

Research Paper:

Effect of Eight Weeks of Endurance Training and Stevia Supplementation on Atrial Natriuretic Peptide and β -Myosin Heavy Chain Expression Levels in Heart Tissue of Rats With Type 1 Diabetes



Kobra Soleymani¹, *Asieh Abbassi Dalooi¹, Ali Reza Barari¹, Ayoub Saeidi²

1. Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.



Citation Soleymani K, Abbassi Dalooi A, Barari AR, Saeidi A. Effect of Eight Weeks of Endurance Training and Stevia Supplementation on Atrial Natriuretic Peptide and β -Myosin Heavy Chain Expression Levels in Heart Tissue of Rats With Type 1 Diabetes. Journal of Inflammatory Diseases. 2020; 24(4):308-319. <https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.4.3>

doi <https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.4.3>



Received: 8 Jul 2020
Accepted: 24 Aug 2020
Available Online: 01 Oct 2020

Keywords:

Type 1 diabetes, Exercise, Stevia, Atrial natriuretic peptide, β -Myosin heavy chain, Heart tissue

ABSTRACT

Background The effects of exercise and stevia extract on diabetes-related indicators have been already reported, but their cardiac benefits on Type 1 Diabetes (T1D) are unclear.

Objective This study aims to evaluate the effect of eight weeks of endurance training and stevia supplementation on gene expression levels of Atrial Natriuretic Peptide (ANP) and β -Myosin Heavy Chain (β -MHC) in the heart tissue of T1D rats.

Methods In this experimental study, 25 rats with the average weight of 250-300 g were divided into five groups; healthy control, diabetic control, diabetic+supplementation, diabetic+training, and diabetic+training+supplementation. T1D was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (55 mg/kg/ body weight). Endurance training was performed 5 days a week at a speed of 20-30 meters per minute on a surface with a zero slope for 8 weeks. Stevia was gavaged in a dose of 250 mg/kg/body weight. Rats were slaughtered 48 hours after the last training session. Cardiac tissue was used to measure the parameters. The gene expression of ANP and β -MHC in cardiac tissue was measured by real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Data were analyzed by using one-way ANOVA and Bonferroni post hoc test.

Findings The gene expression levels of ANP and β -MHC were significantly higher in the diabetic control group compared to the healthy control group ($P=0.001$), and significantly lower in the diabetic+training and diabetic+training+supplementation groups compared to the diabetic control group ($P=0.001$).

Conclusion Endurance training and stevia supplementation can have beneficial effects on the heart of T1D rats.

Extended Abstract

1. Introduction

H

Heart disease is one of the main complications of Type 1 Diabetes (T1D). In patients with T1D, Atrial Natriuretic Peptide (ANP) level is elevated associated with

concomitant microalbuminuria, poor glycemic control, hypertension, and increased risk of cardiovascular diseases [5]. Myosins are a family of adenosine triphosphate-dependent proteins that play a major role in skeletal and cardiac muscle contraction [9]. Two isoforms that are expressed in mammalian hearts are α -Myosin Heavy Chain (α -MHC) and β -Myosin Heavy Chain (β -MHC). Following stressors such as diabetes and high blood pressure, the

*** Corresponding Author:**

Asieh Abbassi Dalooi

Address: Department of Physical Education and Sport Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Tel: +98 (911) 1274366

E-Mail: abbasi.dalooi@gmail.com

alpha type is mainly converted to beta type. In people with heart failure, β -MHC expression is highly reduced [12].

The positive effects of regular exercise on various diseases, including T1D have been already reported [13]. Effects of cardiac protection following voluntary physical activity on myosin heavy chain gene in elderly rats have also been reported [14]. However, increased and decreased ANP gene expression in cardiac tissue was reported in male Wistar rats after 8 weeks of resistance training [15] and 6 weeks of low-intensity periodic training [16], respectively.

The *Stevia rebaudiana* herbal plant as a sweet food additive has many benefits for humans [17]. Stable effects with zero calories and the possibility of using it for diabetic patients are among the advantages of this plant [18]. Therefore, the use of this natural sweetener in food products, especially for people with diabetes, has become very important to be responsive to the desire in them to eat sweets [19].

Many studies have emphasized the effect of exercise therapy on diabetics who are at risk for cardiovascular disease [20, 21]. However, studies on the effect of aerobic exercises and herbal supplements on gene expression of factors affecting cardiac function are limited, especially in T1D subjects. Therefore, the present study aims to investigate the effect of eight weeks of endurance training and stevia supplementation on ANP and β -MHC gene expression in heart tissue of rats with T1D.

2. Materials and Methods

This is an experimental study conducted on 25 Wistar rats (weighting 250-300 g) prepared from the Islamic Azad University of Marvdasht Branch. They were divided into five groups; healthy control, diabetic control, diabetic+supplementation, diabetic+training, and diabetic+training+supplementation. Rats were given an intraperitoneal injection of streptozotocin (55 mg/kg/body weight) to induce diabetes. Endurance training was performed 5 days a week at a speed of 20-30 meters per minute on a surface with a zero slope for 8 weeks. Stevia was gavaged in a dose of 250 mg/kg/body weight [22]. Rats were slaughtered 48 hours after the last training session. Cardiac tissue was used to analyze the parameters. The gene expression of ANP and β -MHC in cardiac tissue was measured by real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Data were analyzed by one-way ANOVA and Bonferroni post hoc test considering a significance level of $P < 0.05$.

3. Results

The results showed that the gene expression of ANP and β -MHC in the heart tissue of diabetic control rats were significantly higher than in the healthy control group ($P = 0.001$). Endurance training and the combination of endurance training and stevia supplementation significantly reduced ANP and β -MHC levels in cardiac tissue of diabetic rats compared to the diabetic controls ($P = 0.001$).

4. Discussion

The ANP changes during exercise depends on the amount of dopamine, intensity and duration of activity, the amount of catecholamines, body condition during exercise, and hypoxic conditions [23-25]. The main reason for ANP level increase may be the stretched cardiac muscle due to increased atrial dimensions. During exercise, increase in the atrial dilatation may be due to central blood volume, in proportion to which atrial pressure increases ANP [26]. Therefore, exercise may reduce ANP level by modulating this pressure [27]. ANP levels in cardiac patients are high due to increased cardiac afterload. In the present study, endurance training reduced ANP gene expression in cardiac tissue of rats by reducing afterload. Regarding the mechanism of how endurance training affect β -MHC level in heart tissue, it has been shown that endurance training affect heart mass size and Pur and beta gene expression, and it seems that change in heart mass after endurance training is associated with MHC isoform expression [32].

