

The effect of four types of exercise training protocols on the angiotensin-1 and angiotensin II expression in the left ventricle of Wistar rats

Mohammad Reza Asad¹, Elahe Fallahzadeh², Ali Barzegari^{3*}

1. Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.

2. MSc in Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Aim: Considering the importance of prevention of risk factors in heart disease and lack of information about the effect of exercise training on angiotensin-1 and angiotensin II expression, the aim of this study was to investigate the effect of four types of exercise training protocols on the angiotensin-1 and angiotensin II expression in left ventricle of Wistar rats. **Materials and Methods:** For this purpose, 40 male Wistar rats with age of 8-week and an average weight of 237 ± 33 gram were randomly divided into five groups (8 rats in each group), including control, moderate continuous training (MCT), high continuous training (HCT), high intensity interval training (HIIT) and moderate-intensity swimming training (MIST) groups. The training programs in experimental groups were performed for 8 weeks and 5 days a week. 48 hours after the last training session, the sampling was taken from cardiac tissue. Then, the angiotensin-1 and angiotensin II expression were determined by PCR method. To analyze data, one way ANOVA and tukey tests were used at a significance level of $p \leq 0.05$. **Results:** Angiotensin-1 and angiotensin II expressions in each intervention groups were significantly decreased compared to the control group ($p=0.001$). The comparison of four types of training showed that angiotensin-1 expression was significantly decreased only in MIST group as compared to the other training groups and angiotensin II expression was significantly decreased in HCT, MCT and MIST groups when compared to the HIIT group ($p=0.001$). **Conclusion:** All of the four types of exercise training methods were able to reduce the expression of the studied genes, and make favorable changes in reducing the consequences of cardiac tissue injury. However, MIST have more favorable effects with regard to non-weight bearing property, although further research is needed.

Keywords: Angiotensin-1, Angiotensin II, Exercise training, Heart tissue.

Cite this article:

Asad, M. R., Fallahzadeh, E., & Barzegari, A. (2021). The effect of four types of exercise training protocols on the angiotensin-1 and angiotensin II expression in the left ventricle of Wistar rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 9(17), 8-19.

* Corresponding Author, Address: Department of Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran;

Email: ali_barzegari@pnu.ac.ir

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2020.3105.1539>



تأثیر چهار شیوه تمرینی بر بیان ژن های آنژیوپوئیتین-۱ و کانستاتین در بطن چپ موش های صحرایی نژاد ویستار

محمدرضا اسد^۱، الهه فلاح زاده^۲، علی برزگری^{۳*}

۱. دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
۲. کارشناس ارشد تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت پیشگیری از بروز بیماری های قلبی و نیز فقدان اطلاعات لازم در خصوص تأثیر تمرین های ورزشی بر بیان ژن های آنژیوپوئیتین-۱ و کانستاتین، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر چهار شیوه تمرینی بر بیان ژن های آنژیوپوئیتین-۱ و کانستاتین در بطن چپ موش های صحرایی نژاد ویستار بود. **روش تحقیق:** بدین منظور تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته ای با میانگین وزنی 237 ± 23 گرم به طور تصادفی به ۵ گروه (۸ سر در هر گروه) شامل گروه های کنترل، تمرین تداومی با شدت متوسط (MCT)، تمرین تداومی شدید (HCT)، تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین شنا با شدت متوسط (MIST) تقسیم شدند. برنامه های تمرینی در گروه های تجربی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، نمونه برداری از بافت قلب انجام گرفت. بیان ژن های آنژیوپوئیتین-۱ و کانستاتین در بافت قلب با روش PCR تعیین شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون های تحلیل واریانس یک طرفه و توکی در سطح معنی داری $p < 0.05$ استفاده گردید. **یافته ها:** بیان ژن های آنژیوپوئیتین-۱ و کانستاتین در هر یک از گروه های مداخله در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی داری ($p = 0.001$) کاهش یافت. در مقایسه چهار نوع تمرین مشخص گردید که بیان آنژیوپوئیتین-۱ در گروه MIST نسبت به سایر گروه های تمرینی و بیان کانستاتین در گروه های HCT، MCT و MIST نسبت به گروه HIIT کاهش معنی دار بیشتری ($p = 0.001$) داشته است. **نتیجه گیری:** هر چهار شیوه تمرینی توانست با بهبود بیان ژن های مورد مطالعه، تغییرات مطلوبی در کاهش پیامدهای ناشی از آسیب بافت قلبی ایجاد نماید؛ با این حال MIST با توجه به ویژگی عدم تحمل وزن، تأثیرات بیشتری دارد. در این زمینه به تحقیقات بیشتری نیاز است.

واژه های کلیدی: آنژیوپوئیتین-۱، کانستاتین، تمرین ورزشی، بافت قلب.

مقدمه

تقریباً نیمی از همه مرگ و میرها در کشورهای صنعتی و ۲۵ درصد در کشورهای در حال توسعه، مربوط به بیماری کرونر قلب است (بریس^۱ و دیگران، ۲۰۰۶). در همین راستا، شواهدی وجود دارد که نشان می دهد هرگونه فعالیت بدنی که موجب کاهش شاخص های التهابی شود، می تواند کاهش احتمال حوادث قلبی-عروقی را نیز در پی داشته باشد (برزگری و دیگران، ۲۰۲۰). بازسازی^۲ ساختاری و عملکردی قلب از طریق مطالعه تمرینات طولانی مدت در ورزشکاران انجام شده و نشان داده است که هایپرتروفی^۳ قلبی سبب افزایش قطر دهلیز چپ، ضخامت دیواره بطن چپ و حجم توده قلبی شده و رگزایی را در توده قلبی ایجاد می نماید (هان^۴، ۲۰۱۳).

رگزایی در عضلات قلب فرآیندی پیچیده است که توسط عوامل رگزایی و ضد رگزایی تعدیل می شود (روسانو^۵ و دیگران، ۲۰۱۲) و عواملی مانند رشد اندوتلیال عروقی، خانواده آنژیوپوئیتین ها^۶ و فعال شدن آنزیم های متالوپروتئینازها^۷ از جمله عوامل پیش برنده رگزایی هستند که در مقابل عوامل مهاری مانند کانستاتین^۸ قرار می گیرند. در این راستا، آنژیوپوئیتین-۱^۹ از عوامل رشد خانواده مهم آنژیوپوئیتین ها در فرآیند رگزایی محسوب می شود که قادر است اثرات بیولوژیکی عامل رشد اندوتلیال عروقی را تغییر دهد و به ثبات و حفظ رگ های خونی کمک نماید (لوبوف^{۱۰} و دیگران، ۲۰۰۲). آنژیوپوئیتین-۱ بر روی سلول های عضله صاف، پریسیتها^{۱۱} و فیبروبلاستها^{۱۲} بیان شده و با اتصال به گیرنده خود (Tie-2)، در سلول اندوتلیال و ماکروفاژی نیز بیان می گردد (فاجیانی^{۱۳} و دیگران، ۲۰۱۳). علاوه بر این، آنژیوپوئیتین-۱ از طریق جذب پریسیت به رگ های خونی، انسجام عروق را بهبود می بخشد؛ لذا بیان بیش از حد آن، سبب افزایش سلول های اندوتلیال غیرفعال می شود (چو^{۱۴} و دیگران، ۲۰۰۵).

