Journal of Arak University of Medical Sciences
Volume 26, Issue 2
June & July 2023

Research Article

The Effect of an Incremental Exercise Training Period on the Protein Expression of MMP-2 and MEF2C in Cardiac Muscle Tissue of Diabetic Wistar Rats

Nastaran Haghighi Naghani [1], Mohammad Fathi [2,*], Mohammad Reza Tabandeh [3]

[1] Master's Student in Sports Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran
[2] Associate Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran
[3] Associate Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

*** Corresponding author:** Mohammad Fathi, Associate Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: fathi.m@lu.ac.ir

DOI: 10.61186/jams.26.2.45

How to Cite this Article:
Haghighi Naghani N, Fathi M, Tabandeh MR. The Effect of an Incremental Exercise Training Period on the Protein Expression of MMP-2 and MEF2C in Cardiac Muscle Tissue of Diabetic Wistar Rats. *J Arak Uni Med Sci*. 2023;**26**(2):45-62. DOI: 10.61186/jams.26.2.6

Received: 29 Nov 2023
Accepted: 14 Jan 2024
Keywords:
Diabetic Cardiomyopathies
Exercise Training
MMP-2
MEF2C
© 2023 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Diabetes is a chronic and progressive metabolic disorder that causes heart tissue damage and changes in its protein levels. The purpose of this study was to investigate the effect of an incremental training period on MMP-2 and MEF2C protein in cardiac muscle tissue of diabetic Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats (age 10 weeks and average weight 245 ± 9.5 grams) were randomly divided into 4 groups of 10: diabetes-control (DC), diabetes-exercise (DT), healthy-exercise (HT) and healthy-control (HC). Intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg) was used to cause diabetes. The training protocol was implemented for 6 weeks. 24 hours after the last training session, heart tissue was extracted. Western blot method was used to evaluate MMP-2 and MEF2C protein expression. Data analysis was done using one-way analysis of variance test.

Results: The results showed that diabetes causes a significant increase in MMP-2 protein expression levels and a significant decrease in MEF2C in the DC group compared to the HC group ($P<0.05$). although a period of increased training leads to a significant decrease in MMP-2 protein expression levels and a significant increase in MEF2C in the DT group compared to the DC group ($P<0.05$).

Conclusions: The findings of this research show that increasing aerobic exercise moderates the effects caused by diabetes in the expression of these two proteins, which seems to be a protective effect against cardiomyopathy changes caused by diabetes.

Copyright © *2023 The Author(s); Published by Journal of Arak University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.*

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک
دوره ۲۶، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۲

مقاله پژوهشی

تأثیر یک دوره تمرین فزآینده بر پروتئین MMP-2 و MEF2C بافت عضله قلبی موش‌های ویستار دیابتی

نسترن حقیقی ناغانی [۱]، محمد فتحی [۲*]، محمدرضا تابنده [۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
[۲] دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
[۳] دانشیار گروه علوم‌پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
[*] **نویسنده مسئول:** محمد فتحی، دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران. ایمیل: fathi.m@lu.ac.ir

DOI: 10.61186/jams.26.2.45

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴
واژگان کلیدی:
کاردیومایوپاتی دیابت
تمرین ورزشی
MMP-2
MEF2C

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.

چکیده

مقدمه: بیماری دیابت یک اختلال متابولیک مزمن و پیشرونده است که موجب آسیب بافت قلب و تغییر در میزان پروتیئن آن می‌شود. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین فزآینده بر پروتئین MMP-2 و MEF2C در بافت عضله قلبی موش‌های ویستار دیابتی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (سن ۱۰ هفته و میانگین وزن ۹/۵±۲۴۵ گرم) به‌صورت تصادفی در ۴ گروه ۱۰ تایی دیابت-کنترل (DC)، دیابت-ورزش (DT)، سالم-ورزش (HT) و سالم-کنترل (HC)) تقسیم شدند. برای ایجاد دیابت، از روش تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین (45 mg/kg) استفاده شد. پروتکل تمرینی به مدت ۶ هفته اجرا شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بافت قلب استخراج شد. برای ارزیابی بیان پروتئین MMP-2 و MEF2C از روش وسترن بلات استفاده شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که دیابت موجب افزایش معنی‌دار سطوح بیان پروتئین MMP-2 و کاهش معنی‌دار MEF2C گروه DC در مقایسه با گروه HC می‌شود (P<۰/۰۵). اما دیگر یک دوره تمرین فزآینده منجر به کاهش معناداری سطوح بیان پروتئین MMP-2 و افزایش معنی‌دار MEF2C گروه DT در مقایسه با گروه DC می‌شود (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که تمرین هوازی فزآینده تاثیرات ایجاد شده در اثر دیابت در بیان این دو پروتئین را به طور مطلوب تعدیل می‌کند که به نظر می‌رسد یک اثر محافظتی در برابر تغییرات کاردیومایوپاتی ناشی از دیابت است.

مقدمه

شیوع گسترده بیماری دیابت در سال‌های اخیر، این بیماری را به یک نگرانی عمده بهداشت عمومی تبدیل کرده است (۱). پیش‌بینی می‌شود تعداد مبتلایان تا سال ۲۰۳۰ به ۵۵۲ میلیون نفر افزایش یابد (۲). بیماران دیابتی بسیار مستعد ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی هستند (۳). بر اساس یافته‌های پژوهشی، دیابت تنها اختلال در قند خون نیست، بلکه عوارض مزمنی مانند هایپرگلیسمی، هیپوگلیسمی، رتینوپاتی، نوروپاتی، نفروپاتی، بیماری عروق محیطی و بیماری قلبی-عروقی را به همراه دارد (۴). بیماری‌های قلبی-عروقی شایع‌ترین علت مرگ و میر در افراد مبتلا به دیابت است. کاردیومیوپاتی دیابتی از جمله عوارض ناشی از دیابت است. این عارضه را بیماری ویژهٔ عضلهٔ قلب می دانند (۵-۸) که موجب مرگ و میر در بیماران دیابتی می‌شود (۹). کاردیومیوپاتی دیابتی از طریق مجموعه‌ای از ناهنجاری‌های ساختاری و عملکردی در قلب بیماران دیابتی از جمله اختلال در انقباض سیستولیک و دیاستولیک، هایپرتروفی کاردیومیوسیت، آپوپتوز و فیبروز قلبی مشخص می‌شود (۱۰). در بررسی روی افراد مبتلا به دیابت مشخص شده که قلب این افراد بر اثر کاردیومیوپاتی دیابتی منجر به نارسایی قلبی می‌شود و در بافت قلبی آنها نکروز و آپوپتوز افزایش می‌یابد (۱۱).

