مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و هفتم، شماره یازده، بهمن ۱۳۹۸

تاریخ دریافت:۱۳۹۷/۹/۱۷
تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۱۲/۴

# تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن عامل القای هایپوکسی (HIF-1α)، عامل رشد اندوتلیال عروق (VEGF) و آنژیواستاتین هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

علی اصغر زارع‌زاده مهریزی[۱]، حمید رجبی*[۲]، رضا قراخانلو[۳]، ناصر نقدی[۴]، سید محمدعلی عظیمی دخت[۵]

**مقاله پژوهشی**

**مقدمه:** با وجود مطالعات زیاد در رابطه با اثر ورزش بر فاکتورهای تحریکی و مهاری آنژیوژنز در عضلات، مطالعات محدودی نقش این عوامل را در مغز و به‌ویژه هیپوکامپ مورد بررسی قرار داده‌اند لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن HIF-1α، VEGF و آنژیواستاتین در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر ویستار بود.

**روش بررسی:** تعداد ۱۸ سر موش صحرائی نر ویستار بالغ با دامنه وزنی ۱۰±۱۹۰ گرم به‌طور تصادفی به ۳ گروه کنترل، شم و تمرین تقسیم شدند. حیوانات در گروه تمرین به انجام ۸ هفته تمرین هوازی (۵ جلسه در هفته) بر روی نوارگردان پرداختند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی همه موش‌ها بیهوش شدند. سر حیوانات قطع، و هیپوکامپ استخراج گردید و در دمای منفی ۸۰درجه برای تجزیه تحلیل‌های بعدی نگهداری شد. به‌منظورسنجش میزان بیان ژن‌ها در هیپوکامپ از روش Real-Time-PCR استفاده شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS Inc., Chicago, IL; Version 18 و روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح p <۰/۰۵ تجزیه تحلیل شد.

**نتایج:** یافته‌ها نشان داد تمرینات هوازی سبب افزایش معناداری درمقادیر HIF-1α (P=۰/۰۰۱) و VEGF (P=۰/۰۰۱) شد، اما اثر معناداری بر مقادیر آنژیواستاتین (P=۰/۳۱۶) نداشت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و تغییرات ایجاد شده در سطوح HIF-1α و VEGF، به‌نظر می‌رسد تمرینات هوازی اثرات مفیدی بر عملکرد ناحیه هیپوکامپ مغز دارد و این نوع تمرینات برای افراد توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین هوازی، عامل القای هایپوکسی، عامل رشد اندوتلیال عروق، آنژیواستاتین، هیپوکامپ

**ارجاع:** زارع‌زاده مهریزی علی‌اصغر، رجبی حمید، قراخانلو رضا، نقدی ناصر، عظیمی دخت سیدمحمدعلی. **تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن عامل القای هایپوکسی (HIF-1α)، عامل رشد اندوتلیال عروق (VEGF) و آنژیواستاتین هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار**.مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۷ (۱۱): ۷۵-۲۰۶۳

۱-دانش آموخته دکتری فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۲-استاد گروه فیزیولوژی ورزشی،دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی،دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۳- استاد فیزیولوژی ورزشی گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴- استاد گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، موسسه پاستور، تهران، ایران
۵- دانش آموخته دکتری فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
*(نویسنده مسئول)؛تلفن: ۰۹۱۲۷۹۳۷۷۶۸، پست الکترونیکی:hrajabi@hotmail.com ،کد پستی : ۷۶۱۷۴۳۵۹۱

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]
[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

## مقدمه

فعالیت ورزشی مداوم ضمن سازگاری‌های عضلانی و قلبی عروقی، در رویکردی مشابه سبب افزایش عملکرد شناختی و کاهش زوال ساختار مغزی می‌شود (۱). مطالعات نشان داده استکه پیاده‌روی منظم اندازه هیپوکامپ را افزایش، و با توجه به نقش هیپوکامپ در یادگیری، عملکرد حافظه را بهبود می‌دهد (۲). به‌نظر می‌رسد بهبود ناشی از ورزش در ساختار و عملکرد مغز از طریق سازگاری‌های همزمان در ساختار و عملکرد عروقی صورت می‌گیرد (۱). در تایید این موضوع، مطالعات نشان می‌دهد ورزش از طریق افزایش در چگالی مویرگی و حجم خون مغزی سبب توسعه هیپوکامپ می‌شود. به‌علاوه، افزایش عملکرد اندوتلیال توسط ورزش، عملکرد عروقی-عصبی را تسهیل، و شریان‌های مغزی را از آسیب‌های عروقی محافظت می‌کند. بنابراین به‌نظر می‌رسد ورزش هوازی سطوح فاکتورهای رشد را افزایش، و باعث تحریک آنژیوژنز و نوروژنز می‌شود(۳, ۱). مهم‌ترین عامل محرک آنژیوژنز، فاکتور رشد اندوتلیال عروق Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF) است که مهاجرت و تکثیر سلول اندوتلیال را در بافت‌های زیادی تحریک می‌کند. هم‌چنین، به‌عنوان یک عامل محافظت عصبی نیز در نظر گرفته می‌شود (۴). شماری از مطالعات گزارش کرده‌اند که تنظیم منفی VEGF در بافت‌های مغزی با کاهش در تراکم مویرگی در مغز همراه است (۵). در حقیقت در حضور VEGF، آنژیوژنز رخ می‌دهد اما در غیاب آن مویرگ‌ها دچار آپوپتوز می‌شوند(۷, ۶).

