Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

Sport and Biomotor Sciences
ورزش و علوم زیست حرکتی

تأثیر تمرین هوازی و هایپوکسی بر میزان بیان عوامل آنژیوژنز بافت قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

حسن فرهادی *[1]، ***معرفت سیاه کوهیان*** [2]، ***لطفعلی بلبلی*** [3]، ***پوران کریمی*** [4]

۱. مربی، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲. استاد، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳. دانشیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

٤. استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نشانی نویسنده مسئول: تبریز، شهرستان ورزقان، خیابان امام، جنب پل بزرگ، منزل حسن فرهادی، ۰۹۱٤۱۰۲٦۳۸٦

Email: hassan_farhady@yahoo.com

وصول: ۹۴/۰۸/۰۱ **اصلاح: ۹۴/۰۹/۱۴** **پذیرش:۹۴/۱۱/۲۷**

چکیده

مقدمه و هدف: علی‌رغم مشاهدات بالینی فراوان مبنی بر اثرات مفید هیپوکسی متناوب، تا به حال 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 در بافت قلبی موش‌های نر نژاد ویستار بود.

روش‌شناسی: تعداد ٤۰ رأس موش صحرایی در محدوده وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم، به طور تصادفی در ٤ گروه ۱۰تایی: کنترل سالم، هیپوکسی، تمرین هوازی، تمرین هوازی توام با هیپوکسی تقسیم‌بندی شدند. شرایط هیپوکسی، متناوب و ایزوباریک و شرایط تمرین هوازی سرعت ۲٦-۲۲ متر در دقیقه با شیب ٦ درجه نوارگردان به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته طراحی شد. غلظت پروتئین‌های آنژیوژنز شامل عامل القاشده هیپوکسی (HIF1-a)، عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و فسفاتیدیل اینوزیتول تری‌کیناز PI3K/Akt با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد و از روش آماری آنووا یکراهه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: بیان پروتئین‌های HIF1-a ، VEGFو PI3K/Akt در هر سه گروه تمرین (p<۰/۰۱)، هیپوکسی (p<۰/۰۱) و تمرین توام با هیپوکسی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۱). ولی بیانHIF بین گروه‌های تمرین با هایپوکسی (p<۰/۹۵) تمرین با ترکیب تمرین با هیپوکسی (p<۰/۰۹)، هیپوکسی با ترکیب تمرین با هیپوکسی تفاوت معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۹). هم‌چنین غلظت پروتئینVEGF بین گروه‌های تمرین با هایپوکسی (P<۰/٥٦)، تمرین با ترکیب تمرین با هیپوکسی (p<۰/۳۱)، تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی بین هیپوکسی با ترکیب تمرین با هیپوکسی افزایش بیشتری نشان داد (p<۰/۰۳). بالعکس سطح بیان PI3K/Akt در گروه تمرین (p<۰/۰۱) و تمرین توام با هیپوکسی نسبت به گروه هیپوکسی بیشتر بود (P<۰/۰۰۱). ولی مقایسه بیان PI3K/Akt بین گروه هیپوکسی و تمرین توام با هیپوکسی تفاوت معنی‌داری دیده نشد (p<۰/۰۸).

بحث و نتیجه‌گیری: احتمال دارد هیپوکسی برای القا آنژیوژنز و تمرین هوازی برای فعالیت مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt محرک بهتری می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: هیپوکسی متناوب، تمرین هوازی، عوامل آنژیوژنزیس.

مقدمه

آنژیوژنزیس یا رگ‌زایی به معنی افزایش چگالی مویرگ‌های عضله قلبی و اسکلتی است(۱). که به صورت جوانه زدن و یا تقسیم طولی از رگ قبلی بوجود می‌آید و در پاسخ به محرک‌هایی مانند هیپوکسی(۲)، نیروهای همودینامیک (تنش برشی، کشش مکانیکی بافت) و عوامل متابولیکی (شامل فاکتورهای رشدی) فعالیت خود را از سر می‌گیرد(۳, ٤). هرگونه کاهش در سطوح اکسیژن، مجموعه‌ای از پاسخ‌های حاد و مزمن در بدن را موجب می‌شود که مکانیسم‌های تنظیم

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

هموستاتیک در سیستم قلبی عروقی و تنفسی را به سرعت برای حفظ اکسیژن در متابولیسم طبیعی وارد عمل می‌کند(۵).

یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های حاصله در کمبود اکسیژن آنژیوژنز است(٦) و موثرترین عامل در آنژیوژنز، عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) می‌باشد که قوی‌ترین میتوژن اندوتلیالی بوده و تکثیر سلول‌های اندوتلیالی را در شرایط هایپوکسی تحریک می‌کند و اغلب تحت تاثیر عامل القایی هایپوکسی (Hypoxia Inducible Factor -1a) بیان می‌شود(۲). قرار گرفتن در یک محیط هایپوکسی، عامل (HIF-1a) را فعال می‌کند. HIF-1a تنظیم کننده اصلی در بیان ژن‌های مرتبط با هایپوکسی بویژه VEGF، در اغلب سلول‌های پستانداران می‌باشد که از دو زیر واحد HIF-1a و HIF-1β تشکیل شده است و در تمام سلول‌های هسته‌دار وجود دارد و نسبت به کمبود اکسیژن بسیار حساس است(۷). HIF-1 بعد از تولید می‌تواند عناصر واکنش دهنده به هایپوکسی که روی ژن‌های هدف در هسته قرار دارند را شناسایی‌کنند(۸) و نسخه‌برداری ژن‌های مختلف سازگار با هایپوکسی نظیر آنژیوژنز، گلیکولیز، اریتروپویتین و بیوسنتز کاتکولامین‌ها را شروع می‌کند(۹). علاوه‌براین، عواملی مانند ورزش حاد، اسیدوز، فشار اکسایشی وگرما بیان HIF-1a را مستقل از هایپوکسی تحریک می‌کند(۷).

