



## تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی و استفاده از آتورواستاتین بر بیان ژن $VEGF-\beta$ کبدی در موش‌های صحرایی نر ویستار مدل دیابت نوع ۱

سمانه احمدپور: دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران  
علیرضا براری: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران (\* نویسنده مسئول) [alireza54.barari@gmail.com](mailto:alireza54.barari@gmail.com)  
پروین فرزانی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحدساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

دیابت نوع ۱،  
تمرین تناوبی،  
آتورواستاتین،  
فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بتا

**زمینه و هدف:** گزارش شده است که  $VEGF-\beta$  در اعمال متفاوت از جمله متابولیسم نقش دارد. همچنین گزارش شده است که تمرینات ورزشی و مصرف آتورواستاتین از روش‌های مداخله مرتبط با سلامت کبدی می‌باشند. هدف تحقیق حاضر تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی و استفاده از آتورواستاتین بر بیان ژن  $VEGF-\beta$  کبدی در موش‌های صحرایی نر ویستار مدل دیابت نوع ۱ بود.

**روش کار:** در تحقیق تجربی حاضر ۲۵ موش در گروه‌های سالم کنترل، دیابت کنترل، دیابت + تمرین، دیابت + آتورواستاتین و دیابت + آتورواستاتین + تمرین تقسیم شدند. القای دیابت از طریق تزریق ۶۰ گرم استرپتوزوتوسین به صورت تزریق درون صفاقی انجام شد. مداخلات شامل هشت هفته تمرین هوازی دویدن روی تردمیل و مصرف ۱۰ میلی گرم آتورواستاتین به صورت گاوژ بود. پس از مداخلات موش‌های قربانی شدند و بافت کبدی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که القای دیابت باعث کاهش معنادار  $VEGF-\beta$  کبدی نسبت به گروه سالم کنترل شد. در گروه‌های دیابت + تمرین، دیابت + آتورواستاتین و دیابت + آتورواستاتین + تمرین، افزایش  $VEGF-\beta$  نسبت به گروه‌های دیابت کنترل معنادار بود ( $P < 0.001$ )، ولی تفاوتی بین سه گروه مداخله مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج می‌توان گفت که تمرین تناوبی و همچنین مصرف آتورواستاتین با افزایش بیان ژن  $VEGF-\beta$  از عوارض کبدی ناشی از دیابت جلوگیری می‌کند.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Ahmedpour S, Berari A, Farzangi P. The Effect of Eight Weeks of Interval Training and the Use of Atorvastatin on the Expression of the Hepatic VEGF-B Gene in Male Wistar Rats Model of Type 1 Diabetes. Razi J Med Sci. 2024(3 Mar);30.199.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0) صورت گرفته است.

## The Effect of Eight Weeks of Interval Training and the Use of Atorvastatin on the Expression of the Hepatic VEGF-B Gene in Male Wistar Rats Model of Type 1 Diabetes

**Samaneh Ahmedpour:** PhD Student, Department of Sports Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

**Alireza Berari:** Associate Professor, Department of Sports Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran (\* Corresponding Author) [alireza54.barari@gmail.com](mailto:alireza54.barari@gmail.com)

**Parvin Farzangi:** Associate Professor, Department of Sports Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

### Abstract

**Background & Aims:** Diabetes is a chronic non-communicable disease characterized by chronic hyperglycemia caused by a defect in the secretion and function of the pancreatic insulin hormone. This disease is a group of metabolic diseases and is considered as a progressive global health problem (1, 2). In general, diabetes is divided into type 1 diabetes, type 2 diabetes and gestational diabetes based on the cause and clinical features (3-5). Type 1 diabetes was recently termed juvenile-onset diabetes or insulin-dependent diabetes mellitus, a condition caused by destruction of pancreatic  $\beta$ -cells by T cells resulting in complete insulin deficiency (2, 5). Type 1 diabetes represents 5 to 10% of patients with diabetes (2). Type 1 diabetes is characterized by the destruction of more than 90% of  $\beta$  cells. Streptozocin (STZ) is a standard method for inducing diabetes in animals (6). Vascular endothelial growth factor beta (VEGF- $\beta$ ) is one of the obscure members of the VEGF family. It has been reported that the ability of VEGF- $\beta$  to induce angiogenesis is weak in most tissues. However, VEGF- $\beta$  appears to be a more tissue-specific vascular growth factor that can have nutritional and metabolic effects (8). In early 2008, Karpanen et al stated that VEGF- $\beta$  has a weak role in the vascular system; But it has a significant advantage in regulating lipid metabolism (9). Considering the potential of VEGF- $\beta$  in regulating lipid metabolism, it is expected that this growth factor will become a new target for improving metabolic diseases, such as obesity and diabetes (10). Defects in multiple VEGF- $\beta$  pathways have been reported to be associated with increased cell apoptosis in diabetes models (11). However, the potential beneficial effects of VEGF- $\beta$  through increasing blood flow (increasing insulin availability and glucose uptake in target organs) and decreasing FAs uptake (preventing lipotoxicity and improving insulin signaling) and its safety for clinical use, has not yet been determined (21). which indicates the need for more research in this regard. Previous research indicates the positive effects of exercise on blood sugar control and also reducing the complications caused by diabetes (5, 13, 14). Also, one of the main and most effective drugs that have beneficial effects on lipid profile are statins; Among statins, atorvastatin is considered one of the least complicated and most effective. This drug is a selective competitive inhibitor of the enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A reductase, but unlike other statins, it is a completely synthetic compound that is used in diabetic patients with hypercholesterolemia in combination with other sugar control drugs. The beneficial effect of atorvastatin on some adipokines has been proven and it seems to be one of the mechanisms of the effect of this drug in blood sugar control (15). According to the mentioned information, the present research was conducted with the aim of comparing the effect of eight weeks of interval training and atorvastatin consumption on hepatic VEGF- $\beta$  gene expression in male Wistar rats' model of type 1 diabetes.