بیان VEGF به‌عوامل متعددی همچون هورمون‌ها، فاکتورهای رشدی و غلظت اکسیژن بستگی دارد. در اثر شرایط کمبود اکسیژن، فاکتور القایی هایپوکسی (HIF-1α) بیان ژن VEGF را افزایش می‌دهد (۸). فاکتور القایی هیپوکسی (HIF-1α) می‌تواند رونویسی چندین ژن از جمله عامل رشدی VEGF را فعال نماید. HIF-1α از دو زیر واحد α و β تشکیل شده است. زیرواحد α حساس به اکسیژن می‌باشد، درحالی‌که زیرواحد β به‌طور مداوم رونویسی می‌شود و به سطوح اکسیژن حساس نیست. تحت شرایط نرمال اکسیژن (تقریباً ۲۱ درصد اکسیژن)، زیر واحد α توسط یک مسیر تخریب آنزیمی بی‌اثر می‌شود (توسط آنزیم‌های هیدروکسیلاز وابسته به اکسیژن مهار می‌شود). HIF-1α نه تنها خود در افزایش تظاهر آنزیم‌ها و مسیرهای متابولیکی درگیر می‌شود، بلکه تظاهر HIF-1α توسط AMPK که تنظیم‌کننده اصلی متابولیسم عصبی است نیز افزایش می‌یابد. در حقیقت، مطالعات در رت‌های تمرین کرده نشان داده‌اند که افزایش سطوح AMPK موجب می‌شود تا HIF-1α تظاهر انتقال‌دهنده‌های گلوکز و فسفوفروکتوکیناز را افزایش دهد (۹).

بنابراین VEGFیک ژن هدف برای HIF-1α است که نشان داده شده در پاسخ به فقدان اکسیژن در آزمایشگاه و در داخل بدن به‌صورت مثبت تنظیم می‌شود (۱۰). هم‌چنین عوامل مهاری متعددی بر روی آنژیوژنز اثر می‌گذارد که کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. یکی از عوامل مهاری آنژیوژنز آنژیواستاتین Angiostatin است. آنژیوستاتین جزئی از پروتئین پلاسمینوژن است که برای اولین بار در سال ۱۹۹۴ توسط اریلی و همکاران کشف شد. آنژیوستاتین متعاقب عمل فعال کننده پلاسمینوژن بافتی روی پلاسمینوژن و تبدیل آن به پلاسمین و مشارکت سرین پرتئینازها و متالوپرتئینازها ساخته می‌شود. آنژیوستاتین با جلوگیری از تخریب غشای پایه و جلوگیری از تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال مانع آنژیوژنز می‌شود (۱۱). اریکسون و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند آنژیواستاتین VEGF را مهار می‌کند و تکثیر سلول‌های اندوتلیال را کاهش می‌دهد (۱۲). از جمله اهداف عمل آنژیواستاتین، اتصال مستقیم به آنزیم ATP سنتتاز موجود بر روی سطح سلول‌های اندوتلیال است. این عمل ممکن است منجر به کاهش و سقوط ph درون سلولی شده و به همین دلیل باعث ایجاد وقایع آپوپتوزی در سلول‌های اندوتلیال شود (۱۳). فعالیت ورزشی به ویژه تمرینات هوازی جریان خون مغز را افزایش می‌دهد و باعث افزایش فاکتورهای درگیر در آنژیوژنز عروق مغزی نیز می‌گردد. به‌علاوه ورزش با ایجاد استرس برشی در دیواره عروق از مسیر وابسته به NOنیز باعث افزایش آنژیوژنز می‌گردد (۵). آنژیوژنز ناشی از ورزش مستقیماً به

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

نوروژنز وابسته به ورزش درون هیپوکامپ پیوند داده شده است. بنابراین مشاهده تغییرات در جریان خون مغزی مرتبط با ورزش، شاید مستقیماً به اثرات این فاکتورهای رفتاری روی آنژیوژنز و نوروژنز مرتبط باشد. اثر متقابل بین آنژیوژنز و نوروژنز به پوشش قابل توجه بین مسیرهای سیگنالینگ رشد نورونی و عروقی وابسته است. اخیراً تنظیم کننده های کلیدی هر دو فرایند با تاکید بر ارتباط دو سویه بین بافت‌های عصبی و عروقی به ویژه در زمینه رشد بافت، "آنژیونیورین" نامیده شده است (۱۴). چندین مطالعه پیشنهاد می‌کند کهافزایش بیان آنژیونیورین‌ها، مثل عامل القای هیپوکسی ۱ (HIF-1α) و VEGF ممکن است میانجی‌گرهای مهم آنژیوژنز ناشی از ورزش و بهبود جریان خون مغزی از طریق اثرات لوکال روی بافت عروقی و عصبی باشد (۱۷-۱۵). دینگ و همکاران در مطالعه‌ای افزایش در mRNA و پروتئین VEGF را همراه با افزایش چشم‌گیر در تراکم عروق خونی در هر دوی قشر و جسم مخطط حیوانات مسن در معرض فعالیت ورزشی، مشاهده کردند (۱۸). در حقیقت فعالیت ورزشی با توجه به ماهیت خود، هموستاز اکسیژن بافتی را تحت فشار قرار می‌دهد و به همین دلیل، ورزش با توجه به اثرات خود بر بیان عوامل القای هیپوکسی در انسان و حیوان مورد توجه و مطالعه قرار گرفته است. HIF-1α یک عامل القای هیپوکسی است که در پاسخ بیولوژیکی و سازگاری به سطوح پایین اکسیژن درگیر می‌شود، و نشان داده شده است که در عضلات به دنبال فعالیت ورزشی حاد سریعاً فعال می‌شود (۱۹) و در رویکردی مشابه، تنظیم مثبت آن در مغز نیز به‌دنبال ورزش گزارش شده است (۲۰). در تایید این موضوع کاینی و همکاران نشان دادند که ۳ هفته ورزش هوازی اختیاری و ورزش اجباری موجب افزایش mRNA و پروتئین HIF-1α در مغز می‌شود (۲۰). در مجموع آنژیوژنز وابسته به تمرینات ورزشی از طریق افزایش دانسیته مویرگی موجب بهبود انتقال اکسیژن و مواد غذایی بافت‌ها می‌شود. در این راستا VEGF جزء مهم‌ترین فاکتورهای آنژیوژنز است که معمولا توسط HIF-1 تحریک می‌شود از طرفی آنژیواستاتین یکی از مهم‌ترین فاکتورهای آنژیواستاتیکی است که سبب مهار آنژیوژنز می‌شود. بنابراین در مطالعه آنژیوژنز ناشی از ورزش باید به تعادل بین عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک توجه کرد. با وجود تحقیقات صورت گرفته در رابطه با اثر ورزش بر روی فاکتورهای تحریکی و مهاری آنژیوژنز در عضلات و قلب، مطالعات محدودی نقش این عوامل را در مغز و به‌ویژه هیپوکامپ مورد بررسی قرار داده اند و تاکنون پژوهشی در رابطه با اثر همزمان فعالیت ورزشی بر فاکتورهای HIF-1α، VEGF و آنژیوستاتین در هیپوکمپ صورت نگرفته است. لذا این مطالعه درنظر دارد تأثیر هشت هفته فعالیت هوازی را بر بیان ژن‌های HIF-1α، VEGF و آنژیوستاتین در هیپوکمپ رت‌های نر نژاد ویستار بررسی نماید.

