

## The Effect of Moderate-Intensity Endurance Training on the Expression Level of Angiogenesis Factors and Cardiac Oxidative Stress in Rats

Seifi-Skishahr F\*, Khajehlandi M

Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

\*Corresponding author. Tel: +989143530227, Fax: +984533520457, E-mail: f.seify@uma.ac.ir

Received: Nov 29, 2020 Accepted: Feb 18, 2021

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** Based on the probably positive role of exercise on total oxidative status (TOS) and total antioxidant system (TAS) and their effect on the process of angiogenesis, the aim of the current study was to evaluate the effect of one course of moderate-intensity endurance training on the gene expression level of vascular endothelial growth factor-B (VEGF-B) and angiopoietin-1 (ANGPT-1) and TAS and TOS status in cardiac tissue of male rats.

**Methods:** In this study, 20 male Wistar rats were divided into two equal groups as follows: 1-training group and 2- control group: no sports activities were performed on them. Rats in the training group performed moderate endurance training for 6 weeks and 5 sessions per week from the twelfth week of life. Twenty-four hours after the last training session, heart tissue samples were extracted to measure gene expression levels of VEGF-B and ANGPT-1 and the TAS and TOS status in heart tissues. T-test with the statistical level of ( $p < 0.05$ ) was used for between groups comparison.

**Results:** Findings showed that after six weeks of endurance training, the expression level of ANGPT-1 and VEGF-B and the amount of TAS in the exercise group significantly increased ( $p = 0.001$ ) and the amount of TOS significantly decreased compared to the control group ( $p = 0.008$ ).

**Conclusion:** According to the results of the present study, it seems that moderate-intensity endurance training can be effective in preventing cardiovascular disease by increasing factors involving in angiogenesis, improving TAS and reducing TOS in heart tissue of rats.

**Keywords:** Moderate Intensity Endurance Training; Heart; Angiogenesis; Oxidative Stress

# تأثیر تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان فاکتورهای آنژیوژنز و استرس اکسیداتیو قلب در موش‌های صحرایی

فرناز سیفی اسک شهر\*، مؤده خواجه لندی

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران  
\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۴۳۵۳۰۲۲۷ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۲۰۴۵۷ پست الکترونیک: f.seify@uma.ac.ir

## چکیده

**زمینه و هدف:** با توجه به نقش احتمالا مثبت تمرین ورزشی بر وضعیت اکسیدانی تام (TOS) و سیستم آنتی‌اکسیدانی تام (TAS) و اثر متقابل آنها بر روند پروسه آنژیوژنز، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی با شدت متوسط بر میزان بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروق- B (VEGF-B) و آنژیوپوئیتین-۱ (ANGPT-1) و مقادیر TOS و TAS بافت قلب در موش‌های صحرایی نر بود.

**روش کار:** در این پژوهش ۲۰ سر موش نر صحرایی نژاد ویستار به دو گروه مساوی بدین شرح تقسیم شدند: ۱- گروه تمرین و ۲- گروه کنترل که هیچ‌گونه فعالیت ورزشی بر روی آنها انجام نشد. موش‌های گروه تمرین از هفته دوازدهم زندگی به مدت شش هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین استقامتی انجام دادند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین برای بررسی اثر تمرین، نمونه‌های بافت قلب استخراج گردید. برای مقایسه بین گروهی و اختلاف معنادار بین گروه‌ها از آزمون آماری  $t$  مستقل با سطح آماری  $p < 0.05$  استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل میزان بیان ژن VEGF-B و ANGPT-1 و مقادیر TAS افزایش معنادار  $p = 0.001$  و مقادیر TOS کاهش معنادار  $p = 0.008$  داشتند.

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر به نظر می‌رسد که تمرین استقامتی با شدت متوسط با افزایش فاکتورهای مرتبط با آنژیوژنز بافت قلب موش‌ها و بهبود TAS و کاهش TOS در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی می‌تواند موثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین استقامتی با شدت متوسط، قلب، آنژیوژنز، استرس اکسیداتیو

دریافت: ۱۳۹۹/۹/۹

پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۳۰

## مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی علت اصلی مرگ و میر در سراسر جهان و اولین علت مرگ و میر در جهان است که ۸/۴۸ درصد از مرگ و میرها در سال یعنی ۱۷/۵ میلیون مرگ را نشان می‌دهد [۱]. از دیرباز تاکنون شرکت در فعالیت بدنی منظم از جمله اولویت‌های بهداشتی جهانی برای پیشگیری از بیماری‌های مختلف

از جمله بیماری قلبی-عروقی می‌باشد، به طوری که بر اساس تحقیقات صورت گرفته این‌گونه مطرح شده است که فعالیت بدنی احتمال مرگ و میر بر اثر بیماری قلب و عروق را ۳۵ درصد کاهش داده و بدین ترتیب امید افراد به زندگی را با مراقبت از سیستم قلبی-عروقی افزایش خواهد داد [۲]. به دنبال فعالیت بدنی، سازگاری‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک

است که در قلب طبیعی و سالم پروتئین VEGF-B بیان می‌شود و آنژیوژنز را در هر دو شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی میانجی می‌نماید [۹]. از دیگر فاکتورهای مرتبط با آنژیوژنز فاکتور آنژیوپوئیتین-۱ (ANGPT-1) می‌باشد. این عامل اگرچه شروع کننده فرایند آنژیوژنز نیست ولی تغییراتی در جهت ثبات سازی و بی ثبات سازی عروقی را موجب می‌گردد و از جمله عوامل آنژیوژنیک اصلی است که باعث افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیال و سرعت رشد مجدد عروق در ناحیه انفارکتوس می‌شود [۱۰]. مطالعه در زمینه اثر فعالیت ورزشی بر این فاکتور بسیار محدود است و از جمله تحقیقات صورت گرفته مطالعه‌ای است که به بررسی اثر تمرین استقامتی بلند مدت و میان مدت بر سطوح ANGPT-1 قلب موش‌ها پرداخته است و نتیجه آن به اینصورت است که در گروه تمرینی بلندمدت و میان مدت میزان بیان ژن ANGPT-1 تنها در گروه تمرینی میان مدت افزایش معناداری داشته است [۱۱]. باید بیان نمود که آسیب عضله قلبی در اثر استرس اکسایشی نتیجه عدم تعادل بین تولید و خنثی‌سازی گونه‌های آنتی‌اکسیدانی به دلیل افزایش تولید گونه‌های نیتروژن و اکسیژن واکنشی یا دفاع ناکافی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. رادیکال‌های آزاد می‌توانند بر بسیاری از فرآیندهای متابولیکی مانند بیان رونویسی ژن‌ها، افتراق سلولی و پاسخ‌های التهابی تأثیر گذارند و بدین ترتیب به‌طور غیرمستقیم بر پروسه آنژیوژنز اثر گذار باشند [۱۲]. اگرچه سطح مشخصی از رادیکال‌های آزاد برای مبارزه با عفونت‌ها و انقباض عضلات صاف ضروری می‌باشد [۱۳]. براساس مستندات این گونه بیان شده است که فعالیت ورزشی باعث افزایش رادیکال‌های آزاد می‌گردد اما تصور می‌شود که می‌تواند موجب کاهش فشار اکسیداتیو از طریق افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی شده و تأثیر مطلوبی بر تغییرات فیزیولوژیکی بدن داشته باشد. برخی از پژوهش‌ها این گونه نشان داده‌اند که

عمده‌ای مشاهده می‌گردد به‌طوری‌که علاوه بر تغییرات در سطوح هورمون‌های مختلف و پروتئین‌ها، عملکرد و ساختار بافت قلب، مسیرهای متعدد سیگنالینگ در سلول‌های آن و وضعیت اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرند [۳]. اثرگذاری فعالیت بدنی بر بیان ژن عوامل مرتبط با نئوآنژیوژنز<sup>۱</sup> و تراکم مویرگی در قلب از جمله تغییرات در ساختار قلب است. آنژیوژنیزیس<sup>۲</sup> یا رگ‌زایی به معنی افزایش چگالی مویرگ‌های عضله قلبی می‌باشد که در پاسخ به محرک‌هایی مثل نیروهای همودینامیک و عوامل متابولیکی تحت تأثیر قرار گرفته و فعالیت خود را از سر می‌گیرد [۴]. تشکیل مویرگ جدید و در نهایت افزایش چگالی مویرگی منجر به انتقال بهتر و بیشتر اکسیژن به تار عضلانی می‌گردد. این فرآیند متاثر از تعامل آنژیوژنیک و عوامل آنژیوژنتیک است [۵]. در روند پروسه آنژیوژنز شاخص‌های مرتبطی درگیر هستند که پس از اتصال به گیرنده‌هایشان روی سلول‌های هدف اندوتلیال موجب فعال شدن این سلول‌ها می‌شوند و بدین ترتیب با شروع فعالیت سلول‌های مذکور، انواع خاصی از متالوپروتئینازها از سلول‌های فوق ترشح می‌شوند و غشای پایه را در منطقه مذکور تجزیه می‌کنند و با هضم غشای پایه سلول‌های اندوتلیال تکثیر می‌نمایند [۶].