Endurance training and the combination of endurance training and stevia supplementation may lead to significant reduction in β -MHC of T1D rats. Stevia has a variety of vitamins, especially vitamins A and C, as well as many antioxidant elements such as selenium, cobalt and chromium. It also contains protein, fiber, carbohydrates, phosphorus, iron, calcium and sodium [31]. It is possible that the dose of stevia supplementation may affect the results such that clearer results can be obtained by changing its dosage. There were some limitations in the present study, including the lack of dopamine and the catecholamines measurement. Endurance training and stevia supplementation are recommended due to its possible beneficial effects on the heart of T1D rats.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study obtained its ethical approval from the Research Ethics Committee of Islamic Azad University of Marvdasht Branch in Iran (Code: IR.IAU.M.REC.1399.015).

Funding

This study was extracted from the PhD. dissertation of the first author approved by the Department of Physical Education and Sport Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol.

Authors' contributions

Conceptualization, supervision, and methodology: Asieh Abbassi Dalooi; Methodology, draft preparation, and data analysis: All authors; Editing & review: Kobra Soleymani, Ali Reza Barari and Ayoub Saeidi.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors would like to thank the participants and the Faculty of Physical Education and Sports Sciences at Islamic Azad University of Ayatollah Amoli Branch for their cooperation.

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل استویا بر بیان ژن ANP و b-MHC بافت قلب در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱

کبری سلیمانی^۱، آسیه عباسی دلویی^۱، علیرضا براری^۱، ایوب سعیدی^۲

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

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

چکیده

زمینه: اثرات مفید فعالیت ورزشی و عصاره گیاه استویا بر بهبود شاخص‌های مرتبط با دیابت گزارش شده است. با این حال مزایای قلبی فعالیت ورزشی و عصاره گیاه استویا در دیابت نوع ۱ مشخص نیست.

هدف: هدف از این تحقیق، تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل استویا بر بیان ژن ANP و b-MHC بافت قلب در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش صحرایی با میانگین وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به پنج گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی نوع ۱، دیابتی نوع ۱+استویا، دیابتی نوع ۱+تمرین استقامتی و دیابتی نوع ۱+تمرین استقامتی+استویا تقسیم شدند. موش‌های صحرایی با استفاده از استرپتوزوتوسین به صورت تک‌دز ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به صورت درون‌صفاقی دیابتی نوع ۱ شدند. تمرین استقامتی، پنج روز در هفته با سرعت ۲۰ تا ۳۰ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه به مدت هشت هفته اجرا شد. دز مصرفی استویا ۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ بود. کشتار موش‌های صحرایی ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین انجام شد. بافت قلب برای آنالیز شاخص‌ها مورد استفاده قرار گرفت. بیان ژن‌های ANP و b-MHC بافت قلب به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیان ژن ANP و b-MHC بافت قلب موش‌های صحرایی کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=0/001$). همچنین بیان ژن ANP و b-MHC بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه دیابتی نوع ۱+تمرین استقامتی و دیابتی نوع ۱+تمرین استقامتی+استویا نسبت به گروه دیابتی کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/001$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، مداخله تمرین استقامتی و مکمل استویا می‌تواند مزایای قلبی برای موش‌های دیابتی نوع ۱ به همراه داشته باشد.

تاریخ دریافت: ۱۸ تیر ۹۹

تاریخ پذیرش: ۰۳ شهریور ۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ مهر ۱۳۹۹

کلیدواژه‌ها:

دیابت نوع ۱، تمرین هوازی، استویا، ANP، b-MHC، بافت قلب

مقدمه

پیتید دفع‌کننده سدیم دهلیزی^۱ عمدتاً از میوسیت‌های دهلیزی در پاسخ به کشش دهلیزی ترشح می‌شود، دفع سدیم و آب از کلیه را تنظیم می‌کند و با افزایش دفع سدیم و آب فشار خون سیستمیک را کاهش می‌دهد [۱]. این هورمون اثرات خود را مستقیماً در سیستم کلیوی و قلبی عروقی و همچنین از طریق مهار سیستم رنین - آنژیوتانسین - آلدوسترون^۲ و فعالیت سمپاتیک اعمال می‌کند و با القای مدولاسیون اندوتلیال، باعث گشاد شدن عروق، افزایش جریان خون کلیوی و فیلتراسیون

1. Atrial Natriuretic Peptide (ANP)
2. Renin - Angiotensin System (RAAS)

* نویسنده مسئول:

آسیه عباسی دلویی

نشانی: آمل، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: ۹۸۶۶۴۳۶۶ (۹۱۱) ۹۸+

رایانامه: abbasi.dalooii@gmail.com

گلومرولی می‌شود [۲، ۳]. با وجود عمل هورمونی مفید ANP، غلظت‌های بالای آن ممکن است منعکس‌کننده حساسیت‌پذیری کم یا افزایش رها شدن آن به دلیل بیماری قلبی باشد و تا حدودی توضیح می‌دهد که چرا غلظت‌های بالاتر با پیامدهای بدتر همراه است [۴]. بیماری قلبی ناشی از دیابت، یکی از عوارض اصلی دیابت نوع ۱ است. در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱، غلظت ANP بالا می‌رود و با میکروآلبومینوری هم‌زمان، کنترل ضعیف گلیسمی، فشار خون بالا و افزایش خطر بروز حوادث قلبی عروقی همراه است [۵]. علاوه بر این، سطح بالاتر ANP با سختی شریانی و افزایش مرگ‌ومیر در بیماران حاد بستری‌نشده، نارسایی قلبی و بیماری ایسکمیک قلب مرتبط است [۶-۸]. میوزین‌ها نیز خانواده‌ای از

استفاده از این شیرین‌کننده طبیعی در محصولات غذایی به‌ویژه برای استفاده افراد مبتلا به دیابت اهمیت زیادی پیدا کرده است تا به میل خوردن مواد شیرین در آن‌ها نیز پاسخ‌گو باشد [۱۹].