از سوی دیگر، کانستاتین شامل قطعه ای ۲۴ کیلو دالتونی از زنجیره a2 کلاژن نوع چهارم است. کانستاتین از تکثیر سلول اندوتلیال تحریک شده توسط سرم نیز جلوگیری کرده و آپوپتوزیس^{۱۵} را بدون هیچ اثر مهاری بر روی تکثیر یا آپوپتوزی شدن سلول های غیراندوتلیال، فعال می نماید. این مهارکننده همچنین سبب کاهش پتانسیل

غشاء میتوکندری شده و مرگ سلولی را نیز افزایش می دهد. به نظر می رسد که آپوپتوزیس تحریک شده توسط کانستاتین، از طریق مهار فسفاتیدیل اینوزیتول ۳- پروتئین کیناز^{۱۶} B (PI3K-Akt) انجام می شود (بیکس^{۱۷} و دیگران، ۲۰۰۶).

عوامل زیادی مانند فعالیت های بدنی می توانند بر پدیده رگزایی تأثیرگذار باشند. متخصصین علم تمرین در تلاش برای یافتن روش هایی جهت افزایش کارایی برنامه های تمرینی با هدف بهبود عملکرد در یک بازه زمانی محدود هستند، اما این که چه نوع فعالیت بدنی و از طریق چه مکانیسم های سلولی و مولکولی می تواند بهترین اثربخشی را در عملکرد داشته باشد، هنوز به طور کامل و دقیق شناخته نشده است. نشان داده است که تمرین هوازی می تواند با ایجاد مکانیسم حفاظتی، منجر به کاهش بیان سایتوکین های التهابی^{۱۸}، التهاب سیستمیک و در نتیجه، بهبود پاسخ های ایمنی شود (ویرا^{۱۹} و دیگران، ۲۰۱۲). توانایی برنامه های تمرین تداومی با شدت متوسط^{۲۰}، تمرین تداومی شدید^{۲۱} و تمرین هوازی تناوبی شدید^{۲۲} در بهبود سریع ظرفیت ورزشی و متابولیسم انرژی بررسی شده و نتایج نشان داده است که تمرینات تناوبی شدید با توجه به حجم تمرینی کمتر، می تواند یک استراتژی کارآمد کوتاه مدت جهت القای سریع متابولیسم و عملکرد باشد. از سوی دیگر، تمرینات تداومی با شدت متوسط و شدید منجر به کاهش چربی خون، کاهش درصد چربی بدن و بهبود آمادگی قلبی-عروقی می شوند؛ با این حال، تمرینات تداومی با شدت متوسط منجر به بهبود بیشتری در آمادگی قلب و عروق شده است (بیاتی و دیگران، ۲۰۱۱)؛ فیشر^{۲۳} و دیگران، ۲۰۱۵). تمرین هوازی شنای با شدت متوسط^{۲۴} نیز از جمله تمریناتی محسوب می شود که در شرایط مختلف فیزیولوژیک، ایمن و قابل استفاده بوده و به دلیل عدم تحمل وزن در آب نسبت به ورزش های غیرآبی؛ در اکثر مطالعات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و واکنش های مولکولی مورد استفاده قرار گرفته است (برزگری و میردار، ۲۰۱۸). گزارش شده است که از میان انواع تمرین های هوازی غیرآبی، تمرینات تناوبی شدید یک استراتژی موثر جهت افزایش ظرفیت اکسیداتیو^{۲۵} عضلات و سازگاری متابولیکی در مقایسه با تمرینات تداومی با شدت متوسط می باشد (بورگوماستر^{۲۶} و دیگران، ۲۰۰۸). احمدیان و دیگران در سال ۲۰۱۸، به دنبال ۱۰ هفته تمرین استقامتی

- | | | | |
|-----------------------|-------------------|--|--------------------------------------|
| 1. Braith | 8. Canstatin | 15. Apoptosis | 22. High-intensity interval training |
| 2. Remodeling | 9. Angiopoietin-1 | 16. Phosphatidylinositol 3 kinase - protein kinase B | 23. Fisher |
| 3. Hypertrophy | 10. Lobov | 17. Bix | 24. Moderate-intensity swim training |
| 4. Han | 11. Pericytes | 18. Inflammatory cytokines | 25. Oxidative capacity |
| 5. Rosano | 12. Fibroblasts | 19. Vieira | 26. Burgomaster |
| 6. Angiopoietins | 13. Fagiani | 20. Moderate-continuous training | |
| 7. Metalloproteinases | 14. Cho | 21. High-continuous training | |

ساعت نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی در ۵ گروه مساوی (۸ سر موش در هر گروه) شامل گروه کنترل (CO)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MCT)، تمرین تداومی شدید (HCT)، تمرین تناوبی شدید (HIIT)، و تمرین شنای تداومی با شدت متوسط (MIST) تقسیم شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین المللی سلامت و پروتکل های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی^۴ و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد. همچنین این مطالعه توسط کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی وزارت علوم با کد ۱۳۹۸،۵۷۵،IR.SSRI.REC تایید گردید. طی دوره تحقیق، غذای ساخت شرکت بهرپرور به صورت پلت^۵ و با توجه به وزن کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن، در اختیار حیوانات قرار داده شد. آب مورد نیاز حیوانات نیز به صورت آزاد در دسترس بود (حسین زاده و دیگران، ۲۰۱۲).