عامل رشد آندوتلیال عروقی (VEGF)<sup>۳</sup> از جمله فاکتورهایی است که در آنژیوژنز نقش اساسی دارد. این فاکتور به‌عنوان تنظیم کننده مهم آنژیوژنز؛ تمايز، تکثیر و مهاجرت سلول اندوتلیال را میانجی‌گری می‌کند، درحالی‌که مانع آپوپتوز سلولی شده و با افزایش تولید نیتریک اکسید (NO) و نفوذپذیری عروقی همراه است [۷، ۸]. این گونه نشان داده شده

<sup>1</sup> Neoangiogenesis

<sup>2</sup> Angiogenesis

<sup>3</sup> Vascular Endothelial Growth Factor

آزمودنی‌ها پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، به روش تصادفی به دو گروه بدین شرح تقسیم شدند: ۱- گروه تمرین: این گروه شامل ۱۰ سر موش صحرائی نر بود که در برنامه تمرینی روی نوار گردان شرکت کردند؛ و ۲- گروه کنترل: این گروه شامل ۱۰ سر موش صحرائی نر بود که هیچ گونه فعالیت ورزشی بر روی آن‌ها انجام نشد. این موش‌ها نیز همزمان با دیگر گروه تشریح شده و کلیه مراحل و آزمایش‌ها مطابق دیگر گروه بر روی آن‌ها انجام پذیرفت. نمونه‌ها با استفاده از فرمول تعیین حجم نمونه در مطالعات تجربی، با در نظر گرفتن خطای نوع اول مساوی با ۰/۰۵، ۱۰ سر موش در هر گروه تعیین شد. تعداد اندازه نمونه از طریق فرمول زیر برآورد شد که در آن  $S=14$  (انحراف استاندارد) و  $D=8$  (دقت احتمالی) از منابع قبلی و  $Z$  از جدول ارزش‌های بحرانی تعیین شد [۱۸].

$$n = \frac{S_x^2 \times Z_{\alpha/2}^2}{D^2}$$

#### نگهداری و تغذیه موش‌ها

تمامی موش‌ها در اتاقی در محل نگهداری حیوانات نگهداری شدند. موش‌ها در گروه‌های سه تایی در محیطی با میانگین دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. غذای موش‌ها از شرکت خوراک دام پارس تهیه شد. در تمام مراحل پژوهش، موش‌ها توسط یک نفر جابه‌جا و دستکاری شده و آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار داده شد. ابتدا در طول مرحله آشناسازی، به منظور خوگیری به شرایط آزمایشگاه، نوارگردان و دست‌کاری، حیوانات ۵ روز در هفته به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰-۵ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند و با نوارگردان و چگونگی دویدن بر آن آشنا شدند.

تمرینات کوتاه مدت شدید ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد [۱۵، ۱۴]. حذف و خنثی‌سازی گونه‌های اکسیژنی واکنش‌گر توسط مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی انجام می‌شود. در همین زمان، وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام نشان‌دهنده همه مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی است [۱۶]. با این حال از آنجایی که ارزیابی مولکول‌های اکسیدانی مختلف عملی نیست و اثرات اکسیدانی آن‌ها افزایشی است، ارزیابی TOS و TAS می‌تواند موجب صرفه جویی در وقت و هزینه شود [۱۷].

بنابراین از آنجایی که عضله قلبی با قرارگیری طولانی مدت در برابر یک محرک ویژه مانند کاهش تغذیه، فعالیت بدنی و غیره می‌تواند سازگاری پیدا کند، بررسی برخی از سازگاری‌های مرتبط با شرایط استرس اکسایشی در فعالیت ورزشی استقامتی منظم دو چندان می‌شود. با وجود مطالعات اندکی که در زمینه سازگاری‌های تمرین استقامتی با شدت متوسط بر استرس اکسایشی بافت قلب و آنژیوژنز و وجود نتایج متناقض متعاقب فعالیت ورزشی با پروتکل‌های متفاوت، مخصوصاً محدودیت مطالعات در زمینه اثر تمرین استقامتی با شدت متوسط بر فاکتورهای مرتبط با آنژیوژنز از جمله VEGF-B و ANGPT-1 وجود دارد هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر میزان بیان ژن VEGF-B و ANGPT-1 و مقادیر TOS و TAS بافت قلب در موش‌های صحرائی نر بود.

#### روش کار

##### نمونه‌های پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به همراه گروه کنترل بوده و به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. در این پژوهش ۲۰ سر موش نر ویستار ۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به عنوان نمونه تحقیق از مرکز نگهداری حیوانات خریداری شدند.

## پروتکل پژوهش

دقیقه در هفته دوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۷-۱۸ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی جهت رسیدن سازگاری‌های به‌دست آمده به حالت یکنواخت ثابت نگه‌داشته شدند (جدول ۱).

در تحقیق حاضر از تمرین استقامتی با شدت تمرینی متوسط (۵۵-۵۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) بر اساس مطالعه چائه<sup>۱</sup> و همکاران استفاده شد [۱۹]; بدین‌صورت که گروه ورزشی در معرض تمرین نوار گردان برای ۵ جلسه در هفته و به‌مدت ۶ هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به‌تدریج افزایش یافت، به طوری‌که از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰

جدول ۱. پروتکل تمرینی در طول شش هفته

شاخص‌های تمرینی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
مدت تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۷-۱۸	۱۷-۱۸
شیب (درجه)	.	.	.	.	.	.
تکرار (روز در هفته)	۵	۵	۵	۵	۵	۵

