگی و مهاجرت سلول‌ها در زمان آنژیوژنز می‌شود (۲۱). فعالیت‌های ورزشی سبب افزایش جریان خون به سمت عضلات، به‌ویژه عضله قلبی می‌شود. فشار شریانی که شیر استرس نام دارد سبب تغییرات مثبت در سطوح اندوتلیال می‌گردد. شیراسترس از طریق گیرنده‌های اینتگرینی avb3 موجب بیان فاکتور رشد فیبروبلاست پایه از سلول‌های اندوتلیال عروقی می‌شود که در نهایت منجر به افزایش FGF می‌شود.^(۱) افزایش شیر استرس با افزایش پروتئین‌های گیرنده مکانیکی یعنی اینتگرین‌ها که در محل چسبندگی موضعی روی سطح آلبومینال سلول اندوتلیال جمع شده‌اند، فعال‌سازی می‌شوند. با فعال‌سازی و اتصال آن‌ها به لیگاندهای ویژه در ماتریکس خارج سلولی، فرآیند رونویسی آنژیوژنز تحریک می‌شود. گیرنده‌های اینتگرین، هتروداIMERهای متشکل از زیرواحدهای a و b هستند و دو گیرنده avb3 و avb5 در سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شوند (۲۲). این تغییرات نیز سبب افزایش فاکتور رشدی فیبروبلاست پایه می‌شود که در نهایت سبب بهبود وضعیت آنژیوژنز و خون‌رسانی به بافت‌های قلب می‌شود (۲۳). فتح‌الهی و همکاران به بررسی اثر ده هفته تمرینات ورزشی روی عوامل آنژیوژنز پرداختند، نتایج آن‌ها نشان داد تمرینات ورزشی سبب افزایش عامل رشد اندوتلیالی (VEGF)^(۱)، عامل رشد

1-Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

فیبروبلاست (FGF)، نیتریک اکساید (NO) و عملکرد ریوی شد (۲۴). همچنین کرنک و همکاران به بررسی تمرینات بلندمدت روی فاکتورهای آنژیوژنز و فشارخون در مردان جوان پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد تمرینات ورزشی سبب افزایش عامل رشد اندوتلیال عروقی و فاکتور رشد فیبروبلاست و کاهش فشارخون می‌شود (۲۵). عبدالوند و همکاران به بررسی تأثیر تمرینات HIIT^(۱) و مصرف کوئرستین بر FGF-2 و NF-KB^(۲) بافت قلب موش‌های مبتلا به سکته قلبی پرداختند، نتایج تحقیق نشان داد که تمرین و مصرف مکمل کوئرستین باعث افزایش بیان FGF-2 و NF-KB بافت قلب می‌شود (۱۷).

اردکانی‌زاده و همکاران مطالعه‌ای متضاد با مطالعه حاضر، تأثیر تمرینات استقامتی بر فرایند آنژیوژنز عضله سولئوس موش‌های با انفارکتوس قلبی بررسی نمودند، اما تغییری در میزان بیان ژن FGF-2 و مشاهده نکردند (۲۶). برای یافتن علت این تناقض شاید بتوان بیان نمود که در دو مطالعه اخیر، نوع تمرینات استقامتی بوده و مکمل استفاده نشده است و هم چنین ژن FGF-2 در بافت هدف غیر از میوکارد مورد پژوهش قرار گرفته است. شاید ساز و کار احتمالی بیان این ژن در بافت‌های مختلف با همدیگر متفاوت باشند. در حالی که در پژوهش حاضر تمرینات تناوبی به همراه مصرف مکمل استفاده شده است، همچنین بافت هدف این پژوهش بافت قلب می‌باشد. تمرینات ورزشی خود به تنهایی، اثرات مثبت بسیاری بر روی سیستم قلبی - عروقی از جمله بهبود