با این‌که، بیش از دو درصد از تمام ژن‌های انسان به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم توسط HIF-1 در سلول‌های اندوتلیال سرخرگی تنظیم می‌شود(۱۰). تا به امروز القا رونویسی از حدود ۱۰۰ژن هدف، توسط HIF-1a مشخص شده است(۱۱). که در بین‌آنها عامل رشدی اندوتلیالی فعال‌ترین میتوژن اندوتلیالی است(۱۲). VEGF باعث فراخوانی موثر سلول‌های بنیادی به داخل جریان خون شده و به عنوان آغازگر رگزایی عمل می‌کند(۱۳) و در مهاجرت، تکثیر، تجزیه ماتریکس سلول‌های اندوتلیال و در تشکیل شبکه عروقی نقش دارد(۱٤, ۱۵). هم‌چنین از طریق فعال‌سازی مسیر درون سلولی فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز (Phpsphatidyl Inositol 3 Kinase) با گیرنده نوع دو، تحت پیام‌دهی پراکسید هیدروژن (H2O2) منجر به فعال شدن مسیر پروتئین کیناز (Akt/PKB) می‌شود. این مسیر با کاهش فعالیت پروتئین‌های آپوپتوتیک و افزایش بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوز در نهایت افزایش بقای سلول‌های اندوتلیال را باعث می‌شود(١٦).

یافته‌های پژوهشی موید این است که مسیر پیام رسانی PI3K/Akt نقش اساسی را در آنژیوژنز ایفا می‌کند. زیکاو و همکاران (۲۰۱۳) مسیر PI3K/AKT/mTOR را در هیپرتروفی بطن چپ موش‌های صحرایی بررسی کردند. در این تحقیق موش‌ها به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند و گروه تمرین به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته و یک ساعت در روز شنا می‌کردند و بیان سطوح پروتئین قلبیPI3K/AKT/mTOR بر اثر تمرین ۳٦ درصد افزایش داشت که نشان دهنده فعال شدن مسیر پیام‌رسانی PI3K/AKT/mTOR بود(۱۷).

از سوی دیگر تحقیقات نشان داده است فعال شدن مسیرهای آنژیوژنز نسبت به نوع تمرین، مدت زمان حضور در ارتفاع، میزان و نوع هیپوکسی مزمن و متناوب، متفاوت می‌باشد(۱۸). گان و همکاران (۲۰۱٦) در مطالعه‌ی گزارش کردند قرارگیری طولانی مدت در معرض هیپوکسی متناوب با شدت متوسط مثل ١٤درصد اثر محافظتی بر قلب داشته و مردمان ساکن تا ارتفاع ۲۵۰۰ متری بسیارکمتر از افراد ساکن در ارتفاع پایین‌تر دچار بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند و مرگ میر ناشی از بیماری‌های قلبی در بین آنها بطور معنی‌داری پایین‌تر است. بنابراین به نظر می‌رسد در شدت‌های پایین‌تر مدت قرار گیری در معرض هیپوکسی، باید کوتاه باشد. در مطالعه دیگری اسلیوکا و همکاران (۲۰۱٤) در حیوانات آزمایشگاهی رابطه VEGF-mRNAو HIF-1a را در شرایط ورزش هوازی و بی هوازی سنجیدند و به این نتیجه دست یافتند که هر دو فعالیت منجر به افزایش سطوح VEGF-mRNA و HIF-1a می‌شود و الگوی تجمع دو پروتئین در هر دو فعالیت متفاوت می‌باشد و رابطه بین غلظت VEGF وHIF-1α در بی هوازی قوی‌تر از ورزش‌های هوازی است(۱۹).

بنابراین، امروزه تحقیقات به مسیرهای پیام‌رسان سلولی و بررسی بیان برخی از ژن‌های مرتبط با آنژیوژنز (ترشح VEGF و بیان mRNA VEGF ، HIF-1 و...) معطوف شده‌اند که عموماً تاثیر هیپوکسی و تمرین ورزشی را در بیان فاکتورهای آنژیوژنز تایید کرده‌اند اگر چه در این راستا هم، اختلاف نظرهایی وجود دارد(۲۱.۲۰). برای مثال وانگ و همکاران (۲۰۱٤) نقش تمرین هوازی و هایپوکسی را بر بیان سلول‌های بنیادی در گردش اندوتلیال[1](CPCs) در افراد غیر فعال مورد مطالعه قرار دادند. این مطالعه نشان داد تمرین در شرایط هایپوکسی احتمالاً

1.Circulating Progenitor Cells

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

بیان بیش تنظیمی فاکتور مشتق از سلول‌های بنیادی(SDF-1)، VEGF و NO را با فعال شدن مسیر عامل القایی هایپوکسی افزایش می‌دهد و احتمالاً VEG، سلول‌های بنیادی درگردش را به سلول‌های اندوتلیال عروقی عملکردی در بافت‌های فعال متمایز کند(۲۲). در مطالعه‌ی دیگر، گان و همکاران (۲۰۱٦) و میلانو و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر پیام‌رسانی PI3K در هیپوکسی متناوب را بر موش‌ها بررسی کردند(۲۳). در این تحقیق موش‌ها به مدت ١٤ روز، روزانه ٤ چرخه در معرض هیپوکسی متناوب (به صورت دو دقیقه با هیپوکسی ٦ تا ۸ درصد همراه با ۳ دقیقه اکسیژن‌گیری برای ۵ بار) قرار گرفتند و با موش‌های نورموکسی به عنوان گروه شاهد مقایسه کردند و گزارش دادند مسیر PI3K/Akt در هیپوکسی متناوب، آنژیوژنز، انقباض پذیری و عملکرد قلبی را بهبود بخشید و در کاهش آسیب ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون عضله قلبی موثر بود. به‌علاوه، رنجبر و همکاران تحقیقی را در یک شرایط هیپوکسی با ارتفاع ٤۲۰۰ متر با ۱۲درصد هیپوکسی به مدت هشت هفته انجام دادند و نشان دادند ترکیب هیپوکسی و تمرین به افزایش٤٤ درصدی سطوح سرمی VEGF منجر می‌شود و در گروه نورموباریک افزایش ۱۷ درصدی را مشاهده کردند(۱۲). در حالی‌که، لاندبای و همکاران عنوان داشتند که ۲و ۸ هفته ماندن در شرایط هیپوکسی (ارتفاع٤۱۰۰متری) موجب تغییر معنی‌داری در بیان mRNA VEGF ، mRNA HIF -۱ و چگالی مویرگی نمی‌شود(٢٤).