## روش بررسی

روش پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون در گروه کنترل می‌باشد به این منظور تعداد ۱۸ سر موش صحرایی‌نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و دامنه وزنی ۱۰±۱۹۰ گرم از انسیتو پاستور ایران خریداری شد. موش‌ها در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس در اتاقی به ابعاد ۱/۶۰ در ۲/۲۰ متر در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) دما (۳±۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری می‌شدند. تعداد سه سر موش در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگهداری می‌شد که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. در سرتاسر دوره تحقیق موش‌ها توسط یک نفر جابجا می‌شدند. یک هفته قبل از شروع تمرین همه حیوانات با محیط آزمایشگاه سازگار و با دستگاه نوار گردان آشنا شدند. سپس حیوانات به طور تصادفی به سه گروه: کنترل (۶سر)، شم (۶سر) و تمرین (۶سر) تقسیم شدند. حیوانات در گروه کنترل در هیچگونه مداخله‌ای شرکت نکردند اما حیوانات گروه شم در تمام طول دورهٔ تمرین از قفس‌ها خارج می‌شدند و در معرض نوارگردان روشن (بدون هیچ حرکتی) قرار می‌گرفتند تا شرایط استرس زای محیط را تجربه کنند.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

**پروتکل تمرینی**

موش‌های صحرایی گروه تمرین بر روی نوارگردان با شیب صفر درجه در چرخه روشنایی، از ساعت ۹ الی ۱۱صبح به مدت ۸ هفته (۵ روز در هفته با شدت و مدت مورد نظر در هر دوره) به تمرین پرداختند. موش‌ها در هفته اول و دوم با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه (معادل ۴۰ تا ۴۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) در دو جلسه جداگانه ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه (استراحت غیرفعال) ۵ دقیقه‌ای ( به منظور جلوگیری از خستگی عضلانی در موش‌ها) بر روی نوارگردان به دویدن پرداختند. در هفته سوم و چهارم با افزایش زمان فعالیت، موش‌ها به دویدن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه در سه جلسه جداگانه ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای پرداختند. در هفته پنجم و ششم با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه (معادل ۴۵ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) در سه جلسه جداگانه ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای به فعالیت پرداختند. و در هفته‌های پایانی هفتم و هشتم با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در چهار جلسه جداگانه ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای به فعالیت پرداختند (دائوDao و دیگران، ۲۰۱۵; زاگار Zagaar و دیگران، ۲۰۱۳) (شکل۱). موش‌های گروه تمرین اجباری در تمام جلسات تمرینی پایش شدند و با استفاده از یک شوک الکتریکی ضعیف (شدت ۰/۵ میلی آمپر) که در حیوان ایجاد استرس زیادی نمی‌کند و یا تحریک با یک اسفنج، تشویق به ادامه دویدن شدند (۲۱). ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی موش‌ها بوسیلهٔ تزریق درون صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش شدند. سر حیوان توسط دستگاه گیوتین جدا و مغز کامل خارج شد. سپس، هیپوکمپ از بقیه بافت مغز جدا و در نیتروژن ۸۰- منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به فریزر ۸۰- منتقل شد.

شکل.۱: پروتکل تمرین هوازی

**استخراج RNA و سنتز cDNA**

حدود ۵۰ میلی گرم بافت هیپوکمپ جهت استخراج total RNA در ۱ میلی لیتر TRIzol -Lysis reagent هموژن گردید. به‌منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه، g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق (۱۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگه داری شد. سپس با نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول به مدت ۳-۲ دقیقه در دمای اتاق نگه داری شد. و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۵ دقیقه، g۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۰ دقیقه، g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شست و شو و در µl ۲۰ آب RNase-Free حل گردید. تمام مراحل استخراج زیر هود و با مواد و وسایل کاملاً استریل انجام گرفت. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانو دراپ سنجیده و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۲/۱-۱/۸ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. جهت اطمینان بیشتر از صحت تخلیص RNA تعدادی از RNA های تخلیص شده به‌طور

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]
[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

تصادفی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و مشاهده باندهای RNA های ریبوزومی 18S و 28S به‌طور منفک صحت تخلیص را تائید کرد. **سنتز** cDNA مطابق با دستورالعمل کیت high-capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems) انجام شد. تمام مراحل انجام کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase free صورت گرفت.

