

Research Paper



The Effect of Atorvastatin and Continuous Aerobic Exercise on the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Beta Gene in the Liver Tissue of Diabetic Rats

Samaneh Ahmedpour<sup>1</sup>, AliReza Barari<sup>1</sup>, Parvin Farzangi<sup>2</sup>

1. Department of Sports Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2. Department of Sports Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Use your device to scan and read the article online



**Citation** Ahmedpour S, Barari A, Farzangi P. [The Effect of Atorvastatin and Continuous Aerobic Exercise on the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Beta Gene in the Liver Tissue of Diabetic Rats (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2023; 22(3):354-365. 10.32592/JSMJ.22.3.354

<https://doi.org/10.32592/JSMJ.22.3.354>

**ABSTRACT**

**Background and Objectives** Contrary to its weak role in angiogenesis, vascular endothelial growth factor beta (VEGF- $\beta$ ) plays a role in lipid metabolism. The aim of this study was to determine the effect of exercise and atorvastatin on the expression of the VEGF- $\beta$  gene in the liver tissue of diabetic rats.

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

**Results** The results showed that the induction of diabetes led to a significant decrease in hepatic VEGF- $\beta$  gene expression and an increase in serum glucose and total cholesterol levels compared to the healthy control group. In the diabetes + exercise and diabetes + atorvastatin + exercise groups, the increase of VEGF- $\beta$  and the decrease of glucose and cholesterol were significant compared to the control, diabetes, and diabetes + atorvastatin groups.

**Conclusion** According to the results, it can be argued that continuous aerobic exercise can prevent diabetes-induced liver complications by increasing the expression of VEGF- $\beta$  gene. However, despite the positive effects of atorvastatin on serum glucose and total cholesterol levels, it does not have any significant effect on hepatic VEGF- $\beta$  gene expression in diabetic rats.

**Keywords** Diabetes, Liver, Exercise training, Atorvastatin, Vascular endothelial growth factor beta

Received: 20 Aug 2023  
Accepted: 23 Aug 2023  
Available Online: 21 Sep 2023

\* Corresponding Author:

AliReza Barari

Address: Department of Sports Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Tel: 09111277793

E-Mail: [alireza54.barari@gmail.com](mailto:alireza54.barari@gmail.com)

### Extended Abstract

#### Introduction

**D**iabetes mellitus is one of the most common metabolic disorders in the world, which predisposes patients to increased blood sugar and the related complications (1). Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) has been reported as a manifestation of metabolic syndrome in the liver in both type 1 and type 2 diabetes (5, 6). Diabetes-induced metabolic disorders are related to the resistance of hepatocytes to insulin (6). The physiological mechanism of NAFLD is very complex. It is generally believed that the pathogenesis of primary NAFLD is related to lipid metabolism and inflammatory reactions, which cannot systematically and comprehensively explain the molecular mechanism and metabolic changes in NAFLD (7). Vascular endothelial growth factor beta (VEGF- $\beta$ ), which is seen as an obscure member of the VEGF family, appears to be a more tissue-specific vascular growth factor that can exert nutritional and metabolic effects (9). In the early 2008, Karpanen et al. unexpectedly found that although VEGF- $\beta$  plays a weak role in the vascular system, it has a significant advantage in regulating lipid metabolism (10). Due to its potential in regulating lipid metabolism, VEGF- $\beta$  is expected to become a new candidate for improving metabolic diseases such as obesity and diabetes (7). Exercise, as a regular physical activity, is an important non-pharmacological intervention that plays a role in the prevention and reduction of complications related to type 2 diabetes and changes diabetic complications to healthier conditions associated with improved quality of life (12). Aerobic activities with clinical benefits, including improved insulin sensitivity, glycemic control, and increased maximal oxygen consumption (VO<sub>2</sub>mx), can prevent diabetes complications (1, 12, 16). One of the benefits of doing exercise is its effects on liver health (8). Statins are one of the main and most effective drugs that have beneficial effects on lipid profile. Atorvastatin is considered the least complicated and most effective statin. It is prescribed, along with other sugar control drugs, to diabetic patients with hypercholesterolemia. The beneficial effect of atorvastatin on some adipokines has already been proven, which seems to be one of the mechanisms of how this drug contributes to blood sugar control (17). According to Yang et al., long-term treatment with atorvastatin or a combination of atorvastatin and nicotinamide may be an alternative treatment in diabetics due to their beneficial effects on improving insulin and cardiovascular function (18). Based on previous studies, exercise training and atorvastatin administration are non-pharmacological and pharmacological interventions for reducing liver complications. However, there is limited research on the effect of these two intervention methods on VEGF- $\beta$  as one of the factors related to liver steatosis in diabetes. Therefore, the aim of the present study was to compare the effect of atorvastatin and exercise on the expression of VEGF- $\beta$  gene in the liver tissue of diabetic rats.

#### Methods

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

#### Results

The results showed that induction of diabetes led to a significant decrease in hepatic VEGF- $\beta$  gene expression and an increase in serum glucose and total cholesterol levels compared to the healthy control group. In diabetes + exercise and diabetes + atorvastatin + exercise groups, the increase in VEGF- $\beta$  and the decrease in glucose and cholesterol levels were significant compared to the control, diabetes, and diabetes + atorvastatin groups.

#### Conclusion

After induction of diabetes, a significant decrease in the expression of the VEGF- $\beta$  gene was observed in the diabetes induction groups compared to the healthy control group. With regard to the effect of the interventions on hepatic VEGF- $\beta$  gene expression, our results showed that continuous aerobic exercise could increase VEGF- $\beta$  gene expression compared to the control diabetes group, but atorvastatin had no significant effect on hepatic VEGF- $\beta$ . Previous research has shown that VEGF- $\beta$  plays a role in lipid and glucose homeostasis (7). It has been reported that body fat, serum lipoprotein, NAFLD score, and insulin resistance increased after VEGF- $\beta$  knockout mice were fed a high-fat diet (22). In our study, in addition to increasing serum glucose and total cholesterol levels, diabetes induction led to a decrease in hepatic VEGF- $\beta$ , which is consistent with the results of Lee et al. (22). Research has shown that VEGF- $\beta$  can reduce lipid accumulation and restore insulin sensitivity in NAFLD (7). Therefore, the decrease in VEGF- $\beta$  caused by diabetes is related to the liver complications of diabetes such as hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. Regarding the effect of exercise on hepatic VEGF- $\beta$  gene expression, our results showed regulation of increased VEGF- $\beta$  gene expression in the continuous training group. Kiola et al. showed that a training session increased the expression of VEGF- $\beta$  in healthy mice, which indicates the effects of angiogenesis on muscle tissue. However, no difference was observed in these angiogenesis factors in diabetic rats (24). Our results showed that in the atorvastatin group, the use of atorvastatin reduced serum glucose and total cholesterol levels, but it had no significant effect on hepatic VEGF- $\beta$  gene expression. Atorvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, is widely used in the treatment of dyslipidemia (19). According to the results of the present research, it can be argued that reduction of

VEGF- $\beta$  in relation to hyperglycemia and hypercholesterolemia is caused by the induction of diabetes, which highlights the role of VEGF- $\beta$  in glucose and lipid metabolism. Our results also show that continuous aerobic training could increase the expression of VEGF- $\beta$  gene in liver tissue and decrease glucose and serum total cholesterol levels in diabetic rats. However, despite the positive effects of reducing glucose and total cholesterol, administration of atorvastatin did not have a significant effect on the hepatic VEGF- $\beta$  of diabetic rats, and the interactive effect of taking atorvastatin along with exercise did not have a significant difference in the hepatic VEGF- $\beta$  of diabetic rats either, compared to exercise only group. However, it caused a greater reduction in glucose and serum total cholesterol levels compared to the intervention groups of exercise and atorvastatin alone.

