University of Tehran
Faculty of
Sport Sciences and Health

Journal of Sport Biosciences

Online ISSN: 2676-4148

# The Effect of Selected Training Methods on the Gene Expression of ANG-1 and ANG-2 in Subcutaneous Adipose Tissue of Male Wistar Rats

**Alireza Fatahian[1]✉, Mohammad Shariatzadeh Joneydi[2], Majid Gholipour[3], Saeid Naghibi[4]**

1. Corresponding Author, Department of Sports Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: alireza.fatahian@ut.ac.ir
2. Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran. E-mail:shariatzade@ssrc.ac.ir
3. Department of Sports Physiology, Sharif University of Technology, Tehran, Iran. E-mail: gholipour@sharif.edu
4. Department of Sports Physiology, Payame Noor University, Karaj, Alborz, Iran. E-mail: sdnaghibi@pnu.ac.ir

## Article Info

**Article type:**

Research Article

**Article history:**
Received:
31 January 2022
Received in revised form:
15 August 2022
Accepted:
22 August 2022
Published online:
22 September 2022

**Keywords**:
*Angiopoietin-1*
*Angiopoietin-2*
*continuous training*
*interval training*
*subcutaneous fat*

## ABSTRACT

**Introduction:** One of the most important influential factors in the process of human physiological adaptations is angiogenesis; which helps to repair and grow body tissues by continuously creating blood vessels through angiopoietin activity. In the present study, we investigated the effect of three methods of moderate-intensity continuous, high-intensity continuous, and high-intensity intermittent training on the angiopoietin-1 and angiopoietin-2 genes expression in the subcutaneous fat tissue of male Wistar rats.

**Methods:** For this purpose, 32 male Wistar rats with an average weight of 236.3±34.5 grams and age of 8 weeks were randomly divided into four groups of intense intermittent running aerobic training (including four intense intervals with an intensity of 90% to 100% of VO2max and four low-intensity intervals at 50% to 60% of VO2max in a total time of 38 minutes), moderate-intensity continuous running aerobic training (including running at 65% of VO2max in a total time of 47 minutes), high intensity continuous running aerobic training (including running at 65% of VO2max in a total time of 40 minutes with an incremental incline of the treadmill with a 2% of incline every two weeks), and Control. Twenty-four hours after the last training session, after complete anesthesia, subcutaneous fat tissue samplings of the abdomen were done. The gene expression levels of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in subcutaneous fat tissue were measured by the RT-PCR method. Due to the non-normal distribution of data in some groups, Kruskal-Wallis statistical method was used.

**Results**: The results showed that the angiopoietin-1 gene expression increased in all three training groups compared with the control group, which was significant in the moderate-intensity continuous group. Also, the angiopoietin-2 expression increased in all three groups compared with the control group, which was significant in the high-intensity continuous group.

**Conclusion:** In general, continuous training seems to have a positive effect on the increase of angiopoietin-1 and -2 expression in subcutaneous fat tissue.

**Cite this article:** Fatahian, A; Shariatzadeh Joneydi, M; Gholipour, M; & Naghibi, S. (2022). The Effect of Selected Training Methods on the Expression of ANG1 and ANG2 Genes in Subcutaneous Adipose Tissue of Male Wistar Rats. *Journal of Sport Biosciences*, 14 (2),227-240.
DOI: http//doi.org/ 10.22059/JSB.2022.338290.1509

© The Author(s)
Publisher: University of Tehran, Faculty of Sport Sciences and Health.

University of Tehran
Faculty of
Sport Sciences and Health

Journal of Sport Biosciences

Online ISSN: 2676-4148

# Extended Abstract

## Introduction

One of the most important biological activities in the human body is the delivery of nutrients and oxygen to different tissues and organs of the body, which is carried out through the blood. The activities that lead to the formation of new vessels and the repair of damaged vessels are called angiogenesis. Angiogenesis is a process in which new vessels are multiplied and this process continues in all stages of human life with different intensities. The first signs of this operation are seen in the second week of the embryo, which begins in a process called vasculogenesis, the process of embryonic formation of endothelial cells from mesoderm cell precursors and vascular areas. After this stage, angiogenesis begins, which is responsible for the expansion and development of blood vessels in all physiological activities. Factors affecting the activity of angiogenesis are known as angiopoietins, which participate in this activity by applying different mechanisms of action. Angiopoietin signaling is directly related to angiogenesis. Angiogenesis occurs through sprouting, migration of endothelial cells, proliferation, and in some cases destabilization of vessels. They are responsible for separating the endothelial wall of blood vessels. Angiopoietins are involved in signaling to perivascular smooth muscle cells, controlling vascular permeability, angiogenesis, and vasoconstriction. At present, four proteins of angiopoietins have been identified, which are: ANG1, ANG2, ANG3, and ANG4. They act on the tyrosine kinase receptors, TIE1 and TIE2. ANG1 acts through the TIE2 receptor, while ANG2 acts as an antagonist and may have different effects. The reason for this conflict can be found in the ability to form bonds, ANG1 can be tri, tetra, or penta; to form higher order multimer and this factor increases the binding strength in action with receptors. Considering the great impact of angiopoietins on the physiological activities of body tissues, knowing the various factors affecting them in this field can play an important role in improving human physical health.

## Methods

For this purpose, 32 male Wistar rats with an average weight of 236.3±34.5 grams and age of 8 weeks were randomly divided into four groups of intense intermittent running aerobic training (including four intense intervals with an intensity of 90% to 100% of VO2max and four low-intensity intervals at 50% to 60% of VO2max in a total time of 38 minutes), moderate-intensity continuous running aerobic training (including running at 65% of VO2max in a total time of 47 minutes), high intensity continuous running aerobic training (including running at 65% of VO2max in a total time of 40 minutes with an incremental incline of the treadmill with a 2% of incline every two weeks), and Control. Twenty-four hours after the last training session, after complete anesthesia, subcutaneous fat tissue samplings of the abdomen were done. The gene expression levels of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in subcutaneous fat tissue were measured by the RT-PCR method. Due to the non-normal distribution of data in some groups, Kruskal-Wallis statistical method was used.

## Results

The results showed that the angiopoietin-1 gene expression increased in all three training groups compared with the control group, which was significant in the moderate-intensity continuous group. Also, the angiopoietin-2 expression increased in all three groups compared with the control group, which was significant in the high-intensity continuous group.

## Conclusion

Training affects increasing the expression of angiopoietins in the subcutaneous tissue. This change can be seen in all three types of continuous, intense continuous, and intense intermittent training, but in continuous training, ANG1 and ANG2 increased significantly. Therefore, performing continuous or intense continuous training as a stimulus in increasing anxiety for beginner or professional athletes can improve various physiological aspects. Also, the implementation of continuous training for overweight people will affect weight loss by increasing angiogenesis.

## Ethical Considerations:

## Ethical Considerations

**Compliance with ethical guidelines:** While observing all the ethical considerations, the research ethics permit was also obtained from Payame Noor University with the ethical code of IR.PNU.REC.1398.060.

**Funding:** Financial resources provided by the authors.

**Authors' contribution:** This article is taken from Alireza Fatahian's Master's thesis

**Conflict of interest:** There is no conflict of interest in the implementation of this research

**Acknowledgments:** The respected referees are thanked for providing structural and scientific comments.

علوم زیستی ورزشی
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۴۱۴۸

# تأثیر شیوه‌های تمرینی منتخب بر بیان ژن‌های ANG1و ANG2 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار

**علیرضا فتاحیان[۱]✉، محمد شریعت‌زاده جنیدی[۲]، مجید قلی پور برزگر[۳]، سعید نقیبی[۴]**

۱. نویسندهٔ مسئول، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: alireza.fatahian@ut.ac.ir

۲. پژوهشگاه تربیت بدنی، تهران، ایران. رایانامه: shariatzade@ssrc.ac.ir

۳. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران. رایانامه: gholipour@sharif.edu

۴. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه پیام نور کرج، البرز، ایران. رایانامه: sdnaghibi@pnu.ir

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:** مقاله پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۰/۱۱/۱۱
**تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۱/۰۵/۲۴
**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۵/۳۱
**تاریخ انتشار:** ۱۴۰۱/۰۶/۳۱

**کلیدواژه‌ها:**
آنژیوپویتین۱،
آنژیوپویتین۲،
تمرین تناوبی،
تمرین تداومی،
چربی زیر جلدی.

**چکیده**

**مقدمه:** یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در فرایند سازگاری‌های فیزیولوژیکی انسان آنژیوژنز است که با ایجاد مداوم رگ‌های خونی از طریق فعالیت آنژیوپویتین‌ها به ترمیم و رشد بافت‌های بدن کمک ویژه می‌کند. در تحقیق حاضر تأثیر سه شیوهٔ تمرینی تداومی با شدت متوسط، تداومی پرشدت و تناوبی پرشدت بر بیان ژن‌های آنژیوپویتین۱ و آنژیوپویتین۲ در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار بررسی شد.

