

اثر تمرین اینتروال متوسط شدت و لیپوئیک اسید لیپوزومال بر لنف آنژیوژنز پانکراس، گلوکز و انسولین سرمی Rat های مدل مبتلا به دیابت

مینو دادبان شهامت^۱، سید رامین هاشمیان اصفهانی^۲، اسرا عسکری^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لنف آنژیوژنز، نقش مهمی در التهاب جزایر و تنظیم انسولین دارد. این پژوهش، با هدف بررسی اثر تمرین اینتروال متوسط شدت و مکمل آلفالیپوئیک اسید بر انجام شد.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی تجربی، ۲۵ سر Rat نژاد Wistar، با میانگین سن ۳ هفته و وزن 159 ± 3 گرم به پنج گروه (n = ۵ در هر گروه) شامل گروه شاهد سالم، دیابت + سالین، دیابت + مکمل، دیابت + تمرین + سالین، دیابت + مکمل + تمرین تقسیم شدند. القای دیابت، با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و نیکوتین امید (۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) انجام شد. آلفالیپوئیک اسید (Alpha lipoic acid یا ALA) به مدت ۶ هفته، با دز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روزانه به صورت خوراکی تجویز شد. تمرین اینتروال، به مدت ۶ هفته، ۵ جلسه در هفته شامل ۱۳ تناوب ۴ دقیقه‌ای دویدن روی تردمیل با شدت VO_{2max} معادل ۶۵-۷۰ درصد و استراحت فعال بین تناوب‌ها، ۲ دقیقه دویدن با شدت ۱۰-۵ متر/دقیقه بود. پس از کشتار Rat ها و بافت‌برداری، بیان پروتئین VEGFR3 بافت پانکراس به روش ایمونوهیستوشیمی و گلوکز به روش کالری‌متری و انسولین به روش enzyme-linked immunoassay (ELISA) -کالری‌متری انجام شد. داده‌ها با آزمون One-way ANOVA و با استفاده از نرم‌افزار SPSS در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: ۶ هفته تمرین اینتروال و تمرین اینتروال با مکمل (LAL) Lysosomal acid lipase بر VEGFR3 بافت پانکراس، گلوکز و انسولین سرمی Rat های مبتلا به دیابت تأثیر معنی‌داری داشت. مصرف ۶ هفته مکمل LAL بر VEGFR3 و انسولین سرمی Rat های مبتلا به دیابت اثر معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: تمرین اینتروال شدید و مکمل ALA باعث افزایش لنف آنژیوژنز و کاهش گلوکز خون و تغییرات مطلوب در رت‌های دیابتی شد.

واژگان کلیدی: دیابت؛ لیپوئیک اسید؛ تمرین؛ Vascular endothelial growth factor receptor 3؛ گلوکز

ارجاع: دادبان شهامت، هاشمیان اصفهانی سید رامین، عسکری اسرا. اثر تمرین اینتروال متوسط شدت و لیپوئیک اسید لیپوزومال بر لنف آنژیوژنز پانکراس، گلوکز و انسولین سرمی Rat های مدل مبتلا به دیابت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۳۰): ۴۶۳-۴۵۶.

بازسازی عروق و تنظیم متابولیسم چربی، ارتباط بسیاری با ایجاد مقاومت به انسولین دارد و نیز عدم تنظیم سیستم لنفاوی، زمینه‌ساز توسعه‌ی سندرم متابولیک است (۳-۴). تشکیل عروق لنفاوی یا لنف آنژیوژنز، پدیده‌ای شایع در هنگام التهاب است و مطالعات حاکی از اهمیت آن در تنظیم انسولین می‌باشد (۵-۶). ناهنجاری در رگ‌زایی جزایر پانکراس، منجر به کاهش سطح انسولین در سیستم عروقی می‌شود، حتی اگر سلول‌های β دارای ظرفیت ترشحی طبیعی باشند

مقدمه

کم تحرکی و تغذیه‌ی نامناسب، ارتباط بسیاری با شیوع بیماری‌های متابولیک، از جمله دیابت نوع ۲ دارد (۱). آسیب عروق خونی و لنفی، یکی از جدی‌ترین عوارض دیابت است. در مبتلایان به دیابت، سلول‌های اندوتلیال عروق لنفاوی، دچار نقص و نفوذپذیری می‌شوند و نشت می‌کنند و انتقال لنف و آنتی‌ژن‌ها به غدد لنفاوی دچار مشکل می‌شود (۲). مطالعات نشان داده است، التهاب مزمن و اختلال در

۱- استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

۲- گروه تربیت بدنی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

۳- استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: مینو دادبان شهامت؛ استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

روش‌ها

نگهداری Rat‌ها: پژوهش حاضر از نوع تجربی و به شکل آزمایشگاهی بود. ۲۵ سر Rat نر سه هفته‌ای با میانگین سن ۳ هفته و وزن 3 ± 159 گرم به ۵ گروه ($n = 5$ در هر گروه) شامل گروه شاهد سالم، دیابت + سالی، دیابت + مکمل، دیابت + تمرین + سالی و دیابت + مکمل + تمرین تقسیم شدند. آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد و تغذیه‌ی آنها (ساخت شرکت به‌پرور، ایران)، جیره‌ی طبیعی ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در روز در هر قفس قرار داده می‌شد. وزن‌کشی هفتگی با ترازوی استاندارد دیجیتالی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم (شرکت Sartorius، آلمان) انجام می‌شد.

