

## تأثیر شش هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر عوامل منتخب آنژیوژنز قلبی در رت‌های مبتلا به آنفارکتوس میوکارد

سارا کربلایی فرا<sup>۱</sup>، عباسعلی گایینی<sup>۲</sup>، محمدرضا کردی<sup>۳</sup>، رضا نوری<sup>۴</sup>، پدram قربانی<sup>۵</sup>

۵. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین‌الملل کیش، دانشگاه تهران

۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران\*

۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران

۴. استادیار فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین‌الملل کیش دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۲۸

### چکیده

آنفارکتوس میوکارد، مرگ سلولی غیرقابل برگشت بخشی از عضله قلب به علت فقدان جریان خون است. فرایند مولکولی افزایش چگالی مویرگی در پاسخ به فعالیت و شدت مناسب فعالیت هنوز معلوم نیست؛ بنابراین، این پژوهش با هدف ارزیابی اثر شش هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های VEGF و COL-18 و نیز گیرنده مشترک آن‌ها (Flt-1) انجام شد. تعداد ۱۲ سر رت نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم و مبتلا به انفارکتوس میوکارد، در دو گروه تجربی (۶۰ دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل، هر تناوب شامل چهار دقیقه با شدت معادل ۸۵-۹۰ درصد VO<sub>2</sub>max و دو دقیقه بازیافت فعال با شدت معادل ۶۰-۵۰ درصد VO<sub>2</sub>max چهار روز در هفته و به مدت شش هفته) و گروه کنترل (بدون مداخله تمرین) قرار گرفتند. بیان ژن‌های ذکر شده توسط تکنیک PCR بررسی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس. نسخه ۱۸ ( $\alpha \geq 0.05$ ) با روش آماری تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند. یافته‌ها نشان داد که VEGF میوکارد گروه HIIT به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل ( $P \leq 0.001$ ) و Flt-1 میوکارد در گروه HIIT نیز به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ( $P \leq 0.001$ ). COL-18 میوکارد در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل تغییر معناداری نداشت ( $P = 0.340$ ). به طور کلی، شش هفته تمرین تناوبی شدید باعث افزایش عوامل مؤثر در آنژیوژنز در رت‌های نر نژاد ویستار پس از وقوع انفارکتوس میوکارد می‌شود.

**واژگان کلیدی:** آنژیوژنز، انفارکتوس میوکارد، تمرین تناوبی شدید

## مقدمه

بیماری‌های قلبی و عروقی یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر در جهان محسوب می‌شوند و آمار مبتلایان به این بیماری روزبه‌روز در حال افزایش است. آنفارکتوس میوکارد<sup>۱</sup> (MI) زمانی روی می‌دهد که خون‌رسانی به سلول‌های قلبی در کوتاه‌مدت مختل شود و به‌طور متوسط، ۴۰ تا ۵۰ درصد از رگ‌ها بسته شوند. وسعت و شدت بیماری در افراد مختلف فرق می‌کند و بسته به درگیری رگ‌ها و عروق، وسعت آن متغیر خواهد بود (۱). ایسکمی ایجادشده در اثر سکتۀ قلبی باعث غیرعادی‌شدن عملکرد قلب و آریتمی می‌شود. بطن چپ بزرگ‌تر می‌شود و در نتیجه، تراکم مویرگی آن کمتر می‌شود. کاهش تراکم مویرگی، سلول‌های عضلۀ قلبی را با خطر مرگ آپوپتوزی مواجه می‌کند (۲). عوامل گوناگونی از جمله هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها، اتساع‌کننده‌های عروق، انقباض عضلانی، برخی سایتوکاین‌ها و انواع کشش، بر امکان ایجاد عروق جدید در فرایندی به نام آنژیوژنز<sup>۲</sup> در بافت قلب، مؤثرند؛ بنابراین، رگ‌سازی مجدد در بافت قلب برای ارتقای عملکرد قلبی و عروقی بیماران مزیتی‌سازشی به‌شمار می‌رود؛ براین‌اساس، سنجش تعامل بین عوامل محرک آنژیوژنز و عوامل بازدارنده آن در شرایط گوناگون می‌تواند به یافتن روشی مؤثر در افزایش فرایند آنژیوژنز و در نهایت، ارتقای کیفیت بیماران مبتلا به سکتۀ قلبی کمک کند (۳).