**واکنش زنجیره پلی‌مراز زمان واقعی (Real time-PCR)**

اندازه‌گیری بیان ژن با روش کمی Real time-PCR و با به‌کارگیری RealQ Plus 2x Master Mix Green شرکت AMPLIQON و با استفاده از غلظت ۲۵۰ ng از cDNA و به صورت duplicate انجام گرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های HIF-1α ، VEGF، آنژیواستاتین و GAPDH در بانک ژنی NBCI و تو سط شرکت (پیشگام، ایران) انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است. برنامه دمایی Real time-PCR شامل: واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت۱۰ دقیقه، واسرشت در هر سیکل PCR در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و با توجه به دمای انلینگ پرایمر ها هر سیکل به مدت ۳۰ ثانیه (۴۰ سیکل) در نظر گرفته شد. از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان ژن های مورد نظر با فرمول اندازه‌گیری شد (۲۲).

جدول۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در روش Real time-PCR در پژوهش حاضر.

| Gene name | Primer Sequence (5′→ 3′) |
|---|---|
| HIF-1α | Forward - ACCGCGGGCACCGATTCGCCA |
| | Reverse - TCGTCCTCCCCCGGCTTCTTAGGG |
| VEGF | Forward - ATGAACTTTCTGCTCTCTTGGGT |
| | Reverse - AAGCTGCCTCGCCTTGCAACGCG |
| Angiostatin | Forward - CACAGCTGAGAGGGAAATCGTGCG |
| | Reverse - TTGCGGTGCACGATGGAGGGGCCGG |
| GAPDH | Forward - AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG |
| | Reverse - CATACTCAGCACCAGCATCACC |

## تجزیه و تحلیل آماری

از آمار توصیفی برای محاسبه شاخص‌های مرکزی و پراکندگی استفاده شد. جهت تشخیص طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگرف-اسمیرنوف و بررسی همگن بودن واریانس‌ها از آزمون Leven استفاده شد. هم‌چنین آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه تغییرات معناداری بین‌گروه‌های مختلف در نظر گرفته شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از تست تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ استفاده شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش۲۲) انجام گرفت. کلیه نتایج به صورت میانگین± خطای استاندارد Standard Error of the Mean (S.E.M) بیان شده‌اند.

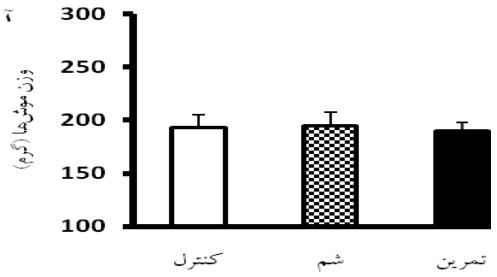
## یافته‌های پژوهش

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، به‌دنبال ۸ هفته تمرین‌هوازی، وزن موش‌ها در گروه تمرین ۱۰ درصد کمتر از گروه کنترل بود ($P = ۰/۰۴۶$) (نمودار ۱ آو ب). نتایج این پژوهش افزایش مقادیر بیان ژن HIF-1α را نشان داد و در مقایسه بین گروهی اختلاف معناداری از لحاظ آماری بین گروه‌ها مشاهده شد. ($P=۰/۰۰۰۱$). (جدول ۲). با توجه به اختلاف معنی‌داری میانگین HIF-1α در گروه‌ها، آزمون تعقیبی توکی نشان داد که در میزان بیان ژن HIF-1α در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل و شم تفاوت معناداری وجود دارد($P < ۰/۰۵$) ولی بین گروه کنترل و شم تفاوت معناداری مشاهده نشد. (نمودار ۲).

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

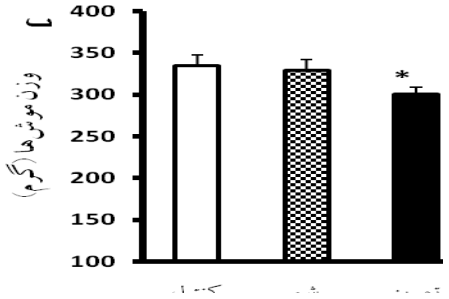
[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

هم‌چنین افزایش مقادیر بیان ژن VEGF مشاهده شد و به لحاظ آماری اختلاف معناداری بین گروه‌ها وجود داشت. (P=۰/۰۰۰۱). (جدول ۲). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که در میزان بیان ژن VEGF در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل و شم تفاوت معناداری وجود دارد (P <۰/۰۵) ولی بین گروه کنترل و شم تفاوت معناداری مشاهده نشد. (نمودار۳). نتایج پژوهش حاضر حاکی از کاهش سطوح بیان ژن آنژیواستاتین در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل بود ولی از لحاظ آماری معنی دار نبود. (P=۰/۳۱۶). در جدول ۲ اطلاعات آماری مربوط به متغیرهای پژوهش در گروه‌های کنترل، شم و تمرین ارائه شده است.




نمودار۱: آ مقادیر وزن رت‌ها قبل از دوره تمرین در گروه‌های مختلف. نتایج آنالیز واریانس یک راهه.

قبل از دوره تمرین به لحاظ آماری تفاوت معناداری در مقادیر وزن رت‌ها در بین گروه‌ها وجود نداشت (P=۰,۴۳۲)




نمودار۱:ب. مقادیر وزن رت‌ها بعد از دوره تمرین در گروه‌های مختلف. نتایج آنالیز واریانس یک راهه.