### Ethical Considerations

#### Compliance with ethical guidelines

IR.IAU.AMOL.REC.1402.066.

#### Funding

This article is not sponsored.

#### Authors contributions

Conceptualization, methodology, data analysis, initial draft preparation, editing and review, project management: Samane Ahmadpour, Alireza Berari;

Data collection, review, conceptualization: Samaneh Ahmadpour, Alireza Brari, Parvin Farzangi.

#### Conflicts of interest

According to the authors, this article has no conflict of interest.

#### Acknowledgements

This article is a part of the master's thesis of the first author registered in Islamic Azad University, Ayatollah Amoli branch.

The authors are grateful to all those who have cooperated in this research.

## مقاله پژوهشی

# اثر داروی اتورواستاتین و تمرین هوازی تداومی بر بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بتا در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی

نمانه احمدپور<sup>۱</sup>، علیرضا براری<sup>۱</sup>، پروین فرزانی<sup>۲</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

Use your device to scan and read the article online



**Citation** Ahmedpour S, Barari A, Farzangi P. [The Effect of Atorvastatin and Continuous Aerobic Exercise on the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Beta Gene in the Liver Tissue of Diabetic Rats (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2023; 22(3):354-365. 10.32592/JSMJ.22.3.354

<https://doi.org/10.32592/JSMJ.22.3.354>

## چکیده



زمینه و هدف: فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بتا (VEGF-β) برخلاف نقش ضعیف در رگ‌زایی در متابولیسم لیپید نقش دارد. هدف تحقیق حاضر تعیین اثر تمرین و مصرف اتورواستاتین بر بیان ژن VEGF-β در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی بود. روش بررسی: در تحقیق حاضر ۲۵ موش صحرایی نر نژاد ویستار در گروه‌های سالم کنترل، دیابت کنترل، دیابت + تمرین، دیابت + اتورواستاتین و دیابت + اتورواستاتین + تمرین تقسیم شدند. مداخلات شامل هشت هفته تمرین هوازی دویدن روی تردمیل و مصرف ۱۰ میلی گرم اتورواستاتین به صورت گاواژ بود. پس از مداخلات موش‌های صحرایی قربانی شدند و بافت کبدی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که القای دیابت منجر به کاهش معنادار بیان ژن VEGF-β کبدی و افزایش گلوکز و کلسترول تام سرمی نسبت به گروه سالم کنترل شد. در گروه‌های دیابت + تمرین و دیابت + اتورواستاتین + تمرین افزایش VEGF-β و کاهش گلوکز و کلسترول نسبت به گروه‌های دیابت کنترل و دیابت + اتورواستاتین معنادار بود.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج می‌توان گفت که تمرین هوازی تداومی می‌تواند با افزایش بیان ژن VEGF-β از عوارض کبدی ناشی از دیابت جلوگیری کند، همچنین مصرف اتورواستاتین با وجود اثرات مثبت بر گلوکز و کلسترول تام سرمی، اثر معناداری بر بیان ژن VEGF-β کبدی در موش‌های صحرایی دیابتی ندارد.

کلیدواژه‌ها: دیابت، کبد، تمرین ورزشی، اتورواستاتین، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بتا

تاریخ دریافت: ۲۹ مرداد ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: ۰۱ شهریور ۱۴۰۲

تاریخ انتشار: ۳۰ شهریور ۱۴۰۲

نویسنده مسئول:

علیرضا براری

نشانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

تلفن: ۰۹۱۱۱۳۷۷۹۳

رایانامه: [alireza54.barari@gmail.com](mailto:alireza54.barari@gmail.com)

# جندی شاپور

## مقدمه

بوده است، زیرا فاکتور رشد جفت (placental growth factor: PIGF) به گیرنده‌های مشابه متصل می‌شود و باعث ایجاد رگ‌زایی و سرخرگ‌زایی در بافت‌های مختلف می‌شود. با این حال، به نظر می‌رسد که VEGF- $\beta$  یک فاکتور رشد عروقی است که بیشتر مختص بافت است و می‌تواند اثرات تغذیه‌ای و متابولیکی داشته‌باشد و اتصال آن به VEGFR-1 تفاوت‌های ظریف اما مهمی را در مقایسه با PIGF نشان می‌دهد [۹]. در اوایل سال ۲۰۰۸، کارپان و همکاران به‌طور غیرمنتظره‌ای دریافتند که VEGF- $\beta$  نقش ضعیفی در سیستم عروقی دارد؛ اما مزیت قابل توجهی در تنظیم متابولیسم لیپید دارد [۱۰]. به‌علت پتانسیل VEGF- $\beta$  در تنظیم متابولیسم لیپید، انتظار می‌رود که VEGF- $\beta$  به هدف جدیدی برای بهبود بیماری‌های متابولیک، مانند چاقی و دیابت تبدیل شود [۷]. همچنین گزارش شده است که نقص در مسیرهای متعدد VEGF- $\beta$  با افزایش علامت مرگ سلولی در مدل‌های دیابت همراه است [۱۱]. با این وجود اثرات بالقوه سودمند VEGF- $\beta$  که از طریق افزایش جریان خون (افزایش در دسترس بودن انسولین و جذب گلوکز در اندام‌های هدف) و کاهش جذب FAS (جلوگیری از سمیت چربی و بهبود سیگنال‌دهی انسولین) و ایمنی آن برای استفاده بالینی به‌دست می‌آید، هنوز مشخص نشده است [۲۱]. که نشان‌دهنده نیاز به تحقیقات بیشتر در این خصوص می‌باشد.

