

## تأثیر همزمان تمرین‌های مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر بیان فاکتور رگ‌زایی VEGF و رابطه‌ی آن با مقاومت به انسولین در رت‌های نر دیابتی القاء شده با STZ

حدیث جعفری سهی<sup>۱</sup>، عیدی علیجانی<sup>۱\*</sup>، امیر سرشین<sup>۱</sup>، فریبا آقایی<sup>۱</sup>

### چکیده

**مقدمه:** تمرین‌های ورزشی و استفاده‌ی همزمان از سلول‌های بنیادی راهبرد جدیدی با هدف کاهش ناهنجاری‌های دیابتی است. از سازوکارهای شناخته شده، اختلالات رگ‌زایی ناشی از دیابت است. لذا پژوهش حاضر به منظور تعیین اثر همزمان تمرین‌های مقاومتی همراه با تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر بیان فاکتورهای آنژیوژنیک در عضله‌ی اسکلتی موش‌های صحرایی دیابتی شده انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه از ۳۰ سر موش صحرایی به‌طور تصادفی در ۵ گروه: سالم، دیابتی کنترل (D)، دیابتی تمرین کرده (DR)، دیابتی با تزریق سلول اجدادی اندوتلیال (DI)، دیابتی تمرین کرده با تزریق سلول اجدادی اندوتلیال (DRI) تقسیم شدند. برای بررسی تغییرات بیان پروتئین VEGF به روش وسترن بلات و شاخص مقاومت به انسولین به روش الایزا اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ در سطح معناداری  $\alpha \leq 5\%$  تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** در این پژوهش ۶ هفته تمرین مقاومتی و یا تزریق سلول اجدادی باعث افزایش معنادار VEGF و کاهش معنادار شاخص مقاومت به انسولین در رت‌های دیابتی شد و این تغییرات در گروه استفاده همزمان از تمرین و تزریق نسبت به گروه تمرین یا تزریق نیز معنادار بود.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان اظهار داشت که تمرین مقاومتی و یا تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال می‌تواند باعث تحریک رگ‌زایی در عضله‌ی اسکلتی شود و همچنین استفاده‌ی همزمان از این دو عامل راهکار مناسب‌تری برای افزایش عوامل تحریک رگ‌زایی در رت‌های دیابتی است.

**واژگان کلیدی:** تمرین مقاومتی، سلول اجدادی اندوتلیال، رگ‌زایی، دیابت

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

\* **نشانی:** کرج، رجایی شهر، بلوار مودن، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن: ۰۹۱۲۱۲۶۷۱۱۶، نشانی پست

الکترونیک: eidyalijani@yahoo.com

## مقدمه

واژه‌ی دیابت برای بار نخست ۲۵۰ سال پیش از میلاد مسیح توسط پزشک یونانی آپولونیوس ممفیس به کار رفته است [۱]. پس از گذشت سالیان زیادی از شناخت بیماری دیابت، امروزه نتایج آماری نشان می‌دهد که ۹/۳٪ از کل جمعیت بزرگسال جهان (۶۳ میلیون نفر) در سال ۲۰۱۹ به دیابت مبتلا هستند و چنین برآورد می‌شود این تعداد تا سال ۲۰۴۵ به میزان ۱۰/۹٪ از کل جمعیت جهان که بیش از ۷۰۰ میلیون نفر خواهد بود، برسد [۲]. مطالعات نشان می‌دهد که بیماری دیابت فقط اختلال متابولیسم قند خون را ایجاد نمی‌کند، بلکه عوارض مزمنی را در ساختار و عملکرد عروق خونی در بافت‌های مختلف بدن به همراه دارد که از جمله آنها می‌توان به بیماری عروق درشت (ماکرواسکولار) و بیماری عروق ریز (میکرو اسکولار) از جمله رتینوپاتی، نفروپاتی و نروپاتی و آرتروپاتی دیابتی اشاره کرد که اختلال و آسیب آندوتلیالی، انسداد موضعی مویرگ‌ها، التهاب، تغییر در جریان خون و اختلالات پلاکتی را نیز در بر می‌گیرد [۳]. رگ‌زایی فرآیندی است که عملکرد اندوتلیوم را به‌سوی تولید عروق خونی جدید یا شاخه زدن به عروق خونی قبلی سوق می‌دهد. رگ‌زایی، نوعی سازگاری به تحریکات فیزیولوژیایی مانند تمرین‌های ورزشی است که افزایش نیازهای متابولیکی بافت را جبران می‌کند. رگ‌زایی ارتباط تنگاتنگی با دیابت دارد [۴].

با توجه به یافته‌های مطالعات قبلی، عوامل تحریکی زیادی در فرآیند رگ‌زایی درگیرند، در بیشتر پژوهش‌ها VEGF را مهم‌ترین عامل رشدی مرتبط با فرآیند رگ‌زایی بیان کرده‌اند [۵]. عامل رشدی اندوتلیال عروقی یک گلیکوپروتئین ۴۵ دالتونی است که از سلول‌های اندوتلیال ترشح می‌شود. VEGF از طریق تنظیم افزایش مؤلفه‌های آنتی آپوپتوتیک، سنتز DNA، تخریب غشای پایه و فسفوریله شدن اجزاء چسبنده‌ی اندوتلیال بین سلولی و اتصالات محکم به ترتیب زمینه‌ی بقاء، تکثیر و مهاجرت و نفوذپذیری سلول اندوتلیال را موجب می‌شود. فرآیند رگ‌زایی به دو صورت جوانه زدن و دو نیمه شدن موجب تکامل رگ می‌شود [۶].

