Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

The effect of aerobic exercise training on hypoxia condition through PGC-1α angiogenesis signaling pathway in heart tissue of male westar rats

Soheila Rahimifardin[1], Marefat Siahkohian[1*], Pouran Karimi[2], Lotfali Bolboli[1], Hassan Farhadi[3]

[1]Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Education and Psychology, Mohaghegh Ardabil University, Ardabil, Iran
[2]Neurosciences Research Center (NSRC), Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[3]Department of Physical Education and Sport Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran
*Corresponding author; E-mail: Soheila_fardin@yahoo.com

Received: 1 May 2018 Accepted: 15 October 2018 First Published online: 18 July 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August - September; 42(3):263-272

Abstract

Background: Despite the effect of PGC-1α on biogenesis of mitochondria, the mechanism of its effect on cardiac angiogenesis has not yet been studied. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of aerobic training and intermittent hypoxia on the expression of PGC-1α angiogenesis-related proteins in the cardiac tissue.

Methods: In an experimental study, Forty male Wistar rats weighing 220±20 gr were randomly divided into four groups; control (C), hypoxia (H), training (T), and Hypoxia + training (H+T) groups. Hypoxia group exposed to chronic intermittent hypoxia (PiO_2≈106 mmHg, simulated altitude ≈ 3400 m, 14% oxygen for 8 weeks). And exercise group ran on a treadmill for 8 weeks, 5 session/ week. Then, relative protein density of PGC-1α, p-AMPK, ERRα, and VEGFA were measured with Western blot method.

Results: The aerobic training, intermittent hypoxia, aerobic training + hypoxia significantly increased relative protein density of PGC-1α, ERRα, and VEGFA compared to control group. Moreover, phosphorylation levels of AMPK showed an increase in all three groups compared to the control group.

Conclusion: Although hypoxia was an effective stimulator to induce the expression of PGC-1α and VEGFA and aerobic exercise was a potent phosphorylation inducer of AMPK, their combination did not have a synergistic effect.

Keyword: Hypoxia; Angiogenesis; Aerobic training, PGC-1α

How to cite this article: Rahimifardin S, Siahkohian M, Karimi P, Bolboli L, Farhadi H. [The effect of aerobic exercise training on hypoxia condition through PGC-1α angiogenesis signaling pathway in heart tissue of male Westar rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August-September; 42(3):263-272. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تاثیر تمرین منظم هوازی در شرایط هیپوکسی بر مسیر پیام‌رسانی آنژیوژنز ناشی از PGC-1α در بافت قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

سهیلا رحیمی فردین[۱]، معرفت سیاه کوهیان[۱*]، پوران کریمی[۲]، لطفعلی بلبلی[۱]، حسن فرهادی[۳]

[۱] گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[۲] مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۳] گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
[*] نویسنده مسوول؛ ایمیل: soheila_fardin@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱۱ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۴/۲۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. مرداد و شهریور ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۲۶۳-۲۷۲

چکیده

زمینه: علیرغم تاثیر PGC-1α در روند تامین انرژی، تا بحال مکانیسم اثر آن بر روی آنژیوژنز بافت قلب بررسی نشده است. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر تمرین هوازی و هیپوکسی متناوب بر بیان پروتئین‌های مرتبط با آنژیوژنز ناشی ازPGC-1α در بافت قلبی بود.

روش‌کار: در یک مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرایی با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم، به طور تصادفی در ۴ گروه ۱۰تایی: کنترل (C)، هیپوکسی(H)، تمرین (T)، تمرین توام با هیپوکسی (H+ T) تقسیم‌بندی شدند. حیوانات در گروه هیپوکسی در معرض هیپوکسی متناوب نورموباریک قرار گرفتند. تمرین هوازی شامل تمرینات با سرعت ۲۶-۲۲ متر در دقیقه با شیب ۶ درجه نوارگردان ۵ جلسه در هفته به مدت ۸ هفته طراحی شد. غلظت پروتئین‌های مرتبط با آنژیوژنز شامل گیرنده‌های فعال‌کننده‌ی تکثیر پراکسیزوم‌ها (PGC-1α)، آدنوزین مونوفسفات کیناز (P-AMPK)، گیرنده مرتبط با استروژن (ERRα) و عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGFA) با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. داده‌ها با روش آماری ANOVA یکطرفه با آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری آلفای ۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تمرین هوازی، هیپوکسی متاوب و ترکیب تمرین هوازی و هیپوکسی منجر به افزایش بیان پروتئین‌های PGC-1α، ERRα و VEGFAدر مقایسه با گروه کنترل می‌شود. همچنین سطح فسفریلاسیون AMPK در هر سه گروه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد.

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد هیپوکسی در القا بیانPGC-1α و VEGFA و تمرین هوازی درP-AMPK محرک موثری باشند، ولی احتمال می رود ترکیب T+Hاثر هم افزایی نداشته باشند.

کلید واژه ها: هیپوکسی، آنژیوژنز، فعالیت هوازی، PGC-1α

نحوه استناد به این مقاله: رحیمی فردین س، سیاه کوهیان م، کریمی پ، بلبلی ل، فرهادی ح. تاثیر تمرین منظم هوازی در شرایط هیپوکسی بر مسیر پیام‌رسانی آنژیوژنز ناشی از PGC-1α در بافت قلبی موش‌های نر نژاد ویستار. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۲۶۳-۲۷۲

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

تمرین در شرایط هیپوکسی معمولا برای افزایش ظرفیت استقامتی ورزشکاران مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مقابل، قرارگیری در معرض هیپوکسی شدید منجر به تضعیف بافت عضله اسکلتی و اختلال در همودینامیک عروق می‌شود (۱). به عنوان یک روش مناسب برای استفاده از تمرین در شرایط هیپوکسی بدون در نظر گرفتن اثر منفی، نظریه "زندگی در سطح دریا، تمرین در ارتفاع" پیشنهاد شده است (۲). این نوع تمرین‌ها به منظور به دست آوردن اثرات هم افزایی از طریق فشارهای تنش سوخت و ساز ناشی از ورزش توام با هیپوکسی است (۳). یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های حاصله در شرایط هیپوکسی افزایش چگالی مویرگی یا آنژیوژنز است. آنژیوژنز فرایند زیستی جوانه زدن رگ‌های جدید از رگ‌های موجود در بافت می‌باشد و نیازمند تکثیر، مهاجرت و رشد سلول های اندوتلیال است (۴). این فرایند به طور بارز در دوران جنینی، دوران پس از تولد و حتی در بالغین مشاهده می‌شود و در پاسخ به محرک‌هایی مانند هیپوکسی، ایسکیمی (۵)، تنش برشی و عوامل متابولیکی (شامل فاکتورهای رشدی) فعالیت خود را از سر می‌گیرد (۵, ۶). از بین عوامل ذکر شده هیپوکسی نقش موثری را در آنژیوژنز دارد؛ زیرا ارگانیسم‌های هوازی، برای تولید انرژی نیازمند اکسیژن هستند بنابراین محرومیت از اکسیژن، استرس عظیمی را در سلول‌های زنده ایجاد می‌کند (۷). به همین دلیل، تحت شرایط اکسیژن اندک، سلول‌ها تعدادی از پاسخ‌های سازگاری را برای برابر کردن مقدار اکسیژن با نیازهای سوخت و سازی و عملکردهای زیستی خود، فعال می‌کنند. سازگاری به فشار اکسیژن پایین در سلول‌ها و بافت‌ها منجر به تحریک رونویسی مجموعه‌ای از ژن‌ها می‌شود که در آنژیوژنز، سوخت و ساز آهن، گلوکز، بقا، تکثیر سلول و.. نقش دارند (۷, ۸).