القای دیابت: پس از یک هفته سازگاری و ۱۲ ساعت ناشتایی، تزریق استرپتوزوتوسین با دز ۶۵ میلی‌گرم/کیلوگرم (شرکت Sigma Aldrich، آمریکا) محلول در بافر سیترات (۰/۱ مولار با pH ۴/۵) و ۱۵ دقیقه بعد، نیکوتین امید با دز ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (شرکت Sigma Aldrich، آمریکا) محلول در نرمال‌سالی، به صورت داخل صفاقی جهت القای دیابت، انجام شد (۱۵).

مکمل‌دهی: مکمل آلفا لیپوئیک اسید لیپوزومال به مدت ۶ هفته، ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روزانه به صورت خوراکی تجویز شد (۱۶).

برنامه‌ی تمرین ورزشی: قبل از اجرای شیوه‌نامه‌ی تمرینی، حیوانات گروه‌های تمرینی، یک هفته با نحوه‌ی فعالیت روی نوار گردان آشنا شدند؛ سپس، به منظور تعیین شدت تمرینات، آزمایش VO_{2max} از آنها گرفته شد. برنامه‌ی تمرینی بر اساس مطالعه‌ی Songstad و همکاران بود که به صورت تعدیل شده، شامل ۶ هفته دویدن اینتروال بر روی تردمیل، هفته‌ای ۵ جلسه که حاوی ۱۳ تناوب ۴ دقیقه‌ای با شدت ۶۵-۷۰ درصد VO_{2max} بود؛ استراحت فعال بین تناوب‌های دویدن‌های ۲ دقیقه‌ای با شدت ۱۰-۵ متر/دقیقه بود (۱۷). گرم کردن و سرد کردن، به مدت ۱۰-۵ دقیقه قبل و بعد از تمرینات، با شدت ۱۰-۵ متر/دقیقه انجام می‌شد. برای رعایت اصل اضافه بار، اندازه‌گیری VO_{2max} هر دو هفته با استفاده از آزمون فزاینده‌ی استاندارد Bedford و همکاران که به وسیله‌ی Leandro و همکاران جهت Rat‌های نژاد Wistar استانداردسازی گردید، انجام می‌شد. آزمون شامل ۱۰ مرحله‌ی ۳ دقیقه‌ای است. سرعت در مرحله‌ی اول ۵ متر/دقیقه است و در مراحل بعدی، ۵ متر/دقیقه به سرعت نوار گردان اضافه شد. سرعت VO_{2max} سرعتی است که در آن VO_2 به فلات برسد (۱۸).

بافت‌برداری و بررسی آزمایشگاهی: Rat‌ها پس از ۷۲ ساعت استراحت از آخرین جلسه‌ی تمرین، در شرایط ناشتا با استفاده از کت‌امین (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و کشته شدند. بافت‌برداری از

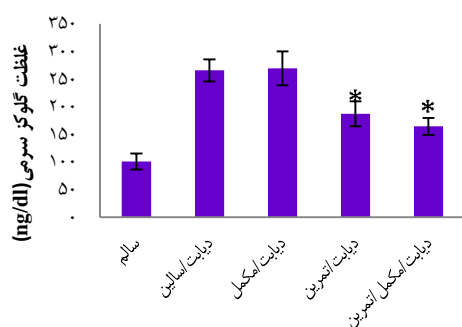
(۶). پروتئین‌های خانواده‌ی Vascular endothelial growth factor (VEGF)، برای لنف آنژیوژنز نقش اساسی دارد و انواع گیرنده‌های آن شامل Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1)، VEGFR-2 و VEGFR-3 می‌باشد که با اتصال به لیگاندهای اختصاصی خود عملکرد بیولوژیکی خود را نشان می‌دهند (۷). گیرنده‌ی VEGFR3، به عنوان یک نشانگر لنفوی شناخته شده است و به لیگاندهای VEGF-C و VEGF-D می‌پیوندد. بیان VEGFR-3 در سلول‌های اندوتلیالی لنفوی، باعث تکثیر، مهاجرت و بقا می‌گردد (۸). مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی، اثرات مطلوبی بر بهبود عوارض دیابت می‌گذارد (۹-۱۲).