برای روشن شدن علت این تناقضات، بهترین راه شناسایی مسیرهای مولکولی درگیر در این پدیده است. بررسی مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهد تا کنون توان دو مداخله تمرین هوازی و هیپوکسی متناوب بر القا آنژیوژنز در بافت قلبی با هم مقایسه و هم افزایی این دو عامل بر هم بررسی نشده است. اندازه‌گیری‌های صورت گرفته عمدتا در سطح سرم، پلاسما و یا بیان ژن در عضله اسکلتی بوده‌اند که دقیقاً منعکس‌کننده وضعیت بیان ژنی بافت قلبی نمی‌باشند. لذا تحقیق حاضر سعی کرده تاثیر هر یک از مداخلات تمرین هوازی، هیپوکسی متناوب، و ترکیب آن‌ها را بر محتوای پروتئین‌های HIF1-a ,VEGFA و P-AKT در میوکارد موش‌های صحرایی بررسی کند.

روش‌شناسی

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی و طرح پس آزمون با گروه کنترل بود. در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر سفید نژاد ویستار (n=٤۰) (انستیتو پاستور، تهران) با سن حدود ۳ ماهگی درمحدوده وزنی ۲۰±۲۲۰گرم استفاده گردید. ابتدا، موش‌های صحرایی به طور تصادفی در ٤ گروه: کنترل سالم، هیپوکسی، تمرین هوازی با هیپوکسی و تمرین هوازی تقسیم‌بندی شدند و در هر گروه ۱۰ موش صحرایی قرار گرفت. تمام موش‌ها در آزمایشگاه حیوانات در یک محیط کم استرس (دمای ۲۲°C- ۲۰، رطوبت ۵۰ درصد و کم سر و صدا) و سیکل روشنایی ـ تاریکی ۱۲ساعته به صورت چهارتایی در هر قفس قرار داده شدند. ضمناً حیوانات آزادانه به آب شرب و غذای فشرده مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس) به مدت دو ماه و ۲ هفته دسترسی داشتند. به منظور ایجاد حالت سازش با محیط، تمامی مداخلات پس ازگذشت 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 (۲۰/۱۳/ د/۹۵) 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

گروه‌های تمرین هوازی ۵ جلسه در هفته و ۸ هفته بر روی نوار گردان تمرین داده می‌شدند. در ابتدا، موش‌های صحرایی به مدت ۱۰تا۲۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب ٦ درجه تمرین خود را آغاز کردند (هفته اول). 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 ٢٦ متر در دقیقه رسید. (جدول۱)

اعمال هایپوکسی

هیپوکسی اعمال شده از نوع هیپوکسی ایزوباریک (فشار سهمی اکسیژن ١٤ درصد با فشار کلی ۱ اتمسفر) بوده و به مدت هشت هفته به طور متناوب و افزایشی در طول شب (سیکل روشنایی) در داخل اتاقک هیپوکسی ویژه حیوانات ساخت کشور استرالیا مدل بایومدتیچ (***Biomedtech***) اعمال می‌شد. (جدول ۲) این مقدار هیپوکسی از نظر میزان فشار سهمی اکسیژن شبیه ارتفاع ۳٤۰۰ متری می‌باشد. موش‌های صحرایی

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

جدول۱. زمانبندی هفتگی تمرین موش‌ها

هفته	مدت تمرین(دقیقه)			شدت تمرین(با سرعت متر در دقیقه)	شیب نوارگردان
هفته اول	۵دقیقه گرم کردن	۱۰ تا ۲۰	۵دقیقه سرد کردن	۱۰	۶درجه
هفته دوم	۵دقیقه گرم کردن	۲۰ الی ٤۰	۵دقیقه سرد کردن	۱۵ تا ۲۱	۶درجه
هفته سوم	۵دقیقه گرم کردن	٤۰	۵دقیقه سرد کردن	۲۲	۶درجه
هفته چهارم	۵دقیقه گرم کردن	٤۵	۵دقیقه سرد کردن	۲۳	۶درجه
هفته پنجم	۵دقیقه گرم کردن	۵۰	۵دقیقه سرد کردن	۲٤	۶درجه
هفته ششم	۵دقیقه گرم کردن	۵۵	۵دقیقه سرد کردن	۲۵	۶درجه
هفته هفتم	۵دقیقه گرم کردن	۵۵	۵دقیقه سرد کردن	۲۶	۶درجه
هفته هشتم	۵دقیقه گرم کردن	۵۵	۵دقیقه سرد کردن	۲۶	۶درجه

جدول۲. زمانبندی قرارگرفتن موش‌های صحرایی در اتاقک هایپوکسی

هفته	مدت (ساعت)	ارتفاع شبیه‌سازی شده (متر)	هفته	مدت (ساعت)	ارتفاع شبیه‌سازی شده (متر)
هفته اول	٤	۳۰۰۰	هفته پنجم	۱۲	۳٤۰۰
هفته دوم	۸	۳٤۰۰	هفته ششم	۱۲	۳٤۰۰
هفته سوم	۱۲	۳٤۰۰	هفته هفتم	۱۲	۳٤۰۰
هفته چهارم	۱۲	۳٤۰۰	هفته هشتم	۱۲	۳٤۰۰

بعد از اتمام زمان هیپوکسی (۸ تا ۱۲ ساعت در شبانه روز) به محل آزمایشگاه و کنار سایر گروه‌ها انتقال داده می‌شدند. گروه تمرین با هیپوکسی بعد از تمرین در طول روز مشابه گروه هیپوکسی در داخل اتاقک هیپوکسی قرار داده می‌شدند و گروه‌های کنترل غیر هیپوکسی در شرایط نورموکسیک ایزوباریک (فشار سهمی اکسیژن ۲۱ درصد با فشار کلی ۷٦۰ میلی متر جیوه) نگه‌داری می‌شدند. به منظور عادی سازی اتاقک، موش‌های صحرایی در دو هفته اول، بترتیب ٤ و ۸ ساعت هیپوکسی را متحمل می‌شدند که در هفته‌های آخر تا ۱۲ ساعت شب مانی افزایش پیدا کرد. مدت زمان کلی مداخله هیپوکسی ۸ هفته بود.