پروتکل های تمرین: به منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوار گردان، حیوانات به مدت ۲ هفته، ۵ روز در هر هفته و در هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه، با سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان دویدند. VO_{2max} حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان مطابق با پروتکل هلگرود^۶ و دیگران (۲۰۰۷) و به طور غیرمستقیم ارزیابی گردید. جزئیات نحوه اجرای پروتکل های تمرینی در جدول ۱ آورده شده است. پروتکل MCT بدین صورت اجرا شد که در هفته اول ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین شامل دویدن با شدت ۶۵ درصد VO_{2max} با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه انجام شد و به صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده گردید؛ به طوری که در هفته ششم زمان تمرین به ۳۷ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم بدون تغییر (معادل ۲۰ متر بر دقیقه) بود. پروتکل HCT در هفته اول، شامل ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه تمرین دویدن با ۶۵ درصد VO_{2max} با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و با شیب فزاینده نوارگردان بود. به صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده شد، به طوری که در هفته ششم زمان تمرین به ۳۰ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. از سوی دیگر، شیب نوارگردان در هفته اول و دوم ۲ درصد بود و هر ۲ هفته ۲ درصد به شیب افزوده شد تا در هفته هفتم و هشتم به ۸ درصد

تداومی و تمرین تناوبی شدید، کاهش بیان آنژیوپوئیتین-۱ را در موش های مبتلا به سرطان پستان گزارش نموده اند. عباسی دلویی و دیگران (۲۰۱۶) نیز بیان کرده اند که سطوح آنژیوپوئیتین-۱ در سرم پلاسمای موش های صحرایی ویستار، پس از یک دوره ۶ هفته ای تمرین هوازی فزاینده، کاهش می یابد. اگرچه نتایج مطالعه دیگری نشان داده است که بیان آنژیوپوئیتین-۱ در بافت چربی و عضله پهن خارجی افراد مقاوم به انسولین و همچنین افراد حساس به انسولین، متعاقب یک دوره ۱۲ هفته ای شامل هفته ای ۳ جلسه و هر جلسه ۴۵ دقیقه با شدت ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) تمرین روی دوچرخه کارسنج ثابت، تفاوت معنی داری در مقایسه با گروه کنترل ندارد (والتون^۱ و دیگران، ۲۰۱۵). گوستافسون^۲ و دیگران (۲۰۰۷) نیز اظهار داشته اند که متعاقب ۵ هفته تمرین بازکردن زانو با تکرار ۴ جلسه در هفته در افراد سالم و افراد با محدودیت جریان خون، بیان آنژیوپوئیتین-۱ افزایش می یابد، در حالی که تاکنون کمتر مطالعه ای به بررسی تمرین تداومی شنا بر تغییرات بیان آنژیوپوئیتین-۱ پرداخته است.

با جستجویی که در پیشینه مطالعات انجام دادیم، مطالعه ای در مورد اثر تمرینات ورزشی بر بیان کانستاتین یافت نشد. بنابراین، با توجه به اثرات مهاری کانستاتین در رگ زایی بافت قلب (سوگی یاما^۳ و دیگران، ۲۰۱۹) که می تواند موجب آپوپتوزیس سلولی شود؛ کمبود شواهد تحقیقی در زمینه اثرات ورزش بر آنژیوپوئیتین-۱ و کانستاتین؛ وجود شواهد ناهمسو در مورد اثر انواع تمرینات ورزشی بر بیان آنژیوپوئیتین-۱؛ و نهایتاً به دلیل عدم اطلاع کافی از تاثیر تمرین هوازی شنا و مقایسه اثرات آن با سایر تمرینات ورزشی هوازی؛ مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثرات چهار شیوه تمرینی تداومی با شدت متوسط، تداومی شدید، تناوبی شدید و شنای تداومی با شدت متوسط؛ بر بیان ژن های آنژیوپوئیتین-۱ و کانستاتین در بطن چپ موش های نر نژاد ویستار به اجرا درآمد.

روش تحقیق

نمونه گیری: تحقیق حاضر از نوع تجربی بود. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته ای با میانگین وزنی 237 ± 23 گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. این حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه جانوری، به صورت گروه های ۴ سر موش، در قفس های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲

1. Walton
2. Gustafsson
3. Sugiyama

4. Helsinki
5. Pallet
6. Helgerud

پروتکل شنا کردن (شنای آزاد و ماندن روی آب) در یک مخزن آب به ابعاد $50 \times 50 \times 100$ سانتی‌متری با درجه حرارت 30 تا 32 درجه سانتی‌گراد به مدت زمان 20 دقیقه در هفته اول بود و به صورت هفتگی زمان تمرین افزوده شد؛ به طوری که در هفته ششم زمان تمرین به 30 دقیقه رسید و تا هفته هشتم نیز ثابت ماند. پس از هر جلسه تمرین شنا با شدت متوسط، سرد کردن به صورت غیرفعال به مدت 5 دقیقه در پوشال خشک انجام شد (روگنمو^۱ و دیگران، 2004 ؛ دشنزا^۲ و دیگران، 1993 ؛ هازام^۳ و دیگران، 2008).

موش‌های گروه کنترل در هیچ گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند؛ اما برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان، 5 بار در هفته به مدت 10 تا 15 دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند.

رسید. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم 20 متر بر دقیقه بود و ثابت نگه داشته شد. پروتکل HIIT نیز شامل 10 دقیقه گرم کردن قبل از انجام تمرین بود. در هفته اول تا چهارم شامل 3 وهله دویدن تناوبی شدید با شدت 90 تا 100 درصد VO_{2max} و با سرعت 30 متر بر دقیقه در زمان 4 دقیقه و 3 وهله دویدن تناوبی کم شدت با 50 تا 60 درصد VO_{2max} و با سرعت 20 متر بر دقیقه در زمان 3 دقیقه بود. از هفته پنجم تا هشتم نیز شامل 4 وهله دویدن تناوبی شدید با شدت 90 تا 100 درصد VO_{2max} و با سرعت 30 متر بر دقیقه در زمان 4 دقیقه و 3 وهله دویدن تناوبی کم شدت با 50 تا 60 درصد VO_{2max} و با سرعت 20 متر بر دقیقه در زمان 3 دقیقه اجرا گردید. زمان بدنه اصلی تمرین در هر تکرار به مدت 28 دقیقه بود. نهایتاً تمرین MIST شامل گرم کردن موش‌های صحرایی به مدت 5 دقیقه بر روی نوارگردان بود و در ادامه بدنه اصلی تمرین مربوط به

جدول ۱. جزئیات پروتکل برنامه تمرین ۸ هفته ای برای گروه های مختلف تحقیق

هفته	گروه MIST			گروه HIIT			گروه HCT		گروه MCT	
	تکرار	سرعت در تناوب اول (متر/دقیقه)	سرعت در تناوب دوم (متر/دقیقه)	سرعت (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)	شیب	سرعت (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)		
۱	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲٪	۲۰	۲۰		
۲	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۲	۲٪	۲۰	۲۲		
۳	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۵	۴٪	۲۰	۲۵		
۴	۳	۳۰	۲۰	۲۰	۲۵	۴٪	۲۰	۲۵		
۵	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۲۵	۶٪	۲۰	۳۰		
۶	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	۶٪	۲۰	۳۷		
۷	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	۸٪	۲۰	۳۷		
۸	۴	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	۸٪	۲۰	۳۷		

