Daneshvar Medicine
Basic and Clinical Research Journal Vol. 29, No. 4, 2021

Research Paper

Effect of three methods of training, moderate-intensity aerobic exercise training, high intensity training and high-intensity interval training, on PLGF and HGF gene expression in adipose tissue in rat

Rokhsareh Abedi, Saeed Naghibi*, Majid Gholipour Barzegar

Department of Exercise Physiology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: sdnaghibi@yahoo.com**

Citation: Abedi R, Naghibi S, Gholipour Barzegar M. Effect of three methods of training, moderate-intensity aerobic exercise training, high intensity training and high-intensity interval training, on PLGF and HGF gene expression in adipose tissue in rat. Daneshvar Medicine 2021; 29(4):55-65. doi: 10.22070/DANESHMED.2021.14697.1095

Abstract

Background and Objective: Exercise has many effects on human health, one of which is to help angiogenesis and prevent cardiovascular disease. The aim of this study was to investigate the effect of three training methods Moderate-Intensity Aerobic Exercise Training (MIT), High Intensity Training (HIT) and High-intensity interval training (HIIT) on the expression of HGF and PlGF genes, which are important factors involved in angiogenesis.

Materials and Methods: In this study, 32 male Wistar rats with an average weight of 300 grams were randomly divided into four groups including control, MIT, HIT and HIIT (n=8) and underwent exercise for an eight-week period. 48 hours after the last training session, samples were taken from adipose tissue of rat and the expression of HGF and PlGF genes in them was determined using Real time PCR. Statistical analysis of data was performed using SPSS and Kruskal-Wallis and Hodges-Holmes tests software.

Results: The results showed that all three training methods MIT, HIT and HIIT increase the expression of HGF and PlGF genes ($P < 0.05$). However, there is no significant difference between the three exercise methods ($P > 0.05$).

Conclusion: MIT, HIT and HIIT exercises have favorable effects in increasing the expression of HGF and PlGF genes.

Keywords: Aerobic exercise, Gene expression, Placenta growth factor, Hepatocyte growth factor

Received: 17 July 2021
Last revised: 06 Oct 2021
Accepted: 16 Oct 2021

مقاله پژوهشی

بررسی اثر سه شیوه تمرینی هوازی پرشدت، هوازی با شدت متوسط و هوازی تناوبی پرشدت بر بیان ژن‌های PlGF و HGF موش‌های صحرایی

نویسندگان: رخساره عابدی، سعید نقیبی*، مجید قلی‌پور برزگر

گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: سعید نقیبی **Email: sdnaghibi@yahoo.com**

چکیده

مقدمه و هدف: تمرینات ورزشی اثرات بسیاری بر سلامتی افراد دارند که یکی از این اثرات کمک به آنژیوژنز و جلوگیری از بیماری های قلبی-عروقی است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر سه شیوه ی تمرینی هوازی پر شدت (HIT)، هوازی با شدت متوسط (MIT) و هوازی تناوبی پر شدت (HIIT) بر روی بیان دو ژن HGF و PlGF که از فاکتورهای مهم دخیل در آنژیوژنز هستند، بود.

مواد و روش ها: در این تحقیق تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن میانگین ۳۰۰ گرم به طور تصادفی به چهار گروه شامل کنترل، تمرین MIT، HIT و HIIT (n=8) تقسیم شدند و در یک دوره ی هشت هفته ای تحت تمرینات ورزشی قرار گرفتند. ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه ی تمرینی، نمونه برداری از بافت چربی موش ها انجام شد و میزان بیان دو ژن HGF و PlGF در آن ها با استفاده از روش Real time PCR تعیین گردید. تحلیل آماری داده ها با نرم‌افزار SPSS و آزمون های کروسکال والیس و هاجز-هولمز انجام شد.

نتایج: نتایج حاصل نشان داد که هر سه شیوه ی تمرینی MIT، HIT و HIIT سبب افزایش بیان ژن های HGF و PlGF می شوند ($P<0.05$) با این حال بین سه شیوه ی ورزشی مذکور تفاوت معناداری از این جهت مشاهده نشد ($P>0.05$).

نتیجه‌گیری: تمرینات ورزشی MIT، HIT و HIIT تغییرات مطلوبی در افزایش بیان ژن های HGF و PlGF دارند.