نمونه‌گیری

۲٤ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و قلب آن‌ها بلافاصله خارج شد. بعد از شستشو با نرمال سالین در نیتروژن مایع (°۱۹٦C-) منجمد و در دمای(°C ۷۰-) نگه‌داری شدند. برای ارزیابی میزان بیان پروتئین‌های HIF1-a، VEGFAو P-AKTاز روش وسترن بلات استفاده شد.

ایمونوبلاتینگ (Immunoblotting) تکنیک وسترن بلات برای تعیین میزان بیان پروتئین‌های HIF1-a، VEGFA و P-AKT به کار گرفته شد. روش کار مشابه کارهای قبلی بطور خلاصه به ترتیب زیر بود. برای تهیه هموژنه ده درصد وزنی حجمی بافت قلب ازبافر ریپا (سیگما) حاوی مهار کننده پروتئاز کوکتیل (سیگما) استفاده شد. غلظت تام پروتئین با روش برادفورد (سیگما) اندازه‌گیری گردید. سپس پروتئین‌ها در ژل ۱۰٪ دناتوره کننده آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات۱ (SDS) و دستگاه الکتروفورز (شرکت نوژن پارس، مشهد،ایران) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا پلی وینیلیدین دی فلورایـد[۲] (PVDF)(سیگما) ترانسفر شدند. بعد از استفاده از بافر بلاکینگ برای پوشش دادن نواحی خالی از پروتئین غشا از آنتی بادی اولیه خرگوشی ضد HIF1-a ساخت شرکت سانتاکروز[۳] آمریکا با کد sc-۱۳۵۱۵، ضد VEGFA با کد ۵۰۷ ، ضد P-AKT با کد sc- ۷۹۸۵و ضد بتا اکتین با کد sc-٤۷۷۸۸ به نسبت ۱ به ۵۰۰ (در طول شب) استفاده شد. غشاها پس از چهار بار شستشو هر بار به مدت ۵ دقیقه با بافر فسفات نمکی حاوی ۰/۰۵ درصد توین۲۰، در معرض آنتی بادی ثانویه کونژوگه با HRP[٤] به مدت یک ساعت قرار گرفتند. پس از شستشوی مجدد با روش قبلی این بار به صورت سه تکرار از کیت (ECL)(BioRad) برای آشکارسازی کمپلکس‌های ایمنی تشکیل شده استفاده شد. غشاها در معرض

1. Sodium Dodecylsulfate
2 . Polyvinylidene fluoride
3 . Santa Cruz
4. horseradish peroxidase

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

فیلم رادیو گرافی قرار گرفته و دانسیته باندها توسط نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد و دانسیته‌ی باندهای پروتئین هدف در مقابل لودینگ کنترل بتا اکتین نرمالیزه شدند. نتایج به صورت دانسیته نسبی (نسبت به گروه کنترل) ارائه گردیدند.

تجزیه و تحلیل آماری

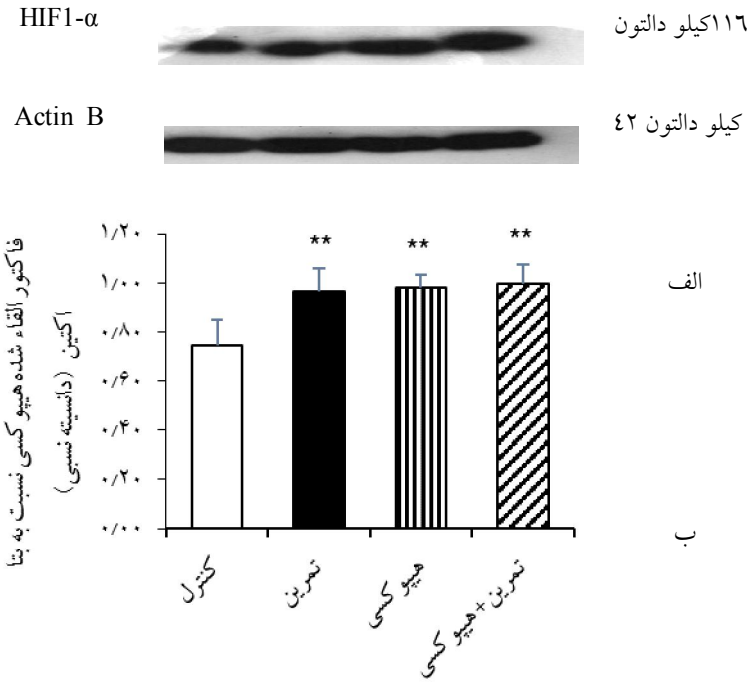
داده‌های پژوهش حاضر با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف ـ اسمیرنوف مشخص شد. برای بررسی اختلاف معنی‌دار بین گروهی از آزمون آنووای یک طرفه استفاده شد. برای تعیین محل اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری (P≤۰/۰۵) مد نظر بود.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از تحقیق نشان داد چگالی نسبی پروتئینHIF1-a در هر سه گروه تمرین (p<۰/۰۱)، هیپوکسی (p<۰/۰۱) و تمرین توام با هیپوکسی (p<۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. ولی بیانHIF بین گروه‌های تمرین با هایپوکسی (p<۰/۹۵) تمرین با ترکیب تمرین با هیپوکسی (p<۰/۰۹)، هیپوکسی با ترکیب تمرین با هیپوکسی تفاوت معنی‌داری نداشت (p<۰/۰۹). (شکل۱)