قفسه سینه، بافت قلب جدا شده و در میکروتیوب های مخصوص در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس برای نگه‌داری به فریزر دمای -70 درجه سانتی‌گراد منتقل شد. کیت سنتز cDNA توسط شرکت ترموسایننتیفیک^۴ که با شماره کاتالوگ K1622 تولید شده است، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج RNA

نحوه نمونه‌برداری بافتی: جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌برداری از حیوانات 48 ساعت پس از آخرین جلسه مداخله صورت گرفت. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین^۴ ($30-50$ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین^۵ ($3-5$ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و بعد از عمل جراحی

1. Rognmo

2. Deschenes

3. Haram

4. Ketamine

5. Xylazine

6. Thermo scientific

مرحله، کاهش دما از ۹۵ درجه سانتی گراد به ۶۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۰/۰۳ درجه سانتی گراد بر ثانیه انجام شد و حدوداً ۲۰ دقیقه طول کشید. پس از اتمام مرحله سوم، منحنی های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم افزار SDS ABI تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت ΔCt برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر مورد، $2^{-\Delta\Delta Ct}$ به دست آمد. علاوه بر این، در این آزمایش تجزیه و تحلیل منحنی ذوب جهت اطمینان از ویژگی محصول PCR انجام شد. در ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن های آنژیوپوتین-۱ و کانستاتین از سایت مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی^۶ (NCBI) استخراج شد. پرایمرها توسط شرکت CinnaGen و با استفاده از نرم افزار AllelID ساخته شدند و پس از آن جهت اطمینان از قرارگیری جفتی پرایمرها، ارزیابی لازم با نرم افزار BLAST صورت گرفت. در تحقیق حاضر، ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه منظور گردید، به طوری که دمای هر چرخه برای ۱۵ ثانیه تا ۹۴ درجه سانتی گراد و برای ۳۰ ثانیه تا ۶۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد. پرایمرهای مربوط به رت ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

و cDNA، حدود ۵۰ میلی گرم از بطن چپ قلب رت ها به صورت جداگانه جهت استخراج RNA تام^۱ به نسبت ۱ به ۱۲ در بافر لیز QIAzol Reagent Lysis هموزن گردید.

تعیین بیان ژن های آنژیوپوتین-۱ و کانستاتین: واکنش Real-Time PCR در دستگاه ای.بی.آی^۲ ساخت کشور آمریکا انجام شد. درون هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه ای، مخلوطی به حجم ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط اصلی سایبرگرین مسترمیکس^۳، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن، ۴ میکرولیتر از DNA ژنومی و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه شد. برنامه زمانی و دمایی واکنش انجام شده در دستگاه Real-Time PCR مدل ABI در سه مرحله اجرا شد. مرحله اول در یک چرخه به منظور فعال سازی آنزیم پلیمرراز^۴ و دناتوره^۵ اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه؛ مرحله دوم به صورت متناوب در طول ۴۰ چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه؛ و مرحله سوم به منظور رسم منحنی تفکیک، برنامه دمایی مورد استفاده شامل دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه؛ انجام شد. در این

جدول ۲. توالی پرایمرها و اندازه محصولات ژن های هدف

ژن	Sequence (3'→5')	رونویسی
آنژیوپوتین-۱	ACCTGCCCATTTCCAGTATC'	5' Angiopoietin 1 (F)
	GAGTCTTTAGGCACCTCTACC'	5' Angiopoietin 1 (R)
کانستاتین	CGGGATCCTGTGTCAGCAT CGAC'	5' Canstatin (F)
	CCCAAGCT TCAGTTCTTCATG'	5' Canstatin (R)

یافته ها

میانگین و انحراف معیار وزن موش های صحرایی گروه های مختلف تحقیق، همچنین مقایسه بیان mRNA مربوط به ژن های آنژیوپوتین-۱ و کانستاتین در جدول ۳ نشان داده شده است. دو مرحله وزن گیری انجام شد که مرحله اول قبل از شروع تحقیق و مرحله دوم پس از اتمام پروتکل تحقیق بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت معنی داری در وزن موش های گروه های مختلف تحقیق وجود ندارد ($p=0/09$).

روش های آماری: بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه ها، برای توصیف کمی داده ها از شاخص های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۷ و برای تعیین تجانس واریانس ها، از آزمون لون^۸ استفاده گردید. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده ها، از آزمون های پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یک طرفه^۹ و آزمون تعقیبی توکی^{۱۰} در سطح معنی داری ۰/۰۵ p استفاده شد. انجام کلیه امور آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و EXCEL انجام شد.

1. Total

2. Applied biosystems (ABI)

3. SYBR green master mix

4. Polymerase taq start hot

5. Denaturation

6. National center for biotechnology information

7. Kolmogorov-Smirnov test

8. Levene's test

9. One-way analysis of variance (ANOVA)

10. Tukey

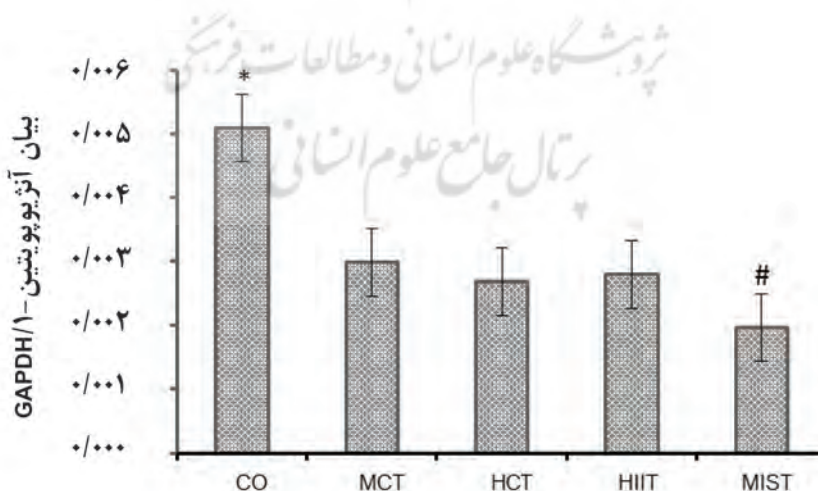
جدول ۳. مقایسه وزن، بیان mRNA مربوط به ژن های آنژیوپویتین-۱ و کانستاتین در گروه های مختلف تحقیق