در شرایط هیپوکسی محرومیت از اکسیژن و مواد مغذی و عدم تعادل pH، تغییرات چشمگیری را در سوخت و ساز و وضعیت ردوکس سلولی ایجاد می‌کند و این رویدادهای سوخت و سازی منجر به فعال شدن کواکتیوتورهای Peroxisome proliferator_ activated receptor (PGC-1) می‌شوند (۹). PGC-1α یک حس-گر قوی سوخت و سازی و تنظیم کننده ناشی از کمبود مواد مغذی و اکسیژن است. PGC-1α در کبد و دیگر بافت‌های اکسایشی مانند قلب و عضله اسکلتی بیان می‌شود فعال شدن PGC-1α منجر به فراخوانی فاکتورهای رونویسی بیوژنز میتوکندری و آنژیوژنیک از جمله افزایش نسخه برداری عامل رشد اندوتلیال عروقی Vascular endothelial growth factor (VEGF)می‌گردد (۱۰). اگر چه مکانیسم اثر آن بیشتر در بیوژنز میتوکندریایی، تغییر شکل میتوکندری، کاهش اختلال میتوکندریایی و تغییر فنوتیپ تارهای عضلانی از طریق عامل تقویت کننده میوسیت Myocyte enhancer factor 2 (MEF2s) می‌باشد، نتایج برخی از تحقیقات بیانگر این است PGC-1a بیان VEGF و فاکتورهای آنژیوژنز را با کاهش سایتوکاین‌های پیش التهابی و ترشح سایتوکاین‌های پیش آنژیوزنیکی در سلول‌های عضلانی و عضله قلبی در محیط آزمایشگاهی مستقل از مسیر HIF1-a تنظیم می‌کند (۱۱, ۱۲). همچنین، نقش کواکتیوتور PGC-1α درآنژیوژنز، بیشتر در اندام‌های ایسکیمیک رخ می‌دهد و در شرایط ایسکمی PGC-1α از طریق گیرنده مرتبط با استروژن - Estrogen related α receptor (ERRα)، VEGF و سایر فاکتورهای آنژیوژنیک را تحریک می‌کند و با فعال‌سازی این مسیر موجب رگ‌زایی می‌شود (۱۳). از سوی دیگر، نتایج تحقیقات ورزشی نشان می‌دهد کواکتیوتورهای PGC-1 نقش مهمی در تنظیم سازگاری عضلات اسکلتی با ورزش دارد (۱۴). برخی مطالعات نشان داده است که ورزش باعث افزایش بیان PGC-1α در عضله اسکلتی انسان و موش از مسیرهای چندگانه می‌شود(۱۵،۱۴). این عامل بر اثر فسفوریلاسیون و فعال شدن PGC-1α توسط پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات Adenosine Monophosphate (AMPK) Activated Protein (AMPK) Kinase در پاسخ به ورزش رخ می‌دهد (۱۴). AMPK یک حسگر انرژی سلولی است که از طریق کینازهای بالادست فعال می‌شود و به نسبت AMP به ATP در دوره‌های محرومیت از انرژی مثل فعالیت ورزشی، هیپوکسی و گرسنگی حساس است و به القای فعال شدن PGC-1α منجر می شود. در بررسی‌ها نشان داده شده است که هیپوکسی می‌تواند مسیر AMPK را در میوکاردیوم افزایش دهد. در واقع القاء بیان PGC-1α با فعال سازی AMPK همراه است که با فعال شدن این مسیر روند پایین دستی آنژیوژنز فعال می‌شود. همچنین، در پاسخ به ورزش، PGC1-a توسط تحریک β آدرنرژیک فعال می‌شود و آنژیوژنز را در عضلات اسکلتی از طریق مسیر ERRa/VEGF هماهنگ می‌کند. با این وجود این مورد در عضله قلبی به دلیل تحقیقات کمتر به طور کامل مشخص نیست (۱۵).

به نظر می‌رسد، فعال شدن PGC-1α با تحریک VEGF و گیرنده‌های آن در شرایط هیپوکسی و فعالیت ورزشی که شرایط شبه هیپوکسی را ایجاد می‌کند، به فرایند آنژیوژنز در عضله قلب و اسکلتی بیانجامد و ترکیب هیپوکسی و فعالیت ورزشی به طور توامان می‌تواند با اعمال فشار متابولیکی زیاد این روند را تسریع نماید. با وجود این، مطالعه‌ای که آثار همزمان مداخله تمرین ورزشی و هیپوکسی را بر میزان بیان PGC-1α و فاکتورهای درگیر در آنژیوژنز در بافت قلب بررسی کند. با توجه به جستجویی که در این زمینه انجام شده، ما موردی از این مطالعه یافت نکردیم. بلکه مطالعات صورت گرفته بیشتر بر روی سرم ، پلاسما و یا عضلات اسکلتی بوده‌اند که دقیقا" منعکس کننده وضعیت بیان ژنی بافت قلبی نمی‌باشند. بنابراین، این مطالعه با

هدف بررسی اثر هریک از مداخلات تمرین هوازی و هیپوکسی متناوب و ترکیب آنها بر میزان بیان PGC-1α، VEGFA، P-AMPK و ERRα در بافت قلبی موش‌های سالم انجام شد.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع بنیادی و به روش تجربی و طرح پس آزمون با گروه کنترل بود. ۴۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (n=۴۰) از انستیتو پاستور تهران با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم خریداری شد و به محل آزمایشگاه‌های مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز انتقال یافت. ابتدا موش-های صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه۱۰ تایی شامل کنترل سالم (C)، هیپوکسی (H)، تمرین هوازی(T) و ترکیب تمرین با هیپوکسی (T+H) تقسیم شدند. نگهداری حیوانات بر اساس دستورالعمل انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده برای اهداف آزمایشگاهی انجام شد. تمام موش‌های صحرایی به صورت چهارتایی در قفس‌های ویژه از جنس پلی کربنات شفاف در آزمایشگاه حیوانات در چرخه روشنایی – تاریکی ۱۲:۱۲ساعت ، دمای ۲۲-۲۰°C ، رطوبت نسبی ۵۰ درصد و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. به منظور ایجاد حالت سازش با محیط، تمامی مداخلات پس از گذشت حداقل دو هفته استقرار حیوانات در آزمایشگاه شروع شد. فرایند کلی کار در کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه محقق اردبیلی (اردبیل، ایران) با شماره تصویب ۱۳۹ به تایید رسید. کلیه مراحل تیمار موش‌های صحرایی و آزمایش‌های تجربی در محل آزمایشگاه‌های مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد. تمرین هوازی انجام شده در این تحقیق، به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته دویدن بر روی نوار گردان بود. به منظور عادی سازی، موش‌های صحرایی در هفته اول به مدت ۱۰تا۲۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب ۶ درجه تمرین خود را آغاز کردند (۱۶, ۱۷). سرعت و مدت تمرین بتدریج در طول ۳ هفته‌ی بعد افزایش یافت تا اینکه در هفته‌های پایانی مدت و شدت تمرین به ترتیب به ۵۵ دقیقه در روز و ۲۶ متر در دقیقه رسید. هیپوکسی اعمال شده در این تحقیق، به طور متناوب و افزایشی در طول شب (سیکل روشنایی) در داخل اتاقک هیپوکسی ویژه حیوانات (ساخت کشوراسترالیا مدل بایومدتیچ (Biomedtech) به مدت هشت هفته بود. این مقدار هیپوکسی از نظر میزان فشار سهمی اکسیژن شبیه ارتفاع ۳۴۰۰ متری می‌باشد. موش‌های صحرایی بعد از اتمام زمان هیپوکسی (۸ تا ۱۲ ساعت در شبانه روز) به محل آزمایشگاه و کنار سایر گروه‌ها انتقال داده می‌شدند. به منظور عادی سازی اتاقک، موش‌های صحرایی در دو هفته اول، بترتیب ۴ و ۸ ساعت هیپوکسی را متحمل می‌شدند که در هفته‌های آخر تا ۱۲ ساعت شب‌مانی افزایش پیدا کرد. مدت زمان کلی مداخله هیپوکسی ۸ هفته بود. گروه‌های تمرین و کنترل غیر هیپوکسی در شرایط نورموکسیک ایزوباریک (فشار سهمی اکسیژن ۲۱ درصد با فشار کلی۷۶۰ میلی متر جیوه) نگه‌داری می‌شدند. جدول (۱).

یک روز پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و بافت قلب آن‌ها بلافاصله خارج شد. بعد از شستشو با نرمال سالین در نیتروژن مایع منجمد و در دمای C° ۷۰- نگهداری شدند. تکنیک وسترن بلات برای تعیین میزان بیان پروتئین‌های PGC-1α، VEGFA، P- AMPK و ERRα به‌کار گرفته شد. روش کار به طور خلاصه بترتیب زیر بود. برای تهیه هموژن ده درصد وزنی حجمی بافت قلب ازبافر ریپا سیگما (Sigma) حاوی کوکتیل مهار کننده پروتئاز (سیگما) استفاده شد. غلظت تام پروتئین با روش برادفورد (Brodford) اندازه‌گیری گردید. سپس پروتئین‌ها در ژل ۱۰٪ دناتوره کننده آکریل آمید حاوی سدیم دودسیل سولفات Sodium Dodecylsulfate (SDS) و دستگاه الکتروفورز (شرکت نوژن پارس، مشهد، ایران) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا پلی وینیلیدین دی فلوراید (PVDF) Polyvinylidene fluoride انتقال داده شدند. بعد از استفاده از بافر بلاکینگ برای پوشش دادن اتصالات غیر اختصاصی پروتئین در غشا، غشا با آنتی بادی اولیه خرگوشی ساخت شرکت سانتاکروز (Santa Cruz) آمریکا ضد PGC-1α (کد sc-۱۳۵۱۵)، ضد VEGFA (کد ۵۰۷) ، ضد ERRα (کد ۷۹۸۵ sc–) و ضد بتا اکتین (کد sc-۴۷۷۸۸) به نسبت ۱ به ۵۰۰ در طول شب انکوبه شد. غشاها پس از چهار بار شستشو هر بار به مدت ۵ دقیقه با بافر فسفات نمکی(Phosphate buffered saline, PBS) حاوی ۰/۰۵ درصد توین۲۰، در معرض آنتی بادی ثانویه کونژوگه با horseradish peroxidase(HRP) به مدت یک ساعت قرار گرفتند(۱۸). پس از شستشوی مجدد با روش قبلی این بار به صورت سه تکرار از روش الکترو کمی لومینسانس با کیت ECL (BioRad) برای آشکار سازی کمپلکس‌های ایمنی تشکیل شده استفاده شد. غشاها در معرض فیلم رادیو گرافی قرار گرفته و دانسیته باندها توسط نرم افزار Image J اندازه‌گیری شد. دانسیته‌ی باندهای پروتئین هدف در مقابل لودینگ کنترل بتا اکتین نرمالیزه شدند. نتایج بصورت دانسیته نسبی (نسبت به گروه کنترل) ارائه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSSنسخه ۲۵ انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف – اسمیرنوف و همگن بودن واریانس‌ها با استفاده از آزمون لوین مشخص شد. برای بررسی اختلاف معنی‌دار بین گروهی از آزمون آنووای یک طرفه استفاده شد. برای تعیین محل

اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمام مراحل آماری P≤۰/۰۵ مد نظر بود.

یافته‌ها

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، میانگین وزن نهایی موش‌ها در گروه کنترل (C) نسبت به گروه هیپوکسی(H) افزایش معنی‌داری (P=۰/۰۵) داشت. همچنین در گروه تمرین (T) و ترکیب تمرین با هیپوکسی (T+H) در مقایسه با گروه هیپوکسی کاهش معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۱). به علاوه نسبت وزن بافت قلب به وزن بدن در گروه T و H، وهمچنین T+H نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۱). ولی بین گروه های Tو H وT+H تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین نسبت وزن بافت قلب به وزن بدن و نسبت وزن بطن چپ به وزن قلب یافت نشد. اثر تمرین هوازی و هیپوکسی به تنهایی و به طور توام بر بیان پروتئین های PGC-1α، p-AMPK، ERRα و VEGFA در بافت قلب نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری(F= ۲۵/۰۱, P=۰/۰۰۱) در شاخص PGC-1α در مقایسه بین‌گروهی وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی توکی در مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی (T)، هیپوکسی متناوب (H) و ترکیب تمرین هوازی با هیپوکسی (T+H) منجر به افزایش بیان PGC-1α در مقایسه با گروه کنترل در بافت قلبی شدند (P<۰/۰۱). ولی بین گروه T و T+H (P=۰/۰۵۵) و همچنین بین گروه H با T+H تفاوت معنی‌داری یافت نشد(P=۰/۱۱۶). همچنین نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معنی‌دار در غلظت پروتئین AMPK/B، در مقایسه بین‌گروهی وجود نداشت (F= ۱/۰۵ P= ۰/۴۱۹). با این وجود تفاوت معنی‌داری در میزان فسفریلاسیون AMPK (p-AMPK) در مقایسه بین‌گروهی وجود داشت (F= ۲۲/۴۲ , P= ۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی در مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد که تمرین هوازی (P<۰/۰۱)، هیپوکسی متناوب (P<۰/۰۵) و ترکیب تمرین و هیپوکسی (P<۰/۰۵) منجر به افزایش معنی‌داری در میزان فسفریلاسیون AMPK در مقایسه با گروه کنترل در بافت قلبی می‌شوند. ولی تفاوت معنی‌داری بین گروه هیپوکسی با ترکیب تمرین با هیپوکسی (P=۰/۸۷) مشاهده نشد.

نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که تفاوت معنی‌داری (F= ۸/۰۲ , P =۰/۰۰۹) در غلظت پروتئین ERRα، در مقایسه بین‌گروهی وجود داشت. نتایج آزمون تعقیبی توکی در مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی (P<۰/۰۱)، هیپوکسی متناوب (P<۰/۰۱) و ترکیب تمرین و هیپوکسی (P<۰/۰۱) منجر به افزایش معنی‌داری در بیان پروتئین ERRα در مقایسه با گروه کنترل شدند. ولی بین تمرین با هیپوکسی (P=۰/۲۶۵)، هیپوکسی با ترکیب تمرین با هیپوکسی (P=۰/۰۶۹) و تمرین با ترکیب تمرین با هیپوکسی (P=۰/۰۵۷) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین نتایج تحلیل واریانس یک راهه نشان داد که تفاوت معنی‌داری در شاخص VEGFA، در مقایسه بین‌گروهی (F= ۹۹/۲۴, P =۰/۰۰۱) وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی در مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی (P<۰/۰۱)، هیپوکسی متناوب (P<۰/۰۱) و ترکیب تمرین و هیپوکسی (P<۰/۰۵) منجر به افزایش معنی‌داری در بیان پروتئین VEGFA در مقایسه با گروه کنترل شدند. با این وجود تفاوت معنی‌داری بین گروه T با H (P=۰/۴۶۱) و گروه T با T+H (P=۰/۲۲) مشاهده نشد.

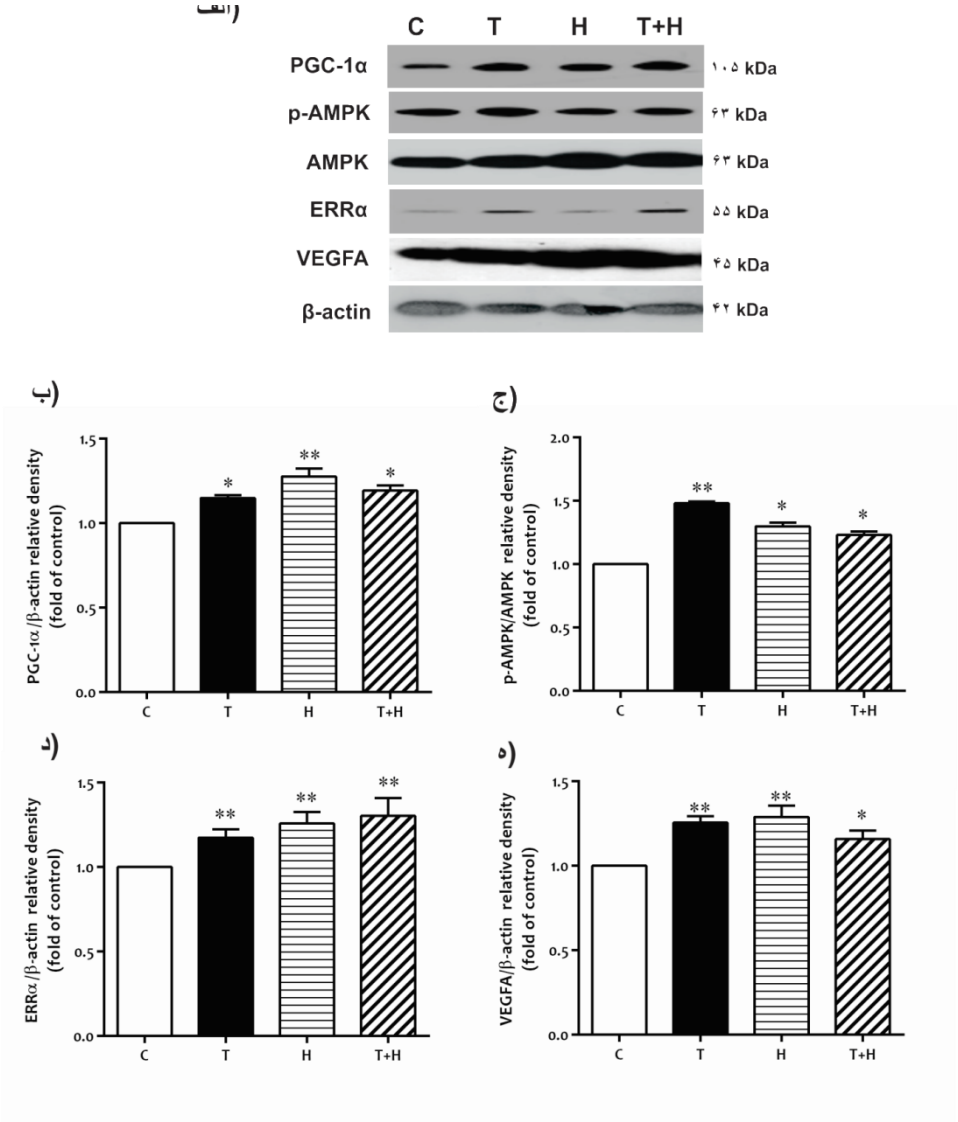
جدول ۱: زمانبندی قرارگرفتن موش‌های صحرایی در اتاقک هیپوکسی

هفته	مدت (ساعت)	ارتفاع شبیه‌سازی شده (متر)	هفته	مدت (ساعت)	ارتفاع شبیه‌سازی شده (متر)
هفته اول	۴	۳۰۰۰	هفته پنجم	۱۲	۳۴۰۰
هفته دوم	۸	۳۴۰۰	هفته ششم	۱۲	۳۴۰۰
هفته سوم	۱۲	۳۴۰۰	هفته هفتم	۱۲	۳۴۰۰
هفته چهارم	۱۲	۳۴۰۰	هفته هشتم	۱۲	۳۴۰۰

جدول ۲: تغییرات وزن بدن و وزن بافت قلب در حیوانات گروه‌های مختلف

گروه‌ها	C(n=۱۰)	H(n=۱۰)	T(n=۱۰)	T+H(n=۱۰)
وزن اولیه (گرم)	۲۴۵/۷۵±۶/۱	۲۳۷/۱۶±۵/۷	۲۴۴/۵۵±۵/۴	۲۴۰/۵±۶/۳
وزن نهایی (گرم)	۲۹۸/۱۲±۹/۹	۲۶۹/۸۳±۹/۵*≠	۲۱۸/۱۱±۱۱/۱*#	۲۱۲/۶±۶/۱۴*#
Hrt wt/body wt ×1000 (نسبت وزن قلب به وزن بدن ضربدر ۱۰۰۰)	۳/۸۰±۰/۱	۴/۶±۱۳*	۴/۵۸±۰/۸*	۴/۶۸±۰/۲۳*
LV wt/heart wt ×10## (نسبت وزن بطن چپ به وزن قلب ضربدر ۱۰)	۵/۰۲±۰/۱	۵/۲۳±۰/۲	۴/۶۳±۰/۲	۴/۷۲±۰/۱

