



Comparison of the effect of eight weeks of different aerobic training methods on the expression of angiostatic genes TSP-2 and TGF- β in the subcutaneous adipose tissue of rats

Zohreh Yaghoubi¹, Saeid Naghibi², Maryam Vatandoust^{2*}

1. MSc of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Alborz, Iran.
2. Assistant Professor at Exercise Physiology Department, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Aim: The development of new blood vessels involves the stimulation of growth, migration, and stabilization, which is influenced by various stimulating and inhibiting factors such as Thrombospondin-2 (TSP-2) and transforming growth factor-beta (TGF- β). This study aimed to compare the effect of eight weeks of different aerobic training methods on the expression of TSP-2 and TGF- β genes in subcutaneous adipose tissue of rats. **Materials and Methods:** The study conducted an experimental research on 32 male Wistar rats to investigate the effects of different training protocols on gene expression. The rats were divided into four groups (n=8): scheme, high-intensity training (HIT), moderate-intensity training (MIT), and high-intensity interval training (HIIT). The training protocols involved treadmill running for eight weeks, with varying intensities and durations for each group. Gene expression was measured by RT-PCR method. The data were analyzed with one-way ANOVA and Tukey's tests at a significance level of $p \leq 0.05$. **Results:** The results of the study show that all three training methods led to a significant reduction in TGF- β expression compared to the scheme group. However, no significant difference was observed between training methods. It was also found that only the HIT and MIT methods caused a significant decrease in TSP-2 expression compared to the scheme group, and that HIT could significantly reduce the expression of TSP-2 compared to the HIIT protocol. **Conclusion:** In conclusion, it is suggested that aerobic exercises, particularly HIT with specific intensity and duration, may be effective in improving blood supply to fat tissue and subsequently reducing fat mass through their impact on the expression of angiostatic genes.

Keywords: Exercise training, Transforming growth factor-beta, Thrombospondin-2, Angiogenesis, Adipose tissue.

Cite this article:

Yaghoubi, Z., Naghibi, S., & Vatandoust, M. (2024). Comparison of the effect of eight weeks of different aerobic training methods on the expression of angiostatic genes TSP-2 and TGF- β in the subcutaneous adipose tissue of rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 12(30), 28-40.

* Corresponding Author, Address; Exercise Physiology Department, Payame Noor University, P.O. Box 4697-19395; Tehran, Iran; Email: Maryam.vatandost@pnu.ac.ir  <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.5881.1753>





مقایسه اثر هشت هفته روش‌های مختلف تمرین هوازی بر بیان ژن‌های آنژیوستاتیک TGF- β و TSP-2 بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی

زهره یعقوبی^۱، سعید نقیبی^۲، مریم وطن دوست^{۲*}

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، البرز، ایران.

۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: فرآیند توسعه عروق جدید، شامل تحریک رشد، مهاجرت و تثبیت عروق جدید می‌شود که به شدت تحت تاثیر عوامل مختلف تحریک کننده و مهار کننده، مانند ترومبوسپوندين-۲ (TSP-2) و عامل رشد تغییر شکل دهنده - بتا (TGF- β) قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه، مقایسه اثر هشت هفته روش‌های مختلف تمرین هوازی بر بیان ژن‌های آنژیوستاتیک TGF- β و TSP-2 بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی بود. **روش تحقیق:** در این پژوهش تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر ویستار با میانگین وزن ۲۳۷ گرم به صورت تصادفی به چهار گروه (هشت سر در هر گروه) شامل گروه‌های شم، تمرین با شدت بالا (HIT)، تمرین با شدت متوسط (MIT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. پروتکل‌های تمرین شامل دویدن روی نوارگردان به مدت هشت هفته با شدت‌ها و مدت‌های مختلف بود. اندازه‌گیری بیان ژن‌ها با روش RT-PCR صورت گرفت. داده‌های حاصل با آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌راهه و توکی، در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ تحلیل شدند. **یافته‌ها:** هر سه شیوه تمرینی، بیان TGF- β را در مقایسه با گروه شم، به طور معنی داری کاهش داد؛ اما تفاوت اثر معنی داری بین شیوه‌های تمرینی مشاهده نشد. با این حال، تنها پروتکل‌های HIT و MIT باعث کاهش معنی دار بیان TSP-2 در مقایسه با گروه شم شدند و HIT در مقایسه با پروتکل HIIT، کاهش بیشتری در بیان TSP-2 ایجاد کرد. **نتیجه‌گیری:** احتمالاً تمرینات هوازی، به ویژه HIT با شدت و مدت مشخص، از طریق تاثیر بر بیان ژن‌های آنژیوستاتیک در بهبود خون‌رسانی به بافت چربی و متعاقباً کاهش توده چربی، موثر هستند.

واژه‌های کلیدی: تمرینات ورزشی، عامل رشد تغییر شکل دهنده - بتا، ترومبوسپوندين-۲، آنژیوژنیزس، بافت چربی.

مقدمه

افزایش تجمع چربی‌های زیر جلدی، با افزایش خطر بیماری کرونر قلب، سکنه مغزی، پرفشاری خون، پیری زودرس، دیابت نوع II و بعضی از سرطان‌های خاص ارتباط دارد؛ به طوری که شاخص توده بدنی بیشتر از ۲۵ کیلوگرم بر متر مربع، موجب افزایش مقاومت به انسولین، افزایش بیش از حد انسولین در خون و قند خون بالا شده و به افزایش خطر دیابت تا بیش از ۶۰ برابر در زنان و ۴۲ برابر در مردان منجر می‌گردد (جیدی^۱ و دیگران، ۲۰۲۰). طبق گزارش‌ها، حدود ۵۰ درصد از بیماران دیابتی تشخیص داده شده چاق هستند؛ بیماران چاق ۳/۵ برابر بیشتر در معرض ابتلا به فشار خون هستند، و در حالی که ۶۰ تا ۷۰ درصد فشار خون بالا در بزرگسالان، ممکن است به چاقی نسبت داده شود؛ نتایج یک مطالعه متا آنالیز روی ۲/۸۸ میلیون نفر، مشخص کرده که چاقی با افزایش نرخ مرگ و میر با نسبت خطر ۱/۱۸ برابری همراه است (ابدلال^۲ و دیگران، ۲۰۱۷). نقش اصلی متابولیک بافت چربی زیر جلدی (که حدود ۸۵ درصد از کل چربی بدن را تشکیل می‌دهد)، ذخیره‌سازی چربی‌ها و به حرکت درآوردن آن‌ها است. انتقال اسیدهای چرب آزاد شده از بافت چربی، نیازمند مکانیسم‌های خاص انتقالی و جریان خون کافی است؛ بنابراین، جریان خون بافت چربی زیر جلدی با عملکرد متابولیک بافت رابطه دارد. در مواردی خاصی، از جمله بعد از خوردن یک وعده غذایی و حین فعالیت ورزشی، جریان خون بافت چربی زیر جلدی افزایش می‌یابد (فاین و کارپه^۳، ۲۰۱۴). چگالی عروق بافت چربی، از رساندن سوخت به این بافت و برون‌ده انرژی از سلول‌های چربی پشتیبانی می‌کند. با توجه به نقش‌های متعدد و محوری عروق بافت چربی، اختلال در ظرفیت رگ‌زایی ممکن است زمینه ساز بیماری‌های مرتبط با چاقی، مانند دیابت و بیماری متابولیک قلبی باشد (کرورا^۴ و دیگران، ۲۰۲۲).