واژه های کلیدی: تمرین هوازی، بیان ژن، فاکتور رشد جفتی، فاکتور رشد هپاتوسیتی

دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۶
آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۰/۰۷/۱۴
پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۴

مقدمه

آنژیوژنز یا نئوواسکولاریزاسیون فرآیند ایجاد رگ‌های خونی جدید حاصل از سیستم عروقی موجود است. آنژیوژنز در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مثل ترمیم زخم و در موارد پاتولوژیک مثل دیابت (۱)، هایپرتانسیون (۲) و در رشد تومورها (۳) دخالت دارد. سلول‌های اصلی درگیر، سلول‌های اندوتلیال هستند که همه‌ی رگ‌های خونی را می‌پوشانند و تشکیل ماهیت واقعی مویرگ‌ها را می‌دهند. برای تشکیل رگ خونی جدید، سلول‌های اندوتلیال باید ابتدا از محل خود توسط تجزیه‌ی غشای پایه دور شوند. سپس سلول‌های اندوتلیال به طرف یک محرک آنژیوژنیک مانند آنچه که از لنفوسیت‌های فعال شده آزاد می‌شود، مهاجرت می‌کنند. سلول‌های اندوتلیال برای فراهم کردن تعداد لازم سلول برای ساختن رگ جدید تکثیر می‌شوند و در نهایت سلول‌های اندوتلیال در یک ساختار لوله‌ای سه بعدی قرار می‌گیرند (٤).

آنژیوژنز توسط تعادل دقیق بین مولکول‌های آنژیوژنیک و آنژیوستاتیک کنترل می‌شود (۵). در بین القا کننده‌های آنژیوژنز، VEGF ممکن است مهم‌ترین مولکول باشد. فاکتور رشد جفتی (PlGF) یک همولوگ VEGF-A است که با VEGFA165 از لحاظ توالی ۵۳٪ شباهت دارد. این فاکتور آنژیوژنز را فقط در شرایط پاتولوژیک افزایش می‌دهد. در غیاب فاکتور رشد جفتی در شبکیه، قلب ایسکمیک و در تومورها، آنژیوژنز بدون تاثیر بر آنژیوژنز فیزیولوژیک دچار اختلال می‌شود (٦). PlGF در بافت چربی موش در آدیپوسیت‌ها و در سلول‌های استرومای عروقی بیان می‌شوند (۷). فاکتور رشد هپاتوسیت (HGF) یک مولکول چند کاره‌ی مشتق از مزانشیم است که با فعالیت‌های میتوژنیک و مورفوژنیک، در بسیاری از فرآیندهای پاتولوژیک نقش دارد (۸). HGF توسط بافت چربی و همچنین آدیپوسیت‌های کشت شده ترشح می‌شود و تشکیل لوله‌های عروقی را در سلول‌های اندوتلیال ورید نافی افزایش می‌دهد (۹).

بافت چربی دارای سیستم عروقی گسترده‌ای است به طوری که هر آدیپوسیت توسط یک یا بیشتر مویرگ احاطه می‌گردد. تکامل سلول‌های چربی با ظهور یک تعداد دسته‌های آدیپوسیت یا اندام‌های ابتدایی مشخص می‌شود که از لحاظ اندازه و تعداد در طول تکامل جنین، افزایش پیدا می‌کنند. اندام‌های ابتدایی ساختارهای عروقی در بافت چربی اولیه با هیچ یا تعداد کم سلول چربی هستند. تکامل آدیپوسیت‌های جنین از لحاظ فضایی و زمانی با تکامل مویرگی مرتبط است و تکامل شریانچه‌ای به طور واضح مقدم بر تمایز آدیپوسیت در ذخایر چربی است (۱۰). تعاملات دو جانبه بین سلول‌های اندوتلیال و آدیپوسیت نشان می‌دهد که اختلال عملکرد هر قسمت تاثیر اساسی بر سیستم دیگر دارد. برای مثال اختلال عملکرد اندوتلیال در افراد چاق، سهم مهمی در تکامل و پیشرفت دیابت نوع دو دارد (۱۱). تغییرات عملکردی اندوتلیوم عروقی در بافت چربی شامل اختلال وازودیلاتاسیون، تغییر ظرفیت آنژیوژنیک، پاسخ‌های آنژیوژنیک القا شده بر اثر هیپوکسی و آسیب عروقی القا شده بر اثر التهاب است (۱۲). برعکس، آدیپوکین‌های مشخصی که توسط بافت چربی در حال رشد تولید می‌گردند، می‌توانند باعث اختلال عملکرد اندوتلیال شوند (۱۳). به نظر می‌رسد که اختلال عملکرد اندوتلیال در افراد چاق در بافت‌ها و اندام‌های متعدد موجب اختلالاتی مانند اختلالات قلبی عروقی، دیابت و سرطان می‌شوند (١٤).