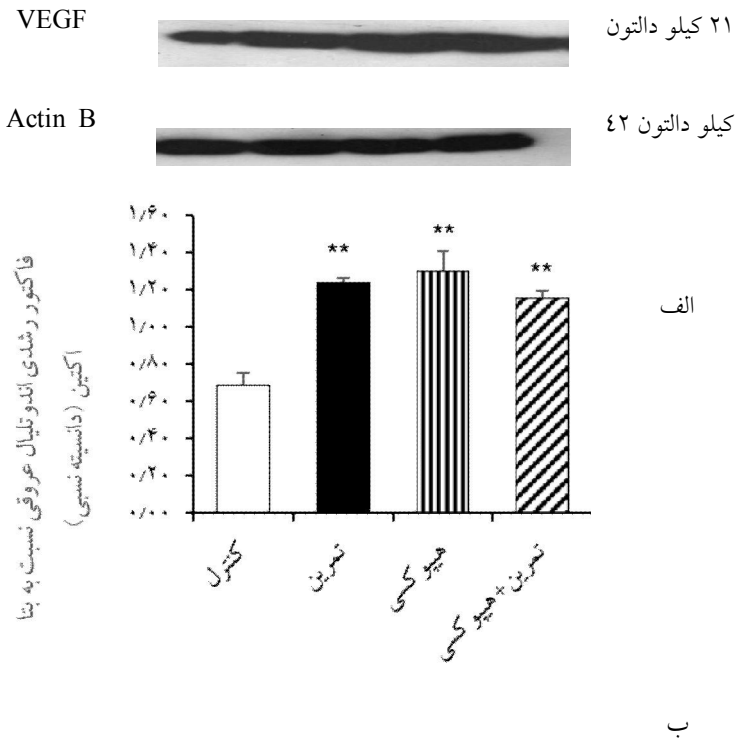
هم‌چنین بررسی‌های آماری تحقیق حاضر نشان داد بیان پروتئین VEGF در هر سه گروه تمرین (P<۰/۰۰۱)، هیپوکسی (P<۰/۰۰۱) و مداخله تمرین با هیپوکسی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱). مقایسه بین گروه‌ها مشخص کرد که بیان پروتئین VEGF بین گروه‌های تمرین با هایپوکسی (P<۰/۰۵٦) تمرین با ترکیب تمرین با هیپوکسی (P<۰/۳۱)، هیپوکسی با ترکیب تمرین با هیپوکسی تفاوت معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۳۸). (شکل۲)

هم‌چنین یافته‌ها نشان دادند که بیان پروتئین PI3K/Akt در هرسه گروه تمرین (P<۰/۰۰۱)، هیپوکسی (P<۰/۰۰۱) و تمرین توام با هیپوکسی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱). در مقایسه بین گروه‌ها غلظت پروتئین PI3K/Akt در گروه تمرین (P<۰/۰۰۱) و مداخله تمرین با هیپوکسی نسبت به گروه هیپوکسی افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱) ولی بین گروه تمرین و تمرین توام با هیپوکسی (P<۰/۰۷٦) تفاوت معنی‌داری یافت نشد. (شکل۳)

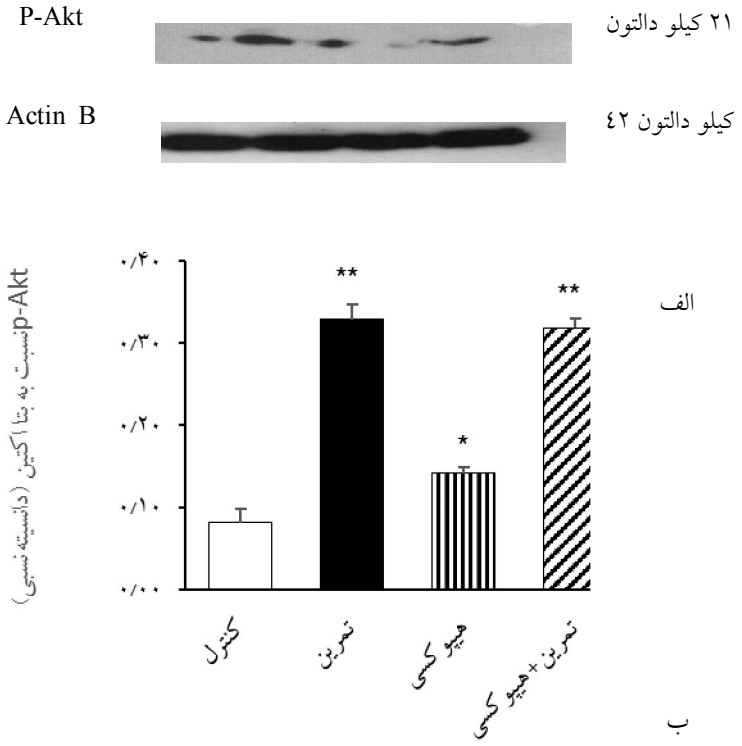


شکل۱. نشان دهنده افزایش بیان پروتئین فاکتور القاء شده هیپوکسی (HIF1-a) درگروه‌های مداخله مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل الف) تصویر ایمونوبلاتینگ پروتئین HIF1-a . ب) نمودار ستونی جهت نمایش کمی دانسیته نسبی باندهای پروتئینی در گروه‌های مورد مطالعه و مقایسه آن ها با هم . **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018



شکل۲. نشان دهنده افزایش بیان پروتئین فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) درگروه‌های مداخله مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل الف) تصویر ایمونوبلاتینگ پروتئین VEGF. ب) نمودار ستونی جهت نمایش کمی دانسیته نسبی باندهای پروتئینی در گروه‌های مورد مطالعه و مقایسه آن ها با هم. #P < ۰/۰۵ در مقایسه با گروه هیپوکسی. **P < ۰/۰۱ در مقایسه با کنترل



شکل ۳. نشان دهنده افزایش بیان پروتئین فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) درگروه‌های مداخله مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل الف) تصویر ایمونوبلاتینگ پروتئین VEGF. ب) نمودار ستونی جهت نمایش کمی دانسیته نسبی باندهای پروتئینی در گروه‌های مورد مطالعه و مقایسه آنها با هم. *P < ۰/۰۵ در مقایسه با کنترل. **P < ۰/۰۱ در مقایسه با کنترل