عامل رشد اندوتلیوم عروقی<sup>۳</sup> (VEGF) به‌عنوان قوی‌ترین و مهم‌ترین فاکتور مؤثر در آنژیوژنز باعث افزایش مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکه عروقی می‌شود. عامل رشد اندوتلیال عروقی، گلیکوپروتئین همودایمر اصلی متصل به هیپارین با وزن مولکولی ۴۵۰۰ دالتون است که برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و برای جوانه‌زدن مویرگ‌های جدید از عروق قبلی (آنژیوژنز)، هنگام رشد و توسعه شبکه مویرگی ضروری است (۴). وقتی VEGF به گیرنده‌های ویژه خود روی سلول اندوتلیال پیوند می‌خورد، پیام‌هایی را فعال می‌کند که موجب تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و افزایش نفوذپذیری عروق می‌شوند (۵). در ادامه، VEGF از راه تنظیم افزایشی عناصر آنتی‌آپوپتوزی، DNA را سنتز می‌کند. تخریب غشای پایه و فسفریله‌شدن اجزای چسبنده اندوتلیالی بین سلولی و اتصالات محکم، به ترتیب موجب زمینه بقا، تکثیر، مهاجرت و نفوذپذیری سلول اندوتلیالی می‌شود (۶). گیرنده تیروزین کینازی ویژه VEGF، Flt-1<sup>۴</sup> است که با میل ترکیبی زیادی به آن پیوند می‌خورد. Flt-1 در سلول‌های اندوتلیالی و غیراندوتلیالی، هر دو بیان می‌شود و بیان ژن این گیرنده در شرایط هایپوکسی می‌تواند تا ۳۰ درصد افزایش یابد (۷). Flt-1 به‌مثابه گیرنده قوی VEGF عمل می‌کند و

- 
1. Myocardial Infraction
  2. Angiogenesis
  3. Vascular Endothelial Growth Factor
  4. Fms-Related Tyrosine Kinase 1

در توسعه عروق جنینی و تنظیم آنژیوژنز و مهاجرت سلول‌ها و عملکرد ماکروفاژها نقش حیاتی دارد. افزون‌براین، در ارتقای تکثیر سلول‌های اندوتلیالی و بقا و آنژیوژنز مؤثر است. همچنین، ممکن است به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی پیام‌رسانی VEGF، با پیوند خوردن به آدنوزین باعث مهار آنژیوژنز شود (۷).

کلاژن<sup>۱۸</sup> (COL-18) مهم‌ترین پروتئین ماتریکس خارج سلولی است که پیش‌ساز قوی اندوستاتین<sup>۲</sup> می‌باشد. از سوی دیگر، اندوستاتین به‌عنوان قوی‌ترین بازدارنده آنژیوژنز، باعث کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های اندوتلیالی می‌شود. این ترکیب با مهار رشد سلول‌های اندوتلیالی، سبب مهار رگ‌زایی می‌شود (۸). اندوستاتین دارای حجمی به‌اندازه ۲۰ کیلو دالتون است که توسط بافت‌های گوناگونی در بدن تولید می‌شود. اندوستاتین به گیرنده‌های عامل آنژیوژنیک VEGF پیوند می‌خورد و مانع از عملکرد آن‌ها می‌شود و مانع از تکثیر سلول‌های اندوتلیالی می‌شود. همچنین، اندوستاتین مانع از تخریب غشای پایه مویرگ می‌شود که در نهایت مانع از مهاجرت سلول‌های اندوتلیالی می‌گردد. در عمل، اندوستاتین با ممانعت از تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیالی مانع رشد شبکه مویرگی می‌شود. نقش اصلی اندوستاتین، فعال‌سازی پیام‌های درون سلولی است که عمدتاً با پیام‌های VEGF برای تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیالی مخالفت می‌کند. اندوستاتین در ناحیه غشای پایه مویرگ‌ها و تحت‌تأثیر آنزیم‌های گوناگون از جمله الاستاز و متالوپروتئیناز ماتریکس<sup>۳</sup> (MMPها) ترشح می‌شود و با افزایش مقادیر MMP باعث افزایش اندوستاتین می‌شود (۷).

امروزه، به آنژیوژنز به‌عنوان سازوکاری سازشی توجه شده است که تحت‌تأثیر عوامل گوناگونی تشدید یا سرکوب می‌شود. نقش فعالیت بدنی منظم در سلامتی به‌خوبی اثبات شده است؛ ولی اغلب مردم از راهکار مشارکت در فعالیت بدنی منظم پیروی نمی‌کنند که به‌نظر می‌رسد دلیل اصلی شرکت نکردن منظم در فعالیت بدنی، کمبود وقت باشد. به‌تازگی، تمرین تناوبی شدید<sup>۴</sup> (HIIT) با حداقل صرف زمان، برای غلبه بر مشکل فرصت شرکت در ورزش و در نتیجه، افزایش فعالیت بدنی و میزان سلامت این افراد توصیه شده است. این تمرین محرکی قوی برای سازگاری‌های قلبی-عروقی و عضلانی است و باعث افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی، متابولیسم، افزایش عملکرد ورزشی، کاهش استفاده از کربوهیدرات و اتکا به چربی، بهتر شدن عملکرد انسولین، کاهش فشارخون می‌شود و همچنین، در بیماران قلبی و پرفشارخونی باعث بهتر شدن آمادگی قلبی-عروقی می‌شود. به‌تازگی، به شیوه‌ای تمرینی در ایجاد آنژیوژنز قلبی نیز توجه شده است. در زمینه تأثیر فعالیت‌های

- 
1. Collagen18
  2. Endostatin
  3. Matrix Metallo Proteinase
  4. High Intensity Interval Training

استقامتی و مقاومتی بر فرایند آنژیوژنز، قبلاً مطالعات گسترده‌ای انجام شده‌اند که اغلب آن‌ها به تأثیر مثبت فعالیت‌های استقامتی بر آنژیوژنز اشاره دارند. درزمینه تأثیر تمرین مقاومتی، نتایج متناقض‌ترند (۹، ۱۰).

