

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های HIF-1 و VEGF عضله قلبی رت‌های نر مبتلا به آنفارکتوس میوکارد

شیرین حیدر پور^۱، مهران قهرمانی^{۲*}، صدیقه حسین‌پور دلاور^۲

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران، ^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد گیلان غرب، دانشگاه آزاد اسلامی، گیلان غرب، ایران، ^۳ گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۹/۰۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: عامل رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF) به‌عنوان قوی‌ترین و مهم‌ترین محرک آنژیوژنز باعث افزایش مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکه عروقی می‌شود. بیان این پروتئین در شرایط هیپوکسی به وسیله افزایش بیان عامل ناشی از هیپوکسی (HIF-1) افزایش و رگ‌زایی را تحریک می‌کنند. هدف از پژوهش حاضر تعیین و بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های HIF-1 و VEGF عضله قلبی رت‌های نر مبتلا به آنفارکتوس میوکارد بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۸ انجام شد، ۱۶ سر رت نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم و مبتلا به آنفارکتوس میوکارد، در دو گروه تمرین (۶۰ دقیقه به صورت دویدن متناوب روی نوارگردان و هر تناوب شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت ۶۵-۷۰ درصد VO_{2max} و ۲ دقیقه ریکواری فعال با شدت ۵۰-۶۰ درصد VO_{2max} پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته) و گروه کنترل (بدون مداخله تمرین) قرار گرفتند. بیان ژن‌های مذکور با روش qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج آزمون تی مستقل مربوط به گروه‌های تجربی و کنترل در شاخص VEGF و HIF-1 عضله قلبی نشان داد که VEGF گروه تمرین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل ($p=0/001$) و همچنین HIF-1 در گروه تمرین نیز به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ($p=0/001$).

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط باعث افزایش عوامل مؤثر در آنژیوژنز در رت‌های نر نژاد ویستار پس از وقوع آنفارکتوس میوکارد می‌شود. هیپوکسی حاصل از هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط، باعث افزایش HIF-1 شده و این پروتئین نیز بیان ژن VEGF را که مهم‌ترین محرک آنژیوژنز است افزایش داده و در نهایت باعث افزایش رگ‌زایی در عضلات قلبی شده است.

واژه‌های کلیدی: آنژیوژنز، آنفارکتوس میوکارد، تمرین، VEGF، HIF-1

* نویسنده مسئول: مهران قهرمانی، گیلان غرب، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گیلان غرب، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: Mehran.physiology@gmail.com

مقدمه

آنژیوژنز به رشد و تکامل عروق خونی جدید از طریق جوانه زدن سلول‌های اندوتلیال عروق موجود می‌گویند. تشکیل طبیعی عروق خونی جدید با نظم کنترل شده ای همراه است که شامل تعاملات پیچیده میان سلول‌های اندوتلیال و پروتئین‌های ماتریکس و فاکتورهای قابل حل می‌باشد و باعث تکثیر و مهاجرت سلول اندوتلیال و تشکیل عروق جدید می‌شود (۱).

مهم‌ترین محرک رگ‌زایی، فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF) می‌باشد که تحت شرایط هیپوکسی بیان آن به وسیله افزایش بیان عامل ناشی از هیپوکسی (HIF-1) افزایش می‌یابد (۲). VEGF یا فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی به عنوان قوی‌ترین و مهم‌ترین فاکتور موثر بر آنژیوژنز باعث افزایش مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکه‌ی عروقی می‌شود. VEGF، یک گلیکوپروتئین همودایمریک پایه متصل به هپارین، با وزن مولکولی ۴۵۰۰ دالتون است که برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و برای جوانه زدن مویرگ‌های جدید از عروق قبلی (آنژیوژنز) در طی رشد و توسعه شبکه مویرگی ضروری می‌باشد (۳). وقتی که VEGF به گیرنده‌های ویژه خود بر روی سلول اندوتلیال متصل می‌شود پیام‌هایی را فعال می‌سازد که موجب تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و افزایش نفوذپذیری عروق می‌شوند. این فاکتور می‌تواند به وسیله بیان ژنی پروتئازها و گیرنده‌هایی که برای بازسازی بافتی

