



Open Access

مقاله پژوهش

تأثیر شبیه‌سازی ماندن در ارتفاع متوسط به همراه مصرف آویشن، بر کاردیومیوپاتی و

آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو

مهدی فراموشی^{۱*}، رامین امیرساسان^۲، وحید ساری صراف^۲

تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۹

چکیده

هدف: هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر شبیه‌سازی ماندن در ارتفاع متوسط به همراه مصرف آویشن بر میزان کاردیومیوپاتی موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو و تأثیر هم‌زمان آن‌ها بر آنزیم‌های کبدی بود.

روش‌ها: بدین منظور تعداد ۴۰ سر موش صحرایی سه‌ماهه (وزن اولیه 20 ± 220 گرم) به پنج گروه هشت‌تایی ۱- کنترل سالم (NC) ۲-دیابتی (D) ۳-دیابتی + آویشن (D + Th) ۴-دیابتی + هیپوکسی (D + H) ۵-دیابتی + هیپوکسی + آویشن (D+H+Th) تقسیم شدند. جهت القای دیابت نوع دو استرپتوزوتوسین با دوز 37mg/kg تزریق شد. گروه ارتفاع هشت هفته در شرایط شب مانی در ارتفاع شبیه‌سازی شده در اتاقک هیپوکسی (۱۴٪ معادل فشار اکسیژن 106 میلی‌متر جیوه و مشابه ارتفاع 3400 متر) به‌طور متناوب قرار گرفتند و گروه مکمل یاری آویشن، مقدار 400 mg/kg عصاره هیدروالکلی در 30ml آب مصرفی به‌صورت روزانه دریافت کردند. کاردیومیوپاتی از طریق دو شاخص آپوپتوز (وسترن بلات) و فیبروز (رنگ‌آمیزی) میوکارد اندازه‌گیری شد و آنزیم‌های کبدی با استفاده از روش‌های کالری متری اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد ۸ هفته شب مانی در ارتفاع، مکمل یاری آویشن و ترکیب این دو موجب کاهش میزان گلوکز ناشتا در دیابتی‌ها می‌شود ($P < 0.05$). همچنین آپوپتوز و فیبروز با قرارگرفتن در ارتفاع و مصرف هم‌زمان آویشن در میوکارد کاهش معنی‌داری در دیابت نوع دو نشان داد ($P < 0.025$). اما ارتفاع متوسط و مصرف عصاره آویشن تأثیر معنی‌داری بر سطوح سرمی ترانس‌آمینازهای ALT و AST نداشت.

نتیجه‌گیری: در پژوهش حاضر ارتفاع متوسط شبیه‌سازی شده و آویشن ضمن کاهش قند خون ناشتا با کاهش آپوپتوز و فیبروز، موجب پیشگیری از کاردیومیوپاتی موش‌های صحرایی دیابتی نوع شده، اما این مداخله تأثیری بر روی شاخص‌های سلامت کبدی نداشت.

واژگان کلیدی: ارتفاع متوسط، آویشن، کاردیومیوپاتی، آنزیم‌های کبدی، دیابت نوع دو.

۱. گروه دروس عمومی و معارف، دانشکده‌ی چندرسانه‌ای، دانشگاه هنر اسلامی تبریز، تبریز، ایران. ۲. گروه فیزیولوژی ورزشی،

دانشکده‌ی تربیت‌بدنی علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

*نویسنده مسول: آذربایجان شرقی، تبریز، خیابان آزادی، چهارراه طالقانی، دانشگاه هنر اسلامی تبریز، تلفن: ۰۹۱۴۴۲۶۳۸۱۳، نمابر:

۰۴۱۳۵۴۱۹۹۶۹، پست الکترونیک: m.faramoushi@tabriziau.ac.ir



مقدمه

بدن است در بیماران دیابتی دچار تجمع چربی و التهاب می‌شود و در صورتی که کنترل نشود می‌تواند به شرایط جدی‌تر از جمله سیروز کبدی پیشرفت کند. بنابراین بیماران دیابتی به‌دقت و هر چه سریع‌تر باید به فکر درمان و کنترل بیماری خود باشند (۷). امروزه اکثر متخصصان، اصول اولیه درمان دیابت و کاردیومیوپاتی و پیشگیری از التهاب کبد، را داروهای کاهنده گلوکز خون، تزریق انسولین، رژیم غذایی و ورزش می‌دانند (۸). اما می‌توان برخی از مسیرهای سیگنال دهی افزایش جذب گلوکز به داخل سلول، مثل ماندن در ارتفاع را نیز مورد توجه قرار داد. شب مانی در ارتفاع امروزه یکی از راه‌های سازگاری با محیط و افزایش استقامت و عملکرد قلب و عروق در بین ورزشکاران به شمار می‌رود (۹). مطالعات اپیدمیولوژیک مختلف طی دهه‌ها نشان داده است افرادی که در ارتفاعات بالاتر زندگی می‌کنند تعداد بیشتری از انشعابات کرونری و محیطی را در قلب دارند، همچنین گزارش شده که تولید کارآمدتری از آدنوزین تری فسفات سلولی در ارتفاع بالا نسبت به سطح دریا وجود دارد، این یافته‌ها در کنار هم می‌تواند شیوع پایین بیماری عروق کرونری در ارتفاع را توجیه کند اما اساس مولکولی آن هنوز به‌طور کامل شناخته‌شده نیست (۱۰) و از آنجایی که تأثیر بسزایی در متابولیسم دارد، بسیاری از تحقیقات بر روی این ویژگی در

علاوه بر عوارض شناخته‌شده‌ی دیابت، نارسایی قلبی در بیماران دیابتی خطر جدی محسوب می‌شود (۱). روبرل و همکاران^۱ (۱۹۷۲) نشان دادند که بیماران دیابتی بدون گرفتگی عروق کرونر و حتی بدون فشارخون دچار نارسایی قلبی می‌شوند و آن را کاردیومیوپاتی^۲ دیابتی نامیدند و سپس این پدیده توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرد (۲). پاتوفیزیولوژی کاردیومیوپاتی دیابتی به‌طور کامل مشخص نشده است، اما به نظر می‌رسد هیپرگلیسمی و تغییر در متابولیسم میوکارد آغازگر این موضوع باشد (۳).

تغییر در متابولیسم میوکارد که با دیابت مرتبط است در دهه گذشته گزارش شده است، و مطالعات جدیدتر نشان داده‌اند که جذب گلوکز و بهره تنفسی (RQ^۳) در قلب دیابتی‌ها کاهش می‌یابد (۴). علاوه بر این، وابستگی طبیعی قلب به متابولیسم چربی برای تأمین انرژی در دیابت بیش‌ازحد افزایش می‌یابد و محتوای و انتقال گیرنده‌های گلوکز در میوکارد کاهش می‌یابد که منجر به لیپوتوکسیسیته میوکارد^۴، آپوپتوز و فیبروز می‌شود (۵).