عملکرد قلب و بهبود گردش خون موازی شریان کرونری دارد. ورزش و انقباضات عضلانی محرکی قدرتمند برای بازسازی ساختار عروق ایجاد می‌کنند. به دنبال افزایش تنش برشی رگ، سرعت جریان خون رگ افزایش می‌یابد. همین افزایش تنش برشی، محرک اصلی بزرگ شدن عروق مجرا و مویرگی به وسیله آنژیوژنز است. آنژیوژنز تحریکی ناشی از فعالیت ورزشی، شامل فاکتورهای آنژیوژنیک هم‌چون FGF-2، VEGF می‌باشد. بیان شده است که FGF-2 نقش مهمی در آنژیوژنز قلبی ناشی از فعالیت ورزشی ایفا می‌نماید (۲۵ و ۱۷). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد تمرینات هوازی تناوبی سبب افزایش FGF-2 در مرحله پیش‌دیابت و دیابت می‌شود که این افزایش معنی‌دار احتمالاً سبب بهبود آنژیوژنز، خون‌رسانی، حفظ و بقای میوسیت‌ها در بیماران پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند می‌شود. بنابراین کنترل گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین و فاکتور رشد FGF-2 در پیش‌دیابت به وسیله تمرین هوازی و مکمل گیاهی کروسستین برای جهت جلوگیری از پیش‌دیابت و دیابت اهمیت دارد.^(۱)

همچنین نتایج Real-Time PCR مطالعه حاضر نشان داد، بیان ژن NO در گروه پیش‌دیابتی و دیابتی در مقایسه با گروه سالم افزایش معنی‌داری را نشان داد. تمرین هوازی تناوبی و مصرف کروسستین موجب کاهش معنی‌دار NO در مقایسه با گروه پیش

1-High Intensify Interval Training
2- Nuclear Factor Kappa

و دیابتی شد. بعضی پژوهش‌ها کاهش فعالیت NO را بعد از هایپرگلیسمیا نشان داده‌اند (۲۷). شواهدی نیز وجود دارد که افزایش بیان ژن و بیان پروتئین NO بعد قرارگیری در معرض گلوکز زیاد را نشان داده‌اند (۲۸). از یک سو پژوهش‌ها در رابطه با کاهش eNOS در دیابت بیان کرده‌اند که دیابت منجر به اختلال معنی‌دار در وازودیلشن اندولیوم در پاسخ به استیل کولن با افزایش در جریان خون می‌شود. این اختلال احتمالاً ناشی از کاهش کاهش اثر بخشی NO میانجی‌کننده عملکرد داخل عروق می‌باشد. نورایی و همکاران نشان دادند که تمرین HIIT باعث افزایش NO در مقایسه با گروه کنترل شد نتایج این تحقیق حاکی از آن است که تمرین HIIT نقش مؤثری در بهبود عملکرد اندوتلیالی بافت قلب و همچنین بهبود انسولین در موش‌های دیابتی شده دارد (۲۹). همچنین باقری‌نیا و همکاران نشان دادند که تمرین تناوبی باعث افزایش NO در موش‌های دیابتی شد (۳۰). هایپر گلیسمیا، تولید NO در سلول‌های عضله صاف اندوتلیالی و عروقی را با بلاک کردن eNOS مهار می‌کند و استرس اکسیداتیو و تولید ROS به خصوص آنیون سوپر اکسید را افزایش می‌دهد سطوح گلوکز بالا علاوه بر کاهش eNOS باعث بیان بیش از حد iNOS می‌شود که هر دو می‌توانند فعالیت $HIF-\alpha$ را مهار کنند. از سویی دیگر پژوهش‌های افزایش NO در بیماری دیابت نوع دوم را نشان داده‌اند. Ser117 به عنوان مهم‌ترین بخش تنظیم‌کننده فسفوریلاسیون شناخته شده است (۳۱) در