متغیرها گروه ها	وزن (گرم)	آنژیوپویتین-۱	کانستاتین	p آزمون تحلیل واریانس
گروه CO	۳۱۲/۸±۲۵/۸	۰/۰۰۵۰۹۸۸۷±۰/۰۰۰۱۸۱۴۰	۰/۰۳۲۹۲۴۴۱±۰/۰۰۴۸۳۷۰۹	۰/۰۰۱
گروه MCT	۳۱۳/۷±۲۸/۶	۰/۰۰۲۹۸۷۶۵±۰/۰۰۱۰۸۴۸۱*	۰/۰۰۹۷۶۵۴۶±۰/۰۰۲۳۷۴۸۷*	
گروه HCT	۳۱۰/۳±۳۱/۴	۰/۰۰۲۶۷۵۴۴±۰/۰۰۱۳۲۳۳۸*	۰/۰۰۹۹۹۹۹۹±۰/۰۰۰۹۲۸۷۰*	
گروه HIIT	۲۹۵/۶±۲۷/۲	۰/۰۰۲۷۸۹۹۹±۰/۰۰۰۳۱۸۶۷*	۰/۰۱۷۷۶۵۴۴±۰/۰۰۰۵۵۲۴۳*	
گروه MIST	۳۱۷/۲±۲۰/۳	۰/۰۰۱۹۶۶۵۴±۰/۰۰۰۶۴۵۱۴*	۰/۰۰۷۸۸۸۸۸±۰/۰۰۹۹۶۶۷۸*	

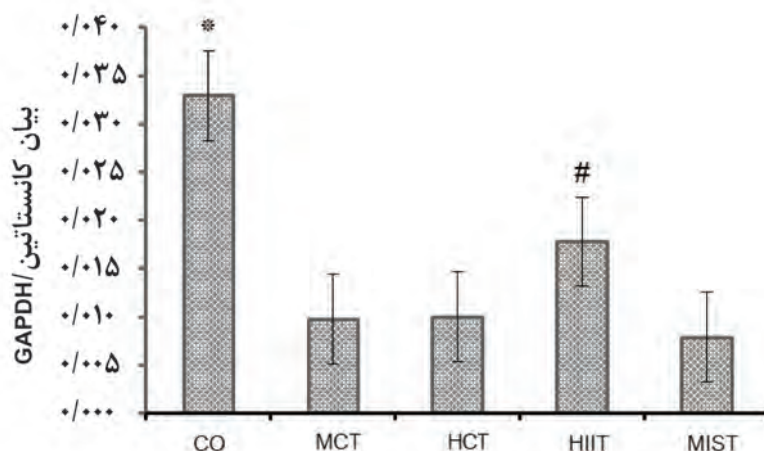
* نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در سطح $p < 0.05$.

و MCT ($p=0.09$)، گروه های HCT و HIIT ($p=0.08$) و گروه های HIIT و MCT ($p=0.07$) مشاهده نشد (شکل ۱). از سوی دیگر، کاهش معنی داری در بیان کانستاتین در همه گروه های تمرینی MCT، HCT، HIIT و MIST نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p=0.01$)، همچنین آزمون تعقیبی آشکار ساخت که کاهش معنی دار بیشتری در بیان کانستاتین گروه های HCT، MCT و MIST نسبت به گروه HIIT وجود دارد ($p=0.01$). این در حالی بود که اختلاف معنی داری در بیان کانستاتین میان گروه های تمرینی HCT و MCT ($p=0.07$)، گروه های MCT و MIST ($p=0.08$) و دو گروه HIIT و MIST ($p=0.21$) مشاهده نگردید (شکل ۲).

به علاوه، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بیان ژن های آنژیوپویتین-۱ و کانستاتین در بافت بطن چپ قلب رت های گروه های تحقیق، تفاوت آماری معنی داری دارد ($p=0.01$). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن آنژیوپویتین-۱ در نتیجه هر چهار روش تمرینی MCT، HCT، HIIT و MIST در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی داری کاهش یافته است ($p=0.01$). در مقایسه چهار نوع تمرین مشخص گردید که بیان آنژیوپویتین-۱ در گروه های MCT، HIIT و HCT نسبت به گروه MIST به طور معنی داری بالاتر است ($p=0.01$)؛ به عبارت دیگر، این شاخص پس از تمرین MIST کاهش معنی دار بیشتری پیدا کرد. این در حالی بود که اختلاف معنی داری بین گروه های HCT



شکل ۱. مقایسه بیان ژن آنژیوپویتین-۱ در بافت قلب موش های صحرایی؛ MIST: گروه تمرین مداومی شنا با شدت متوسط، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید، HCT: گروه تمرین مداومی شدید، MCT: گروه تمرین مداومی با شدت متوسط، Co: گروه کنترل. * نشانه تفاوت معنی دار گروه های تمرینی و کنترل در سطح $p < 0.05$ ؛ # نشانه تفاوت معنی دار سایر گروه های تمرینی با گروه MIST در سطح $p < 0.05$.



شکل ۲. مقایسه بیان ژن کانسنتاین در بافت قلب موش های صحرایی؛ MIST: گروه تمرین تداومی شنا با شدت متوسط، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید، HCT: گروه تمرین تداومی شدید، MCT: گروه تمرین تداومی با شدت متوسط، Co: گروه کنترل. *نشانه تفاوت معنی دار گروه های تمرینی و گروه کنترل در سطح $p \leq 0.05$ ؛ # نشانه تفاوت معنی دار سایر گروه های تمرینی و گروه HIIT در سطح $p \leq 0.05$.

بحث

حساس به انسولین در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معنی داری در بیان آنژیوپوئیتین-۱ در بافت چربی و بافت عضله پهن خارجی نشان ندادند. بر اساس مطالعات گذشته، تمرینات ورزشی می توانند سبب افزایش رگ زایی شده و اختلالات عصبی را از طریق تنظیم مجموعه های از پروتئین ها کاهش دهند (ژانگ^۴ و دیگران، ۲۰۱۳). در این راستا، اردکانی زاده (۲۰۱۸) نیز اظهار داشته است که بیان بیشتر آنژیوپوئیتین-۱ ناشی از تمرین استقامتی میان مدت، می تواند به تنظیم رگ زایی کمک نماید، در حالی که پس از تمرین استقامتی طولانی مدت، افزایش معنی دار بیان آن مشاهده نشده است. به نظر می رسد علت ناهمسویی در بیان آنژیوپوئیتین-۱ می تواند ناشی از زمان اندازه گیری شاخص، نوع نمونه های تحقیق و پروتکل های تمرینی مورد استفاده باشد؛ به طوری که در تحقیقات گذشته عمدتاً زمان اندازه گیری، حین تمرین (گوستافسون و دیگران، ۲۰۰۷)؛ بلافاصله پس از پایان تمرین (وگل و دیگران، ۲۰۱۵) و یا ۷۲ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین (والتون و دیگران، ۲۰۱۵)، بوده است؛ در حالی که در تحقیق حاضر ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین اندازه گیری صورت گرفته است. همچنین نمونه های تحقیق حاضر موش های صحرایی سالم بودند، در حالی که در تحقیقات ذکر شده قبلی، نمونه ها بیمار بوده اند و اندازه گیری بیان آنژیوپوئیتین-۱ در بافت عضلانی (وگل و دیگران، ۲۰۱۵) یا بافت چربی (والتون و دیگران، ۲۰۱۵) صورت گرفته است.