## روش‌های آزمایشگاهی

دستورالعمل شرکت انجام شد. به‌منظور تأیید بیان ژن‌های مورد نظر، ابتدا واکنش روی بافت‌های موردنظر انجام گردید و در صورت تأیید بیان ژن‌های مورد نظر به منظور بررسی مقایسه‌ای بیان ژن‌ها از آزمون PCR در زمان حقیقی استفاده گردید. برای طراحی پروب و پرایمر از نرم افزار Beacon designer TM7/01 استفاده شد که در جدول ۲ به نمایش گذاشته شده است. واکنش‌های PCR با استفاده از آنزیم Taq polymerase در واکنش‌هایی با حجم ۲۵μL انجام شد. نمونه cDNA بافت قلب به عنوان کنترل مثبت و یک نمونه واکنش فاقد cDNA به عنوان کنترل منفی در هر واکنش PCR در نظر گرفته شد. به‌منظور مشاهده محصول PCR از ژل آگاروز ۲٪ تهیه شده در محلول بافر TAE استفاده شد. برای ارزیابی تغییرات بیان ژن‌ها از روش مقایسه‌ای  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  و دستگاه Mini Option Tm محصول شرکت بیوراد و کیت تجاری qPCR Probe Master Bioneer استفاده شد. مقادیر مقایسه‌ای بیان ژن‌های مورد نظر در مقایسه با بیان GAPDH در هر بافت توسط نرم‌افزار ژن

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، تحت شرایط استریل بافت قلب موش‌های صحرایی توسط متخصص آناتومی جدا شد. بافت‌های قلب تا قبل از انجام بررسی‌های آزمایشگاهی در دمای منفی ۷۰ نگهداری شدند. استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری TRIZOL و مطابق با روش ارائه‌شده توسط شرکت انجام شد. به‌منظور حذف DNA، تمام نمونه‌های RNA به‌مدت ۱ ساعت با آنزیم Dnase و مطابق روش ارائه شده توسط شرکت تیمار شدند. غلظت و میزان خلوص نمونه‌های RNA پس از قرائت جذب آن‌ها در طول موج ۲۶۰ nm و نیز محاسبه نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ با استفاده از اسپکتروفتومتر بیوفتومتر (اپندورف، آلمان) تعیین گردید. نمونه‌هایی که نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ آن‌ها بیش از ۱/۸ بود جهت سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفتند. سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری AmpliSence صورت پذیرفت. پرایمرهای تصادفی هگزامر در واکنش‌هایی با حجم ۲۰μL مطابق

<sup>1</sup> Chae

۱۰ ضربه بر روی یخ هموژنیز شد. اندازه‌گیری میزان فعالیت TOS با استفاده از کیت Diagnostic Assay Rel ساخت کشور ترکیه و روش فتومتریک انجام گردید و اندازه‌گیری میزان فعالیت TAS با استفاده از کیت تجاری TAS شرکت Rel Assay Diagnostic و روش رنگ‌سنجی و فتومتریک انجام گردید.

ارزیابی و بر اساس رابطه  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  گزارش گردید [۲۰].

برای سنجش وضعیت TOS جهت یکنواخت‌سازی، پس از جداکردن بافت قلب و برش قسمتی از آن (بطن چپ)، بخش مد نظر را در بافر لیزکننده به نسبت ۱۰ به ۱ قرار داده و با استفاده از هموژنایزر شیشه‌ای با

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Forward	Reverse	bp
GAPDH	AGTTCAACGGCAGTCAAG	TACTCAGCACCAGCATCACC	119
VEGF-B	ACCTCTGAGCATGGAAGTCA	CATGAGGATCTGCATTCGGAC	149
ANGPT-1	CCTTATGCTAACAGGAGTTGG	CTGGGTCCTTTGAAGTAGTGC	129

### یافته‌ها

بررسی نتایج حاصل از آزمون آماری t مستقل نشان داد که ۲۴ ساعت پس از اتمام شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط روی حیوانات میزان بیان ژن VEGF-B، ANGPT-1 و مقادیر TAS در گروه تمرین با سطح معناداری ( $p=0/001$ ) برای VEGF-B، ( $p=0/001$ ) برای ANGPT-1 و ( $p=0/001$ ) برای TAS افزایش معناداری، و مقادیر TOS با سطح معناداری ( $p=0/008$ ) نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشته‌اند که در جدول ۳ و نمودار ۱ و ۲ به نمایش گذاشته شده است.

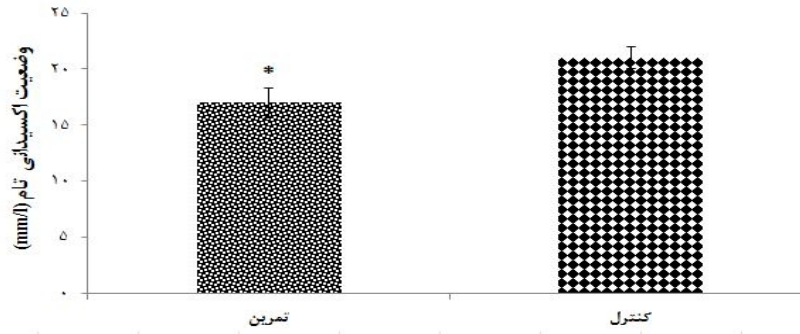
### تجزیه و تحلیل آماری

برای گزارش توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد استفاده شد. پس از بررسی توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها به ترتیب توسط آزمون شاپیرو ویلک و آزمون لون  $p>0/05$  از آزمون t مستقل برای بررسی تفاوت بیان ژن VEGF-B و ANGPT-1 و مقادیر TOS و TAS بین دو گروه تمرین و کنترل استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS-23 انجام گرفت و سطح معناداری  $p<0/05$  در نظر گرفته شد.