و پیشگیری از مرگ سلولی در سلول اندوتلیالی تعیین کننده هستند ایفای نقش کند. این گلیکوپروتئین از طریق اتصال به گیرنده‌های VEGFR-1 و VEGFR-2 واقع در سلول‌های اندوتلیال پیام‌دهی خود را انجام می‌دهد (۴). در ادامه VEGF از طریق تنظیم افزایشی مولفه‌های آنتی‌آپوپتوتیک سنتز DNA را انجام می‌دهد. تخریب غشای پایه و فسفریله شدن اجزاء چسبنده اندوتلیال بین سلولی و اتصالات محکم به ترتیب زمینه بقا، تکثیر، مهاجرت و نفوذپذیری سلول اندوتلیال را موجب می‌شود (۵).

فاکتور ۱- آلفا ناشی از هیپوکسی، که به عنوان HIF-1-alpha نیز شناخته می‌شود، زیر مجموعه‌ای از فاکتور رونویسی هترودیمریک فاکتور القایی هیپوکسی ۱ است که به وسیله ژن HIF-1A رمزگذاری می‌شود (۶). اختلال در تنظیم و بیان بیش از حد HIF-1A به وسیله هیپوکسی در فرایند آنژیوژنز نقش دارد (۷ و ۸). در بیشتر سلول‌ها، ژن HIF-1A در شرایط طبیعی در سطوح پایین بیان می‌شود، با این حال، در شرایط هیپوکسی، رونویسی HIF-1A اغلب به طور قابل توجهی بیشتر می‌شود (۹). HIF-1A در شروع فرایند آنژیوژنز از طریق تعامل با عوامل محرک آنژیوژنیک مانند VEGF نقش دارد (۹).

زارع زاده مهریزی و همکاران در پژوهشی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن VEGF، HIF-1 α و آنژیواسانتین در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر ویستار را بررسی کردند، یافته‌ها نشان داد که تمرینات هوازی سبب افزایش

معنی‌داری در مقادیر HIF-1 α ($p=0/001$) و VEGF ($p=0/001$) شد، اما اثر معنی‌داری بر مقادیر آنزواستاتین ($p=0/316$) نداشت. آنها به این نتیجه رسیدند که با توجه به تغییرات ایجاد شده در سطوح این متغیرها به نظر می‌رسد تمرین‌های هوازی اثرات مفیدی بر عملکرد ناحیه هیپوکامپ مغز دارد و این نوع تمرین‌های به افراد توصیه می‌شود (۱۰).

با توجه به این که یکی از معضلات جامعه امروزی بیماری‌های قلبی - عروقی و از جمله سکته قلبی و بسته شدن عروق قلب در طی این عارضه می‌باشد، یافتن راه کاری جهت به حداقل رساندن عوارض و درمان نسبی آن به طرق مختلف (اصلاح سبک زندگی، عدم استفاده از دخانیات، کاهش مصرف چربی‌ها و فعالیت بدنی) همواره مورد توجه محققان بوده و در این راستا فیزیولوژیست‌های ورزشی نیز نتایج خوبی را گزارش کرده‌اند. امروزه آنژیوژنز به عنوان مکانیزمی سازشی که تحت تأثیر عوامل متعددی می‌تواند تشدید و یا سرکوب گردد، مورد توجه قرار گرفته است.

نقش فعالیت بدنی منظم در سلامتی به خوبی اثبات شده است و در این بین تمرینات استقامتی (با شدت متوسط) همواره مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند. این تمرینات محرکی قوی برای سازگاری‌های قلبی - عروقی و عضلانی می‌باشند و باعث افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max})، متابولیسم، افزایش عملکرد ورزشی، کاهش استفاده از کربوهیدرات و اتکا به چربی، بهتر

شدن عملکرد انسولین، کاهش فشار خون و در بیماران قلبی و پرفشارخونی باعث بهتر شدن آمادگی قلبی - عروقی می‌شوند (۱۱).

شیوه‌های مختلف تمرینی به عنوان یکی از عوامل مؤثر در ایجاد آنژیوژنز قلبی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۲ و ۱۳). در این بین پژوهشی که به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های VEGF و HIF-1 و سنجش چگالی مویرگی و به طور خاص در مبتلایان به آنفارکتوس میوکارد پرداخته باشد دیده نمی‌شود.