آنژیوژنیز^۵ یا رگ‌زایی، به تشکیل عروق جدید از عروق پیشین اشاره دارد و توسعه عروق جدید که به صورت کلی شامل تحریک رشد، مهاجرت و ثبات عروق جدید

می‌باشد؛ بسیار پیچیده است و به شدت تحت تاثیر عوامل مختلف تحریک کننده و مهار کننده؛ قرار می‌گیرد (پانیا^۶ و دیگران، ۲۰۱۸). یکی از این عوامل مهارکننده، عامل رشد تغییرشکل دهنده - بتا^۷ (TGF- β) می‌باشد که به عنوان تنظیم کننده اصلی بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک شناخته شده است. در مسیر پیام رسانی معمول، لیگندهای TGF- β به گیرنده‌های آن‌ها متصل می‌شوند و در نهایت، پروتئین‌های Smad که در تنظیم رونویسی نقش دارند را فعال می‌کنند. شواهد نشان از آن دارند که TGF- β می‌تواند تکثیر سلول‌های اندوتلیال عروقی را مهار کند (گومانز^۸ و دیگران، ۲۰۰۳). از دیگر عوامل آنژیوستاتیک^۹، ترومبوسپوندين^{۱۰} (TSP-2)؛ یک پروتئین بزرگ چند مودولار^{۱۱} در ماتریکس خارج سلولی است. مشخص شده که مهار بیان TSP-2، منجر به افزایش میزان فعالیت متالوپروتئیناز^{۱۲} (MMP-2) ماتریکس می‌شود (جاین^{۱۳}، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد که تشکیل رگ‌های خونی به سطوح MMP-2 در بافت‌ها، حساس است (آرمسترانگ و بورنستین^{۱۴}، ۲۰۰۳). علاوه بر این، نشان داده شده است که خانواده TSP، فراهمی زیستی و فعالیت عامل رشد اندوتلیال عروقی^{۱۵} (VEGF)، به عنوان مهم‌ترین و اصلی‌ترین عامل آنژیوژنیز را سرکوب می‌کند. عامل VEGF که محرکی قوی برای مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکه عروقی است، می‌تواند از طریق مسیر پیام رسانی نیتریک اکساید^{۱۶} و به واسطه فعالیت نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی^{۱۷} (eNOS) فعال شود (آمانو^{۱۸}، ۲۰۰۳). در مقابل، مهار مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و مهار پیام رسانی نیتریک اکساید، از اعمال اصلی TSPها محسوب می‌شود (لاولر^{۱۹}، ۲۰۱۲).

بافت چربی سفید (WAT) به عنوان یک اندام درون ریز، هومئوستاز انرژی سیستمیک را تنظیم می‌کند و از آنجا که دارای انعطاف‌پذیری بالایی است، گسترش آن به دنبال تغذیه بیش از حد، با بیماری‌های متابولیک همراه است. گسترش این بافت به شدت به میزان آنژیوژنیز آن بستگی دارد که به عنوان تشکیل عروق خونی جدید

1. Jayedi

2. Abdelaal

3. Frayn & Karpe

4. Corvera

5. Angiogenesis

6. Panina

7. Transforming growth factor-beta

8. Goumans

9. Angiostatic

10. Thrombospondin-2

11. Modular

12. Metalloproteinase-2

13. Jain

14. Armstrong & Bornstein

15. Vascular endothelial growth factor

16. Nitric oxide

17. Endothelial nitric oxide synthase

18. Amano

19. Lawler

نشان داده شده که ورزش هوازی منظم و مداوم در موش‌ها، می‌تواند ظرفیت آنژیوژنیزیس را در سطح بالایی حفظ کند؛ اما تغییر معنی داری به طور ویژه در بیان ژن TSP-2 ایجاد نمی‌کند (بائک^۹ و دیگران، ۲۰۲۲).

از آنجا که مطالعات محدودی در زمینه آنژیوژنیزیس در بافت چربی در پی سازگاری با فعالیت‌های ورزشی (به‌خصوص از نظر شدت تمرین) صورت گرفته است و سازوکارهای این فرآیند مهم که می‌تواند در نهایت، با افزایش توزیع جریان خون به بافت چربی، در کاهش توده چربی و التهاب سیستمیک ناشی از آن موثر باشد (روتکوفسکی و دیگران، ۲۰۰۹)؛ هنوز ناشناخته است؛ در مطالعه حاضر به مقایسه اثر هشت هفته تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط^{۱۰} (MIT)، تمرین هوازی تداومی فزاینده با شدت بالا^{۱۱} (HIT) و تمرین تناوبی با شدت بالا^{۱۲} (HIIT)؛ بر بیان ژن‌های آنژیوستاتیک TSP-2 و TGF- β بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی پرداخته شد.

روش تحقیق

نمونه آماری: پژوهش حاضر از نوع تجربی است که روی ۳۲ سر موش صحرایی نر ویستار هشت هفته‌ای، با میانگین وزن بدن 23 ± 23 گرم (خریداری شده از انستیتو رازی) انجام گرفت. موش‌ها در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت 55 ± 4 درصد، و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت؛ در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش، دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌های صحرایی بر اساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هلسینکی (۱۹۶۴) انجام شد. این مقاله تاییدیه اخلاق با شناسه IR.PNU.REC.1400.058 از دانشگاه پیام نور دریافت کرده است. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به چهار گروه هشت تایی شامل گروه شم، MIT، HIT، HIIT تقسیم شدند.

روش اجرای پژوهش: پیش از اجرای پروتکل‌های تمرین، آشناسازی با تمرینات ورزشی به مدت دو هفته و پنج جلسه در هفته صورت گرفت (هویدال^۱ و دیگران، ۲۰۰۷).