فعالیت‌های فیزیولوژیکی همچون تمرین‌های ورزشی با شدت مناسب می‌تواند موجب تحریک آنژیوژنز برای از بین بردن ضایعات

متابولیکی ناشی از بیماری‌ها به‌منظور حفظ وضعیت پایدار سلولی شود و باعث افزایش چگالی مویرگی در عضله‌ی اسکلتی و عضله‌ی قلبی شود [۷]. فعالیت ورزشی، همواره عامل مؤثری در سلامتی جسمی و روانی است و مورد توجه متخصصان علم سلامت است. در حقیقت تمرین‌های ورزشی، یکی از سه پایه‌ی اصلی درمان دیابت (علاوه بر رژیم غذایی و دارو) به‌شمار می‌آید [۴]. شواهد متعددی از اثر بخشی تمرین‌های ورزشی در روند کنترل و درمان بیماری‌های مختلف نظیر دیابت حمایت می‌کنند و تعدیل شیوه‌ی زندگی به‌وسیله افزایش فعالیت بدنی یکی از روش‌های مؤثر در مدیریت دیابت است [۸]. فعالیت بدنی منظم برای بیماران دیابتی فواید بسیاری دارد. با وجود اثرات سودمند فعالیت هوازی بر پارامترهای قلبی عروقی و متابولیکی، برخی از بیماران مبتلا به دیابت به‌ویژه افراد مسن و چاق در انجام این تمرین‌ها با مشکل مواجه هستند. در دهه‌ی اخیر نقش تمرین مقاومتی به‌عنوان ابزاری جهت بهبود مقاومت انسولینی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۹].

تمرین مقاومتی به‌دلیل اثری که بر میزان مصرف گلوکز دارد، برای کنترل تعدادی از بیماری‌ها ابزاری درمانی به‌شمار می‌آید [۱۰]. تمرین مقاومتی مناسب مانند تمرین‌های استقامتی سبب افزایش حساسیت انسولینی و بهبود کیفیت زندگی می‌شود [۱۱]. به‌دلیل افزایش حساسیت انسولینی و توده‌ی عضلانی ناشی از انقباض عضلانی، انجام تمرین‌های مقاومتی را در درمان بیماری دیابت مؤثر می‌دانند و همچنین نشان داده شده که برای افراد چاق و سالمند این نوع تمرین مؤثر و ایمن است [۱۲، ۱۳].

در راستای این مفهوم Xi و همکاران (۲۰۲۱) اظهار داشتند که تمرین مقاومتی پویا بیان ژن FSTL1 را در عضله‌ی موش‌های صحرائی تحریک می‌کند بنابراین می‌تواند باعث تحریک رگ‌زایی شود [۱۴]. Shekarchizadeh و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی اثر ۴ هفته تمرین مقاومتی را در رت‌های دیابتی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تمرین مقاومتی باعث تغییری در میزان VEGF آنها نشد [۱۵].

یکی از روش‌های درمانی که امروزه به‌طور شایع در بین پژوهشگران رواج دارد، سلول درمانی است [۱۶]. در سال‌های اخیر، از سلول درمانی برای جبران سلول‌های از دست رفته استفاده می‌کنند. پژوهش‌ها چشم‌انداز وسیعی را در علم ایجاد کرده‌اند؛ اما همواره

شدند. آزمودنی‌ها در قفس‌های مجزا در شرایط کنترل شده محیطی دمای ۲۲ درجه و رطوبت ۵۰ و چرخه‌ی روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه‌ی موش، نگهداری شدند. اصول کدهای اخلاق و موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است (IR.IAU.K.REC.1399.079).

### القای دیابت

القای دیابت با یکبار تزریق درون صفاقی محلول استرپتوزوتوسین تهیه شده از شرکت SIGMA ساخت کشور آلمان حل شده در بافر سیرتات با دوز ۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن را در سرم فیزیولوژی با PH=3.5-4.5 (برای فعال شدن آنها) در محیطی با دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد حل کرده و پس از عبور از فیلتر ۰/۲ میکرومتری به‌صورت تزریق داخل صفاقی به آنها تزریق شد. افزایش قند خون به میزان بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نشان دهنده‌ی دیابتی شدن حیوان در نظر گرفته شد [۲۳]. قبل از انجام آزمایش تمامی موش‌ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر مدل Accu-Chek performa ساخت کشور آمریکا و با اخذ یک قطره خون از طریق قاعده دم، گلوکز خون آنها اندازه‌گیری شد.

### تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال

توسط دستگاه سل کانتر (Nihon Model: MEK-6450k) ۵ هزار سلول اجدادی کشت داده شده را شمارش و از طریق ورید دمی تزریق صورت گرفت.

### پروتکل تمرینی

موش‌ها به‌مدت یک هفته با نحوه‌ی فعالیت بر روی نردبان آشنایی پیدا کردند. تمرین به‌وسیله‌ی یک نردبان با ارتفاع ۱ متر و با ۲۶ پله انجام شد. گروه DR و DRI در مجموع ۱۷ جلسه تمرین مقاومتی را اجرا کردند. استراحت بین جلسات تمرینی ۴۸ ساعت در نظر گرفته شد.