وضعیت پایه (بازال) Ser117 فسفریله نمی‌شود، اما با محرک‌های مختلفی مانند؛ استرس برشی، انسولین، برادی‌کنین یا مهارکننده آنزیم هیدروکسی متیل گلووتاریل کوانژیم آ ردوکتاز (HMG-Co ردوکتاز) فسفریله شده و فعالیت eNOS آغاز می‌شود و در آنژیوژنز نقش خود را ایفا می‌نماید (۳۰). یکی از مسیرهای درگیر در فسفوریلاسیون، eNOS ser1177 است. مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز پروتئین کیناز B (PI3K/AKT) می‌باشد. پیام دهی طبیعی انسولین به فعال شدن دو مسیر موازی PI3K/AKT و کیناز Ras/Raf/MAP منجر می‌شود (۳۲). مسیر AKT/PI3K علاوه بر تحریک بیان پروتئین‌های انتقال دهنده GLUT4 در عضلات اسکلتی و بافت چربی گیرنده انسولین در آن می‌تواند فعالیت eNOS در سلول‌های اندوتلیال عضله قلبی را نیز تحت تأثیر قرار دهد (۳۳). هنگامی که مقاومت انسولینی رخ می‌دهد حساسیت به انسولین در بافت‌های مختلف کاهش می‌یابد و تعادل بین دو مسیر پایین دستی بر هم می‌خورد. در سلول‌های اندوتلیال فعالیت مسیر AKT/PI3K کاهش می‌یابد و انسولین اعمال سلولی را از طریق مسیر کیناز Ras/Raf/MAP واسطه می‌نماید. بنابراین شکل‌گیری NO کاهش یافته و وازودیلشن کمتری به واسطه انسولین رخ می‌دهد (۳۴). در بیماری‌های قلبی eNOS بسیار مهم است و انسولین نیز نقش محاطتی از قلبی را از طریق مسیر AKT/PI3K دارد که واسطه‌کننده فسفوریلاسیون Ser1177 و

افزایش تولید NO است (۳۵). در دیابت نوع ۲ مسیر فسفوریلاسیون Ser1177 تغییر می‌کند و به واسطه آنژیوتنسین II اتفاق می‌افتد آنژیوتنسین II اعمالش را از طریق گیرنده‌های AT1 و AT2 انجام می‌دهد و باعث فعال شدن eNOS می‌شود و مسیر PKB/AKT جایگزین مسیر قبلی می‌گردد و در نهایت eNOS در قلب دیابتی افزایش می‌یابد. پژوهش‌های اخیر درباره اختلال ژن eNOS نشان داده‌اند که این نقص منجر به مقاومت انسولینی، فشار خون بالا و هایپر لیپیدما می‌گردد (۳۶). کنترل سطوح پروتئین eNOS عمل پیچیده‌ای است که در سطوح مختلف رونویسی eNOS، تثبیت mRNA و تغییرات پس از ترجمه واقع شده است (۳۷). در این مطالعه افزایش بیان NO mRNA را در گروه دیابت و پیش‌دیابت و اثر کاهش تمرین هوازی و مکمل کروسستین در بیان NO mRNA در مقایسه با گروه کنترل دیابت مشاهده کردیم. این داده‌ها بر عکس مشاهدات دیگران بود که دریافتند در مقایسه با گروه کنترل بیان NO mRNA در گروه تمرین و مکمل افزایش می‌یابد (۳۴). این تناقض می‌تواند به این دلیل باشد که دیابت باعث کاهش در عملکرد eNOS و NO می‌شود تا بتواند مکانیسم‌های جبرانی را فعال کند. احتمالاً ابتدا به دلیل کاهش ROS ناشی از تمرین هوازی تناوبی eNOSmRNA تولیدی ناشی از مسیر AKT/PKB نیز کاهش می‌یابد دوم این که هایپرگلیسمیا به عنوان نابود کننده NO عمل می‌کند و بهبود ناشی از تمرین استقامتی در کنترل گلیسمی باید دسترس