آپوپتوز و فیبروز به‌عنوان عامل اصلی کاردیومیوپاتی در دیابت در نظر گرفته می‌شود (۶). از طرفی کبد که بزرگ‌ترین غده

³ respiratory quotient⁴ myocardial lipotoxicity¹ Rubler et al² cardiomyopathy

و GLUT4 می‌گردد. درحالی‌که هیپوکسی مزمن، پاسخ تأخیری و طولانی دارد و موجب تغییر و بیان mRNA و پروتئین می‌شود (۱۶).

لازم به ذکر است که بیشتر تحقیقات موجود، بر روی ورزشکاران و افراد عادی در ارتفاعات بالاتر از ۳۳۰۰ متری انجام شده‌اند و نتایج آن‌ها قابل‌تعمیم به سایر افراد از جمله بیماران دیابتی نیست. بنابراین، با توجه به آثار مفید ارتفاع متوسط نیاز به تحقیق در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد (۱۷). نشان داده شده است که اگر موش‌ها در شرایط هیپوکسیک قرار گیرند، ساختار قلبی آن‌ها تغییر می‌کند. همچنین گزارش شده است که مصرف گلوکز قلب در ارتفاع شبیه‌سازی شده (۱۵-۱۴) درصد اشباع اکسیژن) افزایش می‌یابد (۷۰ درصد). از سوی دیگر، ارتفاع ممکن است نقش محافظتی در بیماری‌های قلبی عروقی و تنفسی مزمن و کاردیومیوپاتی داشته باشد. همچنین ممکن است به‌عنوان یک عامل پیشگیری‌کننده در مرگ‌ومیر ناشی از سرطان و سایر بیماری‌ها عمل کند. سازوکار اثر آن در حال حاضر چندان شناخته شده نیست و تنها مطالعات اندکی در مورد تأثیر ارتفاع بر میزان مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های رایج در دسترس است (۱۱).

البته هیپوکسی طولانی مدت ممکن است با گونه‌های اکسیژن فعال شدید ROS همراه

ارتفاع که پاسخ فیزیولوژیکی زیادی نیز به دنبال دارد، متمرکز شده‌اند (۱۱، ۱۲). قرار گرفتن در ارتفاع بالا چندین سازوکار پیچیده و سازگار با هدف محافظت از هومئوستاز انسان در برابر شرایط محیطی شدید مانند هیپوکسی، دمای پایین و فشار پایین را فعال می‌کند. مواجهه طولانی‌مدت با ارتفاع و هیپوکسی منجر به کاهش غلظت گلوکز پلاسما می‌شود که باعث بهبود حساسیت به انسولین و افزایش دفع محیطی گلوکز می‌شود (۱۲، ۱۳). برخی مطالعات نشان می‌دهند هیپوکسی متوسط که ارتفاعی تا حدود ۳۰۰۰ متر را شبیه‌سازی می‌کند می‌تواند یک فاکتور مؤثر و مفید در سلامت قلبی عروقی به حساب آید (۱۴). اما ارتفاعات بالاتر از ۴۵۰۰ متری که ارتفاع بالا محسوب می‌شود، می‌تواند تأثیر نامناسب بر حساسیت انسولینی انسان بگذارد. لارسن و همکاران^۱ (۱۹۹۷)، گزارش کردند که کوه‌گرفتنی و مقاومت به انسولین در جوانان سالم بعد از صعود به ارتفاع بالا (۱۲) درصد اکسیژن) ایجاد می‌شود (۱۵).

به‌هرحال مدت‌زمان قرار گرفتن در معرض هیپوکسی می‌تواند حاد (چند ثانیه تا چند ساعت) یا مزمن (چند ساعت تا چندین روز) باشد. در سطح سلولی، هیپوکسی حاد باعث پاسخ سریع اما کوتاه می‌شود که موجب تغییر و تعدیل پروتئین‌های موجود مثل HIF-1 α

¹ Larsen et al

صحرایی دیابتی نوع دو بود و هم‌زمان تأثیر آن‌ها بر آنزیم‌های کبدی نیز بررسی شد.

روش پژوهش

طرح پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شکل پس‌آزمون با گروه کنترل انجام شد.

آزمودنی‌ها

در این مطالعه از ۴۰ موش صحرایی نر سفید ویستار در محدوده سنی ۳ ماهگی و با وزن حدود ۲۲۰ تا ۲۴۰ گرم که از انستیتو پاستور، تهران خریداری شده بود، استفاده شد. برای اجرای آزمون موش‌ها به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند:

✓ کنترل سالم (NC)

✓ دیابتی (D)

✓ دیابتی + آویشن (D + Th)

✓ دیابتی + هیپوکسی (D + H)

✓ دیابتی + هیپوکسی + آویشن

(D+H+Th)

موش‌ها در یک قفس در آزمایشگاه حیوانات در محیط کم استرس (دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ درصد و صدای کم) و چرخه ۱۲ ساعته نور و تاریکی قرار گرفتند. این در حالی است که حیوانات به مدت ۲ ماه به آب آزاد و غذای فشرده موش (غذای حیوانی شرکت پارس) دسترسی آزاد داشتند. به‌منظور سازگاری با شرایط، تمام مداخلات پس از حداقل ۲ هفته از استقرار حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی

باشد (۱۸) و باید راه‌حلی هم‌زمان برای کنترل ROS شدید ارائه شود. مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از راهکارهایی است که با خنثی نمودن ROS، می‌تواند فرآیند اکسایشی را متوقف نماید (۱۹). تاکنون، آنتی‌اکسیدان‌های بسیاری به شکل دارو یا گیاه معرفی شده است یکی از این گیاهان دارویی که خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی داشته و در طب سنتی نیز کاربرد فراوانی دارد، مکمل آویشن^۱ است و در مطالعات مرتبط با بیماری دیابت مورد توجه قرار گرفته است (۷). آویشن خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی به دلیل ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک و همچنین تیمول، کارواکرول و تروپین گاما دارد و می‌تواند یکی از گزینه‌های مهم گیاهان دارویی در کنترل بیماری دیابت باشد (۷،۲۰). از سوی دیگر هیپوکسی به کاهش دسترسی بدن به اکسیژن در یک حالت یا یک شرایط گفته می‌شود و ممکن است کبد را در معرض اکسیژن پایین‌تر قرار دهد، و موجب التهاب شود، بنابراین با مصرف آویشن آثار منفی احتمالی هیپوکسی را ممکن است کنترل نماید. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته شبیه‌سازی شب مانی در ارتفاع متوسط و متناوب به همراه مصرف آویشن بر میزان کاردیومیوپاتی موش‌های

¹ Thymus Migricus Klokov & Desj-Shost

گیاه تازه از شهرستان اهر و تأیید سیستماتیک، گیاه آویشن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در سایه خشک گردید و سپس عصاره آبی آن تهیه شد. مکمل یاری با آویشن به مدت ۸ هفته و به صورت محلول در آب مصرفی روزانه موش‌های صحرایی ادامه داشت. برای کنترل دریافت مکمل توسط موش‌ها بطری آب مصرفی آن‌ها به صورت روزانه کنترل می‌گردید.