**Methods:** In this study, 25 mice were divided into Healthy control, diabetes control, diabetes + interval training, diabetes +atorvastatin, and diabetes + atorvastatin+ interval training groups. The interventions included eight weeks of interval training, running on a treadmill and taking 10 mg of atorvastatin by gavage. After the interventions, the mice were sacrificed and the liver tissue was analyzed. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance and Tukey post hoc test.

**Results:** The results showed that the induction of diabetes caused a significant decrease in hepatic VEGF- $\beta$  compared to the healthy control group. In the groups of diabetes + interval training, diabetes + atorvastatin and diabetes + atorvastatin + interval training, the increase of VEGF- $\beta$  was significant compared to diabetes control group ( $P < 0.001$ ), but no difference was observed

### Keywords

Type 1 diabetes,  
Interval training,  
Atorvastatin,  
Vascular endothelial  
growth factor beta

Received: 05/08/2023

Published: 03/03/2024

between the three intervention groups ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of our research showed that after induction of diabetes, the expression of hepatic VEGF- $\beta$  gene in diabetic groups was significantly lower than in the healthy control group. The results of Shahavand et al also showed that the induction of diabetes decreased the expression of VEGF- $\beta$  gene in the heart tissue of diabetic rats (18), which was consistent with the results of the present study. VEGF- $\beta$  has been reported to be involved in lipid and glucose metabolism (10). Also, in mice in which VEGF- $\beta$  was knocked out and fed with high fat, in addition to obesity and dyslipidemia, their liver suffered from steatosis and increased insulin resistance (19). Research has shown that VEGF- $\beta$  can reduce lipid accumulation and restore insulin sensitivity in NAFLD (10); Therefore, the decrease of VEGF- $\beta$  caused by diabetes is related to the liver complications of diabetes such as hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. It can be said that by inducing diabetes and increasing hyperglycemia caused by diabetes, the level of VEGF- $\beta$  decreases; which can be related to liver complications caused by diabetes such as non-alcoholic fatty liver and apoptosis of hepatocytes. However, Ye et al.'s study reported that plasma VEGF- $\beta$  levels were significantly higher in subjects with NAFLD compared to subjects without NAFLD, and analysis of covariance confirmed this result (20). The reason for the difference in the results may be due to the difference in the research samples, the difference in the studied tissue, research units or the type of disease. Because in our research, the research samples included diabetic rats treated with streptozotocin, which were different from the research samples of Ye et al. In examining the effect of aerobic exercise on hepatic VEGF- $\beta$  gene expression, the results of the present study showed that intermittent exercise increased VEGF- $\beta$  gene expression compared to the control diabetes group. Shahavand et al also reported that six weeks of continuous aerobic exercise increased cardiac VEGF- $\beta$  gene expression in diabetic rats (18), which is consistent with the results of the present study. Kivelä et al also reported in their research that an exercise training increased the expression of VEGF- $\beta$  in healthy mice (21). VEGF- $\beta$  and mitochondrial gene expression are regulated in concert, and endogenous VEGF- $\beta$  levels are highest in tissues with high metabolic activity, such as heart, skeletal muscle, and brown fat (25). It has been reported that the lack of VEGF- $\beta$  leads to a decrease in the expression of fatty acid (FA) transfer proteins (Fatp3 and Fatp4) in endothelial cells, which is associated with a decrease in lipid droplets in the heart and skeletal muscle fibers (26) and improved sensitivity to Insulin has been implicated in diabetic models (27). Considering that the liver is also a metabolically active tissue, and on the other hand, it has been reported that regular exercise can increase the body's overall metabolism and, as a result, the liver's activity to finance long-term activities (28); Therefore, the increase of VEGF- $\beta$  can be attributed to the improvement of mitochondrial activity in the liver in adaptation to regular exercise. Other results of the current research also showed that the use of atorvastatin increased the expression of the hepatic VEGF- $\beta$  gene compared to the control diabetes group. Atorvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, is widely used in the treatment of dyslipidemia (29). In a human study, atorvastatin 10 mg daily has been reported to be safe and effective in reducing the risk of first cardiovascular events, including stroke, in patients with type 2 diabetes without elevated LDL cholesterol (31). It can be said that part of these anti-diabetic effects of atorvastatin is related to the effects of this drug on improving fat metabolism in the liver. In the investigation of the interactive effect of interval training and atorvastatin consumption, the results of this research showed that in the interactive group, although a significant increase in the expression of the hepatic VEGF- $\beta$  gene was observed compared to the control diabetes group, these changes were not compared to the diabetes + exercise and diabetes + groups. Atorvastatin was not significant; it seems that the combined use of exercise and atorvastatin does not have a greater advantage on hepatic VEGF- $\beta$  gene expression than either method alone.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Ahmedpour S, Berari A, Farzangi P. The Effect of Eight Weeks of Interval Training and the Use of Atorvastatin on the Expression of the Hepatic VEGF-B Gene in Male Wistar Rats Model of Type 1 Diabetes. *Razi J Med Sci.* 2024(3 Mar);30:199.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**\*This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.**