پذیری NO را بهبود بخشیده باشد (۳۷). در نهایت، افزایش NO در دسترس به عنوان مکانیسم بازخورد منفی جهت کاهش رونویسی eNOS از طریق مسیر cGMP عمل می‌کند؛ بنابراین کاهش eNOSmRNA می‌تواند به دلیل کاهش نیروهای محرک برای رونویسی eNOS باشد و در اینجا به عنوان یک پاسخ مفید در بیماران دیابتی باشد (۳۷). بنابراین کنترل گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین و NO در پیش دیابت به وسیله تمرین هوازی و مکمل گیاهی برای جهت جلوگیری از دیابت اهمیت دارد. به طور کلی تمرین ورزشی عملکرد قلبی - عروقی را بهبود می‌بخشد، ظرفیت انتقال عروقی عضله اسکلتی را افزایش می‌دهد و انقباض‌های عضلانی تأثراتی شبه انسولینی بر برداشت گلوکز در عضله اسکلتی را دارد (۲۷). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده هم‌زمان از هر دو روش درمانی شامل تمرین تناوبی هوازی و مصرف عصار کروسستین به صورت تنها و ترکیبی تأثیر قابل توجهی در کاهش آسیب بافتی قلبی داشت. به طوری که تمرین هوازی تناوبی با و بدون مصرف کروسستین موجب افزایش معنی‌دار FGF-2 و کاهش معنی‌دار NO و شاخص‌های گلیسمیک در مقایسه با گروه پیش‌دیابتی و دیابتی شد. محققین در پژوهش‌های قبلی به طور مشخصی خاصیت تقویت کنندگی سیستم ایمنی به وسیله زعفران را گزارش کردند. کروسین، کروسستین و سافرانال مواد مؤثر اصلی زعفران هستند. قبلاً

گزارش شده است که کروسستین و کروسستین اثرات از بین برنده رادیکال آزاد و خاصیت آنتی اکسیدانی دارند(۳۸)، بنابراین این پژوهش‌ها اثر محافظتی قلبی کروسستین را نشان دادند، که ممکن است با تعدیل فعالیت‌های آنزیمی آنتی اکسیدانی مرتبط باشد و می‌تواند اثرات مکانیسم‌های مرتبط با ROS^(۱) را محدود کند، آسیب‌های قلبی - عروقی را بهبود بخشد و برای درمان CVD^(۲) مفید باشد. نشان داده شده است که زعفران می‌تواند جریان کلسیم القا شده به وسیله نوراپی نفرین و کلرو پتاسیم در آئورت جدا شده رت به صورت وابسته به دوز مهار نماید که احتمالاً ناشی از اثر آنتاگونیستی زعفران بر روی کانال‌های کلسیم است. همچنین مشخص شده است که کروسستین (۱۵ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت وابسته به دوز و میزان قابل توجهی اتساع وابسته به اندوتلیال آئورت را به حد کنترل می‌رساند. کاهش تولید NO تنظیم جبرانی میزان بیان و فعالیت eNOS در اثر اکسید LDL^(۳) اکسید شده را جبران و به حد نرمال برساند(۳۹). به طور کلی به نظر می‌رسد تمرین هوازی و مصرف بره موم هم به تنهایی و هم به طور هم‌زمان می‌توانند در بهبود آنژیوپاتر در بافت قلب متعاقب شرایط دیابت مؤثر باشد. لذا استفاده از کروسستین توام با تمرینات هوازی تناوبی در شرایط پیش‌دیابتی و دیابتی سالمندی توصیه می‌شود. این مطالعه چندین محدودیت داشت که از جمله بررسی سایر مسیرهای سیگنالینگ نظیر: HIF، عدم اندازه‌گیری

بیان پروتئین با تکنیک‌های سترن بلات و ایمنوهیستوشیمیایی بود که پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آتی این موارد را در نظر بگیرند.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد تمرین هوازی تناوبی و مصرف عصاره کروسستین باعث کاهش بیان No و افزایش بیان FGF2 در قلب موش‌های پیش‌دیابت و دیابت شد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر تمرین تناوبی هوازی و مصرف کروسستین می‌تواند باعث بهبود عملکرد اندوتلیال و در نتیجه کاهش مشکلات عروقی در شرایط پیش دیابتی و دیابتی شود.^۱

تقدیر و تشکر

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. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند کمال قدردانی و تشکر از کلیه دوستان و همکاران عزیز که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، ابراز دارند.