توسعه‌ی بافت چربی با رگ‌زایی، اتساع و بازسازی مویرگ‌های موجود همراه است زیرا، انبساط بافت چربی به صورت مستقیم به تأمین افزایش تبادل گازها و مواد غذایی از خون بستگی دارد. کاهش تأمین اکسیژن بافت چربی در اثر افزایش نامناسب آنژیوژنز درحین افزایش وزن، موجب اختلال در عملکرد بافت چربی می‌شود. یکی از مکانیسم‌های اصلی ارتباط بین توسعه‌ی چربی احشایی با بیماری‌های متابولیک، ناشی از افزایش هیپوکسی در نتیجه‌ی فقدان آنژیوژنز متناسب با افزایش توسعهٔ بافت چربی است. در این راستا، نشان داده شده است که افزایش آنژیوژنز موجب توسعه‌ی نرمال بافت چربی در موش‌ها می‌شود. تمرینات ورزشی یکی از راهکارهای مؤثر در تعدیل وضعیت متابولیک بدن هستند. تمرینات ورزشی نه تنها از طریق کاهش توده‌ی چربی، بلکه از طریق تنظیم نسخه‌برداری و بهبود سطوح پروتئینی عوامل مفید در بافت چربی، از بیماری‌های متابولیک و قلبی–عروقی جلوگیری

می‌کنند و با افزایش بیان mRNA فاکتورهای رشد مرتبط با آنژیوژنز، در بافت چربی، از هیپوکسی بافت چربی جلوگیری می‌کنند (۱۵). تا کنون اثر تمرین‌های ورزشی مختلفی بر روی فاکتورهای رشد مورد بررسی قرار گرفته است اما اثر تمرین‌ها بر دو فاکتور مهم PlGF و HGF به خوبی مطالعه نشده است. بر همین اساس در این تحقیق سعی بر آن شد تا تاثیر فعالیت‌های ورزشی استقامتی HIT، HIIT و MIT بر بیان دو فاکتور رشد مهم، PlGF و HGF مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزن بدن ۳۳±۲۳۷ گرم به عنوان نمونه تحقیق (خریداری شده از انستیتو رازی) انجام گرفت. موش‌ها در گروه‌های هشت تایی و در محیطی با میانگین دمای ۱/٤±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٤±٥٥ درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. همچنین تمامی حیوانات به آب و غذای ویژهٔ موش (شرکت بهپرور) دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها براساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

گروه‌بندی حیوانات

موش‌ها به صورت تصادفی ساده به ٤ گروه ۸ تایی شامل کنترل ۸ هفته (8-week control)، تمرین هوازی با شدت متوسط (Moderate-Intensity Training or MIT)، تمرین هوازی پرشدت (High-IntensityTraining or HIT) و تمرین هوازی تناوبی پرشدت (High-Intensity Interval Training or HIIT) تقسیم شدند. همچنین در همین زمان موش‌ها در گروه‌های تمرین و کنترل با تردمیل آشنا شدند. موش‌های گروه کنترل در هیچ گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند ولی برای ایجاد شرایط کاملا یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند. موش‌های گروه‌های MIT، HIT و HIIT به مدت ۸ هفته مطابق با پروتکل مربوطه، تمرین انجام دادند.

ارزیابی توان هوازی موش‌ها

حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان مطابق با پروتکل هویدال و همکاران (۱٦) و با پروتکل غیرمستقیم ارزیابی شد. ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ٤۰ تا ٥۰ درصد VO_{2max} انجام شد. سپس موش ها با سرعت ۱٥ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند، و هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۲ متر بر دقیقه تا سر حد واماندگی سرعت افزایش یافت.

برنامه فعالیت ورزشی

موش‌ها به مدت ۸ هفته پس از ٥ دقیقه گرم کردن (با سرعت ٥ متر بر دقیقه) به فعالیت پرداختند. تعداد جلسات در هر هفته ٥ جلسه بود. پروتکل تمرین MIT شامل ٥ دقیقه گرم کردن و ٥ دقیقه سرد کردن و ۳۷ دقیقه بدنه اصلی تمرین دویدن در ٦٥ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود. پروتکل تمرین HIT شامل ٥ دقیقه گرم کردن و ٥ دقیقه سرد کردن و ۳۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین دویدن در سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ٤۰ دقیقه و با شیب فزاینده نوارگردان در ٦٥ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود. شیب تردمیل در هفته اول صفر بوده و هر ۲ هفته ۲ درصد بر شیب افزوده شد تا در هفته هشتم به ۸ درصد رسید (۱۷). پروتکل تمرین HIIT شامل ٤ وهله تناوب شدید با زمان ٤ دقیقه دویدن با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_{2max} و ٤ وهله تناوب کم شدت با زمان ۳ دقیقه دویدن در ٥۰ تا ٦۰ درصد VO_{2max} بود که در مجموع ۳۸ دقیقه بطول انجامید و شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۲۸ دقیقه بدنه اصلی تمرین بود. برای اطمینان از ایزولود بودن تمرین در هر ٤ گروه تمرینات ورزشی بر اساس روش روکنمو و همکاران (۲۰۰٤) عمل شد. بر اساس این روش زمان خالص تمرین در هر گروه بر اساس زمان، شدت و تکرار وهله های کار محاسبه و یکسان گردید (۱۸). بنابراین با این روش مجموع ۲۸ دقیقه تمرین تناوبی در شدت های میانگین ۹٥ و ٥٥ درصد VO_{2max} معادل ۳۸ دقیقه تداومی در شدت ٦٥ درصد VO_{2max} محاسبه گردید.