## مقدمه

دیابت یک بیماری مزمن غیرواگیر است که با هیپرگلیسمی مزمن ناشی از نقص در ترشح و عملکرد هورمون انسولین پانکراس مشخص می‌شود. این بیماری گروهی از بیماری‌های متابولیک است و به عنوان یک مشکل پیشرونده سلامت جهانی در نظر گرفته می‌شود (۱ و ۲). به طور کلی، دیابت براساس علت و ویژگی‌های بالینی به دیابت نوع ۱، دیابت نوع ۲ و دیابت بارداری تقسیم می‌شود (۳-۵). دیابت نوع ۱ اخیراً دیابت نوجوانان یا دیابت شیرین وابسته به انسولین نامیده شد، وضعیتی که در اثر تخریب سلول‌های  $\beta$  پانکراس توسط سلول‌های T و در نتیجه کمبود کامل انسولین ایجاد می‌شود (۵ و ۲). بیماری دیابت نوع ۱ نشان دهنده ۵ تا ۱۰ درصد از بیماران مبتلا به دیابت است (۲). دیابت نوع ۱ با تخریب بیش از ۹۰ درصد از سلول‌های  $\beta$  مشخص می‌شود. استرپتوزوتوسین (Streptozocin:STZ) یک روش استاندارد برای القای دیابت در حیوانات است (۶).

افزایش فعالیت آمینوترانسفرازهای سرمی کی از علائم شایع بیماری کبدی است و در افراد مبتلا به دیابت بیشتر از جمعیت عمومی مشاهده می‌شود. بسیاری از مطالعات ارتباط بین عوارض و اختلالات خاص دیابت در بافت‌های مختلف، مانند نفروپاتی دیابتی و بیماری‌های قلبی-عروقی را نشان داده‌اند، اما اطلاعات محدودی در مورد ارتباط احتمالی بین عوارض دیابت و عملکرد کبد در دسترس است (۷).

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بتا (vascular endothelial growth factor- $\beta$ : VEGF- $\beta$ )، یکی از اعضای مهم خانواده VEGF می‌باشد. گزارش شده است که توانایی VEGF- $\beta$  برای القای رگ‌زایی در اکثر بافت‌ها ضعیف است. با این حال، به نظر می‌رسد که VEGF- $\beta$  یک فاکتور رشد عروقی است که بیشتر مختص بافت باشد و می‌تواند اثرات تغذیه‌ای و متابولیکی داشته باشد (۸). در اوایل سال ۲۰۰۸، کارپان و همکاران عنوان کردند که VEGF- $\beta$  نقش ضعیفی در سیستم عروقی دارد؛ اما مزیت قابل توجهی در تنظیم متابولیسم لیپیدی دارد (۹). با توجه به پتانسیل VEGF- $\beta$  در تنظیم متابولیسم لیپید، انتظار می‌رود که این فاکتور رشد به هدف جدیدی برای بهبود

بیماری‌های متابولیک، مانند چاقی و دیابت تبدیل شود (۱۰). گزارش شده است که نقص در مسیرهای متعدد VEGF- $\beta$  با افزایش آپوپتوز سلولی در مدل‌های دیابت همراه است (۱۱). با این وجود اثرات بالقوه سودمند VEGF- $\beta$  که از طریق افزایش جریان خون (افزایش در دسترس بودن انسولین و جذب گلوکز در اندام‌های هدف) و کاهش جذب FAS (جلوگیری از سمیت چربی و بهبود سیگنال دهی انسولین) و ایمنی آن برای استفاده بالینی به دست می‌آید، هنوز مشخص نشده است (۱۱) که نشان دهنده نیاز به تحقیقات بیشتر در این خصوص می‌باشد.