اعمال ارتفاع شبیه‌سازی شده

هیپوکسی در نظر گرفته شده هشت هفته به‌طور متناوب و افزایشی بود که ارتفاع بالای ۳۴۰۰ متر را شبیه‌سازی می‌کرد. گروه دیابتی هیپوکسی به صورت تدریجی در طول شب (چرخه روشنایی) در داخل اتاقک هیپوکسی ایزو باریک^۲ ویژه حیوانات ساخت کشور استرالیا مدل (GO2Altitude, Biomedtech, Australia Pty. Ltd, Melbourne) قرار داده می‌شدند (جدول شماره ۱) بعد از اتمام زمان هیپوکسی (۸ تا ۱۲ ساعت در شبانه‌روز) به محل آزمایشگاه و کنار سایر گروه‌ها قرار می‌گرفتند. میزان اکسیژن اتاقک، ۱۴ درصد تنظیم شد که ارتفاع ۳۴۰۰ متری را شبیه‌سازی می‌کند (ارتفاع یا هیپوکسی متوسط و فشار اکسیژن حدود ۱۰۶ میلی‌متر جیوه) (۱۷،۲۱). دو گروه غیر هیپوکسی در محل آزمایشگاه مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی

تبریز انجام شدند. پروتکل‌های آزمایشی مطابق با «راهنمای مؤلفان انجمن بین‌المللی ویراستاران دامپزشکی» توافق درباره اخلاق حیوانات توسط کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات نهادی دانشگاه تبریز تأیید شد، این دستورالعمل مطابق با ARRIVE است.

نحوه تزریق استرپتوزوتوسین (القای دیابت نوع دو)

موش‌ها دو هفته غذای پرچرب که توسط محققان و با همکاری شرکت کانی دام تهیه گردید مصرف کردند و سپس استرپتوزوتوسین (تهیه شده از شرکت سیگما آلدیچ^۱) با دوز ۳۷ mg/kg در بافر سیترات (pH ۵/۴) ۱/۰ M بعد از ۶ ساعت ناشتایی به صورت درون صفاقی تزریق شد، برای گروه کنترل سالم همان میزان آب مقطر به عنوان بافر تزریق شد (۲۰). ۷۲ ساعت بعد از تزریق دارو، گلوکز نمونه خونی از ورید دمی حیوان با استفاده از گلوکومتر قابل حمل بررسی شد و غلظت گلوکز بالاتر از ۳۰۰ mg/dl به عنوان موش‌های صحرایی دیابتی وارد تحقیق شدند. به منظور کنترل وزن، وزن کشی موش‌های صحرایی در ابتدا، وسط و انتهای دوره توسط ترازوی دیجیتال انجام شد.

تهیه عصاره آویشن

برای تهیه عصاره هیدرو الکلی بخش هوایی آویشن آذربایجانی (*thymus migricus*) (Klokov & Desj. Shost)، پس از خرید

² isobaric



¹ Sigma Alderich

۳۶۴ مهدی فراموشی، ...
 دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی، پاییز و زمستان ۱۴۰۱، جلد دوازدهم، شماره ۲
 تبریز با مشخصات ارتفاع حدود ۱۱۰۰ متری نگره‌داری می‌شدند که مبنای مقایسه قرار
 و فشار سهمی اکسیژن ۱۵۹ میلی‌متر جیوه گرفتند.

جدول ۱. زمان‌بندی قرار گرفتن موش‌های صحرایی دیابتی در اتاقک هیپوکسی در طول ۸ هفته

هفته	مدت	مقدار هیپوکسی
اول	۴ ساعت	۱۴ درصد
دوم	۸ ساعت	۱۴ درصد
سوم	۸ ساعت	۱۴ درصد
چهارم	۱۰ ساعت	۱۴ درصد
پنجم	۱۲ ساعت	۱۴ درصد
ششم	۱۲ ساعت	۱۴ درصد
هفتم	۱۲ ساعت	۱۴ درصد
هشتم	۱۲ ساعت	۱۴ درصد

همچنین، خون‌گیری از رگ‌های گردنی به عمل آمد. نمونه‌های خونی در دو لوله جداگانه، دارای EDTA (ماده ضد انعقاد خون) جهت تهیه خون کامل و دیگری فاقد EDTA برای تهیه سرم ریخته شدند. میزان کاردیومیوپاتی از دو شاخص فیبروز و آپوپتوز به روش زیر اندازه‌گیری شد. آپوپتوز بافت قلب بر اساس میزان بیان پروتئین کاسپاز ۳^۲ تعیین شد. اندازه‌گیری

اندازه‌گیری کاردیومیوپاتی

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی به‌وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین^۱ (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی-هوش شده جراحی، خون‌گیری و قلب آن‌ها بلافاصله استخراج شد. سپس بطن چپ آن‌ها جدا شده و در نیتروژن -80°C منجمد و برای بررسی‌های بعدی نگهداری گردید.

² Caspase 3

¹ xylazine

میزان بیان کاسپاز ۳ با روش وسترن بلات^۱ انجام شد.

فیروز: آزمایش‌های هیستولوژیک

برای بررسی میزان فیروز و به هم ریختگی سلولی از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین (H&E) و ماسون تری کروم^۳ استفاده شد. بعد از تهیه نمونه بافتی از بطن چپ، نمونه‌ها در فرمالدهید ۱۰ درصد فیکس شده سپس به روش هماتوکسیلین ائوزین (H&E) و ماسون تری کروم رنگ‌آمیزی شدند (۱۶). نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با میکروسکوپ نوری مطالعه و با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر عکس‌برداری شد. برای کمی نمودن میزان فیروز عکس‌های تهیه شده در نرم‌افزار GIS آنالیز شد.

آنالیزهای بیوشیمیایی

اندازه‌گیری میزان گلوکز ناشتای سرم برحسب میلی‌گرم بر دسی لیتر توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز شرکت زیست‌شیمی انجام گردید. آنزیم‌های ترانس آمیناز شامل آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) جهت بررسی عملکرد کبد با استفاده از روش‌های کالری متری شرکت زیست‌شیمی اندازه‌گیری شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (K-S) استفاده شد. از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (شاخص‌های خونی) و چند متغیره (میزان کاردیومیوپاتی) با آزمون تعقیبی بونفونی برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی استفاده شد و آزمون‌ها در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تحت نسخه ۲۳ نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد.

یافته‌ها

تزریق استرپتوزتوسین (STZ) موجب کاهش معنی‌دار سطوح انسولین در گروه‌های دیابتی شد ($P < 0/05$) همچنین میزان گلوکز ناشتا پس از هشت هفته در گروه دیابت کنترل $40/15 \pm 356/53$ بود که نشان‌دهنده القای مناسب دیابت است. پس از ۸ هفته سطح گلوکز ناشتا در ۳ گروه مداخله به‌طور معنی‌داری کاهش یافت اما در گروه ترکیب آویشن و ارتفاع کاهش مضاعف ۳۵ درصدی داشت ($229/66 \pm 21/10$). آنزیم‌های کبدی که با دیابتی شدن افزایش معنی‌داری داشتند پس از ۸ هفته مداخله همچنان در همان شرایط حفظ شدند و دچار کاهش یا افزایش معنی‌داری نشدند ($P < 0/05$) هرچند که آویشن به‌تنهایی فقط موجب کاهش معنی‌دار

³ Masson's trichrome

¹ Western blotting

² hematoxilin and eosin

ALT نسبت به گروه دیابت شد ولی کاهش
در AST معنی دار نبود.