MMPs خانواده‌ای از اندوپپتیدازهای وابسته به روی هستند که بیش از ۲۰ عضو دارند و می‌توانند انواع مختلفی از ترکیبات ماتریکس خارج سلولی را تخریب کنند و نقش بسیار مهمی در تنظیم چسبندگی، تکثیر و تمایز سلول‌های اندوتلیال و تشکیل مویرگ‌های جدید دارند (۱۲). زمانی که MMPs به داخل جریان خون می‌ریزند موجب ترشح فاکتورهای رشدی و سایتوکاین‌های درگیر در فرآیند آنژیوژنز و فعال‌سازی آنها می‌شوند (۱۳). در این میان،MMP-2 به دلیل توانایی کاهش کلاژن نوع IV و لامینین (اجزای اصلی پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی) بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۴). به‌طوری که کاهش فعالیت آنزیمی آن با تجمع کلاژن نوع IV در گلومرول

Copyright © 2023 The Author(s); Published by Journal of Arak University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

موش‌های دیابتی نشان داده شده است (۱۵). کاهش فعالیت MMP-2 در مدل‌های حیوانی مبتلا به دیابت گزارش شده است (۱۶)، در حالی که افزایش بیان آن در عروق و یا غلظت کمتر آن در پلاسمای افراد مبتلا به دیابت در مقایسه با شرایط طبیعی مشاهده شده است (۱۷). MMP-2 در روند بیماریزایی طیف وسیعی از اختلالات قلبی و به عنوان یک واسطه مستقیم در تغییر ساختار بطن و اختلالات سیستولی دخالت دارد (۱۸). در برخی پژوهش‌ها، کاهش بیان و یا فعالیت MMP-2 در بافت قلبی موش‌های دیابتی مشاهده شده است (۱۹). در صورتی که در پژوهش هی وون لی و همکاران (۲۰۱۹) افزایش بیان قلبی دو ایزوفرم MMP-2 در قلب رت‌های دیابتی مشاهده شد (۲۰). علاوه بر این گزارش شده است که MMP-2 با افزایش محتوای کلاژن خارج سلولی زمینه‌ساز پاتوژنز کاردیومایوپاتی دیابتی است (۲۰).

آنژیوژنز یا رگ‌زایی به‌صورت جوانه‌زدن و یا در پاسخ به تقسیم سلولی از رگ‌های قبلی به وجود می‌آید و در واکنش به محرک‌هایی نظیر نیروهای همودینامیک و فاکتورهای سوخت و سازی فعالیت خود را از سر می‌گیرد (۲۱). عوامل مرتبط با رگزایی با متصل شدن به گیرنده‌های سلولی خود، باعث فعال‌شدن این سلول‌ها شده و به این ترتیب با شروع فعالیت سلول‌های اندوتلیال انواع خاصی از متالوپروتئینازها از سلول‌های فوق ترشح می‌شود و غشای پایه را در ناحیه موردنظر تجزیه می‌کنند، با هضم غشای پایه، سلول‌های اندوتلیال شروع به تکثیر می‌کنند (۲۲). برخی تحقیقات نشان داده‌اند که MEF2C در زمان گسترش عروق، رگ‌زایی را تحریک می‌کند (۲۳) و به‌همراه چندین فاکتور تنظیمی مایوژنیک در رشد و بیان ژن ویژه عضله درگیر است. همچنین MEF2C در رگزایی و هایپرتروفی بافت قلب نقش مهمی دارد و به‌عنوان یک مرکز تلفیقی برای دیگر مسیرهای سیگنالینگ تنظیم‌شده به‌وسیله کلسیم عمل می‌کند (۲۴).

از جمله اولویت‌های بهداشت جهانی برای پیشگیری و یا درمان بسیاری از بیماری‌ها نظیر بیماری‌های قلبی-عروقی و دیابت، شرکت در فعالیت‌های بدنی منظم است (۲۵). مشخص شده فعالیت بدنی احتمال مرگ و میر بر اثر بیماری‌های قلبی-عروقی را ۳۵ درصد کاهش داده و در نتیجه امید به زندگی را در افراد افزایش خواهد داد (۲۶). در اثر فعالیت‌های بدنی و ورزشی منظم، عملکرد و ساختار بافت قلب از طریق مسیرهای متعدد در سلول‌های آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد که به تغییر بیان ژن‌های متفاوتی از جمله تغییرات در بیان ژن عوامل مرتبط با نئوآنژیوژنز و تراکم مویرگی در بافت قلب منتج می‌شود (۲۱). دیابت با کاهش قطر مویرگ‌ها، موجب کاهش نسبت مویرگ‌ها به تارها، کاهش ظرفیت انتشار مویرگی و همچنین اختلال در تنظیم همودینامیک رگ‌ها می‌شود (۲۷) و با تأثیر بر فاکتورهای پروآنژیوژنیک و آنتی آنژیوژنیک نیز باعث تغییر موازنه بین عوامل تحریک‌کننده و مهارکننده ی آنژیوژنز شده و درنتیجه با تغییر آنژیوژنز، احتمال ایجاد بیماری‌های قلبی و عروقی افزایش پیدا می‌کند (۲۸). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تمرین ورزشی، عملکرد اندوتلیال را بهبود بخشیده و کاهش دانسیته عروق ریز (میکرو واسکولار) را خنثی می‌کند (۲۹). درمجموع افزایش رشد مویرگی در اثر تمرینات ورزشی در افراد دیابتی و سالم گزارش شده است (۳۰). اگرچه تمرینات ورزشی و دیابت منجر به تغییراتی در قلب می‌شود، با این حال اثر تمرینات ورزشی بر بیان ژن‌های MMP-2 و MEF2C به طور کامل در بیماری دیابت شناخته نشده است.

پژوهش‌ها در زمینه اثرات تمرین ورزشی بر بیان ژن‌های MMP-2 و MEF2C در شرایط دیابت بسیار محدود و نتایج آنها تا حدودی متناقض است. برای مثال خواجه‌لندی و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که شش هفته تمرین استقامتی بیان ژن MEF2C را به طور قابل‌توجهی افزایش داد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تمرین استقامتی با شدت متوسط می‌تواند نقش مهمی در بهبود اختلالات عملکرد قلبی-عروقی در بیماری دیابت داشته باشد (۳۱). بنابراین ساز و کارهای سلولی و مولکولی اثرات تمرین ورزشی بر رگزایی در بافت قلبی در بیماری دیابت به‌طور کامل شناسایی نشده است و نیز با توجه به نتایج ضد و نقیض پژوهش‌ها در این زمینه، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین فزآینده بر بیان پروتئین MMP-2 و MEF2C در بافت عضله قلبی موش‌های ویستار دیابتی شده با STZ بود.

روش کار

در این پژوهش تجربی تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفت. جهت سازگاری با محیط، موش‌ها به مدت یک هفته در شرایط استاندارد حیوان خانه در اتاقی در محل نگهداری بخش علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، در گروه‌های چهارتایی در محیطی با میانگین دمای ۲± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژۀ موش‌ها که از شرکت خوراک دام پارس تهیه شده بود دسترسی آزاد داشتند. در تمام مراحل پژوهش، موش‌ها توسط یک نفر جابه‌جا شدند. شیوه کار با حیوانات بر اساس کلیه اصول اخلاقی تائید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه لرستان با کد اخلاق LU.ECRA.2022.70 و دستورالعمل‌های سازمان بین‌المللی مطالعه درد (IASP) انجام گرفت. در طول مرحله آشناسازی، به منظور خوگیری با شرایط آزمایشگاه، نوارگردان و دست‌کاری، حیوانات به مدت ۵ روز در هفته و هر روز، ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰-۵ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. این حیوانات در ادامه به‌طور تصادفی در ۴ گروه تقسیم شدند که عبارتند از:

گروه دیابت-کنترل (DC): این گروه شامل ۱۰ سر موش صحرایی نر بود که از طریق تزریق درون صفاقی STZ دیابتی شده و در هیچ‌گونه برنامه تمرینی شرکت نکردند.