دیابت یک بیماری پیچیده و مزمن است که نیاز به مراقبت‌های پزشکی مداوم با استراتژی‌های کاهش خطر چند عاملی فراتر از مدیریت گلوکز دارد. شواهد قابلیت وجهی وجود دارد که از طیف وسیعی از مداخلات برای بهبود نتایج دیابت پشتیبانی می‌کند (۱۲). فعالیت بدنی منظم نقش مهمی را در مدیریت کودکان و نوجوانان مبتلا به دیابت نوع ۱ ایفا می‌کند، اما به عنوان درمان برای دیابت در نظر گرفته نمی‌شود (۱۳). درک عمیق متابولیسم انرژی به طور منطقی مستلزم ورزش به عنوان سنگ بنای سبک زندگی تقریباً همه افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ است (۱۴). در همین خصوص تحقیقات قبلی چه روی نمونه‌های انسانی و چه مدل‌های حیوانی حاکی از اثرات مثبت تمرینات ورزشی بر کنترل قند خون و همچنین کاهش عوارض ناشی از دیابت می‌باشد (۱۳، ۱۴ و ۱۵). همچنین یکی از اصلی‌ترین و موثرترین داروهایی که اثرات مفیدی بر روی پروفایل لیپیدی دارند، استاتین‌ها هستند. از بین استاتین‌ها، آتورواستاتین یکی از کم‌عارضه‌ترین و موثرترین آنها به حساب می‌آید. این دارو یک مهارکننده رقابتی انتخابی آنزیم ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلو تاریل کوآنزیم-A ردوکتاز (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A reductases: HMG-CoA reductases) است، اما بر خلاف بقیه استاتین‌ها این ترکیب کاملاً سنتتیک است که در بیماران دیابتی مبتلا به هیپرکلسترولمی همراه با سایر داروهای کنترل کننده قند مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاثیر مفید آتورواستاتین بر بعضی آدیپوکین‌ها ثابت شده است و به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های تاثیر این دارو در کنترل قند خون

باشد (۱۵).

بر اساس تحقیقات قبلی تمرینات ورزشی و همچنین مصرف آتورواستاتین به عنوان دو مداخله غیردارویی و دارویی در کاهش عوارض کبدی اهمیت دارد. با این وجود دانش کنونی ما در خصوص اثر این دو روش مداخله بر VEGF- $\beta$  به عنوان یکی از عوامل مرتبط با متابولیسم کبدی در دیابت نوع ۱ محدود است. همچنین تحقیقی که به طور خاص به مقایسه اثر تمرینات تناوبی و مصرف داروی آتورواستاتین بر VEGF- $\beta$  انجام شده باشد، یافت نشد که ضرورت تحقیق حاضر را نشان می‌دهد.

با توجه به مطالب گفته شده، تحقیق حاضر با هدف مقایسه اثر هشت هفته تمرین تناوبی و مصرف آتورواستاتین بر بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی در موش‌های نر ویستار مدل دیابت نوع ۱ انجام شد.

## روش کار

در تحقیق تجربی حاضر تعداد ۲۵ سر موش ویستار نر صحرایی ۵ هفته‌ای با وزن  $9/41 \pm 147/68$  گرم از انستیتو پاستور خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. حیوانات مورد آزمایش در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت  $55/4 \pm 6$  درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از القای دیابت، موش‌ها به ۵ گروه شامل دیابتی کنترل، دیابتی شش، دیابت+ تمرین هوازی+ مکمل، دیابت+ هوازی و دیابت+ مکمل

قرار گرفت. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی‌داری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵٪ (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم افزار Medcalc 18.2.1 (۵ سر در هر گروه) تعیین شد. معیار ورود به مطالعه حاضر شامل سلامت کامل موش‌ها و عدم استفاده از هرگونه دارو بود. معیار خروج از مطالعه عدم اجرای پروتکل تمرینی و مصرف نکردن مکمل و آسیب حین اجرا تمرین بود.

همه آزمایش‌ها بر اساس یک پروتکل تأییدشده سازمانی مطابق با راهنمای مؤسسه ملی بهداشت برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق: IR.IAU.AMOL.REC.1402.066 انجام شد. برای القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین (STZ-) ساخت شرکت سیگما با کد نامبر: S0130 و با دوز ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم حل شده در بافر سیترات دیابت القا شد (۶). پس از تزریق STZ، به منظور کاهش مرگ و میر موش‌ها به مدت ۴۸ ساعت به جای آب از محلول گلوکز ۵ درصد استفاده شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق STZ، غلظت گلوکز خون پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با ایجاد جراحت کوچک به وسیله‌ی لانس در ناحیه دم موش و با استفاده از دستگاه گلوکوکارد ۰۱ (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد. موشهایی که قندخون آنها بالاتر از  $300 \text{ mg/dl}$  میلی‌گرم/لیتر بود، به عنوان حیوانات دیابتی وارد تحقیق شدند (۳).