1-Reactive Oxygen Species
2-Cardiovascular Disease
3-Low-Density Lipoprotein

REFERENCES

1. Chilton W, O'Brien B, Charchar F. Telomeres, aging and exercise: guilty by association? *IJMS* 2017; 18(12): 2573.
2. Coomans de Brachène A, Scoubeau C, Musuaya AE, Costa-Junior JM, Castela A, Carpentier J, et al. Exercise as a non-pharmacological intervention to protect pancreatic beta cells in individuals with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetologia* 2023; 66(3): 450-60.
3. Mthembu SX, Mazibuko-Mbeje SE, Ziqubu K, Nyawo TA, Obonye N, Nyambuya TM, et al. Impact of physical exercise and caloric restriction in patients with type 2 diabetes: Skeletal muscle insulin resistance and mitochondrial dysfunction as ideal therapeutic targets. *Life Sciences* 2022; 7: 120467.
4. Mehri A. Effect of 8 weeks aerobic training and supplementation of resveratrol on oxidative marker MDA and Antioxidant SOD and GPX cardiomyocytes tissue in streptozotocin-diabetic rats. *Animal Physiology and Development* 2020; 21;13(3): 97-108.
5. Wang G. Aerobic exercise ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury and thrombosis of diabetic rats via activation of AMPK/Sirt1/PGC-1 α pathway. *General Physiology and Biophysics* 2022; 1; 41(4): 319-28.
6. Rad RS. Effect of exercise and non-exercise interventions on cardiac angiogenesis in diabetes mellitus patients: a review. *Int J Diabetes Endocrinol* 2022; 7(1): 1-12.
7. Abdelsaid K, Sudhahar V, Harris RA, Das A, Youn SW, Liu Y. Exercise improves angiogenic function of circulating exosomes in type 2 diabetes: Role of exosomal SOD3. *The FASEB Journal* 2022; 36(3): e22177.
8. Fujie S, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Time-dependent relationships between exercise training-induced changes in nitric oxide production and hormone regulation. *Experimental Gerontology* 2022; 166: 1-8.
9. Abdehvand SZ, Dehkordi KJ, Taghian F. The effect of eight weeks of interval training and quercetin nanoliposome supplementation on NF- κ B and FGF-2 gene expression in the heart tissue of myocardial infarction rats. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 2022; 24(1): 25-30.
10. Sahafian M, Farzanegi P, Abbaszadeh H, Vizvari E. Effect of caffeine and genistein supplement on cardiac levels of nitric oxide and vascular endothelial growth factor in wistar rats, following an acute swimming exercise. *Pathobiology Research* 2018; 10; 21(1): 23-8.
11. Hooshmand Moghadam B, Rashidlamir A, Attarzadeh Hosseini SR, Gaeini AA, Kaviani M. The effects of saffron (*Crocus sativus* L.) in conjunction with concurrent training on body composition, glycaemic status, and inflammatory markers in obese men with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind clinical trial. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2022; 88(7): 3256-71.
12. 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.
13. 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): 173-9.
14. Hasanzadeh Dolatabadi F, Jalali Dehkordi KH, Taghian F, Hoseini SA. The effect of eight weeks of aerobic training with Propolis on some mitochondrial biogenesis markers in cardiac tissue of ovariectomized diabetic rats. *Armaghane Danesh* 2022; 27(2): 155-69.
15. 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; 19(1): 17.
16. 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.
17. Abdehvand SZ, Dehkordi KJ, Taghian F. The effect of eight weeks of interval training and quercetin nanoliposome supplementation on NF- κ B and FGF-2 gene expression in the heart tissue of myocardial infarction rats. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2022 ;24(1):25-30.
18. Eslamdoust M, Ghazalian F, Gholami M, Ebrahim K, Bazgir B. Response of serum levels of fibroblast growth factor-2 and transforming growth factor- β to eccentric resistance training with and without bfr in active young men. *Sport Physiology & Management Investigations* 2021; 13(2): 93-106.
19. Chen G, Gulbranson DR, Yu P, Hou Z, Thomson JA. Thermal stability of fibroblast growth factor protein is a determinant factor in regulating self-renewal, differentiation, and reprogramming in human pluripotent stem cells. *Stem Cells* 2012; 30(4): 623-30.
20. Karnoub AE, Weinberg RA. Ras oncogenes: Split personalities. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9(7): 517-31.
21. Sedighi M, Namdari M, Mahmoudi P, Khani A, Manouchehri A, Anvari M. An overview of angiogenesis and chemical and physiological angiogenic factors: short review. *Journal of Chemical Health Risks* 2022; 12: 1-15.
22. Friedmann B, Frese F, Menold E, Bärtsch P. Effects of acute moderate hypoxia on anaerobic capacity in endurance-trained runners. *Eur J Appl Physiol* 2007; 101(1): 67-73.
23. Silva R, D'Amico G, Hodivala-Dilke KM, Reynolds LE. Integrins: the keys to unlocking angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(10): 1703-13.
24. Fathollahi Shoorabeh F, Faramarzi M, Hemmati R. The effect of 10 weeks of high-intensity exercise training on resting levels of some angiogenesis and pulmonary function of men with prostate cancer (Persian). *J Fasa Univ Med Sci* 2019; 8(4):1097-105.