گروه دیابت-ورزش ((DT: این گروه شامل ۱۰ سر موش صحرایی نر بود که از طریق تزریق درون صفاقی STZ دیابتی شده و به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه در برنامه تمرینی شرکت کردند.

گروه سالم-ورزش ((HT: این گروه شامل ۱۰ سر موش صحرایی نر سالم بود که فقط در پروتکل تمرینی شرکت کردند.

گروه سالم-کنترل ((HC: این گروه شامل ۱۰ سر موش صحرایی نر بود که در پروتکل تمرینی شرکت نکردند.

دیابت بر اساس فرآیند زیر القاء شد. پس از اتمام پروتکل آشناسازی و پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، دو گروه دیابتی با تزریق درون صفاقی محلول STZ (Sigma, St. Louis, MO, 50mg/Kg) حل شده در بافر سیترات تازه (pH=۴/۰،۵/۵ mol/L) دیابت القاء شد (۳۲-۳۴). به موش‌های غیردیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات

تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و نوار توسط دستگاه گلوکومتر (مدل EasyGluco، شرکت اینفوپیا کره جنوبی) اندازه‌گیری و موش‌هایی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰ mg/dL بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته می‌شدند. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون، در پایان هر هفته از برنامه تمرینی نیز قند خون موش‌ها اندازه‌گیری می‌شد (۳۴). به مدت دو هفته پس از تزریق STZ، بدون هیچ‌گونه مداخله‌ای، موش‌ها در آزمایشگاه نگهداری شدند.

پروتکل تمرین استقامتی

پروتکل تمرین استقامتی در پژوهش حاضر بر اساس مطالعه رحمتی و همکاران (۲۰۱۵) بود. بدین‌صورت که گروه‌های تمرینی، به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه در معرض تمرین نوارگردان قرار گرفتند. هر جلسه تمرینی با ۳ دقیقه گرم‌کردن شروع می‌شد و با ۳ دقیقه سردکردن به پایان می‌رسید. سرعت و مدت تمرین به تدریج افزایش می‌یافت. جهت رسیدن سازگاری‌های به دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی (شدت، سرعت و زمان) در هفته پایانی ثابت نگه داشته شد (جدول ۱). در طول تمرین از یک برس نرم، بدون شوک الکتریکی برای تحریک حیوانات و دستیابی به حداکثر تلاش استفاده شد (۳۴).

در پایان پروتکل تمرینی و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها توسط تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (75mg/kg) و زایلازین (5mg/kg) بیهوش شده و پس از جدا کردن سر حیوان توسط گیوتین و تحت شرایط استریل، بافت قلب جدا شد.

جدول ۱. برنامه تمرینی

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
مدت تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸

ارزیابی پروتئین‌های

ارزیابی پروتئین‌های MMP-2 و MEF2C با استفاده از روش وسترن بلات انجام شد. به این صورت که نمونه‌های بافت قلب ابتدا در لایزیس بافر هموژن شد (لایزیس بافر شامل: Tris-Hcl (۰/۳ گرم، ۵۰ میلی‌مول در لیتر)، تریتون X-100 (۰/۰۲ گرم، ۰/۱٪)، کلسیم دی اکسید سدیم (۰/۰۵ گرم، ۰/۲۵٪)، NaCl (۰/۴۳ گرم، ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر)، SDS (۰/۰۲ گرم ۰/۱٪)، اسید اتیلن دی آمین تراستیک (EDTA، ۵/۸۴ گرم) که در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و در pH= ۷/۴ مخلوط شده و هموژن شد (۱۶۰۰۰rpm و به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه‌سانتی‌گراد). برای هر ۱۰ میلی‌لیتر (۱۰X) از یک قرص مهارکننده پروتئاز استفاده شد. غلظت سوپرنیتان به‌دست‌آمده توسط کیت بردفورد مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل SDS-PAGE (۱۰٪) بارگذاری می‌شدند (ابتدا در ولتاژ ۶۰ به مدت ۱۵ دقیقه و سپس در ولتاژ ۱۰۰ به مدت یک ساعت نگهداری شد)، سپس پروتئین‌ها طی فرآیند انتقال به‌مدت ۱۰۵ دقیقه روی کاغذ نیتروسلولوز انتقال داده دشد و در ادامه با آنتی‌بادی‌های اولیه مورد آزمایش قرار گرفتند (رقت ۱: ۲۰۰۰ در PBS). از محلول ۵ درصد اسکیم میلک برای مسدود کردن غشا استفاده شد (یک شب) و از آنتی‌بادی ثانویه نیز برای مدت یک ساعت جهت اتصال به آنتی‌بادی اولیه استفاده شد. باندهای پروتئین در دستگاه Bio-Rad Gel Doc با استفاده از کیت ECL ظاهر شد. سپس نوارهای پروتئینی با استفاده از نرم‌افزار Image J در مرحله آخر روش وسترن بلات مورد بررسی قرار گرفت.

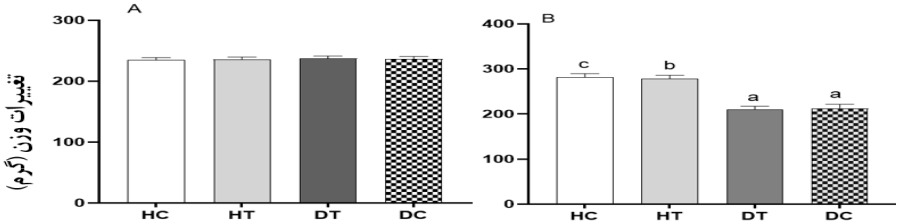
روش آماری

از آزمون‌های شاپیروویلک و لوین به‌ترتیب برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها استفاده شد. همچنین برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و برای تعیین وجود اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمامی تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) انجام شد.

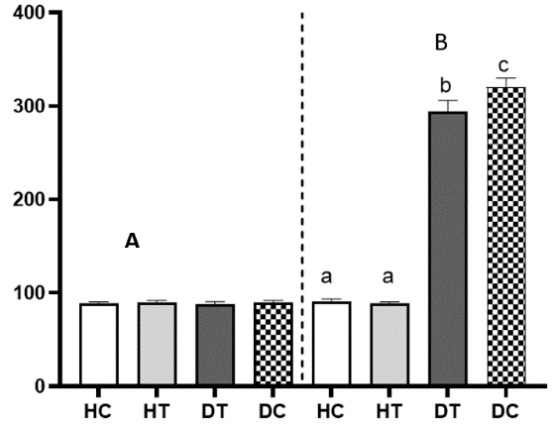
یافته‌ها

وزن اولیه گروه‌های پژوهشی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P= ۰/۹۶۹). با این حال در پایان پژوهش، میانگین وزن گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌های سالم به طور معنی‌داری (P=۰/۰۰۰۱) کاهش داشت شکل ۱.

قند خون اولیه گروه‌ها اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند (۰/۳۷۲ =P). در پایان پژوهش، میانگین تغییرات قندخون موش‌های گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌های سالم به طور معنی‌داری (P= ۰/۰۰۰۱) افزایش داشت شکل ۲.