بر اساس مطالعه‌ی Madsen و همکاران، ۸ هفته تمرین اینتروال پر شدت بر روی دو چرخه‌ی ارگومتر، عملکرد سلول β پانکراس و حساسیت به انسولین را در بیماران دیابت نوع ۲، بهبود می‌بخشد (۹). Karstoft و همکاران، گزارش کردند که پیاده‌روی اینتروال (۵ جلسه‌ی ۶۰ دقیقه‌ای در هفته، بیش از ۴ ماه با ۳ دقیقه اینتروال شدید بیشتر از ۷۰ درصد VO_{2max} در مقایسه با پیاده‌روی آهسته‌ی تداومی ۴۰ درصد VO_{2max} به طور قابل توجهی عملکرد سلول β پانکراس را در بزرگسالان مبتلا به دیابت نوع ۲، بهبود می‌بخشد (۱۰). با توجه به این که در بسیاری از پژوهش‌های قبلی، اثر تمرینات اینتروال پرشدت بر دیابت بررسی شده بود (۹-۱۱)؛ در این پژوهش، ورزش اینتروال متوسط شدت (Moderate-intensity interval training یا MIIT) با شدت ۶۵-۷۰ درصد VO_{2max} بر VEGFR3 بافت پانکراس، انسولین و گلوکز سرمی به عنوان راهکار احتمالی کاهش عوارض دیابت بررسی شد. آلفالیپوئیک اسید (Alpha-lipoic acid یا ALA)، با فرمول شیمیایی $C_8H_{14}O_2S_2$ ، اسید چرب هشت کربنه‌ی دی‌تیول که یک آنتی‌اکسیدان شناخته می‌شود، دیگر مداخله‌ی پژوهش حاضر بود (۱۳)، که به صورت لیپوزومال جهت اثردهی بیشتر تجویز شد. پژوهش‌های پیشین نشان دادند مکمل‌دهی لیپوئیک اسید جبران شده و موجب کاهش سطح گلوکز، کاهش گلیکوزیلاسیون پروتئین و HbA1c (Hemoglobin A1c) در نمونه‌های مبتلا به دیابت گردیده است (۱۴-۱۳). از آن جایی که نقص عروق لنفوی یکی از عوارض دیابت و تشدید علایم آن می‌باشد و تنظیم عملکرد سیستم لنفوی سبب بهبود دیابت نوع ۲ می‌شود (۶-۳) و از سوی دیگر، تمرینات ورزشی (۹-۱۲) و مکمل آلفالیپوئیک اسید (۱۴-۱۳) اثرات مطلوب بر عوارض ناشی از دیابت داشته‌اند؛ این پژوهش، به دنبال یافتن پاسخ این سؤال بود که «آیا فعالیت ورزشی اینتروال متوسط شدت و مکمل لیپوئیک اسید لیپوزومال بر شاخص‌های VEGFR3 بافت پانکراس، گلوکز و انسولین سرمی Rat‌های مدل مبتلا به دیابت تأثیر دارد یا خیر؟».

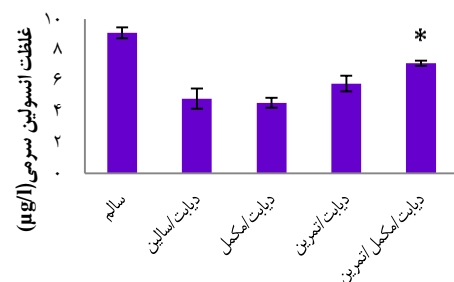
جدول ۱. میانگین و انحراف معیار وزن بدن موش‌ها (gr)، گلوکز سرمی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و انسولین (میکروگرم/لیتر) در ابتدا و انتهای پژوهش در گروه‌های مختلف

گروه	وزن بدن (گرم)		گلوکز سرمی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)		VEGFR3 (پیکسل/میکرومتر مربع)
	ابتدای مطالعه	انتهای مطالعه	ابتدای مطالعه	انتهای مطالعه	انتهای مطالعه
شاهد سالم	217/80 ± 8/50	300/20 ± 10/80	100/70 ± 14/35	9/11 ± 0/35	7/45 ± 1/95
دیابت + سالیین	222/40 ± 11/80	225/60 ± 26/64	266/00 ± 19/97	4/84 ± 0/65	6/95 ± 1/70
دیابت + مکمل	218/00 ± 12/10	295/60 ± 20/70	269/70 ± 30/66	4/57 ± 0/32	15/51 ± 0/58
دیابت + تمرین + سالیین	212/40 ± 10/50	281/40 ± 16/41	187/00 ± 22/65	5/81 ± 0/51	18/14 ± 1/68
دیابت + تمرین + مکمل	219/80 ± 11/96	305/40 ± 17/05	164/30 ± 15/57	7/13 ± 0/16	29/31 ± 1/15

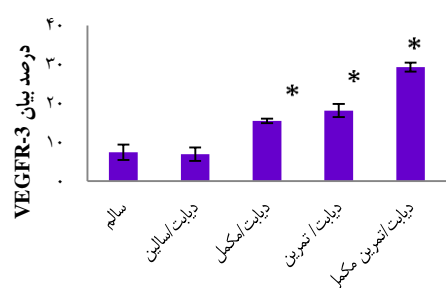
VEGFR3: Vascular endothelial growth factor receptor 3



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۱. میزان گلوکز سرمی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)،

(ب) انسولین سرمی (میکروگرم/لیتر) و

Vascular endothelial growth factor receptor 3 (ج)

(VEGFR-3) بافت پانکراس (پیکسل/میکرومتر مربع) گروه‌های

پژوهش. تفاوت معنی‌دار با گروه دیابت + سالیین

پانکراس، جهت بررسی بیان پروتئین VEGFR3 به روش ایمنوهیستوشیمی و با استفاده از کیت (شرکت Invitrogen، آمریکا؛ کد PA5-16871)، گلوکز سرمی با روش کالری‌متریک و با استفاده از کیت (شرکت پارس آزمون، ساخت ایران) و انسولین سرمی با روش ELISA- کالری‌متریک با استفاده از کیت (شرکت MERCODIA) انجام شد.