یافتن مکمل‌های غذایی که به بدن و از جمله بافت قلب در مقابله با بیماری‌های قلبی در آزمودنی‌های دیابتی کمک کند از اهمیت زیادی برخوردار است. از طرف دیگر با توجه به شیوع بالای بیماری‌های قلبی در آزمودنی‌های دیابتی، درباره کنترل و درمان این اختلال توسط مداخلات ورزشی، تحقیقات کمی انجام گرفته است. همچنین بسیاری از تحقیقات بر تأثیر راهکار غیردارویی ورزش بر افراد دیابتی که در معرض ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی قرار دارند، تأکید دارند [۲۱، ۲۰]. بنابراین استفاده از ورزش با توجه به اثرات بالقوه مفید آن می‌تواند برای این امر مفید باشد. با این حال، یافته‌ها در خصوص اثربخشی تمرین هوازی و مکمل‌های گیاهی در خصوص بیان ژن عوامل اثرگذار بر کارکردهای قلبی به‌ویژه در آزمودنی‌های دیابتی نوع ۱ محدود است. همان‌طور که ذکر شد، نتایج برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که با افزایش فعالیت بدنی شرایط در بیماران دیابتی بهبود می‌یابد، ولی اینکه این بهبودی از چه طریق و با چه مکانیسمی ایجاد می‌شود دقیقاً مشخص نیست و نیاز به بررسی ابعاد مختلف دارد؛ بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل استویا بر بیان ژن *ANP* و *b-MHC* بافت قلب در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، یک مطالعه تجربی-آزمایشگاهی است که در آن امکان کنترل عوامل تأثیرگذار بر نتایج تحقیق بوده است. طرح تحقیق از نوع پس‌آزمون با گروه کنترل است. در این مطالعه موش‌های صحرایی آزمایشگاهی در سن ۶-۸ هفته با میانگین وزنی 180 ± 10 گرم از انستیتو پاستور شاهرود در سال ۱۳۹۸ در محیط آزمایشگاهی به مدت چهار هفته با غذای پرچیره (۷۰ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن روزانه) تغذیه شدند. وزن موش‌های صحرایی بعد از دوازده هفته به ۲۴۰ تا ۲۵۰ گرم رسید. حجم نمونه با در نظر گرفتن $\alpha = 0/05$ و $\beta = 0/1$ با استفاده از فرمول شماره ۱ با رعایت توان ۸۰ درصد و سطح منحنی‌داری ۵ درصد، با فرض ناهمگونی واریانس (منجر به حجم نمونه بالاتر نسبت به وضعیت همگنی واریانس می‌شود) و با فرض آنکه مقدار استاندارد شده اندازه اثر $\Delta = 0/175^4$ و همچنین نسبت واریانس‌های دو گروه برابر $Z = 1/5$ است و یکسان در نظر گرفتن تعداد اعضای گروه شاهد و مداخله ($\Phi = 1$)، محاسبه شد. در این فرمول α ، خطای نوع اول و برابر با $0/05$ ، β ، خطای نوع دوم و برابر با $0/2$ است.

پروتئین‌های وابسته به آدنوزین تری فسفات^۲ هستند که در انقباض عضله اسکلتی و قلبی، نقش اصلی را ایفا می‌کنند [۹]. دو ایزوفرم در قلب پستانداران با نام‌های α MHC و *b-MHC* بیان می‌شود. حضور آنزیم ATPase در این زنجیره پروتئینی، سرعت انقباض آن‌ها را کنترل می‌کند؛ به طوری که میزان فعالیت ATPase نوع آلفا، دو تا سه برابر فعالیت ATPase نوع بتا است [۱۰]. در پی عوامل استرس‌زا مانند دیابت و فشار خون طولانی، نوع آلفای این پروتئین عمدتاً به نوع بتا تبدیل می‌شود. این تغییر خیلی سریع رخ می‌دهد؛ به طوری که مشخص شده یک هفته بعد از بیماری دیابت، این تغییر در تبدیل نوع تارها آغاز می‌شود [۱۱]. همچنین در افراد دچار نارسایی قلبی، میزان بیان ATPase نوع بتا به شدت کاهش می‌یابد؛ به طوری که ردیابی آن غیرممکن می‌شود [۱۲].

اثرات مثبت فعالیت ورزشی منظم در برابر بیماری‌های مختلف از جمله دیابت نوع ۱ مشخص شده است [۱۳]. همچنین نشان داده شده است که فعالیت ورزشی منظم با بهبود شاخص‌های قلبی همراه است. در همین راستا، در تحقیقی بر اثرات حفاظت قلبی فعالیت بدنی اختیاری بر تغییرات بیان ژن زنجیره سنگین میوزین قلبی در موش‌های صحرایی سالمند تأکید شده است [۱۴]. با این حال، افزایش و کاهش بیان ژن *ANP* در بافت قلب در موش‌های نر ویستار به ترتیب پس از هشت هفته تمرین مقاومتی و شش هفته تمرین تناوبی با شدت پایین گزارش شده است [۱۵]. [۱۶]. گرچه دستگاه قلبی عروقی یکی از مهم‌ترین اهداف فعالیت ورزشی است، مکانیسم‌های عمل مولکولی مسیرهای قلبی و ورزش هوازی در قلب بیماران دیابتی تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است.

از طرفی، در سال‌های اخیر تمایل زیادی به بررسی اثرات فیزیولوژی و فارماکولوژی عصاره‌های گیاهی و استفاده از مکمل‌های گیاهی در جهان و به‌خصوص در ایران ایجاد شده است. گیاه دارویی استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* متعلق به تیره کاسنی بومی پاراگوئه و برزیل بوده و در ارتفاع ۲۰۰ تا ۵۰۰ متری از سطح دریا می‌روید. برگ‌های استویا مجموعه‌ای از گلیکوزیدهای دی‌ترین با عنوان گلیکوزیدهای استویول دارند. استویوزید یکی از اصلی‌ترین گلیکوزیدهای موجود در این گیاه است که ۱۱۰ تا ۲۷۰ بار شیرین‌تر از ساکاروز است. گلیکوزیدهای گیاه استویا به عنوان یک افزودنی غذایی شیرین و کم‌کالری برای انسان مزایای بسیار متنوعی دارد [۱۷]. پایداری، بدون کالری بودن و امکان استفاده از آن برای بیماران دیابتی و مبتلایان به فشار خون بالا و چاق از محاسن این ماده به شمار می‌رود. این گلیکوزید دارای عطر و طعم مطلوب است و می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی برای شکرهای مصنوعی و رژیمی نظیر ساخارین و آسپارتام باشد. همچنین به دلیل داشتن کالری کم می‌تواند به عنوان یک ترکیب رژیمی به کار برده شود [۱۸]. از این رو امروزه

جدول ۱. پروتکل تمرین

زمان	آشناسازی پنج‌روزه (هفته ۱)	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶	هفته ۷	هفته ۸
سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۰
مدت (دقیقه)	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵

مجله
بیماری‌های التهابی

کنترل نیز به مدت هشت هفته در قفس نگهداری شدند و در هیچ تمرینی شرکت داده نشدند. در تحقیق حاضر تردمیل مورد استفاده پنج‌پانده بود که برای بار اول پنج سر موش صحرایی در آن جهت تمرین قرار داده شدند. بار تمرینی برای گروه‌های تمرین پس از آشناسازی پنج‌روزه در هفته اول، در هفته دوم و سوم دویدن با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه، هفته چهارم و پنجم ۲۵ متر بر دقیقه و هفته ششم تا هشتم سرعت ۳۰ متر بر دقیقه بود (جدول شماره ۱).