برنامه تمرین تناوبی شامل ۲۹-۲۵ دقیقه دویدن روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۵ متر در دقیقه

جدول ۱- پروتکل تمرینات تناوبی

جلسات	عوامل تمرینی	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶	هفته ۷	هفته ۸
اول	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (دقیقه)	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰
دوم	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (دقیقه)	۲۶	۳۱	۳۶	۴۱	۴۶	۵۱	۵۶	۶۱
سوم	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (دقیقه)	۲۷	۳۲	۳۷	۴۲	۴۷	۵۲	۵۷	۶۲
چهارم	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (دقیقه)	۲۸	۳۳	۳۸	۴۳	۴۸	۵۳	۵۸	۶۳
پنجم	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (دقیقه)	۲۹	۳۴	۳۹	۴۴	۴۹	۵۴	۵۹	۶۴

از آزمون شاپیرو ویلک برای نرمال بودن داده‌ها و آزمون لون برای تجانس واریانس‌ها استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه همراه با آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین گروهی استفاده شد. کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ و در سطح معنی‌داری  $P \leq 0/05$  انجام شد.

### یافته‌ها

با توجه به نتایج جدول ۲، تفاوت معنی‌داری در بیان ژن  $VEGF-\beta$  بافت کبد ( $F=42/935$ ;  $P<0/001$ ) در گروه‌های تحقیق وجود داشت. به منظور یافتن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد که نتایج آن در جدول ۳ خلاصه شده است.

### بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پس از القای دیابت بیان ژن  $VEGF-\beta$  در گروه‌های دیابت کنترل، دیابت + آتورواستاتین، دیابت + تمرین و دیابت + تمرین + آتورواستاتین به صورت معنی‌داری نسبت به گروه سالم کنترل پایین‌تر بود. نتایج شهبوند و همکاران نیز نشان داد که القای دیابت موجب کاهش بیان ژن  $VEGF-\beta$  در بافت قلب موشهای دیابتی شد (۱۸) که با نتایج

برای هفته اول بود و هر هفته یک متر بر دقیقه اضافه شد تا در هفته هشتم به ۲۲ متر بر دقیقه رسید. مدت جلسه اول ۲۵ دقیقه بود که هر جلسه یک دقیقه اضافه شد تا در هفته هشتم به ۶۴ دقیقه رسید. با رعایت اصل اضافه بار به صورت پیشرونده برنامه تمرین به مدت پنج روز در هفته و هشت هفته ادامه داشت (جدول ۱).

**نحوه مصرف آتورواستاتین:** در گروه‌های داروی آتورواستاتین، این دارو با دوز ۱۰ میلی‌گرم در روز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها (آتورواستاتین تهیه شده از شرکت داروسازی سبحان دارو، ایران) به صورت گاواژ برای حیوانات آزمایشگاهی استفاده شد (۱۶ و ۱۷). ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی مداخلات و ۱۲ ساعت ناشتایی، نمونه‌گیری خونی از گروه‌های کنترل و تیمار انجام گرفت. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا حیوان با ترکیبی از داروی کتامین (Ketamine) (۳۰-۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (Xylazine) (۵-۳ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. پس از بیهوشی موشها با رعایت اصول اخلاقی خونگیری و نمونه‌گیری بافت کبد انجام شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن  $VEGF-\beta$  از روش RT-PCR استفاده شد. کمی‌سازی مقادیر بیان ژن هدف از فرمول ۲ به توان  $\Delta\Delta CT$  استفاده شد.

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه

متغیر	منبع	مجموع میانگین‌ها	df	میانگین مربع	F	P
$VEGF-\beta$	بین گروهی	۱۰۰/۵۲۸	۴	۲۵/۱۳۴	۴۲/۹۳۵	<۰/۰۰۱
	درون گروهی	۱۱۷۰۸	۲۰	۰/۵۸۵		
	کل	۱۱۲/۲۴۶	۲۴			

جدول ۳- نتایج آزمون تعقیبی توکی برای  $VEGF-\beta$  کبدی

گروه i	گروه j	اختلاف میانگین	P
سالم کنترل	دیابت کنترل	۶/۲۹	<۰/۰۰۱
	دیابت + آتورواستاتین	۳/۵۹	<۰/۰۰۱
	دیابت + تمرین	۳/۳۱	<۰/۰۰۱
	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	۳/۸۲	<۰/۰۰۱
دیابت کنترل	دیابت + آتورواستاتین	-۲/۷۰	<۰/۰۰۱
	دیابت + تمرین	-۲/۹۸	<۰/۰۰۱
	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	-۲/۴۷	<۰/۰۰۱
دیابت + آتورواستاتین	دیابت + تمرین	-۰/۲۸	۰/۹۷۷
	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	۰/۲۳	۰/۹۸۹
دیابت + تمرین	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	۰/۵۸	۰/۸۲۷