یافته‌ها

در پژوهش حاضر، ۲۵ سر Rat نر نژاد Wistar در قالب ۵ گروه شرکت داشتند که اطلاعات توصیفی آن‌ها، در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج آزمون One-way ANOVA اختلاف مقادیر گلوکز و انسولین سرمی و VEGFR3 بافت پانکراس در گروه‌های پژوهشی در شکل ۱ آمده است.

آزمون تعقیبی Tukey نشان داد مقادیر VEGFR3 بافت پانکراس، گلوکز و انسولین سرمی در گروه مکمل و گروه تمرین نسبت به گروه‌های شاهد تفاوت معنی‌داری دارد. میزان گلوکز سرمی، در گروه تمرین و گروه تمرین + مکمل نسبت به گروه شاهد مبتلا به دیابت کاهش معنی‌داری داشت و میزان انسولین سرمی، تنها در گروه تمرین + مکمل نسبت به گروه شاهد مبتلا به دیابت افزایش معنی‌داری داشت. همچنین، VEGFR3 بافت پانکراس در هر سه گروه تمرین، مکمل و تمرین + مکمل نسبت به گروه شاهد مبتلا به دیابت افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). اطلاعات هیستولوژیک بیان پروتئین VEGFR3 بافت پانکراس در شکل ۲ آمده است.

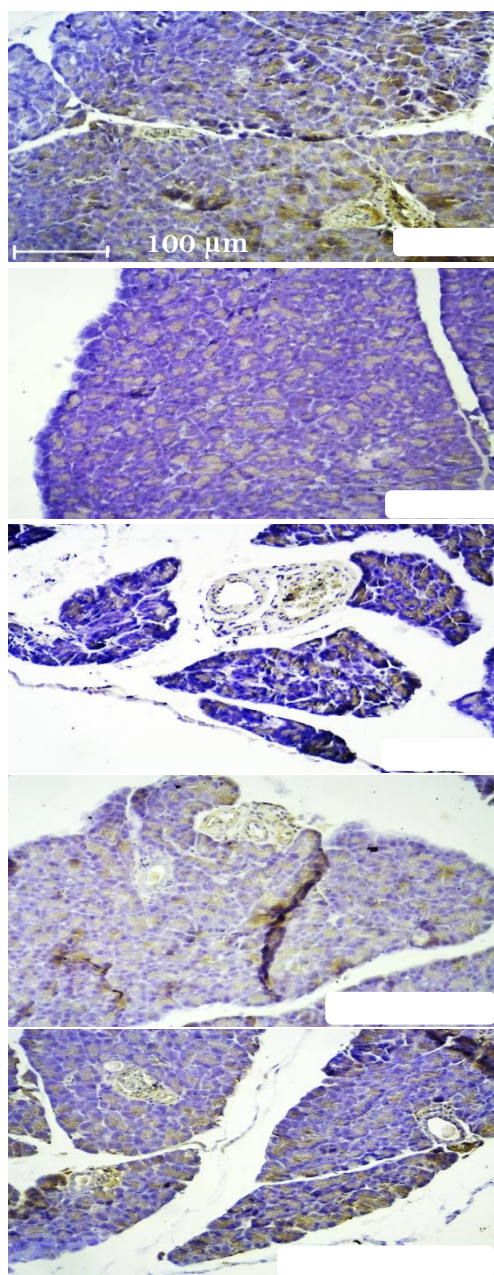
بحث

نتایج این پژوهش نشان داد، تمرینات ایتروال متوسط شدت (MIIT) به همراه مکمل آلفالیپونیک اسید لیپوزومال، سبب کاهش گلوکز و افزایش VEGFR3 بافت پانکراس به عنوان یکی از نشانگرهای لطف آنژیوژنز و تا حدودی افزایش انسولین سرمی در Rat‌های مبتلا به دیابت شد.

روی ۲۴ مرد سالم با تزریق دکستروز برای ایجاد هیپرگلیسمی انجام دادند، نشان دادند که هیپرگلیسمی منجر به کاهش غلظت پلاسمایی VEGF می‌شود و این طور بیان کردند که یکی از آثار VEGF، افزایش جابه‌جایی Glucose transporter 1 (GLUT1) به سطح سلول در سد خونی- مغزی است و VEGF نقش مهمی در رساندن اکسیژن به مغز دارد؛ در نتیجه، کاهش VEGF در حین هیپرگلیسمی، برای جلوگیری از بارگیری بیش از حد سلول‌های مغزی از گلوکز است (۲۱).

لطف آنژیوژنز در التهاب جزایر پانکراس و دیابت، لازم و یک پدیده‌ی شایع است. گیرنده‌ی VEGFR3 به طور خاص در لطف آنژیوژنز نقش دارد و بلاک این گیرنده، باعث مهار رشد لئفاوی در جزایر پانکراس و تخلیه‌ی گره‌های لئفاوی در طی دیابت ناشی از دز کم استرپتوزوتوسین، می‌شود که منجر به نفوذ سلول T کمتر از جزایر و پیش‌گیری از شروع دیابت می‌شود (۲۰). پس از القای استرپتوزوتوسین و افزایش گلوکز خون، FTY720 که به عنوان مهار کننده‌ی VEGFR3 شناخته شده است، افزایش می‌یابد تا از افزایش قند خون جلوگیری کند. ALK1، عضو گیرنده‌های خانواده‌ی عامل رشد می‌باشد که در لطف آنژیوژنز بیان می‌شود. بلاک سیگنالینگ ALK1، منجر به نقص در توسعه‌ی عروق لئفاوی می‌شود (۲۲).