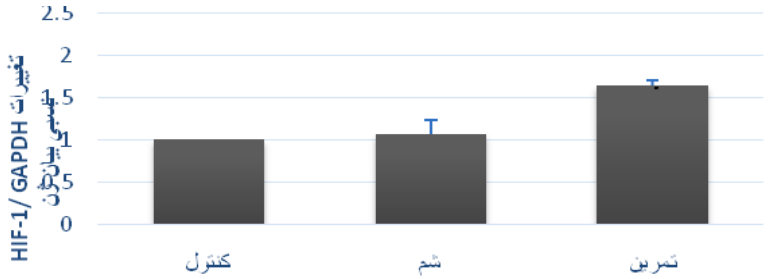
* نشان از کاهش معنی‌دار در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل است(P<۰,۰۵).

جدول ۲. تغییرات بیان ژن‌های HIF-1α، VEGF و آنژیواستاتین‌نسبت‌به‌GAPDHدرگروه‌های مختلف (میانگین±خطایاستاندارد)

| گروه‌ها متغیرها | کنترل | شم | تمرین | P value بین گروهی |
|---|---|---|---|---|
| تغییرات نسبی HIF-**1α**/GAPDH | ۱ ± ۰ | ۰۱/۰۷±۰/۱۵ | ۱/۶۴± ۰/۰۶ * | ۰/۰۰۱ * |
| تغییرات نسبی VEGF/GAPDH | ۱ ± ۰ | ۱/۱۱±۰/۱۲ | ۱/۹۱± ۰/۲۰ * | ۰/۰۰۱ * |
| تغییرات نسبی Angiostatin/GAPDH | ۱ ± ۰ | ۰/۸۷±۰/۰۹ | ۰/۸۹± ۰/۱۱ | ۰/۳۱۶ |
| * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح p <۰/۰۵ | | | | ANOVA Test |

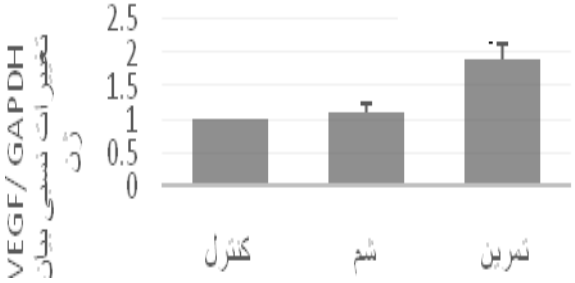
[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]




نمودار۲: تغییرات بیان ژنHIF-1α نسبت بهGAPDHدرهیپوکامپ موش‌های صحرایی نر.نتایج آنالیز واریانس یک راهه

* تفاوت معنی‌دارب اگروه کنترل درسطح ۰/۰۵ > P.




نمودار۳: تغییرات بیان ژنVEGFنسبت بهGAPDHدرهیپوکامپ موش‌های صحرایی نر. نتایج آنالیز واریانس یک راهه

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل درسطح ۰/۰۵ > P.

## بحث

مطالعه حاضر جهت بررسی تاثیر تمرین هوازی بر بیان ژن HIF-1α، VEGF و آنژیواستاتین هیپوکامپ رت‌های نر ویستار طراحی گردید. بررسی‌ها نشان داد هشت هفته تمرین هوازی سبب افزایش معنادار بیان ژن HIF-1α و VEGFشد ولی در میزان بیان آنژیواستاتین تفاوت معناداری مشاهده نشد. هم‌چنین یافته‌ها کاهش ۱۰ درصدی وزن موش‌ها درگروه تمرین در مقایسه باگروه کنترل را نشان داد. با توجه به کاهش وزن موش‌ها در گروه تمرین، به‌نظر می‌رسد تمرینات هوازی روی عملکرد این گروه تأثیر گذاشته و احتمالاً این تمرینات سبب بهبود آمادگی هوازی در گروه شده است. مطالعات نشان داده تمرینات هوازی مورفولوژی عروق را تغییر، و سبب افزایش تعداد و ضخامت شریان‌ها یا به عبارتی آنژیوژنز می‌شود و در ادامه جریان خون ارگان را تقویت می‌کند (۲۳) هم‌چنین تمرینات هوازی یادگیری و عملکرد حافظه را بهبود می‌دهد، افسردگی و اختلالات نورونی را کاهش داده و درنتیجه موجب افزایش عملکرد شناختی می‌شود. درک اینکه فعالیت بدنی چگونه این اثرات مفید را ایجاد می‌کند نیاز به بررسی مکانیسم‌های تنظیمی دارد که باید شناسایی شود (۲۴). به‌نظر می‌رسد یکی از این مکانسیم‌ها مسیر سیگنالی HIF-1α/ VEGF باشد که نقش مهمی را در فرآیندهای آنژیوژنز و هم‌چنین نوروژنز ایفا می‌کند. نتایج مطالعه حاضر افزایش معنادار بیان ژن HIF-1α را در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل و شم نشان داد که با نتایج مطالعه اسمین و همکاران و درنبوس و همکاران و هم‌چنین با مطالعه کاینی و همکاران در توافق بود (۲۶, ۲۵, ۲۰). درنبوس و همکاران اثر یک، دو و سه

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]
[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