**روش پژوهش:** بدین‌منظور ۳۲ سر رت نر ویستار با میانگین وزن ۲۳۶/۳±۳۴/۵ گرم و سن هشت هفته به‌صورت تصادفی در چهار گروه تمرین هوازی دویدن تناوبی شدید (شامل چهار وهله تناوب شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد $VO_{2max}$ و چهار وهله تناوب کم‌شدت در ۵۰ تا ۶۰ درصد $VO_{2max}$ در زمان کل ۳۸ دقیقه)، تمرین هوازی دویدن تداومی با شدت متوسط (شامل دویدن در ۶۵ $VO_{2max}$ در زمان کل ۴۷ دقیقه)، تمرین هوازی دویدن تداومی پرشدت (شامل دویدن در ۶۵ درصد $VO_{2max}$ در زمان کل ۴۰ دقیقه با شیب فزاینده نوار گردان هر دو هفته به میزان ۲ درصد) و گروه کنترل قرار گرفتند. ۲۴ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی پس از بی‌هوشی کامل نمونه‌برداری بافت چربی زیرجلدی از ناحیهٔ شکم انجام گرفت. مقادیر بیان ژن آنژیوپویتین۱ و آنژیوپویتین۲ در بافت چربی زیرجلدی با روش RT-PCR اندازه‌گیری شد. با توجه به غیرطبیعی بودن توزیع داده‌ها در برخی گروه‌ها از روش آماری کروسکال والیس استفاده شد.

**یافته‌ها** : نتایج نشان داد بیان ژن آنژیوپویتین۱ در هر سه گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل افزایش داشت که این میزان در گروه تداومی با شدت متوسط معنادار بود. بیان فاکتور آنژیوپویتین۲ نیز در هر سه گروه نسبت به گروه کنترل افزایش داشته که این میزان در گروه تداومی پرشدت معنادار است.

**نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد تمرینات تداومی بر افزایش بیان آنژیوپویتین۱ و ۲ در بافت چربی زیرجلدی تأثیر مثبتی دارد.

**استناد:** فتاحیان، علیرضا؛ شریعت زاده جنیدی، محمدرضا؛ قلی‌پور برزگر، محمدرضا؛ و نقیبی، سعید.(۱۴۰۱). تأثیر شیوه‌های تمرینی منتخب بر بیان ژن‌های ANG1 و ANG2 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار. *نشریه علوم زیستی ورزشی*، ۱۴(۲)، ۲۴۰-۲۲۷.

DOI: http//doi.org 10.22059/JSB.2022.338290.1509

ناشر: دانشگاه تهران، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی.

© نویسندگان.

## مقدمه

یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های زیستی در بدن انسان رساندن مواد غذایی و اکسیژن به بافت‌ها و اندام‌های مختلف بدن است که از طریق خون انجام می‌گیرد. فعالیت‌هایی که به تشکیل عروق جدید و ترمیم عروق آسیب‌دیده منجر می‌شود، آنژیوژنز[1] نام دارد. آنژیوژنز فرایندی است که در آن عروق جدید تکثیر می‌شود و این عمل در تمامی مراحل زندگی انسان با شدت‌های گوناگون ادامه می‌یابد (۱). نخستین نشانه‌های این عمل در هفتهٔ دوم جنینی دیده می‌شود که در فرایندی به نام واسکولوژنز عمل تشکیل جنینی سلول‌های اندوتلیال از پیش‌سازهای سلول مزودرم و از نواحی عروقی آغاز می‌شود. پس از این مرحله، آنژیوژنز آغاز می‌شود که مسئول گسترش و توسعهٔ عروق خونی در تمامی فعالیت‌های فیزیولوژیکی است (۲). عوامل تأثیرگذاری فعالیت آنژیوژنز با نام آنژیوپویتین[2]ها شناخته می‌شوند که با اعمال مکانیزم اثر گوناگون در این فعالیت شرکت می‌کنند (۳). سیگنالینگ آنژیوپویتین به‌طور مستقیم با آنژیوژنز مطابقت دارد. آنژیوژنز از طریق جوانه زدن، مهاجرت سلول‌های اندوتلیال[3]، تکثیر و در بعضی موارد بی‌ثبات‌سازی عروق اتفاق می‌افتد. آنها همچنین وظیفهٔ جداسازی جدارهٔ اندوتلیال عروق خونی را بر عهده دارند (۴). آنژیوپویتین با سیگنال کردن سلول‌های عضلانی صاف اطراف عروق، کنترل نفوذپذیری عروقی، از بین بردن عروق و انقباض عروق درگیر می‌شوند (۵). در حال حاضر چهار پروتئین از آنژیوپویتین‌ها شناسایی شده‌اند که عبارت‌اند از:ANG1, ANG2, ANG3, ANG4 . آنها بر روی گیرنده‌های تیروزین کیناز[4]، TIE1 و TIE2 عمل می‌کنند. ANG1 با عمل روی گیرندهٔ TIE2 فعالیت می‌کند، درحالی‌که ANG2 به‌عنوان یک عامل مخالف عمل می‌کند و ممکن است تأثیرات متفاوتی داشته باشد. علت این تضاد را می‌توان در توانایی تشکیل پیوندها جست‌وجو کرد، ANG1 می‌تواند به‌صورت تری، تترا یا پنتا؛ مولتی‌مرهای مرتبهٔ بالاتر را تشکیل دهد و این عامل سبب افزایش قدرت پیوند در عمل با گیرنده‌ها می‌شود (۶). با توجه به تأثیر فراوان آنژیوپویتین‌ها در فعالیت‌های فیزیولوژیکی بافت‌های بدن، شناخت عوامل مختلف تأثیرگذاری آنها در این حوزه می‌تواند نقش مهمی در بهبود سلامت جسمی انسان داشته باشد.

فعالیت ورزشی می‌تواند به‌عنوان عاملی مهم در میزان عمل آنژیوپویتین‌ها تحلیل شود. از مهم‌ترین فعالیت‌های ورزشی اثرگذار در این زمینه می‌توان به تمرینات تناوبی و تداومی با شدت‌های گوناگون اشاره کرد. تمرینات تناوبی، فعالیت‌های بدنی با شدت‌های بیشینه، متوسط و زیربیشینه در زمان‌های کوتاه و پیوسته است که نوع فعالیت به‌صورت مداوم از کم به زیاد یا برعکس در بازهٔ زمانی و با ترکیب‌بندی معین انجام می‌پذیرد. این نوع فعالیت‌ها می‌توانند با تنظیم مسیرهای سیگنالینگ در صورت استفادهٔ صحیح و بابرنامه به تنظیم فرایندهای آنژیوژنز منجر شوند (۷). بررسی‌های انجام‌گرفته در این زمینه نشان داد که فعالیت تناوبی با شدت بالا[5] با افزایش فعالیت سلول‌های اندوتلیال و فعالیت گیرنده‌های آنژیوپویتین‌ها تأثیر بسزایی در بیشتر شدن قطر شریانی و بهبود کارایی بدنی افراد کم‌تحرک ایفا می‌کند (۸). از دیگر تأثیرات مهم آنژیوپویتین‌ها می‌توان به تأثیرات آنها در بافت چربی اشاره کرد. افزایش بیان آنژیوپویتین‌ها در بافت چربی بر اثر فعالیت ورزشی می‌تواند به کاهش تودهٔ چربی از طریق افزایش دانسیتهٔ مویرگی و بیشتر شدن تعامل اکسیژن با بافت و افزایش استفاده از اسیدهای چرب بلندزنجیره بر اثر فعالیت آنزیم CPT1[6] منجر شود که متعاقب آن تودهٔ چربی کاهش و کیفیت تودهٔ بدنی افزایش می‌یابد (۹). در زمینهٔ ارتباط فعالیت ورزشی و آنژیوژنز، لی به بررسی تأثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی بر روی رت‌های نر دوماهه پرداخت و دریافت که فعالیت ورزشی، بیان آنژیوژنیک را در بافت چربی تنظیم می‌کند. به بیان دیگر با افزایش بیان آنژیوژنیک تودهٔ چربی نیز کاهش پیدا می‌کند. این نتایج بیانگر تأثیر مثبت فرایند آنژیوژنز در بافت چربی است (۱۰). در زمینهٔ ارتباط آنژیوژنز و بافت چربی نواک و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی روی رت‌های