از دیگر نتایج مهم تحقیق حاضر، کاهش معنی دار بیان کانسنتاین

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که انجام ۸ هفته مداخله در قالب HIIT، HCT، MCT و MIST سبب کاهش معنی دار بیان ژن آنژیوپوئیتین-۱ در بافت بطن چپ قلب موش های می گردد. هم راستا با نتایج تحقیق حاضر، عباسی دلویی و دیگران (۲۰۱۶) پس از یک دوره ۶ هفته ای تمرین هوازی، کاهش سطوح آنژیوپوئیتین-۱ را گزارش نموده اند. همچنین کاهش بیان آنژیوپوئیتین-۱ در بافت چربی سفید کشته ران موش های نر نژاد 6J/C57BL پس از ۶ هفته تمرین اختیاری گزارش شده است (لی^۱، ۲۰۱۸). مکانیسم احتمالی کاهش سطوح آنژیوپوئیتین-۱ به طور قابل توجهی مربوط به پریسیته ها است، زیرا آن ها می توانند عروق را تثبیت نموده و در نتیجه رگ زایی جدید را مهار نمایند (ریباتی^۲ و دیگران، ۲۰۱۱). هرچند گزارش شده است که تغییرات عوامل رشد اندوتلیال عروقی، عامل محدودکننده رگ زایی است (کارملایت^۳ و دیگران، ۲۰۰۳) که آنژیوپوئیتین ها از جمله آنژیوپوئیتین-۱، اثرات فیزیولوژیکی عامل رشد اندوتلیال عروقی را تعدیل می کنند (اولسون و دیگران، ۲۰۰۶). نتایج برخی از مطالعات با نتایج تحقیق حاضر ناهمسو است، به طوری که تیمسون و دیگران (۲۰۰۵) پس از یک دوره ۶ هفته ای تمرین هوازی روی چرخ کارسنج، با شدت ۶۵ درصد VO_{2max} ، افزایش بیان آنژیوپوئیتین-۱ را در مردان کم تحرک گزارش کرده اند. با این حال نتایج والتون و دیگران (۲۰۱۵) نشان داده است که پس از یک دوره ۱۲ هفته ای با شدت ۶۵ درصد VO_{2max} روی چرخ کارسنج؛ افراد مقاوم به انسولین و افراد

1. Lee
2. Ribatti

3. Carmeliet
4. Zhang

تمرینی تداومی با شدت زیاد که بر اساس پروتکل HIIT تعریف شده است، می تواند از عوارض جانبی عروقی جلوگیری کند. مطالعات قبلی حاکی از آن است که انجام تمرین به صورت غیر اجباری، از طریق تعدیل سیستم ایمنی و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، سبب مهار آپوپتوزیس در موش ها می شود (آوولا⁶ و دیگران، ۲۰۰۱). خصوصاً تمرینات شنا به عنوان یک درمان غیردارویی برای بیماران عروق کرونر قلب تجویز شده است، زیرا موجب کاهش سطح سایتوکین های التهابی بدون ایجاد استرس اکسیداتیو می شود (مریدیت و دیگران، ۲۰۱۱). از سوی دیگر، نشان داده شده است که ورزش شنا به عنوان یک ورزش بدون تحمل وزن^۷ نسبت به ورزش های با تحمل وزن^۸، موجب اعمال فشار کمتر به ساختار عضلانی-اسکلتی می شود. هنگام ورزش شنا، وزن بدن بصورت خودبخودی حمایت می شود، بنابراین این مزیت را دارد که هیچ گونه بار اضافی به فرد وارد نمی شود و به نظر می تواند موجب کاهش عوامل التهابی در مسیرهای رگ زایی شود (التریفی^۹ و دیگران، ۲۰۱۹). این در حالی است که کاهش التهاب مورد انتظار در مطالعات پیشین، با کاهش بیان آنژیوپویتین-۱ در مطالعه حاضر که می تواند نشان دهنده کاهش رگ زایی در بافت قلب باشد؛ همسو نیست. بر اساس داده های محدود، تأثیر ورزش شنا بر روی تمامی نتایج تجزیه و تحلیل شده قلبی-عروقی، عضلانی و ریوی؛ مشابه سایر ورزش های هوازی است (لاهارت^{۱۰} و دیگران، ۲۰۱۷)؛ اما از آنجا که هیچ مطالعه ای یافت نشد که به بررسی اثر ورزش هوازی شنا بر متغیرهای مورد مطالعه در طرح حاضر پرداخته باشد، سازوکارهای احتمالی دخیل در مورد مزایای ورزش شنا نسبت به سایر ورزش های هوازی در زمینه رگ زایی با اطمینان قابل بحث و تفسیر نیستند. بدین ترتیب، مطالعات آتی جهت بررسی سطوح شاخص های التهابی با پروتکل های مشابه پیشنهاد می شود.

نتیجه گیری: به طور کلی نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که تمرینات تداومی با شدت متوسط، تداومی شدید، تناوبی شدید و تداومی شنا با شدت متوسط؛ همه به طور موثر سبب کاهش بیان ژن های آنژیوپویتین-۱ و کانستاتین می شوند؛ این بدان معناست که این تمرینات ورزشی می توانند از طریق کنترل فعالیت این ژن ها، منجر به کاهش پیامدهای ناشی از آسیب های قلبی شوند. اگرچه نوع، شدت و مدت تمرینات هوازی می تواند در میزان پاسخ دهی موثر باشد، ولی به نظر می رسد که احتمالاً تمرینات شنای تداومی با شدت متوسط، با توجه به ویژگی خاص خود که عدم تحمل وزن است، می تواند مداخله مؤثرتری برای تعدیل شاخص های رگ زایی-ضد رگ زایی باشد. در تحقیق حاضر بسیاری از متغیرها از قبیل گونه، نژاد، جنس، وزن، عوامل محیطی (صدا، نور، رطوبت، دما)، عوامل تمرینی (نوع، مدت و شدت

