

## تأثیر تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن های PGC1 $\alpha$ و VEGF در بافت قلبی موش های نر ویستار

نرگس یزدانیان<sup>۱</sup>، محمدرضا اسد<sup>۲</sup>، مصطفی رحیمی<sup>۳</sup>

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه پیام نور، ایران

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه پیام نور، ایران

۳. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران\*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۰

### چکیده

هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر دو شیوه تمرینی تناوبی شدید و استقامتی تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن PGC1 $\alpha$  و VEGF در بافت قلبی موش های نر ویستار بود. در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل پایه (تعداد = شش)، گروه کنترل هشت هفته بدون تمرین (تعداد = شش)، گروه تمرین تناوبی شدید (تعداد = شش) و گروه تمرین استقامتی تداومی (تعداد = شش) تقسیم شدند. پروتکل های تمرینی پس از دو هفته آشناسازی، به مدت هشت هفته و هر هفته پنج جلسه اجرا شدند. پروتکل تمرین استقامتی تداومی با شدت ۱۵ تا ۳۰ متر در دقیقه و به مدت ۱۵ تا ۶۰ دقیقه و پروتکل تمرین تناوبی شدید با شدت ۲۸ تا ۵۵ متر در دقیقه و زمان کلی ۱۵ تا ۲۳ دقیقه، مطابق اصل اضافه بار اجرا شدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت ها بافت برداری شدند و میزان بیان متغیرها به روش RT-PCR سنجیده شد. داده ها با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی، در سطح معناداری ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند. نتایج نشان داد که انجام هر دو نوع تمرین به مدت هشت هفته موجب افزایش معنادار بیان ژن PGC1 $\alpha$  ( $P = 0.001$ ) در عضله قلبی موش های نر ویستار می شوند؛ اما با وجود افزایش بیان ژن VEGF به دنبال هر دو نوع تمرین، تفاوت معناداری بین گروه های تمرینی و کنترل مشاهده نمی شود ( $P = 0.066$ ). به نظر می رسد که هر دو تمرین استقامتی تداومی و تناوبی شدید باعث تسهیل و فعال شدن آبشار سیگنالی بالادستی فرایند آنژیوژنز (PGC1 $\alpha$ ) در عضله قلب رت ها می شوند؛ اما میزان VEGF که عامل اصلی و نهایی این سازگاری است، افزایش معناداری نمی یابد.

**واژگان کلیدی:** تمرین تناوبی شدید، تمرین استقامتی تداومی، آنژیوژنز، PGC1 $\alpha$ , VEGF

## مقدمه

تمرین و فعالیت ورزشی فواید زیادی در بهبود سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها دارند (۱،۲). سازگاری‌های ایجادشده در پی انجام فعالیت ورزشی منجر به کاهش بروز بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود و همچنین، به بهبودی اجرای ورزشی کمک می‌کند. از اصلی‌ترین این سازگاری‌ها، افزایش جریان خون انواع عضلات است که این افزایش با تغییر چگالی مویرگی و حداکثر اکسیژن مصرفی همراه است (۳،۴). یکی از تغییراتی که هنگام انجام تمرینات ورزشی از جمله فعالیت ورزشی تناوبی شدید (HIIT)<sup>۱</sup> و استقامتی تداومی در ساختار عروقی عضله برای رفع شرایط استرسی رخ می‌دهد، آنژیوژنز (رگ‌زایی) است که با تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال همراه است و به دو شکل جوانه‌زدن و دونیم‌شدن مویرگ‌های موجود است (۵).

رگ‌زایی فرایند پیچیده‌ای است که مستلزم مشارکت انواع سلول‌ها، مسیرهای پیام‌رسانی، فاکتورهای رشدی و گیرنده‌ها است (۶). از میان فاکتورهای آنژیوژنیک، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی<sup>۲</sup> (VEGF)، قوی‌ترین میتوژن مخصوص سلول‌های اندوتلیال و عامل رگ‌زایی شناخته شده است. مشخص شده است که VEGF در پاسخ به محرک‌هایی مانند هایپوکسی و استرس ناشی از فعالیت ورزشی، از سلول‌های اندوتلیال ترشح می‌شود (۳).

افزون‌براین، تحریکات بتا‌آدرنرژیک منجر به راه‌اندازی برنامه‌های متفاوتی از فاکتورهای آنژیوژنیک می‌شود که این خود نیازمند پروتئین فعال‌کننده مشترک گیرنده گاما یک آلفای فعال شده با تکثیرکننده پراکسی زوم<sup>۳</sup> (PGC-1 $\alpha$ ) است (۷). در واقع، PGC-1 $\alpha$  و برخی فعال‌کننده‌های دیگر، تنظیم‌کننده‌های کلیدی بیوژنز، عملکرد میتوکندریایی و رگ‌زایی شناسایی شده‌اند (۸). پیش از این تصور می‌شد که تنظیم VEGF در پاسخ به هایپوکسی عمدتاً از طریق فاکتور القایی ناشی از هایپوکسی<sup>۴</sup> (HIF) میانجی‌گری می‌شود؛ اما مشخص شده است که مسیر جدید PGC-1 $\alpha$ /ERR- $\alpha$ <sup>۵</sup> برای فعال‌سازی افزایش بیان VEGF به‌طور آشکاری مستقل از مسیر HIF است (۹). به‌عبارت‌دیگر، گیرنده آلفا وابسته به استروژن (ERR $\alpha$ ) است که از جمله گیرنده‌های هسته‌ای اورفن<sup>۶</sup> است و القای VEGF توسط PGC-1 $\alpha$  را میانجی‌گری می‌کند (۱۰).