---

1 . ANGiogenesis
2 . ANGiopoietin
3 . Endothelial
4 . Tyrosin kinase
5 . High intensity interval training
6 . Carnitine palmitoy- transferase1

نر دریافتند که فرایند آنژیوژنز در مراحل اولیهٔ تشکیل بافت چربی دچار مشکل می‌شود، بنابراین باید به‌دنبال عواملی بود که این اختلال را در جهت جلوگیری از رشد بافت چربی برطرف کند (۱۱). در همین زمینه فرارا و همکاران (۱۹۸۹) دریافتند که کاهش جرم چربی می‌تواند به افزایش آنژیوژنز پس از فعالیت ورزشی کمک کند (۱۲). دایابریدا و همکاران (۲۰۰۳) نقش ANG4 در تنظیم رشد بافت چربی را بررسی و رابطهٔ میان این ژن و تنظیم بافت به‌وسیلهٔ عروق چربی زیرجلدی را تأیید کردند (۱۳). دیسانزو و یو (۲۰۱۴) با تزریق مصنوعی ANG1 به رت‌ها و افزایش میزان سرمی آن به بررسی تأثیر این فعالیت تهاجمی بر میزان چربی زیرجلدی پرداختند و دریافتند که بیشتر شدن آنژیوپویتین۱ به مهار گیرنده‌های TIE2 در بافت چربی زیرجلدی منجر شد؛ آنها بیان کردند با بیشتر شدن فعالیت گیرنده‌های TIE2 می‌توان انتظار داشت که میزان چربی زیرجلدی نیز با این نوع تمرین کاهش یابد (۱۴). همچنین کلبرگ و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی تأثیر کاهش وزن پس از رژیم و فعالیت ورزشی بر فعالیت‌های آنژیوژنیک و بیان ژن‌های آنژیوپویتین در خون و چربی شکمی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که میزان بیان ANG1 و VEGF با فعالیت ورزشی افزایش و میزان چربی زیرجلدی کاهش می‌یابد (۱۵). تمرینات تداومی سبب سازگاری دستگاه‌های گوناگون بدن به‌خصوص سیستم قلب و عروق و تنفس می‌شود. سازگاری این سیستم‌ها سبب افزایش vo2 max و بهبود عملکرد استقامتی می‌شود که برایند آن پیشرفت عملکرد قلب و جریان خون محیطی است و ظرفیت تارهای عضلانی را برای تولید ATP بیشتر می‌کند. از مهم‌ترین تغییرات ژنتیکی بر اثر فعالیت‌های استقامتی می‌توان به هایپرتروفی قلب، آنژیوژنز، بیوژنز میتوکندریایی و تغییر در میزان تارهای تند و کندانقباض اشاره کرد. عمدهٔ این تغییرات در عضلهٔ اسکلتی به‌وجود می‌آید و سبب تغییرات گوناگون در بیان ژن اندام‌های مختلف می‌شود. همچنین تمرینات تناوبی شامل فعالیت بدنی با شدت زیاد و مراحل استراحتی فعال با شدت‌های پایین است که مدل بسیار تأثیرگذار ورزشی در زمینهٔ سازگاری‌های متابولیک محسوب می‌شود. این نوع تمرین روش مؤثری برای بهبود ظرفیت سیستم‌های هوازی و بی‌هوازی است و سبب بهبود عملکرد هر دو دستگاه می‌شود. تغییرات قلبی –عروقی ناشی از فعالیت تناوبی به‌شدت و مدت آن و همچنین شرایط جسمانی فرد بستگی دارد. با توجه به گسترش روزافزون این نوع تمرینات و تأثیرات متفاوت آنها بر سیستم‌های گوناگون بدن تغییرات شدت و مدت بر فرایندهای بدنی از جمله موارد مورد توجه پژوهشگران علوم ورزشی در طرح‌ریزی نوع برنامه‌های مورد استفاده در مطالعات است. از جمع‌بندی نتایج تحقیقات گذشته می‌توان دریافت که فعالیت ورزشی تأثیر مثبتی بر افزایش بیان آنژیوپویتین‌ها در انسان دارند. مطابق یافته‌های ما پژوهش‌های کمی در مورد تأثیر تمرینات تداومی و تناوبی بر روی بیان ژن‌های ANG1 و ANG2 در بافت چربی زیرجلدی انجام گرفته است و به انجام تحقیقات جدید در این خصوص نیاز است. ازاین‌رو پژوهش حاضر تأثیر تمرین MIT, HIT و HIIT بر بیان ژن‌های ANG1 و ANG2 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار را بررسی می‌کند.

## روش‌شناسی پژوهش

این تحقیق با روش تجربی در حیوان‌خانهٔ دانشگاه پیام نور شهر کرج با استفاده از نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی ساده انجام گرفت. همچنین به‌منظور تحلیل اطلاعات گردآوری‌شده برای اثبات یا رد فرضیه و پاسخ به پرسش‌های پژوهش از روش تحلیل اطلاعات به‌صورت کمی استفاده شد.

## طرح پژوهش و شرکت‌کنندگان

پژوهش حاضر روی ۳۲ سر رت نر ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزن بدن ۳۴/۵±۲۳۶/۳ گرم به‌عنوان نمونهٔ تحقیق (خریداری‌شده از انستیتو رازی) انجام گرفت. رت‌ها در گروه‌های هشت‌تایی و در محیطی با میانگین دمای ۱/۴ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و چرخهٔ روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات به تعداد چهار رت در هر قفس نگهداری شدند.

## روند اجرای تحقیق

وزن رت‌ها در ابتدا و پایان پژوهش و پیش از تشریح اندازه‌گیری شد. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژهٔ رت دسترسی آزاد داشتند. غذای آزمودنی‌ها تولید شرکت خوراک دام بهپرور بود. در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزاد در اختیار آزمودنی‌ها قرار داده شد. تمامی مراحل نگهداری و کشتار رت‌ها براساس دستورالعمل نگهداری حیوانات هلسینکی انجام گرفت. با توجه به نگهداری چهار رت در هر قفس مایعات به میزان کافی و مطابق با نیاز آنها در نظر گرفته شد و آزادانه در دسترس حیوانات قرار گرفت. رت‌ها به‌صورت تصادفی ساده به چهار گروه هشت‌تایی: کنترل هشت هفته (8-week control)، تمرین هوازی با شدت متوسط[1]، تمرین هوازی پرشدت [2] و تمرین هوازی تناوبی پرشدت[3] تقسیم شدند. همچنین در همین زمان رت‌ها در گروه‌های تمرین و کنترل با تردمیل آشنا شدند. رت‌های گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامهٔ فعالیت ورزشی شرکت نکردند، ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان پنج بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط روی نوار گردان بی‌حرکت قرار داده شدند. رت‌های گروه تمرین هوازی با شدت متوسط به مدت هشت هفته پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط را انجام دادند. رت‌های گروه تمرین هوازی تناوبی پرشدت به مدت هشت هفته پروتکل تمرین تناوبی شدید را انجام دادند و رت‌های گروه تمرین هوازی پرشدت به مدت هشت هفته تحت پروتکل تمرین هوازی پرشدت قرار داشتند. ابتدا به مدت دو هفته و پنج جلسه در هر هفته آشناسازی رت‌ها با تمرینات ورزشی به مدت ۱۵ دقیقه دویدن با سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه انجام گرفت. پس از دسته‌بندی رت‌ها در گروه‌های تمرینی، توان هوازی میانگین رت‌های هر گروه براساس پروتکل هویدال و همکاران (۲۰۰۷) ارزیابی و شدت تمرینی هفتهٔ اول هر گروه مشخص شد (۱۶). تمرینات به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته براساس دستورالعمل شروع شد. تمامی تمرینات در صبح و براساس ترتیب مشخص انجام گرفت. حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به دسترسی نداشتن به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده روی نوار گردان مطابق با پروتکل هویدال و همکاران و با پروتکل غیرمستقیم ارزیابی شد. ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه معادل شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد $VO_{2max}$ انجام شد. سپس رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند؛ و هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۲ متر بر دقیقه تا سر حد واماندگی سرعت افزایش یافت. رت‌ها به مدت هشت هفته پس از پنج دقیقه گرم کردن (با سرعت ۵ متر بر دقیقه) به فعالیت پرداختند. تعداد جلسات در هر هفته پنج جلسه بود. برای اطمینان از یکسان بودن شدت بودن تمرین در هر چهار گروه تمرینات ورزشی براساس روش روکنمو و همکاران (۲۰۰۴) عمل شد. براساس این روش زمان خالص تمرین در هر گروه براساس زمان، شدت و تکرار وهله‌های کار محاسبه و یکسان شد.