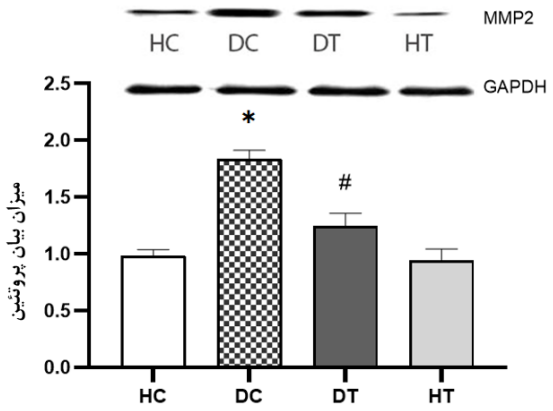


شکل ۱. میانگین تغییرات وزن بدن گروه‌های مختلف. A: پیش از شروع دوره تمرین و B: پس از پایان دوره تمرین. حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار در بین گروه‌ها است (P<۰/۰۵). دیابت-کنترل (DC)، دیابت-ورزش (DT)، سالم-ورزش (HT) و سالم-کنترل (HC). a تفاوت معنی دار با گروه HT و HC. b تفاوت معنی دار با گروه‌های HC، DT و DC. C تفاوت معنی‌دار با گروه DT،HT و DC.



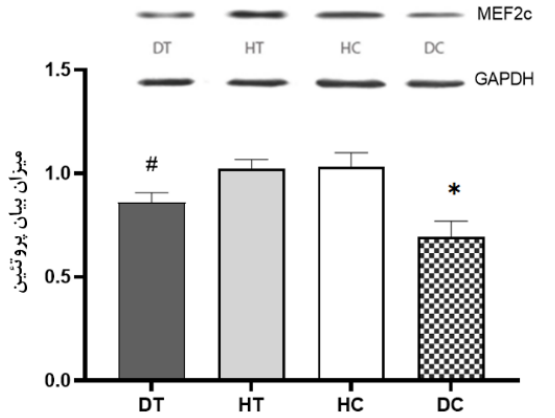
شکل ۲. میانگین تغییرات قند خون گروه‌های مختلف. A پیش از شروع دوره تمرین. B پس از پایان دوره تمرین. حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار در بین گروه‌ها است (P<۰/۰۵). دیابت-کنترل (DC)، دیابت-ورزش (DT)، سالم-ورزش (HT) و سالم-کنترل (HC). a تفاوت معنی دار با گروه DT و DC. b تفاوت معنی دار با گروه‌های HC، HT و DC. c تفاوت معنی‌دار با گروه DT،HT و HC.

نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌راهه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین پروتئین MMP-2 (F= ۷۹/۳۵۱ و P= ۰/۰۰۱) در گروه‌های پژوهش در پس‌آزمون بود. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان پروتئین MMP-2 گروه DC نسبت به گروه‌های DT (P= ۰/۰۰۱)، HT (P= ۰/۰۰۱) و HC (P= ۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین میزان پروتئین MMP-2 گروه DT نسبت به گروه‌های HT (P= ۰/۰۰۱) و HC (P= ۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری بیشتر بود شکل ۳.



شکل ۳. میزان پروتئین MMP-2 در گروه‌های پژوهش (سالم-کنترل (HC)، دیابت-کنترل (DC)، دیابت-ورزش (DT) و سالم-ورزش (HT)). * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه‌های DT، HC و HT (P<۰/۰۵). # نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه‌های HC و HT (P<۰/۰۵).

نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌راهه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین پروتئین MEF2C (F= ۱۹۵/۷۲۹ و P= ۰/۰۰۱) در گروه‌های پژوهش در پس‌آزمون بود. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان پروتئین MEF2C گروه DC نسبت به گروه‌های DT (P= ۰/۰۱۱)، HT (P= ۰/۰۰۱) و HC (P= ۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری کمتر بود. همچنین میزان پروتئین MEF2C گروه DT نسبت به گروه‌های HT (P= ۰/۰۲۱) و HC (P= ۰/۰۲) به طور معنی‌داری کمتر بود شکل ۴.



شکل ۴. میزان پروتئین MEF2C در گروه‌های پژوهش (دیابت-کنترل (DC)، دیابت-ورزش ((DT، سالم-ورزش ((HT و سالم-کنترل ((HC). * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه‌های DT، HC و HT (P<۰/۰۵). # نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه‌های HC و HT (P<۰/۰۵).

بحث

در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر یک دوره تمرین فزآینده بر پروتئین MMP-2 و MEF2C در بافت عضله قلبی موش‌های دیابتی پرداخته شد. نتایج بررسی وزن موش‌ها نشان داد که میانگین وزن بدن موش‌های گروه‌های دیابت-کنترل و دیابت –ورزش نسبت به دیگر گروه‌ها کاهش معنی‌داری داشت، اگرچه در گروه دیابت-ورزش نسبت به گروه دیابت-کنترل، افزایش وزن بدن موش‌ها مشاهده شد ولی این مقدار معنی‌دار نبود. همچنین میانگین تغییرات قندخون موش‌های گروه دیابت-کنترل نسبت به سایر گروه‌ها افزایش چشم‌گیری داشت. با این حال در گروه دیابت-ورزش کاهش معنی‌داری در میزان قندخون موش‌ها نسبت به گروه دیابت-کنترل ایجاد شد که نشان از اثرات مثبت تمرین ورزشی در این رابطه دارد. یکی از نتایج قابل‌توجه تمرینات ورزشی که آثار مفید فعالیت بدنی برای بیماران دیابتی را تأیید می‌کند، بهبود وضعیت قند خون ناشتا است. تمرینات ورزشی، باعث افزایش برداشت گلوکز در بافت عضلانی می‌شود که این تغییرات وابسته به تغییرات عملکردی در سیگنال‌های انسولینی و مرتبط با افزایش بیان پروتئین GLUT-4 است (۳۵). همچنین تمرینات ورزشی موجب افزایش حساسیت به انسولین در سلول‌های حساس به انسولین مانند تارهای عضلانی می‌شود که این ساز و کارها در نهایت باعث افزایش برداشت گلوکز از خون می‌شود (۳۶). علاوه بر این، پیشنهاد شده است که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند با کاهش تغییرات اپی‌ژنتیک ناشی از GLUT4، پروتئین PGC1α و تنظیم‌کننده‌های پایین‌دست، جذب گلوکز را بهبود بخشد. با این حال، سازوکار آن به‌طور دقیق کشف نشده است (۳۷).