جدول ۱. تأثیر هشت هفته مکمل یاری آویشن و ارتفاع شبیه سازی شده و ترکیب آن بر وزن و برخی شاخص های متابولیک

شاخص	کنترل سالم (N=8)	کنترل دیابت (N=8)	دیابت + هیپوکسی (N=8)	دیابت + آویشن (N=8)	دیابت (هیپوکسی + آویشن) (N=8)
وزن اولیه (g)	۱۰/۷۰ ±۲۴۵/۷۵	۱۹/۳۶ ±۲۴۶/۷۵	۱۴/۰۹ ±۲۳۷/۱۶	۱۶/۵۶ ±۲۴۷/۳۳	۱۵/۶۶ ±۲۴۰/۵۰
وزن نهایی (g)	۱۰/۵۰ ±۲۹۸/۱۲	۳۰/۱۴ ±۲۷۴/۳۷	۳۱/۲۱ ±۲۳۵/۸۲	۳۳/۱۰ ±۲۲۹/۶۶	* ۲۵/۷۵ ±۲۲۳/۶۶
گلوکز ناشتا (mg/dl)	۱۵/۶۰ ±۱۰۴/۶۸	* ۴۰/۱۵ ±۳۵۶/۵۳	* ۲۴/۵۲ ±۲۴۳/۲۵	* ۳۱/۱۰ ±۲۶۱/۶۶	* ۲۱/۱۰ ±۲۲۹/۶۶
انسولین ناشتا (μU/L)	۰/۱۴±۵/۱۰	* ۰/۵۴ ±۳/۴۴	* ۰/۷۸±۳/۶۸	* ۱/۳۸±۳/۶۰	# ۱/۳۶±۴/۲۰
شاخص حساسیت انسولینی (QUICKI)	۰/۱۲±۱/۱۸	* ۰/۰۳ ±۰/۹۲	* ۰/۰۴±۰/۹۸	* ۰/۰۷±۰/۹۴	# ۰/۰۷±۱/۰۹
AST (U/L)	۹۰،۷±۲۰،۱،۵۰	* ۲۲ ±۲۳۳،۸۸	۲۵۴،۶۶±۱۹،۰	۲۲۴،۲±۱۱،۳	۲۲۹،۱±۱۵،۷
ALT (U/L)	۳،۵±۵۴،۶۲	* ۶،۳ ±۱۳۵،۲ ۵	۱۴۴،۰±۷،۲	۹۹،۵۰±۶،۳#	۱۳۴،۳±۱۲،۴

QUICKI: Quantitative insulin sensitivity check index.

* تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه کنترل سالم ($P < 0.05$) # تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه دیابتی ($P < 0.05$)

کاردیومیوپاتی

= مجذور جزئی اتا؛ $0/05 = \text{ویلیکس لامبادا}$ ؛

$P < 0/05$ و $F = 46.856$). بنابراین چون Sig

محاسبه شده کوچکتر از $\alpha = 0/5$ است پس

نتیجه آزمون معنی دار است بدین معنی که

بین میزان کاردیومیوپاتی گروه‌های

مورد بررسی تفاوت معنی دار وجود

دارد ($P < 0/05$). در ادامه تحلیل هر یک از

متغیرهای وابسته به تنهایی، با استفاده از

آلفای تصحیح شده بونفرونی ($0/025 = 2 \div$

$0/05$ ؛ $P < 0/0045$) نتایج نشان داد گروه

ترکیبی شاخص آپوتوز را کاهش معنی داری

نسبت به گروه کنترل دیابتی داده است

($p < 0/0025$) ولی بین سایر گروه‌ها با گروه

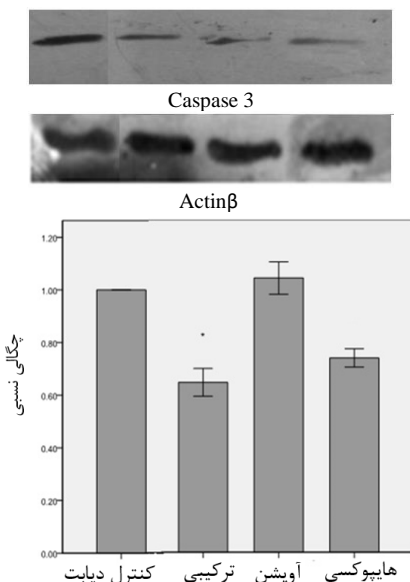
کنترل دیابتی تفاوت معنی داری دیده

نمی‌شود (شکل ۱).

آنجا که فرض همگنی واریانس‌ها و طبیعی بودن توزیع داده‌ها برقرار بود، به منظور تبیین میزان کاردیومیوپاتی (با دو متغیر وابسته آپوتوز و فیبروز) موش‌های صحرایی در پنج گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی، مکمل یاری آویشن دیابتی، هیپوکسی متناوب دیابتی و گروه دیابتی ترکیبی (هیپوکسی متناوب و مکمل یاری آویشن) از آزمون تحلیل واریانس چند متغیری استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس چند متغیری (جدول ۲) نشان داد که تفاوت معنی داری در میزان کاردیومیوپاتی بین گروه‌های مورد بررسی وجود دارد ($0/93$).

جدول ۲. نتایج تحلیل واریانس چند متغیره بر میزان کاردیومیوپاتی در گروه‌های مختلف

مجدور جزئی اتا	توان مشاهده شده	sig	درجه آزادی مفروض	F	اندازه	اثر
0.930	1	0.000	4	46.856	0.005	گروه ویلیکس لامبادا



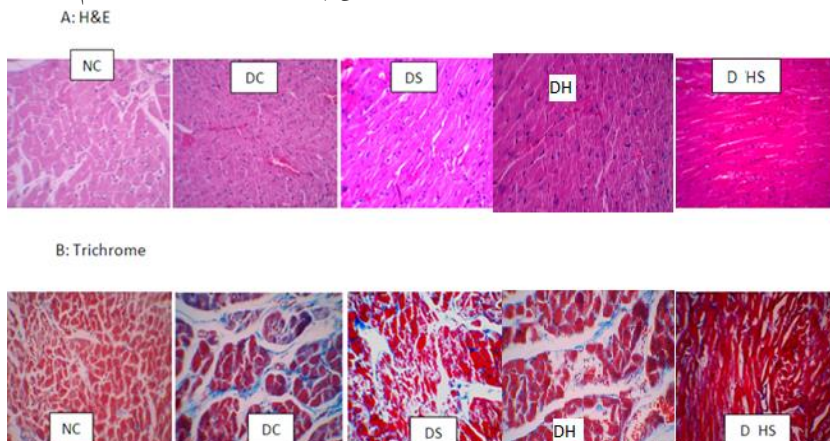
شکل ۱. بیان پروتئین کاسپاز ۳ در میوکارد گروه‌های مورد بررسی.

تصویر بالا: وسترن بلات کاسپاز ۳ در میوکارد موش‌های صحرایی دیابتی کنترل، هیپوکسی متناوب، آویشن دیابتی و ترکیب این دو متغیر پس از ۲۴ ساعت استراحت. نمودار پایین: کمی سازی داده‌های باندها.

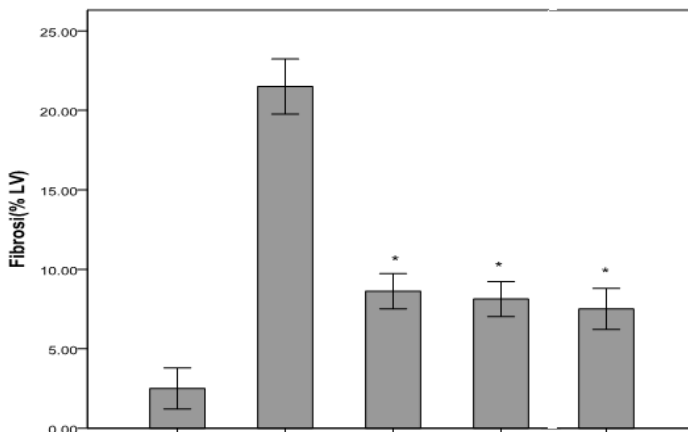
*تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0.025$)

میزان فیبروز قلب موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل شده است ($p < 0.025$) اما بین سه گروه هایپوکسی دیابتی، آویشن دیابتی و ترکیبی دیابتی در این شاخص تفاوت معنی داری وجود ندارد و هر سه به یک میزان فیبروز را کاهش داده‌اند.

همچنین در ادامه تحلیل نتایج همان طور که در شکل ۲ قابل مشاهده است میزان فیبروز در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل در سالم افزایش معنی داری داشته است اما اعمال متغیر مستقل باعث کاهش معنی دار در



C: Quantification



شکل ۲. تصاویر هیستوپاتولوژیک بخشی از بافت قلب، رنگ آمیزی شده به وسیله

A: هماتوکسیلین-ائوزین

B: ماسون تری کروم

C: نمودار کمی سازی فیبروز در پنج گروه کنترل سالم (NC)، کنترل دیابت (DC)، مکمل آویشن دیابت (DS)، و هایپوکسی دیابتی (DH) و ترکیب هیپوکسی، و مکمل آویشن دیابتی (DHS). بزرگنمایی تصاویر ۴۰۰ برابر است.

* تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0.025$)

این دو موجب کاهش میزان گلوکز ناشتا در دیابتی‌ها می‌شود. ولی انسولین ناشتا و شاخص حساسیت انسولینی در گروه آویشن

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد ۸ هفته شب مانی در ارتفاع، مکمل‌یاری آویشن و ترکیب

شده است این یافته ما با یافته‌های فراموشی و همکاران (۱۳۹۶) هم‌خوان است (۲۲).

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس چند متغیری یک‌راهه (مانوا) در جدول ۲ نشان داد که تفاوت معناداری در میزان کاردیومیوپاتی گروه‌های پنج‌گانه وجود دارد ($P < 0.05$). در ادامه شکل ۱ و ۲ که کمی سازی نتایج آزمون تعقیبی بونفرنی است نشان داد که ارتفاع متناوب و مکمل یاری آویشن، موجب کاهش معنادار میزان آپوپتوز نمی‌شود ولی ترکیب این دو موجب کاهش معنی‌دار آپوپتوز شده است ($P < 0.025$). همچنین فیبروز در میوکارد موش‌های صحرایی دیابتی پس از هشت هفته شب مانی در ارتفاع متوسط و متناوب و مصرف آویشن و ترکیب آن‌ها به یک اندازه کاهش معنی‌داری داشتند ($P < 0.025$).

کاردیومیوپاتی بدون علائم بیماری شریان کرونری موجب غیرطبیعی شدن ساختار و عملکرد میوکارد می‌شود (۱). یکی از ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک کاردیومیوپاتی فیبروز است، اختلال در متابولیسم قلبی گلوکز یکی از عوامل پیش برنده فیبروز میوکارد است (۲۳). همان‌گونه که در بخش A و B شکل ۲ مشاهده می‌شود فیبروز (که به رنگ آبی دیده می‌شود) بطن چپ گروه کنترل دیابتی در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و تری کروم به خوبی دیده می‌شود. فیبروز در میوکارد بطن

و گروه ارتفاع تغییر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی نداشته است اما در گروه ترکیبی هردوی این شاخص‌ها افزایش معنی‌دار داشته است ($P < 0.05$). این نتایج نشان می‌دهد هرچند هایپوکسی و آویشن به تنهایی گلوکز ناشتا را کاهش می‌دهد اما قرار گرفتن در معرض ارتفاع مزمن به همراه مصرف آویشن کنترل بیشتری بر روی شاخص‌های دیابتی دارند چراکه علاوه بر کاهش بیشتر و معنی‌دار گلوکز ناشتا موجب افزایش انسولین و حساسیت انسولینی نیز شده است ($P < 0.05$) در حالی که آویشن و هایپوکسی مزمن به تنهایی موجب افزایش انسولین و حساسیت به آن نشده است ($P > 0.05$).

جدول ۱ نشان داد با گذشت زمان و افزایش سن موش‌ها وزن آن‌ها نسبت به اوایل آزمون افزایش معنی‌داری می‌یابد و این افزایش در هر دو گروه دیابت و سالم دیده می‌شود اما در گروه دیابت هایپوکسی و آویشن وزن کاهش معنی‌داری نسبت به این دو گروه نشان می‌دهد و نزدیک وزن اولیه آن‌هاست این بدین معنی است که مصرف آویشن و شب مانی در ارتفاع در کنترل وزن نیز تاثیر معنی‌داری دارد. احتمالاً خاصیت آنتی‌اکسیدانی آویشن موجب کنترل پروفایل لیپیدی شده و هایپوکسی با افزایش حساسیت گیرنده‌های گلوکز در بهبود متابولیسم چربی مؤثر واقع

استرس‌های مختلف، هیپوکسی، افسردگی، گرما، استرس اکسایشی و تیمار با اسیدهای چرب اشباع‌نشده امگا ۳، فرایند تحمل قلب را القا می‌کنند. چندین گزارش مبنی بر اینکه هیپوکسی متناوب (مشابه صعود به ارتفاعات) نیز باعث بروز تحمل به استرس و کاهش مرگ سلولی می‌شود وجود دارد (۲۵). ولی بحث اینکه ارتفاع متناوب موجب آسیب قلب می‌شود یا از قلب محافظت می‌کند همچنان مبهم بوده و نیاز به پژوهش‌های بیشتری است (۲۶). همان‌طور که پیش‌تر بحث شد هیپوکسی مزمن و متناوب با تحریک AMPK و افزایش بیان HIF-1 موجب افزایش محتوای GLUT4 و توان تولید ATP در سلول‌های قلبی شده و حساسیت به انسولین را تحریک می‌کند. افزایش تولید ATP از میزان مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول‌های قلبی می‌کاهد. در مطالعه حاضر اثر محافظتی ارتفاع مزمن متناوب به‌صورت کاهش پروتئین آپوپتوتیک کاسپاز ۳ در کاردیومیوپاتی ناشی از دیابت القاشده با استرپتوزوتوسین دیده شد در اندک یافته‌های ما در ارتباط با این موضوع، یوهه مین لین و همکاران^۱ (۲۰۰۸) در تحقیق خود نشان دادند قرار گرفتن طولانی در شرایط هیپوکسی ۱۲ درصد به مدت ۲ هفته، موجب هیپرتروفی سلول‌های قلبی، به‌هم‌ریختگی سلولی، افزایش فیبروز و فعال شدن

چپ گروه کنترل دیابتی حدود ۴ برابر گروه کنترل سالم بوده است درحالی‌که ارتفاع متناوب و مصرف آویشن این میزان را به بیش از نصف نسبت به گروه کنترل دیابتی تقلیل داده است؛ بنابراین ارتفاع متناوب متوسط و مصرف آویشن موجب پیشگیری از فیبروز و به‌هم‌ریختگی سلولی در میوکارد می‌شود. در دیابتی‌ها اتکای قلب به مصرف اکسیژن و متابولیسم چربی جهت تأمین انرژی بیشتر می‌شود و اکسیداسیون نرمال گلوکز بین ۳۰ تا ۴۰ درصد کاهش پیدا می‌کند، بدین ترتیب عملکرد میوکارد پایین می‌آید که در نهایت منجر به کاردیومیوپاتی می‌شود (۱۶). بنابراین افزایش بیان GLUT4 با تحریک AMPK در شرایط ارتفاع متوسط می‌تواند از اتکای قلب به چربی بکاهد و از بروز فیبروز جلوگیری کند. همچنین همان‌گونه که در بخش پایین شکل ۱ این تحقیق مشاهده می‌شود، دیابت نوع دو موجب آپوپتوز میوکارد (شاخص کاسپاز ۳) می‌شود. از طرفی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان پروتئولیز کاسپاز ۳ در اثر شب مانی در ارتفاع و مصرف هم‌زمان آویشن در بافت قلبی رت-های دیابتی کاهش پیدا می‌کند. القای تحریکات آسیب‌رسان در دوزهای پایین و البته زیر آستانه‌ی آسیب به سلول، پاسخ سازشی القا می‌کند که قلب را در برابر استرس محافظت می‌کند (۲۴). در بین

¹ Yueh-Min Lin et al

ما همسوست. شدت هیپوکسی ۱۴٪ که در تحقیق ما نیز در نظر گرفته شده است نقش محافظتی در قلب ایفا می‌کند. هارتادو و همکاران^۲ (۲۰۱۲) در مقاله مروری خود گزارش کردند که مردمان ساکن تا ارتفاع ۲۵۰۰ متری بسیار کمتر از افراد ساکن سطوح پایین‌تر دچار بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند و مرگ میر ناشی از بیماری‌های قلبی در بین آن‌ها به‌طور معناداری پایین‌تر است (۱۲).

از طرفی مصرف آویشن به‌تنهایی بر میزان آپوپتوز تأثیر معنی‌داری نداشت، این احتمال وجود دارد که اثر آنتی‌اکسیدانی ناشی از این تیمار جهت جلوگیری از آپوپتوز کافی نبوده است. برای اثبات این موضوع نیازمند استفاده از دوزهای متفاوت این عصاره می‌باشد. چندین مطالعه نشان داده‌اند که بالا رفتن ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از طریق افزودن MnSOD قابل‌نفوذ به سلول و بیان بیش‌ازحد کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز-۳ (GPx3) برای کاستن از ROS می‌تواند حساسیت به انسولین را در سلول‌های هدف یا موش‌ها بهبود بخشد (۱۹،۲۷). همچنین برخی تحقیقات نشان دادند فلاونوئیدها در شرایط آزمایشگاهی باعث کاهش ROS شده و باعث فراهم شدن NO می‌شود، که منجر به رگ‌گشایی و گشادکنندگی عروق

کاردیومیوسیت آپوپتوتیک شد درحالی‌که قرار گرفتن در معرض کوتاه‌مدت هیپوکسی موجب کاهش TNF α ، افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl-2, BNIP3 و تنظیم منفی مسیرهای منتهی به آپوپتوزی شد (۱۶). درواقع با توجه به بالا بودن شدت هیپوکسی (۱۸٪) در تحقیق آن‌ها، هیپوکسی طولانی‌مدت موجب ایجاد فیبروز و آپوپتوز شده و از این نظر با یافته‌های تحقیق ما ناهمخوان است. از طرفی در این تحقیق جهت کنترل جنبه استرس اکسیداتیو هایپوکسی مصرف مکمل آویشن پیشنهاد شد و همان‌طور که در شکل ۱ قابل‌مشاهده است از آپوپتوز بیشتر میوکارد پیشگیری کرد. یعنی ارتفاع متوسط و متناوب به‌تنهایی موجب کاهش آپوپتوز نسبت به گروه دیابت شده است ولی وقتی با مصرف آویشن هم‌زمان شد کاهش در میزان آپوپتوز میوکارد بیشتر اتفاق افتاد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که آن‌گونه از گیاهان دارویی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند، ROS ناشی هایپوکسی و دیابت را کاهش می‌دهند و در نتیجه مقاومت انسولینی تقلیل می‌یابد. لی و همکاران^۱ (۲۰۰۶) در تحقیق خود بر روی قلب موش‌های صحرایی نشان دادند که قرار گرفتن کوتاه‌مدت در معرض هیپوکسی متناوب موجب کاهش آپوپتوز می‌شود (۲۶). بنابراین یافته‌های این تحقیق با نتایج تحقیق

² Hurtado et al¹ Lee et al

سازوکار بازخورد مثبت موجب افزایش بیان GLUT4 شود و محتویات میتوکندری در شب مانی به صورت حلقه بازخورد مثبت موجب تحریک بیان پروتئین‌های بالادستی گیرنده‌های گلوکز در قلب شود و یا آن‌ها را فعال سازد (۲۹). دوباره باید تأکید کرد که چون تاکنون تحقیقات اندکی در این مورد انجام شده است جهت اثبات این موضوع به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

همچنین دیگر نتایج به دست آمده از این مطالعه حاکی است که ارتفاع مزمن و مصرف عصاره آویشن به تنهایی و همچنین ترکیب هردوی آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر سطوح سرمی ترانس‌آمینازهای ALT و AST نداشتند است، این یافته ما با یافته‌های احمدپوری و همکاران (۲۰۱۵) (۳۰)، همخوانی ندارد. آن‌ها دریافتند که عصاره آویشن شیرازی در کبد موش‌های صحرایی اثر محافظتی دارد.

همچنین رضایی و همکاران (۲۰۲۲) نیز نشان دادند که عصاره هیدروالکلی سیاه‌دانه و عسل احتمالاً با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت القاشده با STZ را کاهش می‌دهد و موجب کاهش میزان آنزیم‌های کبدی و التهاب بافت کبد می‌گردد (۳۱). آویشن دارای مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فالونوئیدهاست که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان

شده و در بهبود فشارخون بالا مؤثر است (۷،۲۸).

گوش و همکاران^۱ (۲۰۰۵) نشان دادند که افزایش استرس اکسیداتیو متعاقب بیماری دیابت باعث افزایش میزان ROS و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شده و در نتیجه مرگ سلولی یا الگوی آپوپتوز روی می‌دهد. همچنین آن‌ها نشان دادند حضور عوامل آنتی‌اکسیدانی نظیر گلوکاتایون پراکسیداز^۲ نقش دفاعی و محافظتی در کاهش مرگ سلول‌های قلبی متعاقب کاردیومیوپاتی دیابتی دارد و عصاره هسته انگور با بالا بردن دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش آپوپتوز سلول‌های قلبی در کاردیومیوپاتی دیابتی می‌گردد (۶). که با نتایج این بخش از تحقیق حاضر ناهم‌سو است. اما مصرف آویشن در بدتر شدن عواقب استرس اکسیداتیو در حالت هایپوکسی کمک کرد. روش مصرف هم‌زمان آویشن و شب مانی در ارتفاع همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود تأثیر یکسانی بر فیبروز موش‌های صحرایی در مقایسه با گروه آویشن و هایپوکسی گذاشته است ولی اثر مضاعفی در پیشگیری از میزان آپوپتوز نسبت به گروه کنترل داشته است که در مورد سازوکار آن در بخش‌های قبلی بحث شده است. اما فرضیه دیگری که ممکن است دلیل تأثیر معنی‌دار ترکیب آویشن و ارتفاع بر میزان کاردیومیوپاتی باشد این است که شاید

² Glutathione peroxidase¹ Ghosh et al

کاردیومیوپاتی قلب مؤثر واقع شود درعین حال می‌تواند به‌عنوان یک استرس اکسیداتیو نیز قلمداد شود و فعالیت آنزیم‌های کبدی را افزایش دهد که با مصرف یک آنتی‌اکسیدان مثل آویشن می‌توان از افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی در شرایط ارتفاع متوسط جلوگیری کرد.

نتیجه‌گیری

ارتفاع شبیه‌سازی شده متوسط و مصرف آویشن در این تحقیق موجب کاهش قند خون ناشتا شد و از طرفی با کاهش آپوتوز و فیبروز موجب پیشگیری از کاردیومیوپاتی در قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو شد اما این دو متغیر موجب کاهش معنی‌دار آنزیم‌های ALT و AST نشدند هرچند از افزایش بیشتر این آنزیم‌ها در شرایط دیابت و هایپوکسی جلوگیری کردند. البته با توجه به شواهد اندک در این زمینه به تحقیقات تکمیلی بیشتری نیاز است

ترکیبات تانن، فالونوئید، ساپونین و تیمول را نام برد (۷). ممکن است هایپوکسی و هایپرگلیسمی موجب القای استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شود و عصاره آویشن به جلوگیری از آن کمک کند، و همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مکمل آویشن مانع از افزایش زیاد آنزیم‌های کبدی شده است یعنی اگر فقط دیابت القا شده بود ممکن بود آویشن اثر دیابت بر کبد را کنترل کند همچنان که آویشن به‌تنهایی موجب کاهش معنی‌دار آنزیم ALT در موش‌های دیابتی شده است. (جدول شماره ۱) اما در گروه هایپوکسی و ترکیبی آنزیم‌های کبدی کاهش معنی‌داری نسب به گروه کنترل نداشته‌اند و این نشان می‌دهد هایپوکسی به‌تنهایی و مستقل از دیابتی شدن می‌تواند فعالیت آنزیم‌های کبدی را افزایش دهد اما مصرف آویشن از این امر جلوگیری کرده است، درواقع می‌توان گفت هرچند صعود به ارتفاع بالا می‌تواند بر

منابع

1. Ramesh P, Yeo JL, Brady EM, McCann GP. Role of inflammation in diabetic cardiomyopathy. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. 2022;13:20-42.
2. Rubler, S., Dlugash, J., Yuceoglu, Y. Z., Kumral, T., Branwood AW and G. New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. *Am J Cardiol*. 1972;30:595-602.
3. Holten MK, Zacho M, Gaster M, Juel C, Wojtaszewski JFP, Dela F. Strength Training Increases Insulin-Mediated Glucose Uptake, GLUT4

- Content, and Insulin Signaling in Skeletal Muscle in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2004;53(2):294–305.
4. Zhou Y, Suo W, Zhang X, Yang Y, Zhao W, Li H, et al. Targeting epigenetics in diabetic cardiomyopathy: Therapeutic potential of flavonoids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023;157:114025.
 5. Van De Weijer T, Schrauwen-Hinderling VB, Schrauwen P. Lipotoxicity in type 2 diabetic cardiomyopathy. *Cardiovascular Research*. 2011;92(1):10–8.
 6. Ghosh S, Pulinilkunnil T, Yuen G, Kewalramani G, An D, Qi D, et al. Cardiomyocyte apoptosis induced by short-term diabetes requires mitochondrial GSH depletion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289:768–76.
 7. Koochi-Hosseiniabadi O, Moini M, Safarpour A, Derakhshanfar A, Sepehrimanesh M. Effects of dietary *Thymus vulgaris* extract alone or with atorvastatin on the liver, kidney, heart, and brain histopathological features in diabetic and hyperlipidemic male rats. *Comparative Clinical Pathology*. 2015;24(6):1311–5.
 8. O’gorman DJ, Karlsson HKR, McQuaid S, Yousif O, Rahman Y, Gasparro D, et al. Exercise training increases insulin-stimulated glucose disposal and GLUT4 (SLC2A4) protein content in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2006;49(12):2983–92.
 9. Chou S-W, Chiu L-L, Cho Y-M, Ho H-Y, Ivy JL, Ho C-F, et al. Effect of systemic hypoxia on GLUT4 protein expression in exercised rat heart. *The Japanese journal of physiology*. 2004;54(4):357–63.
 10. Faeh D, Gutzwiller F, Bopp M. Lower mortality from coronary heart disease and stroke at higher altitudes in Switzerland. *Circulation*. 2009;120(6):495–501.
 11. Chou S-W, Chiu L-L, Cho Y-M, Ho H-Y, Ivy JL, Ho C-F, et al. Effect of systemic hypoxia on GLUT4 protein expression in exercised rat heart. *The Japanese journal of physiology*. 2004;54(4):357–63. Available
 12. Hurtado A, Escudero E, Pando J, Sharma S, Johnson RJ. Cardiovascular and renal effects of chronic exposure to high altitude. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2012;27(4):11–6. 04
 13. Liang H, Yan J, Song K. Comprehensive lipidomic analysis reveals regulation of glyceride metabolism in rat visceral adipose tissue by

- high-altitude chronic hypoxia. *Plos one*. 2022;17(5):e0267513.
14. Winkelmayer W, Hurley M, JLiou J, MA B. Altitude and the risk of cardiovascular events in incident US dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:2411–7.
 15. Larsen JJ, Hansen JM, Olsen NV, Galbo H, Dela F. The effect of altitude hypoxia on glucose homeostasis in men. *J Physiol*. 1997;504:241–9.
 16. Lin YM, Huang SK, Wang HF, Chen LM, Tsai FJ, Hsu HH, et al. Short-term versus long-term intermittent hypobaric hypoxia on cardiac fibrosis and fas death receptor dependent apoptotic pathway in rat hearts. *Chinese Journal of Physiology*. 2008;51(5):308–16.
 17. Azali Alamdari K, Rohani H. Effects of Normobaric and Hypobaric Endurance Training on Metabolic Risk Factors in Midlife Men. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2015;17(2):113-123(full text in persian).
 18. Chiu LL, Chou SW, Cho YM, Ho HY, Ivy JL, Hunt D, et al. Effect of prolonged intermittent hypoxia and exercise training on glucose tolerance and muscle GLUT4 protein expression in rats. *Journal of Biomedical Science*. 2004;11(6):838–46.
 19. Ikemura M, Hyoudou K, Kobayashi Y, Yamashita F, and Hashida M NM. Improvement of insulin resistance by removal of systemic hydrogen peroxide by PEGylated catalase in obese mice. *Molecular Pharmacology*. 2010;7(6):2069–76.
 20. Faramoushi M, AmirSasan R, SariSarraf V. Effect of Thymus migrificus Extract Supplementation on the Metabolic, Hematologic and Oxidative Indices in Type 2 Diabetic Rats. Vol. 19, *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2019(full text in persian).
 21. Mackenzie R, Maxwell N, Castle P, Elliott B, Brickley G, Watt P. Intermittent exercise with and without hypoxia improves insulin sensitivity in individuals with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(4):546–55.
 22. Faramoushi M, Sasan RA, Sarraf VS, Karimi P. Cardiac fibrosis and down regulation of GLUT4 in experimental diabetic cardiomyopathy are ameliorated by chronic exposures to intermittent altitude. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*. 2016;8(1):26–33.
 23. Prabhakar NR, Semenza GL. Adaptive and Maladaptive Cardiorespiratory Responses to Continuous and Intermittent Hypoxia

- Mediated by Hypoxia-Inducible Factors 1 and 2. *Physiological Reviews*. 2012;92(3):967–1003.
24. Burtscher M. Effects of Living at Higher Altitudes on Mortality, A Narrative Review. *aging and disease*. 2014;5(4):274–80.
 25. Meng XY, Yu HL, Guo M, Zhang WC, Xu RC. The effects of intermittent hypobaric hypoxia on myocardial ischemia/reperfusion injury and ZFP580 expression. *Chinese journal of applied physiology*. 2014;30(5):396–400.
 26. Lee S-D, Kuo W-W, Wu C-H, Lin Y-M, Lin JA, Lu M-C, et al. Effects of short-and long-term hypobaric hypoxia on Bcl2 family in rat heart. *International journal of cardiology*. 2006;108(3):376–84.
 27. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell*. 2006;127(6):1109–22.
 28. Gonzales GF, Chung F a, Miranda S, Valdez LB, Zaobornyj T, Bustamante J, et al. Heart mitochondrial nitric oxide synthase is upregulated in male rats exposed to high altitude (4,340 m). *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2005;288(6):H2568–73.
 29. Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise Training-Induced Regulation of Mitochondrial Quality. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 2012;40(3):159–64.
 30. Ahmadipour A, Sharififar F, Najafi A, Atashbar J, Karami-Mohajeri S. Preventive effect of methanolic extract of *Zataria Multiflora* Boiss on liver toxicity of paracetamol in rats. *Journal of Medicine and Life*. 2015;8(4):270.
 31. Rezaei Z, Mokhtari M, Shariati M. The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Sativa Nigella* and Honey on Liver Enzymes (AST, ALT, ALP) in Adult Male Rats Following Induction of Diabetes Mellitus 2. *Alborz-Health*. 2022 Mar 1;11(2):197–206.



Metabolism and Exercise

A biannual journal

Vol 12, Number 2, 2023



The effect of simulating staying at moderate altitude with thyme consumption on cardiomyopathy and liver enzymes in Rats with type 2 diabetes

Faramoushi M^{*1}, Amirsasan R², Sari Sarraf V²

Received: 29/03/2023

Accepted: 08/04/2023

Published: 24/06/2023

Introduction: The aim of study was to investigate the effect of simulating staying at medium altitude along with consumption of thyme on the cardiomyopathy rate of type 2 diabetic rats and their simultaneous effect on liver enzymes.

Methods: For this purpose, 40 three-month-old rats (initial weight 220 ± 20 grams) were divided into five groups of eight: 1- healthy control (NC), 2- diabetic (D), 3- diabetic + thyme (D + Th), 4- diabetic + hypoxia (D + H) 5-diabetes + hypoxia + thyme (D+H+Th) were divided. In order to induce type 2 diabetes, streptozotocin was injected intraperitoneally at a dose of 37 mg/kg. The moderate altitude group was alternately placed for eight weeks in night sleep conditions at a simulated altitude in a hypoxia chamber, and thyme group was supplemented with thyme in the form of 400 mg/kg of hydroalcoholic extract in 30 ml of drinking water. Cardiomyopathy was measured through two indices of apoptosis (western blot) and fibrosis (staining) of the myocardium, and diabetic indices, liver enzymes using methods Calorimetry was measured by biochemistry company.

Results: The results showed that 8 weeks altitude, thyme supplement and the combination reduce the fasting glucose level in diabetics ($P < 0.05$). Also, the results of the multivariate analysis of variance test showed Apoptosis and fibrosis showed a significant decrease in myocardial type 2 diabetes with exposure to high altitude and simultaneous consumption of thyme ($p < 0.025$). Also, moderate altitude and consumption of thyme extract had no significant effect on the serum levels of ALT and AST transaminases.

Conclusion: Simulated moderate altitude and consumption of thyme in this research decreased fasting blood sugar and on the other hand, by reducing apoptosis and fibrosis, it prevented cardiomyopathy in the heart of type 2 diabetic rats, but these two variables did not cause a significant decrease in ALT and AST enzymes.

Keywords: moderate altitude, Thyme, Cardiomyopathy, Liver enzymes, Type II diabetes

1. Exercise Physiology, Faculty of Multimedia, Tabriz Islamic Art University, Tabriz, Iran. 2. Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz.

* Multimedia Faculty, Tabriz Islamic Art University, Azadi Rd, Tabriz, Iran. Zip code: 51647/36931, Fax: 04135419969, Tel: +989144263813, Email: m.faramoushi@tabriziau.ac.ir