دراین‌بین، به تمرین تناوبی شدید و تأثیر آن بر فرایند آنژیوژنز کمتر توجه شده است و به‌نظر می‌رسد که تنها یک پژوهش تأثیر این شیوه تمرینی بر عوامل آنژیوژنی و آنژیواستاتیکی را بررسی کرده است که در آن پژوهش نیز عوامل محرک، عوامل بازدارنده و گیرنده‌های مؤثر در این فرایند هم‌زمان و نیز سازوکار احتمالی تأثیرگذاری تمرین تناوبی شدید بر آنژیوژنز یک‌جا بررسی نشده‌اند (۱۱)؛ اما مطالعاتی در سایر متغیرهای پژوهش درباره تمرین تناوبی شدید گزارش شده‌اند و نوعاً یادآوری شده‌اند.

درزمینه HIIT گزارش شده است که هنگام HIIT هایپوکسی ایجاد می‌شود و این هایپوکسی می‌تواند موجب افزایش سطوح میوگلوبین نیز شود (۱۲). ترویجنس<sup>۱</sup> و همکاران (۱۳) نیز در پژوهش خود ایجاد هایپوکسی را به‌هنگام HIIT گزارش کرده‌اند. پادیللا<sup>۲</sup> و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۰۸ به بررسی تأثیر HIIT پرداختند و ارتباط مثبت و معناداری را بین HIIT و تنش برشی گزارش دادند. بورگومستر<sup>۳</sup> و همکاران (۱۵) بیان می‌کنند که تمرین‌های HIIT می‌توانند سازگاری‌های عضلانی به‌ویژه کاهش تخریب کراتین فسفات و افزایش گلیکوژن را به‌همراه داشته باشند. در این رابطه، روداس<sup>۴</sup> و همکاران (۱۶) نیز بهبود عملکرد آنزیم‌های گلیکولیتیک را در نتیجه انجام HIIT گزارش داده‌اند. ظرفیت بافری عضلات نیز می‌تواند در نتیجه HIIT بهبود یابد (۱۷) و همچنین، HIIT باعث بهبود تنظیم یونی می‌شود (۱۵). از اتساع‌کننده‌های عروقی می‌توان به نیتریک اکساید<sup>۵</sup> (NO)، پروستانوئیدها و آدنوزین اشاره کرد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تمرین‌های HIIT باعث افزایش NO در عضله قلبی بیماران قلبی می‌شود (۱۸). همچنین، این تمرین‌ها می‌توانند موجب افزایش سطوح هورمون‌های آنابولیک، از قبیل هورمون رشد<sup>۶</sup> (GH) و فاکتور رشد شبه‌انسولینی - یک<sup>۷</sup> (IGF-1) در مدت زمان کوتاهی شوند (۱۹). در پژوهشی درزمینه سازگاری‌های متابولیک عضله با HIIT، به افزایش میزان آدنوزین اشاره شده است (۲۰). بوچان<sup>۸</sup> و همکاران (۲۱) در پژوهش خود بیان کردند که اجرای هفت

- 
1. Truijens
  2. Padilla
  3. Burgomaster
  4. Rodas
  5. Nitric Oxide
  6. Growth Hormone
  7. Insulin-like Growth Factors I
  8. Buchan

هفته HIIT در نوجوانان غیرچاق، در مقادیر CrP تغییر معناداری ایجاد نمی‌کند. دونوان<sup>۱</sup> و همکاران (۲۲) در پژوهشی جداگانه بیان کردند که ۲۴ هفته تمرین با شدت متوسط و شدید، مقدار فیبرینوژن را در هر دو گروه تمرینی در حد مطلوبی تغییر می‌دهد و این تغییرات در عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی و عروقی از قبیل فیبرینوژن، تحت‌تأثیر شدت تمرین قرار می‌گیرند. مکانیسم تأثیر کشش بر فرایند آنژیوژنز به نقش MMPها مرتبط است. در این زمینه نتایج متناقضی ارائه شده است. نظری و همکاران (۲۳) در پژوهش خود گزارش کردند که هنگام انجام تمرین‌های HIIT، عضلات در طولی بلندتر از طول استراحتی قرار می‌گیرند و این کشش می‌تواند سطوح MMP را افزایش دهد. در مقابل، دانزینگ<sup>۲</sup> و همکاران (۲۴) به تغییر نکردن MMPها در پاسخ به تمرین با شدت بالا اشاره کردند. با توجه به مطالب ارائه شده درباره عوامل مؤثر در عروقی شدن عضلات اسکلتی و قلبی هنگام فعالیت ورزشی که عبارت‌اند از: هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها، اتساع‌کننده‌های عروقی، سایتوکاین‌ها و انواع کشش و نیز نتایج پژوهش‌های گذشته مبنی بر ارتباط مثبت و معنادار بین تمرین تناوبی شدید و این عوامل، مشخص می‌شود که تمرین تناوبی شدید در بسیاری از موارد باعث دگرگونی‌های مثبتی در متغیرهای فیزیولوژیک می‌شود که هر کدام به نوعی می‌توانند در سلامتی انسان مؤثر باشند؛ اما اینکه به کارگیری تمرین تناوبی شدید باعث تغییرات اصلی مؤثر در آنژیوژنز می‌شود، پرسشی است که این پژوهش می‌کوشد بدان پاسخ دهد؛ بدین صورت که آیا تمرین تناوبی شدید باعث رگ‌زایی در بیماران مبتلا به سکته قلبی می‌شود و می‌تواند VEGF را گسترش و COL-18 (به‌عنوان پیش‌ساز آندوستاتین) را مهار کند؟