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، موش‌های صحرایی مورد مطالعه در هر گروه با تزریق درون‌صفافی کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس از بافت قلب موش‌های صحرایی نمونه‌برداری شد و پس از شست‌وشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNA later با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور شد و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد.

اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای موردنظر از بافت قلب به وسیله تکنیک Real time-PCR انجام شد و پس از کمی‌سازی، مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تجزیه و تحلیل شد. RNA total بافت قلب پس از گذشت زمان گرمخانه‌گذاری (در حضور ۵ درصد CO_2 و فشار ۹۵ درصد اتمسفر) برای سنجش کمی میزان بیان ژن ANP و b-MHC با استفاده از کیت ستونی RNA استخراج شد و پس از آن با استفاده از کیت سنتز (Complementary DNA) به cDNA تبدیل شد و در نهایت ژن‌های یادشده برای استفاده از Applied Biosystems, Sequence Detec- (Applied Biosystems, Green در دستگاه ABI Step One tion Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده اندازه‌گیری انجام گرفت. در ضمن در این مطالعه از ژن GAPDH به عنوان ژن پایه و کنترل استفاده شد. واکنش PCR با توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۲ ذکر شده است.

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از اینکه طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص شد، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات سطح بیان ژن گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای تغییرات درون‌گروهی و آزمون تعقیبی بونفرونی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده

۱.

$$\frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)(Z\alpha/2 + Z\beta)^2}{2\Delta}$$

پس از تعیین حجم نمونه، گروه‌ها به طور تصادفی به پنج گروه شامل کنترل سالم، دیابتی نوع ۱، دیابتی نوع ۱+مکمل استویا، دیابتی نوع ۱+تمرین استقامتی و دیابتی نوع ۱+مکمل استویا+تمرین استقامتی (هر کدام پنج سر) تقسیم شدند. آزمودنی‌ها در طی مراحل پژوهش در گروه‌های مختلف در قفس‌های استاندارد، پلی‌کربنات شفاف به ابعاد $15 \times 15 \times 30$ سانتی‌متر (ساخت شرکت صنایع رازی راد) قرار گرفتند. در هر قفس دو موش صحرایی با دمای محیط 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50 ± 5 درصد به همراه تهویه مناسب و و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ نگهداری می‌شد. برای جذب ادرار و مدفوع نمونه‌ها و راحتی آن‌ها از تراشه و بریده‌های چوب استریل استفاده شد. هر روز شست‌وشوی قفس‌ها انجام و تراشه‌های چوب نیز تعویض می‌شد. در این پژوهش غذای نمونه‌های مورد آزمایش، تولید شرکت مینو صباح بود که روزانه در قفس قرار داده می‌شد. آب مورد نیاز نمونه‌ها به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه نمونه‌های آزمایشگاهی در اختیار نمونه‌ها قرار گرفت. در این تحقیق اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مدنظر قرار گرفت. همه آزمایشات بر اساس خط‌مشی‌های قرارداد هلسینکی اجرا شد.

جهت دیابتی کردن موش‌های صحرایی مقدار استرپتوزوتوسین تزریقی ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت تزریق صفاقی انجام شد. جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر (مدل Active، شرکت Accu-Chek ساخت آلمان) و نمونه خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی موش‌ها، اندازه‌گیری شد و موش‌های صحرایی که قند خون آن‌ها بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود دیابتی نوع ۱ محسوب شدند. گروه‌های مداخله طی دوره، مقدار مکمل استویا را به میزان ۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ دریافت کردند. در این مطالعه از عصاره آبی گیاه استویا (ساخت شرکت داروسازی گیاه اسانس) استفاده شد [۲۲]. در این تحقیق گروه‌های تمرینی به اجرای هشت هفته (پنج روز در هفته با سرعت ۲۰ تا ۳۰ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه) تمرین هوازی پرداختند و گروه‌های

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول Amplicon
ANP	Forward	GAGGAGAAGATGCCGCTAG	bp ۱۰۴
	Reverse	CTAGAGAGGGAGCTAAGTG	
bMHC	Forward	TGAAGCTTACCCAGGAGGCATCATGG	bp ۱۰۴
	Reverse	AAGAATTCTTGGAGAAGCTTGGTCC	
GAPDH	Forward	CAAGTTC AAGGGCACAGTCA	bp ۱۰۴
	Reverse	CCCCATTTGATGTTAGCGGG	

مجله
بیماری‌های تنهائی

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

متغیر	میانگین \pm انحراف معیار			
	کنترل سالم	کنترل دیابتی	استویا	دیابتی + تمرین + استویا
وزن اولیه (گرم)	۲۴۹/۱ \pm ۲۴/۱	۲۵۲/۲ \pm ۴/۱	۲۵۲/۸ \pm ۲/۲	۲۴۹/۹ \pm ۴/۲۲
وزن نهایی (گرم)	۲۹۴/۲ \pm ۲/۷	۱۲۸/۰ \pm ۲/۱۲	۱۶۲/۵ \pm ۱/۱۰	۱۶۴/۳ \pm ۴/۶۶

مجله
بیماری‌های تنهائی

جدول ۴. میانگین و انحراف معیار متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف

متغیر	کنترل سالم	کنترل دیابتی	استویا	دیابتی ورزشی	دیابتی ورزشی استویا
ANP ($\Delta\Delta$ CT)	میانگین \pm انحراف معیار	۱ \pm ۰/۰	۲/۱۱ \pm ۰/۰۹	۱/۷۱ \pm ۰/۰۹	۱/۳۶ \pm ۰/۱۳
درصد تغییرات	-	-	۷۱	۵۱	۳۶
b-MHC ($\Delta\Delta$ CT)	میانگین \pm انحراف معیار	۱ \pm ۰/۰	۳/۴۳ \pm ۰/۵۹	۲/۹۹ \pm ۱/۴۲	۲/۰۱ \pm ۰/۱۷
درصد تغییرات	-	-	۲۳۳	۱۳۹	۱۰۱

مجله
بیماری‌های تنهائی

کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=۰/۰۰۱$). میزان mRNA ANP بافت قلب در گروه دیابتی - استویا ($P=۰/۰۰۱$)، دیابتی - تمرین ($P=۰/۰۰۱$) و دیابتی - استویا - تمرین ($P=۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل دیابتی به طور معنی‌داری کمتر بود. بین میزان mRNA ANP بافت قلب در گروه دیابتی - تمرین و دیابتی - استویا - تمرین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P=۰/۲۰۰$) (شکل شماره ۱).