در بطن چپ قلب موش های صحرایی پس از تمرینات HCT، MCT، HIIT و MIST بود. بر اساس جستجوی صورت گرفته، گزارش های مشابهی یافت نشد و به نظر می رسد سازوکار احتمالی کاهش بیان کانستاتین به دنبال ۸ هفته پروتکل تمرین هوازی، مهار تکثیر و مهاجرت سلول اندوتلیال سرمی توسط این متغیر و نقش آن در آپوپتوزیس باشد؛ بدون این که اثر مهاری بر تکثیر یا آپوپتوزیس سلول های غیراندوتلیال داشته باشد (منصوری و دیگران، ۲۰۱۲). کانستاتین در دو هفته اول پس از سکنه قلبی، سبب تحریک تکثیر، ترشح ماتریکس متالوپروتئیناز، افزایش بیان سیکلواکسی ژناز-۱۲ (COX-2) و مهار انقباض کلاژن در میوفیبروبلاست می شود؛ اما پس از ۲ هفته، کاهش بیان کانستاتین در میوکارد نیز ممکن است از طریق کاهش تکثیر و تخریب ماتریکس خارج سلولی و نیز تحریک انقباضی در میوفیبروبلاست ها رخ دهد (سوگی یاما و دیگران، ۲۰۱۷). مشخص شده است که کانستاتین فعالیت کانال کلسیم نوع L^۱ (LTCCs) را در کاردیومیوسیت های بطنی تعدیل می کند. افزایش بیش از حد کلسیم سیتوزول از طریق فعال سازی LTCCs و گیرنده آدرنرژیک β سبب آپوپتوزیس کاردیومیوسیت ها می شود. گزارش شده است که کانستاتین، آپوپتوزیس تحریک شده در اثر گیرنده آدرنرژیک β را در کاردیومیوسیت ها مهار می کند و نقش مهمی در تثبیت عملکرد قلبی از طریق تعدیل فعالیت LTCC در کاردیومیوسیت ها ایفا می نماید (ایموتو^۲ و دیگران، ۲۰۱۸). با توجه به بیان متضاد کانستاتین در بافت های سالم و آسیب دیده، محققان به دنبال یافتن راهکارهایی جهت کاهش بیان کانستاتین در بافت های سالم می باشند تا موجب کاهش آپوپتوزیس سلول های سالم شده و در مقابل، در بافت های ناسالم، با افزایش بیان کانستاتین، میزان رگ زایی سلول های آسیب دیده را کاهش دهند. از آنجا که کاهش بیان کانستاتین متعاقب تمرینات ورزشی در تحقیق حاضر مشاهده شده است، به نظر می رسد این گونه تمرینات را بتوان به عنوان یک راهکار درمانی غیردارویی در تعدیل رگ زایی پیشنهاد نمود.

تحقیقات در زمینه نوع و شدت تمرینات نشان داده است که تمرینات HIIT علی رغم حجم کم، می تواند اثراتی مشابه در مقایسه با تمرینات MCT ایجاد کرده و اثرات بالینی مثبتی در بهبود علائم بیماری های قلبی-عروقی داشته باشد (کاسیدی^۵ و دیگران، ۲۰۱۶). در حالی که راموس و دیگران (۲۰۱۵) با مقایسه اثر تمرینات تناوبی شدید و تداومی متوسط دریافته اند که تمرینات تناوبی شدید، اثرگذاری مثبت بیشتری بر شاخص های قلبی-عروقی نسبت به تمرینات تداومی با شدت متوسط دارند. این برتری در بهبود عملکرد عروقی می تواند در نتیجه اثرات مثبت این نوع تمرین بر نیمرخ لیپیدی در بیماران قلبی باشد. این محققین نشان داده اند که یک دوره ریکاوری بین دوره های

1. Cyclooxygenase-2
2. L-type calcium channel
3. Adrenergic receptor
4. Imoto
5. Cassidy

6. Avula
7. Non-weight bearing
8. Weight bearing
9. Altarifi
10. Lahart

پژوهش حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام نور مرکز کرج است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند که از زحمات مدیریت محترم آزمایشگاه هیستوپاتولوژی تهران سرکار خانم دکتر مظاهری و پرسنل محترمشان قدردانی کنند.

فعالیت ورزشی) و برنامه غذایی تحت کنترل بودند، با این حال با محدودیت‌هایی از جمله عدم کنترل فعالیت شبانه آزمودنی‌ها، به ویژه گروه کنترل و تداخل احتمالی آن بر نتایج تحقیق مواجه بودیم. از این منظر و با توجه به عدم وجود شواهد کافی در این زمینه، پژوهش‌های بیشتری لازم است تا به نتایج قطعی و روشن دست یابیم.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی در

منابع

- Abbassi Dalooi, A., Abdi, A., Abaszadeh Sorati, H., & Ahmadi, M. (2016). Angiogenic mediators plasma response to aerobic exercise with crataegus elbursensis extract in male's rat. *Journal of Medicinal Plants*, 4(60), 76-84. [Persian]
- Ahmadian, M., Azizbeigi, K., Delfan, M., & Atashak, S. (2018). The effect of high intensity interval training on stat-3 and angiopoietin-1 gene expression, and tie-2 protein in mice with breast cancer. *Iranian Quarterly Journal of Breast Disease*, 11(1), 37. [Persian]
- Altarifi, A. A., Kalha, Z., Kana'an, S. F., Alfaqih, M. A., & Alsalem, M. I. (2019). Effects of combined swimming exercise and non-steroidal anti-inflammatory drugs on inflammatory nociception in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 17(5), 4303-11.
- Ardakanizade, M. (2018). The effects of mid and long term endurance exercise on heart angiogenesis and oxidative stress. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(8), 800-805.
- Avula, C. P., Muthukumar, A. R., Zaman, K., McCarter, R., & Fernandes, G. (2001). Inhibitory effects of voluntary wheel exercise on apoptosis in splenic lymphocyte subsets of C57BL/6 mice. *Journal of Applied Physiology*, 91(6), 2546-52.
- Barzegari, A., Asad, M. R., & Ranjbar, H. (2020). Effect of one bout continuous versus intermittent aerobic exercise on plasma levels of intercellular adhesion molecules 1 and vascular cell adhesion molecules 1 in patients with coronary heart disease. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 27(11), 2052-2062. [Persian]
- Barzegari, A., & Mirdar, S. (2018). The Effect of 12 weeks of submaximal swimming exercise on resting levels of VEGF in rats exposed to nicotine-derived nitrosamine ketone. *Qom University of Medical Sciences Journal*, 11(12), 25-34. [Persian]
- Bayati, M., Farzad, B., Gharakhanlou, R., & Agha-Alinejad, H. (2011). A practical model of low-volume high-intensity interval training induces performance and metabolic adaptations that resemble 'all-out' sprint interval training. *Journal of Sports Science and Medicine*, 10, 571-76.
- Bix, G., Castello, R., Burrows, M., Zoeller, J. J., Weech, M., Iozzo, R. A., ... & Iozzo, R. V. (2006). Endorepellin in vivo: targeting the tumor vasculature and retarding cancer growth and metabolism. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(22), 1634-46.
- Braith, R. W., & Stewart, K. J. (2006). Resistance exercise training: its role in the prevention of cardiovascular disease. *Circulation*, 113(22), 2642-50.
- Burgomaster, K. A., Howarth, K. R., Phillips, S. M., Rakobowchuk, M., Macdonald, M. J., McGee, S. L., & Gibala, M. J. (2008). Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *The Journal of Physiology*, 586(1), 151-60.