### روش پژوهش

در این پژوهش توسعه‌ای، ۱۲ سر رت نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای مبتلا به آنفارکتوس میوکارد، به صورت تصادفی به دو گروه شش‌تایی کنترل و تجربی تقسیم شدند. رت‌ها در قفس‌هایی مجزا با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی، با توجه به اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی<sup>۳</sup> و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگهداری شدند. در ادامه، رت‌ها عمل جراحی شدند و شریان کرونری نزولی سمت چپ<sup>۴</sup> (LAD) آن‌ها مسدود شد و بدین ترتیب، رت‌ها به آنفارکتوس میوکارد شدید مبتلا شدند (۲۵). برای اطمینان از مبتلا شدن به MI، رت‌ها به صورت بی‌هوش با دستگاه اکوکاردیوگرافی (با

- 
1. Donovan
  2. Danzig
  3. NIH-Publication
  4. Left Artery Descending

مارک جی.ای. هلس کر<sup>۱</sup> ساخت کشور آمریکا) اکوکاردیوگرافی داپلر شدند. طی این فرایند، کسر کوتاه‌شدگی بطن چپ<sup>۲</sup> (FS) به صورت نسبی اندازه‌گیری شد. رت‌هایی که میزان  $FS \leq 35$  درصد بود، به‌عنوان رت‌های مبتلابه MI برای این مطالعه انتخاب شدند (۲۵). سپس، رت‌ها به مدت دو هفته دوره باز یافت بعد از جراحی باز قلب را طی کردند. در هفته‌های سوم و چهارم، رت‌ها با تردمیل (با مارک دانش‌سالار ایرانیان ساخت کشور ایران) با راه رفتن آرام روی آن با سرعت پنج متر در دقیقه و به مدت پنج دقیقه در روز و چهار روز در هفته آشنا شدند. در این مرحله، تمامی رت‌ها قادر به انجام فعالیت بودند و هیچ‌گونه تلفاتی نداشتند. در پایان هفته چهارم،  $VO_{2max}$  رت‌ها توسط آزمون فعالیت ورزشی بیشینه، مطابق با فرمول و جدول مندرج در پژوهش‌های مورتن<sup>۳</sup> و همکاران (۲۶) و ویسloff<sup>۴</sup> و همکاران (۲۷) و برای برآورد سرعت اولیه دویدن رت‌ها اندازه‌گیری شدند.

سرعت دویدن هر رت روی تردمیل با توجه به حداکثر اکسیژن مصرفی آن، به صورت انفرادی محاسبه شد. پس از آن، رت‌ها به مدت دو روز استراحت کردند. در نهایت، رت‌های زنده‌مانده مبتلابه MI تصادفی، به دو گروه تمرین تناوبی شدید و کنترل<sup>۵</sup> (CTRL) تفکیک شدند و پروتکل تمرینی اجرا شد.

رت‌های گروه تجربی در تمرین تناوبی شدید (به‌عنوان تمرین روز دنیا که تأثیر آن بر متغیرهای مورد نظر در این پژوهش کمتر بررسی شده است)، چهار روز در هفته، به مدت شش هفته و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه به صورت دویدن متناوب روی تردمیل فعالیت کردند. هر تناوب کاری شامل چهار دقیقه دویدن با شدت ۸۵-۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و دو دقیقه باز یافت فعال با شدت ۶۰-۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۲۸). قبل از شروع مرحله اصلی تمرین، رت‌ها به مدت هشت دقیقه با سرعت پنج متر در دقیقه، روی تردمیل به شکل راه رفتن در برنامه گرم کردن فعالیت می‌کردند. در مقابل، رت‌های گروه کنترل (مبتلابه آنفارکتوس میوکارد) هیچ تمرینی انجام ندادند (۲۸).