کاربرد آنها به‌صورت علمی با چالش‌هایی همراه بوده است [۱۷]. این راهکارهای درمانی در مطالعات زیادی بر روی نمونه‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج مثبتی نیز نشان داده است و قدم بعدی برای این مطالعات، طراحی مطالعات انسانی با پیدا کردن بهترین نوع سلول برای تزریق است [۱۸]. سلول‌های پیش ساز اندوتلیال (Epc<sup>2</sup>) جمعیت کاملاً کمیابی از سلول‌ها هستند که می‌توانند توسط محرک‌های مختلف از ایسکمی، ورزش، سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها، هورمون‌ها و داروها برای کمک به حفظ سلامت اندوتلیال، جلوگیری از اختلال عملکرد اندوتلیال و افزایش فرآیند نورگزیایی از مغز استخوان به طرف گردش خون سیستمی حرکت کنند [۱۹، ۲۰]. همچنین مطالعات اخیر نشان داده‌اند که سلول‌های درمانی می‌تواند فعالیت بافتی و آنژیوژنز را در بافت‌های ایسکمیک شده، در افراد دیابتی بهبود بخشد [۲۱]. به‌علاوه Caomhán و همکاران (۲۰۲۰) عنوان نمودند سلول‌های کلونی‌ساز اندوتلیال جمعیتی از سلول‌های مولد هستند که پتانسیل آنژیوژنیک امیدوار کننده‌ای را نشان می‌دهند. سلول‌های کلونی‌ساز اندوتلیال در افراد دیابتی عملکردی ندارند و باید ترمیم شوند. بنابراین این پیشنهاد می‌تواند امکان ایجاد یک رویکرد درمانی بدون دارو را فراهم کند و در درمان عوارض دیابت مؤثر باشد [۲۲]. تا به امروز برای درمان با سلول‌های کلونی‌ساز اندوتلیال به آزمایشات بالینی بیشتری ادامه نداده‌اند، بنابراین برای درمان عوارض دیابت با این سلول‌ها به تحقیقات بیشتری نیاز است.

### روش‌ها

روش مطالعه‌ی حاضر از نوع تجربی بود. تعداد ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۶ هفته با میانگین وزنی  $20 \pm 20$  گرم از دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند. این حیوانات پس از انتقال به حیوان‌خانه‌ی آزمایشگاه سورن و آشنایی با محیط جدید به‌طور تصادفی به ۶ گروه: ۱- گروه سالم پایه ۲- گروه دیابتی پایه ۳- گروه دیابتی کنترل ۴- گروه دیابتی+تمرین مقاومتی ۵- گروه دیابتی+تزریق سلول اجدادی اندوتلیال ۶- گروه دیابتی+تمرین مقاومتی+تزریق سلول اجدادی اندوتلیال تقسیم

<sup>2</sup> Endothelial progenitor cells

سالم و دیابتی پایه و دیابتی کنترل از آزمون پارامتریک t-مستقل استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها با در نظر گرفتن دو متغیر مستقل (تمرین مقاومتی - تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال) از آزمون آماری تحلیل واریانس دو عاملی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری spss نسخه‌ی ۱۹ انجام گردید و سطح معناداری آزمون‌ها  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

تغییرات مقادیر بیان فاکتور رگ‌زایی VEGF و شاخص مقاومت به انسولین در بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های گروه‌های سالم، دیابتی با تزریق سلول‌های بنیادی، دیابتی با تزریق و تمرین مقاومتی و دیابتی کنترل در جدول ۱ به صورت میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است.

جدول ۱- توصیف متغیرهای تحقیق

گروه	HOMA-IR		VEGF	
	SD	M	SD	M
پایه سالم	۰/۰۵۶	۰/۶۲۵۲	۱۸/۵	۱۶۰/۸
دیابتی-کنترل	۰/۲۲۹۸	۱۰/۵۵	۲/۲	۱۲/۳۸
دیابتی-تزریق	۰/۱۳۰	۷/۸۶	۳/۸	۲۰/۰۳
دیابتی-تمرین	۰/۰۹۹	۵/۷۸	۴/۲	۴۱/۳
دیابتی-تزریق-تمرین	۰/۰۳۸	۲/۸۰	۱۷/۲	۱۰۹/۰۵

اسکلتی موش‌های دیابتی معنی‌دار است؛ یعنی، بین میانگین بیان VEGF رت‌های گروه تمرین ( $M=75/2, SD=37/3$ ) و دیابتی کنترل ( $M=16/2, SD=4/97$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F_{(1, 2)}=250/4, P=0/000, \eta^2=0/92$ ). به عبارت دیگر، شش هفته تمرین‌های مقاومتی منجر به افزایش معنی‌دار میزان VEGF در بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های دیابتی شد (در شکل یک مشاهده کنید).

هر جلسه تمرین شامل ۵ ست با ۴ تکرار در هر ست با یک دقیقه استراحت بین تکرارها و ۳ دقیقه استراحت بین ست‌ها بود. شدت تمرین به گونه‌ای بود که در ۳ جلسه اول میزان وزنه ۳۰٪ وزن بدن موش‌ها، در جلسات ۴-۶ وزنه ۵۰٪ وزن بدن، در جلسات ۷-۹ وزنه ۸۰٪ وزن بدن، در جلسات ۱۰-۱۴ وزنه ۱۰۰٪ وزن بدن است. در جلسات ۱۵-۱۷ رت‌ها وزنه‌ی ۱۲۰٪ وزن بدن را بالای نردبان حمل می‌کردند [۲۴].