جدول ۳. نتایج آزمون آماری t مستقل برای بررسی بیان ژن آنزیم‌های مربوط به آنژیوژنز VEGF-B و ANGPT-1 بافت قلب موش‌ها پس از شش هفته تمرین استقامتی

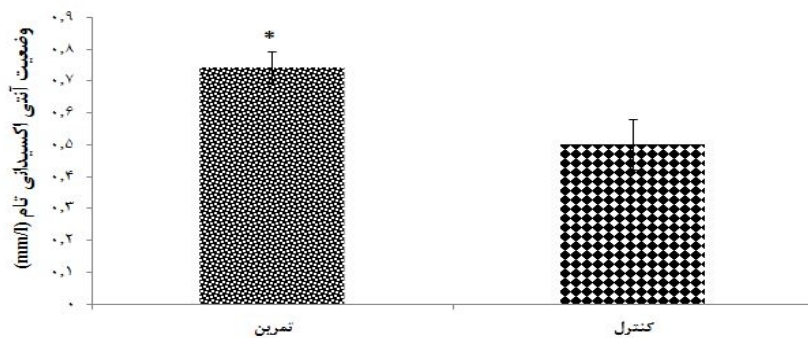
ژن‌ها	گروه‌ها	میانگین	انحراف استاندارد	درجه آزادی	T	P	P تست لون
VEGF-B	تمرین	۲/۰۲	۰/۰۵	۱۸	۱۰/۶۴۱	*۰/۰۰۱	۰/۳۹۲
	کنترل	۱/۰۸	۰/۰۶				
ANGPT-1	تمرین	۱/۱۱	۰/۰۱	۱۸	۱۰/۳۷۶	*۰/۰۰۱	۰/۱۶۱
	کنترل	۰/۹۰	۰/۰۱				

\* نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین دو گروه تمرین و کنترل



نمودار ۱. وضعیت اکسیدانی تام بافت قلب پس از شش هفته تمرین استقامتی بر اساس آزمون آماری t مستقل در دو گروه تمرین و کنترل

\* نشان دهنده اختلاف معنادار بین دو گروه تمرین و کنترل ( $p < 0.05$ )



نمودار ۲. وضعیت آنتی اکسیدانی تام بافت قلب پس از شش هفته تمرین استقامتی بر اساس آزمون آماری t مستقل در دو گروه تمرین و کنترل

\* نشان دهنده اختلاف معنادار بین دو گروه تمرین و کنترل ( $p < 0.05$ )

## بحث

در اثر فعالیت هوازی حجم قلب و خون افزایش می یابد و تراکم مویرگی، تعداد و دانسیته میتوکندری و تعداد آنزیم های اکسیدانی زیاد می گردد. این عوامل سبب بهینه شدن مصرف اکسیژن می شود؛ فرد کمتر دچار محدودیت اکسیژن شده و یک فعالیت مشخص را با مصرف اکسیژن کمتری انجام می دهد [۲۱]. بدین ترتیب هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر میزان بیان ژن VEGF-B و ANGPT-1 و مقادیر TOS و TAS در بافت قلب موش های صحرایی نر بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پس از اتمام دوره تمرینی میزان بیان ژن VEGF-B افزایش داشته است. عوامل آنژیوژنیک عمده ای شناسایی شده اند که از میان آنها عامل رشد آندوتلیال عروقی به عنوان قوی ترین میتوژن مخصوص سلول های آندوتلیال شناخته شده

است. از آنجا که سلول های آندوتلیال پیوسته در معرض فشار مکانیکی ناشی از انقباض عضلانی هستند و تنش وارده بر آندوتلیال یکی از عوامل آزادسازی VEGF می باشد، احتمالاً کاهش مقاومت به انسولین، افزایش حساسیت انسولینی و انقباض های عضلانی ناشی از تمرین استقامتی سبب بهبود و افزایش معنادار بیان ژن VEGF-B در بافت قلب شده باشند [۲۲]. یک فرضیه دیگری که برای افزایش این پروتئین می توان در نظر گرفت این است که فعالیت های بدنی موجب افزایش فاکتورهای رشدی می گردند و این فاکتورها موجب فعال سازی GH-IGF1 و بدین ترتیب موجب افزایش رگزایی می گردند. از سوی دیگر هورمون رشد عاملی برای فعال سازی نیتریک اکساید می باشد که از طریق رگ گشایی می تواند عاملی برای رگزایی باشد. نتایج مطالعه رودریگز<sup>۱</sup> و