پس از گذشت شش هفته و سرانجام، پس از دو روز استراحت، رت‌های باقی‌مانده برای اکوکاردیوگرافی، مجدداً بی‌هوش شدند و نمونه‌برداری از بافت عضلانی قلب در ناحیه مبتلا به MI، برای اندازه‌گیری مقادیر RNA ژن‌های VEGF و COL-18 به‌عنوان پیش‌ساز قوی اندوستاتین و نیز گیرنده مشترک آن‌ها Flt-1 انجام شد (نتایج اکوکاردیوگرافی گروه‌های کنترل و تمرین در جدول شماره یک ارائه شده

- 
1. GE Health Care
  2. Shortening Fraction
  3. Morten
  4. Wisloff
  5. Control

است). نمونه‌ها پس از فریز به آزمایشگاه ژنتیک انتقال داده شدند و در آنجا اندازه‌گیری عوامل ذکر شده به روش ریل تایم پی.سی.ار<sup>۱</sup> و طی مراحل زیر انجام شد:

- تهیه نمونه‌های VEGF، COL-18 و Flt-1؛
- استخراج RNA نمونه‌ها؛
- بررسی جذب نوری نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر؛
- سنتر DNA حلقوی از روی RNA؛
- انجام واکنش ریل تایم پی.سی.ار؛
- بررسی میزان بیان ژن‌های VEGF، COL-18 و Flt-1 در نمونه‌های گروه تجربی و گروه کنترل (توسط کیت آزمایشگاهی با مارک بیونر<sup>۲</sup> ساخت کشور کره و دستگاه ریل تایم پی.سی.ار با مارک استپ وان آبی.آی<sup>۳</sup> ساخت کشور آمریکا و پرایمر با مارک ممرت<sup>۴</sup> ساخت کشور آلمان).

جدول ۱- تغییرات کسر تزریقی و کسر کوتاه‌شدگی (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) در گروه‌ها

متغیر و گروه	زمان اکوکاردیوگرافی	کسر تزریقی (درصد)	کسر کوتاه‌شدگی (درصد)
گروه تجربی HIIT	یک هفته پس از جراحی	۵۹/۵۶۸ $\pm$ ۵/۰۹۵	۲۷/۴۲۱ $\pm$ ۳/۱۲۰
	۱۰ هفته پس از جراحی	۷۷/۴۶۱ $\pm$ ۷/۰۲۲	۴۱/۶۲۵ $\pm$ ۴/۸۴۷
گروه کنترل	یک هفته پس از جراحی	۵۵/۸۵۰ $\pm$ ۱۳/۷۵۸	۲۵/۶۴۳ $\pm$ ۷/۹۶۶
	۱۰ هفته پس از جراحی	۶۴/۴۸۳ $\pm$ ۳/۶۹۵	۳۱/۳۲۰ $\pm$ ۳/۴۶۰

داده‌های آماری جمع‌آوری شده به کمک نرم‌افزار آماری اس.پی.اس.اس. نسخه<sup>۵</sup> ۱۸ تجزیه و تحلیل شدند. برای تعیین طبیعی بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف<sup>۶</sup> استفاده شد که به دلیل طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون آماری تی مستقل در سطح معناداری ۰/۰۵ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

## نتایج

آمار توصیفی و نتایج آزمون تی مستقل مربوط به آزمودنی‌ها، در جدول شماره دو آورده شده‌اند.

1. Real time PCR
2. Biooneer
3. Step One ABI
4. Memmert
5. SPSS18
6. Kolmogorov-Smirnov Test

توزیع داده‌های هر دو گروه در تمام متغیرها طبیعی است؛ بنابراین، پیش شرط استفاده از آزمون‌های پارامتری برای همه متغیرهای پژوهش برقرار است.

نتایج آزمون لون<sup>۱</sup> COL-18 نشان می‌دهد که واریانس جوامع مورد مطالعه برابر نیست ( $P = 0.031$ )؛ بنابراین، از آزمون تی برای بررسی فرضیه پژوهش استفاده شد. نتایج آزمون تی مستقل نشان می‌دهد که مقادیر شاخص COL-18 در گروه HIIT بیشتر از گروه کنترل است؛ ولی این تفاوت از نظر آماری معنادار نیست ( $P = 0.340$ ) (جدول شماره دو).

نتایج آزمون لون شاخص Flt-1 نشان می‌دهد که واریانس جوامع مورد مطالعه برابر نیست ( $P = 0.002$ )؛ بنابراین، از آزمون تی برای بررسی فرضیه پژوهش استفاده شد. نتایج آزمون تی مستقل نشان می‌دهد که بین دو گروه کنترل و HIIT، در شاخص Flt1 تفاوت معناداری وجود دارد ( $P \leq 0.001$ ) و مقادیر شاخص Flt1 در گروه تجربی HIIT بیشتر از کنترل هستند (جدول شماره دو).

نتایج آزمون لون شاخص VEGF نشان می‌دهد که واریانس جوامع مورد مطالعه برابر نیست ( $P = 0.005$ )؛ بنابراین، از آزمون تی برای بررسی فرضیه پژوهش استفاده شد. نتایج آزمون تی مستقل نشان می‌دهد که بین دو گروه کنترل و HIIT، در شاخص VEGF تفاوت معناداری وجود دارد ( $P \leq 0.001$ ) و مقادیر شاخص VEGF در گروه تجربی HIIT بیشتر از گروه کنترل هستند (جدول شماره دو).