- 
1. High Intensity Interval Training
  2. Vascular Endothelium Grow Factor
  3. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha (PGC-1 $\alpha$ )
  4. Hypoxia Induced Factor
  5. Estrogen-Related Receptor Alpha
  6. Orphan Nuclear Receptor

چینسومبو<sup>۱</sup> و همکاران (۷) نشان دادند که گیرنده‌های  $ERR\alpha$  در تولید VEGF توسط PGC-1 $\alpha$  دخالت دارند و نمونه‌های حیوانی فاقد  $ERR\alpha$  در افزایش چگالی مویرگی در پی انجام فعالیت ورزشی ناموفق بودند. سیلونوین<sup>۲</sup> و همکاران (۱۱) نیز نشان دادند که به دنبال یک جلسه حاد فعالیت ورزشی در نمونه‌های عضله اسکلتی، بیان سیتوکروم C، VEGF-1 و میوستاتین به عنوان عوامل بیوژن میتوکندریایی، آنژیوژن و هایپرتروفی عضلانی، به طور معناداری با افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  دستخوش تغییر شدند (۱۱). افزون‌براین، لیتل<sup>۳</sup> و همکاران (۱۲، ۱۳) و تیلور<sup>۴</sup> و همکاران (۱۴) که به بررسی اثرهای هر دو مدل تمرین ورزش هوازی تداومی و تناوبی شدید بر تغییرات PGC-1 $\alpha$  پرداخته‌اند، نشان دادند که هر دو مدل تمرینی در راه اندازی آبشار مربوط به بیان PGC-1 $\alpha$  اثرهای چشمگیری دارند. در مطالعه دیگری، کارازیزی<sup>۵</sup> و همکاران (۱۵) در بررسی تمرین اختیاری دویدن روی نوار گردان به این نتیجه دست یافتند که این نوع تمرین تأثیری بر هایپوکسی قلبی یا تحریک سیستم آنژیوژن قلبی موش‌ها (بیان  $HIF-1\alpha$ ، VEGF و سلول‌های اجدادی اندوتلیالی<sup>۶</sup> (EPCs)) ندارد (۱۵). علاوه بر این، در یک مطالعه اخیر، شین<sup>۷</sup> و همکاران (۱۶) به بررسی تأثیر چاقی و فعالیت ورزشی بر عوامل آنژیوژن پرداختند. آن‌ها به این مطلب پی بردند که رژیم غذایی پرچرب در رت‌ها تأثیر منفی بر آنژیوژن دارد؛ اما فعالیت ورزشی دویدن منظم با شدت متوسط به مدت هشت هفته چه در شرایط معمولی و چه در شرایط چاقی، باعث افزایش بیان mRNA عوامل مایوکاین (PGC-1 $\alpha$ ، IL-6 و IL-15) و آنژیوژن ( $mTOR^A$ ، VEGF و  $FLT1^A$ ) در عضلات اسکلتی (عضله نعلی) می‌شود.

اخیراً، راموس<sup>۱۰</sup> و همکاران (۱۷) در مقاله مروری تحلیلی با عنوان «مقایسه اثر تمرینات HIIT و تداومی هوازی بر عملکرد عروقی» به این نتیجه رسیدند که تمرینات HIIT اثرگذاری به مراتب بیشتری بر عملکرد عروقی دارند. این پژوهشگران مشاهده کردند که اجرای تمرینات HIIT عمدتاً با پروتکل چهار دوره چهار دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۹۵ درصد، حداکثر یا اوج ضربان قلب با فواصل استراحتی سه دقیقه‌ای با ۶۰-۷۰ درصد، حداکثر یا اوج ضربان قلب در دوره‌های ۱۶-۱۲

- 
1. Chinsomboo
  2. Silvennoinen
  3. Little
  4. Taylor
  5. Karazizi
  6. Endothelial Progenitor Cells
  7. Shin
  8. Mammalian Target of Rapamycin
  9. Fms Related Tyrosine Kinase 1
  10. Ramose

هفتگی و با تواتر سه بار در هفته، موجب افزایش ۴/۳۱ درصد اتساع وابسته به جریان شریان بازویی در مقایسه با میزان ۲/۱۵ درصد پس از تمرینات تداومی هوازی می‌شود. علاوه بر این، تمرینات HIIT اثرهای مثبتی بر آمادگی قلبی و تنفسی و عوامل سنتی خطر آفرین بیماری‌های قلبی- عروقی شامل استرس اکسیداتیو، التهاب و حساسیت انسولینی داشتند (۱۷).

به‌طور کلی، مطالعات در زمینه اثر فعالیت ورزشی بر تغییرات رگ‌زایی از طریق آپشار PGC-1 $\alpha$ ، ERR $\alpha$  و VEGF محدود هستند و تاکنون پژوهشی به بررسی این مسیر در عضله قلبی به‌عنوان حیاتی‌ترین اندام بدن نپرداخته است. افزون‌بر این، در مقایسه بین برنامه تمرین HIIT و تمرین استقامتی سنتی، شواهد روبه‌رشد نشان می‌دهند که بهبودهای قابل‌مقایسه یا حتی برتری در سلامتی قلبی- متابولیکی در نتیجه تمرینات HIIT به‌دست می‌آیند (۱۸،۱۹)؛ برای مثال، نشان داده شده است که مداخلات HIIT در مقایسه با یک برنامه تمرینی استقامتی تداومی با حجم بسیار بالا، به بهبودهای مشابهی در سازگاری‌های متابولیک عضلات اسکلتی، آمادگی قلبی- عروقی، عملکرد عروقی و ترکیب بدن منجر می‌شوند (۱۸،۱۹). علاوه بر این، شواهد زیادی وجود دارند که از نقش تمرینات HIIT به‌عنوان یک روش تمرینی بالقوه و به‌لحاظ زمانی مؤثر برای هر دو سازگاری‌های قلبی- عروقی و عضلانی حمایت می‌کنند (۱۹،۲۰)؛ بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر دو نوع پروتکل تمرینی HIIT و استقامتی تداومی بر بیان ژن‌های PGC1 $\alpha$  و VEGF، در بافت قلب موش‌های نر ویستار سالم طراحی و اجرا شده است.

## روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که برای انجام آن، ۲۴ سر رت صحرایی نژاد ویستار از دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج) تهران تهیه شدند. همه رت‌ها در شرایط کنترل‌شده محیطی با میانگین دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه رت نگهداری شدند. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید، رت‌ها به دو گروه اصلی کنترل و فعالیت ورزشی تقسیم شدند. گروه کنترل به دو زیرگروه کنترل پایه (CO) و گروه کنترل هشت‌هفته‌ای (CO8w) تقسیم شدند. گروه فعالیت ورزشی به دو گروه تمرین استقامتی تداومی<sup>۱</sup> (MICT) و تناوبی شدید (HIIT) تقسیم شدند. در شروع مطالعه، گروه CO کشته شده و بافت‌برداری شدند و گروه CO8w هم‌زمان با گروه‌های فعالیت ورزشی، به‌مدت هشت هفته نگهداری شدند. برای کاهش استرس و آشنایی با دوییدن روی تردمیل، رت‌های گروه فعالیت ورزشی در یک برنامه تمرینی به‌مدت دو هفته (شش جلسه)، با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر در

1. Moderate-Intensity Interval Training

دقیقه و مدت زمان ۱۰ دقیقه شرکت کردند. پروتکل تمرین استقامتی تداومی و تناوبی شدید براساس مطالعات قبلی و طبق اصل اضافه‌بار طراحی و اجرا شد (۲۰، ۲۱). در پروتکل تمرین استقامتی هفته‌به‌هفته، سرعت (۱۵ تا ۳۰ متر در دقیقه و معادل ۵۰ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و مدت (۱۵ تا ۶۰ دقیقه) دویدن روی تردمیل به تدریج افزایش یافتند. همچنین، پروتکل فعالیت ورزشی HIIT، مطابق با اصول تمرین طراحی و اجرا شد (۲۰). در این پروتکل، چهار تا هشت تناوب یک‌دقیقه‌ای فعالیت شدید با سرعت ۲۸-۵۵ متر بر دقیقه (تقریباً معادل ۷۰ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و سه تا هفت تناوب یک‌دقیقه‌ای فعالیت آهسته با سرعت ۱۲-۳۰ متر در دقیقه (تقریباً معادل ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) اجرا شد. در ابتدا و انتهای برنامه تمرینی، رت‌های هر دو گروه به ترتیب پنج و سه دقیقه گرم کردن و سرد کردن را نیز انجام دادند. در کل زمان اجرای پروتکل تمرین، شیب دستگاه تردمیل روی صفر درجه تنظیم شده بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با استفاده از داروی بی‌هوشی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون‌صفاقی بی‌هوش شدند و در محیط استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت قدامی سینه عضله قلب در قسمت بطن چپ بادقت استخراج شدند. پس از شست‌وشو در سرم فیزیولوژیک، بلافاصله موش‌ها در نیتروژن مایع منجمد شدند و برای انجام آزمایش‌های سلولی و مولکولی در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

کل RNA از نمونه‌های بافت قلب با استفاده از تریزول<sup>۱</sup> و براساس دستورالعمل کارخانه سازنده استخراج شد. غلظت و خلوص RNA حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر<sup>۲</sup> ارزیابی شد. ساخت cDNA<sup>۳</sup> با استفاده از کیت فرمنتیس<sup>۴</sup> با کد K1632 در دو مرحله انجام شد. واکنش زنجیره پلیمرز<sup>۵</sup> (PCR) با استفاده از دستگاه لایف تکنولوژی<sup>۶</sup> و کیت سایبر<sup>۷</sup> انجام شد. هر واکنش برای هر یک از نمونه‌ها دو بار انجام شد. برای طراحی پرایمرها، ابتدا توالی ژن کددهنده ژن VEGF و PGC-1 $\alpha$  از پایگاه

- 
1. Invitrogen cat n: 15596-026, USA
  2. WPA Biowave II, England
  3. Complementray DNA
  4. Fermentase, GmbH, Germany
  5. Polymerase Chain Reaction
  6. Life Technologies, USA
  7. SYBER ® Green I PCR Master Mix

دادگان مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی<sup>۱</sup> (NCBI) استخراج گردید. سپس، از برنامه‌های پریپرایمر<sup>۲</sup>، پرایمر<sup>۳</sup> و اولیگو آنالین<sup>۴</sup> برای طراحی پرایمر موردنظر و کنترل پرایمر ژن VEGF استفاده شد. در جدول شماره یک، مشخصات پرایمرهای مورد استفاده آورده شده است.

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت همسان‌سازی ژن‌های VEGF و PGC-1 $\alpha$

توالی پرایمرها	پرایمر
F: 5/ -CTTTCTGCTCTCTTGGGTGC-3/ R: 5/ - GTAGACGTCCATGAACTTCAC-3/	VEGF
F: 5/ -CACCAAACCCACAGAGAACAG-3/ R: 5/ -GGTGACTCTGGGGTCAGAG-3/	PGC-1 $\alpha$

Bp: base pair, F: Forward, R: Reverse

از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$ ، برای بررسی بیان کمی - نسبی<sup>۵</sup> ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و VEGF استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل‌ها به‌طور مجزا برای گروه‌های نمونه انجام شدند.

$$\text{Relative fold change in gene expression} = 2^{-\Delta\Delta CT}$$

$$\Delta C_T = C_{T \text{ target gene}} - C_{T \text{ reference gene}}$$

$$\Delta\Delta C_T = \Delta C_T \text{ test sample} - \Delta C_T \text{ Control sample}$$

برای مقایسه بین گروهی، از آزمون آنوای یک‌طرفه<sup>۶</sup> استفاده شد و تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی<sup>۷</sup> ارزیابی گردید. محاسبات آماری با نرم‌افزار آماری اس.پس.اس.اس.<sup>۸</sup> نسخه ۲۰ انجام شد. نتایج در سطح معناداری ۰/۰۵ تفسیر شد.