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر جهت بررسی اثر تمرین هوازی و هیپوکسی متناوب به تنهایی و توام بر روی آنژیوژنز بافت قلب طراحی گردید. نوع هیپوکسی در این مطالعه متناوب و ایزوباریک بود. مهم‌ترین یافته‌های این تحقیق عبارت بود از اینکه هیپوکسی به تنهایی محرک قویتری در القای آنژیوژنز محسوب می‌شود هر چند در تحریک مسیر Akt/PI3Kکه یک مسیر بقا و ترمیم مهم به شمار می‌رود تمرین هوازی اثر بهتری دارد. نیز بررسی‌ها نشان دادند که هیپوکسی متناوب و تمرین هوازی هر دو به یک میزان در القا فاکتور القاشونده با هیپوکسی نقش دارند. همانطور که قبلاً نیز اشاره شد بر اساس نتایج تحقیق حاضر مشخص شد که سطح بیان پروتئین VEGF، با هر سه محرک تمرین، هیپوکسی و تمرین توام با هیپوکسی افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق با یافته‌های چن و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی دارد که گزارش کردند ۸ ساعت قرارگیری در معرض هیپوکسی متناوب و متوسط (۱٤تا ۱۵درصد اکسیژن) به مدت ۸ هفته باعث افزایش بیانmRNA VEGF می‌شود(۲۵). هم‌چنین با نتایج وانگ جونگ شیان و همکاران (۲۰۱٤) که نقش تمرین هوازی و هیپوکسی را بر بیان سلول‌های بنیادی در گردش اندوتلیال[1] (CPCs) در افراد غیر فعال مورد مطالعه قرار دادند همخوانی دارد. این مطالعه نشان داد تمرین در شرایط هیپوکسی احتمالاً بیان بیش تنظیمی فاکتور مشتق از سلول‌های بنیادی(SDF-1)، ماتریکس متالوپروتیناز[2] (MMP-9)، VEGF و NOرا با فعال شدن مسیر عامل القائی هیپوکسی افزایش می‌دهد و احتمالاً VEGF، سلول‌های بنیادی درگردش را به سلول‌های اندوتلیال عروقی عملکردی در بافت‌های فعال متمایز می‌کند(۲٦.۲۲). همسو با نتایج ما رنجبر و همکاران (۲۰۱۳)، گان و همکاران (۲۰۱٦) نشان دادند که هیپوکسی و تمرین ورزشی سطوح mRNA VEGF سرمی را افزایش می‌دهند(۱۲ , ۲۳).

در اغلب تحقیقات، دو مکانیسم اصلی توسط هیپوکسی در افزایش بیانVEGF ذکر شده است. یکی اینکه در شرایط هیپوکسی آدنوزین در عضله اسکلتی تجمع می‌یابد و از طریق اتصال به گیرنده خود یعنی (A2)، موجب بالا رفتن غلظت cAMP1 می‌شود که این عامل به نوبه خود باعث افزایش سطح mRNA پروتئین VEGF می‌شود. دیگر اینکه هیپوکسی باعث تحریک HIF می‌شود. HIF در ادامه از طریق فعال‌سازی مسیر P-AKT/Akt موجب القا و بیان ژنی پروتئینVEGF می‌شود (۲٦). ولی نتایج تحقیق حاضر با نتایج برخی از تحقیقات مانند مونیر و همکاران (۲۰۰۹)، لاندبای و همکاران (۲۰۰٤) همسو نمی‌باشد مونیر و همکاران در تحقیقی تک جلسه‌ای که ورزشکاران استقامتی را برای سه ساعت در شرایط هیپوکسی (معادل ارتفاع ۳۰۰۰ متری) به صورت استراحت مطلق قرار دادند، متوجه کاهش معنی‌داری در سطوح VEGFسرمی آنان شدند. مشابه این تحقیق، التمانز و همکاران (۲۰۰٦) نیز کاهش معنی‌دار VEGFسرمی را بعد از ۱۵۰ دقیقه هیپوکسی (در شرایط استراحت مطلق) گزارش کردند(۲۵). به علاوه، لاندبای و همکاران (۲۰۰٤) عنوان داشتند که ۲ و ۸ هفته استراحت مطلق در شرایط هیپوکسی (ارتفاع٤۱۰۰متری) موجب تغییر معنی‌داری در بیان mRNA VEGF، mRNA HIF-۱ و چگالی مویرگی نمی‌شود(۲٤). علت همخوان نبودن نتایج، احتمالا نوع هیپوکسی (متناوب یا تداومی) مدت هیپوکسی و یا سطح هیپوکسی و بویژه نوع، زمان و نمونه مورد اندازه‌گیری (سرم در مقابل بافت قلب) می‌تواند باشد(۲۲).

مطالعات هم‌چنین نشان داده‌اند تمرینات ورزشی به علت افزایش مصرف اکسیژن شرایط شبه هیپوکسی ایجاد می‌کنند. مشاهده شده که عضلات تمرین کرده به دلیل مصرف اکسیژن سریع دچار تنش اکسیژن می‌شوند(۲۵). زمانی که اکسیژن‌رسانی متعاقب محدودیت جریان خون در عضلات مختل شود سطوح پروتئین HIF-1α افزایش می‌یابد. هر چند مطالعاتی وجود دارند که نشان می‌دهند HIF-1a فقط به میزان کمی در عضلات تمرین کرده فعال می‌شود (لیندهلم و راندکویست (۲۰۱٦)، سیلویکا و همکاران (۲۰۱٤) گزارش دادند که فعالیت ورزشی در فشار سهمی اکسیژن ۱۳درصد نقش اصلی را در بیان ژن HIF-1aدر عضلات اسکلتی ایفا می‌کند(۲۸.۲۷). تحقیقاتی نیز وجود دارند که اثر ترکیب هیپوکسی حاد با فعالیت ورزشی حاد را بررسی کرده و نشان داده‌اند که در این شرایط فراخوان فاکتورهای آنژیوژنز بیشتر می‌شود(۷). نیز برخی محققین در مطالعه بر روی بیان پروتئین HIF-1 متوجه شدند که هیپوکسی حاد همراه با فعالیت استقامتی سطوح HIF-1 mRNA را نسبت به فعالیت استقامتی صرف بیشتر افزایش داده است (مانیر و همکاران (۲۰۰۹). که با