جدول ۲- آمار توصیفی و نتایج آماری آزمون لون و تی مستقل مربوط به گروه‌های تجربی تمرین تناوبی شدید و کنترل در شاخص‌های COL-18، Flt-1 و VEGF

شاخص	گروه	تعداد	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف استاندارد	سطح معناداری*	
							آزمون لون	آزمون تی مستقل
COL-18	گروه کنترل	۶	۰/۵۵	۲/۵۲	۱/۲۶۵	۰/۹۷۷	۰/۰۳۱	۰/۳۴۰
	گروه تجربی (HIIT)	۶	۱/۲۳	۲/۳۶	۱/۷۲۴	۰/۵۱۸		
Flt-1	گروه کنترل	۶	۰/۹۷	۲/۱۰	۱/۳۸۰	۰/۵۶۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
	گروه تجربی (HIIT)	۶	۶/۵۳	۱۰/۳۱	۸/۹۲۷	۱/۸۶۳		
VEGF	گروه کنترل	۶	۰/۹۱	۱/۰۷	۱/۰۰۲	۰/۰۷۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱
	گروه تجربی (HIIT)	۶	۵/۰۶	۷/۹۱	۶/۳۹۷	۱/۲۸۰		

\* معناداری آماری

### 1. Levene's Test



## بحث و نتیجه‌گیری

در مجموع، با توجه به نتایج پژوهش می‌توان بیان کرد که شش هفته تمرین تناوبی شدید باعث افزایش فرایند آنژیوژنز در رت‌های مبتلابه آنفارکتوس میوکارد می‌شود. نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از تنها پژوهش یافت‌شده در زمینه تأثیر HIIT بر آنژیوژنز که هولووای<sup>۱</sup> و همکاران (۱۱) انجام داده بودند و به مقایسه HIIT و تمرین استقامتی در نشانه‌های ناتوانی قلبی و تغییر ساختار عضله قلبی در رت‌ها پرداخته بودند، متناقض بود. در پژوهش آن‌ها، VEGF بررسی شده بود و نتایج حاکی از تأثیر معنادار نداشتن HIIT بر فرایند آنژیوژنز بود. علت تناقض در نتایج می‌تواند ناشی از سنجش فاکتورهای متفاوت یا تفاوت در پروتکل تمرین بوده باشد. به نظر می‌رسد که تمرین تناوبی شدید باعث القای عوامل مؤثر در بیان ژن‌های VEGF و گیرنده آن، یعنی Flt-1 شده است و بدین وسیله آنژیوژنز را تحریک کرده است. احتمالاً تمرین تناوبی شدید با ایجاد هیپوکسی، رگ‌زایی را فعال می‌کند. فاکتور القاشونده با هیپوکسی در شرایط هایپوکسی هیدروکسیله نشده و پایدار مانده است و به هسته مهاجرت کرده و باعث القای فاکتورهای مؤثر در رگ‌زایی شده است (۲۹). احتمالاً هیپوکسی ناشی از تمرین تناوبی شدید (۱۹) باعث آزادسازی سیتوکاین‌ها شده است که با ورود به سلول‌های آندوتلیال به زنجیره عروقی رگ‌زایی توسط فاکتور ریلکس-کننده مشتق از آندوتلیال یا نیتریک اکساید که توسط بیش‌تنظیمی فاکتور رشد فیبروبلاستی - دو<sup>۲</sup> (FGF-2) تحریک می‌شود، وارد شده است. همچنین، افزایش فوری تنش برشی ناشی از تمرین‌های تناوبی شدید، از طریق فعال‌سازی کانال‌های یونی به‌ویژه کانال‌های پتاسیمی موجب ترشح اتساع‌کننده‌های عروقی از قبیل نیتریک اکساید شده است (۳۰). از سوی دیگر، در اثر تمرین تناوبی شدید، نیتریک اکساید توسط ال-ارژنین در مراحل اولیه آنژیوژنز سنتز شده است و باعث تنظیم افزایشی VEGF و VEGFR-2 گردیده است. افزایش سازگاری‌های عضلانی در اثر تمرین تناوبی شدید به‌ویژه کاهش تخریب کراتین فسفات و افزایش گلیکوژن و همچنین، افزایش هورمون‌های آنابولیک و آدنوزین نیز می‌توانند دیگر محرک بیان ژن VEGF باشند (۳۱)؛ در نتیجه، به نظر می‌رسد که تمرین‌های تناوبی شدید باعث دفسفریله شدن AMP به وسیله اکتو-۵ نوکلئوتیداز<sup>۳</sup>، و تولید آدنوزین تولید شده باشد. آدنوزین نقش مهمی در روند آنژیوژنز دارد. احتمالاً آدنوزین خارج سلولی ایجادشده در اثر تمرین تناوبی شدید، گیرنده‌های آدنوزین را فعال کرده است و به دنبال آن، از سلول پارانشیم،

- 
1. Holloway
  2. Fibroblast Growth Factor
  3. NT, 5'-Ribonucleoside Phosphohydrolase-5