## روش‌های آماری

ابتدا متغیرهای تحقیق با استفاده از آمار توصیفی از طریق میانگین و انحراف استاندارد توصیف گردید. برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها برای مقایسه فاکتورها در گروه‌های

نتایج تحلیل t مستقل نشان می‌دهد که بین بیان فاکتور آنژیوژنیک VEGF رت‌های سالم ( $M=160/8$ ) و دیابتی کنترل ( $M=12/38$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $t_{(19)}=4, P=0/000$ ). همچنین بین مقادیر بیان HOMA-IR رت‌های سالم ( $M=0/625$ ) و دیابتی کنترل ( $M=9/58$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $t_{(8)}=-54/9, P=0/000$ ).

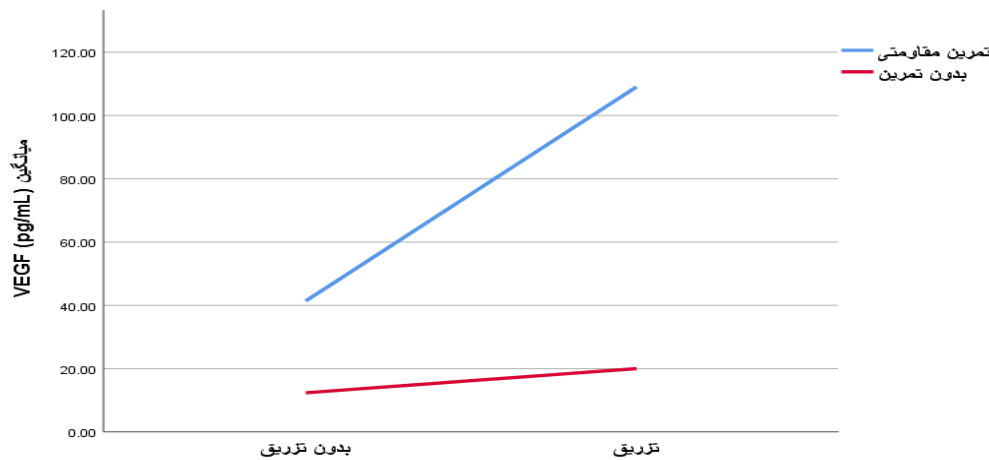
نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) در جدول ۲ نشان داد که اثر اصلی تمرین بر بیان VEGF در بافت عضله‌ی

جدول ۲- نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین × تزریق) برای VEGF

منبع	SS	df	MS	F	Sig.	$\eta^2$
تمرین	۲۰۸۸۶	۱	۲۰۸۸۶	۲۵۰/۴	۰/۰۰۰	۰/۹۲
تزریق	۸۵۱۲/۶	۱	۸۵۱۲/۶	۱۰۲/۰۹	۰/۰۰۰	۰/۸۳
تزریق × تمرین	۵۴۰۶/۰۲	۱	۵۴۰۶/۰۲	۶۴/۸	۰/۰۰۰	۰/۷۶
خطا	۱۶۶۷/۵	۲۰	۸۳/۳			

اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سول‌های بنیادی اندوتلیال بر میزان VEGF در بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های دیابتی معنی دار است ( $F_{(1,20)}=64/8, P=0/000, \eta^2=0/76$ ). به زبان ساده‌تر، تمرین مقاومتی و تزریق هم‌زمان سول‌های بنیادی اندوتلیال، نسبت به تنها تمرین مقاومتی (یا تزریق) منجر به افزایش معنی دار میزان بیان VEGF در بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های دیابتی شد (شکل ۱).

همچنین اثر اصلی تزریق سول‌های بنیادی اندوتلیال بر میزان VEGF در بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های دیابتی معنی دار است؛ یعنی، بین میانگین میزان VEGF رت‌های گروه تزریق سول‌های بنیادی اندوتلیال ( $M=64/5, SD=47/9$ ) و دیابتی کنترل ( $M=26/8, SD=15/4$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F_{(1,20)}=102/09, P=0/000, \eta^2=0/83$ ). به عبارت دیگر، تزریق سول‌های بنیادی اندوتلیال منجر به افزایش معنی‌دار میزان VEGF در بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های دیابتی شد (شکل ۱).



شکل ۱- نمودار میانگین میزان VEGF در رت‌های دیابتی

عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ معنی‌دار است؛ یعنی، بین میانگین بیان HOMA-IR رت‌های گروه تمرین ( $SD=1/77$ )، ( $M=4/29$ ) و دیابتی کنترل ( $SD=1/9, M=9/21$ ) تفاوت معنی داری وجود دارد ( $F_{(1,16)}=92/6, P=0/000, \eta^2=0/85$ ). به عبارت دیگر، تمرین‌های مقاومتی منجر به کاهش معنی‌دار بیان فاکتور HOMA-IR در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده

همانگونه که مشاهده می‌کنید، میانگین VEGF گروه تمرین (خط آبی) بالاتر از گروه کنترل (خط قرمز) است. همچنین، میانگین VEGF در گروه تمرین مقاومتی در شرایط تزریق سول‌های بنیادی اندوتلیال بالاتر از شرایط بدون تزریق است. نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین × تزریق) در جدول ۳ نشان داد که اثر اصلی تمرین بر بیان فاکتور HOMA-IR در بافت

داری وجود دارد ( $F_{(1, 16)}=30/6$ ,  $P=0/000$ ,  $\eta^2=0/65$ ). به عبارت دیگر، تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال منجر به کاهش معنی‌دار بیان فاکتور HOMA-IR در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ شد.