1 . Circulating Progenitor Cells
2 . Matrix Metalloproteinase-9

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد زیرا یافته‌های ما نشان دادند که هیپوکسی مزمن متناوب توام با ورزش متوسط اثر هم‌افزایی (سینرژیک) بر بیان HIF-1aندارند. هر چند باید به تفاوت‌های دو نوع هیپوکسی اعمال شده توجه داشت (هیپوکسی حاد در مقابل مزمن) چند علت احتمالی نیز برای این نتایج می‌توان برشمرد ۱) این احتمال وجود دارد که علیرغم اعمال دو محرک قوی، محدودیت ظرفیت کل سلول‌های قلبی در بیان VEGF اجازه پاسخ‌دهی بیشتر را نداده‌اند چون همانطور که در شکل۲ آورده شده هم هیپوکسی و هم تمرین یک افزایش تقریباً دو برابری را در بیان VEGF القا کرده‌اند مطالعات نشان داده‌اند که حتی در حضور مواد پرو آنژیوژنزکلاسیک افزایش بیش از دو برابر دیده نشده است(۸). ۲) احتمال دارد که این دو محرک در برخی مسیرها اثر همدیگر را کمرنگ کنند ۳) احتمال سوم مربوط به رسیدن به یک راهکار مشترک در رفع مشکل محرومیت از اکسیژن است به‌این‌صورت که فعالیت ورزشی به طور مستقل فشارهای متابولیکی زیادی اعمال می‌کند و متعاقبا مصرف اکسیژن را توسط عضلات فعال افزایش می‌دهد در حالیکه هیپوکسی حاد با کاهش اکسیژن, کاهش فعالیت‌های متابولیکی را می‌طلبد. نیز مشاهدات مرتبط با سازگاری با ارتفاع متناوب نشان می‌دهند که پاره ای از اثرات مفید آن به تولید نیتریک اکسید (NO) که یک گشادکننده عروقی مهم و عامل محافظت‌کننده موثر در برابر هیپوکسی شدید و طولانی است, مربوط می‌باشد. اثرات این نوع هیپوکسی هم‌چنین شامل محافظت قلبی عروقی، عصبی و دفاع در مقابل استرس می‌باشد (عزتی و همکاران(۲۰۱۱) (۲۹). علاوه بر موارد بالا تحقیق حاضر نشان داد که فسفریلاسیون پروتئینAKT در هر سه گروه تمرین، هیپوکسی و مداخله تمرین با هیپوکسی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد. هر چند این افزایش در گروه تمرین نزدیک به سه برابر بیشتر از گروه هیپوکسی بود (نمودار ۳). مسیر PI3K/Aktدر پیام‌رسانی سلول‌های طبیعی و سرطانی نقش اساسی دارد این مسیر نقش کلیدی در چندین عملکرد سلولی از جمله تکثیر، مهاجرت، چسبندگی، تهاجم و بقای سلولی را دارد. نتایج این تحقیق با یافته های کارار و مایاتی همخوانی دارد کرار و ماتی (۲۰۱۱) که اعلام داشتند فعال شدن مسیر P-AKT/AKTبه تثبیت سطح پروتئین HIF کمک می‌کند و ترشحVEGF را بالا می‌برد و آنژیوژنر را در سلول‌های طبیعی و سرطانی موجب می‌شود(۳۱).

اتصالVEGF به گیرنده خودش روی سلول‌های اندوتلیال فسفریلاسیونAKT را پیش می‌برد. افزایش کوتاه مدت نسبت P-AKT/AKT با بیان بیش تنظیمی VEGF، هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلب را موجب می‌شود اوکا (۲۰۱٤). هم‌چنین در تحقیق حاضر در مقایسه بین گروه‌ها، فسفریلاسیون پروتئین AKT در گروه‌های تمرین توام با هیپوکسی نسبت به گروه هیپوکسی افزایش معنی‌داری داشت. علت این امر احتمالاً فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی دیگری غیر از P-AKT/AKT از جمله میتوژن فعال شده پروتئین کیناز[1] (P38MAPK) و یا نتریک اکساید در شرایط هیپوکسی بوده است. مطالعات پیشین اثر تمرین بر افزایش مسیرهای رشد و ترمیم را که به شدت با فسفریلاسیون AKT در ارتباطند نشان داده‌اند. در مقابل مطالعاتی نیز وجود دارند که اثر مهاری هیپوکسی مزمن را بر آنژیوژنز و مسیر VEGF آشکار کرده‌اند(۳۰). این مغایرت‌ها جهت واضح‌تر شدن به مطالعات وسیع‌تر نیازمند است که بعلت محدودیت‌های متعدد در این مطالعه به آن‌ها پرداخته نشده است.

نتیجه‌گیری

یافته‌ها نشان می‌دهد که هشت هفته تمرین هوازی و هیپوکسی متوسط به طور متناوب به تنهایی و به طور توام منجر به فعال شدن مسیرهای آنژیوژنز قلبی در رت‌ها و فعال شدن مسیر P-AKT/AKT می‌گردند. به نظر می‌رسد که هیپوکسی برای القا آنژیوژنز و تمرین هوازی برای فعالیت مسیر پیام رسانی P-AKT/AKT محرک بهتری می‌باشند نیز این دو عامل اثر هم افزایی نشان ندادند. برای تعیین دقیق مکانیسم‌های پایین‌دستی و بالادستی این مسیرها نیاز به مطالعات بیشتری وجود دارد.

قدردانی و تشکر

با تشکر از مسئولین آزمایشگاه‌های مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز که در انجام این تحقیق کمال همکاری را داشتند. هم‌چنین از زحمات سرکار خانم دکتر پوران کریمی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز و دکتر مصطفی خانی، دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تبریز تشکر و قدردانی می‌شود.