پاسخی به هیپوکسی ناشی از ورزش استقامتی طولانی مدت تنظیم می‌شود (۲۲ و ۲۳). این رویداد بیان ژن‌های متعددی را القا می‌کند که در پاسخ‌های سلولی مختلف مانند رگ‌زایی که توسط چندین فاکتور رشد، از جمله اعضای خانواده VEGF هدایت می‌شود (۲۴). جالب توجه است، بیان ژن VEGF- $\beta$  و میتوکندری به طور هماهنگ تنظیم می‌شود و سطوح VEGF- $\beta$  درونزاد در بافت‌هایی با فعالیت متابولیک بالا، مانند قلب، ماهیچه‌های اسکلتی و چربی قهوه‌ای، بالاترین میزان است (۲۵). گزارش شده است که فقدان VEGF- $\beta$  منجر به کاهش بیان پروتئین‌های انتقال دهنده اسیدچرب (Fatp3) (Fatp4 و FA) در سلول‌های اندوتلیال می‌شود که با کاهش قطرات چربی در قلب و فیبرهای عضلانی اسکلتی (۲۶) و بهبود حساسیت به انسولین در مدل‌های دیابتی (۲۷) مرتبط است. با توجه به اینکه کبد نیز یک بافت فعال متابولیکی می‌باشد و از طرفی گزارش شده است که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند موجب افزایش متابولیسم کلی بدن و در نتیجه فعالیت کبد برای تامین هزینه برای فعالیت‌های طولانی مدت شود (۲۸)؛ بنابراین می‌توان افزایش VEGF- $\beta$  را به بهبود فعالیت میتوکندریایی در کبد در سازگاری به تمرینات ورزشی منظم نسبت داد.

دیگر نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که مصرف آتورواستاتین موجب افزایش بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی نسبت به گروه دیابت کنترل شد. آتورواستاتین، یک مهارکننده ردوکتاز HMG-CoA، به طور گسترده در درمان دیس لیپیدمی استفاده می‌شود (۲۹). با توجه به نقش سلول‌های پیش ساز اندوتلیال (Endothelial precursor cells-EPCs) به عنوان زیرگروهی از سلول‌های بنیادی خون ساز که به ترمی ماند و تلیوم آسیب دیده کمک می‌کنند و پیش درمانی با آتورواستاتین به طور قابل توجهی مقدار EPCها (Endothelial precursor cells) را با مکانیسمی مستقل از سطح سیتوکین ها و کلسترول پلاسما، افزایش می‌دهد (۳۰). در تحقیق روی نمونه های انسانی گزارش شده است که آتورواستاتین ۱۰ میلی‌گرم روزانه در کاهش خطر اولین رویدادهای بیماری قلبی-عروقی، از جمله سکته مغزی، در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بدون کلسترول LDL بالا، ایمن و موثر است (۳۱).

تحقیق حاضر همخوانی داشت. گزارش شده است که VEGF- $\beta$  در متابولیسم لیپید و گلوکز نقش دارد (۱۰). همچنین در موش‌هایی که VEGF- $\beta$  در آنها ناک اوت شده بود و با چربی بالا تغذیه شدند، علاوه بر چاقی و دیس لیپیدمی، کبد آنها دچار استئاتوز شد و مقاومت به انسولین افزایش یافت (۱۹). تحقیقات نشان داده است که VEGF- $\beta$  می‌تواند تجمع چربی را کاهش داده و حساسیت به انسولین را در بیماری کبدچرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver disease - NAFLD) بازگرداند (۱۰)؛ بنابراین کاهش VEGF- $\beta$  ناشی از دیابت در ارتباط با عوارض کبدی دیابت مانند استئاتوز کبدی و مقاومت به انسولین کبدی می‌باشد. می‌توان گفت که با القای دیابت و افزایش هیپرگلیسمی ناشی از دیابت سطح VEGF- $\beta$  کاهش می‌یابد که می‌تواند در ارتباط با عوارض کبدی ناشی از دیابت مانند کبد چرب غیر الکلی و آپوپتوز هپاتوسیت‌ها باشد. با این حال در تحقیق یه و همکاران گزارش شد که مقادیر VEGF- $\beta$  پلاسما در افراد مبتلا به NAFLD در مقایسه با افراد بدون NAFLD به طور قابل توجهی بالاتر بود، و تجزیه و تحلیل کوواریانس این نتیجه را تایید کرد (۲۰). علت اختلاف در نتایج ممکن است به علت تفاوت در نمونه‌های تحقیقی از تفاوت در بافت مورد مطالعه، واحدهای پژوهشی یا نوع بیماری باشد. چون در تحقیق حاضر نمونه‌های پژوهشی شامل موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بودند که با نمونه‌های تحقیق یه و همکاران متفاوت بودند.