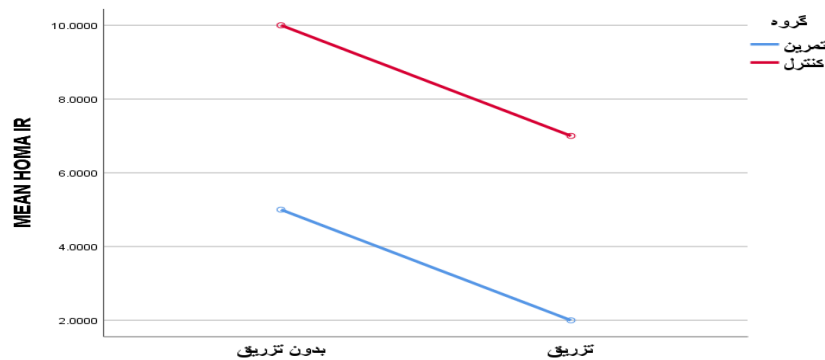
با STZ شد. همچنین اثر اصلی تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال بر بیان فاکتور HOMA-IR در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ معنی‌دار است؛ یعنی، بین میانگین میزان HOMA-IR رت‌های گروه تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال ( $SD=2/7$ )،  $M=5/33$  و دیابتی کنترل ( $M=8/16$ ,  $SD=2/8$ ) تفاوت معنی

جدول ۳- نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین × تزریق) برای HOMA-IR

منبع	SS	df	MS	F	Sig.	$\eta^2$
تمرین	۱۲۰/۹	۱	۱۲۰/۹	۹۲/۶	۰/۰۰۰	۰/۸۵
تزریق	۴۰/۰۷	۱	۴۰/۰۷	۳۰/۶	۰/۰۰۰	۰/۶۵
تزریق × تمرین	۰/۱۰۵	۱	۰/۱۰۵	۰/۰۸۱	۰/۷۸۰	۰/۰۰۵
خطا	۲۰/۸۹	۱۶	۱/۳۰			

زمان سول‌های بنیادی اندوتلیال، نسبت به تنها تمرین مقاومتی (یا تزریق)، بر میزان بیان فاکتور HOMA-IR بافت عضله اسکلتی موش‌های دیابتی، تأثیر معنی‌داری ندارد (شکل ۲).

در نهایت اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال بر میزان بیان HOMA-IR در بافت عضله اسکلتی موش‌های دیابتی معنی‌دار نیست ( $F_{(1, 16)}=0/005$ ,  $P=0/780$ ). به زبان ساده‌تر، تمرین مقاومتی با تزریق هم



شکل ۲- نمودار میانگین بیان فاکتور HOMA-IR در رت‌های دیابتی

تمرین مقاومتی از عدم تزریق تا تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال مشابه گروه کنترل است.

همانگونه که مشاهده می‌کنید، میانگین HOMA-IR گروه تمرین (خط آبی) پایین‌تر از گروه کنترل (خط قرمز) است که اثر تمرین را نشان می‌دهد. میانگین‌ها در شرایط تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال (سمت راست نمودار) پایین‌تر از شرایط بدون تزریق (سمت چپ) هستند که اثر تزریق سلول‌های بنیادی را نشان می‌دهد. در نهایت، روند تغییرات میانگین HOMA-IR در گروه

## بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در اثر تمرین مقاومتی و تزریق همزمان سلول‌های بنیادی، نسبت به تنها تمرین مقاومتی یا تزریق، منجر به افزایش

کاهش تجمع تری گلیسرید در سلول‌های عضلانی، مقاومت به انسولین را بهبود می‌بخشد [۳۰]. همچنین Koopman و همکاران (۲۰۰۵) اظهار داشتند که یک جلسه تمرین مقاومتی همانند یک جلسه تمرین استقامتی، حساسیت انسولینی را تحریک می‌کند که با افزایش بیان Glut-4 عضله مرتبط است [۳۱]. در حمایت از این مفهوم Rezaeian و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعه‌ی ۲۰ زن چاق و غیر فعال به بررسی اثر تمرین‌های مقاومتی بر شاخص مقاومت به انسولین پرداختند و اظهار داشتند که این تمرین‌ها می‌تواند باعث کاهش معنادار شاخص مقاومت به انسولین شود [۳۲]. یکی از هدف‌های مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تزریق سلول‌های بنیادی در بهبود عوارض دیابت بود و نشان داد این سلول‌ها می‌توانند در بهبود دیابت مؤثر واقع شوند. در راستای این مفهوم sun و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای به بررسی اثر استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در مدل دیابتی رت‌هایی که از طریق رژیم غذایی پُرچرب و STZ به دیابت نوع دو دچار بودند، پرداختند و مشاهده کردند که تزریق وریدی این سلول‌ها سطح گلوکز خون را کاهش داده و مقاومت به انسولین را در دیابت نوع دو معکوس می‌نماید و بدین‌وسیله می‌تواند یک روش درمانی جایگزین برای درمان دیابت باشد [۳۳]. همچنین vrtovec و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی ارتباط دیابت و مقاومت به انسولین در پاسخ به سلول درمانی پرداختند و در گروه مقاومت به انسولین خود، بهبود بسیج سلول‌های بنیادی و پاسخ بالینی حفظ شده به سلول درمانی را نشان دادند [۳۴]. Perchikolaei و همکاران (۲۰۱۹) در راستای این مفهوم بیان داشتند که تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به همراه تمرین‌های ورزشی دارای آثار مفیدتری در درمان عوارض دیابت هستند و مقادیر VEGF در گروه تمرین، سلول بنیادی و همچنین در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنادار یافته است. بنابراین به نظر می‌رسد که هر کدام از مداخله‌ها به‌خصوص ترکیب آنها می‌تواند به واسطه‌ی تأثیر افزایشی بر عوامل نروتروفیک و عروقی، یک عامل حفاظت عصبی مرکزی در برابر بیماری دیابت باشد [۳۵]. در خصوص سازوکارهای اثر تعاملی متغیرهای وابسته ی پژوهش، مشخص شده است افزایش فاکتور رشد اندوتلیال عروقی VEGF و کاهش در میزان حساسیت انسولینی می‌تواند

معنادار میزان VEGF در بافت عضلانی رت‌های دیابتی شد. به علاوه شاخص مقاومت به انسولین (HOMA) در اثر تمرین مقاومتی و همین‌طور تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال به‌طور معناداری کاهش یافت. درحالی‌که اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال بر میزان مقاومت به انسولین بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های دیابتی تأثیر معناداری نداشت، به‌عبارت دیگر در مطالعه‌ی حاضر این سؤال مطرح بود که آیا اجرای برنامه‌ی تمرین و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال با هم، می‌تواند موجب بارزتر شدن تغییرات سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی VEGF و میزان حساسیت به انسولین شوند؟ Hoffner و همکاران پس از ۲ ساعت فعالیت ورزشی افزایش در میزان VEGF سرم مشاهده کردند که ممکن است ناشی از انتقال VEGF عضله‌ی اسکلتی به داخل جریان خون باشد [۲۵]. Kraus و همکاران در تحقیقی با اندازه‌گیری VEGF نشان دادند که پس از ۲ و ۴ ساعت فعالیت هوازی در افراد فعال و غیرفعال سطح VEGF افزایش یافته است [۲۶]. همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر Ross و همکاران (۲۰۱۴) افزایش معنادار سطوح فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی و سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال به‌دنبال تمرین مقاومتی را نشان دادند [۲۷]. Mahrou و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای به بررسی اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی در رت‌های دیابتی پرداختند و در نتایجی متناقض با یافته‌های پژوهش حاضر نشان دادند که هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش معناداری در VEGF رت‌های دیابتی نشده است و تنها تأثیر مثبتی بر کاهش مقادیر گلوکز خون داشت [۴]. Shekarchizade و همکاران (۲۰۱۲) با اجرای ۴ هفته تمرین مقاومتی در رت‌های دیابتی تغییر معناداری در مقادیر پلاسمایی VEGF را مشاهده نکردند و دلیل آن را زمان و شدت تمرین و زمان خونگیری اعلام و گزارش نمودند [۱۵].

تأثیر تمرین‌های ورزشی در عملکرد بهتر انسولین مشخص شده است و پژوهش‌های متفاوت در زمینه‌ی تمرین‌های مقاومتی در بهبود تحمل گلوکز و تعدیل مقاومت انسولین در آزمودنی‌های دیابتیک [۲۸، ۲۹] مشخص کرده است که فعالیت بدنی با استفاده از افزایش گیرنده‌ی انسولین و ناقل گلوکز GLUT4، بهبود پیام رسانی داخل سلولی انسولین، افزایش تحویل گلوکز به عضله و

تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر میزان مقاومت به انسولین معنادار نبود. یافته‌های به‌دست آمده، دانش ما را در مورد سازوکارهای آنژیوژنز و میزان حساسیت به انسولین در بیماری دیابت در اثر تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال افزایش داده و نشان می‌دهد این مداخلات یک هدف درمانی احتمالی برای شرایط پاتولوژیکی درگیر در آنژیوژنز و حساسیت به انسولین است. با توجه به کم بودن اطلاعات در زمینه‌ی تمرین‌های مقاومتی و سلول‌درمانی در بیماری دیابت، انجام پژوهش‌های کامل‌تری می‌تواند به برخی ابهامات در این زمینه پاسخ دهد.

### سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مدیریت دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و همچنین مدیریت آزمایشگاه تحقیقاتی سورن بابت همکاری و کمک به اجرای این پژوهش قدردانی می‌شود.