1. Mitogen Activation Protein Kinase

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018

منابع

1. Leosco D, Rengo G, Iaccarino G, Golino L, Marchese M, Fortunato F, et al. Exercise promotes angiogenesis and improves β-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. Cardiovascular research. 2007.
2. 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):515-24.
3. Prior BM, Yang H, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? Journal of Applied Physiology. 2004;97(3):1119-28.
4. Adair TH, Cotten R, Gu J-W, Pryor JS, Bennett KR, McMullan MR, et al. Adenosine infusion increases plasma levels of VEGF in humans. BMC physiology. 2005; 5(1):10.
5. Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. New England Journal of Medicine. 2011; 365(6):537-47.
6. Sica A, Melillo G, Varesio L. Hypoxia: a double-edged sword of immunity. Journal of molecular medicine. 2011;89(7):657-65.
7. Metzen E, Berchner-Pfannschmidt U, Stengel P, Marxsen JH, Stolze I, Klinger M, et al. Intracellular localisation of human HIF-1α hydroxylases: implications for oxygen sensing. Journal of cell science. 2003;116(7):1319-26.
8. Rey S, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodeling. Cardiovascular research. 2010:cvq045.
9. Semenza GL. Regulation of mammalian O2 homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. Annual review of cell and developmental biology. 1999;15(1):551-78.
10. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). Molecular pharmacology. 2006; 70(5):1469-80.
11. Manalo DJ, Rowan A, Lavoie T, Natarajan L, Kelly BD, Shui QY, et al. Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. Blood. 2005;105(2):659-69.
12. Ranjbar K, Nourshahi M, Gholamali M. The Effect of Acute Sub-Maximal Endurance Exercise on Serum Angiogenic Indices in Sedentary Men. zjrms. 2014;16:58-63.
13. Byrne AM, Bouchier-Hayes D, Harmey J. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). Journal of cellular and molecular medicine. 2005;9(4):777.
14. Connolly D, Olander J, Heuvelman D, Nelson R, Monsell R, Siegel N, et al. Human vascular permeability factor. Isolation from U937 cells. Journal of Biological Chemistry. 1989;264(33):20017-24.
15. Tomanek RJ, Schatteman GC. Angiogenesis: new insights and therapeutic potential. The anatomical record. 2000; 261(3):126-35.
16. Cai J, Jiang WG, Ahmed A, Boulton M. Vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell proliferation is regulated by interaction between VEGFR-2, SH-PTP1 and eNOS. Microvascular research. 2006;71(1):20-31.
17. Ma, Z., Qi, J., Meng, S., Wen, B., & Zhang, J. (2013). Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. European Journal of Applied Physiology, 113(10), 2473-2486.
18. Vanotti A, Magiday M. Untersuchungen zum studium des trainiertsein V über die capillarisierung der trainierten muskulaturen. Arbeitsphysiologie. 1934; 7:615-22.
19. Slivka DR, Heesch MW, Dumke CL, Cuddy JS, Hailes WS, Ruby BC. Human skeletal muscle mRNAResponse to a single hypoxic exercise bout. J Wilderness Med. 2014; 25:462-5.
20. Dantz D, Bewersdorf J, Fruehwald-Schultes B, Kern W, Jelkmann W, Born J, et al. Vascular endothelial growth factor: a novel endocrine defensive response to hypoglycemia. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2002;87(2):835-40.
21. Davis PG, Wideman L, Bloomer RJ, Consitt LA, Weaver RA, You T. Acute effect of prolonged cycle ergometer exercise on plasma vascular endothelial growth factor. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2002; 34(5):S30.
22. 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):315-23.
23. Gan Z. Hypoxia in skeletal muscles: from physiology to gene expression. Musculoskeletal Regeneration. 2016;2.
24. Lundby C, Calbet JA, Robach P. The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia. Cellular and molecular life sciences. 2009; 66(22):3615-23.
25. Chen C-Y, Tsai Y-L, Kao C-L, Lee S-D, Wu M-C, Mallikarjuna K, et al. Effect of mild intermittent hypoxia on glucose tolerance, muscle morphology and AMPK-PGC-1alpha signaling. Chin J Physiol. 2010;53(1):62-71.
26. 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.
27. Lindholm ME, Rundqvist H. Skeletal muscle hypoxia inducible factor 1 and exercise. Experimental physiology. 2016;101(1):28-32.
28. Slivka DR, Heesch MW, Dumke CL, Cuddy JS, Hailes WS, Ruby BC. Human Skeletal Muscle mRNAResponse to a Single Hypoxic Exercise Bout. Wilderness & environmental medicine. 2014;25(4):462-5.
29. Ezzati M, Horwitz ME, Thomas DS, Friedman AB, Roach R, Clark T, et al. Altitude, life expectancy and mortality from ischaemic heart disease, stroke, COPD and cancers: national population-based analysis of US counties. Journal of epidemiology and community health. 2011:jech. 2010.112938.
30. Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR pathway in angiogenesis. Frontiers in molecular neuroscience. 2011; 4:51.
31. Oka T, Akazawa H, Naito AT, Komuro I. Angiogenesis and Cardiac Hypertrophy Maintenance of Cardiac Function and Causative Roles in Heart Failure. Circulation research. 2014;114(3):565-71.

Effects of aerobic training and hypoxia on expression angiogenic factors in cardiac male Wistar rats

Farhadi H*[1], Siahkohian M[2], Lotfali B[3], Pouran.K[4]

1. Corresponding Author, Mohaghegh Ardabil University, Ardabil, Iran
2. Professor, Mohaghegh Ardabil University, Ardabil, Iran
3. Associate Professor, Mohaghegh Ardabil University, Ardabil, Iran
4. Assistant Professor, neuroscience Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

* Corresponding: Department of Physical Education and Sport Sciences, Mohaghegh Ardabil University, Ardabil, Iran. Tel: 09141026386

Received: 2015/10/23 **Revised:** 2015/12/05 **Accepted:** 2016/02/16

∗Correspondence:
University Mohaghegh Ardabil

Email: hassan_farhady @yahoo.com

Abstract

Introduction: Despite the many clinical observations regarding the beneficial effects of hypoxia, the mechanism of its effect on the angiogenesis of the cardiac tissue has not yet been studied. However, the aim of this study to investigate. The effects of aerobic training and hypoxia on expression angiogenic factors in cardiac male wistar rats.

Materials and Methods: In the current experimental study, forty male Wistar rats weighing 220±20 gr were randomly divided into four groups; normal control (NC), hypoxia (H), Hypoxia + training (HT) and training groups. Hypoxia group exposed to chronic intermittent hypoxia (PiO2≈106 mmHg, simulated altitude ≈ 3400 m, 14% oxygen for 8 weeks). And exercise group ran on a treadmill for 8weeks, 3 session/ week. (HT) Group, after exercise, during the day were similar to hypoxia in the hypoxic chamber. Then, relative protein density of HIF1a, VEGF and PI3K were measured with western blot method.

Results: The result showed that intermittent hypoxia, exercise training+ hypoxia and exercise training significantly increased relative protein density of HIF1a, VEGF and PI3K compared to control group ($p<0.001$).also, significant increased relative protein density of VEGF in hypoxia group compared to exercise training+ hypoxia group ($p<0.034$). However, significant increased relative protein density of PI3K in exercise groups compared with control group ($p<0.001$).

Conclusion: It seems that hypoxia more induced angiogenesis signaling pathway and exercise training is potent stimulator for activity of P-I3K/Akt signaling pathway.

Key Words: Intermittent Hypoxia, Angiogenesis, exercise training.

Downloaded from journals.hsu.ac.ir at 3:36 IRST on Monday March 19th 2018