هفته تمرینات هوازی را در mRNAHIF-1α مغز رت‌ها بررسی کردند و نتایج آن‌ها افزایش mRNAHIF-1α را در گروه تمرین نسبت به کنترل نشان داد (۲۶). کاینی و همکاران نشان دادند که ۳ هفته ورزش هوازی اختیاری و اجباری موجب افزایش mRNA و پروتئین HIF-1α در مغز می‌شود، اما گروه تمرین اجباری افزایش بیشتری را در مقایسه با گروه تمرین اختیاری داشتند (۲۰). هایپوکسی سلولی که در جریان ورزش ایجاد می‌شود HIF-1αرا تحریک می‌کند تا سلول را از استرس اکسیداتیو محافظت کند. فعالیت HIF-1αتوسط سطوح نسبی آنتی‌اکسیدان‌ها و گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) تحریک می‌شود که هر دو آن‌ها بر اثر ورزش فعال می‌شوند (۲۷). فسفوریلاسیون اکسیداتیو، تولید ATP و هموستاز اکسیژن، برای زنده ماندن سلول حیاتی‌اند. در درون سلول، اکسیژن مولکولی به‌طور گسترده تنظیم می‌شود و فاکتور رونویسی HIF-1α جزء کلیدی این مسیر حساس به اکسیژن است. HIF-1αدر جریان کمبود اکسیژن در دسترس برای سازگاری سلول اهمیت دارد و فعال‌سازی آن بیان تعداد زیادی از ژن‌های درگیر در فرایند آنژیوژنز و نوروژنز را تحریک می‌کند (۲۵). علاوه‌براین نشان داده شده است که پروتئین کیناز فعال شده توسطAMP(AMPK). AMP-activated protein kinase به‌عنوان مسیر سیگنالی بالادست HIF-1α سبب تحریک و فعالیت HIF-1α می‌شود (۹). مشخص شده است که تمرینات هوازی با شدت پایین سبب افزایش AMPK در هیپوکامپ می‌شود (۲۸،۲۹) بنابراین به‌نظر می‌رسد در این مطالعه نیز HIF-1α احتمالا" توسط AMPK تحریک شده است. هم‌چنین مطالعه حاضر نشان داد بعد از هشت هفته تمرین هوازی بیان ژن VEGF در گروه تمرین به‌طور معناداری از گروه شم و کنترل بالاتر بود که با نتایج دینگ و همکاران، تانگ و همکاران، و کاینی و همکاران همسو بود. تانگ و همکاران افزایش در mRNA و پروتئین VEGF در هیپوکامپ موش‌ها به دنبال یک ساعت تردمیل گزارش کرده‌اند (۳۰). دینگ و همکاران اثر مدت‌های یک، سه و شش هفته تمرین هوازی روزانه بر روی تردمیل به‌مدت ۳۰ دقیقه بر سطوح mRNAفاکتورهای رگ‌زایی همچون VEGF، آنژیوپویتین ۱ و ۲ و ارتباط آن را با چگالی مویرگی و ارتباط موارد فوق را با کاهش حجم آسیب ناشی از سکته بررسی کردند. آن‌ها افزایش چگالی مویرگی را در هفته سوم در پی افزایش سطوح mRNA فاکتور VEGF، و آنژیوپویتین ۱ و ۲ و کاهش حجم سکته ناشی از افزایش چگالی مویرگی را گزارش کردند. این نتایج نشان داد که فعالیت ورزشی با شدت متوسط توانایی ایجاد استرس فیزیولوژیک جهت افزایش رگ‌زایی در برخی نواحی مغز را داراست. افزایش آنژیوژنز به‌طور گسترده در پاسخ به ورزش گزارش شده است (۳۳-۳،۳۱) زمانی که نیاز اکسیژن در جریان ورزش افزایش می‌یابد، افزایش چگالی عروق خونی به بازگشت جریان خون کمک می‌کند تا اکسیژن بیشتری را به مغز تحویل دهد (۳۴). بنابراین افزایش مداوم در فعالیت نورونی همراه با تغییرات نوروشیمیایی به‌دنبال فعالیت ورزشی دلیل احتمالی تغییرات در عروق مغزی است. افزایش چگالی عروق خونی با کاهش مسافت انتشار، جریان خون کافی را در شرایط نیاز فراهم می‌کند (۱۸). VEGF در آنژیوژنز و واسکولوژنز درگیر می‌شود (۳۵) VEGF علاوه بر اعمال فاکتور رشدی آن، هم‌چنین به‌عنوان یک نوروتروفیک فاکتور عمل می‌کند، و هم‌چنین نقش مهمی در نوروژنز هیپوکامپ ناشی از ورزش دارد (۱۷). شواهدی وجود دارد که کمبود VEGF می‌تواند منجر به بیماری‌های اختلال عصبی شود (۳۶). در مطالعات گذشته گزارش شده است که سطح VEGF و عملکرد شناختی به هم وابسته است (۷, ۶). افزایش بیان VEGF هیپوکامپ، ادراک را بهبود می‌دهد (۷). تزریق بلاکر گیرنده VEGF درون هیپوکامپ، عملکرد حافظه بلند مدت را کاهش داد (۳۷). این تحقیقات پیشنهاد می‌کند سطوح بالاتر VEGF در مغز با بهبود در عملکرد شناختی همراه می‌شود. VEGF در شرایط هایپوکسی توسط HIF-1 تحریک می‌شود و به بازگشت منابع خون به سلول و بافت‌هایی که دچار کمبود اکسیژن شدند کمک می‌کند.میلوسویک و همکاران گزارش کردند، موش‌هایی که HIF-1α آن‌ها سرکوب شده بود، کاهش چشم‌گیر تظاهر VEGF را در سلول‌های پیش‌ساز عصبی مغز میانی نشان دادند.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

با اینکه فقدان HIF-1α تظاهر VEGF را به‌طور کامل متوقف نمی‌کند، اما بطور چشم‌گیری پاسخ VEGF را مختل می‌کند که نشان می‌دهد HIF-1α یک واسطه قوی فعالیت VEGF می‌باشد (۳۸). هم‌چنین مطالعات نشان داده‌اند فعالیت ورزشی نوروژنز و آنژیوژنز را در هیپوکامپ از طریقاثرات تعاملی VEGF و IGF تحریک می‌کند. VEGF و IGF از سد خونی مغزی عبور می‌کنند و تکثیر و زنده ماندن و هم‌چنین رشد عروق را افزایش می‌دهند(۳۹).