- Carmeliet, P. (2003). Angiogenesis in health and disease. *Nature Medicine*, 9, 653-660.
- Cassidy, S., Thoma, C., Hallsworth, K., Parikh, J., Hollingsworth, K. G., Taylor, R., & Trenell, M. I. (2016). High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*, 59(1), 56-66.
- Cho, C. H., Kim, K. E., Byun, J., Jang, H. S., Kim, D. K., Baluk, P., & Koh, G. Y. (2005). Long-term and sustained COMP-Ang1 induces long-lasting vascular enlargement and enhanced blood flow. *Circulation Research*, 97, 86-94.
- Deschenes, M. R., Maresh, C. M., Crivello, J. F., Armstrong, L. E., Kraemer, W. J., & Covault, J. (1993). The effects of exercise training of different intensities on neuromuscular junction morphology. *Journal of Neurocytology*, 22(8), 603-15.
- Fagiani, E., & Christofori, G. (2013). Angiopoietins in angiogenesis. *Cancer Letters*, 328, 18-26.
- Fisher, G., Brown, A. W., Brown, M. M. B., Alcorn, A., Noles, C., Winwood, L., ... & Allison, D. B. (2015). High intensity interval-vs moderate intensity-training for improving cardiometabolic health in overweight or obese males: A randomized controlled trial. *PLOS ONE*. 10(10), e0138853.
- Gustafsson, T., Rundqvist, H., Norrbom, J., Rullman, E., Jansson, E., & Sundberg, C. J. (2007). The influence of physical training on angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 103, 1012-20.
- Han, G. S. (2013). Endurance exercise effects on cardiac hypertrophy in mice. *Journal of Physical Therapy Science*, 25, 1525-27.
- Haram, P. M., Kemi, O. J., Lee, S. J., Bendheim, M. Ø., Al-Share, Q. Y., Waldum, H. L., ... & Ulrik, W. (2008). Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular Research*, 81(4), 723-32.
- Helgerud, J., Høydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M., & Hoff, J. (2007). Aerobic high-intensity intervals improve VO2max more than moderate training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39(4), 665-71.
- Hosseinzadeh, S., Dabidi Roshan, V., Mahjoub, S., & Taghipour Darzi, M. (2012). The interactive effect of lead acetate and endurance training on the brain-derived neurotrophic factor and malondialdehyde levels in rats cortex. *Journal of babol university of medical sciences*, 14(2), 7-15. [Persian]
- Imoto, K., Hirakawa, M., Okada, M., & Yamawaki, H. (2018). Canstatin modulates L-type calcium channel activity in rat ventricular cardiomyocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 499(4), 954-59.
- Lahart, I., & Metsios, S. G. (2017). Chronic physiological effects of swim training interventions in non-elite swimmers: A systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 48(1), 1-23.
- Lee, H. J. (2018). Exercise training regulates angiogenic gene expression in white adipose tissue. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 14(1), 16-23.
- Lobov, I. B., Brooks, P. C., & Lang, R. A. (2002). Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 11205-210.
- Mansouri, K., Seifi, P., Mostafaei, A., & Mohammadi Motlaq, H. R. (2012). Study of the mechanisms and causes related to angiogenesis. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 17(2), 96-107. [Persian]

- Meredith-Jones, K., Waters, D., Legge, M., & Jones, L. (2011). Upright water-based exercise to improve cardiovascular and metabolic health: a qualitative review. *Complementary Therapies in Medicine*, 19(2), 93-103.
- Olsson, A. K., Dimberg, A., Kreuger, J., Claesson-Welsh, L. (2006). VEGF receptor signaling in control of vascular function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7, 359-71.
- Ramos, J. S., Dalleck, L. C., Tjonna, A. E., Beetham, K. S., & Coombes, J. S. (2015). The impact of high intensity interval training versus moderate intensity continuous training on vascular function a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 45, 679-92.
- Ribatti, D., Nico, B., & Crivellato, E. (2007). The role of pericytes in angiogenesis. *The International Journal of Developmental Biology*, 55(3): 261-8.
- Rognmo, Ø., Hetland, E., Helgerud, J., Hoff, J., & Slørdahl, S. A. (2004). High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*, 11(3), 216-22.
- Rosano, J. M., Cheheltani, R., Wang, B., Vora, H., Kiani, M. F., & Crabbe, D. L. (2012). Targeted delivery of VEGF after a myocardial infarction reduces collagen deposition and improves cardiac function. *Cardiovascular Engineering and Technology*, 3, 237-47.
- Sugiyama, A., Mitsui, A., Okada, M., & Yamawaki, H. (2019). Cathepsin S degrades arresten and canstatin in infarcted area after myocardial infarction in rats. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 16, 81(4), 522-531.
- Sugiyama, A., Okada, M., Yamawaki, H. (2017). Pathophysiological roles of canstatin on myofibroblasts after myocardial infarction in rats. *European Journal of Pharmacology*, 807, 32-43.
- Timmons, J. A., Jansson, E., Fischer, H., Gustafsson, T., Greenhaff, P. L., Riddén, J., Rachman, J., & Sundberg, C. J. (2005). Modulation of extracellular matrix genes reflects the magnitude of physiological adaptation to aerobic exercise training in humans. *BMC Biology*, 3, 19, 1-10.
- Vieira, R. P., Toledo, A. C., Silva, L. B., Almeida, F. M., Damaceno-Rodrigues, N. R., Caldini, E. G., ... & Dolhnikoff, M. (2012). Anti-inflammatory effects of aerobic exercise in mice exposed to air pollution. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 44, 1227-34.
- Vogel, J., Kruse, C., Zhang, M., & Schröder, K. (2015). Nox4 supports proper capillary growth in exercise and retina neo-vascularization. *The Journal of Physiology*, 593(9), 2145-54.
- Walton, R. G., Finlin, B. S., Mula, J., Long, D. E., Zhu, B., & Fry, C., ... & Peterson, C. A. (2015). Insulin-resistant subjects have normal angiogenic response to aerobic exercise training in skeletal muscle, but not in adipose tissue. *Physiological Reports*, 3(6), e12415.
- Zhang, P., Yu, H., Zhou, N., Zhang, J., Wu, Y., Zhang, Y., ... & Hu, Y. (2013). Early exercise improves cerebral blood flow through increased angiogenesis in experimental stroke rat model. *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation*, 26, 10, 43.