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سطوح پروتئین MMP-2 در اثر بیماری دیابت افزایش می‌یابد و یک دوره تمرین فزاینده منجر به کاهش پروتئین می‌شود. این نتایج بیانگر تأثیر حمایتی تمرینات فزاینده

به‌واسطه کاهش احتمالی فیبروز شدن قلب در شرایط دیابت و سرکوب عوارض احتمالی ناشی از آن از طریق تعدیل میزان MMP-2 است. همراستا با پژوهش حاضر، اکبری و همکاران (۱۳۹۸) در بررسی مقایسه اثر هشت هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید بر پروتئین TIMP-2 و MMP-2 در میوکارد موش‌های صحرایی دیابتی نشان دادند که پروتئین MMP-2 در گروه تمرین تناوبی شدید کاهش معناداری یافت (۳۲). اکبری و همکاران (۱۳۹۸) در پژوهشی نشان دادند که اجرای هشت هفته HIIT با تأثیر بر کاهش بیان ژن MMP-2 و افزایش مقدار ژن TIMP-2 در میوکارد موش‌های صحرایی دیابتی، بدتنظیمی ژنی را تعدیل کرده و احتمالاً می‌تواند کاردیومایوپاتی دیابتی را بهبود بخشد (۳۲). با این حالان. پی. ای. کادوگلو و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تأثیر تمرین استقامتی منظم بر hsCRP، فیبرینوژن، MMPs و TIMPs، در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان دادند که هیچ تغییر قابل‌توجهی در میزان MMP-2 و TIMP-1 در طول مطالعه در هر دو گروه مشاهده نشد (۳۳). علاوه بر این، حبیبیان و امانیان (۱۳۹۶) در پژوهشی نشان دادند که پس از القای دیابت، فعالیت MMP-2 در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی افزایش چشم‌گیری می‌یابد درحالی که اجرای هشت هفته تمرین شنا منجر به کاهش معنی دار آن می‌شود (۳۸). همچنین سمیعی و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی نشان دادند که القای دیابت باعث افزایش معنی‌دار سطوح قلبی MMP-9 و کاهش معنی‌دار TIMP-1 نسبت به گروه سالم می‌شود. از سوی دیگر اجرای هشت هفته تمرین هوازی به طور قابل توجهی باعث کاهش سطوح MMP-9 و افزایش سطوح TIMP-1 در بافت قلب می‌شود (۳۹). نتایج پژوهش حاضر همچنین با پژوهش‌های ان پی ای کادوگلو و همکاران (۲۰۱۳) (۴۰)، کیم جی اس و همکاران (۲۰۱۴) (۴۱) و شی-کیانگ ونگ و همکاران (۲۰۱۹) (۴۲) همراستا است. از سوی دیگر حبیبیان و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهش نشان دادند که القای دیابت منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت MMP-2 در بافت کلیوی می‌شود و اجرای تمرین منظم شنا به مدت هشت هفته منجر به افزایش آن می‌شود (۴۳). علاوه بر این خسروی و حبیبیان (۱۳۹۴) در بررسی اثر هشت هفته شنای منظم بر سطوح قلبی MMP-2 و TGF-β1 در موش‌های دیابتی نشان دادند که القاء دیابت منجر به افزایش معنی‌دار سطوح TGF-β1 و کاهش فعالیت MMP-2 قلبی در مقایسه با گروه کنترل شد. از سوی دیگر اجرای هشت هفته تمرین منظم شنا سطوح TGF-β1 را به‌طور معنی‌داری کاهش داد و فعالیت MMP-2 را در موش‌های دیابتی-تمرین به سطوح طبیعی نزدیک کرد (۴۴). همچنین موریلو استیوز نوگویرا و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی اثرات رژیم غذایی پرپروتئین و تمرین مقاومتی بر بیومارکرهای قلبی نشان دادند که ترکیب رژیم غذایی پرپروتئین و تمرین مقاومتی باعث افزایش میزان فعالیت MMP-2 می‌شود (۴۵). این یافته‌ها با پژوهش حاضر همراستا نیست، که از دلایل احتمالی این تفاوت‌ها می‌توان به تفاوت در روش‌شناسی پژوهش‌های موردنظر مانند نوع، مدت و شدت تمرین، نوع بافت موردنظر و نوع آزمودنی‌ها اشاره کرد. نشان داده شده است که MMP-2 توسط محرک‌های هایپرگلیسمی در مدل قلب دیابتی القاء می‌شود (۲۰). همانطور که در مطالعه لووت و همکاران (۲۰۱۲) (۴۶) یک مدل آسیب قلبی گزارش شد، دو ایزوفرم MMP-2 (FL-MMP-2 و NTT-MMP-2) با ساختارهای درون سلولی متمایز در کاردیومایوسیت‌ها مرتبط هستند (۲۰). ویژگی‌های بافت‌شناختی شناخته شده کاردیومیوپاتی ایجادشده در دیابت نوع ۱ عبارتند از هایپرتروفی کاردیومایوسیت، رسوب کلاژن بینابینی و فیبروز بطن چپ (۴۷). علاوه بر این، در کاردیومایوپاتی دیابتی اولیه، اختلال عملکرد میتوکندریایی از نظر تولید انرژی و افزایش استرس اکسیداتیو وجود دارد. همچنین از نظر ساختاری کاهش ضخامت دیواره بطن چپ، افزایش قطر و حجم بطن چپ، کاهش کسر تزریقی، برون‌ده قلبی و اختلال عملکرد سیستولیک و دیاستولیک رخ می‌دهد (۴۸). مقاومت به انسولین و هایپرانسولینمی که در افراد مبتلا به سندرم متابولیک پیش‌دیابتی رخ می‌دهد، فاکتورهای پاتوفیزیولوژیک اصلی در کاردیومیوپاتی دیابتی نوع ۲ هستند (۴۹). این عوامل مسئول رسوب کلاژن، فیبروز بطن چپ و اختلال عملکرد دیاستولیک غالب در کاردیومایوپاتی دیابتی نوع ۲ هستند، در حالی که اختلال عملکرد سیستولیک بدون فیبروز غالب در قلب دیابتی نوع ۱ مشاهده می‌شود (۵۰). داده‌های اکوکاردیوگرافی و بافت‌شناسی نشان می‌دهد که اختلال عملکرد سیستولیک قابل‌توجه و افزایش قطر بطن چپ قبل از تغییرات فیبروتیک وجود دارد. این نتایج با نتایج مطالعات قبلی در مورد دیابت نوع ۱ مطابقت دارد. پاتولوژی‌های درون‌سلولی به‌ویژه اختلالات میتوکندریایی ممکن است علت افزایش قطر بطن چپ و اختلال عملکرد سیستولیک قلب قبل از ایجاد آپوپتوز و فیبروز باشد. نتایج نشان می‌دهد که MMP-2، به‌ویژه ایزوفرم‌های درون‌سلولی MMP-2، ممکن است در تغییرات عملکردی اولیه که در کاردیومایوپاتی دیابتی نوع ۱ اولیه دیده می‌شود، دخیل باشند (۲۰). شواهد تجربی نشان می دهد که MMP-2 در آسیب I/R و نارسایی احتقانی قلب فعال می شود و مهارکننده‌های دارویی فعالیت MMP یا آنتی‌بادی خنثی‌کننده MMP-2 از تغییر وضعیت بطن چپ جلوگیری می‌کنند و به بازیابی عملکرد مکانیکی کمک می‌کنند (۵۱). علاوه بر این، بیان بیش از حد MMP-2 میوکارد در قلب موش باعث ایجاد تغییر وضعیت شدید بطن چپ، اختلال عملکرد سیستولیک، اختلال سارکومر و آسیب میتوکندری حتی در غیاب آسیب خارجی قابل‌توجه می‌شود (۵۲). MMP-2 همچنین می‌تواند به‌صورت درون‌سلولی توسط S-گلوتاتیونیلاسیون یا فسفوریلاسیون یا حتی با اتصال به جایگزین اینترون اول آن توسط استرس اکسیداتیو فعال شود (۴۶).