روش سنجش

برای بررسی تغییرات بیان ژن‌های HGF و PlGF قبل از شروع تمرینات و ۲٤ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی

موش ها با مخلوطی از زایلازین و کتامین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی گرم کتامین به زایلازین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند و نمونه‌های بافت چربی احشایی موش ها استخراج شده و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد. پس از لیز بافتی با ازت مایع، استخراج RNA با استفاده از کیت کیازول صورت گرفت و کمیت RNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بررسی شد. پس از تیمار RNA استخراج شده با DNaseI به منظور حذف آلودگی‌های احتمالی DNA، از روی RNA، با استفاده از کیت کیازول و پرایمرهای Oligo dT و رندوم هگزامر، cDNA ساخته شد. پرایمرهایی که برای انجام Real Time PCR مورد نیاز بودند، پس از طراحی در نرم افزار آنلاین Primer3، در صفحه‌ی Primer BLAST موجود در سایت NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) مورد بررسی قرار گرفته و تایید شدند (جدول ۱).

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده

ژن‌ها	پرایمرها	توالی (5'->3')
GAPDH	Forward primer	TGCCACTCAGAAGACTGTGC
	Reverse primer	GGATGCAGGGATGATGTTCT
HGF	Forward primer	ATGTGGGACAAGAATATGGAGG
	Reverse primer	CTTGACAACGGGAAATAGGG
PlGF	Forward primer	TTGAGTAGAAATGGGGGTGTTG
	Reverse primer	GAAGGGCTGTTGTGTTGGTAAG

در واکنش **Real Time PCR** ژن **GAPDH** به عنوان ژن کنترل انتخاب شد و پس از اتمام واکنش، برای بررسی کمی-نسبی بیان ژن بر اساس سنجش نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول زیر استفاده شد که اساس آن بر پایه‌ی بازده و اختلاف در **Ct** می‌باشد.

$$\Delta CT = CT_{target} - CT_{reference} \qquad Ratio = E^{-\{(\Delta CT_{case}) - (\Delta CT_{control})\}}$$

اگر بازده **PCR** را کامل در نظر بگیریم فرمول زیر قابل استفاده است:

$$Ratio = 2^{-\{(\Delta CT_{case}) - (\Delta CT_{control})\}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

در بخش آمار توصیفی از شاخص های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها ازآزمون شاپرووِیلک استفاده شد. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها در گروه‌ها از آزمون آماری کروسکال والیس همراه با آزمون تعقیبی هاجز-هولمز در سطح ($p<۰/۰۵$) استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS-20 استفاده شد.

نتایج

بررسی توصیفی داده‌ها

در جدول ۲ مشخصات توصیفی نمونه‌های پژوهش شامل وزن و اکسیژن مصرفی بیشینه بصورت میانگین و انحراف معیار در گروه کنترل و سه گروه تجربی پیش از انجام آزمایش ارائه شده است.

جدول ۲. مشخصات توصیفی نمونه های پژوهش

گروه	تعداد (سر)	سن (هفته)	وزن بدن (**kg**)	اکسیژن مصرفی بیشینه (**ml/kg/min**)
گروه کنترل	۸	۸	۳۳۶/۳±۳٤/٥	٥۰/۲±۳/۹
گروه تمرین **MIT**	۸	۸	۳۱۳/۷±۲۸/٦	* ٦۹/۱±۳/٥
گروه تمرین **HIT**	۸	۸	۳۱۰/۳±۳۱/٤	* ٦٤/۲±٤/٥
گروه تمرین **HIIT**	۸	۸	۲۹٥/٦±۲۷/۲	* ٦٥/۷±٦/۹

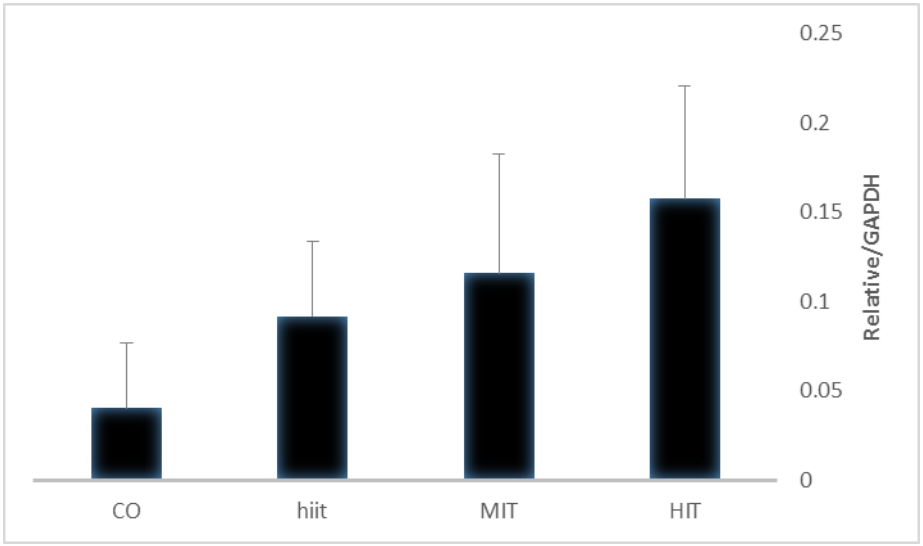
* نشانه اختلاف معنی دار با گروه کنترل است.