در نهایت باعث بهبود عوارض دیابت و سبب ایجاد عروق جدید شود. بنابراین ترکیب تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال همراه با انجام تمرین‌های مقاومتی می‌تواند یک راهکار حفاظتی و درمانی برای کاهش آسیب‌ها در این بیماری باشد. با توجه به آثار مثبت در حوزه‌ی سلول‌درمانی در پژوهش حاضر و معرفی آن به‌عنوان یک روش درمان غیر دارویی، چشم‌انداز روشنی در زمینه‌ی پژوهش‌های علوم ورزشی و هم در درمان بیماری‌ها ایجاد شده است.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی دست آوردهای این مطالعه نشان می‌دهد که شش هفته تمرین مقاومتی و تزریق هم‌زمان سلول‌های اجدادی اندوتلیال موجب افزایش معنادار فاکتور VEGF در اثر تمرین یا تزریق شد و این افزایش در اثر تعاملی تمرین و تزریق نیز افزایش معنادار داشت و همچنین موجب کاهش معنادار شاخص مقاومت به انسولین در اثر تمرین و یا تزریق شد اما این کاهش در اثر تعاملی

### مآخذ

1. Yang D, Yang Y, Li Y, Han R. Physical Exercise as Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus: From Mechanism to Orientation. *Ann Nutr Metab* 2019; 74:313–321.
2. Gebel Berg E, Darsow T, Petersen MP, Uelmen S, Cefalu WT. Professional Practice Committee: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 2018;41(Suppl. 1):S3
3. Kantharidis P, Wong B, Carew RM, Lan HY. Diabetes complications: The microRNA perspective. *Diabetes* 2011; 60(7): 1832–1837.
4. Mahrou M, Gaeni A, Javidi M, Chobbin S. Changes in stimulating factors of angiogenesis, induced by progressive resistance training in diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2014;14(1):1-8
5. Gustafsson T, Rundqvist H, Norrbom J, Rullman E, Jansson E, Sundberg CJ. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2001; 137: 1012–1020.
6. Molla Hasanzadeh F, Bizheh N, Moazami M, Nourshahi M. The Effects of Eight Weeks Aerobic Training On Angiogenesis Factor And Body Composition In Overweight Women. *Physiology of sport and physical activity* 2016; 9(2), 1365-1374.
7. Ke L, Wei A. Investigation of expression and effects of TGF- $\beta$ 1 and MMP-9 in lens epithelial cells of diabetic cataract rats. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2019; 2: 1-5
8. Smith GA, Fearnley GM, Harrison MA, Tomlinson DC, Wheatcroft SB, Ponnambalam S. Vascular endothelial growth factors: multitasking functionality in metabolism, health and disease. *J Inher Metab Dis* 2015; 38(4):753-63.
9. Safarzade A, Gharakhanlou R, Hedayati M, Talebi Garakani E. Effects of 3 Resistance Training Programs on Serum Vaspin, hs-CRP and TNF- $\alpha$  Concentrations in the Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal of Applied Exercise Physiology* 2014; 8(16): 87-100
10. Irvine C, Taylor NF. Progressive resistance exercise improves glycaemic control in people with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Aust J Physiother* 2009; 55(4): 237-46.
11. Calle MC, Fernandez ML. Effects of resistance training on the inflammatory response. *Nutr Res Pract* 2010; 4(4): 259-69.