ورزش به‌عنوان یک فعالیت بدنی منظم، یک مداخله غیردارویی مهم است که در پیش‌گیری و کاهش عوارض مرتبط با دیابت نوع ۲ نقش دارد و عوارض دیابتی را به‌سمت وضعیت‌های سالم‌تر برمی‌گرداند و در ارتباط با بهبود کیفیت زندگی می‌باشد [۱۲]. تمرینات هوازی به فعالیت‌هایی گفته می‌شود که سیستم غالب انرژی در این فعالیت‌ها سیستم بی‌انرژی اکسیداتیو است [۱۳]. تمرینات هوازی طولانی مدت منجر به بیان بیشتر GLUT4 و فعالیت بیشتر آنزیم گلیکوکزن سنتاز شده و به مبارزه با مقاومت انسولینی کمک می‌کند [۱۴، ۱۵]. فعالیت‌های هوازی با مزایای بالینی، از جمله بهبود حساسیت به انسولین، کنترل گلیسمی و افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی ( $VO_{2max}$ )، می‌تواند از عوارض دیابت پیشگیری کند [۱، ۱۶، ۱۷]. یکی از منافع تمرینات ورزشی اثرات آن بر سلامت کبد می‌باشد [۸]. همچنین یکی از اصلی‌ترین و مؤثرترین داروهای که اثرات مفیدی بر پروفایل لیپیدی دارند، استاتین‌ها هستند؛ از بین استاتین‌ها، آتورواستاتین یکی از کم‌عارضه‌ترین و مؤثرترین آن‌ها به‌حساب می‌آید. این دارو یک مهارکننده رقابتی انتخابی آنزیم ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلو تاریل کوآنزیم A-ردوکتاز (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) (HMG-CoA reductases) است، اما بر خلاف بقیه استاتین‌ها این ترکیب کاملاً سنتتیک است که در بیماران دیابتی مبتلا به هیپرکلسترولمی همراه با سایر داروهای کنترل‌کننده قند مورد استفاده قرار می‌گیرد. تأثیر مفید آتورواستاتین بر بعضی آدیپوکین‌ها ثابت شده است و به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های تأثیر این دارو در کنترل قند خون باشد [۱۷]. همچنین نتایج تحقیق یانگ و همکاران نشان داد که درمان طولانی‌مدت با آتورواستاتین یا ترکیبی از آتورواستاتین و نیکوتین امید

دیابت شیرین یکی از اختلالات متابولیک شایع در جهان است، که منجر به افزایش قند خون در بیماران و عوارض مربوط به آن می‌شوند [۱]. در سه دهه گذشته، تعداد افراد مبتلا به دیابت در سطح جهان ۴ برابر شده است و دیابت به‌عنوان نهمین عامل مرگ و میر در جهان امروز شناخته می‌شود [۲]. ۸۰ درصد از افراد مبتلا به دیابت در کشورهای در حال توسعه زندگی می‌کنند، اما تنها ۱ درصد از هزینه‌های جهانی مربوط به دیابت در این کشورها انجام می‌شود. در دسترس بودن انسولین، تمرکز درمان دیابت شیرین را از تلاش برای زنده نگه‌داشتن بیماران، به بهبود کیفیت زندگی مبتلایان به این بیماری تغییر داده است [۳].

کبد، بزرگ‌ترین غده گوارشی بدن است که در متابولیسم لیپید، کربوهیدرات و پرتئین نقش دارد [۱]. علاوه بر این، کبد به‌عنوان تنظیم‌کننده اصلی هومئوستاز چربی است که مسئول هماهنگی جذب اسیدهای چرب، سنتز و تجزیه اکسیداتیو، صادرات و توزیع مجدد لیپیدها است. برای حفظ هومئوستاز چربی کبد، این فرآیندها توسط هورمون‌ها، گیرنده‌های هسته‌ای و عوامل رونویسی تحت شرایط فیزیولوژیکی تنظیم می‌شوند. متأسفانه، اگر تعادل متابولیسم لیپید در کبد مختل شود، منجر به تجمع غیرطبیعی لیپید و حتی القای استرس اکسیداتیو می‌شود، که به کبد آسیب می‌رساند و بیشتر باعث بروز و توسعه بیماری چربی کبدی می‌شود [۴]. کبد چرب غیرالکلی (non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD) به عنوان تظاهرات سندرم متابولیک در کبد در هر دو نوع دیابت نوع ۱ و نوع ۲ گزارش شده است [۵، ۶]. اختلالات متابولیکی ناشی از دیابت در ارتباط با مقاومت هپاتوسیت‌ها نسبت به انسولین می‌باشد [۶]. مکانیسم فیزیولوژیکی NAFLD بسیار پیچیده است. به‌طور کلی اعتقاد بر این است که پاتوژنز NAFLD اولیه مربوط به متابولیسم لیپید و واکنش‌های التهابی است، که نمی‌تواند به‌طور سیستماتیک و جامع مکانیسم مولکولی و تغییرات متابولیکی در NAFLD را توضیح دهد [۷]. مقاومت کبدی و محیطی به انسولین موجب افزایش گلوکونوژنز، کاهش سنتز گلیکوژن و افزایش اسید چرب آزاد (free fatty acids: FFA) می‌شود که ارتباط دهنده بین دیابت و عوارض کبدی ناشی از دیابت می‌باشد [۸].

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بتا (vascular endothelial growth factor- $\beta$ : VEGF- $\beta$ )، که به‌عنوان یکی از اعضای مهم خانواده VEGF دیده می‌شود. VEGF- $\beta$  به‌عنوان دو ایزو فرم تولید می‌شود (یکی که به شدت به سولفات هپاران در ماتریکس اطراف سلولی متصل می‌شود و یک فرم محلول که می‌تواند از طریق پردازش پروتئولیتیک اتصال پیدا کند). هر دو شکل VEGF- $\beta$  به گیرنده 1 VEGF (VEGFR-1) و هسته گیرنده نوروپیلین-۱ (neuropilin-1 receptor nucleus: NRP-1) متصل می‌شوند که عمدتاً در سلول‌های اندوتلیال عروق خونی بیان می‌شوند. موش‌های فاقد VEGF- $\beta$  بدون هیچ فنوتیپ آشکار زنده هستند و توانایی VEGF- $\beta$  برای القای رگ‌زایی در اکثر بافت‌ها ضعیف است. این یک معما

موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از القای دیابت، موش‌ها به ۵ گروه شامل سالم کنترل، دیابت کنترل، دیابت+ تمرین، دیابت + تمرین هوازی+آتورواستاتین تقسیم شدند.

دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین (Streptozocin: STZ) ساخت شرکت سیگما با کد نامبر: S0130 و با دوز ۶۰ mg/kg حل شده در یافر سیترات القا گردید. به گروه سالم به‌منظور وارد کردن استرس ناشی از تزریق به همه حیوانات، حجمی معادل با STZ تزریقی در گروه‌های تجربی، محلول نرمال سالین تزریق شد. بعد از تزریق STZ، به‌منظور کاهش مرگ و میر موش‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت به‌جای آب از محلول گلوکز ۵ درصد استفاده شدند. بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق STZ، غلظت گلوکز خون پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با ایجاد جراحی کوچک بوسیله‌ی لانس در ناحیه دم موش و با استفاده از دستگاه گلوکوکارد ۰۱ (ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد. موش‌هایی که قند خون آنها بالاتر از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی‌لیتر بود به‌عنوان حیوانات دیابتی در نظر گرفته شدند [۱۵].

برنامه تمرینی اصلی به‌مدت هشت هفته انجام گرفت و شامل تمرین هوازی تداومی بود. برنامه تمرین هوازی تداومی هفته اول با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه برای مدت زمان پنج دقیقه موش شروع به دویدن روی تردمیل اجرا شد. سپس هر هفته با افزایش سرعت ۱ تا ۲ متر بر دقیقه به مدت ۱ تا ۲ دقیقه بر زمان دویدن افزوده شد. به‌طوری که در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان دویدن به ۱۳ تا ۱۴ دقیقه رسید و در هفته هشتم سرعت دویدن به ۲۸ تا ۲۹ متر بر دقیقه و مدت زمان ۲۱ تا ۲۲ بود. تعداد جلسات تمرین تداومی پنج مرتبه در هر هفته انجام شد (جدول ۱).

#### نحوه مصرف آتورواستاتین

آتورواستاتین ۱۰ میلی گرمی تهیه شده از شرکت داروسازی سبحان دارو به گروه‌های آتورواستاتین و آتورواستاتین+تمرین، به‌صورت گاوژ روزانه با دوز ۱۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن خورنده شد [۲۰، ۲۱].

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی مداخلات و ۱۲ ساعت ناشتایی، نمونه گیری خونی از گروه‌های کنترل و تیمار انجام گرفت. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا حیوان با ترکیبی از داروی کتامین (Ketamine) (۳۰-۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن) و زایلازین (Xylazine) (۳-۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. پس از

ممکن است به‌دلیل اثرات مفید آنها بر بهبود عملکرد انسولین و عملکرد قلب و عروق درمان‌های جایگزین در دیابت باشد [۱۸]. با این حال، گزارش‌های واکنش‌های نامطلوب دارویی از کمیته ایمنی داروها در بریتانیا نشان می‌دهد که چهار مورد مرگ ناشی از بیماری کبد صفراوی (۰/۵ مرگ در سال) در ارتباط با درمان با آتورواستاتین در طی ۸ سال گزارش شده‌است. در حالی که سمیت حاد کبدی با آتورواستاتین شایع نیست، هر گونه ناهنجاری مداوم در عملکرد کبد باید با احتیاط درمان شود [۱۹]. بر همین اساس نیاز به تحقیقات بیشتر در خصوص مکانیسم اثرهای درمان با آتورواستاتین بر عوارض کبدی می‌باشد، که ضرورت تحقیق حاضر را نشان می‌دهد.

بر اساس تحقیقات قبلی تمرینات ورزشی و همچنین مصرف آتورواستاتین به‌عنوان دو مداخله غیردارویی و دارویی در کاهش عوارض کبدی معرفی شده‌اند؛ با این وجود تحقیقات محدودی در خصوص اثر این دو روش مداخله بر VEGF- $\beta$ ، به‌عنوان یکی از عوامل مرتبط با استنوز کبدی در دیابت انجام شده‌است؛ که ضرورت تحقیق حاضر را نشان می‌دهد.

با توجه به مطالب گفته‌شده، هدف تحقیق حاضر مقایسه اثر مصرف آتورواستاتین و تمرینات ورزشی بر بیان ژن VEGF- $\beta$  در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی بود.

#### روش بررسی

در تحقیق تجربی حاضر که همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی‌داری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵٪ (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم‌افزار 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. موش‌های صحرایی نر ۵ هفته‌ای با وزن  $9/41 \pm 147/68$  گرم از نژاد ویستار از انستیتو پاستور خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. حیوانات مورد آزمایش در قفس‌های پلی‌کربنات نگاه‌داری شدند. دمای محیط  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت  $55/6 \pm 4$  درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه

#### جدول ۱. برنامه تمرین هوازی تداومی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
مدت (دقیقه)	۵	۷-۹	۱۰-۱۲	۱۳-۱۴	۱۵-۱۶	۱۷-۱۸	۱۹-۲۰	۲۱-۲۲
سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶-۱۷	۱۸-۱۹	۲۰-۲۱	۲۲-۲۳	۲۴-۲۵	۲۶-۲۷	۲۸-۲۹



## یافته ها

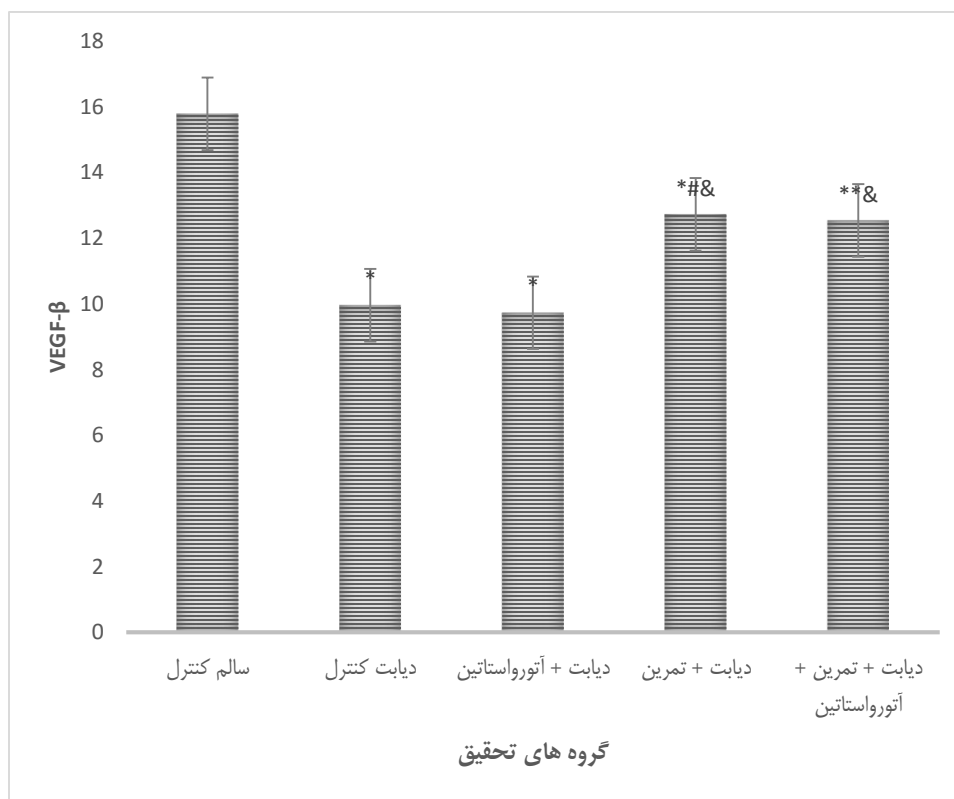
با توجه به نتایج جدول ۲، تفاوت معناداری در بیان ژن VEGF- $\beta$  بافت کبد در گروه‌های تحقیق وجود داشت ( $P < 0.001$ ;  $F = 10.281$ ). به‌منظور یافتن محل اختلاف از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. نتایج آزمون تعقیبی LSD نشان داد که بیان ژن VEGF- $\beta$  در همه گروه‌ها به‌صورت معناداری نسبت به گروه کنترل سالم پایین‌تر بود ( $P < 0.001$ ). همچنین بیان ژن VEGF- $\beta$  بافت کبد در دو گروه دیابت + تمرین و دیابت + تمرین + آتورواستاتین نسبت به گروه‌های دیابت کنترل (به‌ترتیب:  $P = 0.005$ ;  $P = 0.009$ ) و دیابت + آتورواستاتین (به‌ترتیب:  $P = 0.003$ ;  $P = 0.005$ ) به‌صورت معناداری بیشتر بود (نمودار ۱).

بی‌هوشی موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی خون‌گیری و نمونه‌گیری بافت کبد انجام شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن VEGF- $\beta$  از روش RT-PCR استفاده شد و بیان ژن VEGF- $\beta$  بر اساس تغییرات GAPDH محاسبه شد. کمی‌سازی مقادیر بیان ژن هدف از فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  به توان استفاده شد.

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 نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و در سطح معنی‌داری  $P \leq 0.05$  انجام شد.

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی

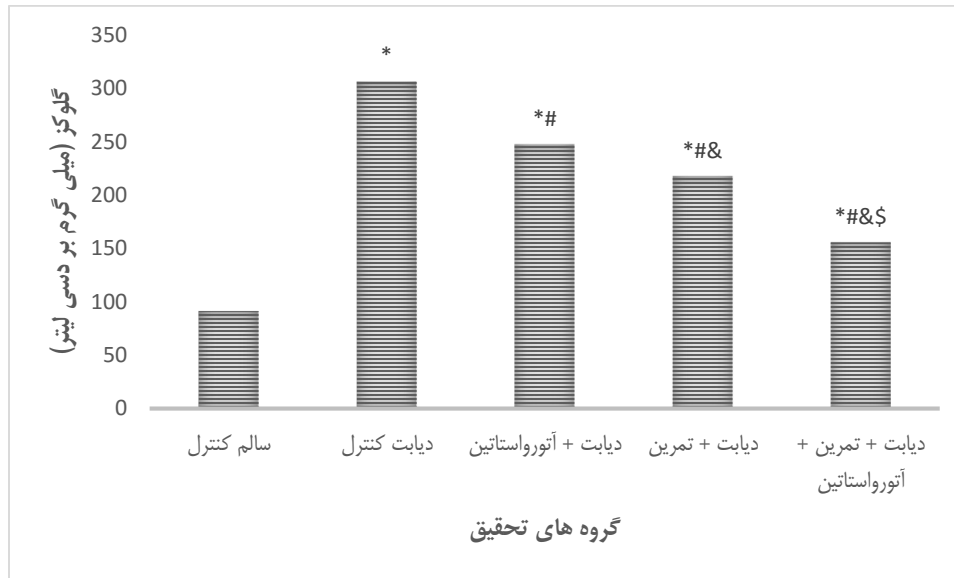
منبع	مجموع میانگین‌ها	دامنه تغییرات	میانگین مربع	F	سطح معنی‌داری
بین گروهی	۱۰۸/۵۹۱	۴	۲۷/۱۴۸	۱۰/۲۸۱	< ۰/۰۰۱
درون گروهی	۵۲/۸۱۱	۲۰	۲/۶۴۱		
کل	۱۶۱/۴۰۱	۲۴			

نمودار ۱. مقایسه میانگین بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی در گروه‌های تحقیق

تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل \*

تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت کنترل #

تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت به‌همراه آتورواستاتین &



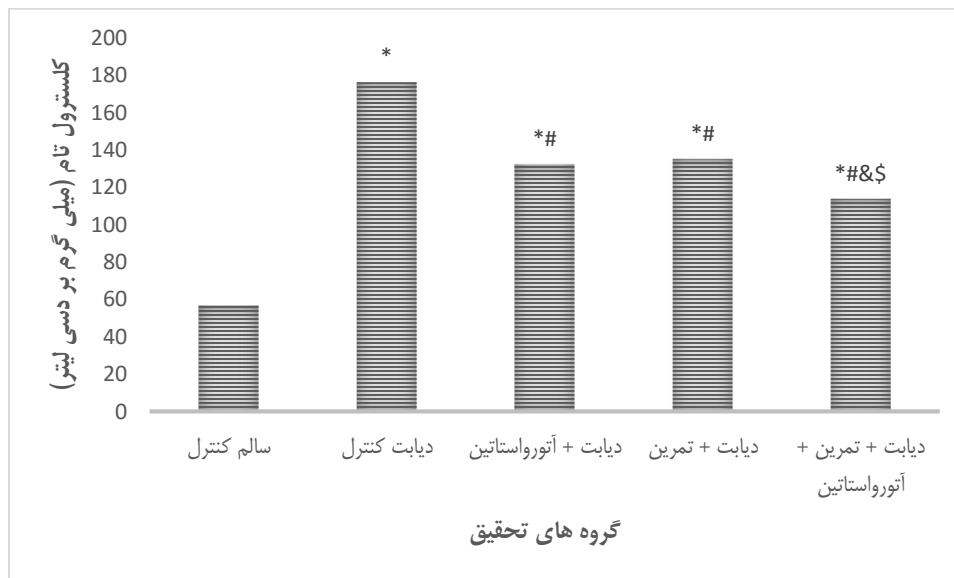
**نمودار ۲.** مقایسه میانگین گلوکز سرمی در گروه‌های تحقیق

تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل \*

تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت کنترل #

تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت به همراه آتورواستاتین &

تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت به همراه تمرین \$



**نمودار ۳.** مقایسه میانگین کلسترول تام سرمی در گروه‌های تحقیق

تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل \*

تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت کنترل #

تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت به همراه آتورواستاتین &

تفاوت معنی دار نسبت به گروه دیابت به همراه تمرین \$

کلسترول تام سرمی در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه سالم کنترل شد ( $P < 0.001$ ). سطح گلوکز در هر دو گروه دیابت + آتورواستاتین و دیابت + تمرین به صورت معناداری نسبت به گروه دیابت کنترل کاهش یافت

در بررسی متغیرهای گلوکز و کلسترول تام سرمی نیز تفاوت معناداری بین گروه‌های تحقیق مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). همچنین آزمون تعقیبی LSD نشان داد که القای دیابت موجب افزایش معناداری در سطح گلوکز و



# جندی شاپور

موش‌های صحرایی دیابتی تفاوتی در این فاکتورهای رگ‌زایی مشاهده نشد [۲۴]. مطالعات پیش بالینی بر روی دو اثر متابولیکی مهم VEGF- $\beta$  (۱) تنظیم جذب FAS و (۲) تنظیم پرفیوژن بافتی از طریق فعال کردن مسیر گیرنده فاکتور رشد اندوتلیال VEGF-A /VEGFR-2) توافق دارند (۲۵). مهلم و همکاران در تحقیقشان گزارش کردند که گیرنده فعال شده با تکثیرکننده پراکسی زوم-هم فعال‌کننده گاما-۱ آلفا (PGC-1 $\alpha$  Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha: PGC-1 $\alpha$ ) ظرفیت تنفسی میتوکندری و جذب اسیدهای چرب را از طریق تنظیم VEGF- $\beta$  هماهنگ می‌کند [۲۶]. PGC-1 $\alpha$  یک تنظیم‌کننده اصلی سازگاری فنوتیپی ناشی از ورزش و استفاده از سوبسترا است. شواهد قابل‌توجهی وجود دارد که محور تنظیمی p38 $\gamma$  MAPK-PGC-1 $\alpha$  برای سازگاری‌های متابولیکی ناشی از ورزش در عضلات اسکلتی حیاتی است و استراتژی‌هایی که PGC-1 $\alpha$  را در محدوده‌های فیزیولوژیکی تنظیم می‌کنند، اثرات حساس‌کننده انسولین آن را آشکار کرده‌اند [۲۷]. حاسه و همکاران در تحقیقشان نشان دادند که PGC-1 $\alpha$  نقش اساسی در تنظیم بیان CytC و COXI در کبد در پاسخ به یک جلسه تمرینی و تمرین طولانی‌مدت دارد، که به این معنی است که بهبودهای ناشی از تمرین در ظرفیت اکسیداتیو کبد ایجاد می‌شود [۲۸]. در پاسخ به ورزش، تقاضای انرژی در عضلات اسکلتی افزایش چشم‌گیری پیدا می‌کند که نیاز به افزایش گردش انرژی دارد. سیگنال‌دهی مولکولی ناشی از ورزش به‌شدت در تنظیم متابولیسم نقش دارد تا نیاز به افزایش تقاضای انرژی و فرآیندهای سلولی تطبیقی را برای آماده شدن برای چالش‌های آینده برآورده کند [۲۹]. فعال‌سازی این مسیرهای سیگنال دهی نه تنها به افزایش جذب گلوکز و اسیدهای چرب و اکسیداسیون به عنوان منبع سوخت برای حفظ ورزش کمک می‌کند، بلکه به فرآیندهای تطبیقی که برای افزایش عملکردهای انقباضی و متابولیک عضلانی در طولانی مدت حیاتی است کمک می‌کند [۲۹]. یکی از سازگاری‌های فعالیت‌های هوازی افزایش حساسیت به انسولین در بافت‌های حساس به انسولین از جمله عضلات اسکلتی، آدیپوسیت‌ها و همچنین کبد می‌باشد [۱۴]. تمرینات ورزشی حتی در صورت عدم کاهش وزن، چربی کبد را کاهش می‌دهد [۳۰]. در مدل‌های *in vivo* و *in vitro*، نشان داده شده‌است که ورزش و مداخله غذایی باعث کاهش تشکیل قطرات چربی، کاهش تری‌گلیسیرید کبدی در کبد ناشی از رژیم غذایی پرچرب می‌شود [۳۱]. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر همسو می‌باشد. زو و همکاران در تحقیقشان گزارش کردند که از نظر مکانیکی، مداخله ورزشی باعث فعال شدن متابولیسم کبدی با واسطه سیگنالینگ SIRT1/AMPK و همچنین افزایش فعال‌سازی AKT و NRF2 و ژن‌های آنتی‌اکسیدان پایین‌دستی شد [۳۲].

در گروه داروی اتورواستاتین نیز نتایج تحقیق ما نشان داد که مصرف اتورواستاتین موجب کاهش گلوکز و کلسترول تام سرمی شد ولی اثر معناداری بر بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی نداشت. اتورواستاتین، یک مهارکننده

( $P < 0.001$ ). سطح گلوکز در گروه دیابت + تمرین به‌صورت معناداری نسبت به گروه دیابت + اتورواستاتین پایین‌تر بود ( $P = 0.022$ )؛ ولی تفاوت معناداری بین کلسترول تام در دو گروه دیابت + تمرین و دیابت + اتورواستاتین مشاهده نشد ( $P = 0.505$ ). سطوح گلوکز ( $P < 0.001$ ) و کلسترول تام ( $P < 0.05$ ) در گروه دیابت + تمرین + اتورواستاتین به صورت معناداری نسبت به گروه‌های دیابت + اتورواستاتین و دیابت + تمرین پایین‌تر بود (نمودار ۲ و ۳).

## بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پس از القای دیابت کاهش معناداری در بیان ژن VEGF- $\beta$  در گروه‌های القای دیابت نسبت به گروه سالم کنترل مشاهده شد. در بررسی اثر مداخلات بر بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی، نتایج تحقیق ما نشان داد که تمرینات هوازی تداومی توانست موجب افزایش معنادار بیان ژن VEGF- $\beta$  نسبت به گروه دیابت کنترل شد، اما مصرف اتورواستاتین اثر معناداری بر VEGF- $\beta$  کبدی نداشت.

تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که VEGF- $\beta$  در هومئوستاز لیپید و گلوکز نقش دارد (۷). گزارش شده‌است که پس از این که موش‌هایی که در آنها VEGF- $\beta$  ناک اوت شده بود و با چربی بالا تغذیه شدند، چربی بدن، می‌لیپی‌دمی، امتیاز NAFLD و مقاومت به انسولین افزایش یافت [۲۲]. در تحقیق ما نیز القای دیابت علاوه بر افزایش گلوکز و کلسترول تام سرمی، موجب کاهش VEGF- $\beta$  کبدی شد که با نتایج تحقیق لی و همکاران [۲۲] همسو می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که VEGF- $\beta$  می‌تواند تجمع چربی را کاهش داده و حساسیت به انسولین را در NAFLD بازگرداند [۷]؛ بنابراین کاهش VEGF- $\beta$  ناشی از دیابت در ارتباط با عوارض کبدی دیابت مانند استئاتوز کبدی و مقاومت به انسولین کبدی می‌باشد. می‌توان گفت که با القای دیابت و افزایش هیپرگلیسمی ناشی از دیابت سطح VEGF- $\beta$  کاهش می‌یابد و این کاهش VEGF- $\beta$  می‌تواند در ارتباط با عوارض کبدی ناشی از دیابت مانند NAFLD و آپوپتوز هپاتوسیت‌ها باشد. با این حال در تحقیق یه و همکاران گزارش شد که مقادیر VEGF- $\beta$  پلاسما در افراد مبتلا به NAFLD در مقایسه با افراد بدون NAFLD به‌طور معناداری بالاتر بود، و تجزیه و تحلیل کوواریانس این نتیجه را تایید کرد [۲۳]. علت اختلاف در نتایج ممکن است به‌علت تفاوت در نمونه‌های تحقیقی از تفاوت در بافت مورد مطالعه، واحدهای پژوهشی یا نوع بیماری باشد. چون در تحقیق ما نمونه‌های پژوهشی موش‌های صحرایی دیابتی شده با STZ بودند، که با نمونه‌های تحقیق یه و همکاران متفاوت بودند.

در خصوص اثر تمرینات هوازی تداومی بر بیان ژن VEGF- $\beta$  کبدی، نتایج ما نشان دهنده تنظیم افزایش بیان ژن VEGF- $\beta$  در گروه تمرین هوازی تداومی بود. کیولا و همکاران نیز در تحقیقشان نشان دادند که یک جلسه تمرین موجب افزایش بیان VEGF- $\beta$  در موش‌های سالم شد، که نشان‌دهنده اثرات رگ‌زایی در بافت عضلانی می‌باشند؛ با این وجود در

### مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی، روش شناسی، تحلیل داده ها، تهیه پیش نویس اولیه، ویرایش و بررسی، مدیریت پروژه: ثمانه احمدپور، علیرضا براری؛ گردآوری داده ها، بررسی، مفهوم سازی: ثمانه احمدپور، علیرضا براری، پروین فرزانه

### تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول ثبت شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی است. نویسندگان از تمامی کسانی که در انجام این تحقیق همکاری کرده اند، سپاسگزاری می کنند.

ردوکتاز HMG-CoA، به طور گسترده در درمان دیس لیپیدی استفاده می شود (۱۹). با توجه به نقش سلول های پیش ساز اندوتلیال (EPCs) به عنوان زیرگروهی از سلول های بنیادی خون ساز که به ترمیم اندوتلیوم آسیب دیده کمک می کنند و پیش درمانی با اتورواستاتین به طور قابل توجهی مقدار EPC ها را پس از CPB، با مکانیسمی مستقل از سطح سیتوکین ها و کلسترول پلاسما، افزایش می دهد [۳۳]. در تحقیق روی نمونه های انسانی گزارش شده است که اتورواستاتین ۱۰ میلی گرم 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 مؤثر است [۳۴]. می توان گفت که بخشی از این اثرات ضد دیابتی اتورواستاتین در ارتباط با اثرات این دارو بر بهبود متابولیسم چربی در کبد باشد. در مطالعات مداخله ای، ALT، AST و GGT پس از درمان با استاتین کاهش یافت، که نشان دهنده ایمنی کبدی استاتین ها در بیماران NAFLD است [۳۵]. نتایج تحقیق توارادو سالمر نیز نشان داد که مصرف اتورواستاتین موجب کاهش سطوح بالای چربی و استاتوز کبدی در موش های دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب بود [۳۶]. با این وجود در تحقیق حاضر با وجود اثرات مثبت اتورواستاتین بر کاهش گلوکز و کلسترول تام تفاوت معناداری در VEGF- $\beta$  موش های صحرایی دیابتی مشاهده نشد.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان گفت کاهش VEGF- $\beta$  در ارتباط با هیپرگلیسمی و هایپرکلسترولمی ناشی از القای دیابت می باشد و نقش VEGF- $\beta$  را در متابولیسم گلوکز و لیپید نشان می دهد. همچنین نتایج تحقیق ما نشان داد که تمرین هوازی مداومی توانست موجب تنظیم افزایشی در بیان ژن VEGF- $\beta$  در بافت کبد و کاهش گلوکز و کلسترول تام سرمی در موش های صحرایی دیابتی شود؛ با این وجود مصرف اتورواستاتین با وجود اثرات مثبت بر کاهش گلوکز و کلسترول تام، اثر معناداری بر VEGF- $\beta$  کبدی موش های صحرایی دیابتی ایجاد نکرد، همچنین اثر تعاملی مصرف اتورواستاتین به همراه ورزش نیز تفاوت معنی داری در VEGF- $\beta$  کبدی موش های صحرایی دیابتی نسبت به تمرین به تنهایی ایجاد نکرد؛ با این وجود موجب کاهش بیشتر گلوکز و کلسترول تام سرمی نسبت به گروه های مداخله تمرین و اتورواستاتین به تنهایی شد.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

کد اخلاق: IR.IAU.AMOL.REC.1402.066

#### حامی مالی

این مقاله حامی مالی ندارد.