از عروق قدیمی تعریف می‌شود. هنگامی که بافت چربی گسترش می‌یابد، یک شبکه مویرگی متراکم و بسته، به دنبال آدیپوژنیزیس^۱ ایجاد می‌شود که خود می‌تواند عوامل آنژیوژنیک^۲ این بافت را مهار نماید. در صورت وجود شبکه مویرگی گسترده و عوامل آنژیوژنیک مانند VEGF نوع A در این بافت، می‌توان از گسترش بافت چربی پیشگیری کرد (چو^۳ و دیگران، ۲۰۰۷). علاوه بر این، گردش خون سیستمیک، قابلیت‌های انتقال آدیپوکاین‌ها^۴ و سوخت لازم برای عملکرد مناسب بافت چربی را فراهم می‌کند. گردش خون موضعی بافت چربی به شدت تحت تاثیر گسترش بافت چربی قرار می‌گیرد و با گسترش بافت چربی، زیرمجموعه‌ای از آدیپوکاین‌ها، می‌توانند باعث اختلال عملکرد اندوتلیال شوند. این در حالی است که آنژیوژنیزیس، برای مقابله با هایپوکسی ناشی از گسترش بافت، ضروری به نظر می‌رسد (روتکوفسکی^۵ و دیگران، ۲۰۰۹).

امروزه ورزش و فعالیت بدنی به عنوان یک ابزار درمانی در چارچوب علم پزشکی و در زمینه درمان نارسایی‌ها و اختلالات جسمانی و روانی؛ جایگاه ویژه‌ای را بخود اختصاص داده است و می‌تواند از بروز عوارض ناشی از بی‌تحركی جلوگیری کند. شواهد اخیر نشان از آن دارند که فعالیت ورزشی می‌تواند علاوه بر تحریک آنژیوژنیزیس در بافت عضلات اسکلتی و قلبی، در بافت چربی نیز اثرگذار باشد (لی^۶، ۲۰۱۸). در همین راستا، لی (۲۰۱۸) در پژوهشی تجربی نشان داده که شش هفته دوییدن داوطلبانه روی نوارگردان، بیان عوامل محرک آنژیوژنیزیس در بافت چربی را تغییر می‌دهد. در مطالعه دیگری گزارش شده که هشت هفته تمرین هوازی کم شدت، منجر به افزایش معنی‌دار بیان اصلی‌ترین عامل آنژیوژنیک، یعنی VEGF نوع A در بافت چربی موش‌های چاق می‌گردد (دیسانزو و یو^۷، ۲۰۱۴). همچنین گزارش شده است که یک جلسه تمرین هوازی با شدت متوسط در بزرگسالان چاق و دارای اضافه وزن (بی‌تحرك یا با ورزش منظم)، منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن VEGA نوع A در بافت چربی می‌شود (وان پلت^۸ و دیگران، ۲۰۱۷). از طرف دیگر، اخیراً در پژوهشی

1. Adipogenesis
2. Angiogenic
3. Cho
4. Adipokines
5. Rutkowski

6. Lee
7. Disanzo & You
8. Van Pelt
9. Baek
10. Medium-intensity continuous aerobic

training
11. High-intensity progressive continuous aerobic training
12. High-intensity interval training
13. Høydal

با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت دو دقیقه شروع به دویدن کردند و هر دو دقیقه یک بار به میزان دو متر بر دقیقه، تا سر حد واماندگی؛ سرعت افزایش یافت و بدین ترتیب، شدت تمرینی هفته اول هر گروه مشخص گردید. پس از آن، تمرینات به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته بر اساس دستورالعمل هویدال و دیگران (۲۰۰۷) شروع شد (جدول یک). موش‌های صحرایی گروه شم در هیچ گونه برنامه 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، بر روی نوارگردان بی حرکت ماندند.

در پروتکل آشناسازی، مطابق دستورالعمل هویدال و دیگران (۲۰۰۷)، تمرینات ورزشی به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت پنج متر بر دقیقه و شیب صفر درجه آغاز شد و در پایان دو هفته دوره آشنایی با نوارگردان، به سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، شیب پنج درجه و مدت زمان ۱۵ دقیقه؛ افزایش یافت. پس از تقسیم بندی موش‌های صحرایی در گروه‌های تمرینی، اکسیژن مصرفی بیشینه (VO_2max) حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان مطابق با دستورالعمل هویدال و دیگران (۲۰۰۷) و با روش اجرای غیرمستقیم ارزیابی شد (هویدال و دیگران، ۲۰۰۷). ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد VO_2max انجام شد. سپس موش‌های صحرایی

جدول ۱. شیوه اجرای تمرینات مختلف هوازی در گروه‌های پژوهش

گروه‌ها	مجموع زمان گرم کردن و سرد کردن (دقیقه)	مدت زمان بدنه اصلی تمرین (دقیقه)	شدت تمرین (VO_2max)	توضیحات
گروه شم	-	-	-	-
گروه MIT	۱۰	۳۷	۶۵ درصد VO_2max	-
گروه HIT	۱۰	۳۰	۶۵ درصد VO_2max	افزایش تدریجی شیب نوارگردان هر هفته به میزان دو درصد (هفته اول شیب صفر - هفته هشتم شیب ۱۶ درصد)
گروه HIIT	۱۰	چهار وهله چهار دقیقه‌ای (۱۶ دقیقه)	۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_2max	-
		چهار وهله سه دقیقه‌ای (۱۲ دقیقه)	۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2max	

برای اطمینان از یکسان بودن حجم تمرینی در هر سه گروه بر اساس زمان، شدت و تکرار وهله‌های کار؛ محاسبه گروه تجربی، بر اساس روش روگنمو^۱ و دیگران (۲۰۰۴) و همسان گردید (روگنمو و دیگران، ۲۰۰۴). عمل شد. بر اساس این روش، زمان خالص تمرین در هر

$$\text{شدت مورد نظر فعالیت برای فعالیت تداومی} = \frac{\left\{ \begin{array}{l} \text{شدت فعالیت} \\ \text{مجموع زمان فعالیت} \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} \text{شدت فعالیت} \\ \text{در تناوب های سبک} \end{array} \right\} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{در تناوب های سنگین} \\ \text{مجموع زمان فعالیت} \end{array} \right\}}{\text{مدت زمان تمرین در گروه تداومی}}$$

بافت برداری و ارزیابی بیوشیمیایی: به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، نمونه‌برداری در هر گروه انجام شد. حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین (۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو

بنابراین با این روش، ۳۷ دقیقه تمرین تداومی با شدت ۶۵ درصد VO_2max ، و ۲۸ دقیقه تمرین تناوبی با شدت‌های میانگین ۹۵ و ۵۵ درصد VO_2max در نظر گرفته شد. بر همین منوال، شدت تمرینات تداومی پرشدت نیز معادل سازی گردید.

الکتروفورز روی ژل آگارز استفاده گردید. سپس توالی mRNA مربوط به ژن‌های TSP-2 و TGF- β با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. آغازگرها توسط نرم افزار AlleID ساخته شد و سپس هر آغازگر، توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن آغازگرها، مورد ارزیابی قرار گرفت. آغازگرها توسط شرکت سیناژن ساخته شد. در این پژوهش از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید (جدول دو).

گرم وزن بدن) بی هوش شدند و برداشت بافت چربی زیر جلدی موش‌های صحرایی انجام شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله در میکروتیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای -80°C درجه منجمد گردید و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در همین دما، نگهداری شد.

بیان ژن‌های TSP-2 و TGF- β با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز کمی در زمان واقعی^۱ (RT qPCR) مورد بررسی قرار گرفت. نخست، استخراج RNA صورت گرفت و به منظور بررسی کیفیت و کمیت آن، از روش اسپکتروفوتومتری و

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Genes	Primer sequence
TSP2	For: 5'- ATGCTGAGGAAGAAGATGTGGA -3' Rev: 5'- ATGAAACTGCGTGGATGGGA -3'
TGF- β	For: 5'- AGAAGAGGAAGGCAAGGATAGG -3' Rev: 5'- GAAGAGGGAGAAGATGAAGAGGA -3'
GAPDH	For: 5'- GACATGCCCGCTGGAGAAAC -3' Rev: 5'- AGCCAGGATGCCCTTAGT -3'

روش‌های آماری: تمامی اطلاعات به دست آمده

یافته‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ تجزیه و تحلیل شدند. از آمار توصیفی برای دسته بندی داده‌های خام و رسم جداول و نمودار استفاده شد و داده‌ها با میانگین و انحراف معیار ارائه شدند. ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک^۲ مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به توزیع طبیعی داده‌ها، از روش‌های آماری پارامتریک تحلیل واریانس یک‌راهه و تعقیبی توکی در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ استفاده گردید.

نتایج روش آماری تحلیل واریانس یک راهه در مورد مقایسه بین گروهی تغییرات بیان ژن TGF- β و TSP-2 در جدول سه و نتایج آزمون تعقیبی در شکل های یک و دو ارائه شده است. همان طور که در جدول سه و شکل یک ارائه شده است، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مورد مقایسه بیان ژن TGF- β دال بر وجود تفاوت معنی دار بین گروه‌های مورد مطالعه است ($p=0.001$). همچنین با توجه به شکل یک،

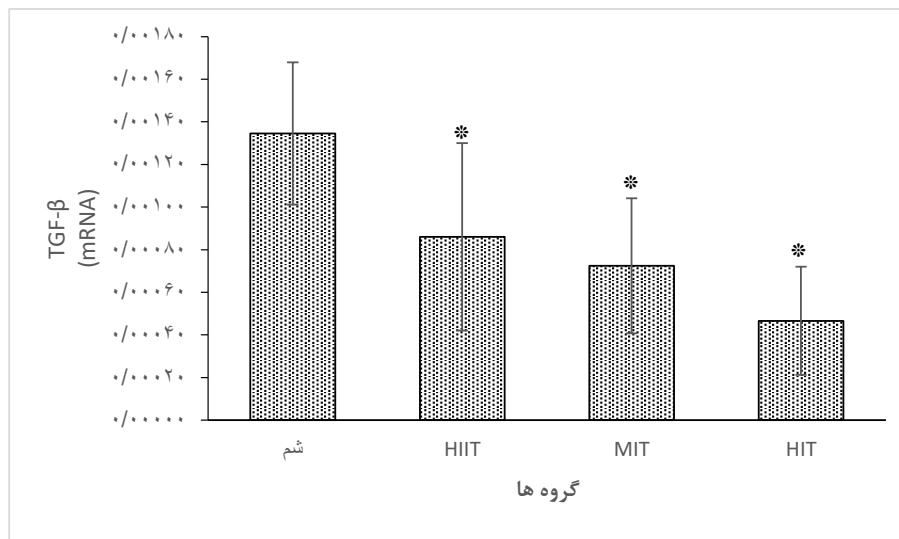
جدول ۳. توصیف و مقایسه بیان ژن TGF- β و TSP-2 بافت چربی زیرجلدی موش های صحرایی

متغیرها	mRNA TGF- β (انحراف معیار \pm میانگین)	mRNA TSP-2 (انحراف معیار \pm میانگین)	گروه ها
گروه شام	0.01345 ± 0.00334	0.00647 ± 0.002555	
گروه تمرین MIT	0.00724 ± 0.00317	0.003377 ± 0.001755	
گروه تمرین HIT	0.00466 ± 0.00254	0.001923 ± 0.001421	
گروه تمرین HIIT	0.00860 ± 0.00440	0.004885 ± 0.002171	
آماره F	۹/۲۸	۷/۳۰	
آماره p	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	

*نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p < 0.001$.

1. Real-time quantitative polymerase chain reaction

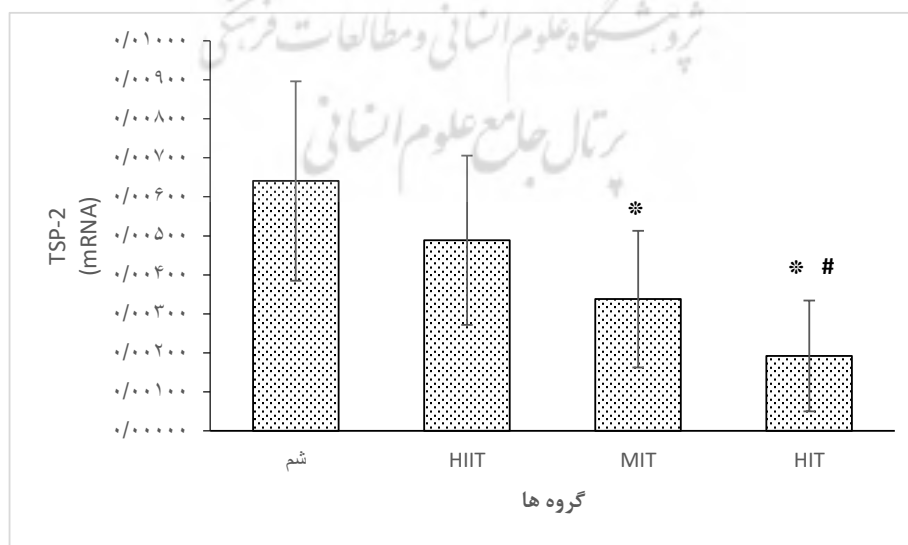
2. Shapiro-Wilk



شکل ۱. مقایسه تغییرات بیان ژن TGF-β در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. * نشانه وجود تفاوت معنی دار با گروه شم در سطح $p < 0.05$.

مقایسه زوجی گروه‌ها با آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن TGF-β در گروه‌های HIIT ($p=0.001$)، MIT ($p=0.006$) و HIIT نسبت به گروه شم؛ به صورت معنی داری کاهش یافته است؛ اما تفاوت معنی داری بین گروه‌های HIT با MIT ($p=0.044$) و HIIT ($p=0.12$) مشاهده نشد. همان طور که در جدول سه و شکل دو ارائه شده است، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مورد مقایسه تغییرات بین گروهی بیان ژن TSP-2 دل بر وجود تفاوت معنی دار بین گروه‌های مورد مطالعه است ($p=0.001$). نتایج

آزمون تعقیبی توکی به منظور مقایسه زوجی گروه‌ها نشان داد که بیان ژن TSP-2 در گروه‌های HIT ($p=0.001$) و MIT ($p=0.02$) نسبت به گروه شم به صورت معنی داری کاهش یافته است؛ اما تفاوت معنی داری بین گروه‌های HIIT و شم مشاهده نشد ($p=0.44$). هم‌چنین اختلاف معنی داری بین گروه‌های HIT با MIT ($p=0.48$) و گروه‌های HIIT با MIT ($p=0.45$) در مورد تغییرات بیان ژن TSP-2 مشاهده نشد؛ در حالی که بیان ژن TSP-2 در گروه HIT در مقایسه با گروه HIIT، به صورت معنی داری پایین تر بود ($p=0.03$).



شکل ۲. مقایسه تغییرات بیان ژن TSP-2 در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. * نشانه وجود تفاوت معنی دار با گروه شم در سطح $p < 0.05$. # نشانه وجود تفاوت معنی دار با گروه HIIT در سطح $p < 0.05$.

بحث

بیان TSP2 به صورت انتخابی افزایش می یابد و از طریق مرگ سلولی برنامه ریزی شده (آپوپتوزیس^۲) سلول های اندوتلیال عضلانی که منجر به تحلیل شبکه مویرگی می شود، فعالیت بدنی موش ها به طور معنی داری کاهش پیدا می کند (بارتولی^۳ و دیگران، ۲۰۲۲). در همین راستا، محققان دیگری نیز نشان داده اند که نه هفته تمرین ورزشی منظم در رت های نر ویستار، باعث افزایش معنی دار تعداد سلول های اندوتلیال عروقی بافت چربی، افزایش بیان VEGF نوع A و گیرنده آن در بخش عروقی بافت چربی می شود (هاتانو^۴ و دیگران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، تحقیقی دیگر نشان داده که پنج روز متوالی تمرین ورزشی، می تواند بیان VEGF و TGF- β را در بافت عضلانی افزایش دهد (کاوین و واگنر^۵، ۲۰۰۱). در همین راستا، گزارش شده است که یک ساعت فعالیت ورزشی، بیان VEGF، عامل اصلی رشد فیبروبلاست^۶ (bFGF) و TGF- β را افزایش می دهد (برین^۷ و دیگران، ۱۹۹۶). اما مداخله حاد یک ساعته، احتمالاً فقط در فعال شدن موقت عوامل مذکور دخیل بوده و حتی ممکن است در طولانی مدت، بیان ژن را به طور معنی دار تغییر ندهد. ضمن بررسی این موضوع، محققان در پژوهش دیگری دریافته اند که تمرین بدنی طولانی مدت، mRNA عوامل دخیل در آنژیوژنیز بافت چربی از جمله VEGF و TGF- β را افزایش می دهد؛ اما در محتوای پروتئین آن ها تغییر معنی داری ایجاد نمی کند (کارکوفسکا-پازک^۸ و دیگران، ۲۰۱۱).

ناهمسو با یافته های مطالعه حاضر، بائک و دیگران (۲۰۲۲) گزارش کرده اند که ورزش هوازی منظم مادام العمر در موش ها، ظرفیت آنژیوژنیز را در سطح بالایی حفظ می کند، اما تغییر معنی دار ویژه ای در بیان ژن TSP-1، TSP-2، ایزوفرم های مختلف VEGF و آنژیوپوتین-۱ و ۲ ایجاد نمی کند. در همین راستا، در مطالعه ای دیگر گزارش شده که پس از یک جلسه تمرین حاد باز کردن زانو در آزمودنی های انسانی تمرین کرده، بیان VEGF تغییر معنی داری نمی کند (ریچاردسون^۹ و دیگران، ۲۰۰۰). با توجه به تک جلسه بودن پروتکل تمرینی در مطالعه ذکر شده، احتمالاً نتایج مداخله تمرینی حاد، قابل تعمیم به نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته HIT، MIT و HIIT منجر به کاهش معنی دار بیان ژن TGF- β در بافت چربی زیر جلدی موش های صحرایی می شود و تفاوت معنی داری بین شیوه های تمرینی وجود ندارد. از طرف دیگر، فقط دو پروتکل MIT و HIT توانستند بیان ژن TSP-2 را در بافت چربی زیر جلدی کاهش دهند و HIT در مقایسه با HIIT، توانست به طور معنی داری بیان TSP-2 را بیشتر کاهش دهد.

با توجه به این که مطالعات انجام شده در مورد تغییرات TSP-2 و TGF- β و نقش آن ها در آنژیوژنیز بافت چربی در تعامل با مداخلات ورزشی، محدود است؛ به بررسی سایر عوامل تاثیرگذار بر آنژیوژنیز بافت چربی پرداخته می شود. لی (۲۰۱۸) در پژوهشی تجربی نشان داد که شش هفته دویدن داوطلبانه روی نوار گردان، بیان عوامل محرک آنژیوژنیز بافت چربی را تغییر می دهد. این نتایج شامل کاهش بیان VEGF نوع A و افزایش بیان آنژیوپوتین-۱۲ (ANG-2) در بافت چربی زیر جلدی و همچنین افزایش بیان VEGF و کاهش بیان آنژیوپوتین-۱ در بافت چربی ناحیه لگنی؛ پس از دوره تمرینی بود. این محقق نتیجه گیری کرد که تنظیم بیان عوامل آنژیوژنیک بررسی شده، به تغییر در ذخایر چربی که به دنبال فعالیت ورزشی اتفاق می افتد، بستگی دارد. وان پلت و دیگران (۲۰۱۷) نیز نشان داده اند که یک جلسه تمرین هوازی با شدت متوسط در بزرگسالان چاق و دارای اضافه وزن بی تحرک و همچنین در بزرگسالان دارای ورزش منظم، منجر به افزایش معنی دار بیان ژن VEGF نوع A در بافت چربی هر دو گروه می شود. هر چند که این مطالعه به صورت حاد بوده و نتایج آن می تواند با مداخلات مزمن متفاوت باشد. در مطالعه دیگری توسط دیسانزو و یو (۲۰۱۴) گزارش شده که هشت هفته تمرین هوازی کم شدت، منجر به افزایش معنی دار بیان اصلی ترین عامل آنژیوژنیک، یعنی VEGF نوع A در بافت چربی موش های چاق می گردد. اخیراً در پژوهشی آزمایشگاهی، گزارش کرده اند که در موش های ترانس ژنیک که بیان ژن Piezo1 در آن ها مهار شده بود،

1. Angiopoietin-2
2. Apoptosis
3. Bartoli

4. Hatano
5. Gavin & Wagner
6. Fibroblast growth factor

7. Breen
8. Czarkowska-Paczek
9. Richardson

موش‌های ناک اوت شده، PGC1 α ، محتوای پروتئین VEGF عضلانی و مویرگ‌زایی؛ در مقایسه با موش‌های کنترل، به ترتیب ۷۰ و ۲۰ درصد کمتر است و پنج هفته دویدن مداومی روی نوار گردان با شدت متوسط، نمی‌تواند بیان VEGF را در این نمونه‌ها افزایش دهد. در حالی که همین پروتکل تمرینی در موش‌های کنترل، بیان ژنی و پروتئین VEGF را به طور معنی‌داری افزایش داد (لیک و دیگران، ۲۰۰۹). در همین راستا، مطالعه دیگری نشان داده که تنها دو هفته دویدن اختیاری روی چرخ دوآر در نمونه‌های آزمایشگاهی، منجر به افزایش معنی‌دار بیان PGC1 α و تراکم مویرگی به میزان دو برابر می‌شود (چینسمبون و دیگران، ۲۰۰۹). نکته قابل توجه در این پژوهش‌ها، شدت و مداومی بودن پروتکل‌های تمرینی است که در افزایش آنژیوژنیزیس با سازوکار فعال سازی PGC1 α موثر بوده‌اند. علاوه بر این، به نظر می‌رسد تمرینات مداومی HIT و MIT در طولانی مدت، توانایی آنژیوژنیزیس بیشتری در مقایسه با HIIT داشته باشند. در تایید این موضوع، تفاوت معنی‌دار در چگالی مویرگی و نسبت تراکم مویرگی به تار عضلانی بین دوندگان سرعت (که عمدتاً از HIIT استفاده می‌کنند) با دوندگان مسافت مشاهده شده است؛ به طوری که دوندگان مسافت، سطوح بالاتری از شاخص‌های مذکور را دارا هستند (توروک^۷ و دیگران، ۱۹۹۵). بنابراین، با توجه به مزمن بودن پروتکل‌های تمرینی تحقیق حاضر که شامل ۴۰ جلسه تمرین طی هشت هفته می‌باشد، تمرینات مداومی هوازی در مقایسه با HIIT؛ در کاهش عامل آنژیوستاتیک TSP-2 موثرتر واقع شده‌اند؛ هرچند که برای روشن شدن مکانیزم اثر دخیل در ایجاد این تغییرات مزمن، به مطالعات طولی بیشتری نیاز است.

مکانیزم احتمالی مطرح شده دیگر، وقوع برخی از رویدادهای بیومکانیکی در فعالیت‌های ورزشی مداومی مانند تنش برشی، کشش دیواره مویرگی یا کشش عروقی است که محرک‌های مهم احتمالی بیان VEGF می‌باشند (براون و هودلیکا^۸، ۲۰۰۲). شواهد موجود نشان داده‌اند که قرار گرفتن مزمن در معرض عوامل گشادکننده عروقی در حین فعالیت‌های ورزشی مداومی طولانی مدت، عامل اصلی مویرگ‌زایی در این نوع فعالیت‌ها محسوب

مداخلات تمرینی مزمن نیست. از دلایل ناهمسویی یافته‌ها، می‌توان به سن نمونه‌ها در مطالعه بایک و دیگران (۲۰۲۲) اشاره کرد که از موش‌های مسن استفاده کرده‌اند؛ این در حالی است که نسبت توده چربی به توده عضلانی در این نمونه‌ها، با نمونه‌های جوان متفاوت می‌باشد و احتمالاً وضعیت توده چربی بر تغییرات عوامل آنژیوژنیک اثرگذار است. همچنین در مطالعه ریچاردسون و دیگران (۲۰۰۰) باید به نوع آزمودنی‌ها، وضعیت تمرینی آن‌ها و پروتکل تمرینی تک جلسه‌ای توجه نمود که احتمالاً می‌توانند به حصول نتایج ناهمسویی منتهی شوند.

در مطالعه حاضر، HIT اثر نسبتاً بیشتری بر کاهش عوامل آنژیوستاتیک داشت و حتی در مقایسه با HIIT، توانست به طور معنی‌داری بیان TSP-2 را کاهش دهد. مکانیزم اثر این پروتکل تمرینی احتمالاً به تغییرات در فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونو فسفات^۱ (AMPK) و متعاقب آن، فعال‌سازی هم‌فعال کننده یک آلفای گیرنده گامای فعال شده با تکثیرکننده پروکسی زوم^۲ (PGC1 α) برمی‌گردد. همان‌طور که در تحقیقات پیشین ارائه شده، افزایش بیان ژنی و بیان پروتئین VEGF احتمالاً نقش محوری در آنژیوژنیزیس دارد و تنظیم بیان VEGF می‌تواند تحت تاثیر فعال شدن AMPK قرار گیرد (لیک و دیگران، ۲۰۰۹). در تمرینات استقامتی که مدت زمان بالایی دارند، با توجه به تخلیه ذخایر گلیکوژنی، فعال شدن AMPK و تنظیم مثبت PGC-1 α ؛ تسهیل می‌شود (جاگر^۴ و دیگران، ۲۰۰۷). به علاوه، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که پروتئین PGC-1 α با یک جلسه تمرین استقامتی طولانی مدت افزایش می‌یابد و ۲۴ ساعت پس از جلسه تمرین، ثابت می‌ماند (کومبس^۵ و دیگران، ۲۰۱۵). شواهد اخیر نشان از آن دارند که PGC1 α نیز مستقیماً بیان VEGF را افزایش می‌دهد؛ عاملی که خود بهبود آنژیوژنیزیس ناشی از ورزش را به همراه دارد (لیک و دیگران، ۲۰۰۹). در واقع، PGC1 α از طریق تاثیر بر گیرنده‌های هسته‌ای مجزا، یعنی گیرنده مرتبط با استروژن آلفا (ERR α) عمل می‌کند تا برنامه گسترده‌ای از آنژیوژنیزیس، از جمله بیان VEGF را فعال نماید (چینسمبون^۶ و دیگران، ۲۰۰۹). در تایید این شواهد، لیک و دیگران (۲۰۰۹) گزارش کرده‌اند که در

1. Adenosine mono-phosphate activated protein kinase
2. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α
3. Leick
4. Jäger
5. Combes
6. Chinsombon

7. Torok
8. Brown & Hudlická

نوارگردان اشاره کرد. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، به محققان دیگر پیشنهاد می‌شود که در کنار اندازه‌گیری عوامل آنژیوژنیک و آنژیوستاتیک در بافت چربی، ماندگاری شبکه مویرگی تازه شکل گرفته در بافت چربی را (با شاخص نسبت سطح مقطع بافت به تراکم مویرگی) با توجه به تغییرات پویای این بافت به دنبال تمرینات ورزشی؛ ارزیابی کنند.

نتیجه‌گیری: از آن جا که هر سه شیوه تمرین هوازی منجر به کاهش $TGF-\beta$ در بافت چربی شد و پروتکل HIT بیشترین تاثیر را در کاهش TSP-2 در این بافت داشت، می‌توان نتیجه گرفت که تمرینات هوازی پرشدت و خصوصاً تداومی با رعایت اصل اضافه بار فزاینده، احتمالاً اثر بیشتری بر کاهش بیان ژنی عوامل آنژیوستاتیک در بافت چربی داشته باشد. هرچند که برای روشن شدن این موضوع، به پژوهش‌های بیشتری نیاز است؛ با این حال به نظر می‌رسد استفاده از تمرینات هوازی، خصوصاً HIT با شدت و مدت مشخص، احتمالاً می‌تواند با مهار عوامل آنژیوستاتیک و تحریک عوامل آنژیوژنیک و بهبود خون رسانی به بافت چربی؛ منجر به کاهش توده چربی و بهبود چاقی شود.

تعارض منافع: بدین وسیله کلیه نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ تضادی در منافع این پژوهش وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

هزینه‌های مطالعه بر عهده محقق بوده و نویسندگان از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه پیام نور بخاطر همکاری صمیمانه برای در اختیار گذاشتن حیوانات، تشکر می‌کنند.

می‌شود. در این فعالیت‌ها خون رسانی مداوم و کافی، به ویژه در جهت تامین اکسیژن یک موضوع ضروری به حساب می‌آید (هویر و هلستن^۱، ۲۰۱۴). در راستای این شواهد، تجویز مزمن یک مسدودکننده سمپاتیکی آلفا (داروی پرازوسین^۲) جریان خون عضلانی را تقریباً سه برابر افزایش داده و باعث افزایش قابل توجهی در سرعت حرکت گلوبول‌های قرمز از طریق مویرگ‌ها و افزایش تنش برشی محاسبه شده توسط اندوتلیوم، شده است (زیادا^۳، ۱۹۸۹).

با توجه به این شواهد، در پروتکل های HIT و MIT که با افزایش جریان خون بافتی به صورت پایدار همراه هستند، تنش برشی مداوم وارد بر اندوتلیوم، می‌تواند به عنوان مکانیزم تحریک کننده بیان VEGF لحاظ شود (براون و هودلیکا، ۲۰۰۳). علاوه بر این، تنش برشی می‌تواند مسیر گیرنده $VEGF-2$ را مستقل از VEGF فعال کند. بنابراین تنش برشی مداوم، احتمالاً یک سیگنال مکانیکی مهم است که باعث آنژیوژنیز می‌شود (پریور^۴، ۲۰۰۴). در مجموع، در فعالیت‌های ورزشی تداومی مانند HIT و MIT که در پژوهش حاضر بکار گرفته شده است، افزایش سطوح VEGF که محرکی قوی برای مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکه عروقی است، به عنوان یک بازخورد منفی موثر در بیان عوامل آنژیوستاتیک، از جمله TSP-2 و $TGF-\beta$ ، در نظر گرفته می‌شود. این دو عامل آنژیوستاتیک، از تکثیر سلول‌های اندوتلیال جلوگیری نموده و منجر به مرگ سلولی برنامه ریزی شده این سلول‌ها می‌شوند و در نتیجه، عملکردی متضاد با VEGF (در زمینه آنژیوژنیز) دارند (تاکاهاشی و شیبویا^۵، ۲۰۰۵).

از جمله محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به عدم کنترل دقیق تأثیر احتمالی استرس ناشی از شوک دستگاه

منابع

- Abdelaal, M., le Roux, C.W., & Docherty, N. G. (2017). Morbidity and mortality associated with obesity. *Annals of Traslational Medicine*, 5(7). <http://dx.doi.org/10.21037/atm.2017.03.107>
- Amano, K., Matsubara, H., Iba, O., Okigaki, M., Fujiyama, S., Imada, T., & Yokoyama, M. (2003). Enhancement of ischemia-induced angiogenesis by eNOS overexpression. *Hypertension*, 41(1), 156-162. <http://dx.doi.org/10.1161/01.hyp.0000053552.86367.12>

1. Hoier & Hellsten

2. Prazosin

3. Ziada

4. Prior

5. Takahashi & Shibuya

- Armstrong, L.C., & Bornstein, P. (2003). Thrombospondins 1 and 2 function as inhibitors of angiogenesis. *Matrix Biology*, 22(1), 63-71. [http://dx.doi.org/10.1016/s0945-053x\(03\)00005-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0945-053x(03)00005-2)
- Baek, K.-W., Kim, S.-J., Kim, B.-G., Jung, Y.-K., Hah, Y.-S., Moon, H.Y. ... & Kim, J.-S. (2022). Effects of lifelong spontaneous exercise on skeletal muscle and angiogenesis in super-aged mice. *Plos One*, 17(8), e0263457. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0263457>
- Bartoli, F., Debant, M., Chuntharpursat-Bon, E., Evans, E.L., Musialowski, K. E., Parsonage, G., ... & Bowen, T.S. (2022). Endothelial Piezo1 sustains muscle capillary density and contributes to physical activity. *The Journal of Clinical Investigation*, 132(5). <http://dx.doi.org/10.1172/jci141775>
- Breen, E., Johnson, E., Wagner, H., Tseng, H., Sung, L., & Wagner, P. (1996). Angiogenic growth factor mRNA responses in muscle to a single bout of exercise. *Journal of Applied Physiology*, 81(1), 355-361. <http://dx.doi.org/10.1152/jappl.1996.81.1.355>
- Brown, M., & Hudlicka, O. (2003). Modulation of physiological angiogenesis in skeletal muscle by mechanical forces: involvement of VEGF and metalloproteinases. *Angiogenesis*, 6(1), 1-14. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1025809808697>
- Brown, M.D., & Hudlická, O. (2002). Angiogenesis in Skeletal and Cardiac Muscle. *Physiological Reviews*, 213-248. Springer. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59259-126-8_14
- Chinsomboon, J., Ruas, J., Gupta, R.K., Thom, R., Shoag, J., Rowe, G.C., ... & Arany, Z. (2009). The transcriptional coactivator PGC-1 α mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(50), 21401-21406. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0909131106>
- Cho, C.-H., Jun Koh, Y., Han, J., Sung, H.-K., Jong Lee, H., Morisada, T., ... & Oike, Y. (2007). Angiogenic role of LYVE-1-positive macrophages in adipose tissue. *Circulation Research*, 100(4), e47-e57. <http://dx.doi.org/10.1161/01.res.0000259564.92792.93>
- Combes, A., Dekerle, J., Webborn, N., Watt, P., Bougault, V., & Daussin, F.N. (2015). Exercise-induced metabolic fluctuations influence AMPK, p38-MAPK and Ca MKII phosphorylation in human skeletal muscle. *Physiological Reports*, 3(9), e12462. <http://dx.doi.org/10.14814/phy2.12462>
- Corvera, S., Solivan-Rivera, J., & Yang Loureiro, Z. (2022). Angiogenesis in adipose tissue and obesity. *Angiogenesis*, 1-15. <http://dx.doi.org/10.1007/s10456-022-09848-3>
- Czarkowska-Paczek, B., Zendzian-Piotrowska, M., Bartłomiejczyk, I., Przybylski, J., & Gorski, J. (2011). The influence of physical exercise on the generation of TGF- β 1, PDGF-AA, and VEGF-A in adipose tissue. *European Journal of Applied Physiology*, 111(5), 875-881. <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-010-1693-2>
- Disanzo, B.L., & You, T. (2014). Effects of exercise training on indicators of adipose tissue angiogenesis and hypoxia in obese rats. *Metabolism*, 63(4), 452-455. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.12.004>
- Frayn, K., & Karpe, F. (2014). Regulation of human subcutaneous adipose tissue blood flow. *International Journal of Obesity*, 38(8), 1019-1026. <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2013.200>
- Gavin, T.P., & Wagner, P.D. (2001). Effect of short-term exercise training on angiogenic growth factor gene responses in rats. *Journal of Applied Physiology*, 90(4), 1219-1226. <http://dx.doi.org/10.1152/jappl.2001.90.4.1219>
- Goumans, M.-J., Lebrin, F., & Valdimarsdottir, G. (2003). Controlling the angiogenic switch: a balance between two distinct TGF-b receptor signaling pathways. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 13(7), 301-307. [http://dx.doi.org/10.1016/s1050-1738\(03\)00142-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1050-1738(03)00142-7)

- Hatano, D., Ogasawara, J., Endoh, S., Sakurai, T., Nomura, S., Kizaki, T., Ohno, H., Komabayashi, T., & Izawa, T. (2011). Effect of exercise training on the density of endothelial cells in the white adipose tissue of rats. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 21(6), e115-e121. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0838.2010.01176.x>
- Hoier, B., & Hellsten, Y. (2014). Exercise-induced capillary growth in human skeletal muscle and the dynamics of VEGF. *Microcirculation*, 21(4), 301-314. <http://dx.doi.org/10.1111/micc.12117>
- Høydal, M.A., Wisløff, U., Kemi, O.J., & Ellingsen, Ø. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*, 14(6), 753-760. <http://dx.doi.org/10.1097/hjr.0b013e3281eacef1>
- 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-1 α . *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(29), 12017-12022. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0705070104>
- Jain, R.K. (2005). Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science*, 307(5706), 58-62. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1104819>
- Jayedli, A., Soltani, S., Zargar, M.S., Khan, T.A., & Shab-Bidar, S. (2020). Central fatness and risk of all cause mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of 72 prospective cohort studies. *British Medical Journal*, 370. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.m3324>
- Lawler, P.R., & Lawler, J. (2012). Molecular basis for the regulation of angiogenesis by thrombospondin-1 and-2. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(5), a006627. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a006627>
- Lee, H.J. (2018). Exercise training regulates angiogenic gene expression in white adipose tissue. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 14(1), 16. <http://dx.doi.org/10.12965/jer.1836010.005>
- Leick, L., Hellsten, Y., Fentz, J., Lyngby, S.S., Wojtaszewski, J.F., Hidalgo, J., & Pilegaard, H. (2009). PGC-1 α mediates exercise-induced skeletal muscle VEGF expression in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(1), E92-103. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00076.2009>
- Panina, Y.A., Yakimov, A.S., Komleva, Y., Morgun, A.V., Lopatina, O.L., Malinovskaya, N.A., ... & Salmina, A.B. (2018). Plasticity of adipose tissue-derived stem cells and regulation of angiogenesis. *Frontiers in Physiology*, 9, 1656. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2018.01656>
- Prior, B.M. Yang, H., & Terjung, R.L. (2004). What makes vessels grow with exercise training? *Journal of Applied Physiology*, 97(3), 1119-1128. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00035.2004>
- Richardson, R., Wagner, H., Mudaliar, S., Saucedo, E., Henry, R., & Wagner, P. (2000). Exercise adaptation attenuates VEGF gene expression in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 279(2), H772-H778. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.2.h772>
- 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 Preventive Cardiology*, 11(3), 216-222. <http://dx.doi.org/10.1097/01.hjr.0000131677.96762.0c>
- Rutkowski, J.M., Davis, K.E., & Scherer, P. (2009). Mechanisms of obesity and related pathologies: the macro- and microcirculation of adipose tissue. *The Federation of European Biochemical Societies Journal*, 276(20), 5738-5746. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07303.x>

- Takahashi, H., & Shibuya, M. (2005). The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical Science*, 109(3), 227-241. <http://dx.doi.org/10.1042/cs20040370>
- Torok, D.J., Duey, W.J., Bassett Jr, D.R., Howley, E.T., & Mancuso, P. (1995). Cardiovascular responses to exercise in sprinters and distance runners. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(7), 1050-1056. <http://dx.doi.org/10.1249/00005768-199507000-00014>
- Van Pelt, D.W., Guth, L.M., & Horowitz, J.F. (2017). Aerobic exercise elevates markers of angiogenesis and macrophage IL-6 gene expression in the subcutaneous adipose tissue of overweight-to-obese adults. *Journal of Applied Physiology*, 123(5), 1150-1159. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00614.2017>
- Ziada, A., Hudlicka, O., & Tyler, K. (1989). The effect of long-term administration of α 1-blocker prazosin on capillary density in cardiac and skeletal muscle. *Pflügers Archiv*, 415(3), 355-360. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00370888>