- 25.Krenc Z, Mazurowski W, Wosik-Erenbek M. Changes in VEGF and bFGF serum concentration after long-term sports training in young athletes - The significance of adaptive angiogenesis in arterial blood pressure adjustment. *Pediatr Pol* 2016; 91(6): 552-8.
- 26.Ardakanizadeh M, Ranjbar K, Nazem F. The effect of ten factors of endurance activity on the gene expression of factors involved in the process of skeletal muscle angiogenesis after myocardial infarction in rats. *Koomesh* 2015; 19(1): 1-15.
- 27.Kassab A, Piwowar A. Cell oxidant stress delivery and cell dysfunction onset in type 2 diabetes. *Biochim* 2012; 94(9): 1837-48.
- 28.Vettor R, Valerio A, Ragni M, Trevellin E, Granzotto M, Olivieri M, et al. Exercise training boosts eNOS-dependent mitochondrial biogenesis in mouse heart: role in adaptation of glucose metabolism. *American Journal of Physiology- Endocrinology and Metabolism* 2013; 306(5): 519-28.
- 29.Noraie F, Peeri M, Azarbayjani MA, Delfan M. The effects of eight weeks high intensity interval training on the levels of endothelial nitric oxide synthase(eNOS) gene expression in left ventricle of type 2 diabetic rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences* 2021; 17; 43(1): 100-7.
- 30.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. *KAUMS Journal (FEYZ)* 2022; 26(1): 30-7.
- 31.Adela R, Nethi SK, Bagul PK, Barui AK, Mattapally S, Kuncha M, et al. Hyperglycaemia enhances nitric oxide production in diabetes: a study from South Indian patients. *PloS one* 2015; 10(4): e0125270.
- 32.Chen G, Zhang L, Van Schepdael A, Wang X. Recent advances in activation of endothelial nitric oxide synthase by natural products: an effects and mechanisms review. *Food Reviews International* 2023; 22: 1-6.
- 33.Di Pietro N, Di Tomo P, Di Silvestre S, Giardinelli A, Pipino C, Morabito C, et al. Increased iNOS activity in vascular smooth muscle cells from diabetic rats: potential role of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II delta 2 (CaMKIIδ2). *Atherosclerosis* 2013; 226(1): 88-94.
- 34.Cai S, Khoo J, Channon KM. Augmented BH4 by gene transfer restores nitric oxide synthase function in hyperglycemic human endothelial cells. *Cardiovascular Research* 2005; 65(4): 823-31.
- 35.Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes research and clinical practice*. 2014; 103(2):137-49.
- 36.Kolluru GK, Bir SC, Kevil CG. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. *International Journal of Vascular Medicine* 2012;1-30.
- 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. *Cardiovascular Diabetology* 2008; 7(1): 34.
- 38.Cerdá-Bernad D, Valero-Cases E, Pastor JJ, Frutos MJ. Saffron bioactives crocin, crocetin and safranal: Effect on oxidative stress and mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2022; 62(12): 3232-49.
- 39.Pourmousavi L, Asadi RH, Zehsaz F, Jadidi RP. Effect of crocin and treadmill exercise on oxidative stress and heart damage in diabetic rats. *BioRxiv* 2023;16: 1-14.