از سوی دیگر، نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین اینتروال متوسط شدت VO_{2max} حدود ۶۵-۷۰ درصد، سبب کاهش معنی‌داری گلوکز سرمی، افزایش معنی‌دار VEGFR3 بافت پانکراس و افزایش غیر معنی‌دار انسولین Rat می‌تلا به دیابت شده است. یافته‌های مطالعه‌ی ولی‌زاده و همکاران، با بررسی اثر ۱۰ هفته تمرین استقامتی با شدت VO_{2max} معادل ۷۵ درصد بر بیان ژن‌های VEGF و VEGFR2 بافت قلب Rat نژاد Wistar مبتلا به دیابت، مشاهده کردند که تمرین استقامتی منجر به افزایش بیان پروتئین VEGF می‌شود، اما تغییری در بیان پروتئین VEGFR2 ندارد (۱۲). Little و همکاران، نشان دادند که HIIT (High-intensity interval training) با حجم کم، می‌تواند سرعت کنترل گلوکز را بهبود بخشد و سازگاری را در عضله‌ی اسکلتی ایجاد کند که با بهبود سلامت متابولیک در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ ارتباط دارد (۱۱). Madsen و همکاران، ۸ هفته تمرین HIIT با حجم کم بر روی دوچرخه‌ی ارگومتر بر عملکرد سلول β پانکراس و حساسیت به انسولین را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بررسی کردند. نتایج نشان داد تمرین اینتروال باعث بهبود عملکرد سلول β پانکراس و حساسیت به انسولین گردید (۴). Karstoft و همکاران، نشان دادند که ۴ ماه پیاده‌روی اینتروال با شدت بیش از ۷۰ درصد VO_{2max} در مقایسه با پیاده‌روی آهسته‌ی تداومی با ۴۰ درصد VO_{2max} به طور قابل توجهی عملکرد سلول β پانکراس را در بزرگسالان مبتلا به دیابت نوع ۲ بهبود بخشید (۱۰).



شکل ۲. تصاویر ایمونوهیستوشیمی بیان پروتئین VEGFR3

پژوهش با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ میکرومتر (رنگ بنفش مربوط به هماتوکسیلین و هسته‌های سلول و توده‌های قهوه‌ای، رنگ آمیزی VEGFR3 می‌باشد).

القای دیابت با استرپتوزوتوسین، باعث افزایش گلوکز و کاهش انسولین سرمی و VEGFR3 بافت پانکراس Rat مبتلا به دیابت نر نژاد Wistar گردید. مطالعات قبلی نیز حاکی از افزایش سطوح سرمی VEGF، VEGFR3 و ایتروکین-۶ در بیماران مبتلا به دیابت نسبت به افراد سالم بود (۲۰-۱۹، ۱۲). Oltmanns و همکاران، با مطالعه‌ای که بر

کننده‌ی اصلی متابولیسم انرژی سلولی است و باعث افزایش جذب گلوکز و اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش چربی بدن می‌شود. کاهش فعالیت AMPK، ممکن است نقش مهمی در پیدایش اختلال عملکرد اندوتلیال در موش‌های چاق داشته باشد (۲۷-۲۶، ۲۳). فعالیت AMPK در سلول‌های اندوتلیال، تنظیم کننده‌ی مهمی برای عملکرد اندوتلیال است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند ALA، سبب تعدیل فعالیت‌های AMPK در سلول‌های اندوتلیال و بهبود اختلال عروقی در موش‌ها شد (۲۴).

اتساع عروقی وابسته به اندوتلیوم در موش‌های چاق مختل می‌شود که این اختلال با افزایش تجمع چربی و آپوپتوز و کاهش سنتز Nitric oxide (NO) و کاهش فعالیت‌های AMPK در سلول‌های اندوتلیال همراه است. همه‌ی این تغییرات در سلول‌های اندوتلیال و اختلال عملکرد عروقی به طور قابل توجهی با درمان ALA بهبود یافت (۲۶).