<sup>۱</sup> Rodrigues

همکاران [۲۳] و ارکات<sup>۱</sup> و همکاران [۹] هم‌راستا با مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات استقامتی میزان بیان VEGF-B را افزایش می‌دهد که این افزایش از طریق افزایش متابولیسم عضله قلبی و ایجاد شرایط کمبود اکسیژن موجب تحریک HIF-1 و بهبود آنژیوژنز قلبی از طریق افزایش VEGF-B می‌گردد. در بیشتر پژوهش‌های انجام شده افزایش سطوح این پروتئین دیده می‌شود اما در برخی از پژوهش‌ها هم کاهش آن مشاهده می‌گردد که این به معنای عدم تاثیر فعالیت ورزشی نیست بلکه این کاهش موقتی می‌تواند ناشی از اتصال VEGF-B به گیرنده‌های موجود در سلول‌های آندوتلیال باشد که این اتصال خود محرکی برای فرایند آنژیوژنز در عضله قلبی می‌باشد [۲۴].

از دیگر فاکتورهای اندازه‌گیری شده مرتبط با آنژیوژنز بافت قلب در پژوهش حاضر ANGPT-1 بود که میزان بیان آن پس از شش هفته تمرین استقامتی افزایش یافت. این فاکتور نیز میتوژن مخصوص سلول آندوتلیال می‌باشد، زیرا گیرنده آن‌ها تنها بر روی سلول‌های آندوتلیال وجود دارد [۲۵]. در مورد فاکتور مذکور تحقیقات محدودی صورت گرفته است که نتایج آن‌ها با یکدیگر در تضاد هستند. چنانچه در تحقیقاتی بیان شده است که ورزش و فعالیت بدنی بر بیان آن این شاخص اثر ندارد [۲۶، ۲۷]، در حالی که در پژوهش دیگری افزایش بیان آن پس از یک دوره تمرین استقامتی مشاهده شده است که در آن شش هفته رکاب زدن با شدت بالا بیان ژنی ANGPT-1 در آزمودنی‌هایی که اکسیژن مصرفی آن‌ها بالا رفته بود، را افزایش داد [۲۸] که با نتیجه مطالعه حاضر همسو است. در واقع این‌گونه مطرح شده است که در عضلاتی که اکسیداتیو آهسته هستند در مقایسه با عضلاتی که گلیکولیتیکی هستند نسبت ANGPT-1 به ANGPT-2 سریع، بالاتر است

<sup>1</sup> Erekat

که نشان‌دهنده عروقی شدن بیشتر این تارهای عضلانی و نیاز بالاتر به اکسیژن در این نوع تارها است [۲۹] و شایان ذکر است که نسبت بالای ANGPT-1 به ANGPT-2 باعث تسهیل جوانه زدن و شروع فرآیند آنژیوژنز می‌شود.

باتوجه به اینکه استرس اکسایشی بر روند آنژیوژنز بافت قلب اثرگذار است و وضعیت آنتی‌اکسیدان که سیستم دفاعی در مقابل اکسیدان‌ها است در ایجاد تعادل وضعیت اکسیدانی نقش اساسی دارد از دیگر فاکتورهای اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر بررسی TOS و TAS بافت قلب بود که مشاهده شد پس از شش هفته تمرین استقامتی میزان TOS و TAS به‌ترتیب کاهش و افزایش پیدا نمود. از مطالعات ناهمسو با مطالعه حاضر می‌توان به مطالعه سانگ استد<sup>۲</sup> و همکاران [۳۰] و مقدم و همکاران [۳۱] اشاره کرد. در مطالعه سانگ استد و همکاران نتایج نشان‌دهنده آن بود که بعد از شش هفته تمرینات اینتروال شدید تفاوت معناداری در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و مالون دی‌آلدئید در بافت قلب و کبد مشاهده نشد و نتایج مطالعه مقدم و همکاران که به مقایسه تغییرات مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و مالون دی‌آلدئید دوندگان سرعت با غیر ورزشکاران که پروتکل تمرین بی‌هواری شدید را اجرا کرده بودند پرداختند، نشان داد که در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و مالون دی‌آلدئید تفاوت معناداری وجود ندارد. به نظر می‌رسد که این عدم تغییر ناشی از دفاع اکسایشی در اثر اجرای فعالیت بی‌هواری منظم و پروتکل تمرینی متفاوت نسبت به پژوهش حاضر باشد. براساس مطالعات پیشین، این‌گونه می‌توان بیان نمود که فعالیت ورزشی منظم قادر است از استرس اکسیداتیو با کاهش پراکسیداسیون لیپید و همچنین افزایش TAS و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز جلوگیری کند. علاوه

<sup>2</sup> Songstad



عدم ارزیابی مورفولوژیکی کاردیومیوسیت‌ها بوده است.