با توجه به مطالب ارائه شده در ارتباط با عوامل مؤثر بر عروقی شدن عضلات اسکلتی و قلبی هنگام فعالیت ورزشی که عبارت بودند از: هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها، اتساع کننده‌های عروقی، سایتوکاین‌ها و انواع کشش و نتایج پژوهش‌های گذشته مبنی بر ارتباط مثبت و معنی‌دار بین تمرین استقامتی و این عوامل (۱۴)، می‌توان امیدوار بود این شیوه تمرینی بر آنژیوژنز قلبی مؤثر باشد.

بنابراین با توجه به مطالب ارائه شده، هدف از این پژوهش تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های HIF-1 و VEGF عضله قلبی رت‌های نر مبتلا به آنفارکتوس میوکارد بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۸ انجام شد، ۱۶ سر رت نر نژاد ویستار ده هفته‌ای با

نوارگردان پاسخ نمی‌دادند) و سرعت درماندگی رت‌های مبتلا به MI به وسیله فرمول $y=1/14x+9$ به VO_{2max} تبدیل شد (۱۷ و ۱۶):
 x = سرعت درماندگی با واحد متر در دقیقه.
 $VO_{2max}=y$ با واحد میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در دقیقه.

سرعت دویدن هر رت روی تردمیل با توجه به VO_{2max} آن به صورت انفرادی محاسبه شد، پس از آن رت‌ها به مدت دو روز استراحت کردند. برای اطمینان از مبتلا شدن به آنفارکتوس میوکارد، رت به صورت بی‌هوش با دستگاه اکوکاردیوگرافی (با مارک GE Healthcare ساخت کشور آمریکا) اکوکاردیوگرافی داپلر شدند. طی این فرآیند کسر کوتاه شدگی بطن چپ (FS)^۲ به صورت نسبی اندازه‌گیری گردید. رت‌هایی که میزان $FS \leq 35$ درصد بود به عنوان رت‌های مبتلا به آنفارکتوس میوکارد، برای این مطالعه انتخاب شدند (۱۵). در نهایت رت‌های زنده مانده مبتلا به آنفارکتوس میوکارد تصادفی به دو گروه تمرین استقامتی با شدت متوسط و کنترل تفکیک شده و پروتکل تمرینی اجرا شد.

رت‌های گروه تجربی، پنج روز در هفته، به مدت هشت هفته تمرین استقامتی را انجام دادند. رت‌ها هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه به صورت دویدن متناوب روی تردمیل فعالیت می‌کردند. هر تناوب کاری شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت ۷۰-۶۵ درصد VO_{2max} و ۲

وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم مبتلا به آنفارکتوس میوکارد به صورت تصادفی به دو گروه ۸ تایی کنترل و تجربی تقسیم شدند. رت‌ها در قفس‌های مجزا با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی با توجه به اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگهداری شدند. در ادامه رت‌ها تحت عمل جراحی قرار گرفته و شریان کرونری نزولی سمت چپ (LAD)^(۱) آنها مسدود شد و به این ترتیب رت‌ها به آنفارکتوس میوکارد مبتلا شدند (۱۵). سپس رت‌ها به مدت دو هفته دوره بازیافت بعد از جراحی باز قلب را طی کردند. در هفته سوم و چهارم رت‌ها با تردمیل (با مارک دانش سالار ایرانیان ساخت کشور ایران) با راه رفتن آرام روی آن با سرعت ۵ متر در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه در روز و ۴ روز در هفته آشنا شدند. در این مرحله تمامی رت‌ها قادر به انجام فعالیت بودند و هیچ‌گونه تلفاتی نداشتند. در پایان هفته چهارم VO_{2max} رت‌ها به وسیله آزمون فعالیت ورزشی بیشینه، مطابق با فرمول و جدول مندرج در پژوهش مورتن و ویس洛夫 و جهت برآورد سرعت اولیه دویدن رت‌ها، اندازه‌گیری شدند (۱۷ و ۱۶). برای سنجش VO_{2max} ، ابتدا رت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه گرم کردند و سپس آزمون VO_{2max} با سرعت ۰/۱ متر در ثانیه شروع و هر دو دقیقه یک بار به مقدار ۰/۱ متر در ثانیه به سرعت نوارگردان اضافه شد، تا زمانی که رت‌ها به‌طور کامل درمانده شدند (در حالت درماندگی رت‌ها به پشت افتاده و به تحریک ضربه خودکار به

1-Left artery Descending
2-Shortening Fraction

همان‌طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود میانگین شاخص VEGF عضله قلبی در گروه تمرین (۷/۱۸) بیشتر از گروه کنترل (۱/۸۶) بود. همچنین میانگین شاخص HIF-1 عضله قلبی نیز در گروه تمرین (۸/۹۲) بیشتر از گروه کنترل (۴/۵۰) بود. نتایج آزمون شاپرو-ویلک نشان داد که توزیع داده‌های هر دو گروه تمرین و کنترل در VEGF و HIF-1 عضله قلبی طبیعی است، لذا پیش شرط استفاده از آزمون‌های پارامتریک برقرار بود. نتایج حاصل از آزمون تی مستقل نشان داد که بین دو گروه کنترل و تمرین در VEGF عضله قلبی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p=0/0001$) و با توجه به جدول ۱، مقادیر شاخص VEGF عضله قلبی در گروه تمرین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بوده است. همچنین نتایج حاصل از آزمون تی مستقل نشان داد که بین دو گروه کنترل و تمرین در شاخص HIF-1 عضله قلبی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p=0/0001$) و با توجه به جدول ۲، مقادیر شاخص HIF-1 عضله قلبی در گروه تمرین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است.

دقیقه بازیافت فعال با شدت ۶۰-۵۰ درصد VO2max بود (۱۸).

رها قبل از شروع فاز اصلی تمرین به مدت ۸ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه روی تردمیل به شکل راه رفتن، در برنامه گرم کردن فعالیت کردند. در مقابل رت‌های گروه کنترل (مبتلا به آنفاریکتوس میوکارد) در طی هشت هفته، هیچ تمرینی انجام نخواستند داد.

پس از گذشت هشت هفته و سرانجام پس از دو روز استراحت، رت‌های باقیمانده جهت اکوکاردیوگرافی مجدد بی‌هوش و نمونه‌برداری از بافت عضلانی قلب در ناحیه مبتلا به آنفاریکتوس میوکارد، برای اندازه‌گیری مقادیر RNA ژن‌های VEGF و HIF-1 انجام شد. نمونه‌ها پس از فریز به آزمایشگاه ژنتیک انتقال داده شدند و در آنجا اندازه‌گیری عوامل مذکور به روش qRT-PCR انجام گرفت.

داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری شاپرو-ویلک تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در جدول ۲ آمار توصیفی و نتایج آزمون تی مستقل مربوط به گروه‌های تجربی و کنترل در شاخص VEGF و HIF-1 عضله قلبی ذکر شده است.

جدول ۱: توالی پرایمری در شاخص های VEGF و HIF-1

VEGF	forward 5'-TATCTTCAAGCCGTCCTGTG-3'
	reverse 5'-GATCCGCATGATCTGCATAG-3'
HIF-1	forward 5'-TGCTTGGTGTGATTTGTGA-3'
	reverse 5'-GGTCAGATGATCAGAG TCCA-3'

جدول ۲: آمار توصیفی و نتایج آزمون تی مستقل مربوط به گروه تجربی و کنترل در شاخص VEGF و HIF-1 عضله قلبی

نوع تار	گروه	تعداد	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف استاندارد	سطح معنی‌داری
VEGF	کنترل	۸	۱/۴	۲/۴	۱/۸۶۲	۰/۴۱۰	۰/۰۰۱
	تمرین	۸	۶/۲۰	۸/۳	۷/۱۸۷	۰/۸۴۲	
HIF-1	کنترل	۸	۳/۰۱	۵/۸۰	۴/۵	۰/۸۷۹	۰/۰۰۱
	تمرین	۸	۸/۳۰	۹/۷۰	۸/۹۲	۰/۵۳۶	

بحث

با توجه به مطالب ارایه شده در ارتباط با عوامل مؤثر بر عروقی شدن عضلات اسکلتی و قلبی هنگام فعالیت ورزشی که عبارت بودند از؛ هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها، اتساع‌کننده‌های عروقی، سائیتوکاین‌ها و انواع کشش و نتایج پژوهش‌های گذشته مبنی بر ارتباط مثبت و معنی‌دار بین تمرین استقامتی و این عوامل می‌توان امیدوار بود این شیوه تمرینی بر آنژیوژنز قلبی مؤثر باشد (۱۴)، لذا هدف از پژوهش حاضر تعیین و بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های HIF-1 و VEGF عضله قلبی رت‌های نر مبتلا به آنفارکتوس میوکارد بود.

نتایج این پژوهش نشان داد که در اثر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط (۷۰-۶۵ درصد) VO_{2max} بیان ژن‌های VEGF و HIF-1 افزایش معنی‌دار داشته است.

در ارتباط با تأثیر تمرین استقامتی و به طور خاص بر آنژیوژنز عضله قلبی نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌های آسما و همکاران که به بررسی تأثیر تمرین استقامتی و مصرف استروئید در ۴۰ رت نر ۱۴-۱۲ هفته‌ای پرداختند و بیان کردند میزان

mRNA ژن VEGF در عضله قلبی رت‌های گروه تمرین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل و گروه استروئید است (۱۹) و ایمیتسو و همکاران که نشان دادند هفت هفته تمرینات شنای استقامتی میزان بیان ژن VEGF را در عضله قلبی ۲۲ رت نر نژاد ویستار در دو گروه سنی (جوان چهار هفته‌ای و مسن ۲۳ هفته‌ای) افزایش می‌دهد هم‌سو بود (۲۰). همچنین با نتایج زارع‌زاده مهریزی و همکاران در پژوهشی که تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن HIF-1 α ، VEGF و آنژیواستاتین در هیپوکامپی موش‌های صحرایی نر ویستار را بررسی کردند هم‌سو بود (۱۰). همچنین نتایج این پژوهش با نتایج کربلایی فر و همکاران که به بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی تناوبی خیلی شدید بر VEGF عضله قلبی رت‌های نر ده هفته‌ای مورد بررسی قرار داده و افزایش معنی‌دار بیان ژن VEGF را گزارش کردند (۲۱) و همچنین گو و همکاران که افزایش مقادیر VEGF و همچنین تراکم مویرگی را در عضله قلبی و اسکلتی رت‌های نر دوازده هفته‌ای نشان داده بودند (۱۳) نیز هم‌سو بود، اما نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش‌های رنجبر و همکاران که به بررسی تأثیر یک جلسه تمرین یک ساعته با دوچرخه کارسنج با سرعت زیر بیشینه (۷۰

VEGF از مسیرهای سیگنالینگ زیر آنژیوژنز افزایش یافته است.

به نظر می‌رسد سطوح اکسیژن درون سلولی در طی جلسات تمرین کم شده و فعالیت آنزیم PHDs نیز کاهش یافته که این امر منجر به تثبیت پروتئین و انتقال هسته‌ای HIF-1 α شده است و این HIF-1 α رونویسی از ژن‌های مختلف سازگار با هایپوکسی از قبیل ژن‌های مرتبط با رگ‌زایی که در میان آنها، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) قویترین میتوژن اختصاصی اندوتلیال است (۲۵) را پس از تشکیل هترودایمر فعال شده با HIF-1 β شروع کرده است.

تمرین مسیرهای مختلفی را ایجاد می‌کند که برای تنظیم آنژیوژنز مهم هستند، احتمالاً افزایش Ca $^{2+}$ داخل سلولی در طی هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط منجر به فعال شدن چندین پروتئین سیگنالینگ پایین دستی از جمله کیناز وابسته به کالمودولین (CaMK) و کلیسنورین (CaN) شده که در نهایت افزایش بیان VEGF mRNA را در پی داشته است. PPAR- β نیز که به عنوان PPAR δ شناخته می‌شود، VEGF را از مسیری وابسته به CaN افزایش داده و باعث افزایش آنژیوژنز شده است (۲۶). سازگاری با هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط از یک طرف باعث فعال شدن مسیر CaN-NFAT وابسته به Ca $^{2+}$ شده و از طرفی پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن p38 γ (MAPK) را فعال کرده که در فرآیند بیوژنز میتوکندریایی و آنژیوژنز ضروری هستند (۲۷).

درصد VO $_{2\max}$ بر عوامل منتخب آنژیوژنز پرداختند و نتایج حاکی از کاهش سطح سرمی VEGF و MMP-2 بلافاصله پس از تمرین بود (۲۲) ناهمسو بود. به نظر می‌رسد یک جلسه تمرین برای ایجاد سازگاری مناسب نبوده و علت ناهمسو بودن این پژوهش با نتایج پژوهش حاضر کوتاه بودن دوره تمرین در این پژوهش بوده باشد. همچنین نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش طلوعی آذر و همکاران که به بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی (۵ روز در هفته و هر روز ۳۰ دقیقه دویدن با شدت متوسط ۶۵-۵۵ VO $_{2\max}$) در رت‌های نر سالم پرداختند و افزایش معنی‌دار FSTL-1 و کاهش معنی‌دار NDNF و VEGF را گزارش کردند (۲۳) نیز ناهمسو بود. سالم بودن آزمودنی‌ها در پژوهش طلوعی آذر در مقایسه با آزمودنی‌های پژوهش حاضر که مبتلا به آنفارکتوس میوکارد بودند و نیز تفاوت در بافت مورد بررسی نیز می‌تواند علت ناهمسو بودن نتایج دو پژوهش بوده باشد. همچنین نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش بریکسیوس و همکاران که میزان VEGF سرم به دنبال ۶ ماه تمرینات منظم هوازی در مردان چاق ۵۰ تا ۶۰ ساله بدون تغییر گزارش کردند (۲۴) نیز ناهمسو بود. عدم بررسی مقادیر بیان ژن VEGF و به طور خاص در بافت عضله قلبی و همچنین تفاوت در آزمودنی‌ها و همچنین تفاوت در پروتکل تمرین در پژوهش بریکسیوس عامل اصلی ناهمسویی در نتایج بوده است.

در پژوهش حاضر در اثر سازگاری با هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط سطوح HIF-1 افزایش یافته و در نهایت با افزایش بیان ژن

PGC-1 α را افزایش داده است. PGC-1 α باعث افزایش گیرنده- α مربوط به استروژن (ERR- α) شده که در بیان ژن VEGF مؤثر بوده است. با توجه به این که عوامل بالا دستی متعددی از جمله P38 و eNOS بر افزایش بیان HIF-1 و VEGF مؤثر هستند، لذا پیشنهاد می‌شود تأثیر این قبیل عوامل نیز در پژوهش‌های آتی مورد بررسی قرار گیرد، همچنین پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی تأثیر سایر شدت‌های تمرینی در فرآیند آنژیوژنز مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این پژوهش از نقش هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط بر افزایش عوامل مؤثر بر رگ‌زایی پس از وقوع آنفارکتوس میوکارد حمایت می‌کند. هاپوکسی حاصل از هشت تمرین استقامتی با شدت متوسط، باعث افزایش HIF-1 شده و این پروتئین نیز بیان ژن VEGF را که مهم‌ترین محرک آنژیوژنز است افزایش داده و در نهایت باعث افزایش رگ‌زایی در عضلات قلبی شده است.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری تخصصی رشته فیزیولوژی ورزشی قلب و عروق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد با کد اخلاق R.IAU.B.REC.1399.049 می‌باشد، که با هزینه شخصی دانشجو و حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه انجام شده است. از تمام افرادی که در انجام پژوهش حاضر همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

ROS ایجاد شده در طی هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط از طریق یک آنزیم غیر میتوکندریایی به نام گزانتین اکسیداز (XO)، بیان PGC-1 α و سایر پروتئین‌های کلیدی مانند NRF-1 و فاکتور رونویسی A، میتوکندری (Tfam) را در مسیر بیوژنیک میتوکندری، تحریک کرده است که این سیگنالینگ هسته‌ای با فعال سازی P38 MAPK و عنصر پاسخ کامپوزیت پروتئین اتصال (CREB) فسفوریلاسیون نیز همراه بوده است (۲۵). ROS ناشی از استرس مکانیکی هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط نیز احتمالاً HIF-1 را با تداخل در فعالیت هیدروکسیلاز پرولین وابسته به Fe²⁺ تثبیت کرده باشد. ROS همچنین ممکن است مسیر MAPK یا PI-3K/Akt را که باعث افزایش فعالیت رونویسی HIF-1 α از طریق فسفوریلاسیون آن می‌شود فعال کرده باشد (۲۶).

eNOS ناشی از هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط نیز با افزایش NO به طور غیر مستقیم پروتئین فعال کننده ۱ (Ap-1) را فعال کرده که این عامل نیز در کنار HIF-1 باعث افزایش بیان VEGF شده است (۲۶).

به عبارتی هشت هفته تمرین تناوبی استقامتی با شدت متوسط از یک طرف ایجاد ROS کرده که این ROS باعث افزایش AMPK و P38 γ MAPK شده و از طرف دیگر با افزایش Ca آزاد باعث افزایش CaMKK و CaMKII شده است. CaMKK به طور مستقیم AMPK را افزایش داده که باعث افزایش PGC-1 α شده است، CaMKII نیز با افزایش P38 γ MAPK به طور مستقیم

REFERENCES

1. Mansouri K, Seifi P, Mostafaie A, Mohammadi-Motlagh HR. Study of the mechanisms and causes related to angiogenesis. *SJKU* 2012; 17(2): 96-107.
2. Otrrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: review. *May-jun. Blood Cells Mol Dis* 2007; 38(3): 258-68.
3. Gavin TP, Stallings HW, Zwetsloot KA, Westerkamp LM, Ryan NA, Moore RA, et al. Lower capillary density but no difference in VEGF expression in obese vs lean young skeletal muscle in humans. *J Appl Physiol* 2005; 98: 315-23.
4. Prior BM, Yang HT, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol* 2004; 97: 1119-28.
5. Bates DO. Vascular endothelial growth factors and vascular permeability. *Cardiovascular Research* 2010; 87:262-71.
6. Shimoda LA, Semenza GL. HIF and the lung: role of hypoxia-inducible factors in pulmonary development and disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183(2): 152-6.
7. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Reviews. Cancer* 2003; 3(10): 721-32.
8. Wang FS, Wang CJ, Chen YJ, Chang PR, Huang YT, Sun YC, et al. Ras induction of superoxide activates ERK-dependent angiogenic transcription factor HIF-1 α and VEGF-A expression in shock wave-stimulated osteoblasts. *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(11): 10331-7.
9. Zagzag D, Zhong H, Scalzitti JM, Laughner E, Simons JW, Semenza GL. Expression of hypoxia-inducible factor 1 α in brain tumors: association with angiogenesis, invasion, and progression. *Cancer* 2000; 88(11): 2606-18.
10. Zare zadeh mehrizi AA, rajabi H, Gharakhanlou R, Naghdi N, Azimi dokht SMA. Effect of 8 weeks of aerobic training on genes expression of Hypoxia inducible factor HIF-1 α , vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiotensin in hippocampus of male rats with Wistar model. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci* 2020; 27(11): 2063-75.
11. Wilmore JH, Costill DL, Kenney WL. *Physiology of sport and exercise*. Champaign IL: Human Kinetics; 2008.
12. Van Craenenbroeck EM, Vrints CJ, Haine SE, Vermeulen K, Goovaerts I, Van Tendeloo VF, et al. A maximal exercise bout increases the number of circulating CD34+/KDR+ endothelial progenitor cells in healthy subjects. Relation with lipid profile. *J Appl Physiol* 2008; 104(4): 1006-13.
13. Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol* 2004; 4: 2.
14. Nourshahi M, Hedayati M, Nemati J, Ranjbar K, Gholamali M. Effect of 8 weeks endurance training on serum vascular endothelial growth factor and endostatin in Wistar rats. *Koomesh* 2012; 13 (4): 474-9.
15. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, Ljubkovic M. Aerobic interval training attenuates remodeling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. *Cardiovasc Res* 2013; 1;99(1): 55-64.
16. Morten A, Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14(6): 753-60.
17. Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 280(3): 301-10.
18. Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisloff U and et al. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovascular Research* 2005; 67(1): 161-72.
19. Asmaa F, Hassan, Kamal MM. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. *Int J Health Sci(Qassim)* 2013; 7(1): 47-60.
20. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: 1290-8.
21. Karbalaieif S, Gaeini AA, Kordi MR, Nuri R, Ghorbani P. Effect of 6 weeks high intensity interval training on selected factors of cardiac angiogenesis in rats with myocardial infarction. *Sport Physiology* 2019; 11(42): 17-30.
22. Ranjbar K, Nourshahi M, Gholamali M. The effect of acute sub-maximal endurance exercise on serum angiogenic indices in sedentary men. *Zjrms* 2014; 16: 58-63.
23. ToloueiAzar J, Tofighi A, Arabzadeh E. The effect of 6 weeks endurance training on fsl-1, ndnf, vegf and vascular changes in healthy male Rats. *Sport Physiology (research on sport science)* 2019; 11(41): 169-86.
24. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years. *Br J Sports Med* 2008; 42: 126-9.
25. Frandin K, Mellstrom D, Sundh V, and Grimby G. A life span perspective on patterns of physical activity and functional performance at the age of 76. *Gerontology* 1995; 41: 109-20.
26. Ohno H, Shirato K, Sakurai T, Ogasawara J, Sumitani Y, Sato S, Imaizumi E, Ishida H and Kizaki T. Effect of exercise on HIF-1 and VEGF signaling. *J Phys Fitness Sports Med* 2012; 1(1): 5-16.
27. Yasumura S. Homebound elderly people in Japan special reference to intervention study including life review method. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi* 2003; 470-2.

The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Endurance Training on the Expression of HIF-1 and VEGF Genes in the Heart Muscle of Male Rats with Myocardial Infarction

Haidarpour SH¹, Ghahremani M^{2*}, Hosseinpour Delavar S³

¹Department of Sports Physiology, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran, ²Departments of Sports Physiology, Gilan-E-Gharb Branch, Islamic Azad University, Gilan-E-Gharb, Iran, ³Department of Sports Physiology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

Received: 13 May 2020 Accepted: 03 May 2021

Abstract:

Background & aim: Vascular endothelial growth factor (VEGF) as the strongest and most important stimulant of angiogenesis increases the migration and proliferation of endothelial cells and vascular network formation. The expression of this protein in hypoxia conditions is increased and stimulates angiogenesis by increasing the expression of hypoxia-induced factor (HIF-1). The aim of the present study was to determine the effect of eight weeks of moderate intensity endurance training on the expression of HIF-1 and VEGF genes in the heart muscle of male rats with myocardial infarction.

Methods: In the present experimental study conducted in 2019, 16 Wistar male rats of 10 weeks old and mean weight 250-300gr were allocated to two groups of Exercise (60 minutes of interval treadmill running for four minutes with the intensity of 65-70 and two minutes of active rest at 50-60 percent of VO_{2max} for 5 days a week for 8 weeks) and control group (without any training). Real-time PCR was used to assess the expression of genes. Data were analyzed in SPSS18 using independent t test ($P \leq 0.05$).

Results: The results of independent t-test related to experimental and control groups in VEGF and HIF-1 cardiac muscle index indicated that VEGF in the exercise group was significantly higher than the control group ($p = 0.001$) and also HIF-1 in the exercise group. It was significantly higher than the control group ($p = 0.001$).

Conclusion: In general, eight weeks of moderate intensity endurance training increases the effective factors in angiogenesis in male Wistar rats after myocardial infarction. Hypoxia resulting from eight moderate intensity endurance training increases HIF-1 and on the other hand this protein increased the expression of VEGF gene, which is the most important stimulator of angiogenesis, and ultimately increased angiogenesis in the heart muscle.

Keywords: Angiogenesis, Myocardial Infarction, Exercise, VEGF, HIF-1.

***Corresponding Author:** Ghahremani M, Department of Exercise Physiology, Gilan-E-Gharb Branch, Islamic Azad University, Gilan-E-Gharb, Iran.

Email: Mehran.physiology@gmail.com

Please cite this article as follows:

Haidarpour SH, Ghahremani M, Hosseinpour Delavar S. The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Endurance Training on the Expression of HIF-1 and VEGF Genes in the Heart Muscle of Male Rats with Myocardial Infarction. Armaghane-danesh 2021; 26(4(1)): 624-633.