12. Flack KD, Davy KP, Hulver MW, Winett RA, Frisard MI, Davy BM. Aging, resistance training and diabetes prevention. *Journal of Aging Research* 2010; 2011:1-12.
13. Ibanez J, Izquierdo M, Arguelles I, Forga L, Larrion JL, Garcia-Unciti M, et al. Twice weekly progressive resistance training decreases abdominal fat and improves insulin sensitivity in older men with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(3): 662-667
14. Xi Y, Hao M, Liang Q, Li Y, Gong DW, Tian Z. Dynamic resistance exercise increases skeletal muscle-derived FSTL1 inducing cardiac angiogenesis via DIP2ASmad2/3 in rats following myocardial infarction. *Journal of Sport and Health Science* 2020; S2095-2546(20)30161-7
15. Shekarchizadeh Esfahani P, Gharakhanlou R, Karimain J. Changes of plasma angiogenic factor during chronic resistance exercise in type 1 diabetic Rats. *Pakistan journal of medical sciences* 2012; 28(2): 328 – 332.
16. Pourheydar B, Shahi M, Farjah GH. Evaluation of apoptosis in hippocampal cells of rat following in travenous injection of bone marrow stromal cells in ischemiareperfusion. *Urmia Med J* 2014; 25(7):584-97. (In Persian).
17. Moradi A, Mohammadi S, Hamidi Alamdari D. Effect of adipose tissue-derived stem cells on the control of the blood glucose level in diabetic rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2015; 23(8):717-26. (In Persian).
18. Naseri F, Ahmad-Zadeh A, Sahab Negah S. Potential roles of Neurogenesis in Alzheimer's disease. *Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences* 2017; 60(3): 549 -566.
19. Bai B, Liang Y, Xu C, Lee MY, Xu A, Wu D, et al. Cyclin-dependent kinase 5-mediated hyperphosphorylation of sirtuin-1 contributes to the development of endothelial senescence and atherosclerosis. *Circulation* 2012; 126(6):729-40
20. Wang Y, Xu C, Liang Y, Vanhoutte PM. SIRT1 in metabolic syndrome: where to target matters. *Pharmacol Therapeut* 2012; 136(3):305-18.
21. Mohamadzade L, keshavarzi A, Samdanifard H, SHojaeefard A. The effect of autologous stem cells with peripheral blood monocyte cell (CD34) origin in healing diabetic foot ulcers and preventing limb amputation. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2010;10(3):273 -281
22. Caomhán J. Lyons and Timothy O'Brien. The Functionality of Endothelial-Colony-Forming Cells from Patients with Diabetes Mellitus. *Cells* 2020; 9:1731.
23. Calcutt NA, Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Pain Research: springer* 2004: 55-65
24. Molanouri Shamsi M, Mohammad Hassan Z, Mahdavi M, Gharakhanlou R, Baghersad L, Azadmanesh K, Edalat R. Influence of resistance training on il-15 mrna expression and the protein content in slow and fast twitch muscles of diabetic rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism (ijem)* 2012; 14(2 (sn 62)), 185-192.
25. Kraus RM, Stallings HW, III, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J Appl Physiol* 2004; 96(4): 1445-50.
26. Hoffner L, Nielsen JJ, Langberg H, Hellsten Y. Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in human skeletal muscle interstitium. *J Physiol* 2003; 550(Pt 1): 217-25.
27. Ross M, Wekesa A, Phelan J, Harrison M. Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46(1):16-23.
28. Eriksson J; Tuominen J; Valle T; Sundberg S; Sovijari A; Lindholm H, et al. Aerobic endurance exercise or circuit-type resistance training for individuals with impaired glucose tolerance? *Horm Metab Res* 1998; 30(1):37-41.
29. Fenkci S; Sarsan A; Rota S and Ardic F. Effects of Resistance or Aerobic Exercises on Metabolic Parameters in Obese Women Who Are Not on a Diet. *Adv Ther* 2006; 23(3):404-13.
30. Henriksen EJ. 2002. Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *J Appl Physiol* 1985; 93(2):788-96.
31. Koopman R, Manders RJ, Zorenc AH, Hul GB, Kuipers H, Keizer HA, van Loon LJ. A single session of resistance exercise enhances insulin sensitivity for at least 24 h in healthy men. *Eur J Appl Physiol* 2005; 94(1-2): 180-7.
32. Rezaeian N, Ravasi A, Soori R, Akbarnezhad A, Mirshafiey S, Towfighi F. Effect of Resistance Training on Serum Levels of Adipolin and Insulin Resistance in Obese Women (Running title: Adipolin and resistance training). *Sport Biosciences (Harakat)* 2020; 12(1):1-16.
33. Sun Y, Shi H, Yin S, et al. Human Mesenchymal Stem Cell Derived Exosomes Alleviate Type 2 Diabetes Mellitus by Reversing Peripheral Insulin Resistance and Relieving  $\beta$ -Cell Destruction. *ACS Nano* 2018; 12(8):7613-7628.
34. Vrtovec B, Sever M, Jensterle M, et al. Efficacy of cd34+ stem cell therapy in nonischemic dilated cardiomyopathy is absent in patients with diabetes but preserved in patients with insulin resistance. *Stem Cells Translational Medicine* 2016; 5(5):632-638.
35. Hamidi Perchikolaei SO, Hashemvarzi SA, Pourghasem M. The Effect of 6 Weeks Progressive Aerobic Training with Injection of Adipose Tissue-Derived Stem Cells on Nerve Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat's Hippocampus. *Sport Physiology* 2019; 11(43): 123-40 (In Persian).

## Simultaneous Effect of Resistance Training and Endothelial Progenitor Cell Injection on the Expression of Vegf Angiogenic Factor and Its Relationship with Insulin Resistance in Diabetic Male Rats Induced By Stz

Hadis Jafari Sohi<sup>1</sup>, Eidy Alijani<sup>1\*</sup>, Amir Sarshin<sup>1</sup>, Fariba Aghaei<sup>1</sup>

1. Department of Sport Physiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

### ABSTRAC

**Background:** Exercise and the simultaneous use of progenitor cells is a new strategy aimed for reducing diabetic disorders. One of the known mechanisms is angiogenic disorders caused by diabetes. Therefore, the present study was performed to determine the simultaneous effect of resistance training with endothelial progenitor cell injection on the expression of angiogenic factors in the skeletal muscle of diabetic rats.

**Methods:** In this study, 30 rats were randomly divided into 5 groups: healthy, diabetic control (D) trained diabetic (DR), diabetic with endothelial progenitor cell injection (DI), diabetic trained with endothelial progenitor cell injection (DRI) were divided. VEGF protein expression was measured by Western blotting and insulin resistance index was measured by ELISA. The data were analyzed using two-factor analysis of variance test with SPSS software version 19 at a significance level of 5%.

**Results:** In this study, 6 weeks of resistance training or progenitor cell injection caused a significant increase in VEGF and a significant decrease in insulin resistance index in diabetic rats. In the group that used simultaneous exercise and injection compared to the group with exercise and injection and these changes were significant in the group of simultaneous use of exercise and injection compared to the group of exercise with injection.

**Conclusion:** Based on the results of this study, it can be stated that resistance training or injection of endothelial progenitor cells can stimulate angiogenesis in skeletal muscle, also the simultaneous use of these two factors is a better way to increase angiogenesis in rats

**Keywords:** Resistance training, Endothelial progenitor cells, Angiogenesis, Diabetes

\* Amir Almonin University Complex, intersection of Moazen and Esteghlal Blvd, end of Rajai Shahr, Karaj, Iran. Tel: +989121267116, Email: eidyaliyani@yahoo.com