بررسی بیان ژن HGF: داده‌های به دست آمده نرمال بوده و در نتیجه از آزمون کروسکال والیس برای ارزیابی آن‌ها استفاده شد. نتایج بدست آمده از آزمون کروسکال والیس نشان داد که اختلاف معنی داری بین چهار گروه پژوهش در مقادیر بیان ژن HGF وجود دارد (جدول ۳). مقایسه بین گروهی با آزمون تعقیبی هاجز–هولمز انجام شد و نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین برخی گروه‌های تمرینی با گروه کنترل وجود دارد اما بین گروه‌های تمرینی تفاوت معناداری از نظر بیان ژن HGF مشاهده نشد (شکل ۱).

جدول ۳. آزمون آماری تغییرات بیان ژن **HGF** در بافت چربی موش های نر ویستار

متغیر		بیان ژن **HGF** (انحراف‌معیار±میانگین) (**Fold**)	آماره **Kruskal- Wallis**	**P value**
گروه	**گروه کنترل**	**۰/۰۴۰۳±۰/۰۳۶۳**	۱۵/۱۳۸	*۰/۰۰۲
	گروه تمرین MIT	**۰/۱۱۵۸±۰/۰۶۶۸**		
	گروه تمرین HIT	**۰/۱۵۷۸±۰/۰۶۳۱**		
	گروه تمرین HIIT	**۰/۰۹۱۶±۰/۰۴۱۷**		

* نشانه اختلاف معنی دار است.



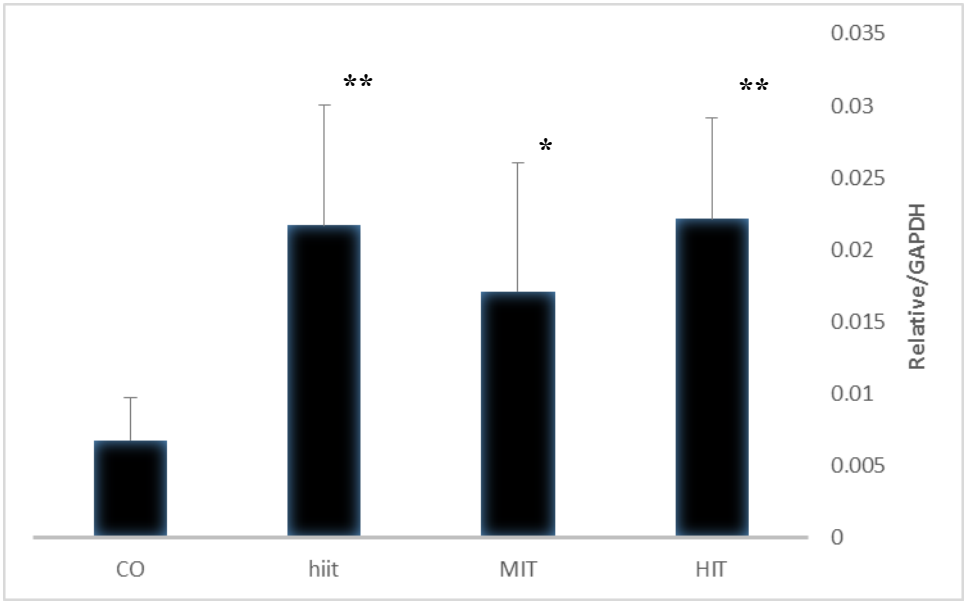
شکل ۱. تغییرات بیان ژن **HGF** در بافت چربی موش‌های نر ویستار در گروه‌های پژوهش (*: سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل، ***: سطح معناداری کمتر از ۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل)

بررسی بیان ژن PlGF: داده های به دست آمده نرمال بوده و در نتیجه از آزمون کروسکال والیس برای ارزیابی آن ها استفاده شد. نتایج بدست آمده از آزمون کروسکال والیس نشان داد که اختلاف معنی داری بین چهار گروه پژوهش در مقادیر بیان ژن PlGF وجود دارد (جدول ٤). مقایسه بین گروهی با آزمون تعقیبی هاجز–هولمز انجام شد و نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین برخی گروه های تمرینی با گروه کنترل وجود دارد اما بین گروه های تمرینی تفاوت معناداری از نظر بیان ژن PlGF مشاهده نشد (شکل ۲).

جدول ۴. آزمون آماری تغییرات بیان ژن **PlGF** در بافت چربی موش های نر ویستار

متغیر		بیان ژن PlGF (انحراف‌معیار±میانگین) (Fold)	آماره Kruskal- Wallis	P value
گروه	گروه کنترل	۰/۰۰٦۷±۰/۰۰۲۹	۱٦/٦۱۷	*۰/۰۰۱
	گروه تمرین MIT	۰/۰۱۷۱±۰/۰۰۸۹		
	گروه تمرین HIT	۰/۰۲۲۱±۰/۰۰۷۰		
	گروه تمرین HIIT	۰/۰۲۱۷±۰/۰۰۸۳		

* نشانه اختلاف معنی دار است.



شکل ۲. تغییرات بیان ژن **PlGF** در بافت چربی موش های نر ویستار در گروه های پژوهش (*: سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل، ***: سطح معناداری کمتر از ۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر از نوع تجربی بود که به منظور بررسی اثر شیوه‌های تمرینی MIT، HIT و HIIT بر روی آنژیوژنز بافت چربی انجام گرفت و نتایج حاصل نشان داد که سه شیوه‌ی تمرینی MIT، HIT و HIIT موجب افزایش معنادار بیان دو ژن HGF و PlGF در بافت چربی موش می‌شوند. این دو ژن کد کننده‌ی دو فاکتور رشد دخیل در آنژیوژنز هستند و می‌توان نتیجه گرفت که شیوه‌های تمرینی مذکور از طریق افزایش بیان ژن‌های HGF و PlGF باعث افزایش آنژیوژنز می‌گردند.

آدیپوسیت‌های در حال رشد، تعداد زیادی از فاکتورهای آنژیوژنیک شامل لپتین، VEGF، FGF2، HGF، IGF، TNF-α، TGF-β، VEGF-C، PlGF، TF، رزیستین، نوروپپتید Y و آنژیوپویتین‌ها را تولید می‌کنند (۱۹). در

تحقیق حاضر نشان داده شد که بیان ژن HGF در بافت چربی موش پس از انجام تمرینات ورزشی افزایش معناداری پیدا کرده بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تمرینات ورزشی با افزایش بیان این فاکتور رشد و در نتیجه با افزایش آنژیوژنز می‌توانند به روند آدیپوژنز طبیعی کمک کرده و از اختلال عملکرد سلول‌های اپی‌تلیال و پیشرفت دیابت در افراد چاق، جلوگیری کنند.

در برخی تحقیقات به بررسی اثر تمرینات ورزشی بر بیان ژن HGF پرداخته شده است. اصغرزاده اولیایی و همکاران نشان دادند که تمرین استقامتی شنا در موش‌های آلوده شده با کادمیوم، موجب افزایش بیان HGF می‌گردد (۲۰). هریجانی و اولیایی اثر یک دوره تمرین استقامتی شنا به همراه مصرف مکمل سیلیمارین در دوران بارداری را بر تغییرات سطوح فاکتور رشد سلول کبدی در بافت کبد نوزادان موش‌های باردار مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که سطوح HGF کبد نوزادان در گروه تمرین + سیلیمارین، گروه تمرین و گروه سیلیمارین، نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد (۲۱). موسویان و همکاران گزارش کردند که سطح سرمی HGF در افرادی که یک دوره تمرین مقاومتی داشتند نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد (۲۲). O'Reilly و همکاران نشان دادند که سطح پروتئین HGF در سرم افراد پس از انجام تمرینات افزایش قابل توجهی پیدا کرده بود. بیان این پروتئین نیز در بافت عضله اسکلتی افزایش معناداری را نشان داد (۲۳). تمامی موارد ذکر شده با نتایج حاصل از آزمایش حاضر همسو می‌باشند.

در تحقیق حاضر همچنین نشان داده شد که بیان ژن PlGF نیز در بافت چربی موش پس از انجام تمرینات ورزشی افزایش معناداری پیدا کرده بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تمرینات ورزشی با افزایش بیان این فاکتور رشد و در نتیجه با افزایش آنژیوژنز می‌توانند به روند آدیپوژنز طبیعی کمک کرده و از اختلال عملکرد سلول‌های اپی‌تلیال و پیشرفت دیابت در افراد چاق، جلوگیری کنند.