## نتایج

در جدول شماره دو، میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن رت‌ها در هر گروه در دو مرحله پایه و قبل از قربانی کردن ارائه شده است.

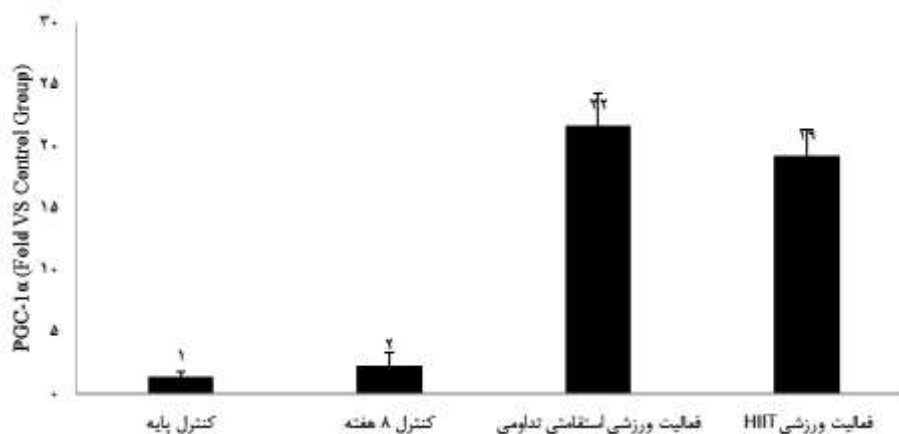
1. National Center for Biotechnology Information
2. Preprimer
3. Primer 3
4. Oligo Online
5. Relative Quantification of Gene Expression
6. One Way ANOVA
7. Tukey
8. SPSS

جدول ۲- وزن بدن رت‌ها در گروه‌ها، قبل و بعد از هشت هفته

گروه	CO	CO8W	MICT	HIIT
پایه	۲۳۷/۵ ± ۶/۸۷	۲۳۳/۴ ± ۷/۱۵	۲۳۴/۷ ± ۷/۶۴	۲۳۶/۹ ± ۸/۸۵
هشت هفته	-----	۲۹۵/۸ ± ۸/۸	۲۴۱/۵ ± ۱۰/۳	۲۵۸/۴ ± ۱۱/۵

CO-: گروه کنترل، CO8W: گروه کنترل هشت هفته، MICT: گروه فعالیت ورزشی استقامتی تداومی، HIIT: گروه فعالیت ورزشی تناوبی شدید

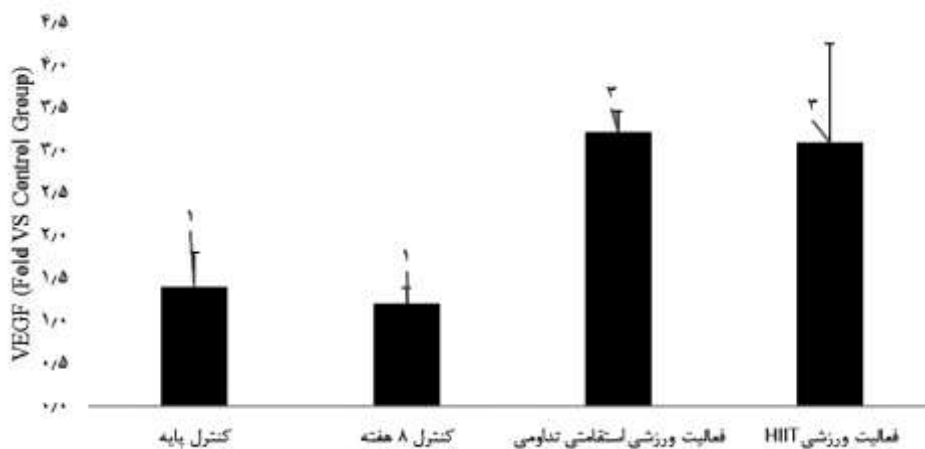
نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری در بیان ژن PGC-1 $\alpha$  گروه‌ها وجود دارد ( $P = 0.001$ ). در آزمون تعقیبی مشخص شد که در مقایسه با گروه کنترل پایه، بیان ژن PGC-1 $\alpha$  در گروه کنترل هشت‌هفته‌ای ( $P = 0.98$ ) تغییر معناداری نکرده است؛ اما فعالیت ورزشی استقامتی تداومی ( $P = 0.001$ ) و فعالیت ورزشی HIIT ( $P = 0.001$ ) باعث افزایش معنادار این ژن شده است. همچنین، در مقایسه با گروه کنترل هشت‌هفته‌ای، بیان این ژن در گروه‌های استقامتی ( $P = 0.001$ ) و HIIT ( $P = 0.001$ )، به‌طور معناداری افزایش یافته است. علاوه‌براین، تفاوت معناداری بین دو گروه فعالیت ورزشی مشاهده نشد ( $P = 0.77$ ) (شکل شماره یک).

شکل ۱- تغییرات بیان ژن PGC-1 $\alpha$  در گروه‌ها

\* = تفاوت معنادار با گروه کنترل پایه

‡ = تفاوت معنادار با گروه کنترل هشت‌هفته‌ای

درمورد بیان ژن VEGF، هر دو نوع فعالیت ورزشی باعث چندبرابری بیان این ژن شده‌اند؛ اما نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که این افزایش به‌لحاظ آماری تفاوت معناداری با گروه‌های کنترل ندارد ( $P = 0.066$ ) (شکل شماره دو).