در افراد مبتلا به دیابت، هاپر گلیسمی با مهار Endothelial NOS (eNOS) و افزایش استرس اکسیداتیو باعث اختلال در تولید NO در سلول‌های اندوتلیال و عضله‌ی صاف عروق می‌شود که سبب تولید ROS (Robot operating system) می‌شود که منجر به مهار آنژیوژنز می‌شود (۲۸) و به احتمال زیاد، تمرین ورزشی با کاهش مقاومت به انسولین و گلوکز، افزایش فسفوریلاسیون AKT و بیان پروتئین eNOS که از مسیرهای سیگنالی مهم مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیالی هستند، سبب افزایش بیان ژن گیرنده‌های VEGF و رگ‌زایی می‌شود (۲۹، ۱۲). مشاهده شده است که با تحریک الکتریکی سلول‌های عضلانی و ایجاد کردن شرایط مشابه ورزش، تنظیم سیگنال‌هایی خارج سلولی از جمله کیناز ۱/۲ و ۵ کینازهای انتهایی آمین c-Jun، c-Jun N-terminal kinase (JNK) و Activation transcription factor (ATF) که تحت تأثیر ورزش هستند، همانند انتقال گلوکز، فعال شدند. هنگامی که سلول‌های عضلانی اولیه با تحریک الکتریکی تحت درمان قرار گرفتند، محتوای VEGF که بر رگ‌زایی تأثیر می‌گذارد، به طور قابل توجهی افزایش یافت که این افزایش فوری نبود و در طی ۲۴ ساعت پس از آن، اتفاق افتاد (۳۰). مطالعات قبلی نشان می‌دهد، ترشح عامل آنژیوژنیک تحت تأثیر ورزش و مکمل آلفا لیپوتیک قرار دارد (۳۰-۲۹، ۲۶، ۱۲).

نتیجه گیری

طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، مشخص گردید تمرین اینتروال متوسط شدت بر گلوکز و VEGFR3 بافت پانکراس Rat‌های مبتلا به دیابت نر نژاد Wistar تأثیر معنی‌داری دارد. مصرف مکمل آلفا لیپوتیک اسید، تنها بر VEGFR3 بافت پانکراس تأثیر

رهر و نیعی نشان دادند ۱۲ هفته تمرین هوازی اثرات مطلوبی بر وزن، HbA1c، انسولین، کلسترول، High-density lipoprotein (HDL) و Low-density lipoprotein (LDL) داشته است. بررسی عملکرد اندوتلیال نیز نشان داد، تمرینات هوازی نسبت به تمرینات مقاومتی تأثیر مفیدتری دارد (۲۰). مطالعات قبلی، همچنین نشان داده است که Rat‌های مبتلا به دیابت، پاسخ آنژیوژنیک کمتری نسبت به Rat‌های سالم دارند و گروه مبتلا به دیابت، افزایش قابل توجهی در بیان مهار کننده‌ی آنژیوژن Thrombospondin-1 (TSP-1) دارند. علاوه بر این، تحریک VEGF-A در اثر ورزش در مویرگ‌ها نسبت به فیبرهای عضلانی بیشتر می‌باشد (۲۲).

عوامل محیطی متعددی در پیش‌گیری و درمان بیماری دیابت نقش دارند که شیوه‌ی تغذیه‌ی بیماران یکی از آن‌ها می‌باشد. نتایج پژوهش نشان داد مصرف مکمل آلفا لیپوتیک اسید لیپوزومال بر گلوکز و انسولین سرمی بی‌اثر و بر VEGFR3 بافت پانکراس Rat‌های مبتلا به دیابت افزایش معنی‌داری دارد. آلفالیپوتیک اسید (ALA)، اسید چربی است که با ایجاد باند سولفیدی، خاصیت اکسیداسیون و احیا را دارد و یک اسید ضروری برای رشد سلول، اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و سایر سوخت‌ها و تنظیم تعادل ردوکس میتوکندری می‌باشد. آلفالیپوتیک اسید، به عنوان عامل مشترک پنجم کمپلکس آنزیمی پیرووات دهیدروژناز در سیکل کربس، نقش مهمی در تولید انرژی در بدن دارد (۲۳).

ALA، با احیا کردن و برگرداندن ویتامین‌های E و C در چرخه و به دنبال افزایش سطح گلوکوتاتیون سلولی و در نهایت، زدودن رادیکال‌های آزاد از یک طرف در تثبیت شبکه‌ی آنتی‌اکسیدانی نقش دارد و از طرف دیگر، سبب افزایش فعالیت سایر آنتی‌اکسیدان‌ها می‌گردد و کاهش سطح لیپوتیک اسید در افراد مبتلا به دیابت، با مکمل‌دهی جبران شده و موجب کاهش سطح گلوکز، کاهش گلیکوزیلاسیون پروتئین و HbA1c گردیده است (۲۴). همچنین، نتایج پژوهش نشان داد، اثر تعاملی تمرینات اینتروال متوسط شدت و مصرف مکمل آلفا لیپوتیک اسید لیپوزومال، سبب کاهش معنی‌دار گلوکز سرمی و افزایش معنی‌دار انسولین سرمی و VEGFR3 بافت پانکراس Rat‌های مبتلا به دیابت گردید. بر طبق مطالعات انجام شده، آلفا لیپوتیک اسید، یک عامل پر قدرت برای کاهش قند خون به حساب می‌آید (۲۵).

در واقع، وقتی ورزش و مصرف مکمل به صورت هم‌زمان انجام شد، تأثیرات بسیار مطلوبی بر هر سه شاخص مورد بررسی گذاشته شد. مکانیسم احتمالی اثرات رگ‌زایی ALA، ممکن است به دلیل بهبود عملکرد عروقی و فعال کردن AMP-activated protein kinase (AMPK) در سلول‌های اندوتلیال باشد. AMPK، تنظیم

اسید ایپوزومال بر لنتف آنژیوژنز بافت پانکراس بوده است. با این حال، مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از تمام کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد. این پژوهش، حاصل بخشی از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد با کد ۱۸۶۲۹۲۱۶۱۷۹۹۱۸۵۱۳۹۸۱۷۱۴۷۶ می‌باشد که توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد علی‌آباد کتول (IR.IAU.AK.REC.1399.019) تصویب شده است و هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان وجود ندارد.