پروتکل تمرین MIT شامل دویدن با سرعت ۱۰ متر بر ثانیه معادل ۶۵ درصد $VO_{2max}$ در زمان کل ۴۷ دقیقه بود. تمرین شامل ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن و ۳۷ دقیقه بدنهٔ اصلی تمرین در ۶۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود. پروتکل

[1]. Moderate-Intensity Training (MIT)

[2]. High-Intensity Training (HIT)

[3]. High-Intensity Interval Training (HIIT)

تمرین HIT شامل دویدن در سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۴۰ دقیقه و با شیب فزایندهٔ نوار گردان بود. تمرین شامل ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن و ۳۰ دقیقه بدنهٔ اصلی تمرین در ۶۵ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بود. شیب تردمیل در هفتهٔ اول صفر بود و هر دو هفته ۲ درصد بر شیب افزوده شد تا در هفتهٔ هشتم به ۸ درصد رسید. پروتکل تمرین HIIT شامل چهار وهله تناوب شدید با زمان ۴ دقیقه دویدن با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه معادل شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد $VO_{2max}$ و چهار وهله تناوب کم‌شدت با زمان ۳ دقیقه دویدن در ۵۰ تا ۶۰ درصد $VO_{2max}$ بود که در مجموع ۳۸ دقیقه به طول انجامید و شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۲۸ دقیقه بدنهٔ اصلی تمرین بود. گروه کنترل هشت هفته همراه با دو گروه تمرینی پس از هشت هفته تمرین و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی بافت‌برداری شدند. برای جمع‌آوری بافت‌ها ابتدا حیوانات با ترکیب داروی زایلازین (۱۰میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۱۰۰میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌صورت تزریق درون‌صفاقی بی‌هوش شدند. سپس قفسهٔ سینه و شکم حیوان شکافته شده و پس از برداشت بافت چربی زیرجلدی، نمونه در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شده، بلافاصله در میکروتوب گذاشته شد و با استفاده از ازت مایع منجمد و برای سنجش‌های بعدی به فریز (۸۰-) منتقل شد. بیان ژن‌های ANG1 و ANG2 در بافت چربی زیرجلدی به‌وسیلهٔ روش Real-time –PCR انجام گرفت. به‌منظور استخراج RNA براساس دستورالعمل کیت استخراج استرا تک آلمان عمل شد. ۲۵ میلی‌گرم از بافت چربی برداشته شده و با تیغ خرد و با شیکر هموژنیزه شد. مراحل استخراج تا دستیابی به RNA خالص ادامه داشت. به‌منظور تبدیل Total RNA به cDNA به‌دلیل بلندی طول توالی RNA از رندوم هگزامر[1] به‌عنوان پرایمر استفاده شد و پس از اتصال پرایمرها به رشتهٔ RNA با کمک آنزیم ریورس ترانس کریپتاز[2] نسخه‌برداری معکوس از روی RNA انجام گرفت. از پرایمرهای زیر (جدول ۱) به‌منظور تکثیر cDNA آمنتین- ۱ استفاده شد. همچنین ژن میزبان[3] در این تحقیق از نوع GAPDH انتخاب شد.

**جدول ۱. توالی پرایمرهای فاکتورهای ANG1و ANG2 و ژن کنترل**

| Genes | | Primer sequence |
|---|---|---|
| ANG1 | FORWARD -ANG1 | GGTTTTTGTGCTGGGTCTGG |
| | REVERSE-ANG1 | TTTGGAGGGCGAGGTTAGG |
| ANG2 | FORWARD-ANG2 | TGTGTTGGAAGAGATGGAGATGAG |
| | | CTGTTTGGAGGGCGATTAGG |
| GAPDH | FORWARD-GAPDH | 5′GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′ |
| | REVERSE-GAPDH | 5′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3′ |

برای ساخت cDNA براساس دستورالعمل کیت Fermentase مراحل زیر انجام گرفت. همچنین از RT-PCR برای بررسی ویژگی پرایمرها بر مبنای روش Syber Green استفاده شد. از روش ΔCt لیواک برای به‌دست آوردن نسبت ژن موردنظر به ژن مرجع می‌توان از فرمول زیر استفاده کرد که اساس آن بر پایهٔ بازده و اختلاف در Ct است:

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

[1]. Random hexamer
[2]. Reverse Transcriptase
[3]. Housekeeping gene

## روش آماری

با توجه به غیرطبیعی بودن توزیع داده‌ها، از روش آماری کروسکال والیس برای مقایسهٔ بین‌گروهی و از آزمون من‌ویتنی به‌عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد. تمامی محاسبات آماری از طریق نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش 22 انجام گرفت. نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار اکسل ویرایش ۲۰۱۰ طراحی شد.

## یافته‌های پژوهش

در جدول ۲ میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن رت‌ها در هر گروه در دو مرحلهٔ پایه و قبل از کشته شدن برای نمونه‌برداری ارائه شده است.

**جدول ۲. مشخصات توصیفی نمونه‌های پژوهش**

| گروه | تعداد (سر) | سن (هفته) | وزن بدن (کیلوگرم) | اکسیژن مصرفی بیشینه (میلی‌لیتر/کیلوگرم/دقیقه) |
|---|---|---|---|---|
| گروه کنترل پیش از آغاز تمرین | ۸ | ۸ | ۲۳۶/۳±۳۴/۵ | ۵۰/۲±۳/۹ |
| گروه کنترل پس از هشت هفته تمرین | ۸ | ۱۶ | ۳۱۲/۸±۲۵/۸ | ۴۷/۷±۳/۲ |
| گروه تمرین MIT | ۸ | ۱۶ | ۳۱۳/۷±۲۸/۶ | * ۶۹/۱±۳/۵ |
| گروه تمرین HIT | ۸ | ۱۶ | ۳۱۰/۳±۳۱/۴ | * ۶۴/۲±۴/۵ |
| گروه تمرین HIIT | ۸ | ۱۶ | ۲۹۵/۶±۲۷/۲ | * ۶۵/۷±۶/۹ |

* نشانهٔ اختلاف معنادار با گروه کنترل هشت هفته است.

**جدول ۳. آزمون آماری تغییرات بیان ژن ANG1 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار**

| متغیر | بیان ژن ANG1 (انحراف معیار±میانگین) | آماره P |
|---|---|---|
| گروه کنترل | ۰/۰۰۱۴۶۴۰ ± ۰/۰۰۰۸۷۴۵ | * ۰/۰۰۰۱ |
| گروه تمرین MIT | ۰/۰۰۳۰۴۶۳ ± ۰/۰۰۱۰۹۴۶ | |
| گروه تمرین HIT | ۰/۰۰۲۹۳۸۶ ± ۰/۰۰۱۳۸۴ | |
| گروه تمرین HIIT | ۰/۰۰۲۲۲۴۷ ± ۰/۰۰۰۹۷۰۵ | |

*نشانه اختلاف معنادار.

واحد اندازه‌گیری fold change است.

*نشانهٔ اختلاف معنادار.

*واحد اندازه‌گیری fold change است.

همچنین به‌منظور مقایسهٔ بین‌گروهی از آزمون توکی استفاده شد و نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه کنترل با گروهMIT وجود دارد (P=۰/۰۳)، به‌طوری‌که در گروه MIT به مقدار ۰/۰۰۱۶واحد افزایش داشته است. اما بین گروه کنترل با دو گروه دیگر تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۶۸۵). همچنین بین سه گروه تمرینی MIT، HIT و HIIT تفاوت معناداری مشاهده نشد (P= ۰/ ۷۴۳). بنابراین تنها شیوهٔ تمرینی MIT بر بیان ژن ANG1 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار

مؤثر بوده است. نتایج آزمون آماری کروسکال والیس نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی و تناوبی شدید بر بیان ژن ANG2 در بافت قلب رت‌های صحرایی نر تأثیر معناداری دارد.