شکل ۲- تغییرات بیان ژن VEGF در گروه‌ها

### بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و استقامتی تداومی با شدت متوسط (MICT) بر تغییرات بیان ژن‌های PGC1 $\alpha$  و VEGF در عضله قلبی رت‌های نر ویستار انجام شد. در مطالعه حاضر مشاهده شد که بیان PGC-1 $\alpha$  به دنبال هشت هفته تمرین تناوبی شدید و استقامتی تداومی، مطابق انتظار، افزایش معناداری را نسبت به گروه‌های کنترل در بافت عضله قلب نشان داد. مشخص شده است که PGC-1 $\alpha$  در آنژیوژنز حاصل از فعالیت ورزشی مشارکت دارد؛ به طوری که در نمونه‌های حیوانی موش‌های ترانسژنیک شده فاقد PGC-1 $\alpha$ ، افزایش آنژیوژنز ناشی از ورزش در عضله اسکلتی اتفاق نمی‌افتد (۷). به عبارت دیگر، تحریکات بتا آدرنرژیک منجر به راه‌اندازی برنامه‌های متفاوتی از فاکتورهای آنژیوژنیک نظیر VEGF می‌شوند که این خود نیازمند PGC-1 $\alpha$  است. در واقع، مسیر PGC-1 $\alpha$ ، ERR $\alpha$  و VEGF در آنژیوژنز عضله، در گام اول با افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  نقش دارد (۷).

بیاتی و همکاران (۲۲) نشان دادند که تمرین HIIT اثر معناداری بر تغییرات میزان پروتئین ERR $\alpha$ ، PGC-1 $\alpha$  و VEGF در عضله اسکلتی انسان دارد. آن‌ها گزارش کردند که فعال‌سازی VEGF از مسیر PGC-1 $\alpha$ ، بخشی از سازگاری‌های مربوط به رگ‌زایی تمرینات HIIT در عضله اسکلتی است. تیلور و همکاران (۱۴) بیان کردند که فعالیت ورزشی رکاب‌زدن تناوبی کم‌حجم و فعالیت ورزشی تداومی باعث القای یکسان فسفوریلاسیون AMPK و افزایش بیان mRNA در ژن‌های PGC-1 $\alpha$ ، VEGF و HIF-1 $\alpha$  در افراد تمرین‌کرده می‌شود. همچنین، حاجتی مدارایی و همکاران (۲۳) در



بررسی اثربخشی تمرین تناوبی شدید و تمرین تداومی هوازی به افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  اشاره کردند. در این مطالعه اشاره شده است که تغییرات ناشی از فسفات (AMPK) و کلسیم منجر به فعال شدن این ژن می‌شود؛ بنابراین، فعالیت‌های ورزشی از طریق تخلیه شارژ انرژی سلولی و افزایش کلسیم درون سلولی و متعاقب آن، فعال شدن کالمودولین و کلسی‌نورین باعث افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  می‌شوند (۲۳). در رابطه با تمرین HIIT نیز مطرح شده است که تمرین شدید موجب افزایش کلسیم درون سلولی و هیدرولیز ATP می‌شود که مکانیسم‌های بالادستی بیان ژن PGC-1 $\alpha$  محسوب می‌شوند (۲۴). به‌طور کلی، همان‌طور که انتظار می‌رفت و در مطالعات پیشین مشخص شده است، هر دو مدل تمرینی با راه اندازی آبشار مربوط به بیان PGC-1 $\alpha$  منجر به افزایش آن می‌شوند. همچنین، مطابق نتایج حاضر تفاوت معناداری در اندازه اثر دو مدل تمرینی مشاهده نشد.

همان‌طور که پیش از این اشاره شد، آنژیوژنز یکی از تغییراتی است که هنگام تمرینات ورزشی از جمله تمرینات تناوبی شدید (HIIT) و فعالیت ورزشی استقامتی تداومی در ساختار عروقی برای رفع شرایط استرسی رخ می‌دهد و از میان فاکتورهای آنژیوژنیک، VEGF قوی‌ترین میتوزن مخصوص سلول‌های اندوتلیال شناخته شده است (۵). اخیراً، یکی از مسیرهای فعال‌سازی VEGF که درباره آن بحث و بررسی شده است، فعال‌سازی از طریق PGC-1 $\alpha$  است. القای PGC-1 $\alpha$  وابسته به پیام‌رسانی بتا‌آدرنرژیک است که توسط ERR $\alpha$  میانجی‌گری می‌شود (۱۰). علاوه بر این، مسیرهای فعال‌سازی دیگری برای بیان VEGF نظیر مسیر HIF (افزایش بیان VEGF ناشی از کمبود اکسیژن) (۲۵) یا فعالیت حسگرهای متابولیک AMPK که به ناکافی بودن مواد متابولیک حساس است (۲۶)، می‌توانند در این امر مؤثر باشند. از آنجایی که عضلات اسکلتی نوع اکسایشی و به‌ویژه عضله قلبی، غنی از مویرگ‌ها و تارهای اکسیداتیو هستند (۲۷)، به‌نظر نمی‌رسد که افزایش بیان VEGF در این گونه تارها از مسیر HIF اثر پذیرد؛ هرچند که تاکنون پژوهشی به‌طور اختصاصی این موضوع را بررسی نکرده است.