معنی‌داری دارد؛ اما اثر تعاملی تمرین اینتروال و مصرف مکمل آلفا لیپوئیک اسید، بر هر سه شاخص گلوکز، انسولین سرمی و VEGFR3 بافت پانکراس Rat‌های مبتلا به دیابت نر نژاد Wistar تأثیر معنی‌دار و مطلوبی دارد. در واقع، با ورزش اینتروال، متوسط شدت به همراه مکمل آلفا لیپوئیک اسید، رگ‌زایی لنتفی که مؤلفه‌ی مهمی در ترشح انسولین می‌باشد، افزایش یافته و اثر نهایی مطلوب آن، یعنی کاهش گلوکز سرمی را به همراه داشته است. هنوز مطالعات کمی بر روی اثرات تمرین اینتروال متوسط شدت بر آنژیوژنز عروقی انجام شده است و این پژوهش، جزء اولین مطالعات بررسی اثرات تعاملی ورزش اینتروال و مکمل آلفا لیپوئیک

References

1. Yang X, Lin Y, Xu GD, Chen YS, Zhou Y, Sun J, et al. Optimal cut-off values of visceral fat area for predicting metabolic syndrome among type 2 diabetes patients in Ningbo, China. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2021; 14: 1375-83.
2. Scallan JP, Hill MA, Davis MJ. Lymphatic vascular integrity is disrupted in type 2 diabetes due to impaired nitric oxide signalling. *Cardiovasc Res* 2015; 107(1): 89-97.
3. Jiang X, Tian W, Nicolls MR, Rockson SG. The lymphatic system in obesity, insulin resistance, and cardiovascular diseases. *Front Physiol* 2019; 10: 1402.
4. Norden PR, Kume T. The role of lymphatic vascular function in metabolic disorders. *Front Physiol* 2020; 11: 404.
5. Yin N, Zhang N, Lal G, Xu J, Yan M, Ding Y, et al. Lymphangiogenesis is required for pancreatic islet inflammation and diabetes. *PLoS One* 2011; 6(11): e28023.
6. Brissova M, Shostak A, Shiota M, Wiebe PO, Poffenberger G, Kantz J, et al. Pancreatic islet production of vascular endothelial growth factor--a is essential for islet vascularization, revascularization, and function. *Diabetes* 2006; 55(11): 2974-85.
7. Shaik F, Cuthbert GA, Homer-Vanniasinkam S, Muench SP, Ponnambalam S, Harrison MA. Structural basis for vascular endothelial growth factor receptor activation and implications for disease therapy. *Biomolecules* 2020; 10(12): 1673.
8. Kajijiya K, Detmar M. An important role of lymphatic vessels in the control of UVB-induced edema formation and inflammation. *J Invest Dermatol* 2006; 126(4): 919-21.
9. Madsen SM, Thorup AC, Overgaard K, Jeppesen PB. High intensity interval training improves glycaemic control and pancreatic beta cell function of type 2 diabetes patients. *PLoS One* 2015; 10(8): e0133286.
10. Karstoft K, Winding K, Knudsen SH, James NG, Scheel MM, Olesen J, et al. Mechanisms behind the superior effects of interval vs continuous training on glycaemic control in individuals with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia* 2014; 57(10): 2081-93.
11. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *J Appl Physiol* (1985) 2011; 111(6): 1554-60.
12. Vali Zadeh S, Motamedi P, Karami H, Rajabi H. The effects of endurance training on gene expression of VEGF and VEGFR2 of cardiac tissue in type 2 diabetic male wistar. *J Arak Uni Med Sci* 2018; 21(6): 107-18. [In Persian].
13. Elbadawy AM, Abd Elmoniem RO, Elsayed AM. Alpha lipoic acid and diabetes mellitus: potential effects on peripheral neuropathy and different metabolic parameters. *Alexandria J Med* 2021; 57(1): 113-20.
14. Thirunavukkarasu V, Anitha Nandhini AT, Anuradha CV. Lipoic acid improves glucose utilisation and prevents protein glycation and AGE formation. *Pharmazie* 2005; 60(10): 772-5.
15. Amri J, Parastesh M, Sadegh M, Latifi SA, Alae M. High-intensity interval training improved fasting blood glucose and lipid profiles in type 2 diabetic rats more than endurance training; possible involvement of irisin and betatrophin. *Physiol Int* 2019; 106(3): 213-24.
16. Dworacka M, Chukanova G, Iskakova S, Kurmambayev Y, Wesolowska A, Frycz BA, et al. New arguments for beneficial effects of alpha-lipoic acid on the cardiovascular system in the course of type 2 diabetes. *Eur J Pharm Sci* 2018; 117: 41-7.
17. Songstad NT, Kaspersen KH, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143095.
18. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; 21(3): 751-6.
19. Konner AC, Bruning JC. Toll-like receptors: Linking inflammation to metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22(1): 16-23.