در بررسی اثر تمرینات ورزشی بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرینات تناوبی موجب افزایش بیان ژن VEGF- $\beta$  نسبت به گروه دیابت کنترل شد. شهاوند و همکاران نیز گزارش کردند که شش هفته تمرین هوازی تداومی موجب افزایش بیان ژن VEGF- $\beta$  قلبی در موش‌های دیابتی شد (۱۸) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. کیولا و همکاران نیز در تحقیقشان گزارش کردند که یک تمرینات ورزشی موجب افزایش بیان VEGF- $\beta$  در موش‌های سالم شد (۲۱). ژن VEGF- $\beta$ ؛ طریق تعامل فاکتور القاکننده هیپوکسی - ۱ (hypoxia inducible factor - 1: HIF-1) و عنصر پاسخگو به هیپوکسی (hypoxia responsive element: HRE)، به عنوان

Jahade-Daneshgahi Ahvaz 2022.

5. Ghalavand A, Azadi M, Mohammadpour Z, Ghalavand N, Ghalavand M, Ghalavand M, et al. A review of cognitive complications of type 1 diabetes: a narrative review. *Jundishapur Sci Med J*. 2023;21(6):1-10.

6. Fan X, Lo EH, Wang X. Effects of minocycline plus tissue plasminogen activator combination therapy after focal embolic stroke in type 1 diabetic rats. *Stroke*. 2013;44(3):745-52.

7. Arkkila PE, Koskinen PJ, Kantola IM, Rönnemaa T, Seppänen E, Viikari JS. Diabetic complications are associated with liver enzyme activities in people with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;52(2):113-8.

8. Bry M, Kivelä R, Leppänen V-M, Alitalo K. Vascularendothelial growth factor-B in physiology and disease. *Physiol Rev*. 2014;94(3):779-94.

9. Alkhouri N, Carter-Kent C, Feldstein AE. Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;5(2):201-12.

10. Li YQ, Xin L, Zhao YC, Li SQ, Li YN. Role of vascular endothelial growth factor B in nonalcoholic fatty liver disease and its potential value. *World J Hepatol*. 2023;15(6):786.

11. Lal N, Chiu APL, Wang F, Zhang D, Jia J, Wan A, et al. Loss of VEGFB and its signaling in the diabetic heart is associated with increased cell death signaling. *Am J Physiol-Heart Circul Physiol*. 2017;312(6):H1163-H75.

12. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. Introduction and methodology: standards of care in diabetes—2023. *Am Diabetes Assoc*; 2023. p. S1-S4.

13. Ghalavand A, Saki H, Nazem F, Khademitab N, Behzadinezhad H, Behbodi M, et al. The Effect of Ganoderma Supplementation and Selected Exercise Training on Glycemic Control in Boys With Type 1 Diabetes. *Jundishapur J Med Sci*. 2021;20(4):356-65.

14. Codella R, Terruzzi I, Luzi L. Why should people with type 1 diabetes exercise regularly? *Acta Diabetol*. 2017;54:615-30.

15. Alvarez-Jimenez L, Morales-Palomo F, Moreno-Cabañas A, Ortega JF, Mora-Rodríguez R. Effects of statin therapy on glycemic control and insulin resistance: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Pharmacol*. 2023:175672.

16. Rasht I. The Interaction Effect of Aerobic Exercise and Atorvastatin Consumption on the expression level of MFN1/2 and DRP1 in Hepatocytes of the Rat Liver with Type 2 Diabetes. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2022;21(4):388-401.

17. Maboune N, Fonkoua M, Goda D, Ngoumen DJN, Nanhah JK, Akamba BDA, et al. Autranella congolensis Extract Prevents Atherogenic

می‌توان گفت که بخشی از این اثرات ضد دیابتی آتورواستاتین در ارتباط با اثرات این دارو بر بهبود متابولیسم چربی در کبد باشد.

در بررسی اثر تعاملی تمرینات تناوبی و مصرف آتورواستاتین نیز نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در گروه تعاملی اگرچه افزایش معنی داری در بیان ژن  $\beta$ -VEGF کبدی نسبت به گروه دیابت کنترل مشاهده شد، ولی این تغییرات نسبت به گروه‌های دیابت + تمرین و دیابت + آتورواستاتین معنی دار نبود؛ به نظر می‌رسد که استفاده توأم از تمرین و مصرف آتورواستاتین مزیت بیشتری بر بیان ژن  $\beta$ -VEGF کبدی نسبت به هر روش به تنهایی ندارد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان گفت کاهش  $\beta$ -VEGF در ارتباط با القای دیابت می‌باشد. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هر دو مداخله تمرینات تناوبی و مصرف داروی آتورواستاتین موجب افزایش بیان ژن  $\beta$ -VEGF کبدی می‌شود که می‌تواند در ارتباط با بهبود سلامت کبد باشد؛ در مقایسه بین روش‌های مداخله نیز تفاوت معنی داری بین اثر تمرین تناوبی، مصرف آتورواستاتین و همچنین تعامل تمرین و مصرف آتورواستاتین بر بیان ژن  $\beta$ -VEGF کبدی مشاهده نشد.

### References

1. Ghalavand A, Delaramnasab M, Ghanaati S. Comparison of the effect of telenursing and aerobic training on cardiometabolic and anthropometric indices in patients with type 2 diabetes. *Razi J Med Sci*. 2021;28(4):34-45.

2. Kottaisamy CPD, Raj DS, Prasanth Kumar V, Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications—a review. *Laboratory animal research*. 2021;37(1):1-14.

3. Ghalavand A, Motamedi P, Rajabi H, Khaledi N. Effect of Diabetes Induction and Exercisettraining on the Level of Ascorbic Acid and Muscle SVCT2 in Male Wistar Rats. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2019;27(12):2149-58.

4. Rashidian S. Comparison of mental health, quality of life, blood sugar profile and thyroid hormones In active and inactive pregnant women:

Dyslipidemia in Diabetic Rats via Modulation of Global Hepatic DNA Methylation. *Am J Biomed Life Sci.* 2023;11(3):53-9.

18. Shahavand H, Hosseinpour Delavar S, Behpoor N, Safikhani H, Azizi M. Effect of aerobic exercise on vascular endothelial growth factor-B (VEGF-B) gene expression and total tissue antioxidant status (TAS) in diabetic rats. *J Appl Exerc Physiol.* 2021;17(33):73-87.

19. Li R, Li Y, Yang X, Hu Y, Yu H, Li Y. Reducing VEGFB accelerates NAFLD and insulin resistance in mice via inhibiting AMPK signaling pathway. *J Transl Med.* 2022;20(1):341.

20. Ye X, Kong W, Zafar MI, Zeng J, Yang R, Chen LL. Plasma vascular endothelial growth factor B is elevated in non-alcoholic fatty liver disease patients and associated with blood pressure and renal dysfunction. *EXCLI J.* 2020;19:1186.

21. Kivelä R, Silvennoinen M, Lehti M, Jalava S, Vihko V, Kainulainen H. Exercise-induced expression of angiogenic growth factors in skeletal muscle and in capillaries of healthy and diabetic mice. *Cardiovasc Diabetol.* 2008;7:1-10.

22. Rey S, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling. *Cardiovasc Res.* 2010;86(2):236-42.

23. Keramidas ME, Stavrou NA, Kounalakis SN, Eiken O, Mekjavic IB. Severe hypoxia during incremental exercise to exhaustion provokes negative post-exercise affects. *Physiol Behav.* 2016;156:171-6.

24. Armando F, Gambini M, Corradi A, Giudice C, Pfankuche VM, Brogden G, et al. Oxidative stress in canine histiocytic sarcoma cells induced by an infection with canine distemper virus led to a dysregulation of HIF-1 $\alpha$  downstream pathway resulting in a reduced expression of VEGF-B in vitro. *Viruses.* 2020;12(2):200.

25. Kivelä R, Bry M, Robciuc MR, Räsänen M, Taavitsainen M, Silvola JM, et al. VEGF-B-induced vascular growth leads to metabolic reprogramming and ischemia resistance in the heart. *EMBO Mol Med.* 2014;6(3):307-21.

26. Hagberg CE, Falkevall A, Wang X, Larsson E, Huusko J, Nilsson I, et al. Vascular endothelial growth factor B controls endothelial fatty acid uptake. *Nature.* 2010;464(7290):917-21.

27. Hagberg CE, Mehlem A, Falkevall A, Muhl L, Fam BC, Ortsäter H, et al. Targeting VEGF-B as a novel treatment for insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2012;490(7420):426-30.

28. Stevanović J, Beleza J, Coxito P, Ascensão A, Magalhães J. Physical exercise and liver "fitness": Role of mitochondrial function and epigenetics-related mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Metab.* 2020;32:1-14.

29. Clarke A, Mills P. Atorvastatin associated

liver disease. *Digest LIVER DIS.* 2006;38(10):772-7.

30. Spadaccio C, Pollari F, Casacalenda A, Alfano G, Genovese J, Covino E, et al. Atorvastatin increases the number of endothelial progenitor cells after cardiac surgery: a randomized control study. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2010;55(1):30-8.

31. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HAW, Livingstone SJ, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2004;364(9435):685-96.