Gigante و همکاران اصلاح فاکتورهای آنژیوژنیک در اثر ورزش منظم و حاد در دوران بارداری را مورد بررسی قرار دادند اما در آزمایشات آن‌ها ورزش شدید با هیچ تغییری در سطح پروتئین PlGF در عضله اسکلتی همراه نبود (۲۴). Landers-Ramos و همکاران گردش سیتوکین‌های آنژیوژنیک و التهابی در برابر ورزش حاد هوازی در مردان جوان آموزش دیده و بی تحرک را مورد بررسی قرار دادند. برخلاف فرضیه تحقیق، اختلاف معنی داری در سطح PlGF بین دو گروه قبل یا بعد از تمرین وجود نداشت (۲۵). نتایج این دو آزمایش با آزمایش حاضر همسو نمی‌باشد و دلیل تفاوت مشاهده شده می‌تواند در این مساله باشد که در تحقیقات مذکور سطح پروتئین در عضله یا سرم اندازه‌گیری شده است در حالی که در تحقیق حاضر سطح بیان ژن در بافت چربی بررسی شد. Vanotti و Magiday اولین کسانی بودند که در سال ۱۹۳٤ افزایش مویرگ عضله را در پاسخ به فعالیت ورزشی گزارش کردند (۲۶). افزایش چگالی مویرگی از طریق افزایش سطح انتشار موجب افزایش زمان تبادل بین خون و بافت و کاهش مسافت اکسیژن می‌شود. سپس این تغییرات موجب افزایش اختلاف اکسیژن خون سرخرگی-سیاهرگی، متعاقباً افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی و به تعویق افتادن خستگی شده و تداوم اجرای ورزشی با شدت بالاتر را میسر می‌سازد (۲۷). در حالت استراحت حدود ۲۰٪ برون‌ده قلب به عضلات اسکلتی اختصاص دارد، در حالی که در حین فعالیت عضلانی این مقدار ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می‌یابد (۲۸). حمل این مقدار خون به عضلات مستلزم رخداد دو فرآیند آنژیوژنز و آرتریوژنز می‌باشد (۳۰،۲۹).

محرک‌های آنژیوژنیکی مجموعه‌ای از عوامل هستند که موجب تحریک تشکیل عروق می‌شوند. با توجه به آنچه بیان شد، تمرینات ورزشی از طریق مکانیسم‌های متفاوتی می‌توانند سبب القای آنژیوژنز گردند. مکانیسم مولکولی دقیق دخیل در افزایش بیان ژن‌های HGF و PlGF تحت اثر تمرینات ورزشی که در تحقیق حاضر به آن پرداخته شد، نیاز به مطالعات بیشتر و بررسی هر یک از این مکانیسم‌ها دارد. در حین فعالیت ورزشی چندین محرک در کنار هم قرار می‌گیرند و زمینه عروقی شدن بافت‌ها و آنژیوژنز را فراهم می‌کنند که شامل شرایط ایسکمی و هیپوکسی، افزایش جریان خون یا نیروی همودینامیکی، کشش مکانیکی بافت، انقباض عضله و متابولیت‌های حاصله از آن می‌باشند (۳۱). در تحقیق حاضر نشان داده

شد که سه شیوه تمرینی MIT، HIT وHIIT باعث افزایش بیان HGF و PlGF در بافت چربی موش و بنابراین کمک به آنژیوژنز می‌شوند. بررسی بیان سایر فاکتورهای رشد بر اثر شیوه‌های تمرینی بارها مورد مطالعه قرار گرفته است اما بر اساس مطالعات ما و جستجو در پایگاه‌های داده از جمله Google Scholar، Science Direct و PubMed، در تحقیق حاضر برای اولین بار گزارش می‌شود که بیان دو فاکتور رشد HGF و PlGF بر اثر شیوه‌های تمرینی MIT، HIT و HIIT، به طور معناداری در بافت چربی موش افزایش می‌یابند. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که این سه شیوه‌ی تمرینی برای کمک به پیشبرد آنژیوژنز به ویژه در شرایط پاتولوژیک و در بافت چربی، بسیار کارآمد و مفید می‌باشند و می‌توان از آن‌ها برای بهبود رگ‌زایی و عملکرد سیستم‌های مختلف بدن استفاده نمود. این تحقیق دارای مصوبه اخلاق در پژوهش با شناسه‌ی IR.PNU.REC.1398.132 می باشد.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