دیگر یافته پژوهش حاضر افزایش سطوح پروتئین MEF2C در اثر دیابت بود. از سوی دیگر یک دوره تمرین فزاینده منجر به کاهش این پروتئین شد. این یافته نشان می‌دهد که تمرین فزاینده با تعدیل این پروتئین در شرایط دیابت یک اثر محافظتی در برابر کاردیومایوپاتی ناشی از دیابت دارد. پژوهش‌های انجام‌شده در زمینه تأثیر تمرینات ورزشی بر پروتئین MEF2C یافته‌های متفاوتی را گزارش کرده‌اند. خواجه‌لندی و همکاران (۲۰۲۱) در بررسی اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های مرتبط با رگ‌زایی در بافت قلبی موش‌های دیابتی نشان دادند که اجرای شش هفته تمرین استقامتی، بیان ژن MEF2C را به طور قابل‌توجهی افزایش می‌دهد و باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن HDAC4 و CaMKII می‌شود (۳۱). همچنین رضایی و فتحی (۱۳۹۸) در پژوهشی نشان دادند که فعالیت استقامتی شدید موجب افزایش بیان ژن MEF2C در عضلات اسکلتی تند و کند انقباض می شود و این تغییر بیان ژن، احتمالاً زمینه کسب خصوصیات استقامتی

در هر دو عضله را فراهم می‌کند (۵۳). علاوه بر این خواجه‌لندی و همکاران (۱۳۹۹) در پژوهشی نشان دادند که میزان بیان ژن MEF2C در بافت قلبی موش‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد (۵۴). این یافته با پژوهش حاضر همخوانی ندارد. از دلایل این تناقضات می‌توان به تفاوت در روش‌شناسی پژوهش‌های موردنظر مانند نوع بافت هدف و نوع تمرینات مورد استفاده اشاره کرد. از سوی دیگر همراستا با پژوهش حاضر عارفی و همکاران (۱۴۰۱) در بررسی مقایسه اثر شنای میان‌مدت و بلندمدت بر بیان ژن MEF2c بطن چپ موش‌های صحرایی نر نشان دادند که اجرای ده هفته تمرین شنا (میان‌مدت یا بلندمدت) در مقایسه با گروه کنترل، منجر به کاهش بیان ژن MEF2C می‌شود (۵۵).

MEF2C نقش مهمی در توسعه قلبی عروقی ایفا می‌کند و یک فاکتور رونویسی کلیدی برای هایپرتروفی قلبی است. مشاهده شده است که افزودن IGF-1 به کاردیومیوسیت‌های کشت شده، MEF2C را فعال می‌کند. IGF-1 همچنین فسفوریلاسیون p38-MAPK را القا می کند. IGF-1 از طریق سیگنال‌دهی وابسته به MEF2C، رونویسی فاکتور ناتریورتیک دهلیزی (ANP) و a-actin اسکلتی را تحریک می کند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که فعال‌سازی MEF2C توسط IGF-1، اثرات پیش‌پرتروفیک IGF-1 بر بیان ژن قلبی را واسطه می‌کند (۵۶). در پژوهش فنگ و همکاران (۲۰۰۸) نشان داده شد که کاردیومیوسیت‌های در معرض گلوکز، هایپرتروفی سلولی و افزایش بیان mRNA ANP، BNP، و ANG، (نشانگرهای مولکولی هایپرتروفی قلبی) را نشان می‌دهند. همچنین افزایش گلوکز باعث افزایش بیان mRNA و پروتئین در MEF2A و MEF2C می‌شود. به‌طور مشابه، بیان mRNA ژن ANP، BNP و ANG در قلب موش‌های دیابتی در ارتباط با افزایش بیان MEF2A و MEF2C در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل‌توجهی بالاتر بود. این یافته‌ها مکانیسم اپی‌ژنتیک ناشی از گلوکز را نشان می‌دهد که بیان ژن و هایپرتروفی قلب را در دیابت تنظیم می‌کند (۵۷). همچنین نشان داده شده است که موش‌های دیابتی اختلال در انقباض میوکارد و بیان mRNA پپتیدهای ناتریورتیک دهلیزی و مغزی (ANP و BNP)، MEF2A و MEF2C، SGK1 و IGF1R را در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهند. قرار گرفتن در شرایط آزمایشگاهی کاردیومایوسیت‌ها با سطوح بالای گلوکز باعث ایجاد تغییرات هایپرتروفیک و کاهش بیان miRNA133a می شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش گلوکز، بیان ژن و هایپرتروفی قلب را در دیابت تنظیم می‌کند که از طریق miR133a واسطه می شود (۵۸).

نتیجه‌گیری

در مجموع یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سطوح پروتئین MMP-2 و MEF2C قلبی موش‌های صحرایی در اثر بیماری دیابت افزایش چشمگیری دارد و یک دوره تمرین فزاینده منجر به کاهش این پروتئین‌ها می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که تمرین فزاینده در پژوهش حاضر، افزایش پاتولوژیک این پروتئین‌ها در اثر دیابت را تعدیل می‌کند و یک اثر محافظتی در برابر تغییرات کاردیومایوپاتی ناشی از دیابت دارد.

سپاسگزاری

این پژوهش نتیجه پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه لرستان است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان تشکر می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان این پژوهش اعلام می‌کنند که تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Raffort J, Hinault C, Dumortier O, Van Obberghen E. Circulating microRNAs and diabetes: potential applications in medical practice. *Diabetologia*. 2015;**58**(9):1978-1992. **doi:** 10.1007/s00125-015-3680-y **pmid:** 26155747
2. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;**94**(3):311-321. **doi:** 10.1016/j.diabres.2011.10.029 **pmid:** 22079683
3. Cheraghi M. A review of related risk factors in diabetic patients and the chance of involvement in cardiovascular diseases. *Yafteh*. 2021;**23**(1).
4. Kantharidis P, Wang B, Carew RM, Lan HY. Diabetes complications: the microRNA perspective. *Diabetes*. 2011;**60**(7):1832-1837. **doi:** 10.2337/db11-0082 **pmid:** 21709278
5. Atabakhshian R, Raygan F, Kazerouni F. Galectin-3 in fibrosis and heart failure. *Clinic Excellence*. 2014;**2**(2):36-49.
6. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol*. 2020;**76**(25):2982-3021. **doi:** 10.1016/j.jacc.2020.11.010 **pmid:** 33309175
7. Galstyan GR, Gilyarov MY. Heart failure in diabetes: effects of anti-hyperglycemic drug therapy. *Diabet Mellit*. 2016;**19**(3):229-236. **doi:** 10.14341/DM2003451-57
8. Tan Y, Zhang Z, Zheng C, Wintergerst KA, Keller BB, Cai L. Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence. *Nat Rev Cardiol*. 2020;**17**(9):585-607. **doi:** 10.1038/s41569-020-0339-2 **pmid:** 32080423
9. Khanjani H, Esmaelzadeh Toloee M. The effect of six weeks of high-intensity interval training (HIIT) and endurance on blood glucose and Follistatin protein content in the left ventricular tissue of the heart of male rats with type 1 diabetes. *J Sport Biosci*. 2021;**13**(3):351-365.
10. Huynh K, Bernardo BC, McMullen JR, Ritchie RH. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacol Ther*. 2014;**142**(3):375-415. **doi:** 10.1016/j.pharmthera.2014.01.003 **pmid:** 24462787
11. Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy, causes and effects. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010;**11**(1):31-39. **doi:** 10.1007/s11154-010-9131-7 **pmid:** 20180026
12. Rullman E, Norrbom J, Stromberg A, Wagsater D, Rundqvist H, Haas T, et al. Endurance exercise activates matrix metalloproteinases in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2009;**106**(3):804-812. **doi:** 10.1152/japplphysiol.90872.2008 **pmid:** 19131480
13. Suhr F, Brixius K, de Marees M, Bolck B, Kleinoder H, Achtzehn S, et al. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2007;**103**(2):474-483. **doi:** 10.1152/japplphysiol.01160.2006 **pmid:** 17446405
14. Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2003;**14**(5):1358-1373. **doi:** 10.1097/01.asn.0000065640.77499.d7 **pmid:** 12707406
15. McLennan SV, Kelly DJ, Cox AJ, Cao Z, Lyons JG, Yue DK, et al. Decreased matrix degradation in diabetic nephropathy: effects of ACE inhibition on the expression and activities of matrix