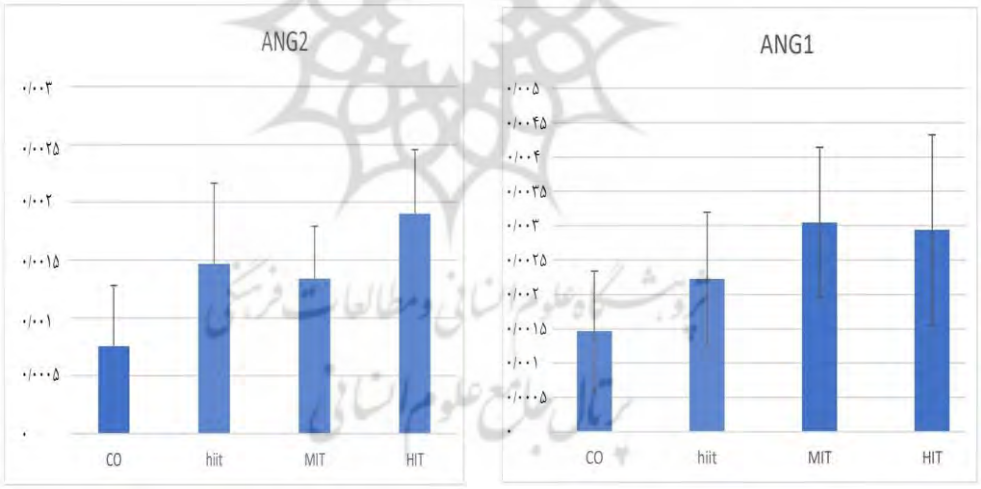
**جدول ۴. آزمون آماری تغییرات بیان ژن ANG2 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار**

| متغیر | | بیان ژن ANG2 (انحراف معیار±میانگین) | آمارهٔ P |
|---|---|---|---|
| گروه | گروه کنترل | ۰/۰۰۰۷۵۷۵ ± ۰/۰۰۰۵۲۳۶ | * ۰/۰۰۴ |
| | گروه تمرین MIT | ۰/۰۰۱۳۳۹۴ ± ۰/۰۰۰۴۵۲۹ | |
| | گروه تمرین HIT | ۰/۰۱۸۹۸۹۹ ± ۰/۰۰۰۵۵۴۷ | |
| | گروه تمرین HIIT | ۰/۰۰۱۴۶۶۳ ± ۰/۰۰۰۶۹۷۶ | |

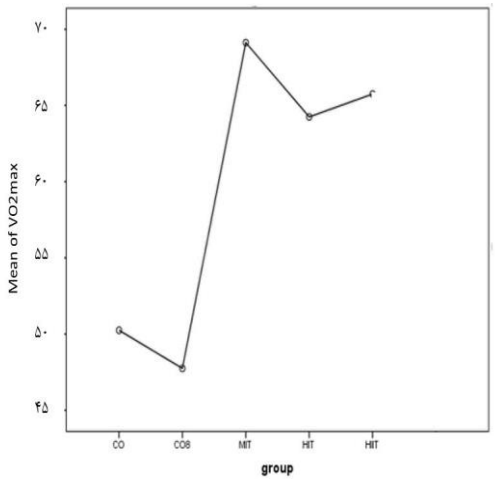
*نشانهٔ اختلاف معنادار.

*واحد اندازه‌گیری fold change است.

به‌منظور مقایسهٔ بین‌گروهی از آزمون توکی استفاده شد و نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه کنترل با گروه HIT وجود دارد (P=۰/۰۱)، به‌طوری‌که در گروه HIT به مقدار ۰/۰۰۱ واحد افزایش داشته است. اما بین گروه کنترل با دو گروه دیگر تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۵۴۳). بین سه گروه تمرینی MIT، HIT و HIIT تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۶۱۲). بنابراین تنها شیوهٔ تمرینی HIT بر بیان ژن ANG2 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار مؤثر بوده است.




**شکل ۱. تغییرات بیان ژن‌هایANG1 و ANG2 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار در گروه‌های تمرین و کنترل**




**شکل ۲. اندازهٔ اثر شیوه‌های متفاوت تمرینات ورزشی بر میزان تغییرات $VO_{2max}$ در گروه‌های پژوهش**

## بحث و نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل از تجزیه‌وتحلیل یافته‌های پژوهش در بیان ژن ANG1 بین چهار گروه تحقیق اختلاف معناداری مشاهده نشد. به‌منظور مقایسهٔ بین‌گروهی از آزمون توکی استفاده شد و نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه کنترل با گروه MIT وجود دارد (P≤۰/۰۵)، به‌طوری‌که در گروه MIT به میزان ۰/۰۰۱۶ واحد افزایش داشته است. اما بین گروه کنترل با دو گروه دیگر تفاوت معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بین سه گروه تمرینی MIT، HIT و HIIT تفاوت معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بنابراین تنها شیوهٔ تمرینی MIT بر بیان ژن ANG1 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار مؤثر بوده است. در بیان ژن ANG2 نیز میان چهار گروه تحقیق اختلاف معنادار مشاهده شد. به‌منظور مقایسهٔ بین‌گروهی از آزمون توکی استفاده شد و نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه کنترل با گروه HIT وجود دارد (P≤۰/۰۵)، به‌طوری‌که در گروه HIT به مقدار ۰/۰۰۱ واحد افزایش داشته است. اما بین گروه کنترل با دو گروه دیگر تفاوت معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بین سه گروه تمرینی MIT، HIT و HIIT تفاوت معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بنابراین تنها شیوهٔ تمرینی HIT بر بیان ژن ANG2 در بافت چربی زیرجلدی رت‌های نر ویستار مؤثر بوده است. گاوین و همکاران (۲۰۰۵) در پژوهشی با عنوان «تأثیر آنژیوژنز بر بافت چربی و فعالیت VEGF[1]» به بررسی پروتکل‌های تمرین هوازی تداومی بر روی رت‌ها پرداختند و به این نتیجه رسیدند که افزایش بستر عروقی، سودمندی‌های ویژه‌ای برای افراد چاق دارد، زیرا افزایش دانسیتهٔ مویرگی از طریق افزایش سطح انتشار، افزایش زمان تبادل بین خون و بافت و کاهش مسافت انتشار موجب فراخوانی بیشتر اسیدهای چرب آزاد FFA[2] از بافت چربی و دسترسی بیشتر تارهای عضلانی به FFA می‌شود (۱۷). دایابریدا و همکاران (۲۰۰۳) در پژوهشی همسو به بررسی نقش ANG1 در تنظیم رشد بافت چربی با انجام هشت هفته تمرین تناوبی شنا روی رت‌های نر پرداختند و به این نتیجه رسیدند که این ژن با تنظیم عروق چربی زیرجلدی می‌تواند رشد بافت را تنظیم کند. آنها گزارش کردند که متعاقب افزایش آنژیوژنز در بافت چربی میزان این توده کاهش چشمگیری را نشان می‌دهد. این پژوهش تأثیر تمرین تناوبی از طریق مسیر سیگنالیگ آنژیوژنز در سیتوپلاسم از طریق گیرندهٔ TIE2 و افزایش اکسیژن در بافت چربی بر اثر افزایش گردش خون را به اثبات رساند (۱۳). به‌علت اینکه فرایند برداشت