*P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل، #P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه هیپوکسی، ≠P<۰/۰۵ در مقایسه با تمرین



شکل ۱. مقایسه‌ی میزان بیان پروتئین‌های PGC-1α ، P- AMPK ، VEGFA و ERRα در بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه.الف) تصاویر ایمونو بلاتینگ پروتئین‌های PGC-1α، P- AMPK، AMPK، VEGFA، ERRα و بتا اکتین .ب) نمودار نشان‌دهنده مقادیر کمی شده‌ی باند پروتئینی PGC-1α در مقابل بتا اکتین. ج) نمودار نشان‌دهنده مقادیر کمی شده‌ی نسبت P- AMPK/AMPK. د) نمودار نشان‌دهنده مقادیر کمی شده‌ی باند پروتئینی ERRα در مقابل بتا اکتین. ه) نمودار نشان‌دهنده مقادیر کمی شده‌ی باند پروتئینی VEGFA در مقابل بتا اکتین. نتایج به صورت میانگین± خطای استاندارد ارائه شده است (n=۱۰). *P<۰/۰۵ و **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل.

بحث

در تحقیق حاضر تاثیر هیپوکسی متناوب و تمرین هوازی به تنهایی و توام بر روی آنژیوژنز ناشی از PGC-1α در بافت قلب بررسی گردید. یافته‌های این تحقیق نشان داد که هیپوکسی به تنهایی محرک لازم برای القای مسیر آنژیوژنز PGC-1α، VEGFA، AMPK، می‌باشد. هر چند در تحریک مسیر AMPK که یک مسیر بیوژنز میتوکندری و آنژیوژنز مهم بشمار می‌رود تمرین هوازی اثر بهتری داشت. همچنین هیپوکسی متناوب توام با تمرین هوازی موجب القای بیشتری ERRα شد. از آنجا که مطالعات مشابه در این راستا بسیار اندک بود، نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقاتی که بیان فاکتورهای مذکور را در عضله اسکلتی، سرم و پلاسما بررسی کرده اند، مقایسه می‌گردد.

ایسکمی قلبی، مغز و اندام منجر به مرگ و میر گسترده جهانی می‌شود. هایپوکسی VEGF و دیگر فاکتورهای آنژیوژنیک که منجر به عروق‌زایی و حفاظت در برابر آسیب ایسکمی می‌شود را

تحریک می‌کند. در این مطالعه تمرین هوازی و هیپوکسی به تنهایی و توام بیان پروتئین PGC-1α را در بافت قلبی افزایش دادند. همسو با نتایج این تحقیق، Casper و همکاران پاسخ‌های mRNA PGC-1α و PDK4 مربوط به بیوژنز میتوکندریایی، متابولیسم، آنژیوژنز و میوژنز را در عضلات اسکلتی مردان فعال بدنبال مشارکت در تمرینات استقامت در سرعت (S)، تمرینات استقامتی (E) و استقامت در سرعت متعاقب تمرین استقامتی (S + E) بررسی کردند نتایج آنها نشان داد که در افراد تمرین کرده، تمرین استقامت در سرعت محرک‌های لازم را برای بیوژنز میتوکندری عضلانی، تنظیم سوبسترا، و آنژیوژنز فراهم می‌کند. این پاسخ‌ها زمانی ایجاد شد که تمرینات استقامت در سرعت متعاقب تمرینات استقامتی دنبال می‌شد(۱۹). همچنین نتایج تحقیق حاضر با تحقیق Giland و همکاران Ydfors و همکاران همخوانی دارد که اعلام داشتند که تمرین استقامتی طولانی مدت و سایر انواع فعالیت بدنی (مانند تمرین با حداکثر سرعت دویدن و تمرین مقاومتی) باعث افزایش محتوای mRNA PGC-1a در عضلات اسکلتی انسان و موش می‌شود(۲۰).

همچنین، همسو با نتایج حاضر، در مطالعه‌ی Robyn Thom و همکاران نشان دادند گیرنده پروتئین PGC-1α ، برای القاء فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در سلول‌های عضله اسکلتی در شرایط هیپوکسی مورد نیاز است. نشان داده شده است که هیپوکسی به طور خاص گونه‌های متناوب اسپلیک کد گذاری شده برای فرم‌های مختص PGC-1α را القا می‌کند. NT-PGC-1 به شدت باعث بیان VEGF می‌شود درحالی‌که اثر کمی بر روی ژن‌های میتوکندری دارد. از سوی دیگر، حذف کردن ایزوفرم‌های PGC-1α و فاکتور القاء شده با هیپوکسی (HIF-1) القاء VEGF را در پاسخ به هیپوکسی از بین می‌برد. بنابراین، NT-PGC-1 و PGC-1α-4 ویژگی‌های آنژیوژنیک واکنش هیپوکسی PGC-1α را در سلول‌های عضله اسکلتی تضمین می‌کند. بنابراین PGC-1a به طور قابل توجهی بر روی عضله اسکلتی به روش‌های مختلف تاثیر می‌گذارد و همچنین بر افزایش ظرفیت ورزش، القاء آنژیوژنز و جلوگیری از آتروفی عضلانی اثر می‌گذارد. این بدان معنی است که سیستم‌های مختلف انتقال سیگنال درون عضله به طور مستقیم بر بیان و فعال شدن PGC-1a تاثیر می‌گذارد(۲۰).

سازوکار بیان و فعال‌سازی PGC-1α به طور مختلف گزارش شده است، اما سازوکار کنترل واکنش پاسخ به عضله اسکلتی و قلبی ناشی از محرک‌های بیرونی هنوز نامشخص است. همچنین معلوم نیست زمانی که اکسیژن و مواد مغذی نادر است PGC-1α چگونه القا می‌شود و چه سازوکاری PGC-1α را در طی ورزش القا می‌کند. مطالعات بیشتری برای روشن شدن ابهامات در مورد PGC-1α ضروری است که بعلت محدودیت‌های متعدد در این مطالعه به آنها پرداخته نشده است.

همچنین درمطالعه ما علاوه بر PGC-1α، میزان فسفریلاسیون فاکتور AMPK/B در گروه تمرین هوازی درمقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت با این وجود میزان فسفریلاسیون AMPK/B در موقعیت تمرینی نسبت به موقعیت‌های هیپوکسی و ترکیب تمرین با هیپوکسی بالاتر بود. همسو با نتایج تحقیق حاضر Mika و همکاران تحقیقی با هدف بررسی پاسخ‌های بیان ژن‌های PGC-1و ژن‌های هدف PGC-1α مرتبط با بیوژنز میتوکندری، سیتوکروم (C)، آنژیوژنز (VEGF-A) و هیپرتروفی عضلانی (میواستاتین) پس از یک دوره تمرین مقاومتی، استقامتی در ۱۹ مرد فعال، ۱۱ نفر تمرین مقاومتی (RE) و ۸ نفر تمرین استقامتی(EE) انجام دادند و نتیجه گرفتند که تمرین استقامتی و تمرین مقاومتی به طور معنی‌داری موجب افزایش بیان ژن پروموتر جایگزین ایزوفرم‌های اگزون b–۱ و PGC-1α۱ شد. در حالیکه پروموترهای پروگزیمال، رونوشت‌های مشتق شده از اگزون α۱ کمتر القا شده بود و تنها پس از تمرین استقامتی بهبود یافتند. همچنین گزارش کردند که تمرین استقامتی بیان سیتوکروم C و VEGF-A را بالا برده بود، در حالیکه تمرین مقاومتی بیان VEGF-A را افزایش و میواستاتین را کاهش داده بود (21). همچنین، همراستا با نتایج ما Narkar و همکاران گزارش داده‌اند که تغییرات فنوتیپک Phenotypic مربوط به عملکرد فیزیکی احتمالا ناشی از تعامل فیزیکی AMPK و PPAR می‌باشد. ورزش باعث تغییرات متابولیک از طریق تعدیل عوامل رونویسی می‌شود. PGC-1α به عنوان یک عامل فعال کننده رونویسی ناشی از ورزش است که استقامت را از طریق بیوژنز میتوکندری، گلوکونوژنز، متابولیسم تری گلیسیرید، هوموستاز گلوکز و رگزایی عضله بهبود می‌دهد(۲۲). از جمله سازوکارهای احتمالی درگیر در این فرایند این است که بدلیل افزایش مصرف ATP در خلال فعالیت ورزشی و تغییرات زیاد نسبت ATP:ADP/AMP ، در روند انرژی‌رسانی اختلال ایجاد می‌شود و فشارهای سوخت وسازی ناشی از کاهش سطح ATP موجب فعال شدن مسیر پیام‌رسانی AMPK، MAPK و حتی mTOR می‌شود که موجب القای ژن‌ها و بیان پروتئین فاکتورهای مختلف تنظیم کننده بیوژنز، آنژیوژنز و نوروژنز می‌گردد. همچنین درمطالعه ما ERRα درگروه تمرین و هیپوکسی مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت و در گروه ترکیب تمرین با هیپوکسی نسبت به موقعیت‌های هیپوکسی و تمرین مقدار ERRα بالاتر بود. اخیرا نشان شده است که PGC-1α، VEGF را با همکاری عامل رونویسی گیرنده مرتبط با استروژن (ERRα) تقویت کننده جدید در اینترون اول ژن VEGF القا می‌کند. بیان ترانس ژنیک PGC-1α در عضله باعث ایجاد چشمگیر عروق‌زایی می‌شود و موش‌ها از آسیب‌های عضلانی ایسکمی محافظت می‌شود. برعکس، حذف PGC-1α در عضله اسکلتی مانع از آنژیوژنز واسطه شده توسط ورزش می‌شود. PGC-1α با

افزایش بیان ERRα موجب افزایش VEGF-A می‌شود و در نهایت باعث افزایش رگ‌زایی در عضله قلبی و اسکلتی می‌گردد (۲۰, ۲۳). همراستا با این تحقیق Chinsomboon و همکاران اعلام داشتند PGC-1α از طریق تعامل با ERRα نسخه برداری VEGFA را در پاسخ به هیپوکسی و فشارهای متابولیکی افزایش می‌دهد و تنظیم مثبت VEGFA به طور معنی‌داری القای رشد مویرگی را در پاسخ به هیپوکسی در موش‌ها افزایش داد(۲۴). همچنین، در این راستا Weiwei و همکاران در سال ۲۰۱۸ گزارش کرده اند که PGC1a مولکولی است که بر آنژیوژنز، بیوژنز میتوکندری و فرایند اکسایشی تاثیر می‌گذارد. اما بازسازی مجدد عضله از طریق ارتباط آن با عوامل رونویسی چندگانه، از جمله گیرنده هسته‌ی ماهر ERRa صورت می‌گیرد. بر طبق نتایج آنها ERRα عمدتا موجب بهبود آسیب عضلانی و عملکرد شده و القای بیوژنز میتوکندری، دفاع آنتی اکسیدانی، آنژیوژنز، و تبدیل نوع تارهای گلیکولیتی به اکسیداتیو مستقل از PGC1a / b رخ داده بود. علاوه بر این، زمانیکه آزمودنی‌ها به طور داوطلبانه ورزش کردند، افزایش عملکرد ERRα عمدتا کمبود انرژی ناشی از میتوکندری را در عضله‌ی که ژنPGC1a / b در آنها تخریب شده بود بازیابی کرد و باعث افزایش ۵ برابری عملکرد در حال اجرا شد. بنابراین، درحالی‌که PGC1 می‌تواند با عوامل متعدد رونویسی ارتباط برقرار کند، این یافته‌ها نشان می‌دهد ERRa به عنوان هدف عمده مولکولی است که از طریق آن PGC1a / b هر دو متابولیسم انرژی طبیعی و سازگاری را تنظیم می‌کند(۲۵).

به نظر می‌رسد فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی از جمله سیگنالینگ کلسیم، AMPK , MAPK، تنظیم ROS واسطه و سیگنالینگ بتا آدرنرژیک ممکن است به پاسخ بیان ژن ERRα تحت PGC-1α و مستقل از آن در شرایط مانند ایسکیمی، هیپوکسی و فعالیت ورزشی منجر شود.

نیز نتایج این مطالعه نشان داد که سطح بیان پروتئین VEGF-A، با هر سه محرک تمرین، هیپوکسی و تمرین توام با هیپوکسی افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق با نتایج Hiroshi و همکاران ۲۰۱۶، و همچنین Lee وهمکاران ۲۰۱۸همخوانی دارد که گزارش دادند که تمرین در شرایط هیپوکسی ظرفیت استقامتی را افزایش می‌دهد. در مطالعه آنها هشت اسب به مدت ۴ هفته، ۳ روز در هفته با (۱۰۰ درصد VO_2max) تحت شرایط نورموکسی (۲۱٪ =F_{IO2}) و هیپوکسی (۱۵٪ =F_{IO2}) قرار گرفتند. تست ورزشی فزاینده بر روی تردمیل تحت شرایط نوروکسی انجام شد و حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max) و مسافت دویدن قبل و بعد از هر جلسه تمرینی اندازه‌گیری شد. نمونه‌های بیوپسی عضلانی از عضله سرینی در ۶ زمان برنامه‌ریزی شده قبل، بعد، ۴، ۲۴، ۳، ۷ روز بعد از تست ورزشی انجام شد و نتایج نشان داد که تمرین در هیپوکسی موجب بهبود قابل توجهی درمسافت دویدن و VO_2max در تست ورزشی فزاینده تحت شرایط نورموکسی در اسب‌ها می‌شود. همزمان، تراکم مویرگی و بیان mRNA از جمله میوژن، VEGF-A تحت تمرین در شرایط هیپوکسی افزایش داشت. این نتایج نشان می‌دهد که بیش تنظیمی فوری از رونویسی mRNA VEGF-A پس از تمرین همراه با افزایش ترجمه و افزایش پروتئین VEGF-A برای آنژیوژنز ضروری است(۲۶). علاوه بر این، گزارش دادند که تغییرات دوره‌ای در بیان mRNA VEGF-A مربوط به بیان mRNA PGC-1α بود، زمانی که آزمایش‌های ورزشی تحت تأثیر هیپوکسی حاد نوروموباریک انجام شد. نتایج نشان داد که تغییرات در بیان MRNA VEGF-A و PGC-1α مشابه هستند. با این حال، اگر چه بیان ژن mRNA PGC-1α در ۴ ساعت تمرین در شرایط هیپوکسی افزایش داشت، ولی تغییرات بیشتری در mRNA VEGF-A مشاهده نشد. بعلاوه نشان دادند تمرین در شرایط هیپوکسی، فعال شدن و تکثیرسلول های ماهواره‌ای را SCs تسهیل می‌کند(۱).

همچنین همراستا با نتایج این تحقیق، Wahl و همکاران پاسخ-های عوامل رشد آنژیوژنیک به ورزش، هیپوکسی و ورزش تحت شرایط هیپوکسی را بررسی کردند و بیان داشتند که دو محرک اصلی برای القاء آنژیوژنز در عضله اسکلتی وجود دارد. در طول ورزش کاهش تنش اکسیژن موجب کاهش عرضه اکسیژن به طرف عضلات اسکلتی می‌شود. از سوی دیگر محرک مکانیکی، جریان خون کل عضلات اسکلتی و در نتیجه تنش برشی و کشش مکانیکی در طول فعالیت بدنی افزایش می‌یابد. یک یا هر دو محرک هنگامی بوجود می‌آیند که هیپوکسی ناشی از تمرین و یا تمرین ورزشی در شرایط هیپوکسی انجام می‌شود. بنابراین، تمرین تحت شرایط هیپوکسی ممکن است برای ایجاد آنژیوژنز در عضلات فعال مفید باشد. نشان دادند که تمرین در ارتفاع بالا می-تواند حفظ اکسیژن به بافت را از لحاظ افزایش مقدار گلبول‌های قرمز (RBC) و مویرگ‌ها بهبود دهد. در این شرایط اریتروپویتین (EPO) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) عوامل مهم تنظیم کننده آنژیوژنز و اریتروپوئیز هستند(۲۷).

همچنین نتیجه این تحقیق با نتایج Wang و همکاران همخوانی دارد که اعلام داشتند تمرین در شرایط هیپوکسی احتمالا بیان بیش تنظیمی فاکتور مشتق از سلول‌های بنیادی(SDF-1)، ماتریکس متالوپروتیناز (MMP-9)، VEGF و NO را با فعال شدن مسیر عامل القائی هیپوکسی افزایش می‌دهد و احتمالا VEGF، سلول‌های بنیادی درگردش را به سلول‌های اندوتلیال عروقی عملکردی در بافت‌های فعال متمایز می‌کند(۲۸).

در بررسی نتایج تحقیقات، اغلب دو مکانیسم اصلی توسط هیپوکسی در افزایش بیانVEGF گزارش شده است. یکی اینکه تجمع آدنوزین در عضله اسکلتی در شرایط هیپوکسی و اتصال آن به گیرنده خود (A2)، موجب افزایش غلظت cAMP1 می‌شود که

این عامل هم افزایش سطح mRNA پروتئین VEGF را موجب می‌شود. دیگر اینکه هیپوکسی باعث تحریک HIF-1 می‌شود با فعال شدن این مسیر بیان ژنی پروتئینVEGF افزایش می‌یابد(۲۹). ولی اخیرا مشخص شده است در شرایط محیطی ایسکمی و هیپوکسی مسیر PGC-1α از طریق ERRα، VEGF و سایر فاکتورهای آنژیوژنیک را مستقل از مسیرHIF تحریک می‌کند و با فعال‌سازی این مسیر موجب رگ‌زایی می‌شود(۱۲, ۲۰). همچنین اخیرا مشخص شده است فعال شدن VEGF-A در شرایط هیپوکسی، حداقل تا حدی با فعال شدن سلول های ماهواره‌ی همراه است. با این حال، اطلاعات کمی در ارتباط بین SCs و آنژیوژنز ناشی از تمرین در شرایط هیپوکسی وجود دارد.

اما نتایج تحقیق حاضر مخالف با یافته‌های Lundby و همکاران می‌باشد که گزارش کردند که استراحت مطلق ۲ و ۸ هفته‌ای در شرایط هیپوکسی (ارتفاع۴۱۰۰متری) تغییر معنی‌داری را در بیان mRNA VEGF، mRNA HIF-۱ و چگالی مویرگی موجب نمی‌شود(۳۰). علت نا همسو بودن نتایج، احتمالا تفاوت در نوع آزمودنی‌ها، نوع هیپوکسی (حاد در برابر مزمن، متناوب یا تداومی) مدت قرارگیری در معرض هیپوکسی و یا سطح هیپوکسی و بویژه نوع، زمان و نمونه مورد اندازه‌گیری (سرم در مقابل بافت قلب) می‌تواند باشد (۲۶).

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که هر دو مداخله‌ی تمرین هوازی و هیپوکسی متناوب با شدت متوسط به تنهایی یا به طور توام، محرک مناسبی برای فعال کردن مسیرهای پیام رسانی فرایند آنژیوژنز می‌باشند. ولی نقش هیپوکسی در القای بیان پروتئین‌های PGC-1α وVEGFA و تمرین هوازی برای فعالیت مسیر پیام رسانی p- AMPK برجسته تر بود و ترکیب این دو عامل(H+T) اثر هم افزایی نداشتند. به نظر می‌رسد، تنش‌های اکسایشی و سوخت و سازی در هر دو شرایط هیپوکسی و فعالیت ورزشی، منجر به فعال شدن محرک‌های بالا دستی PGC-1α می‌شوند که آن هم به نوبه خود از طریق تعامل با عوامل رونویسی موجب افزایش بیان ژن‌های دخیل در آنژیوژنز (ERRα و VEGFA) می‌شود. البته هنوز معلوم نیست در شرایط هیپوکسی و در طی ورزش PGC-1α با چه سازوکاری القا می‌شود. برای تعیین دقیق سازوکارهای پایین دستی و بالا دستی این مسیرها نیاز به مطالعات بیشتری است.

قدردانی

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت‌های مسولین ابراز می‌دارد.

منافع متقابل

مولفین اعلام می‌نمایند تالیف و یا انتشار این مقاله منافع متقابلی ندارد.

مشارکت مولفان

س ر، م س و همکاران، طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی شامل نمی‌شود

منابع مالی

این پروژه پژوهشی با حمایت مالی نسبی دانشگاه محقق اردبیلی با مجوز شماره ۱۳۹ با کد پیگیری ۱۴۰۳۶۲۹ اجرا شده است.

References

1. Nagahisa H, Mukai K, Ohmura H, Takahashi T, Miyata H. Effect of high-intensity training in normobaric hypoxia on Thoroughbred skeletal muscle. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2016; **2016**: |Article ID 1535367 | 10 pages|. doi: 10.1155/2016/1535367
2. Stray-Gundersen J, Chapman RF, Levine BD. "Living high-training low" altitude training improves sea level performance in male and female elite runners. *Journal of applied physiology* 2001; **91**(3): 1113-1120. doi: 10.1152/jappl.2001.91.3.1113
3. Vogt M, Hoppeler H. Is hypoxia training good for muscles and exercise performance? *Progress in cardiovascular diseases* 2010; **52**(6): 525-533. doi: 10.1016/j.pcad.2010.02.013
4. Karamysheva A. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry (Moscow)* 2008; **73**(7): 751.
5. Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, et al. Effect of intermittent hypoxic training on HIF gene expression in human skeletal muscle and leukocytes. *European journal of applied physiology* 2009; **105**(4): 515. doi: 10.1007/s00421-008-0928-y
6. Hudlicka O, Brown MD. Adaptation of skeletal muscle microvasculature to increased or decreased blood flow: role of shear stress, nitric oxide and vascular endothelial growth factor. *Journal of vascular research* 2009; **46**(5): 504-512. doi: 10.1159/000226127
7. Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *New England Journal of Medicine* 2011; **365**(6): 537-547. doi: 10.1056/NEJMra1011165
8. Uchida C, Nwadozi E, Hasanee A, Olenich S, Olfert IM, Haas TL. Muscle-derived vascular endothelial growth factor regulates microvascular remodelling in response to

increased shear stress in mice. *Acta Physiologica* 2015; **214**(3): 349-360. doi: 10.1111/apha.12463
9. Arany Z, Foo S-Y, Ma Y, Ruas JL, Bommi-Reddy A, Girnun G, et al. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1α. *Nature* 2008; **451**(7181): 1008. doi: 10.1038/nature06613
10. Lira VA, Benton CR, Yan Z, Bonen A. PGC-1α regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2010; **299**(2): E145-E161. doi: 10.1152/ajpendo.00755.2009
11. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2006; **103**(44): 16260-16265. doi: 10.1073/pnas.0607795103.
12. Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M, et al. PPARγ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nature medicine* 2013; **19**(5): 557. doi: 10.1038/nm.3159
13. Hu J, Long H, Wu T-D, Zhou Y, Lu H-B. The effect of estrogen-related receptor α on the regulation of angiogenesis after spinal cord injury. *Neuroscience* 2015; **290**: 570-580. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.067
14. Manio MCC, Inoue K, Fujitani M, Matsumura S, Fushiki T. Combined pharmacological activation of AMPK and PPAR δ potentiates the effects of exercise in trained mice. *Physiological reports* 2016; **4**(5): e12625. doi: 10.14814/phy2.12625
15. Dillon LM, Rebelo AP, Moraes CT. The role of PGC-1 coactivators in aging skeletal muscle and heart. *IUBMB life* 2012; **64**(3): 231-241. doi: 10.1002/iub.608
16. Shen M, Gao J, Li J, Su J. Effect of ischaemic exercise training of a normal limb on angiogenesis of a pathological ischaemic limb in rabbits. *Clinical science* 2009; **117**(5): 201-208. doi: 10.1042/CS20080212
17. Gao Y, Zhao Y, Pan J, Yang L, Huang T, Feng X, et al. Treadmill exercise promotes angiogenesis in the ischemic penumbra of rat brains through caveolin-1/VEGF signaling pathways. *Brain research* 2014; **1585**: 83-90. doi: 10.1016/j.brainres.2014.08.032.
18. Ashwal S, Tone B, Tian HR, Cole DJ, Pearce WJ. Core and penumbral nitric oxide synthase activity during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1998; **29**(5): 1037-1047. doi: 10.1161/01.STR.29.5.1037.
19. Skovgaard C, Brandt N, Pilegaard H, Bangsbo J. Combined speed endurance and endurance exercise amplify the exercise-induced PGC-1α and PDK4 mRNA response in trained human muscle. *Physiological reports* 2016; **4**(14): 12864. doi: 10.14814/phy2.12864
20. Thom R, Rowe GC, Jang C, Safdar A, Arany Z. Hypoxic induction of vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiogenesis in muscle by truncated peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator (PGC)-1α. *Journal of Biological Chemistry* 2014; **289**(13): 8810-8817. doi: 10.1074/jbc.M114.554394
21. Silvennoinen M, Ahtiainen JP, Hulmi JJ, Pekkala S, Taipale RS, Nindl BC, et al. PGC-1 isoforms and their target genes are expressed differently in human skeletal muscle following resistance and endurance exercise. *Physiological reports* 2015; **3**(10): 12563. doi: 10.14814/phy2.12563
22. Narkar VA, Fan W, Downes M, Ruth TY, Jonker JW, Alaynick WA, et al. Exercise and PGC-1α-independent synchronization of type I muscle metabolism and vasculature by ERRγ. *Cell metabolism* 2011; **13**(3): 283-293. doi: 10.1016/j.cmet.2011.01.019
23. Fernandes T, Casaes L, Soci Ú, Silveira A, Gomes J, Barretti D, et al. Exercise Training Restores the Cardiac Microrna-16 Levels Preventing Microvascular Rarefaction in Obese Zucker Rats. *Obesity facts* 2018; **11**(1): 15-24. doi: 10.1159/000454835
24. Chinsomboon J, Ruas J, Gupta RK, Thom R, Shoag J, Rowe GC, et al. The transcriptional coactivator PGC-1α mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. *Proceedings of the national academy of sciences* 2009; **106**(50): 21401-21406. doi: 10.1073/pnas.0909131106
25. Fan W, He N, Lin CS, Wei Z, Hah N, Waizenegger W, et al. ERRγ Promotes Angiogenesis, Mitochondrial Biogenesis, and Oxidative Remodeling in PGC1α/β-Deficient Muscle. *Cell reports* 2018; **22**(10): 2521-2529. doi: 10.1016/j.celrep.2018.02.047
26. Lee HJ. Exercise training regulates angiogenic gene expression in white adipose tissue. *Journal of exercise rehabilitation* 2018; **14**(1): 16. doi: 10.12965/jer.18360 10.005
27. Wahl P, Schmidt A, Achtzehn S, Bloch W, Mester J. Responses of angiogenic growth factors to exercise, to hypoxia and to exercise under hypoxic conditions. *International journal of sports medicine* 2013; **34**(02): 95-100. doi: 10.1055/s-0032-1314815
28. Wang J-S, Lee M-Y, Lien H-Y, Weng T-P. Hypoxic exercise training improves cardiac/muscular hemodynamics and is associated with modulated circulating progenitor cells in sedentary men. *International Journal of Cardiology* 2014; **170**(3): 315-323. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.11.005
29. Wang J-S, Wu M-H, Mao T-Y, Fu T-c, Hsu C-C. Effects of normoxic and hypoxic exercise regimens on cardiac, muscular, and cerebral hemodynamics suppressed by severe hypoxia in humans. *Journal of Applied Physiology* 2010; **109**(1): 219-229. doi: 10.1152/japplphysiol.00138. 2010.
30. Lundby C, Calbet JA, Robach P. The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia. *Cellular and molecular life sciences* 2009; **66**(22): 3615-3623. doi: 10.1007/s00018 -009-0146-8