## 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 Journal of Medical Sciences*. 2021 Jul 10;28(4):34-45. [Link]
- [2] Amanat S, Ghahri S, Dianatinasab A, Fararouei M, Dianatinasab M. Exercise and Type 2 Diabetes. *Physical Exercise for Human Health*, 91–105. [10.1007/978-981-15-1792-1\_6] [PMID]
- [3] Fralick M, Jenkins AJ, Khunti K, Mbanya JC, Mohan V, Schmidt MI. Global accessibility of therapeutics for diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*. 2022 Apr;18(4):199-204. [10.1038/s41574-021-00621-y] [PMID]
- [4] Fang C, Pan J, Qu N, Lei Y, Han J, Zhang J, Han D. The AMPK pathway in fatty liver disease. *Frontiers in Physiology*. 2022 Aug 25;13:970292. [10.3389/fphys.2022.970292] [PMID]
- [5] Memaj P, Jornayvaz FR. Non-alcoholic fatty liver disease in type 1 diabetes: Prevalence and pathophysiology. *Frontiers in Endocrinology*. 2022 Dec 1;13:1031633. [10.3389/fendo.2022.1031633] [PMID]
- [6] Jokar M, Ghalavand A. The effect of twelve weeks of aerobic interval training on liver complications and cardiovascular risk factors in men with type 2 diabetes. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022 May 10;29(3):26-36. [Link]
- [7] 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 Journal of Hepatology*. 2023 Jun 6;15(6):786. [10.4254/wjh.v15.i6.786] [PMID]
- [8] Mohammadi F, Ghalavand A, Delaramnasab M. Effect of circuit resistance training and L-carnitine supplementation on body composition and liver function in men with non-alcoholic fatty liver disease. *Jundishapur Journal of Chronic Disease Care*. 2019 Oct 31;8(4). [10.5812/jjcdc.90213] [Link]
- [9] Bry M, Kivelä R, Leppänen VM, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor-B in physiology and disease. *Physiological reviews*. 2014 Jul;94(3):779-94. [10.1152/physrev.00028.2013] [PMID]
- [10] Alkhoury N, Carter-Kent C, Feldstein AE. Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications. *Expert review of gastroenterology & hepatology*. 2011 Apr 1;5(2):201-12. [10.1586/egh.11.6] [PMID]
- [11] Lal N, Chiu AP, Wang F, Zhang D, Jia J, Wan A, Vlodavsky I, Hussein B, Rodrigues B. Loss of VEGFB and its signaling in the diabetic heart is associated with increased cell death signaling. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2017 Jun 1;312(6):H1163-75. [10.1152/ajpheart.00659.2016] [PMID]
- [12] Ghalavand A, Behzadinejad H, Movahedrad S, Maleki F, Rhamani Ghobadi M, Fathi K, Mirpour Shirkhoda S. Relationship between quality of life and cardiorespiratory endurance in patients with type 2 diabetes. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022 Dec 10;29(9):75-85 [Link]
- [13] Ghalavand A, Motamedi P, Rajabi H, Khaledi N. The effect of six weeks aerobic training on Serum and muscle levels of ascorbic acid and SVCT2 of soleus muscle tissue in Wistar rats. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2019 Jan 21;17(5):481-90. [10.22118/jsmj.2019.161084.1546] [Link]
- [14] Ghalavand A, Ghobadi MR. Effect of Exercise and Insulin Signaling on Glucose Transporter Type 4 in Skeletal Muscles: A narrative review. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2023 Mar 27. [Link]
- [15] Ghalavand A, Motamedi P, Rajabi H, Khaledi N. Effect of diabetes induction and exercisetraing on the level of ascorbic acid and muscle SVCT2 in male Wistar rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2020 May 19. [10.18502/ssu.v27i12.2831] [PMID]
- [16] Ghalavand A, Mohammadpour M, RahmaniGhobadi M, Motamedi P, Hovsepian A. Changes in the serum levels of metabotropic biomarkers (asprosin and BDNF) in adapting to intermittent aerobic training. *Ilam*. 2023; 31 (2): 86-96. [Link]
- [17] 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. *European Journal of Pharmacology*. 2023 Mar 24:175672. [10.1016/j.ejphar.2023.175672] [PMID]
- [18] Yang X, Xiong T, Ning D, Wang T, Zhong H, Tang S, Mao Y, Zhu G, Wang D. Long-term atorvastatin or the combination of atorvastatin and nicotinamide ameliorate insulin resistance and left ventricular diastolic dysfunction in a murine model of obesity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2020 Sep 1;402:115132. [10.1016/j.taap.2020.115132] [PMID]
- [19] Clarke AT, Mills PR. Atorvastatin associated liver disease. *Digestive and liver disease*. 2006 Oct 1;38(10):772-7. [10.1016/j.dld.2006.04.013] [Link]
- [20] 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. [10.52547/jarums.21.4.388] [Link]
- [21] Maboune N, Fonkoua M, Goda D, Ngoumen DJ, Nanhah JK, Akamba BD, Chedjou JP, Nguedjo MW, Ella FA, Mbah JL, Nguemto GR. Atranelia congolensis Extract Prevents Atherogenic Dyslipidemia in Diabetic Rats via Modulation of Global Hepatic DNA Methylation. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*. 2023;11(3):53-9. [10.11648/j.ajbls.20231103.14][Link]
- [22] 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. *Journal of Translational Medicine*. 2022 Jul 30;20(1):341. [10.1186/s12967-022-03540-2] [PMID]
- [23] 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 journal*. 2020;19:1186. [10.17179/excli2020-2647] [PMID]
- [24] 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. *Cardiovascular diabetology*. 2008 Dec;7:1-0. [10.1186/1475-2840-7-13] [PMID]
- [25] Luo X, Li RR, Li YQ, Yu HP, Yu HN, Jiang WG, Li YN. Reducing VEGFB expression regulates the balance of glucose and lipid metabolism in mice via VEGFR1. *Molecular Medicine Reports*. 2022 Sep 1;26(3):1-5. [10.3892/mmr.2022.12801] [PMID]

- [26] Mehlem A, Palombo I, Wang X, Hagberg CE, Eriksson U, Falkevall A. PGC-1 $\alpha$  coordinates mitochondrial respiratory capacity and muscular fatty acid uptake via regulation of VEGF-B. *Diabetes*. 2016 Apr 1;65(4):861-73. [[10.2337/db15-1231](https://doi.org/10.2337/db15-1231)] [PMID]
- [27] Lira VA, Benton CR, Yan Z, Bonen A. PGC-1 $\alpha$  regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2010 Aug;299(2):E145-61. [[10.1152/ajpendo.00755.2009](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00755.2009)] [PMID]
- [28] Haase TN, Ringholm S, Leick L, Biensø RS, Kiilerich K, Johansen S, Nielsen MM, Wojtaszewski JF, Hidalgo J, Pedersen PA, Pilegaard H. Role of PGC-1 $\alpha$  in exercise and fasting-induced adaptations in mouse liver. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011 Nov;301(5):R1501-9. [[10.1152/ajpregu.00775.2010](https://doi.org/10.1152/ajpregu.00775.2010)] [PMID]
- [29] Spaulding HR, Yan Z. AMPK and the adaptation to exercise. *Annual Review of Physiology*. 2022 Feb 10;84:209-27. [[10.1146/annurev-physiol-060721-095517](https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-060721-095517)] [PMID]
- [30] Machado MV. Aerobic exercise in the management of metabolic dysfunction associated fatty liver disease. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*. 2021 Aug 11:3627-45. [[10.2147/DMSO.S304357](https://doi.org/10.2147/DMSO.S304357)] [PMID]
- [31] Gao Y, Zhang W, Zeng LQ, Bai H, Li J, Zhou J, Zhou GY, Fang CW, Wang F, Qin XJ. Exercise and dietary intervention ameliorate high-fat diet-induced NAFLD and liver aging by inducing lipophagy. *Redox biology*. 2020 Sep 1;36:101635. [[10.1016/j.redox.2020.101635](https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101635)] [PMID]
- [32] Zou Y, Chen Z, Sun C, Yang D, Zhou Z, Peng X, Zheng L, Tang C. Exercise intervention mitigates pathological liver changes in NAFLD zebrafish by activating SIRT1/AMPK/NRF2 signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Oct 10;22(20):10940. [[10.3390/ijms222010940](https://doi.org/10.3390/ijms222010940)] [PMID]
- [33] Spadaccio C, Pollari F, Casacalenda A, Alfano G, Genovese J, Covino E, Chello M. Atorvastatin increases the number of endothelial progenitor cells after cardiac surgery: a randomized control study. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2010 Jan 1;55(1):30-8. [[10.1097/FJC.0b013e3181c37d4d](https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181c37d4d)] [PMID]
- [34] Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HA, Livingstone SJ, Thomason MJ, Mackness MI, Charlton-Menys V, Fuller JH. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2004 Aug 21;364(9435):685-96. [[10.1016/S0140-6736\(04\)16895-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16895-5)] [PMID]
- [35] Pastori D, Pani A, Di Rocco A, Menichelli D, Gazzaniga G, Farcomeni A, D'Erasmo L, Angelico F, Del Ben M, Baratta F. Statin liver safety in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and metanalysis. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2022 Feb;88(2):441-51. [[10.1111/bcp.14943](https://doi.org/10.1111/bcp.14943)] [PMID]
- [36] Torrado-Salmerón C, Guarnizo-Herrero V, Henriques J, Seïça R, Sena CM, Torrado-Santiago S. Multiparticulate Systems of Ezetimibe Micellar System and Atorvastatin Solid Dispersion Efficacy of Low-Dose Ezetimibe/Atorvastatin on High-Fat Diet-Induced Hyperlipidemia and Hepatic Steatosis in Diabetic Rats.

Pharmaceutics. 2021 Mar 20;13(3):421. [[10.3390/pharmaceutics13030421](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030421)] [PMID]