[1] · Vascular endothelial growth factor
[2] · Free Fatty Acid

نمونه و آزمایش روی بافت چربی زیرجلدی، عمل تهاجمی است، پژوهش‌ها با هدف بیان آنژیوپویتین‌ها در بافت چربی نمونه‌های انسانی بسیار محدود است و محققان با بررسی سطوح سرمی آنژیوپویتین‌ها تغییرات آن را در بدن انسان بررسی کرده‌اند. پاساریک و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقی با عنوان «بررسی کاهش فرایند اکسایشی بافت چربی در چاقی انسان با کاهش فعالیت‌های آنژیوژنیک» دریافتند که تودۀ بافت چربی بدون حمایت عروق کرونری دچار هیپوکسی، نفوذ ماکروفاژ و التهاب می‌شود (۱۸). این پژوهش جزء معدود تحقیقات انجام‌گرفته روی نمونه‌های انسانی در این حوزه است که بدون انجام ورزش به تأثیر مستقیم فعالیت آنژیوژنیک در بافت چربی انسانی تأکید می‌کند. گومز (۲۰۱۰) به بررسی عوامل مؤثر در این فرایند بر روی نمونه‌های انسانی و حیوانی بدون انجام تمرینات ورزشی پرداخت و نتیجه گرفت که دستکاری سیستم VEGF می‌تواند به‌عنوان عامل مؤثری در درمان دارویی چاقی به‌کار رود (۱۹). او بیان کرد VEGF به‌عنوان عاملی مؤثر در تنظیم و افزایش کارایی آنژیوپویتین‌ها می‌تواند ارتباط مستقیمی بر فعالیت این ژن و افزایش آنژیوژنز و متعاقب آن کاهش چربی داشته باشد. همسو با نتایج حاضر یانگ و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی با عنوان «تأثیر ANG1 بر قطر بافت چربی در رت‌های نر» به بررسی تأثیر این عوامل تحت تأثیر هشت هفته تمرین تداومی دویدن پرداختند و گزارش کردند ANG1 تأثیرات لیپوژنیک را در بافت چربی رت‌ها تنظیم می‌کند (۲۰). آنها عنوان کردند آنژیوپویتین‌ها عوامل مؤثر بسیاری دارند که از آن جمله فعالیت مهاری در بافت التهابی در واکنش با گیرنده‌های تیروزین کیناز است. لی و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی تأثیر هفت هفته تمرین هوازی چرخ گردان روی رت‌های نر دوماهه در تحقیقی با عنوان «تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان آنژیوژنیک در بافت چربی سفید رت‌های نر ویستار» دریافتند که این فعالیت سبب تنظیم بیان آنژیوژنیک بافت چربی و کاهش تودۀ آن می‌شود (۱۰). سوری و همکاران (۲۰۱۸) در تحقیقی با عنوان «بررسی تأثیر تمرینات هوازی کم‌شدت در مقایسه با تمرینات هوازی شدید بر سطوح سرمی پروتئین شبه‌آنژیوپویتین۴ بر نیمرخ لیپیدی زنان چاق» دریافتند که تمرین پرشدت اگرچه بر سطوح تری‌گلیسیرید تأثیرگذار است، تغییرات ANG4 کمتر از فعالیت‌های ورزشی تأثیر می‌گیرد (۲۱). سازوکار اثر ANG4 بر اثر پژوهش‌های انسانی هنوز به‌طور دقیق مشخص نیست و به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد. در بیان دلایل احتمالی تضاد این تحقیق باید گفت که تمرینات مقاومتی به‌علت سازوکارهای اثر متفاوت آن تأثیری متناقض در نتیجۀ پژوهش داشته است. عباسی و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیق ناهمسوی دیگری پاسخ واسطه‌های آنژیوژنیک پلاسمایی به تمرین هوازی و عصارۀ ولیک در رت‌های نر ویستار را بررسی کردند و دریافتند ترکیب عصارۀ ولیک و تمرین هوازی تأثیری بر شاخص‌های آنتی‌آنژیوژنز ندارند (۲۲). احتمالاً نوع تغذیۀ دارویی به‌کاررفته به‌عنوان عاملی مداخله‌گر تأثیری متناقض در سازوکار اثر آنژیوپویتین‌ها داشته است. کلاه‌دوزی و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر تمرین تناوبی هوازی با شدت بالا بر آنژیوژنز بافت چربی در رت‌های صحرایی تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب پرداختند و نشان دادند که تمرین تناوبی با شدت بالا موجب کاهش وزن بدن و وزن بافت چربی از طریق افزایش آنژیوژنز و کاهش حجم سلول‌های چربی می‌شود (۲۳). کربلایی فرد و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی همسو تأثیر شش هفته تمرین تناوبی خیلی شدید بر عوامل منتخب آنژیوژنز قلبی در رت‌های مبتلا به آنفارکتوس میوکارد را بررسی و گزارش کردند این نوع تمرین سبب افزایش عوامل مؤثر در آنژیوژنز در رت‌های نر نژاد ویستار پس از وقوع آنفارکتوس میوکارد می‌شود (۲۴). در توضیح سازوکار تأثیر ورزش بر آنژوپویتین‌ها باید توجه داشت که آنژیوژنز فرایند بسیار پیچیده‌ای است که به‌طور دقیق از طریق تعادل بین عوامل تقویت‌کننده و ضدآنژیوژنیک از طریق افزایش سنتز آنژیوپویتین‌ها تنظیم می‌شود. روند گسترش آنژیوژنز به سه مرحله تقسیم می‌شود: جوانه زدن، تقسیم طولی و برداشت بینابینی. افزایش ناشی از ورزش در جریان خون و کشش بافت به‌عنوان محرک‌های مهم برای آنژیوژنز در عضلۀ اسکلتی مطرح شده است (۲۵). سلول‌های اندوتلیال با ورزش در معرض افزایش استرس برشی، فشار فرامورال و کشش چرخشی قرار می‌گیرند. این محرک‌های مکانیکی گیرنده‌ها را روی سطح سلول‌های اندوتلیال فعال می‌کنند، از جمله اینتگرین‌ها، گیرندۀ تیروسین کیناز، پروتئین‌های G و گیرنده‌های همراه پروتئین G، کانال‌های کلسیم و چربی‌های غشایی. در نتیجۀ فعال‌سازی انتقال سیگنال شامل فسفوریلاسیون کینازها در