VEGF آزاد شده است (۳۲). VEGF با اتصال به گیرنده خود در سطح سلول‌های اندوتلیال موجب تکثیر و مهاجرت این سلول‌ها شده است. همچنین، آدنوزین می‌تواند به واسطه تنظیم فاکتورهای رشد پرو و آنتی آنژیوژنیک دیگر، باعث تحریک تکثیر سلول‌های اندوتلیوم عروقی شود یا اینکه با ایجاد وازودیلاسیون، در توسعه و بازسازی رگ‌های جدید مؤثر باشد. شواهد نشان می‌دهند که در بعضی شرایط، آدنوزین ممکن است به‌عنوان واسطه برای ۵۰ تا ۷۰ درصد از آنژیوژنز القاشده توسط هیپوکسی، ضروری باشد (۳۰). کشش حاصل از تمرین‌های تناوبی شدید نیز عضلات را در طولی بلندتر از طول استراحتی قرار می‌دهد و این کشش مقادیر MMP را افزایش می‌دهد (۲۳). متالوپروتئازها از سلول‌های اندوتلیال ترشح شده‌اند و غشای پایه را در منطقه ذکر شده، از طریق ورود کلسیم به داخل سلول، دپلاریزاسیون آن، فعال شدن کانال پتاسیمی وابسته به ولتاژ، ورود کلسیم به داخل سلول و هایپرپلاریزه شدن سلول تجزیه کرده‌اند و سلول‌های اندوتلیال به مهاجرت و تکثیر اقدام کرده‌اند (۳۳).

**پیام مقاله:** به‌طور کلی، نتایج این پژوهش از نقش تمرین‌های تناوبی شدید در افزایش فاکتورهای اساسی مؤثر در فرایند آنژیوژنز پس از وقوع آنفارکتوس حمایت می‌کند. پروتکل تمرینی استفاده شده در این پژوهش -۶۰ دقیقه دویدن تناوبی شدید روی تردمیل با شدت ۸۵-۹۰ درصد VO2max و چهار روز در هفته و به‌مدت شش هفته- توانسته است در افزایش عوامل مؤثر در آنژیوژنز قلبی مؤثر بوده باشد. با توجه به نتایج این پژوهش، به بیماران مبتلا به آنفارکتوس میوکارد پیشنهاد می‌شود بعد از دوره نقاهت، از تمرین‌های تناوبی شدید به‌مدت حداقل شش هفته و پنج روز در هفته برای ارتقای سطح زندگی و بهبود عملکرد سیستم قلب و عروق خود بهره گیرند.

## منابع

1. Nordlie MA, Wold LE, Kloner RA. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;39(4):667-79.
2. Fukuda S, Kaga S, Sasaki H, Zhan L, Zhu L, Otani H, et al. Angiogenic signal triggered by ischemic stress induces myocardial repair in rat during chronic infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36:547-59.
3. Nourshahi M, Taheri Chadorneshin H, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *J HMS.* 2013;5:286-96.
4. Gavin TP, Stallings HW, Zwetsloot KA, Westerkamp LM, Ryan NA, Moore RA, et al. Lower capillary density but no difference in VEGF expression in obese v.s. lean young skeletal muscle in humans. *J Appl Physiol* 2005;98(5):315-23.
5. Prior BM, Yang HT, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol.* 2004;97:1119-28.
6. Bates DO. Vascular endothelial growth factors and vascular permeability. *Cardiovasc Res.* 2010;87:262-71.

7. Mooren F, Völker K. Molecular and cellular exercise physiology. *Human Kinetics*. 2004;451-7.
8. Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev*. 2004;79(4):1283-316.
9. Van Hinsbergh VWM, Koolwijk P. Endothelial sprouting and angiogenesis matrix metalloproteinases in the lead. *Cardiovasc Res*. 2008;78:203-12.
10. Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol*. 2004;4(2):1-6.
11. Holloway TM, Bloemberg D, da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. *PLoS One* 2015;10(3): 121-38.
12. Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for high-intensity interval training optimizing training programmes and maximizing performance in highly trained endurance athletes. *Sports Med*. 2002;32:53-73.
13. Truijens MJ, Toussaint HM, Dow J, Levine BD. Effect of high-intensity hypoxic training on sea-level swimming performances. *J Appl Physiol*. 2002;94(2):733-43.
14. Padilla J, Harris RA, Rink LD, Wallace PJ. Characterization of the brachial artery shear stress following walking exercise. *Vasc Med*. 2008;13:105-11.
15. Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, MacDonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol*. 2008;586: 151-60.
16. Rodas G, Ventura JL, Cadefau JA, Cusso R, Parra J. A short training programme for the rapid improvement of both aerobic and anaerobic metabolism. *Eur J Appl Physiol*. 2000;82:480-6.
17. Edge J, Bishop D, Hill-Haas S, Dawson B, Goodman C. Comparison of muscle buffer capacity and repeated sprint ability of untrained, endurance-trained and team-sport athletes. *Eur J Appl Physiol*. 2006;96:225-34.
18. Kassia S Weston, Ulrik Wisløff, Jeff S Coombes. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: A systematic review and meta-analysis. *Sports Med*. 2014;48:1227-34.
19. Hamzeh Zadeh Brojeni A, Nazar Ali P, Naghibi S. The effect of high intensity interval training (HIIT) on aerobic and anaerobic some indicators of iranian women's national teams of basketball players. *Sport Bio*. 2012; 5(4):35-48. (In Persian).
20. Martin J, Gibala MG, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: A little pain for a lot of gain? *Exerc Sport Sci*. 2008;36(2):58-63.
21. Buchan DS, Ollis S, Young JD, Thomas NE, Cooper SM, Tong TK, et al. The effects of time and intensity of exercise on novel and established markers of CVD in adolescent youth. *Am J Hum Biol*. 2011 Jul-Aug;23(4):517-26.
22. O'Donovan G, Owen A, Bird SR, Kearney EM, Nevill AM, Jones DW, et al. Changes in cardiorespiratory fitness and coronary heart disease risk factors following 24 weeks of moderate- or high-intensity exercise of equal energy cost. *J Appl Physiol*. 2005;98:1619-25.

23. Nazari M, Kordi MR, Choobineh S. The effect of high intensity interval training (HIIT) on Gelatinase-A (MMP-2) serum levels and muscle damage indices in young sedentary. *J AMS*. 2015;18(94):78-86. (In Persian).
24. Danzig V, Mikova B, Kuchynka P, Benakova H, Zima T, Kittnar O, et al. Levels of circulating biomarkers at rest and after exercise in coronary artery disease patients. *Physiol Res*. 2010;59(3):385-92.
25. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, Ljubkovic M. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. *Cardiovasc Res*. 2013;99(1):55-64.
26. Morten A, Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14(6):753-60.
27. Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO<sub>2</sub> max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;280(3):301-10.
28. Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisløff U, et al. Moderate vs. high exercise intensity: Differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovasc Res*. 2005;67(1):161-72.
29. Milkiewicz M, Brown MD, Egginton S, Hudlicka O. Association between shear stress, angiogenesis, and VEGF in skeletal muscles in Vivo. *Microcirculation*. 2001;8:229-41.
30. Koos BJ, Adenosine A. A receptors and O<sub>2</sub> sensing in development. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011;30(1):601-22.
31. Hudlicka O, Brown MD. Adaptation of skeletal muscle microvasculature to increased or decreased blood flow role of shear stress nitric oxide and vascular endothelial growth factor. *J Vasc Res*. 2009;46:504-12.
32. Ribatti D, Crivellato E. Mast cells, angiogenesis, and tumor growth. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1822(1):2-8.
33. Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process. *Curr Mol Med*. 2003;3(7):643-51.

### ارجاع‌دهی

کربلایی فر سارا، گایینی عباسعلی، کردی محمدرضا، نوری رضا، قربانی پدram. تأثیر شش هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر عوامل منتخب آنژیوژنز قلبی در رت‌های مبتلابه آنفارکتوس میوکارد. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۲): ۱۷-۳۰. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2019.2676.1359

Karbalaeifar S, Gaeini A. A, Kordi M. R, Nuri R, Ghorbani P. Effect of 6 Weeks High Intensity Interval Training on Selected Factors of Cardiac Angiogenesis in Rats with Myocardial Infarction. Sport Physiology. Summer 2019; 11(42): 17-30. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2019.2676.1359

## **Effect of 6 Weeks High Intensity Interval Training on Selected Factors of Cardiac Angiogenesis in Rats with Myocardial Infarction**

**S. Karbalaefar<sup>1</sup>, A. A. Gaeini<sup>2</sup>, M. R. Kordi<sup>3</sup>, R. Nuri<sup>4</sup>, P. Ghorbani<sup>5</sup>**

1,5. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Tehran University, Kish International Campus, Kish, Iran

2. Professor of Exercise Physiology, Tehran University, Tehran, Iran\*

3. Associate Professor of Exercise Physiology, Tehran University, Tehran, Iran

4. Assistant Professor of Exercise Physiology, Tehran University, Kish International Campus, Kish, Iran

**Received: 2016/06/17**

**Accepted: 2016/11/06**

---

---

### **Abstract**

Myocardial infarction (MI) is cell death in part of the myocardial during an Ischemia. Cell process in response to activity and appropriate intensity is not clear yet. Therefore, this research done to evaluate the effect of 6 weeks high intensity interval training (HIIT) on expression of VEGF, COL-18 and their common receptor (Flt-1) genes. For this purpose, 12 Wistar male rats with 10 weeks old and average weight 250-300 gr that infected to myocardial infarction and they were designed in to two groups of experimental (60 minutes of interval running on treadmills that each interval is 4 minutes with the 85-90 percent of Vo<sub>2</sub>max and 2 minutes of active rest at 50-60 percent of Vo<sub>2</sub>max for four days in a week and during a period of 6 weeks) and control group (without any training) . Genes expression was investigated by the PCR technique and data were analyzed by the SPSS 18 with T test ( $\alpha \leq 0.05$ ). The findings of present study showed that the amount of VEGF in HIIT (6.397 mg/ml) is significantly much more than the control group (1.002 mg/ml) ( $P=0.001$ ) and the amount of Flt-1 in HIIT group (8.927 mg/ml) was also significantly much more than control group (1.380 mg/ml) ( $P \leq 0.001$ ) . and the amount of COL-18 in HIIT group (1.724 mg/ml) was not significantly more than control group (1.265 mg/ml) ( $P \leq 0.340$ ). In general, 6 weeks of HIIT can effective on angiogenesis factors after MI in male Wistar rats.

**Keywords:** Angiogenesis, Myocardial Infarction, High Intensity Interval Training

---

---

\* Corresponding Author

Email: aagaeini@yahoo.com