metalloproteinases. *Diabetologia*. 2002;**45**(2):268-275. **doi:** 10.1007/s00125-001-0730-4 **pmid:** 11935159
16. Sun SZ, Wang Y, Li Q., Tian YJ, Liu MH, Yu YH. Effects of benazepril on renal function and kidney expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in diabetic rats. *Chinese Med J*. 2006;**119**(10):814-821. **doi:** 10.1097/00029330-200605020-00004
17. Chung AW, Hsiang YN, Matzke LA, McManus BM, van Breemen C, Okon EB. Reduced expression of vascular endothelial growth factor paralleled with the increased angiostatin expression resulting from the upregulated activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human type 2 diabetic arterial vasculature. *Circ Res*. 2006;**99**(2):140-148. **doi:** 10.1161/01.RES.0000232352.90786.fa **pmid:** 16778129
18. Mohamad HE, Askar ME, Hafez MM. Management of cardiac fibrosis in diabetic rats; the role of peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR-gamma) and calcium channel blockers (CCBs). *Diabetol Metab Syndr*. 2011;**3**(1):4. **doi:** 10.1186/1758-5996-3-4 **pmid:** 21450068
19. Taye A, Abouzied MM, Mohafez OM. Tempol ameliorates cardiac fibrosis in streptozotocin-induced diabetic rats: role of oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2013;**386**(12):1071-1080. **doi:** 10.1007/s00210-013-0904-x **pmid:** 23949118
20. Lee HW, Lee SJ, Lee MY, Park MW, Kim SS, Shin N, et al. Enhanced cardiac expression of two isoforms of matrix metalloproteinase-2 in experimental diabetes mellitus. *PLoS One*. 2019;**14**(8):e0221798. **doi:** 10.1371/journal.pone.0221798 **pmid:** 31461499
21. Weeks KL, McMullen JR. The athlete's heart vs. the failing heart: can signaling explain the two distinct outcomes? *Physiology (Bethesda)*. 2011;**26**(2):97-105. **doi:** 10.1152/physiol.00043.2010 **pmid:** 21487028
22. Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, et al. Effect of intermittent hypoxic training on HIF gene expression in human skeletal muscle and leukocytes. *Eur J Appl Physiol*. 2009;**105**(4):515-524. **doi:** 10.1007/s00421-008-0928-y **pmid:** 19018560
23. Maiti D, Xu Z, Duh EJ. Vascular endothelial growth factor induces MEF2C and MEF2-dependent activity in endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;**49**(8):3640-3648. **doi:** 10.1167/iovs.08-1760 **pmid:** 18450586
24. McGee SL. Exercise and MEF2-HDAC interactions. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007;**32**(5):852-856. **doi:** 10.1139/H07-082 **pmid:** 18059609
25. Siddiqui N, Nessa A, Hossain M. Regular physical exercise: way to healthy life. *Mymensingh Med J*. 2010;**19**(1):154-158.
26. Rosano JM, Cheheltani R, Wang B, Vora H, Kiani MF, Crabbe DL. Targeted Delivery of VEGF after a Myocardial Infarction Reduces Collagen Deposition and Improves Cardiac Function. *Cardiovasc Eng Technol*. 2012;**3**(2):237-247. **doi:** 10.1007/s13239-012-0089-3 **pmid:** 22844388
27. Hazarika S, Dokun AO, Li Y, Popel AS, Kontos CD, Annex BH. Impaired angiogenesis after hindlimb ischemia in type 2 diabetes mellitus: differential regulation of vascular endothelial growth factor receptor 1 and soluble vascular endothelial growth factor receptor 1. *Circ Res*. 2007;**101**(9):948-956. **doi:** 10.1161/CIRCRESAHA.107.160630 **pmid:** 17823371
28. Khazaei M, Fallahzadeh AR, Sharifi MR, Afsharmoghaddam N, Javanmard SH, Salehi E. Effects of diabetes on myocardial capillary density and serum angiogenesis biomarkers in male rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;**66**(8):1419-1424. **doi:** 10.1590/s1807-59322011000800019 **pmid:** 21915494
29. Fernandes T, Magalhaes FC, Roque FR, Phillips MI, Oliveira EM. Exercise training prevents the microvascular rarefaction in hypertension balancing angiogenic and apoptotic factors: role of microRNAs-16, -21, and -126. *Hypertension*. 2012;**59**(2):513-520. **doi:** 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.185801 **pmid:** 22215713
30. Mortensen SP, Winding KM, Iepsen UW, Munch GW, Marcussen N, Hellsten Y, et al. The effect of two exercise modalities on skeletal muscle capillary ultrastructure in individuals with type 2 diabetes. *Scand J Med Sci Sports*. 2019;**29**(3):360-368. **doi:** 10.1111/sms.13348 **pmid:** 30480353
31. Khajehlandi M, Bolboli L, Siahkuhian M, Rami M, Tabandeh M, Khoramipour K, et al. Endurance Training Regulates Expression of Some Angiogenesis-Related Genes in Cardiac Tissue of Experimentally Induced Diabetic Rats. *Biomolecules*. 2021;**11**(4). **doi:** 10.3390/biom11040498 **pmid:** 33806202
32. Akbari N, Peeri M, Azarbayjani MA, Delfan M. Comparison of the effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval training on the gene expression of TIMP-2 and MMP-2 in male diabetic rats. *Razi J Med Sci*. 2019;**26**(10):107-116.
33. Kadoglou NP, Vrabas IS, Sailer N, Kapelouzou A, Fotiadis G, Noussios G, et al. Exercise ameliorates serum MMP-9 and TIMP-2 levels in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab*. 2010;**36**(2):144-151. **doi:** 10.1016/j.diabet.2009.11.004 **pmid:** 20149706
34. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla SJ, Khazani A, Fouladvand M. Treadmill training modifies KIF5B motor protein in the STZ-induced diabetic rat spinal cord and sciatic nerve. *Arch Iran Med*. 2015;**18**(2).
35. Goyal A, Gupta Y, Singla R, Kalra S, Tandon N. American Diabetes Association "Standards of Medical Care-2020 for Gestational Diabetes Mellitus": A Critical Appraisal. *Diabetes Ther*. 2020;**11**(8):1639-1644. **doi:** 10.1007/s13300-020-00865-3 **pmid:** 32564336
36. Ghalavand A, Motamedi P, Delaramnasab M, Khodadoust M. The effect of interval training and nettle supplement on glycemic control and blood pressure in men withtype 2 diabetes. *Int J Basic Sci Med*. 2017;**2**(1):33-40. **doi:** 10.15171/ijbsm.2017.08
37. Dos Santos JM, Moreli ML, Tewari S, Benite-Ribeiro SA. The effect of exercise on skeletal muscle glucose uptake in type 2 diabetes: An epigenetic perspective. *Metabolism*. 2015;**64**(12):1619-1628. **doi:** 10.1016/j.metabol.2015.09.013 **pmid:** 26481513
38. Habibian M, Amanian A. The effect of swimming exercise on the Matrix mettaloproteinase 2 activity and tumor necrosis factor-Î±levels of liver tissue in Alloxan-induced diabetic rats. *Daneshvar Med*. 2020;**25**(6):11-18.
39. Samiei A, Behpour N, Tadibi V, Fathi R. Effect of eight weeks of aerobic training on some myocardial fibrosis indices in cardiac muscle of diabetic rats. *Annal Appl Sport Sci*. 2018;**6**(4):1-8. **doi:** 10.29252/aassjournal.6.4.1
40. Kadoglou NP, Moustardas P, Kapelouzou A, Katsimpoulas M, Giagini A, Dede E, et al. The anti-inflammatory effects of exercise training promote atherosclerotic plaque stabilization in apolipoprotein E knockout mice with diabetic atherosclerosis. *Eur J Histochem*. 2013;**57**(1):e3. **doi:** 10.4081/ejh.2013.e3 **pmid:** 23549462
41. Kim JS, Lee YH, Kim JC, Ko YH, Yoon CS, Yi HK. Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Sport*. 2014;**31**(1):73-79. **doi:** 10.5604/20831862.1093775 **pmid:** 25187675
42. Wang SQ, Li D, Yuan Y. Long-term moderate intensity exercise alleviates myocardial fibrosis in type 2 diabetic rats via inhibitions of oxidative stress and TGF-beta1/Smad pathway. *J Physiol Sci*. 2019;**69**(6):861-873. **doi:** 10.1007/s12576-019-00696-3 **pmid:** 31392590
43. Habibian M, Saghafi MR, Farzanegi P. The Effect of Regular Swimming Exercise on the Levels of Renal Matrix Mettaloproteinase-2 and Transforming Growth Factor-β1 in Rats with Diabetes. *J Kerman Univ Med Sci*. 2016;**23**(4):446-456.
44. Habibian M, Khosravi M. The Effect of 8 weeks regular swimming exercise on the cardiac levels of matrix mettaloproteinase-2 and transforming growth factor-B1 in diabetic rats. *Iran J Diabet Metabol*. 2016;**15**(2):67-74.
45. Nogueira ME, Sousa Neto IV, Motta-Santos D, Cantuaria APC, Lima SMF, Rezende TMB, et al. High-protein diet associated with resistance training reduces cardiac TNF-alpha levels and up-regulates MMP-2 activity in rats. *Arch Physiol Biochem*. 2022;**128**(6):1630-1636. **doi:** 10.1080/13813455.2020.1787456 **pmid:** 32686511

46. Lovett DH, Mahimkar R, Raffai RL, Cape L, Maklashina E, Cecchini G, et al. A novel intracellular isoform of matrix metalloproteinase-2 induced by oxidative stress activates innate immunity. *PLoS One*. 2012;**7**(4):e34177. **doi:** 10.1371/journal.pone.0034177 **pmid:** 22509276
47. Falcao-Pires I, Leite-Moreira AF. Diabetic cardiomyopathy: understanding the molecular and cellular basis to progress in diagnosis and treatment. *Heart Fail Rev*. 2012;**17**(3):325-344. **doi:** 10.1007/s10741-011-9257-z **pmid:** 21626163
48. Liu Q, Wang S, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: Role of oxidative stress and damage. *J Diabetes Investig*. 2014;**5**(6):623-634. **doi:** 10.1111/jdi.12250 **pmid:** 25422760
49. Mizushige K, Yao L, Noma T, Kiyomoto H, Yu Y, Hosomi N, et al. Alteration in left ventricular diastolic filling and accumulation of myocardial collagen at insulin-resistant prediabetic stage of a type II diabetic rat model. *Circulation*. 2000;**101**(8):899-907. **doi:** 10.1161/01.cir.101.8.899 **pmid:** 10694530
50. Wold LE, Dutta K, Mason MM, Ren J, Cala SE, Schwanke ML, et al. Impaired SERCA function contributes to cardiomyocyte dysfunction in insulin resistant rats. *J Mol Cell Cardiol*. 2005;**39**(2):297-307. **doi:** 10.1016/j.yjmcc.2005.03.014 **pmid:** 15878173
51. King MK, Coker ML, Goldberg A, McElmurray JH, 3rd, Gunasinghe HR, Mukherjee R, et al. Selective matrix metalloproteinase inhibition with developing heart failure: effects on left ventricular function and structure. *Circ Res*. 2003;**92**(2):177-185. **doi:** 10.1161/01.res.0000052312.41419.55 **pmid:** 12574145
52. Bergman MR, Teerlink JR, Mahimkar R, Li L, Zhu BQ, Nguyen A, et al. Cardiac matrix metalloproteinase-2 expression independently induces marked ventricular remodeling and systolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;**292**(4):H1847-1860. **doi:** 10.1152/ajpheart.00434.2006 **pmid:** 17158653
53. Rezaei R, Fathi M. The Effect of Intensive Endurance Activity on Myocyte Enhancer Factor 2C Gene Expression of Slow and Fast Twitch Muscles in Male Wistar Rats: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci*. 2019;**18**(5):417-426.
54. Khajehlandi M, Bolboli L, Siahkuhian M, Rami M, Tabandeh M. The effect of moderate-intensity endurance training on cortisol levels, mef-2c and mmp-2 gene expression in male rats myocardium: interventional and experimental study. *Stud Med Sci*. 2020;**31**(4):305-315.
55. Arefi J, Hassani A, Ardakani-zadeh M. Comparison of the effect of medium and long-term swimming on the left ventricular MEF2c gene expression in male rats. *J Pract Stud Biosci Sport*. 2022;**10**(22):22-29.
56. Munoz JP, Collao A, Chiong M, Maldonado C, Adasme T, Carrasco L, et al. The transcription factor MEF2C mediates cardiomyocyte hypertrophy induced by IGF-1 signaling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;**388**(1):155-160. **doi:** 10.1016/j.bbrc.2009.07.147 **pmid:** 19654000
57. Feng B, Chen S, Chiu J, George B, Chakrabarti S. Regulation of cardiomyocyte hypertrophy in diabetes at the transcriptional level. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;**294**(6):E1119-1126. **doi:** 10.1152/ajpendo.00029.2008 **pmid:** 18413674
58. Feng B, Chen S, George B, Feng Q, Chakrabarti S. miR133a regulates cardiomyocyte hypertrophy in diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2010;**26**(1):40-49. **doi:** 10.1002/dmrr.1054 **pmid:** 20013939