سلول‌های اندوتلیال، فعال شدن این مسیرهای انتقال مکانیکی به تغییراتی در بیان ژن‌های مربوط به رشد عروقی، تنظیم تکثیر و بازآرایی اسکلت سلولی اکتین منجر می‌شود. تصور بر این است که افزایش تنش برشی داخلی و کشش خارجی، دو محرک اصلی مؤثر بر اندوتلیوم به‌وسیلهٔ مکانیسم‌های مختلف سبب ایجاد رگ‌زایی فیزیولوژیکی می‌شوند (۲۶). همچنین افزایش تنش برشی سبب رشد مویرگی با تقسیم طولی می‌شود، درحالی‌که کشش غیرفعال با رگ‌زایی سبب رشد مویرگی می‌شود (۲۷). مشخص شده است که HIF-1 رونویسی VEGF را در شرایط کمبود اکسیژن فعال می‌کند. در شرایط کاهش اکسیژن، فعالیت‌های آنزیمی پروتئین‌های پرولیل هیدروکسیلاز (PHD[1]) و HIF-1[2] کاهش می‌یابد، سپس هیدروکسیلاسیون HIF-1α مهار می‌شود. این فرایند به تثبیت و تجمع HIF-α منجر می‌شود. HIF-α همراه با HIF-1β موجب فعال‌سازی زیرواحد p300 و فعال‌سازی VEGF در شرایط هایپوکسی می‌شود (۲۸). فعالیت ورزشی سبب کاهش چشمگیر در فشار اکسیژن عضلانی می‌شود که برای فعال‌سازی HIF-1α ضروری است. آملن و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که سطح پروتئین HIF-1α پس از ۴۵ دقیقه تمرینات تمرینی زانو با یک پا افزایش یافت که نشان‌دهندهٔ نقش هایپوکسی ناشی از ورزش در فرایند رگ‌زایی از طریق افزایش سطح پروتئین HIF-1α است. آنها همچنین گزارش کردند که هیچ افزایشی در بیان پروتئین HIF-1α ناشی از ورزش در شرایط کمبود اکسیژن با محدودیت جریان خون در مقایسه با فعالیت ورزشی در شرایط طبیعی و بدون محدودیت وجود ندارد، درحالی‌که سطح mRNA ژن VEGF با تمرین بیشتر در وضعیت هایپوکسی در مقایسه با حالت طبیعی افزایش می‌یابد (۲۹). این یافته‌ها نشان می‌دهد که نه‌تنها HIF-1α، بلکه سایر عوامل رونویسی آنژیوژنز با افزایش بیشتر سطح رونویسیVEGF ناشی از ورزش تحت شرایط کمبود اکسیژن مرتبط‌اند. PGC-1α از دیگر عوامل مهمی است که در بیان و تنظیم آنژیوپویتین‌ها، بیوژنز میتوکندری و سوخت‌وساز انرژی نقش اساسی دارد. پژوهش‌های اخیر نشان داده است که PGC-1α همچنین تنظیم‌کنندهٔ مهمی در آنژیوژنز ناشی از ورزش است، ثابت شده که رت‌های فاقد PGC-1α بیان پروتئین VEGF کمتری در عضلهٔ اسکلتی نسبت به رت‌های کنترل دارند و پس از فعالیت ورزشی هیچ افزایشی در VEGF نشان نمی‌دهند (۳۰). این یافته‌ها نشان می‌دهد که PGC-1α در عضلهٔ اسکلتی برای تنظیم مجدد بیان VEGF و رگ‌زایی ناشی از ورزش ضروری است. بیان و فعالیت PGC-1α توسط چندین مسیر تنظیم می‌شود. p38γ پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن (MAPK[3]) از مهم‌ترین واسطه‌های PGC-1α است. رت‌های فاقد p38γ MAPK کاهش شدیدی در رونویسی PGC-1α و VEGF مرتبط با بیوژنز میتوکندری و آنژیوژنز در عضلهٔ اسکلتی نشان دادند (۳۱). تصور بر این است که افزایش کلسیم / کالمودولین وابسته به طی انقباض عضله، P38 MAPK را فعال می‌کند. همچنین AMPK[4] فعالیت PGC-1α را تنظیم می‌کند. AMPK به‌عنوان تنظیم‌کنندهٔ مهم انرژی و متابولیسم سلول، نقشی کلیدی برای متابولیسم گلوکز و اسیدهای چرب در عضلهٔ اسکلتی ایفا می‌کند (۳۲). AMPK با فعالیت انقباضی فعال می‌شود؛ رونویسی PGC-1α[5] را القا می‌کند و این پروتئین را مستقیماً فسفریله می‌کند (۳۳). نشان داده شده است که فعال‌سازی AMPK به افزایش بیان پروتئین VEGF در رت‌های کنترل منجر می‌شود، اما در رت‌های فاقد PGC-1α این‌طور نیست. این موضوع نشان می‌دهد که AMPK بیان VEGF را از طریق مکانیسم وابسته به PGC-1α تحریک می‌کند، همچنین موجب تحریک فسفوریلاسیون p38 MAPK و افزایش رونویسیVEGF در عضلهٔ اسکلتی رت می‌شود (۳۴). پژوهشگران دریافته‌اند گیرندهٔ β– آدرنرژیک از طریق فعال کردن PGC-1α در آنژیوژنز ناشی از ورزش درگیر است. در یک مطالعهٔ حیوانی، تحریک β–آدرنرژیک توسط ورزش رونویسی PGC-1αرا همزمان با افزایش رونویسیVEGF افزایش داد، بنابراین بیان PGC-1α ناشی از ورزش سبب افزایش رونویسی VEGF

[1] · Prolyl hydroxylases
[2] · hypoxia-inducible factor 1
[3] . mitogen-activated protein kinase
[4] . AMP-activated protein kinase
[5] . Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

مستقل از HIF می‌شود (۳۵). سازوکار اثر تمرین بر بیان آنژیوپویتین‌ها در بافت چربی زیرجلدی به‌خوبی مشخص نشده، اما نشان داده شده است که احتمالاً با افزایش بیان آنژوپویتین‌ها و آنژیوژنز در بافت چربی سازوکار دیگر احتمالی کاهش حجم سلول‌های چربی می‌تواند ناشی از کاهش هایپوکسی بافت چربی باشد؛ ممکن است ظرفیت آنژیوژنزی هنگام تغییر از وضعیت طبیعی به چاقی افزایش یابد؛ اما این افزایش متناسب با افزایش اندازه یا تعداد سلول‌های چربی نباشد، به این ترتیب هایپوکسی موضعی روی می‌دهد که دلیل عمدهٔ آن کاهش اکسیژن‌رسانی به سلول‌های چربی است. افزایش فعالیت عوامل رشد سلول‌های اندوتلیال می‌تواند تأثیر مهمی در افزایش آنژیوژنز و افزایش فعالیت آنژیوپویتین‌ها ایفا کند. به‌طور کلی تحقیقات محدودی در زمینهٔ فعالیت آنژیوژنیک در بافت چربی وجود دارد. بعضی از آنها توجه ویژه‌ای به VEGF به‌عنوان عاملی مهم در افزایش آنژیوژنز داشته‌اند. افزایش فعالیت این فاکتور با افزایش فعالیت آنژیوژنز در بافت چربی همراه است که به آن آدیپوژنز می‌گویند. مهار این فاکتور به مهار آدیپوژنز و در نتیجه افزایش بافت چربی می‌انجامد. تغییر در فرایند آنژیوژنز می‌تواند به‌طور بالقوه تکامل بافت چربی را تسریع یا مختل کند. براساس یافته‌های اخیر الگوهای مختلف تمرینات ورزشی به‌صورت یک استرس فیزیولوژیک می‌تواند در تنظیم آنژیوژنز بافت چربی مؤثر باشد و به‌عنوان یک الگوی غیردارویی در درمان چاقی به‌کار رود. به‌نظر می‌رسد این فعالیت‌ها با فعال کردن مسیرهای سیگنالیگ گیرنده‌های VEGF سبب افزایش بیان آنژیوپویتین‌ها شده و این تغییرات به کاهش میزان چربی زیرجلدی منجر می‌شود. نتایج مؤید آن است که بیان آنژیوپویتین با تمرینات استقامتی و تداومی افزایش می‌یابد و با بیشتر شدن فعالیت گیرنده‌های TIE2 می‌توان انتظار داشت که میزان چربی زیرجلدی نیز با این نوع تمرین کاهش یابد (۳۶). سازوکار اثر آنژیوپویتین‌ها بر چربی زیرجلدی از طریق افزایش دانسیتهٔ مویرگی با افزایش سطح انتشار، افزایش زمان تبادل بین خون و بافت و کاهش مسافت انتشار موجب فراخوانی بیشتر اسیدهای چرب آزاد FFA از بافت چربی و دسترسی بیشتر تار عضلانی به اسیدهای چرب بلندزنجیره می‌شود (۱۴). براساس نتایج تحقیقات بافت چربی حاوی مقادیر زیادی از گسترش‌دهنده‌های عمل آنژیوپویتین‌ها از جمله VEGF است که سازوکار عمل آنها از طریق اسیدهای چرب آزاد (FFA) و اینترلوکین۶ (IL-6) القا می‌شود. زمانی‌که بافت چربی گسترش می‌یابد اما آنژیوژنز متناسب با آن افزایش پیدا نمی‌کند، تبادل اکسیژن کاهش می‌یابد و در نتیجه فعالیت بافت به سمت سوخت‌وساز بی‌هوازی و افزایش شاخص لاکتات پیش می‌رود (۳۷).

تمرینات ورزشی تأثیر مطلوبی بر افزایش بیان آنژیوپویتین‌ها در بافت چربی زیرجلدی دارند. این میزان تغییر در هر سه شیوهٔ تمرینات تداومی، تداومی شدید و تناوبی شدید دیده می‌شود، اما برای ANG1 در تمرینات تداومی و برای ANG2 در تمرینات تداومی شدید این افزایش معنادار است. بنابراین انجام تمرینات تداومی یا تداومی شدید به‌عنوان عامل مؤثر در افزایش آنژیوژنز برای ورزشکاران در سطوح مبتدی یا حرفه‌ای می‌تواند به بهبود جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی کمک شایانی کند. همچنین اجرای تمرینات تداومی برای افراد دارای اضافه وزن به‌عنوان عامل مؤثری در کاهش بافت چربی به‌وسیلهٔ افزایش آنژیوژنز تأثیرگذار خواهد بود.

## تقدیر و تشکر

از داوران محترم به‌سبب ارائهٔ نظرهای ساختاری و علمی سپاسگزاری می‌شود.

## References

1.Khurana R, Simons M. Insights from angiogenesis trials using fibroblast growth factor for advanced arteriosclerotic disease. Trends in cardiovascular medicine. 2003 Apr 1;13(3):116-22.