در مطالعه حاضر نشان داده شد که هشت هفته تمرین HIIT و استقامتی تداومی باعث افزایش معنادار در سطوح ژن PGC-1 $\alpha$  و افزایش غیرمعنادار ( $P = 0.066$ ) در بیان ژن VEGF در عضله قلبی رت‌ها شدند. در مطالعه‌ای که چینسومبو و همکاران (۷) انجام دادند، مشخص شد که PGC-1 $\alpha$  نقش اساسی در تحریک آنژیوژنز حاصل از فعالیت ورزشی در عضله چهارسران از طریق فعال کردن مسیر PGC-1 $\alpha$ ، ERR $\alpha$  و VEGF دارد (۷). همچنین، آرنی<sup>۱</sup> و همکاران (۹) نشان دادند که PGC-1 $\alpha$  از طریق ERR $\alpha$  موجب تنظیم VEGF می‌شود. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که در محیط کشت ERR $\alpha$ <sup>-/-</sup> ژن PGC-1 $\alpha$  نتوانست تأثیری بر بیان VEGF و PDGF-B داشته باشد؛

بنابراین، آن‌ها در سلول‌های عضلانی، القای VEGF و PDGF-B را از طریق PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  برشمردند (۹).

با بررسی دقیق‌تر مشاهده می‌کنیم که مطالعات پیشین که به تأیید القای VEGF از طریق مسیر PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  پرداخته‌اند، تفاوت ویژه‌ای در نوع نمونه‌های بررسی‌شده با مطالعه حاضر دارند. در پژوهش چینسومبو و همکاران (۷)، بررسی فعال‌سازی این مسیر در عضله چهارسر بررسی شد که حاوی مخلوطی از نوع تار II و IIb است. همچنین، آرانی و همکاران (۹) گزارش کردند که بیان VEGF در پی افزایش PGC-1 $\alpha$ ، در نمونه‌های موش‌های ترانسژنیک‌شده در عضله چهارسر یا در محیط کشت افزایش یافته بود؛ اما در عضله نعلی (به‌عنوان یکی از اکسایشی‌ترین عضلات) تغییری را نشان نداده بود؛ بنابراین، این احتمال وجود دارد که در پژوهش حاضر، تفاوت نوع تار عضله قلبی (به‌عنوان عضله فوق‌العاده اکسایشی) با عضلات دیگری نظیر چهارسر که مخلوطی از انواع تارهای عضلانی است، منجر به افزایش معنادار نشدن VEGF در اثر القای PGC-1 $\alpha$  می‌شود.

افزون‌براین، مشخص شده است که ERR $\alpha$  (به‌عنوان عامل مهم و واسطه اثرگذاری PGC-1 $\alpha$  بر افزایش VEGF)، به‌طور گسترده‌ای در بافت‌های اکسیداتیو نظیر عضلات اکسایشی و قلب نسبت به بافت‌های دیگر بیان شده است (۲۸)؛ بنابراین، احتمال می‌رود که مطابق نتایج مطالعه حاضر و همچنین، پژوهش آرانی و همکاران (۹) که به بررسی اثر ورزش در قلب و عضلات اکسایشی پرداخته‌اند، به‌دلیل فقدان اثرپذیری ERR $\alpha$  در اثر فعالیت ورزشی و زیادبودن خودبه‌خودی سطوح پروتئین این فاکتور، فعالیت ورزشی منجر به راه‌اندازی آبخار VEGF، ERR $\alpha$  و PGC-1 $\alpha$  در عضله قلبی نشده باشد.

موضوع دیگر اینکه، در مطالعه حاضر مشخص شد که گذشت زمان به‌مدت هشت هفته باعث افزایش وزن رت‌های گروه کنترل می‌شود ( $P = 0.001$ ) و جالب اینکه هر دو نوع فعالیت ورزشی تداومی ( $P = 0.001$ ) و تناوبی شدید ( $P = 0.005$ )، از افزایش وزن رت‌ها جلوگیری کرده‌اند. علاوه‌براین، مطلب چشمگیر این است در گروه فعالیت ورزشی استقامتی تداومی، وزن رت‌ها در پایان هشت هفته نسبت به هفته اول تغییر معناداری نکرده است ( $P = 0.48$ )؛ اما در گروه HIIT، وزن رت‌ها افزایش داشته است ( $P = 0.013$ ). این بدان‌معنی است که تمرین دویدن تداومی بهتر از تمرینات HIIT از افزایش وزن جلوگیری می‌کند.

از منظر دیگر، نوع پروتکل تمرینی، شدت و مدت آن نیز از مؤثرترین عوامل بر تغییرات ساختاری و فیزیولوژیک محسوب می‌شوند. در نزدیک‌ترین پژوهش به مطالعه حاضر، شعبانی و همکاران (۲۹،۳۰) به بررسی هشت هفته تمرین تناوبی شدید و تمرین استقامتی تداومی بر بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و VEGF در عضله قلبی رت‌های ویستار پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که هر دو

مدل تمرینی اثر معناداری بر تغییرات بیان ژن هر دو فاکتور ندارند. در مطالعه شعبانی و همکاران، پروتکل تمرینی HIIT شامل سه تناوب شدید چهاردقیقه‌ای (با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO<sub>2</sub>max) و دو دقیقه تناوب آهسته (با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO<sub>2</sub>max) بود؛ اما در مطالعه حاضر، چهار تا هشت تناوب یک‌دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۱۰۰ درصد VO<sub>2</sub>max و استراحت یک‌دقیقه‌ای با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO<sub>2</sub>max اجرا شد؛ بنابراین، می‌توان به این موضوع اشاره کرد که تعداد تناوب‌ها، مدت زمان هر تناوب و استراحت بین تناوب‌های شدید، از جمله عوامل اثرگذار بر سازگاری‌های حاصل از فعالیت ورزشی هستند و با تغییر هر کدام از این عوامل، نتیجه متفاوتی حاصل می‌شود. همچنین، در رابطه با پروتکل تمرین استقامتی تداومی، مطالعه حاضر به صورت فزاینده و به مدت ۱۵ تا ۶۰ دقیقه (معادل ۵۰ تا ۷۰ درصد VO<sub>2</sub>max) اجرا شد؛ در حالی که در مطالعه شیبانی و همکاران (۲۹)، این پروتکل فعالیت ورزشی شامل ۳۰ دقیقه دویدن روی تردمیل با شدت ۷۰ تا ۷۵ درصد VO<sub>2</sub>max بود. در مجموع، توجه به این موضوع، مهم است که یافتن یک پروتکل فعالیت ورزشی مؤثر و کارآمد که بتواند سازگاری‌های ورزشی مناسب را به همراه داشته باشد، دارای اهمیت است.

به‌طور کلی، آنژیوژنز فرایندی پیچیده است و مسلماً مجموعه‌ای از آبشارهای سیگنالی مهاری و تحریکی همانند فاکتور رشد مشتق از پلاکت<sup>۱</sup> (PDGFs) و آنژیوپوپتین‌ها، در آنژیوژنز فیزیولوژیک و پاتولوژیک مشارکت دارند؛ بنابراین، تحریک و تنظیم آنژیوژنز عملکردی فقط وابسته به یک یا دو عامل نیست و احتمالاً در بافت‌های مختلف نیز آبشارهای سیگنالی متفاوتی در آنژیوژنز وابسته به فعالیت ورزشی مشارکت دارند. تاکنون بیشتر مطالعات در زمینه آنژیوژنز بر عضلات اسکلتی انسان تمرکز داشته‌اند و عملاً اجرای این‌گونه مطالعات روی قلب انسان غیرممکن است؛ بنابراین، کمتر به موضوع آنژیوژنز قلبی در اثر فعالیت ورزشی پرداخته شده است و طبیعی است که اطلاعات در این زمینه محدود است؛ از این‌رو، در مطالعات آینده، بررسی جامع عوامل مؤثر بر آنژیوژنز قلبی حاصل از فعالیت ورزشی می‌تواند به این سؤال پاسخ‌گو باشد که عواملی نظیر VEGF چه مقدار در این فرایند مشارکت دارند.

**پیام مقاله:** با توجه به داده‌های حاصل از این پژوهش، هر دو نوع فعالیت ورزشی استقامتی تداومی با شدت متوسط و تناوبی شدید، باعث افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  می‌شوند؛ اما این دو نوع فعالیت با وجود افزایش VEGF، تأثیر معناداری بر بیان ژن آن نداشتند. در عضلات اسکلتی و قلب، مکانیسم‌های سلولی و ملکولی مختلف و متفاوتی در فرایند آنژیوژنز مشارکت دارند؛ بنابراین، انجام

مطالعات بیشتر برای تعیین عوامل مؤثر در آنژیوژنز قلبی حاصل از فعالیت‌های ورزشی با شدت‌ها و انواع مختلف فعالیت ورزشی، موردنیاز است.

## تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله به‌عنوان مرکز اجرای پژوهش تقدیر و تشکر می‌کنیم.

## منابع

1. Booth FW, Lees SJ. Fundamental questions about genes, inactivity, and chronic diseases. *Physiol Genomics*. 2007;28(2):146-57.
2. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: The evidence. *Canadian medical association journal (CMAJ)*. 2006;174(6):801-9.
3. 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;103(3):1012-20.
4. Lloyd PG, Prior BM, Li H, Yang HT, Terjung RL. VEGF receptor antagonism blocks arteriogenesis, but only partially inhibits angiogenesis, in skeletal muscle of exercise-trained rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288(2):759-68.
5. Prior BM, Yang HT, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol*. 2004;97(3):1119-28.
6. Richardson RS, Wagner H, Mudaliar SR, Saucedo E, Henry R, Wagner PD. Exercise adaptation attenuates VEGF gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279(2):772-8.
7. Chinsomboon J, Ruas J, Gupta RK, Thom R, Shoag J, Rowe GC, et al. The transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. *P Natl Acad Sci USA*. 2009;106(50):21401-6.
8. Barroso I, Luan J, Sandhu M, Franks P, Crowley V, Schafer A, et al. Meta-analysis of the Gly482Ser variant in PPARGC1A in type 2 diabetes and related phenotypes. *Diabetologia*. 2006;49(3):501-5.
9. Arany Z, Foo S-Y, Ma Y, Ruas JL, Bommi-Reddy A, Girmun G, et al. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$ . *Nature*. 2008;451(7181):1008-12.
10. Thom R, Rowe GC, Jang C, Safdar A, Arany Z. Hypoxic induction of vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiogenesis in muscle by truncated peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator (PGC)-1 $\alpha$ . *J Biol Chem*. 2014; 289(13):8810-7.
11. Silvennoinen M, Ahtiainen JP, Hulmi JJ, Pekkala S, Taipale RS, Nindl BC, et al. PGC-1 isoforms and their target genes are expressed differently in human skeletal muscle following resistance and endurance exercise. *Physiol Rep*. 2015; 3(10):12563-75.

12. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 $\alpha$  and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol-Reg I*. 2011; 300(6):1303-10.
13. Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: Potential mechanisms. *J Physiol*. 2010;588(6): 1011-22.
14. Taylor CW, Ingham SA, Hunt JE, Martin NR, Pringle JS, Ferguson RA. Exercise duration-matched interval and continuous sprint cycling induce similar increases in AMPK phosphorylation, PGC-1 $\alpha$  and VEGF mRNA expression in trained individuals. *Eur J Appl Physiol*. 2016;116(8):1445-54.
15. Karazizi C, Onerup A, Larsson P, Karlsson L, Börjesson M, Dutta Roy S. The effect of exercise on angiogenic factors in the healthy mouse heart: a short report. *Exp Clin Cardiol*. 2014;20(1):2332-41.
16. Shin KO, Bae JY, Woo J, Jang KS, Kim KS, Park JS, et al. The effect of exercise on expression of myokine and angiogenesis mRNA in skeletal muscle of high fat diet induced obese rat. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2015;19(2):91-8.
17. Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med*. 2015;45(5):679-92.
18. Fisher G, Brown AW, Brown MMB, Alcorn A, Noles C, Winwood L, et al. High intensity interval-vs moderate intensity-training for improving cardiometabolic health in overweight or obese males: A randomized controlled trial. *PloS one*. 2015;10(10):0138853-63.
19. Bayati M, Gharakhanlou R, Farzad B. Adaptations of physiological performance following high-intensity interval training. *Sport Physiology*. 2015;7(26):15-32. (In Persian)
20. Rahimi M, Shekarforoush S, Asgari AR, Khoshbaten A, Rajabi H, Bazgir B, et al. The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. *Excli J*. 2015;14:237-46.
21. Lee Y, Min K, Talbert EE, Kavazis AN, Smuder AJ, Willis WT, et al. Exercise protects cardiac mitochondria against ischemia-reperfusion injury. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44(3):397-405.
22. Byaty M, Gharakhanlou R. The effect of 4 weeks of high intensity intermittent exercise (HIIT) on the protein PGC-1 $\alpha$  /  $\beta$ , ERR $\alpha$  and VEGF in human skeletal muscle (dissertation). Tarbiat Modares University; 2014. (In Persian)
23. Hajati Modarai M, Kordi MR, Gaeini AA, Hadidi V. Similar increases of PGC-1 $\alpha$  gene expression in the soleus muscle of healthy male rats following high intensity interval and aerobic training. *Journal of metabolism and Exercise*. 2014;4(1):39-48. (In Persian)
24. Gibala MJ, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the

- expression of PGC-1 $\alpha$  in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2009;106: 929-34.
25. Dai Y, Xu M, Wang Y, Pasha Z, Li T, Ashraf M. HIF-1 $\alpha$  induced-VEGF overexpression in bone marrow stem cells protects cardiomyocytes against ischemia. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;42(6):1036-44.
  26. Ouchi N, Shibata R, Walsh K. AMP-activated protein kinase signaling stimulates VEGF expression and angiogenesis in skeletal muscle. *Circ Res.* 2005;96(8):838-46.
  27. Hudlicka O. Growth of capillaries in skeletal and cardiac muscle. *Circ Res.* 1982;50(4):451-61.
  28. Bookout AL, Jeong Y, Downes M, Ruth TY, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical transcriptional network. *Cell.* 2006;126(4):789-99.
  29. Shabani M. The effect of eight weeks of intense interval training and aerobic exercises on gene expression of PGC-1 $\alpha$  and VEGF in heart muscle healthy male rats (thesis): University of Tehran; 2014. (In Persian)
  30. Shabani M, Choobineh S, Kordi MR, Afghan M. The effect of 8 weeks of high intensity interval training on the expression of PGC-1 $\alpha$  and VEGF genes in myocardial muscle of male healthy rats. *Journal of sport biosciences.* 2016;8(2):169-176. (In Persian)

### ارجاع دهی

یزدانیان نرگس، اسد محمدرضا، رحیمی مصطفی. تأثیر تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط بر بیان ژنهای PGC1 $\alpha$  و VEGF در بافت قلبی موش‌های نر ویستار. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۳۹۷؛ ۱۰(۳۸): ۲۴-۱۱۱. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2018.1160

Yazdanian N, Asad M, Rahimi M. The Effect of High Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training on PGC1 $\alpha$  and VEGF in Heart Muscle of Male Wistar Rats. *Sport Physiology.* Summer 2018; 10(38): 111-24. (In Persian). DOI: 10.22089/SPJ.2018.1160

## **The Effect of High Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training on PGC1 $\alpha$ and VEGF in Heart Muscle of Male Wistar Rats**

**N. Yazdanian<sup>1</sup>, M. R. Asad<sup>2</sup>, M. Rahimi<sup>3</sup>**

1. M.Sc. of Exercise Physiology, University of Payam Noor, Iran
2. Associate Professor, Exercise Physiology, University of Payam Noor, Iran
3. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Shahrekord University, Shahrekord, Iran\*

**Received: 2017/01/31**

**Accepted: 2017/04/30**

---

### **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the effects of high intensity interval training (HIIT) and moderate-intensity continuous training (MICT) on the gene expression of PGC1 $\alpha$  and VEGF in the cardiac muscle tissue of male rats. Twenty-four male Wistar rats randomly assigned to four groups including: basic control (CO) (n=6), 8 weeks control without exercise (CO8w) (n=6), HIIT (n=6), and MICT (n=6). After 2 weeks of familiarization on the treadmill, the rats in experimental groups run 5 times a week for 8 weeks. The speed of MICT protocol was 15 to 30 meters per minute, and its duration was about 15 to 60 minutes. The speed of HIIT protocol was 28 to 55 meters per minute and total duration was 15 to 23 minutes. Rats were sacrificed 48 hours after last training session, and the amount of gene expression was measured by Real-Time PCR technique. Data were analysis by ANOVA and Tukey post hoc test with a P-value of less than 0.05. The results illustrated that 8 weeks of both MICT and HIIT training would lead to significantly increases in PGC1 $\alpha$  gene expression in cardiac muscle (P=0.001). However, both of these training methods would not result in significantly increase in VEGF gene expression in cardiac muscle of rats (P=0.186). It seems that both of HIIT and MICT training methods facilitates and activated upstream signaling in angiogenesis process (PGC1 $\alpha$ ) in heart muscle of rats, however, VEGF that is the essential and last component of this adaptation wasn't significantly increase.

**Keywords:** High-Intensity Interval Training, Continuous Training, Angiogenesis, PGC1 $\alpha$ , VEGF

---

---

\* Corresponding Author

Email: Mostafa.rahimi20@gmail.com