



تأثیر هشت هفته تمرین تنابی و استفاده از آتورواستاتین بر بیان ژن VEGF- β کبدی در موش‌های صحرایی نر ویستار مدل دیابت نوع ۱

سمانه احمدپور: دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

علیرضا باراری: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران (* نویسنده مسئول)

برونین فرزانگی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحدسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

دیابت نوع ۱،

تمرین تنابی،

آتورواستاتین،

فاکتور رشد اندوتیال عروقی بتا

زمینه و هدف: گزارش شده است که $VEGF-\beta$ در اعمال متفاوت از جمله متاپولیسم 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 تنابی 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 استریتووزوتوسین به صورت تزریق درون صفاقی انجام شد. مداخلات شامل هشت هفته تمرین هوایی دویند روی تریدمیل و مصرف ۱۰ میلی گرم آتورواستاتین به صورت گاواز بود. پس از مداخلات موش‌های قربانی شدن و بافت کبدی مورد تعجیله و تحلیل قرار گرفت. تعجیله 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 ($P < 0.001$).

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

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 صورت گرفته است.



Original Article

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

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 β -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 β cells. Streptozocin (STZ) is a standard method for inducing diabetes in animals (6). Vascular endothelial growth factor beta (VEGF- β) is one of the obscure members of the VEGF family. It has been reported that the ability of VEGF- β to induce angiogenesis is weak in most tissues. However, VEGF- β 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- β has a weak role in the vascular system; But it has a significant advantage in regulating lipid metabolism (9). Considering the potential of VEGF- β 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- β pathways have been reported to be associated with increased cell apoptosis in diabetes models (11). However, the potential beneficial effects of VEGF- β 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- β 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- β compared to the healthy control group. In the groups of diabetes + interval training, diabetes + atorvastatin and diabetes + atorvastatin + interval training, the increase of VEGF- β 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- β 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- β gene in the heart tissue of diabetic rats (18), which was consistent with the results of the present study. VEGF- β has been reported to be involved in lipid and glucose metabolism (10). Also, in mice in which VEGF- β 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- β can reduce lipid accumulation and restore insulin sensitivity in NAFLD (10); Therefore, the decrease of VEGF- β 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- β 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- β 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- β gene expression, the results of the present study showed that intermittent exercise increased VEGF- β gene expression compared to the control diabetes group. Shahavand et al also reported that six weeks of continuous aerobic exercise increased cardiac VEGF- β 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- β in healthy mice (21). VEGF- β and mitochondrial gene expression are regulated in concert, and endogenous VEGF- β 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- β 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- β 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- β 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- β 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- β 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.

بیماری‌های متابولیک، مانند چاقی و دیابت تبدیل شود (۱۰). گزارش شده است که نقص در مسیرهای متعدد VEGF-β با افزایش آپوپتوز سلولی در مدل‌های دیابت همراه است (۱۱). با این وجود اثرات بالقوه سودمند VEGF-β که از طریق افزایش جریان خون (افزایش دردسترس بودن انسولین و جذب گلوکز در اندام‌های هدف) و کاهش جذب FAs (جلوگیری از سمیت چربی و بهبود سیگنانال دهی انسولین) و اینمی 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 مبتلت 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 قدر 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 کم عارض‌ترین و موثرترین آنها به حساب می‌آید. این دارو یک مهارکننده رقابتی انتخابی آنزیم ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلوتاریل 3-hydroxy-3-methylglutaryl A-ردوکتاز (coenzyme-A reductases: HMG-CoA reductases) است، اما برخلاف 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

مقدمه

دیابت یک بیماری 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 (۱۶). 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 β پانکراس توسط سلول‌های T و در نتیجه کمبود کامل انسولین ایجاد می‌شود (۶). 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 β شخص می‌شود. استرپتو佐وتوس—ین (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 نفropاتی 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 اندوتیال عروقی بتا (vascular endothelial growth factor-β)، یکی از اعضای مبهم خانواده VEGF می‌باشد. گزارش شده است که توانایی β-VEGF برای القای رگ‌زایی در اکثر بافت‌ها ضعیف است. با این حال، به نظر می‌رسد که VEGF-β 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 β-VEGF نقش ضعیفی در سیستم عروقی دارد؛ اما مزیت قابل توجهی در تنظیم متابولیسم لیپیدی در (۹). با توجه به پتانسیل VEGF-β در تنظیم متابولیسم لیپید، انتظار می‌رود که این فاکتور رشد به هدف جدیدی برای بهبود

قرار گرفت. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی داری 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 براساس 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 القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسمین (STZ) ساخت شرکت سیگما با کد نامبر: S0130 و با دوز ۶۰ میلی گرم/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 ناشتاپی شبانه با ایجاد جراحت کوچک به وسیله‌ی لانست در ناحیه دم موش و با استفاده از دستگاه گلوكوكارد ۱۰ (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد. موشهایی که قندخون آنها بالاتر از ۳۰۰ mg/dl میلی گرم/سی لیتر بود، به عنوان حیوانات دیابتی وارد تحقیق شدند (۳).

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

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 داشتن کنونی ما در خصوص اثر این دو روش مداخله بر VEGF- β به عنوان یکی از عوامل مرتبط با متabolism کبدی در دیابت نوع ۱ محدود است. همچنین تحقیقی که به طور خاص به مقایسه اثر تمرینات تناوبی و مصرف داروی آتورواستاتین بر VEGF- β انجام شده باشد، یافت نشد که ضرورت تحقیق حاضر را نشان می‌دهد.

با توجه به مطالب گفته شده، تحقیق حاضر با هدف مقایسه اثرهشت هفته تمرین تناوبی و مصرف آتورواستاتین بر بیان ژن VEGF- β 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 هفتاهای با وزن $147/68 \pm 9/41$ گرم از انستیتو پاستور خردباری و به آزمایشگاه منتقل شد. حیوانات مورد آزمایش در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشانی 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 شم، دیابت+ تمرین هوایی+ مکمل، دیابت+ هوایی و دیابت+ مکمل

جدول ۱- پرونکل تمرینات تناوبی

جلسات	عوامل تمرینی	ساعت (متر بر دقیقه)	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
اول	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳
	مدت (دقیقه)	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۵
دوم	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳
سوم	مدت (دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳
چهارم	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳
پنجم	مدت (دقیقه)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳

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 در سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها

با توجه به نتایج جدول ۲، تفاوت معنی‌داری در بیان ژن VEGF- β 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- β در گروه‌های دیابت کنترل، دیابت + آتورواستاتین، دیابت + تمرین و دیابت + تمرین + آتورواستاتین به صورت معنی‌داری نسبت به گروه سالم کنترل پایین‌تر بود. نتایج شهابوند و همکاران نیز نشان داد که القای دیابت موجب کاهش بیان ژن VEGF- β 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 گاواز برای حیوانات آزمایشگاهی استفاده شد (۱۷ و ۱۶). ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه مداخلات و ۱۲ ساعت ناشتاپی، نمونه گیری 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) (۳-۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. پس از بیهوشی موشها با رعایت اصول اخلاقی خونگیری و نمونه گیری بافت کبد انجام شد. برای اندازه گیری و نمونه گیری از ژن VEGF- β از روش RT-PCR استفاده شد. کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف از فرمول ۲ به توان $\Delta\Delta CT$ استفاده شد.

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه

P	F	میانگین مربع	df	مجموع میانگین‌ها	منبع	متغیر
<0.001	۴۲/۹۳۵	۲۵/۱۳۴	۴	۱۰۰/۵۳۸	بین گروهی	VEGF- β
		۰/۵۸۵	۲۰	۱۱/۷۰۸	درون گروهی	
			۲۴	۱۱۲/۲۴۶	کل	

جدول ۳- نتایج آزمون تعقیبی توکی برای VEGF- β کبدی

P	اختلاف میانگین	گروه j	گروه i
<0.001	۶/۲۹	دیابت کنترل	سالم کنترل
<0.001	۳/۵۹	دیابت + آتورواستاتین	
<0.001	۳/۳۱	دیابت + تمرین	
<0.001	۳/۸۲	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	
<0.001	-۲/۷۰	دیابت + آتورواستاتین	دیابت کنترل
<0.001	-۲/۹۸	دیابت + تمرین	
<0.001	-۲/۴۷	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	
.۰/۹۷۷	-۰/۲۸	دیابت + تمرین	دیابت + آتورواستاتین
.۰/۹۸۹	۰/۲۳	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	
.۰/۸۲۷	۰/۵۸	دیابت + تمرین + آتورواستاتین	دیابت + تمرین

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- β و میتوکندری به طور هماهنگ تنظیم می‌شود و سطوح VEGF- β درونزاد در بافت‌هایی با فعالیت متابولیک بالا، مانند قلب، ماهیچه‌های اسکلتی و چربی قوهای، بالاترین میزان است (۲۵). گزارش شده است که فقدان VEGF- β منجر به کاهش بیان پروتئین‌های انتقال دهنده اسیدچرب (Fatp4FA) (Fatp3) در سلول‌های اندوتیال 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- β 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- β کبدی نسبت به گروه دیابت کنترل شد. آتورواستاتین، یک مهارکننده ردوکتازA-HMG-CoA، به طورگسترده در درمان دیس لیپیدمی استفاده می‌شود (۲۹). با توجه به نقش سلول‌های پیش ساز اندوتیال (Endothelial precursor cells-EPCs) به عنوان زیرگروهی از سلول‌های بنیادی خون ساز که بهترمی ماند وتلیوم آسیب دیده کمک می‌کنند و پیش درمانی با آتورواستاتین به طورقابل توجهی مقدار EPC‌ها مستقل از سطح سیتوکین‌ها و کلسترول پلاسما، افزایش می‌دهد (۳۰). در تحقیق روی نمونه‌های 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- β در متابولیسم لیپید و گلوکز نقش دارد (۱۰). همچنین در موشهایی که VEGF- β در آنها ناک اوت شده بود و با چربی بالا تغذیه شدند، علاوه بر چاقی و دیس لیپیدمی، کبد آنها دچار استاتوز شد و مقاومت به انسولین افزایش یافت (۱۹). تحقیقات نشان داده است که VEGF- β می‌تواند تجمع چربی را کاهش داده و حساسیت به انسولین را در بیماری کبدچرب (Non-alcoholic fatty liver disease-NAFLD) بازگرداند (۱۰)، بنابراین کاهش VEGF- β ناشی از دیابت در ارتباط با عوارض کبدی دیابت مانند استاتوز کبدی و مقاومت به انسولین کبدی می‌باشد. می‌توان گفت که با القای دیابت و افزایش هیپرگلیسمی ناشی از دیابت سطح VEGF- β 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- β 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 وزشی بیان ژن VEGF- β کبدی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرینات تناوبی موجب افزایش بیان ژن گزارش گروه دیابت کنترل شد. شهابوند و همکاران نیز گزارش کردند که شش هفته تمرین هوازی تداومی موجب افزایش بیان ژن VEGF- β 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- β در موشهای سالم شد (۲۱). ژن VEGF- β از طریق تعامل فاکتور الفاکننده هیپوکسی (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, Khademita 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, Luzzi 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 می توان 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 تمرينات تناوبی و مصرف آتورواستاتین نیز نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در گروه تعاملی اگرچه افزایش معنی داری در بیان ژن VEGF-β کبدی نسبتی گروه دیابت کنترل مشاهده شد، ولی این تغییرات نسبت به گروههای دیابت + تمرين و دیابت + آتورواستاتین معنی دار نبود؛ به نظر می رسد که استفاده توأم از تمرين و مصرف آتورواستاتین مزیت بیشتری بر بیان ژن VEGF-β کبدی نسبت به هر روش به تنها یابی ندارد.
- ### نتیجه‌گیری
- با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان گفت کاهش VEGF-β در ارتباط با القای دیابت می باشد. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هر دو مداخله تمرينات تناوبی و مصرف داروی آتورواستاتین موجب افزایش بیان ژن VEGF-β کبدی می شود که می تواند در ارتباط با بهبود سلامت کبد باشد؛ در مقایسه بین روش های مداخله نیز تفاوت معنی داری بین اثر تمرين تناوبی، مصرف آتورواستاتین و همچنین تعامل تمرين و مصرف آتورواستاتین بر بیان ژن VEGF-β 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, Motamed P, Rajabi H, Khaledi N. Effect of Diabetes Induction and Exercisetraining 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, Mekjavić 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 α 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.