2.Herbert P, Hayes LD, Sculthorpe NF, Grace FM. HIIT produces increases in muscle power and free testosterone in male masters athletes. Endocrine connections. 2017 Oct 1;6(7):430-6.
3.Hatano D, Ogasawara J, Endoh S, Sakurai T, Nomura S, Kizaki T, Ohno H, Komabayashi T, Izawa T. Effect of exercise training on the density of endothelial cells in the white adipose tissue of rats. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 2011 Dec;21(6):e115-21.
4.Bachmanov AA, Reed DR, Tordoff MG, Price RA, Beauchamp GK. Nutrient preference and diet-induced adiposity in C57BL/6ByJ and 129P3/J mice. Physiology & behavior. 2001 Mar 1;72(4):603-13.
5.Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. American journal of physiology-endocrinology and metabolism. 2001 May 1.
6. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, Marks JS. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. Jama. 2003 Jan 1;289(1):76-9.
7.*Maresky HS, Sharfman Z, Ziv-Baran T, Gomori JM, Copel L, Tal S. Anthropometric assessment of neck adipose tissue and airway volume using multidetector computed tomography: an imaging approach and association with overall mortality. Medicine. 2015 Nov;94(45).*
8.Brown JC, Harhay MO, Harhay MN. Anthropometrically predicted visceral adipose tissue and blood-based biomarkers: a cross-sectional analysis. European journal of nutrition. 2018 Feb;57(1):191-8.
9.Valenzuela DM, Griffiths JA, Rojas J, Aldrich TH, Jones PF, Zhou H, McClain J, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Huang T. Angiopoietins 3 and 4: diverging gene counterparts in mice and humans. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1999 Mar 2;96(5):1904-9.
10. Lee HJ. Exercise training regulates angiogenic gene expression in white adipose tissue. Journal of exercise rehabilitation. 2018 Feb;14(1):16.
11.Nowak-Sliwinska P, Alitalo K, Allen E, Anisimov A, Aplin AC, Auerbach R, Augustin HG, Bates DO, van Beijnum JR, Bender RH, Bergers G. Consensus guidelines for the use and interpretation of angiogenesis assays. Angiogenesis. 2018 Aug;21(3):425-532.
12.Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. Biochemical and biophysical research communications. 1989 Jun 15;161(2):851-8.
13.Dallabrida SM, Zurakowski D, Shih SC, Smith LE, Folkman J, Moulton KS, Rupnick MA. Adipose tissue growth and regression are regulated by angiopoietin-1. Biochemical and biophysical research communications. 2003 Nov 21;311(3):563-71.
14.Disanzo BL, You T. Effects of exercise training on indicators of adipose tissue angiogenesis and hypoxia in obese rats. Metabolism. 2014 Apr 1;63(4):452-5.
15.Cullberg KB, Christiansen T, Paulsen SK, Bruun JM, Pedersen SB, Richelsen B. Effect of weight loss and exercise on angiogenic factors in the circulation and in adipose tissue in obese subjects. Obesity. 2013 Mar;21(3):454-60.

16.Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. European Journal of Preventive Cardiology. 2007 Dec 1;14(6):753-60.
17.Gavin TP, Stallings III HW, Zwetsloot KA, Westerkamp LM, Ryan NA, Moore RA, Pofahl WE, Hickner RC. Lower capillary density but no difference in VEGF expression in obese vs. lean young skeletal muscle in humans. Journal of applied physiology. 2005 Jan;98(1):315-21.
18.Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, Albarado DC, Hymel DT, Roan LE, Rood JC, Burk DH, Smith SR. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. Diabetes. 2009 Mar 1;58(3):718-25.
19.Gómez-Ambrosi J, Catalán V, Rodríguez A, Ramírez B, Silva C, Gil MJ, Salvador J, Frühbeck G. Involvement of serum vascular endothelial growth factor family members in the development of obesity in mice and humans. The Journal of nutritional biochemistry. 2010 Aug 1;21(8):774-80.
20.Jung YJ, Park W, Nguyen-Thanh T, Kang KP, Jin HY, Kim SH, Suh W, Kim W. COMP-angiopoietin-1 mitigates changes in lipid droplet size, macrophage infiltration of adipose tissue and renal inflammation in streptozotocin-induced diabetic mice. Oncotarget. 2017 Nov 7;8(55):94805.
21. Soori R, Khosravi N, Mirshafiey SA, Gholijani F, Rezaeian N. Effects of Resistance Training on Angiopoietin-Like Protein 4 and Lipids Profile Levels in Postmenopausal Obese Women. Sport Physiology. 2018 Jan 21;9(36):39-58. (*in Persian*)
22. Abbassi Daloii A, Abdi A, Abbaszadeh Sourati H, Sourati M. Angiogenic Mediators plasma response to aerobic exercise with Crataegus elbursensis extract in male's rat. Journal of Medicinal Plants. 2016 Oct 10;15(60):76-84. (*in Persian*)
23. Kolahdouzi, S., Talebi Garakani, E., Hamidian, G., & Safarzade, A. (2018). The Effects of High-Intensity Intermittent Aerobic Training on Adipose Tissue Angiogenesis in Rats Fed a High Fat Diet. *Sport Physiology*, *10*(38), 143-162. (*in Persian*)
24.Karbalaeifar S, Gaeini AA, Kordi MR, 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. 2019 Jul 23;11(42):17-30. (*in Persian*)
25.Davis S, Aldrich TH, Jones PF, Acheson A, Compton DL, Jain V, Ryan TE, Bruno J, Radziejewski C, Maisonpierre PC, Yancopoulos GD. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning. Cell. 1996 Dec 27;87(7):1161-9.
26.Scharpfenecker M, Fiedler U, Reiss Y, Augustin HG. The Tie-2 ligand angiopoietin-2 destabilizes quiescent endothelium through an internal autocrine loop mechanism. Journal of cell science. 2005 Feb 15;118(4):771-80.
27. Saharinen P, Kerkelä K, Ekman N, Marron M, Brindle N, Lee GM, Augustin H, Koh GY, Alitalo K. Multiple angiopoietin recombinant proteins activate the Tie1 receptor tyrosine kinase and promote its interaction with Tie2. The Journal of cell biology. 2005 Apr 25;169(2):239-43.
28.Mason SD, Rundqvist H, Papandreou I, Duh R, McNulty WJ, Howlett RA, Olfert IM, Sundberg CJ, Denko NC, Poellinger L, Johnson RS. HIF-1α in endurance training: suppression of oxidative metabolism. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2007 Nov;293(5):R2059-69.
29.Ameln H, Gustafsson T, Sundberg CJ, Okamoto K, Jansson E, Poellinger L, Makino Y. Physiological activation of hypoxia inducible factor- 1 in human skeletal muscle. The FASEB journal. 2005 Jun;19(8):1009-11.
30. Arany Z, Foo SY, Ma Y, Ruas JL, Bommi-Reddy A, Girnun G, Cooper M, Laznik D, Chinsomboon J, Rangwala SM, Baek KH. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1α. Nature. 2008 Feb;451(7181):1008-12.

31.Leick L, Hellsten Y, Fentz J, Lyngby SS, Wojtaszewski JF, Hidalgo J, Pilegaard H. PGC-1α mediates exercise-induced skeletal muscle VEGF expression in mice. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2009 Jul 1.

32. Geng T, Li P, Okutsu M, Yin X, Kwek J, Zhang M, Yan Z. PGC-1α plays a functional role in exercise-induced mitochondrial biogenesis and angiogenesis but not fiber-type transformation in mouse skeletal muscle. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2010 Mar;298(3):C572-9.

33.Wright DC, Geiger PC, Han DH, Jones TE, Holloszy JO. Calcium induces increases in peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α and mitochondrial biogenesis by a pathway leading to p38 mitogen-activated protein kinase activation. Journal of Biological Chemistry. 2007 Jun 29;282(26):18793-9.

34.Jäger, S., Handschin, C., St.-Pierre, J., & Spiegelman, B. M. (2007). AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1α. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(29), 12017-12022.

35.Ouchi N, Shibata R, Walsh K. AMP-activated protein kinase signaling stimulates VEGF expression and angiogenesis in skeletal muscle. Circulation research. 2005 Apr 29;96(8):838-46.

36.Chinsomboon J, Ruas J, Gupta RK, Thom R, Shoag J, Rowe GC, Sawada N, Raghuram S, Arany Z. The transcriptional coactivator PGC-1α mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. Proceedings of the national academy of sciences. 2009 Dec 15;106(50):21401-6.

37.Hausman GJ, Richardson RL. Adipose tissue angiogenesis. Journal of animal science. 2004 Mar 1;82(3):925-34.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی