

تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن عوامل رگ‌زایی در موش‌های صحرائی مبتلا به ایسکمی میوکارد

یعقوب مهری الوار^۱ ID، دکتر علیرضا رضانی^۲، دکتر عباسعلی گایینی^۳، دکتر فرشته گلاب^۴، دکتر ریاض غیرتمند^۵

محمود براتی^۶

نویسنده مسئول: یعقوب مهری الوار، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران yaghoob.alvar@ut.ac.ir

دریافت: ۹۶/۴/۲۵ پذیرش: ۹۶/۶/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: ایسکمی میوکارد (Myocardial infarction) می‌تواند به از بین رفتن سلول‌های عضله قلب، تغییر عملکرد و ساختار بطن، تشکیل اسکار و همچنین سوق دادن قلب به سمت سکنه‌ی نهایی و از بین رفتن آن منجر شود. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی بر بیان ژن عوامل رگ‌زایی در رت‌های ایسکمی شده صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه ۲۸ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار (۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم) به صورت تصادفی در ۴ گروه شام، ایسکمی، تمرین و تمرین-ایسکمی قرار گرفتند. انفارکتوس میوکارد با بستن شریان کرونری نزولی چپ به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. برنامه تمرینی روی تردمیل به مدت ۸ هفته، ۳ روز در هفته به مدت ۴۰ دقیقه اجرا شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اختلاف معناداری بین ۴ گروه در میزان بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، آپلین و گیرنده آپلین وجود دارد ($P=0/001$). نتایج نشان داد که سطح بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، آپلین و گیرنده آپلین در گروه تمرین-ایسکمی افزایش معناداری به نسبت گروه شام ($P=0/004$)، ایسکمی ($P=0/002$) و تمرین ورزشی ($P=0/009$) داشت. در واقع تمرین‌های ورزشی هنگام مداخله ایسکمی می‌توانند منجر به افزایش بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی شوند، اما خود تمرین ورزشی این تغییر را ایجاد نکرد. از طرفی دیگر نتایج نشان داد که دنبال مداخله ایسکمی افزایش معناداری در میزان بیان ژن آپلین به نسبت گروه شام مشاهده شد ($P=0/025$). همچنین نتایج نشان داد اختلافی بین گروه تمرین تناوبی با گروه شام وجود ندارد ($P>0/05$). از طرفی دیگر نتایج نشان داد که به دنبال مداخله ایسکمی کاهش معناداری در میزان بیان ژن گیرنده آپلین به نسبت گروه شام ایجاد شده است ($P=0/04$).

نتیجه‌گیری: سازگاری‌های فیزیولوژیکی ناشی از فعالیت‌های ورزشی تناوبی با بیان ژن‌های مختلفی همراه است. به نظر می‌رسد یک برنامه منظم تمرینی تناوبی شدید، منجر به بهبود عوامل درگیر در رگ‌زایی و نوزایی عروق عضله قلب بدنبال ایسکمی میوکارد می‌شوند.

واژگان کلیدی: ایسکمی میوکارد، رگ‌زایی، تمرین تناوبی شدید، آپلین.

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران

۲- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیارگروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران

۳- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران

۴- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران

۵- متخصص قلب و عروق، گروه هماتولوژی کودکان، بیمارستان شهدا، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۶- گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

مقدمه

ایسکمی میوکارد (Myocardial infarction) می‌تواند به از بین رفتن سلول‌های عضله‌ی قلب، تغییر عملکرد و ساختار بطن، تشکیل اسکار و همچنین سوق دادن قلب به سمت سکتی نهایی و از بین رفتن آن منجر شود. ایسکمی میوکارد با انسداد شریان‌های کرونری به وجود می‌آید و با وضعیت‌های کلینیکی هم‌چون آنژین صدری، ضربان‌های نامنظم، نارسایی قلبی، انفارکتوس میوکارد یا مرگ ناگهانی تظاهر می‌کند (۱ و ۲). رگ‌زایی عروق کرونری در سطح مویرگی (Angiogenesis) و رگ‌زایی جانبی (گسترش عروق قلبی)، رویداد مطلوبی برای بیماران مبتلا به ایسکمی قلبی به حساب می‌آید (۳). سلول‌های بنیادی - پیش‌ساز مسئول افزایش شکل‌گیری عروق خونی جدید به وسیله‌ی آزادسازی کموکاین‌ها و عوامل رگ‌زایی مختلف به درون سلول‌های اندوتلیال هستند (۴). عامل مولکولی مهمی که به عنوان تعدیل کننده در پاسخ به بازسازی ناحیه‌ی ایسکمی در قلب نقش دارد، عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) است. این عامل از ضروریات رگ‌زایی و نوزایی عروقی در بافت ایسکمی به شمار می‌رود (۵ و ۶). عامل مهم دیگری که در روند رگ‌زایی مشارکت فعالی دارد، آپلین و گیرنده‌ی آن است. آپلین به صورت اولیه در اندوتلیوم عروق بیان و به شکل موضعی و اندوکرینی پیام‌دهی سیستم آپلینرژیک را که در سلول‌های قلبی، اندوتلیال و برخی از سلول‌های عضله‌ی صاف وجود دارد را بیان و در نهایت منجر به فعال شدن آنها می‌کند. علی رغم این موضوع که گیرنده‌ی آپلین (APJ) بسیار شبیه گیرنده‌ی نوع یک آنژیوتانسین II (AT1) است. اما Ang II قادر به فعال کردن گیرنده‌ی آپلین (APJ) نمی‌باشد. پژوهش‌های اولیه در مدل‌های حیوانی نشان داده است که محور آپلین - APJ در هموستاز قلبی، عروقی نقش دارد. آپلین به دلیل ویژگی‌هایی مانند، خاصیت اینوتروپی،

رگ‌گشایی محیطی و موثر بودن در هموستاز مایعات بدن به عنوان هدفی جالب برای درمان ناتوانی قلبی مورد توجه قرار گرفته است (۷). رایت و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که ورزش و فعالیت بدنی سبب تحریک بیان آپلین می‌شود. برای نمونه نشان داده شده است که اعمال یک برنامه تمرین شای یک ساعته در موش‌های سالم، در مقایسه با گروه کنترل، میزان mRNA آپلین بافت قلبی و پلاسمایی را در پاسخ به ورزش، ۴ برابر افزایش می‌دهد (۸).

پژوهش‌های جدید نشان می‌دهد آپلین درمانی و تزریق آپلین به افزایش معنادار سلول‌های پیش‌ساز عروقی از سلول‌های مغز استخوان و در کل به بهتر شدن عملکرد قلب بعد از MI در موش‌ها منجر می‌شود. این فرآیند از راه بیش ترشحی عوامل درگیر در آنژیوژنز رخ می‌دهد و سپس با ترشح این عوامل، باعث فعال شدن مسیرهای پیام دهی eNOS / AKT می‌شود و سرانجام به بهتر شدن رگ‌زایی و بازسازی بافت ایسکمی منجر می‌شود (۹). آپلین در سطح سلول‌های اندوتلیال گیرنده‌هایی دارد که سیستمی را تحت عنوان سیستم آپلینرژیک (آپلین و گیرنده‌ی آن) به وجود می‌آورد. گیرنده‌ی آپلین عضوی از خانواده G پروتئین‌ها است (۱۰). عدم وجود آپلین یا گیرنده‌ی آن در دوره‌ی جنینی موجب ناکارآمدی دستگاه قلبی عروقی و نقص در آن می‌شود (۱۱). پیام رسانی آپلین نقش مهمی در تشکیل عروق شبکه‌ی و آنژیوژنز در تومورها دارد. بیش بیانی آپلین و گیرنده‌ی آن بعد از مواجهه با هیپوکسی و ایسکمی در نمونه‌های حیوانی مشاهده شده است (۱۲). لی و همکارانش (۲۰۱۳) نشان دادند تزریق آپلین بعد از MI می‌تواند موجب بهتر شدن عوامل آنژیوژنزی شود. آنها به این نتیجه رسیدند درمان MI با تزریق آپلین و سلول‌های مغز استخوان می‌تواند به بهتر شدن عوامل رگ‌زایی در قلب موش‌ها منجر شود (۹). تمپل و همکارانش (۲۰۱۲) به این نتیجه رسیدند تزریق آپلین به میوکارد ایسکمی شده

می‌تواند به نوسازی و بازسازی بافت ایسکمی منجر شود و سلول‌های موجود در گردش خون وابسته به عروق جدید را افزایش دهد (۱۲). بنابراین بافت میوکارد به دلیل آسیب ناشی از MI برای حفظ برون ده کافی باید بیشتر کار کند و برای بیشتر و بهتر کار کردن نیازمند چگالی عروقی مناسب است (۹). پژوهشگران به نقش این عوامل در رگ‌زایی ناشی از ایسکمی اشاره کرده اند؛ بنابراین، شاید بتوان با افزایش این عوامل، آسیب ایسکمیک قلبی را کاهش داد. رنجبر و همکارانش (۲۰۱۵) نشان دادند تمرین ورزشی موجب کاهش آتزیوستانین ۱ شده و از این طریق افزایش عروق جدید مشاهده گردیده است (۱۳).

یکی از مهم‌ترین سازوکارها برای بهتر شدن و بازتوانی قلب، همین مسئله نوزایی عروق در بافت عضله‌ی قلب است (۳). با وجود این، برای افزایش کارایی، روش‌های ترمیمی و ساز و کار مولکولی درگیر در این روند باید شناخته شوند. یکی از این ساز و کارهای اثرگذار بر ترمیم بافت مورد ایسکمی قلب، بازسازی عروق و نوزایی آنها به وسیله‌ی فعالیت ورزشی است. پژوهش‌های بالینی و تجربی نشان داده‌اند تمرین ورزشی یکی از موثرترین راهبردهای کاهش پیشرفت کاردیومیوپاتی و کاهش دهنده‌ی بروز عوارض قلبی عروقی و مرگ میرهای ناشی از انفارکتوس میوکارد (MI) است (۱۳ و ۸). یکی از مزایای قابل توجه برنامه تمرینی، توانایی آن در حفظ برون ده قلبی با کاهش پرتپشی و عدم کاهش نیروی انقباضی عضله قلبی ناشی از MI است. اما ساز و کارهای مولکولی که به بهتر شدن عملکرد بطن چپ و خون‌رسانی به عضله‌ی میوکارد منجر می‌شود هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است (۱۳). فعالیت ورزشی یک استراتژی غیر دارویی قابل اطمینان برای درمان MI می‌باشد. اختلال‌های عملکرد بطن چپ را بعد از انفارکتوس قلبی کاهش می‌دهد (۱۴). به‌تازگی درباره بررسی عوامل موثر بر بیان تغییرات سلولی به ویژه مسئله نیمرخ ژنومی، پژوهش‌های گسترده‌ای انجام شده است.

در بحث آنژیوژنز نیز ژن‌های موثر بر تنظیم عروق‌زایی بسیار مهم هستند. نیمرخ بیان ژنی مربوط به عروق‌زایی در سطح سلول‌های آنژیوبلاست و سلول‌های اندوتلیال اتفاق می‌افتد. در این پژوهش فرض بر این است که فعالیت تناوبی شدید به‌دنبال مداخله‌ی ایسکمی میوکارد موجب تغییراتی در بیان عوامل رگ‌زایی در قلب موش‌های صحرایی می‌شود که می‌تواند ابعاد درمانی جدیدی در رابطه با بازسازی ناحیه‌ی ایسکمی ایجاد کند. لذا پژوهشگران به دنبال بررسی نقش تمرین‌های ورزشی از نوع شدید بر تغییرات ژنی در بیان ژن‌های درگیر در رگ‌زایی پس از مداخله‌ی ایسکمی میوکارد هستند.

روش بررسی

روش پژوهش حاضر تجربی و از نظر یافته‌ها یک مطالعه‌ی کاربردی می‌باشد. این مطالعه‌ی تجربی در کمیته اخلاق پژوهش پژوهشگاه علوم ورزشی ایران، طبق منشور و موازین اخلاق پژوهش وزارت علوم، پژوهش و فناوری بررسی و با کد IR.SSRI.REC.1396.134 تصویب و بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در این مطالعه ۲۸ سر موش صحرایی نر و بیستار (۲۵۰ تا ۲۵۰ گرم، خریداری شده از دانشگاه علوم پزشکی ایران) مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات (۴ گروه ۷ تایی: کنترل جراحی (شم)، ایسکمی میوکارد، تمرین و تمرین-ایسکمی) در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه ۱۲ ساعت روشنایی-تاریکی و میانه‌گین درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد) با دسترسی آزادانه به آب و غذا در بیمارستان قلب و عروق شهید رجایی نگهداری شدند.

مدل ایسکمی-ریپرفیوژن و داروهای تزریقی: موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از تراشیدن ناحیه‌ی قفسه سینه موش‌های صحرایی نر و بیستار، برای انتوبه کردن بر روی

تخت جراحی قرار گرفتند. بعد از انتوبه کردن به ونتیلاتور (Small Animal Ventilator, Harvard Model 683-USA) (با تواتر تنفسی ۶۰ تا ۷۰ تنفس در دقیقه و حجم جاری ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم) وصل شد. برای حفظ دمای بدن موش‌های صحرایی در شرایط فیزیولوژیک (دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد) یک پد و لامپ حرارتی در زیر آنها قرار داده شد. توراکتومی چپ در بین ناحیه‌ی بین دنده‌ای چهارم انجام شد، عضلات بین دنده‌ای و پری‌کارد جدا شدند تا قلب در معرض دید کامل قرار گیرد. انفارکتوس میوکارد (MI) با بستن شریان کرونری نزولی قدامی چپ (LAD) به وسیله‌ی نخ بخیه پلی‌پروپیلن ۰/۶ در ناحیه‌ی ۲ میلی‌متر پایین‌تر از منشأ LAD انجام شد. انسداد موفق LAD با تغییرات الکتروکاردیوگرام (ECG) شامل بالا رفتن قطعه‌ی ST، تغییر رنگ و کینسیس اپکس و دیواره‌ی قدامی جانبی تایید شد. ۳۰ دقیقه بعد از بسته بودن LAD ریپرفیوژن انجام شد و جریان خون دوباره به میوکارد تایید گردید. سپس قفسه‌ی سینه و لایه‌های عضلانی با بخیه زدن بسته شدند. حیوانات بوپروپونفرین (ip ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و پماد موضعی تتراسایکلین دریافت کردند. بعد از خارج کردن تراشه، حیوانات تا زمانی که به کاملاً به هوش بیایند در زیر اکسیژن خالص قرار گرفته و گرم نگه داشته شدند. عمل جراحی شم نیز اجرا شد که حیوانات انتوبه شده و تنها تحت عمل توراکتومی قرار گرفته و هیچ‌گونه عمل بسته شدن LAD صورت نگرفت.

تمرین ورزشی و روش اجرای آزمون ورزشی: موش‌های صحرایی نر ویستار پس از جراحی به مدت ۴ هفته دوره‌ی ریکاوری را طی کردند. در هفته‌ی سوم و چهارم دوره‌ی ریکاوری با تردمیل توسط راه رفتن آرام آشنا شدند (با سرعت ۵ متر بر دقیقه، به مدت ۵ دقیقه و ۳ روز در هفته). در پایان هفته‌ی چهارم آزمون ظرفیت ورزشی از تمامی موش‌های صحرایی نر ویستار توسط آزمون فعالیت ورزشی بیشینه (VO2max) اندازه‌گیری شد (۱۶ و ۱۵).

روش اندازه‌گیری VO2max در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار: بر اساس مطالعه‌ی هویدال و همکاران، هر موش صحرایی ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه مرحله‌ی گرم کردن را سپری می‌کردند، سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز می‌شد، هر دو دقیقه سرعت تردمیل ۰/۰۳ متر بر ثانیه به صورت خودکار افزایش می‌یافت، تا زمانی که موش‌های صحرایی قادر به ادامه‌ی فعالیت ورزشی نبودند. با توجه به سرعت نهایی به‌دست آمده در انتهای آزمون بیشینه و بر اساس مطالعه هویدال و همکاران سرعت مورد نظر در شدت‌های برنامه تمرینی به دست آمد (۱۶ و ۱۵).

برنامه‌ی تمرینی روی تردمیل طراحی شده ویژه حیوان (ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان، ایران، تهران)، ۳ روز در هفته به مدت ۴۰ دقیقه بود که شامل ۵ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO2max) و ۳۰ دقیقه دویدن تناوبی بود. هر تناوب شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت خیلی بالا (تقریباً ۸۵ تا ۹۰ درصد VO2max) و ۲ دقیقه ریکاوری فعال (تقریباً با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO2max) بود. شدت تمرین در طی هفته‌ها بر اساس پژوهش‌های گذشته (۱۶ و ۱۵) و ارتباط بین سرعت دویدن و VO2max تنظیم شد. بنابراین، شدت تمرینی در هر هفته ۰/۰۲ متر بر ثانیه افزایش می‌یافت (۱۶ و ۱۵).

آنالیز کمی بیان ژن: استخراج RNA از بافت نمونه با استفاده از کیت کپازن (ساخت کشور آلمان) با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. مقادیر لازم بر حسب غلظت RNA استخراج شده (با استفاده از نانودراپ) تعیین شد. بدین ترتیب به ازای یک میکروگرم RNA استخراج شده یک میکرولیتر DNase (۱ میکرولیتر Fermentase) و یک میکرولیتر بافر 10x اضافه شد و حجم محلول با آب تیمار شده با DEPC به ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا

دست آوردن دمای مناسب Anneling گرادیان دمایی انجام گردید. همچنین جهت بررسی efficiency پرایمرها، منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن (سری‌های رقیق شده DNA) رسم گردید. نمودار Melting نیز جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. ژن مرجع تقریباً برابر بود. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول‌های $\Delta\Delta Ct$ و $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمال سازی شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد و جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و جهت بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از متغیرهای پژوهش، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک راهه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی بونفرونی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معناداری برای تمام محاسبات $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد.

یافته‌ها

در انتهای مطالعه، وزن موش‌های صحرایی در تمامی گروه‌ها افزایش معناداری یافته بود. این افزایش وزن در گروه تمرین-ایسکمی نسبت به سایر گروه‌ها اختلاف معناداری از خود نشان می‌دهد. نسبت وزن قلب به وزن بدن در بین گروه‌های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر ندارد در حالی که نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن در گروه تمرین-ایسکمی نسبت به گروه‌های شم و ایسکمی افزایش معنادار

آنزیم غیرفعال شود. جهت ساخت cDNA به ۱-۰/۲ میکروگرم RNA استخراج شده ۱ میکرولیتر Oligo dt اضافه شد. حجم نهایی این مرحله باید ۱۲ میکرولیتر باشد. بدین ترتیب اگر RNA غلیظ‌تر بود مقدار کمتری از آن برداشته شد و با آب تیمار شده با DEPC به حجم نهایی ۱۲ میکرولیتر رسانده شد. واکنش به مدت ۵ دقیقه در $+70^\circ\text{C}$ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس بلافاصله درون یخ گذاشته شد. به میکروتیوب، ۴ میکرولیتر بافر X5، ۲ میکرولیتر dNTP و ۱ میکرولیتر RNasin اضافه شد تا حجم نهایی به ۱۹ میکرولیتر برسد. محلول واکنش به مدت ۵ دقیقه در 37°C درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. یک میکرولیتر آنزیم RT به واکنش اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در 42°C درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. برای متوقف کردن واکنش، میکروتیوب به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 70°C درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. cDNA حاصل روی یخ قرار داده شد و تا زمان انجام واکنش PCR در فریزر -20°C درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. برای طراحی پرایمرها ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن Apelin، VEGF و APJ با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم‌افزار کامپیوتری Allel ID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمرها توسط شرکت سیناکولن ساخته شد. در این پژوهش از ژن بتا‌اکتینین به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. هر واکنش PCR با استفاده از (Applied Biosystems PCR master mix) و SYBR Green در دستگاه (Applied Biosystems, Sequence) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. برای تمامی ژن‌های مورد مطالعه نیز ژن رفرنس یعنی بتا‌اکتینین جهت به

دارد، درحالی که با گروه تمرین اختلاف معناداری ندارد (جدول ۱).

جدول ۱: وزن بدن و وزن قلب در گروه‌های مورد مطالعه

ایسکمی	تمرین-ایسکمی	تمرین	شم	P
۲۲۹/۶ ± ۷/۸	۲۳۲/۲ ± ۷/۶	۲۲۸/۶ ± ۵/۹	۲۱۴/۴ ± ۴/۵	۰/۲۶۳
۲۸۷/۶ ± ۴/۹	۳۱۴/۸ ± ۶/۲ †	۲۸۷ ± ۷/۳	۲۷۰/۸ ± ۱۳/۴	۰/۰۱۸
۹۹۲ ± ۴۴/۸	۱۲۹۲ ± ۴۰/۶ †×	۱۱۰۸ ± ۵۵/۲ #	۹۵۰ ± ۲۰/۹ #	۰/۰۰۱
۳/۴ ± ۰/۱	۳/۹ ± ۰/۳	۳/۸ ± ۰/۱	۳/۵ ± ۰/۱	۰/۲۶۱
۷۱۰/۸ ± ۳۹/۰	۹۹۶/۶ ± ۳۴/۵ †×	۸۱۷/۲ ± ۵۶/۴ #	۶۱۸/۲ ± ۲۰/۳	۰/۰۰۱
۲/۴ ± ۰/۱	۳/۱ ± ۰/۲ †×	۲/۸ ± ۰/۱	۲/۴ ± ۰/۱	۰/۰۰۵
وزن بدن اولیه (گرم)				
وزن بدن انتهایی (گرم)				
وزن قلب (میلی گرم)				
وزن قلب به وزن بدن (میلی گرم به گرم)				
وزن بطن چپ (میلی گرم)				
وزن بطن چپ به وزن بدن (میلی گرم به گرم)				

* $P < 0/05$ در مقایسه با گروه ایسکمی

$P < 0/05$ در مقایسه با گروه تمرین ورزشی

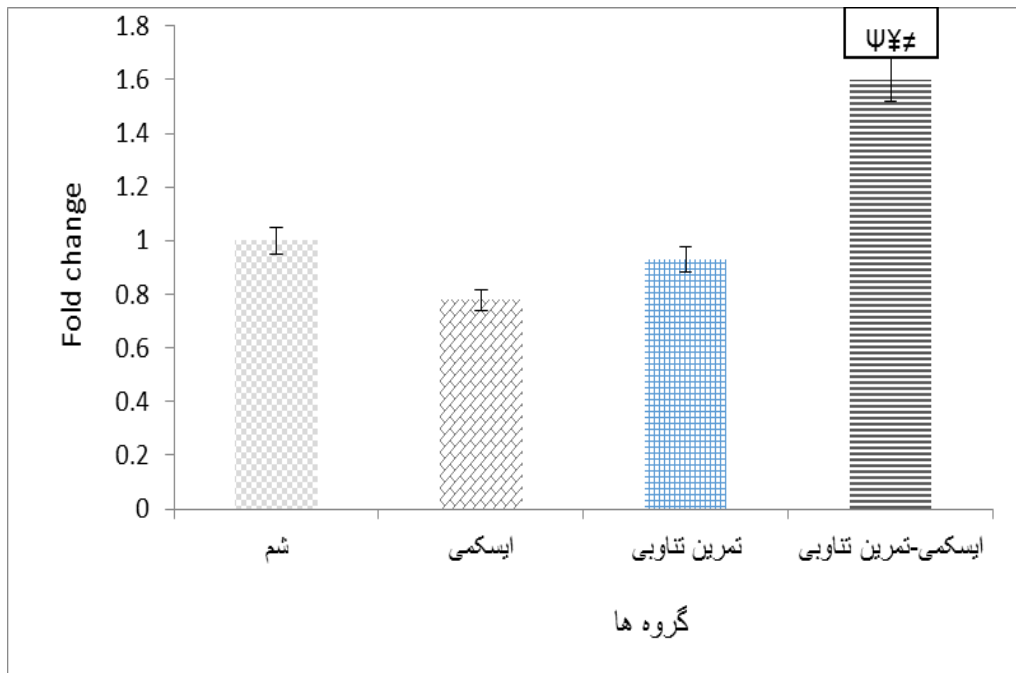
† $P < 0/05$ در مقایسه با گروه شم

بیان ژن: آنالیز واریانس یک راهه انجام شد و با توجه به مقدار F محاسبه شده (۷/۹، ۶۷/۷ و ۵۶۷) و معنی دار بودن آن در سطح $P=0/001$ ، تفاوت معناداری بین سطوح VEGF، آپلین و گیرنده‌ی آپلین در گروه‌های مختلف پژوهش با ۹۹ درصد اطمینان تایید شد. با توجه به جدول ۲، نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد که اختلاف معناداری بین ۴ گروه در میزان بیان ژن VEGF، آپلین و گیرنده‌ی آپلین وجود دارد.

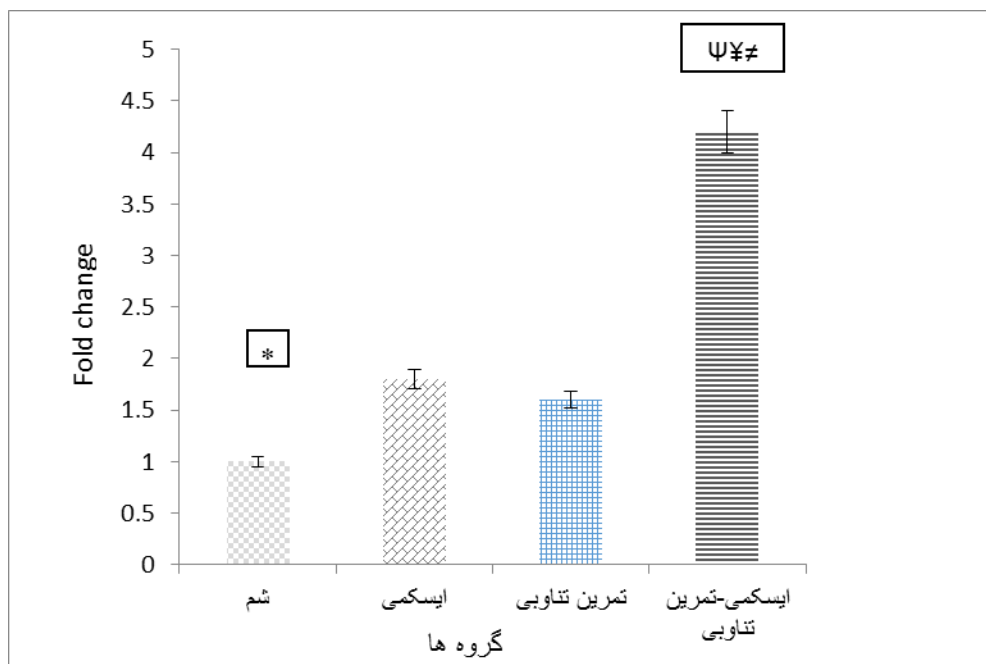
جدول ۲: نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه

متغیر	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	سطح معناداری	ضریب اتا
ژن VEGF	۲۲/۲	۳	۷/۴	۷/۹	*۰/۰۰۲	۰/۵۹۹
ژن APELIN	۲۹۱۹۸/۰۰۲	۳	۹۷۳۲/۶	۶۷/۷	*۰/۰۰۱	۰/۹۱۹
ژن APJ	۲۳۴۶۷	۳	۷۸۲/۲	۵۶۷	*۰/۰۰۱	۰/۸۹

برای بررسی تعیین محل اختلاف در میزان بیان ژن VEGF از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد (شکل ۱). نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که سطح بیان ژن VEGF در گروه تمرین ایسکمی افزایش معناداری به نسبت گروه شم ($P=0/04$)، ایسکمی ($P=0/002$) و تمرین ورزشی ($P=0/009$) داشت. همچنین نتایج نشان داد که اختلافی بین گروه تمرین تناوبی با گروه ایسکمی میوکارد و گروه شم وجود ندارد ($P>0/05$). در واقع تمرین‌های ورزشی در هنگام مداخله‌ی ایسکمی می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن VEGF شود. اما خود تمرین ورزشی این تغییر را ایجاد نکرد ($P>0/05$).



شکل ۱: میزان بیان ژن VEGF بدنبال مداخلات ایسکمی و ورزش به نسبت گروه شم



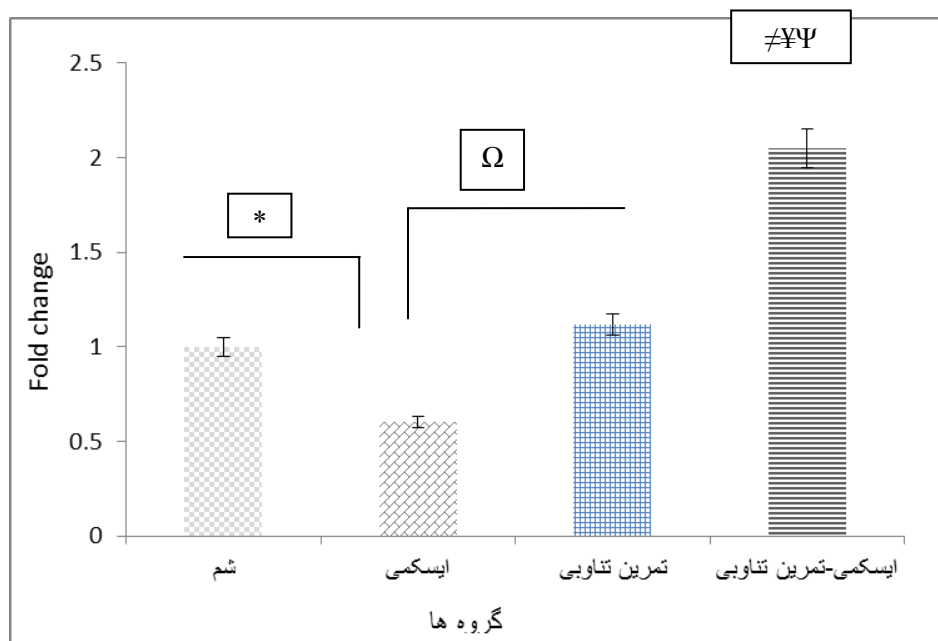
شکل ۲: میزان بیان ژن آپلین بدنبال مداخلات ایسکمی و ورزش به نسبت گروه شم

نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که سطح بیان ژن آپلین در گروه تمرین ایسکمی افزایش معناداری به نسبت گروه شم

همچنین برای تعیین محل اختلاف در میزان بیان ژن آپلین از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد (شکل ۲).

افزایش معناداری به نسبت گروه شم ($P=0/001$)، ایسکمی ($P=0/001$) و تمرین ورزشی ($P=0/001$) داشت. همچنین نتایج نشان داد که اختلافی بین گروه تمرین تناوبی با گروه شم وجود ندارد ($P>0/05$)، اما این اختلاف با گروه ایسکمی مشاهده شد ($P=0/002$). در واقع تمرین‌های ورزشی در هنگام مداخله ایسکمی می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن گیرنده آپلین شود اما خود تمرین ورزشی این تغییر را به نسبت گروه شم ایجاد نکرد ($P>0/05$). از طرفی دیگر نتایج نشان داد که به دنبال مداخله ایسکمی کاهش معناداری در میزان بیان ژن گیرنده آپلین به نسبت گروه شم وجود دارد ($P=0/04$).

($P=0/001$)، ایسکمی ($P=0/001$) و تمرین ورزشی ($P=0/001$) داشت. همچنین نتایج نشان داد که اختلافی بین گروه تمرین تناوبی با گروه ایسکمی میوکارد و گروه شم وجود ندارد ($P>0/05$). در واقع تمرین‌های ورزشی در هنگام مداخله ایسکمی می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن آپلین شود اما خود تمرین ورزشی این تغییر را ایجاد نکرد ($P>0/05$). از طرفی دیگر نتایج نشان داد که به دنبال مداخله ایسکمی افزایش معناداری در میزان بیان ژن آپلین به نسبت گروه شم مشاهده شد ($P=0/025$) همچنین برای بررسی تعیین محل اختلاف در میزان بیان ژن گیرنده آپلین از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد (شکل ۳). نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که سطح بیان ژن گیرنده آپلین در گروه تمرین-ایسکمی



شکل ۳: میزان بیان ژن گیرنده آپلین بدنبال مداخلات ایسکمی و ورزش به نسبت گروه شم

علامت مربوط به معناداری بین گروه‌ها در سطح $P<0/05$
 Ω تمرین تناوبی - ایسکمی
 $\Psi\Psi$ تمرین تناوبی / ایسکمی - شم
 Ψ تمرین تناوبی / ایسکمی - شم
 $\#$ تمرین تناوبی - شم
 $\Psi\Psi\Psi$ تمرین تناوبی / ایسکمی - تمرین تناوبی

بحث

(Reperfusion-Ischemia)، کاهش اندازه‌ی سکتة بعد از فعالیت ورزشی است. این یافته‌ها، محافظت قلبی ناشی از

فعالیت ورزشی آثار مفیدی بر دستگاه قلبی عروقی دارد. یکی از این آثار در رابطه با آسیب ایسکمی-ریپرفیوژن

فعالیت ورزشی پس از بهتر شدن عملکرد قلب و نیز عوامل رگ‌زایی را یادآوری می‌کنند (۱۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد سطح بیان ژن VEGF در گروه تمرین-ایسکمی افزایش معناداری به نسبت گروه شم، ایسکمی و تمرین تناوبی داشت. همچنین نتایج نشان داد که اختلافی بین گروه تمرین تناوبی با گروه ایسکمی میوکارد و گروه شم وجود ندارد. در واقع تمرین ورزشی تناوبی در هنگام مداخله ایسکمی می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن VEGF شود. اما خود تمرین ورزشی این تغییر را رت‌های سالم ایجاد نکرد.

یکی از مزایای بارز برنامه‌ی تمرینی، توانایی آن در حفظ برون‌ده قلبی با کاهش پرتپشی و افزایش نیروی انقباضی عضله‌ی قلبی ناشی از ایسکمی میوکارد است. تغییرات ناشی از ایسکمی میوکارد در سطح مولکولی به احتمال زیاد ریشه در بیان و یا فعالیت پروتئین‌های متعدد درگیر در حفظ یا تنظیم عوامل مهار و تحریکی رگ‌زایی دارد که نتایج پژوهش حاضر اثرگذاری تمرین ورزشی تناوبی شدید بر نوزایی عروق قلبی را نشان می‌دهد. البته این نوزایی زمانی رخ خواهد داد که در کنار مداخله‌ی ایسکمی باشد. در واقع زمانی که فرآیند ایسکمی رخ می‌دهد افزایش بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در بطن چپ موش‌ها مشاهده شد ($P < 0.05$). اما مداخله‌ی ۸ هفته‌ای تمرین تناوبی شدید نتوانست موجب ایجاد تغییر معناداری در این متغیر شود و حتی کاهش جزئی نیز در میزان بیان ژن VEGF مشاهده شد ($P > 0.05$). نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش رنجبر و همکاران (۲۰۱۵) مخالف و ناهم‌سوست (۱۳) و با نتایج پژوهش ژائو و همکاران (۲۰۱۰) و ال نبی و همکاران (۲۰۱۲) موافق و هم‌سوست (۱۸ و ۱۷). رنجبر و همکارانش (۲۰۱۵) نشان دادند در اندازه‌ی ایسکمی بین گروه‌های ورزشی-مکمل و ایسکمی میوکارد تفاوت معناداری مشاهده نشده است. همچنین، نتایج آنها نشان داد مکمل ال-آرژنین به همراه فعالیت ورزشی مانع از کاهش بیان ژن VEGF می‌شود (۱۳).

در واقع نتایج رنجبر و همکاران نشان دادند که تمرین‌های استقامتی منجر به کاهش عامل رشد اندوتلیال عروقی می‌شود. از دلایل اختلاف نتایج پژوهش حاضر با نتایج رنجبر و همکاران (۲۰۱۵) احتمالاً نوع شدت تمرینی (تناوبی در برابر تناوبی) و نوع مداخله‌ی مکملی باشد (۱۳). در واقع در این پژوهش از مداخله تمرین‌های تناوبی شدید با شدت بالای تقریباً ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max} در تناوب‌های شدید (به مدت ۴ دقیقه) استفاده شده است، اما در پژوهش ذکر شده حداکثر شدت تمرینی ۶۰ درصد VO_{2max} اجرا شده است. ال نبی و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان دادند گیرنده VEGF به‌طور معناداری در موش‌های بی‌تحرك انفارکتوسی همراه با افزایش بیشتر از آن در گروه تمرین و انفارکتوس مشاهده شد (۱۸). در زمان رخداد ایسکمی و سکتی قلبی یا فعالیت‌های ورزشی که هیپوکسی موضعی ایجاد می‌کنند، نیاز بیشتر عضلات به اکسیژن و تامین انرژی همچنین نیاز بیشتر به تبادل سایر مواد و متابولیت‌های دفعی و مصرفی با سایر قسمت‌های بدن، سبب انتقال بیشتر خون به این بافت‌ها می‌شود (۳). در حالت استراحت ۲۰ درصد برون‌ده قلبی سهم عضلات می‌باشد که در حین ورزش شدید می‌تواند ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش یابد (۷) که هرچه بافت توسعه‌ی عروقی بیشتری داشته باشد، تامین این نیازها بهتر صورت می‌گیرد و عملکرد بافت نیز متناسب با این امر توسعه می‌یابد چرا که از جمله مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد عضلات تجمع متابولیت‌های ناشی از فعالیت عضلات و کاهش توان عضلات جهت تامین انرژی مورد نیاز فعالیت می‌باشد (۷). از جمله مهم‌ترین عوامل محرک آنژیوژنز و آرتریوژنز ناشی از ورزش که تا کنون بیان شده می‌توان به هایپوکسی ناشی از انقباض عضلانی (۱۹)، نیروهای همودینامیکی (شیر استرس) (۲۰)، انواع کشش‌ها (نظیر کشش چرخه‌ای و کشش ایستاتیکی) (۲۱)، متابولیت‌ها، اتساع کننده‌های عروق و برخی از سایتوکاین‌ها اشاره داشت (۲۱) که البته سهم هر یک از این عوامل در آنژیوژنز و

این آسیب است (۲۳). در واقع نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد به دنبال مداخله‌ی تمرین ورزشی و همچنین مداخله تمرین در موش‌های دچار ایسکمی میزان بیان ژن VEGF افزایش معناداری داشته است. اما این تغییرات در گروه ایسکمی مشهود نبود. تمرین ورزشی می‌تواند باعث بهتر شدن خون رسانی بافت میوکارد آسیب‌دیده ناشی از MI، کاهش اختلالات بطن چپ، افزایش برون‌ده قلبی و نیروی انقباضی میوکارد شود (۱۶ و ۲۴). به علاوه، تمرین‌های ورزشی از راه افزایش بیان ژن‌ها و پروتئین‌های رگ‌زایی و کاهش عوامل منفی آنژیوتنیک در ایسکمی میوکارد به افزایش آنژیوژنز و تعادل آنژیوتنیک منجر می‌شوند (۲۵).

پژوهش‌های بالینی و همچنین تجربی نشان داده‌اند برنامه تمرینی یکی از موثرترین راهبردهای کاهش پیشرفت کاردیومیوپاتی و کاهش دهنده‌ی بروز عوارض قلبی عروقی و مرگ و میرهای ناشی از ایسکمی میوکارد است. فعالیت ورزشی می‌تواند فرایندهای نقصان‌پذیر ناشی از این نقیصه را جبران کند. با وجود این که تاثیر برنامه‌ی تمرینی بر کندی و یا تاخیر کاهش انقباض عضله‌ی قلبی ناشی از ایسکمی پذیرفته شده است، اما سازوکارهای مولکولی درگیر در برنامه تمرینی، سازگاری خاصی را ایجاد می‌کند که به عنوان روشی برای درمان ایسکمی پذیرفته می‌شود. در افراد دچار ضایعات قلبی مانند انفارکتوس قلبی به مرور زمان دچار بدکاری در دیاستول و سیستول شدید می‌شوند که این نشانه‌ی ابتلا به کاردیومیوپاتی است و به دلیل تغییرات در بیان و عملکرد ژن‌ها و پروتئین‌های متعددی که در تنظیم این عوامل دخیل هستند اتفاق می‌افتد (۷). پژوهش‌های گوناگونی اظهار کرده‌اند که اثرات ورزش بر سیستم قلبی-عروقی به شدت یا میزان ورزش بستگی دارد. شدت و مدت فعالیت ورزشی به کار رفته در این مطالعه در مقایسه با پژوهش‌های مشابه، متفاوت است و این تفاوت در تدوین یک برنامه تمرینی تعدیل شده تناوبی با شدت بالا بر اساس جرم بطن چپ

آرتریوژنز ناشی از ورزش تا کنون به درستی نمایان نشده است و نشان داده شده است که این عوامل تحریکی در تمرین‌های با شدت بالا به نسبت تمرین‌های استقامتی و تداومی بیشتر است (۱۴). مهم‌ترین و نخستین زنجیره در فرآیند توسعه عروقی که تا کنون شناسایی شده است، افزایش تولید VEGF است. عامل محرک آنژیوژنز چه هایپوکسی یا ایسکمی باشد و چه عامل همودینامیک، از طریق افزایش VEGF سبب تحریک فرآیند آنژیوژنز می‌شود. به عنوان مثال هایپوکسی از طریق افزایش فاکتورهای ناشی از هایپوکسی (Hypoxia-Inducible Factors) سبب افزایش فعالیت اندوتلیال نیتریک اکساید سنتاز (Endothelial Nitric Oxide Synthase) و افزایش تولید VEGF می‌شود (۲۲). همچنین عامل همودینامیکی نظیر فشار برشی (که به دنبال فعالیت ورزشی مخصوصا فعالیت‌های شدید و با فشار بالا رخ می‌دهد) نیز از طریق فعالسازی کانال‌های یونی به ویژه کانال‌های پتاسیمی موجب افزایش تولید نیتریک اکساید (Nitric Oxide) می‌شود. NO نیز سبب تولید گیرنده‌های VEGF بیشتر می‌شود (۱۹).

شواهد روبه رشدی نشان داده‌اند فعالیت ورزشی بعد از MI می‌تواند عملکرد قلب را بهتر کند و از طرفی دیگر، از اختلال در عملکرد بطن چپ بکاهد؛ اما سازوکارهای مولکولی که به بهتر شدن عملکرد بطن چپ و خون رسانی به عضله‌ی میوکارد منجر می‌شود هنوز به طور کامل شناخته نشده است. بازسازی قلب به رگ‌زایی و نوزایی عروق جدید نیاز دارد و یکی از مهم‌ترین سازوکارها برای بهتر شدن و بازتوانی قلب، همین مسئله‌ی نوزایی عروق در بافت عضله قلب است (۳). بنابراین بافت میوکارد به دلیل آسیب ناشی از MI برای حفظ برون‌ده کافی باید بیشتر کار کند که به عروق و چگالی عروقی مناسبی نیاز دارد. (۹). یکی از مناسب‌ترین راهبردها، افزایش زنده ماندن و کیفیت زندگی در بیماران که به MI مبتلا هستند، به حداکثر رساندن چگالی مویرگی میوکارد ناشی از

رت‌ها و زمان ۸ هفته‌ای آن مشهود است. افزایش جرم بطن چپ در گروه تمرین و تمرین ایسکمی نشان دهنده سازگاری عضله قلب و مخصوصاً بطن چپ به تمرین‌های ورزشی می‌باشد. هر چند میزان افزایش در جرم بطن چپ در گروه تمرین- ایسکمی بیشتر از سایر گروه‌هاست که این خود ممکن است ناشی از هایپرتروفی کاردیومیوپاتی باشد که نیاز به پژوهش‌های بیشتر در آینده دارد (۲۰). همچنین داده‌های وزن از افزایش اندک و معنادار در رت‌های گروه تمرین- ایسکمی نسبت به سایر گروه‌ها خبر می‌دهد. این افزایش را می‌توان به دسترسی آزادانه و دایمی رت‌ها به آب و غذا توجیه نمود. توجیه دیگر برای افزایش وزن در گروه تمرین- ایسکمی و همچنین افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین احتمالاً می‌تواند ناشی از هایپرتروفی عضلانی باشد.

اما در رابطه با نتایج مربوط به سیستم آپلین رژیک نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطح بیان ژن آپلین و گیرنده آن در گروه تمرین ایسکمی افزایش معناداری به نسبت گروه شم ($P=0/001$)، ایسکمی ($P=0/001$) و تمرین ورزشی ($P=0/001$) داشت. همچنین نتایج نشان داد که اختلافی بین گروه تمرین تناوبی با گروه ایسکمی میوکارد و گروه شم در بیان ژن آپلین وجود ندارد ($P>0/05$). اما در رابطه با متغیر گیرنده آپلین اختلافی بین گروه تمرین تناوبی با گروه شم وجود نداشت ($P>0/05$). اما این اختلاف با گروه ایسکمی مشاهده شد ($P=0/002$). در واقع تمرین‌های ورزشی در هنگام مداخله ایسکمی می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن آپلین شود اما خود تمرین ورزشی این تغییر را ایجاد نکرد ($P>0/05$). از طرفی دیگر نتایج نشان داد که بدنبال مداخله ایسکمی افزایش معناداری در میزان بیان ژن آپلین به نسبت گروه شم مشاهده شد ($P=0/025$). همچنین نتایج نشان داد که به بدنبال مداخله ایسکمی کاهش معناداری در میزان بیان ژن گیرنده آپلین به نسبت گروه شم مشاهده شد ($P=0/04$). نتایج پژوهش حاضر با نتایج رایت و همکاران (۲۰۰۹) و

پتکین و همکاران (۲۰۱۰) موافق و همسوست (۲۶ و ۸) و با نتایج چاندراسکاران و همکاران (۲۰۱۰) مخالف و ناهمسوست (۷). رایت و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که اعمال یک برنامه‌ی تمرین شای یک ساعته در موش‌های سالم، در مقایسه با گروه کنترل، میزان mRNA آپلین بافت قلبی و پلاسمایی را در پاسخ به ورزش، ۴ برابر افزایش می‌یابد (۸). آپلین قلبی به وسیله‌ی هیپوکسی بیش بیان ژنی می‌شود. در ایسکمی میوکارد هم آپلین و هم گیرنده آن افزایش بیان ژنی را نشان می‌دهند (۲۷). در پژوهش حاضر نیز نتایج نشان داد که در گروه ایسکمی میزان آپلین افزایش یافته است اما گیرنده آن خیر در واقع به بدنبال ایسکمی میزان بیان ژن گیرنده‌ی آپلین کاهش معناداری به نسبت گروه شم داشته است. اما زمانی که مداخله فعالیت ورزشی در گروه ایسکمی ورزش وارد شده است نتایج نشان از افزایش بیان ژن سیستم آپلین رژیک بود (آپلین و گیرنده آن) در واقع نتایج نشان داد هر دوی این عوامل با هم افزایش داشته‌اند. این نتایج نشان می‌دهد که ایسکمی خود می‌تواند منجر به افزایش آپلین شود. نتایج پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزایش آپلین به بدنبال ایسکمی میوکارد و یا انفارکتوس آن خطرناک است. در واقع افزایش این پپتید موجب اختلالاتی در تجمع پلاک‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های عضله‌ی صاف می‌شود. در این بیماران آپلین توانایی ایجاد انسداد در عروق کرونر قلبی را دارد (۲۶). اما ورزش و مداخله‌ی تمرین ورزشی گیرنده آپلین را نیز افزایش می‌دهد که یک تعادل سیستم آپلین رژیکی رخ دهد. تا انسداد عروقی بیشتری پس از ایسکمی برای بیمار ایجاد نشود. اعتقاد بر این است زمانی که در بیمار مبتلا به ایسکمی، گیرنده‌ی آپلین کاهش می‌یابد افزایش سطوح آنژوتانسین II رخ می‌دهد. در واقع این افزایش موجب کاهش بیان ژن گیرنده آپلین می‌شود و در واقع این تغییرات بیشتر به نقش گیرنده‌ی AT-1 بر می‌گردد (۲۸). نتایج پژوهش حاضر در رابطه با مداخله‌ی تمرین ورزشی با

نتیجه گیری

تمرین‌های ورزشی کیفیت زندگی، ظرفیت‌های عملکردی، التهاب و در کل عملکرد قلبی عروقی را بهبود می‌بخشند، ولی سازوکارهای شرکت‌کننده در این رویدادها هنوز به طور کامل ناشناخته‌اند. در سال‌های اخیر، علاقه به پژوهش در حوزه‌ی ژنتیک و پاسخ بدن به فعالیت ورزشی افزایش یافته است و شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند سازگاری‌های فیزیولوژیکی ناشی از فعالیت‌های ورزشی با بیان ژن‌های مختلفی همراه هستند. یک برنامه‌ی منظم تمرینی تناوبی به بهبود عوامل درگیر در رگ‌زایی و نوزایی عروق عضله‌ی قلب، بهبود و خون‌رسانی به این عضله و در نهایت منجر به بهبود قدرت انقباضی که به طور عمده توسط افزایش جرم بطن چپ رخ می‌دهد منجر می‌شود. اجرای پروتکل تمرین تناوبی شدید (پژوهش حاضر) در زمان بسیار اندکی نسبت به سایر برنامه‌های تمرینی انجام می‌شود که این موضوع اجرای راحت‌تر و قابل تحمل‌تری را برای نمونه‌های انسانی و حیوانی ایجاد می‌کند. تمامی این سازگاری‌ها منجر به بهبود سیستم قلبی عروقی و همچنین کاهش مرگ و میر در نمونه‌های انسانی و حیوانی می‌شود که البته نیاز به پژوهش‌های بیشتری در آینده دارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله از پایان نامه دوره دکتری نویسنده مسئول استخراج شده است. بدین وسیله از مدیریت محترم تمامی مسئولین و کارشناسان آزمایشگاه مرکز پژوهش‌های سلولی و مولکولی دانشگاه ایران (سرکار خانم‌ها بیتا کوهنورد پور و لیلا ریاحی پور) و سایر کسانی که ما را در انجام مطلوب این پژوهش یاری دادند، سپاسگزاری می‌نماییم.

نتایج پژوهش زونگ و همکاران ۲۰۰۵ موافق و همسوست. در واقع نتایج نشان داد به دنبال تمرین ورزشی میزان گیرنده و خود آپلین افزایش داشته است. پس از فعالیت ورزشی همان طور که قبلاً اشاره شد با توجه به شدت تمرین میزان خون‌رسانی به بافت‌های عضلانی افزایش می‌یابد. این افزایش خون‌رسانی نیازمند سازوکار رگ‌گشایی و رگ‌زایی در این بافت‌ها است. در واقع تمرین ورزشی با ایجاد هیپوکسی موضعی و همچنین شیر استرس موج افزایش عوامل رگ‌گشا و همچنین به دنبال سازگاری با تمرین ورزشی افزایش در عوامل مویرگ‌زایی و رگ‌زایی و همچنین چگالی مویرگی می‌تواند این سازوکار جبرانی را جبران کند. البته در گروه ایسکمی نیز هیپوکسی موضعی ایجاد و در واقع عضلات قلب دچار کمبود اکسیژن می‌شود. همان‌طور که نتایج نشان داد افزایش معناداری در میزان آپلین که یک رگ‌گشا در قلب است، مشاهده شد. اما میزان گیرنده‌ی آن کاهش یافته است که نیاز به پژوهش‌های بیشتری در آینده برای یافتن چرایی این مسئله است. اطلاعات حاضر نشان از پتانسیل قوی آپلین در درمان بیماران مبتلا به سکته‌ی قلبی است. نتایج نشان از افزایش پیش‌بار و پس‌بار قلب به دنبال افزایش آپلین و بهبود عملکرد قلب در رت‌ها را نشان داده است (۲۹). اگر چه آپلین نقش تعدیل‌کننده‌ای در رگ‌گشایی وابسته به اندوتلیوم دارد اما درمان این بیماران با آپلین درمانی یا عاملی که منجر به افزایش آپلین شود (فعالیت ورزشی) خالی از لطف نیست. همچنین اعتقاد بر این است که آپلین نقش ویژه‌ای در مهاجرت و تکثیر سلول‌های عضله صاف عروق دارد و همچنین این موجب افزایش مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال عروق برای افزایش عروق‌زایی باشد.

References

- 1- Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics—2010 update. *Circulation*. 2010; 23; 121: e46-215.
- 2- Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circul Physiol*. 2011; 301: H1723-H1741.
- 3- Kobayashi K, Maeda K, Takefuji M, et al. Dynamics of angiogenesis in ischemic areas of the infarcted heart. *Scie Report*. 2017; 7.
- 4- Crosby JR, Kaminski WE, Schatteman G, et al. Endothelial cells of hematopoietic origin make a significant contribution to adult blood vessel formation. *Circulation Res*. 2000; 27; 87: 728-30.
- 5- Kang J, Yoon JK, Oh SJ, Kim BS, Kim SH. Synergistic therapeutic effect of three-dimensional stem cell clusters and angiopoietin-1 on promoting vascular regeneration in ischemic region. *Tissue Eng Part A*. 2017;
- 6- Moore MA, Hattori K, Heissig B, et al. Mobilization of endothelial and hematopoietic stem and progenitor cells by adenovector-mediated elevation of serum levels of SDF-1, VEGF, and angiopoietin-1. *Ann New York Academ Scie*. 2001; 1; 938: 36-47.
- 7- Chandrasekaran B, Kalra PR, Donovan J, Hooper J, Clague JR, McDonagh TA. Myocardial apelin production is reduced in humans with left ventricular systolic dysfunction. *J Cardiac Fail*. 2010; 31; 16: 556-61.
- 8- Wright D, Sutherland L. Exercise increases apelin expression in white adipose tissue: *Med Sci Sport Exercise*. 2009; 1; 41: 38.
- 9- Li L, Zeng H, Chen JX. Apelin-13 increases myocardial progenitor cells and improves repair postmyocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circulat Physiol*. 2012; 1; 303: H605-18.
- 10- Wu L, Chen L, Li L. Apelin/APJ system: A novel promising therapy target for pathological angiogenesis. *Clinica Chimica Acta*. 2017; 1; 466: 78-84.
- 11- Zeng XX, Wilm TP, Sepich DS, Solnica-Krezel L. Apelin and its receptor control heart field formation during zebrafish gastrulation. *Develop Cell*. 2007; 31; 12: 391-402.
- 12- Tempel D, de Boer M, van Deel ED, et al. Apelin enhances cardiac neovascularization after myocardial infarction by recruiting aplnr+ circulating cells novelty and significance. *Circulation Res*. 2012; 17; 111: 585-98.
- 13- Ranjbar K, Nazem F, Nazari A, et al. Synergistic effects of nitric oxide and exercise on revascularisation in the infarcted ventricle in a murine model of myocardial infarction. *EXCLI J*. 2015; 14: 1104.
- 14- Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. *Cardiovasc Res*. 2013; 2: cvt080.
- 15- Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise

- training. *Europ J Cardiovas Prevent Rehabil*. 2007; 14: 753-60.
- 16- Wisløff U, Støylen A, Loennechen JP, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. *Circulation*. 2007 19; 115: 3086-94.
- 17- Zhao W, Zhao T, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y. Reactive oxygen species promote angiogenesis in the infarcted rat heart. *Int J Exper Pathol*. 2009; 1; 90: 621-9.
- 18- El Nabi WM, Eman MS. The possible physiological role of vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) in adrenaline-induced myocardial infarction in rats with and without exercise. *J Am Sci*. 2012; 8.
- 19- Green DJ, Smith KJ. Effects of exercise on vascular function, structure, and health in humans. *Cold Spring Harbor Perspect Med*. 2017: a029819.
- 20- Hoier B, Hellsten Y. Exercise-induced capillary growth in human skeletal muscle and the dynamics of VEGF. *Microcirculation*. 2014; 1; 21: 301-14.
- 21- Tian Y, Gawlak G, O'Donnell JJ, Birukova AA, Birukov KG. Activation of vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor 2 mediates endothelial permeability caused by cyclic stretch. *J Biologic Chem*. 2016; 6; 291: 10032-45.
- 22- Folkman J. Angiogenesis. *Annu Rev Med*. 2006; 18; 57: 1-8.
- 23- Rapsomaniki E, Timmis A, George J, et al. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1·25 million people. *Lancet*. 2014; 6; 383: 1899-911.
- 24- Gerczuk PZ, Kloner RA. An update on cardioprotection: a review of the latest adjunctive therapies to limit myocardial infarction size in clinical trials. *J Am College Cardiol*. 2012; 13; 59: 969-78.
- 25- Xiao L, He H, Ma L, et al. Effects of miR-29a and miR-101a expression on myocardial interstitial collagen generation after aerobic exercise in myocardial-infarcted rats. *Arch Med Res*. 2017; 31; 48: 27-34.
- 26- Pitkin SL, Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Modulation of the apelin/APJ system in heart failure and atherosclerosis in man. *Br J Pharmacol*. 2010; 1; 160: 1785-95.
- 27- Atluri P, Morine K, Liao G, et al. Ischemic heart failure enhances endogenous myocardial apelin and APJ receptor expression. *Cell Molec Biol Lett*. 2007; 1; 12: 127-38.
- 28- Iwanaga Y, Kihara Y, Takenaka H, Kita T. Down-regulation of cardiac apelin system in hypertrophied and failing hearts: possible role of angiotensin II-angiotensin type 1 receptor system. *J Molec Cell Cardiol*. 2006; 30; 41: 798-806.
- 29- Chen Z, Wu D, Li L, Chen L. Apelin/APJ system: a novel therapeutic target for myocardial ischemia/reperfusion injury. *DNA Cell Biol*. 2016; 1; 35: 766-75.

The Effect of Eight Weeks of High-Intensity Interval Training on Gene Expression of Angiogenesis Factors in Ischemic Rats

Mehri Alvar Y¹, Gaeeni AA², Ramezani AR¹, Golab F³, Gheiratmand R⁴, Barati M⁵

¹Dept. of Exercise Physiology, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran

²Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

³Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴Dept. of Cardiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵Dept. of Biotechnology, Faculty of Allied Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Mehri Alvar Y, Dept. of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran

E-mail: yaghoob.alvar@ut.ac.ir

Received: 16 Jul 2017 **Accepted:** 19 Sep 2017

Background and Objective: Myocardial infarction can lead to loss of heart muscle cell, changes in ventricular function and structure, scar formation as well as leading the heart to ultimate stroke and its loss. This study aimed to investigate the effect of eight weeks of High-Intensity Interval Training (HIIT) on the gene expression of angiogenesis factors in ischemic rats.

Materials and Methods: In this study, 28 male Wistar rats (200-250 g) were randomly assigned to 4 groups: sham, ischemia, exercise, and exercise-ischemia. Myocardial infarction (MI) was achieved via closure of LAD artery for 30 minutes. A treadmill exercise program was performed by the rats for 8 weeks, 40 minutes daily, 3 days a week.

Results: The results showed that there is a significant difference between the four groups in gene expression levels of VEGF, apelin and apelin receptor ($p = 0.001$). Results also showed that the gene expression level of VEGF, apelin and apelin receptor was significantly increased in the exercise-ischemia group compared to sham ($p = 0.04$), ischemia ($p = 0.002$) and exercise ($p = 0.009$) groups. Results showed that exercise during ischemia can lead to an increase in VEGF gene expression but not in exercise group alone. On the other hand, a significant increase was observed in gene expression level of apelin following ischemic intervention compared to the sham group ($p = 0.025$). No difference was observed between the interval training group and sham group ($p > 0.05$). Meanwhile, a significant reduction in the gene expression level of apelin receptor was seen following ischemic intervention compared to the sham group ($p = 0.04$).

Conclusion: The physiological adaptations caused by interval training are associated with different gene expressions. A regular interval training program leads to the increase of factors involved in angiogenesis and the regeneration of cardiac muscle vessels following myocardial ischemia.

Keywords: Myocardial ischemic, Angiogenesis, Intensity interval training, Apelin