The Effect of Eight Weeks of HIIT Training with the Consumption of Crocetin Extract on the Expression of Some Indicators of Angiogenesis in the Heart Tissue of Pre-Diabetic and Diabetic Aged Rats

Pouya SH¹, Jalali Dehkordi KH^{1*}, Taghian F¹, Kargarfard M², Hoseini SA³

¹Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan(Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, ²Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran, ³Department of Physical Education and Sport Sciences, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Received: 14 Apr 2023 Accepted: 01 Jul 2023

Abstract

Background & aim: Diabetes is associated with cardiovascular and metabolic disorders. Although the favorable role of physical activity and antioxidants in people's health has been reported, the simultaneous effect of HIIT and crocetin on angiogenesis in heart tissue is not well known. The aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of intermittent aerobic training with the consumption of crocetin extract on some indicators of angiogenesis in the heart tissue of prediabetic and diabetic aged rats.

Methods: the present experimental study was conducted in 2022. Forty-five elderly male mice with diabetes aged 14-16 weeks and weighing 30-35 grams were divided into groups; Pre-diabetic, pre-diabetic+aerobic exercise, pre-diabetic+crocetin, pre-diabetic + aerobic + crocetin, diabetic, diabetic + aerobic exercise, diabetic + crocetin and diabetic + aerobic + crocetin. In order to investigate the effect of modeling on the variables, 5 rats were included in the healthy control group. HIIT aerobic exercise was performed for eight weeks, five sessions per training week, and a dose of 40 mg/kg streptozotocin (STZ) was injected. And the mice received crocetin at the rate of 30 mg/kg per day by intraperitoneal injection. The expression level of FGF and No genes was measured by Real time RT-PCR technique. The collected data were analyzed using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test.

Results: The expression values of FGF-2 in the pre-diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement and the diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement were significantly higher than other groups ($P \geq 0.05$); NO gene expression values in the pre-diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement and diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement were significantly lower than other groups ($P \geq 0.05$). The insulin and glucose levels in the pre-diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement and the diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement were significantly lower than other groups ($P \geq 0.05$).

Conclusion: It seemed that interval aerobics and crocetin were effective both alone and synergistically in improving angiogenesis in heart tissue with pre-diabetes and diabetes. Therefore, the use of periodic aerobics and crocetin is recommended in pre-diabetes and senile diabetes.

Keywords: Exercise; Crocetin, FGF-2, Heart, Aging, Prediabetes, Diabetes Mellitus.

***Corresponding author:** Jalali Dehkordi KH, Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan(Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
Email: khosrojalali@khuif.ac.ir

Please cite this article as follows: Pouya SH, Jalali Dehkordi KH, Taghian F, Kargarfard M, Hoseini SA. The Effect of Eight Weeks of HIIT Training with the Consumption of Crocetin Extract on the Expression of Some Indicators of Angiogenesis in the Heart Tissue of Pre-Diabetic and Diabetic Aged Rats. *Armaghane-danesh* 2023; 28(4): 522-538.