هم‌چنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرینات هوازی تأثیر معناداری روی آنژیواستاتین نداشت و اختلاف معناداری بین گروه‌ها مشاهده نشد. ثابت شده است که آنژیواستاتین سبب مهار VEGF شده و آنژیوژنز را کاهش می‌دهد. آنژیواستاتین فعالیت P42/P44 MAP Kinase، مسیر انتقال سیگنالی VEGF را مهار، و فرایند تشکیل VEGF را مختل می‌کند (۴۰). تاکاهاشی و همکاران گزارش کردند آنژیواستاتین آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال را تحریک، و سپس آنژیوژنز را در مرحله تشکیل لومن مختل کرد (۴۱). از جمله اهداف عمل آنژیواستاتین، اتصال مستقیم به آنزیم ATP سنتتاز موجود بر سطح سلول‌های اندوتلیال است. این عمل ممکن است منجر به کاهش و سقوط PH درون سلولی شده و به همین دلیل سبب ایجاد آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال شود (۴۰). در رابطه با پاسخ آنژیوستاتین به فعالیت ورزشی مطالعات زیادی انجام نشده است، با این حال یافته‌های آزمایشگاهی نشان داد که ۱۰ هفته فعالیت ورزشی (با سرعت ۱۷ متر در دقیقه برای ۱۰ تا ۵۰ دقیقه) از طریق کاهش سطوح بیان ژنی آنژیوستاتین و کاسپس-۳ موجب افزایش دانسیته مویرگی و شریانچه‌های موش‌های انفارکتوس قلبی می‌شود (۴۲)که نتایج آن‌ها با یافته‌های مطالعه حاضر در تضاد است،از دلایل همسو نبودن این نتایج احتمالاً نوع موش‌های مورد استفاده و تفاوت در نوع بافت است. مطالعه یاد شده تأثیر فعالیت ورزشی بر بیان ژن آنژیواستاتین را در بافت قلب موش‌های انفارکتوس قلبی سنجید درصورتی که مطالعه حاضر بر روی بافت هیپوکامپ موش‌های سالم انجام شد. با این وجود با توجه به نتایج مطالعه حاضر به‌نظر می‌رسد آنژیواستاتین در شرایط فیزیولوژیک فعال نمی‌شود و تمرینات هوازی با شدت پایین تأثیری روی بیان ژن آنژیواستاتین در موش‌های صحرایی سالم نمی‌گذارد با این حال مطالعات بیشتری نیاز است تا در این زمینه صورت گیرد. از جمله محدودیت‌های این پژوهش عدم کنترل تاثیر داروهای بیهوشی و عدم کنترل میزان کالری دریافتی بود که پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد.

## نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و تغییرات ایجاد شده در سطوح HIF-1α و VEGF، به‌نظر می‌رسد تمرینات هوازی اثرات مفیدی بر عملکرد ناحیه هیپوکامپ مغز دارد و استفاده از این نوع تمرینات برای افراد توصیه می‌شود. با این وجود تمرینات هوازی تأثیری بر بیان ژن آنژیواستاتین نداشت و به‌نظر می‌رسد آنژیواستاتین در شرایط فیزیولوژیک نمی‌تواند فعالیت VEGF را مهار کند.

## سپاس‌گزاری

این پژوهش بخشی از رساله دکتری، مصوب دانشگاه خوارزمی تهران می‌باشد که بدین وسیله از دانشگاه خوارزمی به‌عنوان تأمین کننده منابع مالی این پژوهش و دانشگاه تربیت مدرس و مؤسسه پاستور به دلیل همکاری با این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را داریم.

**تعارض در منافع:** وجود ندارد.

## References:

*1*-Tarumi T, Zhang R. ***Cerebral Hemodynamics of the Aging Brain: Risk of Alzheimer Disease and Benefit of Aerobic Exercise.*** Front Physiol 2014; 5: 6.

*2*-Mattson MP. ***Energy Intake and Exercise as Determinants of Brain Health and Vulnerability to Injury and Disease.*** Cell Metab 2012; 16(6): 706-22.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

**3-**Swain RA, Harris AB, Wiener EC, Dutka MV, Morris HD, Theien BE, et al. ***Prolonged Exercise Induces Angiogenesis and Increases Cerebral Blood Volume in Primary Motor Cortex of the Rat.*** Neuroscience 2003; 117(4): 1037-46.

**4-**Muche A, Bigl M, Arendt T, Schliebs R. ***Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Mrna, VEGF Receptor 2 (Flk-1) Mrna, and of VEGF Co-Receptor Neuropilin (Nrp)-1 Mrna in Brain Tissue of Aging Tg2576 Mice by in Situ Hybridization.*** Int J Dev Neurosci 2015; 43: 25-34.

**5-**Viboolvorakul S, Patumraj S. ***Exercise Training Could Improve Age-Related Changes in Cerebral Blood Flow and Capillary Vascularity through the Upregulation of Vegf and Enos.*** Biomed Res International 2014; 12 Page.

**6-** Wang Y, Galvan V, Gorostiza O, Ataie M, Jin K, Greenberg DA. V***ascular Endothelial Growth Factor Improves Recovery of Sensorimotor and Cognitive Deficits after Focal Cerebral Ischemia in the Rat***. Brain Res 2006; 1115(1): 186-93.

**7-** Cao L, Jiao X, Zuzga DS, Liu Y, Fong DM, Young D, et al. ***VEGF Links Hippocampal Activity with Neurogenesis, Learning and Memory***. Nature Genetics 2004; 36(8): 827-35.

**8-** Levy AP, Levy NS, Wegner S, Goldberg MA. ***Transcriptional Regulation of the Rat Vascular Endothelial Growth Factor Gene by Hypoxia***. J Biological Chem 1995; 270(22): 13333-40.