منابع

1. Zarei M, Khazaei M, Sharifi MR, Pourshanazari AA. Coronary angiogenesis during experimental hypertension: is it reversible? Journal of Research in Medical Sciences: the Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences 2011;16(3):269.
2. Khazaei M, Fallahzadeh AR, Sharifi MR, Afsharmoghaddam N, Javanmard SH, Salehi E. Effects of diabetes on myocardial capillary density and serum angiogenesis biomarkers in male rats. Clinics 2011;66(8):1419-24.
3. Amjadi F, Javanmard SH, Zarkesh-Esfahani H, Khazaei M, Narimani M. Leptin promotes melanoma tumor growth in mice related to increasing circulating endothelial progenitor cells numbers and plasma NO production. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2011;30(1):21.
4. Auerbach R, Lewis R, Shinners B, Kubai L, Akhtar N. Angiogenesis assays: a critical overview. Clinical Chemistry 2003;49(1):32-40.
5. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. Nature Medicine 2000;6(4):389.
6. Carmeliet P, Moons L, Luttun A, Vincenti V, Compernolle V, De Mol M, et al. Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. Nature Medicine 2001;7(5):575.
7. Voros G, Maquoi E, Demeulemeester D, Clerx N, Collen Ds, Lijnen HR. Modulation of angiogenesis during adipose tissue development in murine models of obesity. Endocrinology 2005;146(10):4545-54.
8. Christiaens V, Lijnen H. Angiogenesis and development of adipose tissue. Molecular and Cellular Endocrinology 2010;318(1-2):2-9.
9. Saiki A, Watanabe F, Murano T, Miyashita Y, Shirai K. Hepatocyte growth factor secreted by cultured adipocytes promotes tube formation of vascular endothelial cells in vitro. International Journal of Obesity 2006;30(11):1676.
10. Hausman G, Richardson R. Adipose tissue angiogenesis. Journal of Animal Science 2004;82(3):925-34.

11. Jansson PA. Endothelial dysfunction in insulin resistance and type 2 diabetes. Journal of Internal Medicine 2007;262(2):173-83.

12. Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. Cell and Tissue Research 2009;335(1):165.

13. Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2009;94(9):3171-82.

14. Cao Y. Adipose tissue angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases. Nature Reviews Drug Discovery 2010;9(2):107.

15. Kolahdouzi S, Talebi-Garakani E, Hamidian G, Safarzade A. Exercise training prevents high-fat diet-induced adipose tissue remodeling by promoting capillary density and macrophage polarization. Life Sciences 2019;220:32-43.

16. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation 2007;14(6):753-60.

17. Deschenes M, Maresh C, Crivello J, Armstrong L, Kraemer W, Covault J. The effects of exercise training of different intensities on neuromuscular junction morphology. Journal of Neurocytology 1993;22(8):603-15.

18. Rognmo Ø, Hetland E, Helgerud J, Hoff J, Slørdahl SA. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation 2004;11(3):216-22.

19. Cao Y. Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. The Journal of Clinical Investigation 2007;117(9):2362-8.

20. Asgharzade Oliaei HA, Mirdar Harijani S, Mousavi N. The Effects of a Submaximal Endurance Swimming Training Period and Cadmium Poisoning during Pregnancy on the Hepatocyte Growth Factor Response in Neonatal Rats. Qom University of Medical Sciences Journal 2015;9(1):38-45.

21. harigani s, oliaei h. Effect of swimming endurance training program and Silymarin supplementation during pregnancy on Hepatocyte growth factor levels in neonatal liver tissue. Journal of Applied Sports Physiology 2016;12(23):173-80.

22. Mosavian A, Gaeini AA, Hemmatinafar M, Kordi MR, Nori R. Effect of low-intensity eccentric resistance training with blood flow restriction on the activation and proliferation indicators of satellite cells. Hormozgan Medical Journal 2018;22(2):95-102.

23. O'reilly C, McKay B, Phillips S, Tarnopolsky M, Parise G. Hepatocyte growth factor (HGF) and the satellite cell response following muscle lengthening contractions in humans. Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine 2008;38(5):1434-42.

24. Gigante B, Tarsitano M, Cimini V, De Falco S, Persico MG. Placenta growth factor is not required for exercise-

induced angiogenesis. Angiogenesis 2004;7(3):277-84.

25. Landers-Ramos RQ, Jenkins NT, Spangenburg EE, Hagberg JM, Prior SJ. Circulating angiogenic and inflammatory cytokine responses to acute aerobic exercise in trained and sedentary young men. European Journal of Applied Physiology 2014;114(7):1377-84.

26. Vannotti A, Magiday M. Untersuchungen zum Studium des Trainiertseins. Arbeitsphysiologie 1934;7(6):615-22.

27. Pirouz M, Nourshahi M. The effect of eight weeks training in hypoxia-normobaric and normal situation on serum VEGF, erythropoietin concentration, fatigue index and VO2max 2013.

28. Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology 2009;457(5):963.

29. Heil M, Eitenmüller I, Schmitz-Rixen T, Schaper W. Arteriogenesis versus angiogenesis: similarities and differences. Journal of Cellular and Molecular Medicine 2006;10(1):45-55.

30. Laughlin M, Roseguini B. Mechanisms for exercise training-induced increases in skeletal muscle blood flow capacity: differences with interval sprint training versus aerobic endurance training. Journal of Physiology and Pharmacology: an Official Journal of the Polish Physiological Society 2008;59 (Suppl 7):71.

31. Nourshahi M, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences 2013:286-96.