### نتیجه گیری

بافت قلب در مقابل بی‌حرکی واکنش نشان می‌دهد و آسیب‌های قلبی در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش همزمان وضعیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط خاص مثل بیماری است. نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده اثر مثبت فعالیت بدنی بر روند میزان بیان ژن فاکتورهای مرتبط با آنژیوژنز VEGF-B و ANGPT-1 در بافت قلب است. به نظر می‌رسد به‌دنبال انجام تمرینات ورزشی سیستم دفاع سلولی سعی در برقراری تعادل و یا افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مقابل استرس اکسیداتیوها را دارد. بنابراین تمرین استقامتی با شدت متوسط از طریق بهبود ظرفیت TAS به عنوان عامل قدرتمند در جهت محافظت از بافت قلب در مقابل استرس اکسیداتیو را دارد.

### تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر برگرفته از طرح پژوهشی با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی است که با کد IR.ARUMS.REC.1399.473 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل مورد تایید قرار گرفته است. مقاله حاضر فاقد تعارض منافع می‌باشد.

براین می‌توان به این نکته نیز اشاره کرد که قرارگیری مداوم در موقعیت‌های تسهیل‌کننده تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر باعث ایجاد سازگاری‌هایی می‌شود که دفاع سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشیده و در نتیجه فعالیت رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد [۳۲]. کاهش وضعیت اکسیدانی بر اثر تمرینات ورزشی منظم چندین هفته‌ای را می‌توان به بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد و یا بهبود عملکرد دستگاه انتقال الکترون (جلوگیری از نشت الکترون) نسبت داد [۳۳]. همچنین، تولید مکرر رادیکال‌های آزاد ناشی از ایسکمی و انتشار مجدد خون در سطح عضلانی که در اثر فعالیت‌های ورزشی روی می‌دهد می‌تواند در بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی نقش داشته باشد [۳۴]. نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر دلالت بر نقش مثبت تمرینات با شدت متوسط بر کنترل شاخص‌های استرس اکسایشی و پیشگیری از پراکسیداسیون لیپید و آسیب‌پذیری غشاء دارد چرا که شدت و مدت فعالیت بدنی متغیرهای مهمی هستند که می‌توانند در نوع فعالیت بدنی و بر اثرگذاری روی شاخص‌های استرس اکسایشی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن دخالت کنند [۳۵]. از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم بررسی سایر عوامل در روند آنژیوژنز و

### References

- 1- Capewell S, Ford E, Croft J, Critchley J, Greenlund K, Labarthe D. Cardiovascular risk factor trends and potential for reducing coronary heart disease mortality in the United States of America. *Bull World Health Organ.* 2010 Feb; 88: 120-130.
- 2- Rosano JM, Cheheltani R, Wang B, Vora H, Kiani MF, Crabbe DL. Targeted delivery of VEGF after a myocardial infarction reduces collagen deposition and improves cardiac function. *Cardiovasc Eng Technol.* 2012 Jun; 3(2):237-247.
- 3- Polli A, Ickmans K, Godderis L, Nijs J. When environment meets genetics: a clinical review of the epigenetics of pain, psychological factors, and physical activity. *Arch Phys Med Rehabil.* 2019 Jun; 100(6):1153-1161.

- 4- Wade SM, Ohnesorge N, McLoughlin H, Biniecka M, Carter SP, Trenkman M, et al. Dysregulated miR-125a promotes angiogenesis through enhanced glycolysis. *E Bio Medicine*. 2019 Sep; 47:402-413.
- 5- Nourshahi M, Taheri Chadorneshin H, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *Horizon Med Sci*. 2013 Sep; 18(5): 286-296. [Full text in Persian]
- 6- Khajehlandi M, Bolboli L, Siahkuhian M, Rami M, Tabandeh M. The effect of moderate-intensity endurance training on the levels of cortisol, MEF-2C, and MMP-2 gene expression in Wistar male myocardium: Interventional and experimental study. *Stud Med Sci*. 2020 July; 31 (4): 305-315. [Full text in Persian]
- 7- Epstein SE, Kornowski R, and Fuchs S, Dvorak HF. Angiogenesis therapy: Amidst the hype, the neglected potential for serious side effects. *Circulation* 2001 Jul; 104(1):115-119.
- 8- Geva E, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril*. 2000 Sep; 74(3):429-438.
- 9- Erekat NS, Al-Jarrah MD, Al Khatib AJ. Treadmill exercise training improves vascular endothelial growth Factor expression in the cardiac muscle of type I diabetic rats. *Cardiovasc Res* 2014 Feb; 5(1):23.
- 10- Metheny- Barlow LJ, Lu Yuan LI. The enigmatic role of angiopoietin-1 in tumor angiogenesis. *Cell Res*. 2003 Oct; 13 (5): 309-317.
- 11- Ardakanizade M. The effects of mid- and long-term endurance exercise on heart angiogenesis and oxidative stress. *Iran J Basic Med Sci*. 2018 Agu; 21:800-805.
- 12- Ansley DM, Wang B. Oxidative stress and myocardial injury in the diabetic heart. *J Pathol*. 2013 Jan; 229(2): 232-241.
- 13- Kosmidou I, Vassilakopoulous T, Xagorari A, Zakynthinos S, Papapetropoulos A, Roussos C. Production of interleukin-6 by skeletal myotubes. Role of reactive oxygen species. *Am J Respir Cell Mol Bio*. 2002 May; 26:587-593.
- 14- Radak Z, Chung H, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenging induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med*. 2008 Jan; 44:153-159.
- 15- Watson TA, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. Oxidative stress and antioxidants in athletes undertaking regular exercise training. *Journal Sport Nutr Exerc Metab*. 2005 Apr; 15: 131-146.
- 16- Nicolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panun N, Samaras L, Jamurtas AZ, et al. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Journal Appl Physiol Nutr Metab*. 2007 Apr; 32: 197-205.
- 17- Aksoy L, Kolay E, Agilonu Y, Aslan Z. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic thermopsis turcica. *Saudi J Biol Sci*. 2013 Jul; 20 (3): 235-39.
- 18- Kim JW, Ko YC, Seo TB, Kim YP. Effect of circuit training on body composition, physical fitness, and metabolic syndrome risk factors in obese female college students. *J Exerc Rehabil*. 2018 Jun; 14(3):460-65.
- 19- Chae CH, Jung SL, An SH, Jung CK, Nam SN, Kim HT. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. *J Physiol Biochem*. 2011 Jun; 67(2): 235-241.
- 20- Elghamry HA, Mohamed M, Hassan FM, Abdelfattah DS, Abdelaal AG. Potential use of GAPDH m-RNA in estimating PMI in brain tissue of albino rats at different environmental conditions. *Forensic Sci*. 2017 Dec; 7(1): 1-7.
- 21- Hovanloo F, Hedayati M, Ebrahimi M, Abednazari H. Effect of various time courses of endurance training on alterations of antioxidant enzymes activity in rat liver tissue. *Research in medicine*. 2011 Spr; 35(1), 14-19. [Full text in Persian]
- 22- Li S, Culver B, Ren J. Benefit and risk of exercise on myocardial function in diabetes. *Pharmacol Res*. 2003 Agu; 48(2):127-132.
- 23- Rodrigues B, Jorge L, Mostarda CT, Rosa KT, Medeiros A, Malfitano C, et al. Aerobic exercise training delays cardiac dysfunction and improves autonomic control of circulation in diabetic rats undergoing myocardial infarction. *J Card Fail*. 2012 Sep; 18(9): 734-744.

- 24- Hoffner L, Nielsen JJ, Langberg H, Hellsten Y. Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in human skeletal muscle interstitium. *J Physiol*. 2003 May; 550(1): 217-225.
- 25- Tofighi A, Babaea S, Rahmani F. The effect of long period of regular exercise on lipid profiles and svcam-1, sicam-1 changes in obese women. *Stud Med Sci*. 2013 Sep; 24(7):499-508. [Full text in Persian]
- 26- Gavin TP, Drew JL, Kubik CJ, Pofah WE, Hickner RC. Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. *Acta Physiol (Oxf)*. 2007 Oct; 191 (2):139-146.
- 27- Gustafsson T, Rundqvist H, Norrbom J, Rullman E, Jansson E, Sundberg CJ. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2007 Sep; 103(3):1012-1020.
- 28- Timmons JA, Jansson E, Fischer H, Gustafsson T, Greenhaff PL, Ridder J, et al. Modulation of extracellular matrix genes reflects the magnitude of physiological adaptation to aerobic exercise training in humans. *BMC Biol*. 2005 Sep; 3: 19.
- 29- Metheny- Barlow LJ, Lu Yuan LI. The enigmatic role of angiopoietin-1 in tumor angiogenesis. *Cell Res*. 2003 Oct; 13 (5):309-317.
- 30- Songstad NT, Kaspersen KHF, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. *Plos One*. 2015 Nov; 10(11): E0143095.
- 31- Moghaddam MB, Aghdam FB, Jafarabadi MA, Allahverdipour H, Nikookheslat SD, Safarpour, S. The Iranian version of international physical activity questionnaire (IPAQ) in Iran: Content and construct validity, factor structure, internal consistency and stability. *World Appl Sci*. 2012 Jan; 18(8): 1073-1080.
- 32- De lemos T, Oliveira J, Pascoa Pinheiro J, Reis F. Regular physical exercise as a strategy to improve antioxidant and anti-inflammatory status: benefits in type2 diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev*. 2012 Jul; 2012: 1-15.
- 33- Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med*. 2008 Jan; 44:153-159.
- 34- Park SY, Kwak YS. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *J Exerc Rehabil*. 2016 Apr; 12:113-117.
- 35- Bolboli L, Khajehlandi M. A comparison of the effect of endurance training on the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in the cardiac tissue of healthy and diabetic rats. *Yafteh*. 2020 Win; 21(4): 20-31. [Full text in Persian]