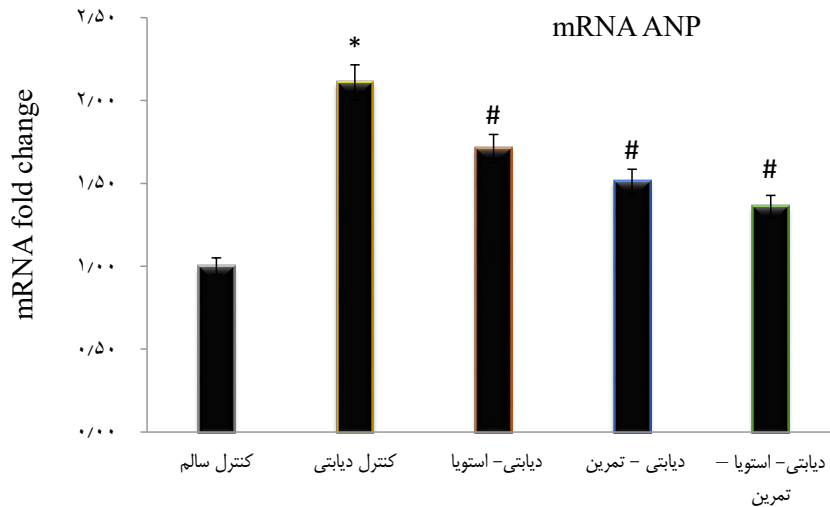
تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین mRNA b-MHC بافت قلب موش‌های دیابتی نوع ۱ در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود دارد ($F_{۳,۱۹}=۵۱/۸۵$, $P=۰/۰۰۰$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان mRNA b-MHC بافت قلب موش‌های کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=۰/۰۰۱$). میزان mRNA b-MHC بافت قلب در گروه دیابتی - استویا نسبت به گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=۰/۲۷۱$). میزان mRNA b-MHC بافت قلب در گروه دیابتی - تمرین و دیابتی - استویا - تمرین نسبت به گروه دیابتی به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=۰/۰۰۱$). همچنین میزان mRNA b-MHC

شد. سطح معنی‌داری در همه موارد $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ به اجرا درآمد.

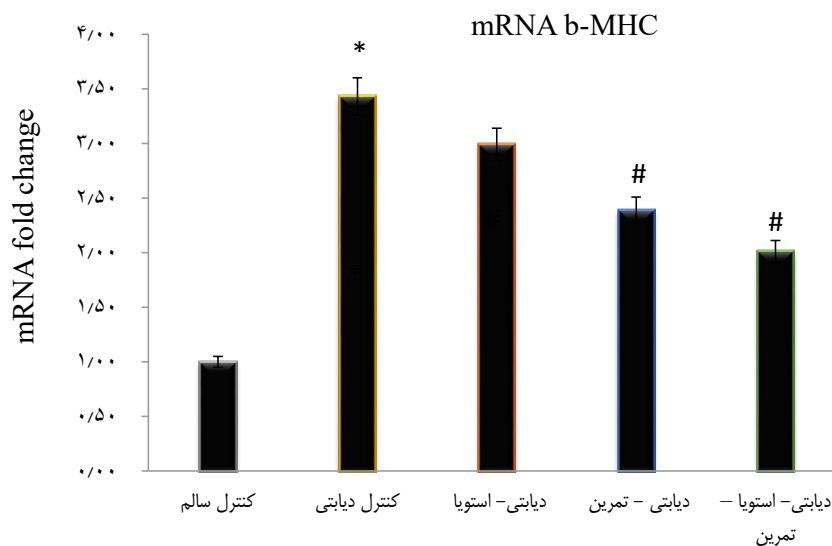
یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار وزن موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف پژوهش در جدول شماره ۳ ارائه شده است. همچنین میانگین، انحراف معیار و درصد تغییرات mRNA ANP و mRNA b-MHC بافت قلب گروه‌های مختلف پژوهش (هر گروه با پنج سر موش صحرایی) در جدول شماره ۴ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین میانگین سطوح ANP در گروه کنترل دیابتی و کمترین میانگین سطوح آن در گروه کنترل سالم مشاهده شده است. همچنین بیشترین درصد تغییرات در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به دست آمد (جدول شماره ۳).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین mRNA ANP بافت قلب موش‌های دیابتی نوع ۱ در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت وجود دارد ($F_{۳,۱۹}=۸۲/۲۲$, $P=۰/۰۰۱$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان mRNA ANP بافت قلب موش‌های



شکل ۱. تغییرات mRNA ANP بافت قلب موش‌های دیابتی نوع ۱. تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم؛ # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی.



شکل ۲. تغییرات mRNA b-MHC بافت قلب موش‌های دیابتی نوع ۱. تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم؛ # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی.

مجله
بیماری‌های التهابی

به بررسی‌های ما پژوهش‌های اندکی درباره اثر فعالیت ورزشی بر تغییرات بیان ژن ANP در عضله قلبی انجام شده است. در همین زمینه افزایش بیان ژن پپتید ناتیوریتیک دهلیزی در بافت قلب به دنبال هشت هفته تمرین مقاومتی صعود از نردبان در موش‌های صحرائی نر ویستار گزارش شده است [۱۵]. ممکن است تناقض دیده‌شده به نوع فعالیت مربوط باشد. میزان تغییرات ANP هنگام تمرینات ورزشی به مقدار دوپامین، شدت و مدت فعالیت، مقدار کاتکولامین‌ها وضعیت بدن هنگام تمرینات و شرایط هیپوکسی بستگی دارد [۲۳-۲۵]. همچنین محرک اصلی افزایش ANP ممکن است کشش عضلات قلب ناشی از افزایش ابعاد دهلیزی باشد. هنگام تمرینات ورزشی افزایش انقباض دهلیزی،

بافت قلب در گروه دیابتی - استویا - تمرین نسبت به گروه دیابتی - تمرین تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/44$) (شکل شماره ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد mRNA ANP بافت قلب موش‌های صحرائی کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری بالاتر بود. تمرین استقامتی، مکمل استویا و تعامل تمرین استقامتی و مکمل استویا با کاهش معنی‌دار mRNA ANP بافت قلب موش‌های صحرائی دیابتی نوع ۱ نسبت به گروه دیابتی کنترل همراه بود. نتایج در ارتباط با اثر تمرین ورزشی بر تغییرات بیان ژن ANP متناقض است. با توجه

استویا نیز دارای انواع ویتامین‌ها به‌خصوص ویتامین‌های آ و ث و عناصر زیادی همانند سلنیوم، کبالت و کروم است که عناصر آنتی‌اکسیدان هستند. استویا همچنین دارای پروتئین، فیبر، کربوهیدرات، فسفر، آهن، کلسیم و سدیم است [۳۱]. بنابراین به نظر می‌رسد سازوکار تنظیم *ANP* توسط مکمل استویا و تعامل تمرین استقامتی و مکمل استویا از طریق فعال‌سازی سیگنالینگ پروتئین کیناز C در بافت قلب صورت می‌گیرد. با این حال تعامل تمرین و مکمل استویا نسبت به تمرین به‌تنهایی مزایای بیشتری در جهت تغییرات *mRNA ANP* بافت قلب موش‌های صحرایی به همراه نداشت. به هر حال با توجه به کمبود اطلاعات در این زمینه، به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

دیگر یافته پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تمرین استقامتی و تعامل تمرین استقامتی و مکمل استویا با کاهش معنی‌دار *b-MHC* بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ نسبت به گروه دیابتی کنترل همراه بود. همچنین مکمل استویا با کاهش غیرمعنی‌دار *b-MHC* بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ نسبت به گروه دیابتی کنترل همراه بود. نقش میوزین‌ها در انقباض عضله قلبی، مشخص شده است [۹].

در پی عوامل استرس‌زا مانند دیابت نوع آلفا، این پروتئین عمده‌تاً به نوع بتا تبدیل می‌شود، این تغییر خیلی سریع رخ می‌دهد؛ به طوری که مشخص شده طی بیماری دیابت این تغییر در تبدیل نوع تارها آغاز می‌شود [۱۱]. این نتایج از یافته‌های تحقیق حاضر که دیابت با افزایش معنی‌دار *b-MHC* بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ همراه بود، حمایت می‌کند. نشان داده شده است که شش هفته فعالیت اختیاری، بیان ژن‌های زنجیره سنگین میوزین قلبی در موش‌های صحرایی سالمند را کاهش می‌دهد [۱۴]. در خصوص سازوکار آثار تمرین استقامتی بر *b-MHC* بافت قلب نشان داده شده است که فعالیت‌های استقامتی بر اندازه توده قلب و بیان ژن *Pur&beta* تأثیرگذار است و به نظر می‌رسد که تغییرات توده قلب در اثر فعالیت استقامتی با بیان ایزوفرم *MHC* در ارتباط باشد [۳۲]. از طرفی این احتمال وجود دارد که دُز مصرفی مکمل استویا ممکن است بر نتایج اثرگذار باشد؛ به طوری که با تغییر دُز مصرفی بتوان نتایج واضح‌تری به دست آورد. تمرین هوازی از نقاط قوت تحقیق حاضر بود؛ چراکه این نوع تمرین با وجود محدودیت‌های اجرایی، پاسخ‌ها و سازگاری‌های متفاوتی نسبت به برنامه‌های تمرینی دیگر می‌تواند به همراه داشته باشد. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می‌توان به عدم اندازه‌گیری دوپامین و مقدار کاتکولامین‌ها اشاره کرد. همچنین از آنجایی که بین تغییرات تمرین و مکمل استویا نسبت به تمرین بر تغییرات *mRNA b-MHC* بافت قلب تفاوت وجود نداشت، این احتمال وجود دارد که با تغییرات میزان دُز عصاره استویا تغییرات شدت و مدت تمرین بتوان به نتایج روشن‌تری دست یافت؛ بنابراین پیشنهاد

شاید ناشی از حجم خون مرکزی باشد که متناسب با آن فشار دهلیزی موجب افزایش *ANP* می‌شود [۲۶]. با این حال، قهرمانی و کربلایی‌فر در تحقیقی به بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی خیلی شدید و تمرین تناوبی با شدت پایین بر بیان ژن‌های *ANP* در موش‌ها پس از ابتلا به انفارکتوس میوکارد پرداختند. یافته‌ها نشان داد شش هفته تمرین تناوبی خیلی شدید باعث کاهش غیرمعنادار *ANP* در گروه مداخله نسبت به گروه شاهد و کاهش معنادار آن‌ها در طی شش هفته تمرین تناوبی با شدت پایین در گروه مداخله نسبت به گروه شاهد شد. این کاهش در گروه تمرین تناوبی با شدت پایین به طور معناداری نسبت به گروه تمرین تناوبی خیلی شدید، مؤثرتر بود [۱۶].

احتمالاً تمرین از راه تعدیل پس‌بار قلبی، موجب کاهش سطوح *ANP* در بیماران قلبی می‌شود [۲۷]. در تحقیق حاضر نیز سطوح بیان ژن *ANP* در بافت قلب در نمونه‌های دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر بود. بنابراین در تحقیق حاضر نیز احتمالاً تمرین استقامتی از طریق کاهش فشار پس‌بار موجب کمتر شدن میزان بیان ژن *ANP* در بافت قلب در موش‌های صحرایی شده است. احتمالاً افزایش حجم قلب به دنبال تمرینات استقامتی منجر به کاهش کشش دیواره قلب (کاهش پیش‌بار) می‌شود که می‌تواند منجر به کاهش *ANP* شود. مسئله دیگر احتمال تأثیر تمرین بر کارایی سیستم *ANP-NPR-A* از طریق افزایش تعداد گیرنده‌ها و افزایش حساسیت به *ANP* است [۲۸]؛ بنابراین ممکن است تمرین استقامتی موردنظر از طریق تغییر در تعداد و فعالیت گیرنده‌های پپتیدهای ناتورپورتیک، عملکرد سیستم *ANP-NPR-A* را تحت تأثیر قرار داده باشد. اگرچه این سیستم در تحقیق حاضر بررسی نشد (که از محدودیت‌های تحقیق حاضر به شمار می‌رود). همچنین یافته‌ها نشان می‌دهند که *ANP* تا حدود زیادی به ویژگی‌های آرمودنی‌ها بستگی دارد. عمل کشش دیواره دهلیزی در ترشح پپتیدهای ناتورپورتیک از طریق کشش دیواره رگ‌ها، افزایش مایعات بدن، فعالیت ورزشی، آسیب بطنی و افزایش غلظت سدیم و عوامل پاراکرینی و اتوکرینی از قبیل اندوتلین-۱ و آنژیوتانسین، تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۲۹].

تعادل همودینامیکی در عضله قلب با تغییرات مفید پپتید ناتورپورتیک دهلیزی همراه است. فعالیت ورزشی هوازی مقدار حداکثر اکسیژن مصرفی را افزایش می‌دهد و این امر عملکرد عضله قلبی را بهبود می‌بخشد. این یافته‌ها نقش مهم تمرینات استقامتی در بهبود عملکرد قلبی‌عروقی را تأیید می‌کند. از طرفی در تحقیقی نشان داده شده است که داروی گیاهی سنتی شیروتانگ^۵ (ترکیبی از چهار گیاه دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدان)، باعث تنظیم ترشح *ANP* و اثرات مثبت اینوتروپیک قلبی از طریق فعال‌سازی سیگنال‌دهی پروتئین کیناز C می‌شود [۳۰].

5. Sibjotang
6. Protein kinase

می‌شود تأثیر متغیرهای تمرین و مکمل استویا با دُزهای مختلف بر ژن‌های عملکردی بافت قلب در دیابت نوع ۱ مورد بررسی قرار گیرد. اندازه‌گیری مسیرهای سیگنالینگ همچون پروتئین کیناز C (PKC) نیز می‌تواند اثرات فعالیت بدنی بر عوامل رونویسی درگیر در عمل عضله قلبی را به طور روشن‌تری نشان دهد. این نقطه‌ضعف پژوهشی، پیشنهادی به مطالعات آینده به منظور اندازه‌گیری این عوامل در بافت قلب است. به هر حال تحقیقات بیشتری در این زمینه نیاز است.

به طور خلاصه، یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تمرین استقامتی و تعامل تمرین استقامتی و مکمل استویا با کاهش معنی‌دار ANP و b-MHC بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ همراه بود. بنابراین با توجه به یافته‌ها، مداخله تمرین هوازی و مکمل استویا می‌تواند مزایای قلبی برای موش‌های دیابتی نوع ۱ به همراه داشته باشد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی مرودشت با شماره IR.IAU.M.REC.1399.015 تصویب شده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی خانم کبری سلیمانی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی است.

مشارکت نویسندگان

نظارت و روش‌شناسی: آسیه عباسی دالویی؛ روش، تهیه پیش‌نویس و تجزیه و تحلیل داده‌ها: همه نویسندگان. ویرایش و بررسی: کبری سلیمانی، علی‌رضا براری و ایوب سعیدی.

تعارض منافع

بنابر اظهار هیچ‌گونه تعارض منافی در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی تشکر می‌کنند.

References

- [1] Song W, Wang H, Wu Q. Atrial natriuretic peptide in cardiovascular biology and disease (NPPA). *Gene*. 2015; 569(1):1-6. [DOI:10.1016/j.gene.2015.06.029] [PMID] [PMCID]
- [2] Rubattu S, Sciarretta S, Valenti V, Stanzione R, Volpe M. Natriuretic peptides: An update on bioactivity, potential therapeutic use, and implication in cardiovascular diseases. *Am J Hypertens*. 2008; 21(7):733-41. [DOI:10.1038/ajh.2008.174] [PMID]
- [3] Schlueter N, de Sterke A, Willmes DM, Spranger J, Jordan J, Birkenfild AL. Metabolic actions of natriuretic peptides and therapeutic potential in the metabolic syndrome. *Pharmacol Ther*. 2014; 144(1):12-27. [DOI:10.1016/j.pharmthera.2014.04.007] [PMID]
- [4] Theilade S, Hansen TW, Goetze JP, Rossing P. Increased plasma concentrations of midregional proatrial natriuretic Peptide is associated with risk of cardiorenal dysfunction in type 1 diabetes. *Am J Hypertens*. 2015; 28(6):772-9. [DOI:10.1093/ajh/hpu227] [PMID]
- [5] McKenna K, Smith D, Sherlock M, Moore K, O'Brien E, Tormey W, et al. Elevated plasma concentrations of atrial and brain natriuretic peptide in type 1 diabetic subjects. *Ir J Med Sci*. 2005; 174(3):53-7. [DOI:10.1007/BF03169149] [PMID]
- [6] Lauridsen BK, Iversen K, Hunter I, Bay M, Kirk V, Nielsen OW, et al. ProANP plasma measurement predicts all-cause mortality in acutely hospitalised patients: A cohort study. *BMJ Open*. 2013; 3(11):e003288. [DOI:10.1136/bmjopen-2013-003288] [PMID] [PMCID]
- [7] Bosselmann H, Egstrup M, Rossing K, Gustafsson I, Gustafsson F, Tonder N, et al. Prognostic significance of cardiovascular biomarkers and renal dysfunction in outpatients with systolic heart failure: A long-term follow-up study. *Int J Cardiol*. 2013; 170(2):202-7. [DOI:10.1016/j.ijcard.2013.10.064] [PMID]
- [8] Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Omland T, Sloan S, Jarolim P, et al. Evaluation of multiple biomarkers of cardiovascular stress for risk prediction and guiding medical therapy in patients with stable coronary disease. *Circulation*. 2012; 125(2):233-40. [DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.063842] [PMID] [PMCID]
- [9] Kolomeisky AB, Fisher ME. Molecular motors: A theorist's perspective. *Annu Rev Phys Chem*. 2007; 58:675-95. [DOI:10.1146/annurev.physchem.58.032806.104532] [PMID]
- [10] Herron TJ, Korte FS, McDonald KS. Loaded shortening and power output in cardiac myocytes are dependent on myosin heavy chain isoform expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 281(3):H1217-22. [DOI:10.1152/ajpheart.2001.281.3.H1217] [PMID]
- [11] Gupta MP. Factors controlling cardiac myosin-isoform shift during hypertrophy and heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2007; 43(4):388-403. [DOI:10.1016/j.yjmcc.2007.07.045] [PMID] [PMCID]
- [12] Miyata S, Minobe W, Bristow MR, Leinwand LA. Myosin heavy chain isoform expression in the failing and nonfailing human heart. *Circ Res*. 2000; 86(4):386-90. [DOI:10.1161/01.RES.86.4.386] [PMID]
- [13] Chetty T, Shetty V, Fournier PA, Adolfsson P, Jones TW, Davis EA. Exercise management for young people with type 1 diabetes: A structured approach to the exercise consultation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10:326. [DOI:10.3389/fendo.2019.00326] [PMID] [PMCID]
- [14] Parsaeifar A, Dabidi Roshan V, Mazaheri Z. Cardioprotective effect of voluntary physical activity on changes of doxorubicin-induced cardiac myosin heavy chain expression in aging model rats. *Stud Med Sci*. 2017; 27(10):893-901. [In Persian] <http://umj.umsu.ac.ir/article-1-3555-en.html>
- [15] Azadmanesh M, Rashidlamir A, Hejazi SM. The effect of eight-week ladder-climbing exercise on the Atrial Natriuretic Peptide (ANP) gene expression in the heart tissue of Wistar male rats. *EBNESINA*. 2019; 21(1):20-5. [In Persian] <http://ebnesina.ajaums.ac.ir/article-1-582-en.html>
- [16] Ghahremani M, Karbalaieifar S. Effect of interval training intensity on ANP and BNP gene expression levels after myocardial infarction. *Sport Physiol*. 2018; 9(36):159-72. [In Persian] https://spj.ssric.ac.ir/article_1110_en.html
- [17] Agarwal V, Kochhar A, Sachdeva R. Sensory and nutritional evaluation of sweet cereal products prepared using stevia powder for diabetics. *Stud Ethno-Med*. 2009; 3(2):93-8. [DOI:10.1080/09735070.2009.11886344]
- [18] Chatsudthipong V, Muanprasat C. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol Ther*. 2009; 121(1):41-54. [DOI:10.1016/j.pharmthera.2008.09.007] [PMID]
- [19] Ahmad U, Ahmad RS. Anti-diabetic property of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves in Streptozotocin-induced diabetes in albino rats. *BMC Complement Altern Med*. 2018; 18(1):179. [DOI:10.1186/s12906-018-2245-2] [PMID] [PMCID]
- [20] Williams JE, Helsel B, Nelson B, Eke R. Exercise considerations for type 1 and type 2 diabetes. *ACSM's Health Fitness J*. 2018; 22(1):10-6. [DOI:10.1249/FIT.0000000000000359]
- [21] Colberg SR, Laan R, Dassau E, Kerr D. Physical activity and type 1 diabetes: Time for a rewire? *J Diabetes Sci Technol*. 2015; 9(3):609-18. [DOI:10.1177/1932296814566231] [PMID] [PMCID]
- [22] Akbarzadeh S, Barghani A, Rahbar AR, Daneshi A, Najafpour Bushehri S, Pourkhalili Kh, et al. The effects of aqueous extract of stevia plant (*Stevia rebaudiana*) on serum concentration of vaspin and Angiotensin-like Protein-3 in streptozotocin induced diabetic rats. *Iran South Med J*. 2015; 18(2):239-49. [In Persian] <http://ismj.bpums.ac.ir/article-1-669-en.html>
- [23] Raha D, Tortorella C, Neri G, Prasad A, Raza B, Raskar R, et al. Atrial natriuretic peptide enhances cortisol secretion from guinea-pig adrenal gland: Evidence for an indirect paracrine mechanism probably involving the local release of medullary catecholamines. *Int J Mol Med*. 2006; 17(4):633-6. [DOI:10.3892/ijmm.17.4.633] [PMID]
- [24] Vogelsang TW, Yoshiga CC, Højgaard M, Kjaer A, Warberg J, Secher NH, et al. The plasma atrial natriuretic peptide response to arm and leg exercise in humans: Effect of posture. *Exp Physiol*. 2006; 91(4):765-71. [DOI:10.1113/expphysiol.2006.033357] [PMID]

- [25] Bentzen H, Pedersen RS, Nyvad O, Pedersen EB. Influence of training habits on exercise-induced changes in plasma atrial and brain natriuretic peptide and urinary excretion of aquaporin-2 in healthy man. *Scand J Clin Lab Invest*. 2002; 62(7):541-51. [DOI:10.1080/003655102321004567] [PMID]
- [26] Niessner A, Ziegler S, Slany J, Billensteiner E, Woloszczuk W, Geyer G. Increases in plasma levels of atrial and brain natriuretic peptides after running a marathon: Are their effects partly counterbalanced by adrenocortical steroids? *Eur J Endocrinol*. 2003; 149(6):555-9. [DOI:10.1530/eje.0.1490555] [PMID]
- [27] Sheikhani Shahin H, Babaei Bigi MA, Aslani A, Daryanoosh F. Effect of professional exercises on brain natriuretic peptide. *Int Cardiovasc Res J*. 2009; 3(4):e67880. <https://sites.kowsarpub.com/ircrj/articles/67880.html>
- [28] Suda K, Hagiwara H, Kotani Y, Kato K, Sasaki M, Izawa T, et al. Effect of exercise training on ANP receptors. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2000; 108(3-4):227-35. [PMID]
- [29] Wisén AG, Ekberg K, Wohlfart B, Ekman R, Westrin Å. Plasma ANP and BNP during exercise in patients with major depressive disorder and in healthy controls. *J Affect Disord*. 2011; 129(1-3):371-5. [DOI:10.1016/j.jad.2010.09.002] [PMID]
- [30] Kwon OJ, Oh HC, Lee YJ, Kim HY, Tan R, Kang DG, et al. Sibjotang increases atrial natriuretic peptide secretion in beating rabbit atria. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015; 2015:268643. [DOI:10.1155/2015/268643] [PMID] [PMCID]
- [31] Tavarini, S, Angelini LG. Stevia rebaudiana Bertoni as a source of bioactive compounds: The effect of harvest time, experimental site and crop age on steviol glycoside content and antioxidant properties. *J Sci Food Agric*. 2013; 93(9):2121-9. [DOI:10.1002/jsfa.6016] [PMID]
- [32] Fathi M, Aberon S. The effect of endurance activity on left ventricle PurβGene expression in Wistar male rat. *Sci J Ilam Univ Med Sci*. 2016; 23(6):74-84. [In Persian] <http://sjimu.medilam.ac.ir/article-1-2564-fa.html>