20. Rahbar S, Naimi SS. The effect of combined aerobic and resistance exercise on biochemical factors in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Res Rehabil Sci* 2018; 14(4): 230-8. [In Persian].
21. Oltmanns KM, Melchert UH, Scholand-Engler HG, Schultes B, Schweiger U, Peters A. Divergent effects of hyper- and hypoglycemia on circulating vascular endothelial growth factor in humans. *Metabolism* 2008; 57(1): 90-4.
22. Niessen K, Zhang G, Ridgway JB, Chen H, Yan M. ALK1 signaling regulates early postnatal lymphatic vessel development. *Blood* 2010; 115(8): 1654-61.
23. Solmonson A, DeBerardinis RJ. Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation. *J Biol Chem* 2018; 293(20): 7522-30.
24. Lee SG, Lee CG, Yun IH, Hur DY, Yang JW, Kim HW. Effect of lipoic acid on expression of angiogenic factors in diabetic rat retina. *Clin Exp Ophthalmol* 2012; 40(1): e47-e57.
25. Yaworsky K, Somwar R, Ramlal T, Tritschler HJ, Klip A. Engagement of the insulin-sensitive pathway in the stimulation of glucose transport by alpha-lipoic acid in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia* 2000; 43(3): 294-303.
26. Lee WJ, Song KH, Koh EH, Won JC, Kim HS, Park HS, et al. Alpha-lipoic acid increases insulin sensitivity by activating AMPK in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 332(3): 885-91.
27. Juszczak F, Caron N, Mathew AV, Decleves AE. Critical role for AMPK in metabolic disease-induced chronic kidney disease. *Int J Mol Sci* 2020; 21(21).
28. Ceriello A, Quagliaro L, D'Amico M, Di FC, Marfella R, Nappo F, et al. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat. *Diabetes* 2002; 51(4): 1076-82.
29. Dokun AO, Chen L, Lanjewar SS, Lye RJ, Annex BH. Glycaemic control improves perfusion recovery and VEGFR2 protein expression in diabetic mice following experimental PAD. *Cardiovasc Res* 2014; 101(3): 364-72.
30. Kwak SE, Lee JH, Zhang D, Song W. Angiogenesis: focusing on the effects of exercise in aging and cancer. *J Exerc Nutrition Biochem* 2018; 22(3): 21-6.

The Effect of Moderate-Intensity Interval Training (MIIT) and Liposomal Lipoic Acid on Lymphangiogenesis, Glucose, and Serum Insulin in Diabetic Rats

Minoo Dadban-Shahamat¹, Seyed-Ramin Hashemian-Esfahani², Asra Askari³

Original Article

Abstract

Background: Lymphangiogenesis plays an important role in islet inflammation and insulin regulation. In this study, the effect of interval training and liposomal alpha lipoic acid supplementation on serum glucose, blood insulin, and vascular endothelial growth factor receptor-3 (VEGFR3) was examined in diabetic rat.

Methods: 25 male Wistar rats with an average age of 3 weeks, and weighing 159 ± 3 g were divided in seven groups ($n = 5$) of control (healthy), diabetes + saline, diabetes + supplement, diabetes + exercise + saline, and diabetes + supplement + exercise. To induce diabetes, streptozotocin (65 mg/kg) was injected subcutaneously, and then nicotine amid (120 mg/kg) was injected. Alpha lipoic acid was administered orally (20 mg/kg/day) for 6 weeks. The training program included intermediate interval training, including 6 weeks of training, 5 session per week, consisted of 13 periods of 4 minutes with an intensity of 70-65 percent VO_{2max} running on a treadmill. Active rest between intervals was in the form of 2-minute runs with an intensity of 5-10 m/minute. After killing rats and sampling, pancreatic tissue was sent to the laboratory to examination the expression of VEGFR3 protein by immunohistochemistry, glucose by calorimetric method, and insulin by enzyme-linked immunoassay (ELISA)-calorimetric method. Data were analyzed using one-way ANOVA in SPSS software at a significant level of $P < 0.050$.

Findings: 6 weeks of interval training and interval training with liposomal alpha lipoic acid had a significant effect on VEGFR3 pancreatic tissue, glucose, and serum insulin in diabetic rats. 6 weeks of liposomal alpha lipoic acid supplementation had a significant effect on VEGFR3 and serum insulin in diabetic rats.

Conclusion: Intense interval training and liposomal alpha lipoic acid supplementation increased lymphangiogenesis and decreased blood glucose and favorable changes in diabetic rats.

Keywords: Diabetes mellitus; Lipoic acid; Exercise; Vascular endothelial growth factor receptor-3; Blood glucose

Citation: Dadban-Shahamat M, Hashemian-Esfahani SR, Askari A. **The Effect of Moderate-Intensity Interval Training (MIIT) and Liposomal Lipoic Acid on Lymphangiogenesis, Glucose, and Serum Insulin in Diabetic Rats.** J Isfahan Med Sch 2021; 39(630): 456-63.

1- Assistant Professor, Department of Physical Education, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

2- Department of Physical Education, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

3- Assistant Professor, Department of Physical Education, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

Corresponding Author: Minoo Dadban-Shahamat, Assistant Professor, Department of Physical Education, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran; Email: m_dadban@yahoo.com