**9-** Emerling BM, Viollet B, Tormos KV, Chandel NS. ***Compound C Inhibits Hypoxic Activation of HIF-1 Independent of AMPK***. FEBS Lett 2007; 581(29): 5727-31.

**10-** Zhang L, Qu Y, Yang C, Tang J, Zhang X, Mao M, et al. ***Signaling Pathway Involved in Hypoxia-Inducible Factor-1α Regulation in Hypoxic-Ischemic Cortical Neurons in Vitro***. Neurosci Lett 2009; 461(1):1-6.

**11-** O'Reilly MS ,Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, et al. ***Angiostatin: A Novel Angiogenesis Inhibitor that Mediates the Suppression of Metastases by a Lewis Lung Carcinoma.*** Cell 1994; 79(2): 315-28.

**12-** Eriksson K, Magnusson P, Dixelius J, Claesson-WelshL, Cross MJ. ***Angiostatin and Endostatin Inhibit Endothelial Cell Migration in Response to FGF and VEGF without Interfering with Specific Intracellular Signal Transduction Pathways***. FEBS Lett 2003; 536(1-3): 19-24.

**13-** Shukunami C, Hiraki Y. ***Role of Cartilage-Derived Anti-Angiogenic Factor, Chondromodulin-I, during Endochondral Bone Formation***. Osteoarthritis Cartilage 2001; 9: S91-S101.

**14-** Nation DA, Hong S, Jak AJ, Delano-Wood L, Mills PJ, Bondi MW, et al. ***Stress, Exercise, and Alzheimer's Disease : A Neurovascular Pathway***. Med Hypotheses 2011; 76(6): 847-54.

**15-** Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. ***Hippocampal BDNF Mediates the Efficacy of Exercise on Synaptic Plasticity and Cognition.*** Eur J Neurosci 2004; 20(10): 2580-90.

**16-** Carmeliet P. ***Blood Vessels And Nerves: Common Signals, Pathways and Diseases***. Nature Reviews Genetics 2003; 4(9): 710-20.

**17-** Fabel K, Fabel K, Tam B, Kaufer D, Baiker A, Simmons N, et al. ***VEGF is Necessary for***


[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

***Exercise-Induced Adult Hippocampal Neurogenesis.*** European Journal Of Neuroscience 2003; 18: 2803-12.

***18-*** Ding YH, Li J, Zhou Y, Rafols JA, Clark JC, Ding Y. ***Cerebral Angiogenesis and Expression of Angiogenic Factors in Aging Rats after Exercise.*** Current Neurovascular Res 2006; 3(1): 15-23.

***19-*** Amaral S, Sanchez L, Chang A, Rossoni L, Michelini L. ***Time Course of Training-Induced Microcirculatory Changes and of VEGF Expression in Skeletal Muscles of Spontaneously Hypertensive Female Rats***. Braz J Medbiol Res 2008; 41(5): 424-31.

***20-*** Kinni H, Guo M, Ding JY, Konakondla S, Dornbos D, Tran R, et al. ***Cerebral Metabolism after Forced or Voluntary Physical Exercise.*** Brain Res 2011; 1388: 48-55.

***21-*** Dao AT, Zagaar MA, Alkadhi KA. ***Moderate Treadmill Exercise Protects Synaptic Plasticity of the Dentate Gyrus and Related Signaling Cascade in A Rat Model of Alzheimer's Disease.*** Molecular Neurobiology 2015; 52(3): 1067-76.

***22-*** Livak KJ, Schmittgen TD. ***Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2−ΔΔCT Method***. Methods 2001; 25(4): 402-8.

***23-*** Prior BM, Yang HT, Terjung RL. ***What Makes Vessels Grow with Exercise Training?*** J Appl Physiol 2004; 97(3): 1119-28.

***24-*** Sølvsten CA, de Paoli F, Christensen JH, Nielsen AL. ***Voluntary Physical Exercise Induces Expression and Epigenetic Remodeling of Vegfa in the Rat Hippocampus.*** Mol Neurobiol 2018; 55(1): 567-82.

***25-*** Smeyne M, Sladen P, Jiao Y, Dragatsis I, Smeyne RJ. ***Hif1α is Necessary for Exercise-Induced Neuroprotection While Hif2α is Needed for Dopaminergic Neuron Survival in the Substantia Nigra Pars Compacta.*** Neuroscience 2015; 295: 23-38.

***26-*** Dornbos D 3rd, Zwagerman N, Guo M, Ding JY, Peng C, Esmail F, et al. ***Preischemic Exercise Reduces Brain Damage by Ameliorating Metabolicdisorder in Ischemia/Reperfusion Injury***. J Neurosci Res 2013; 91(6): 818-27.

***27-*** Radak Z, Zhao Z, Koltai E, Ohno H, Atalay M. ***Oxygen Consumption And Usage during Physical Exercise: The Balance Between Oxidative Stress and Ros-Dependent Adaptive Signaling***.Antioxid Redox Signal 2013; 18(10): 1208-46.

***28-*** Azimi M, Gharakhanlou R, Naghdi N, Khodadadi D, Heysieattalab S. ***Moderate Treadmill Exercise Ameliorates Amyloid-B-Induced Learning and Memory Impairment, Possibly via Increasing AMPK Activity and Up-Regulation of yhe PGC-1α/FNDC5/BDNF Pathway.*** Peptides 2018; 102: 78-88.

***29-*** Marosi K, Bori Z, Hart N, Sárga L, Koltai E, Radák Z, et al. ***Long-Term Exercise Treatment Reduces Oxidative Stress in the Hippocampus of Aging Rats.*** Neuroscience 2012; 226: 21-8.

***30-*** Tang K, Xia FC, Wagner PD, Breen EC. ***Exercise-Induced Vegf Transcriptional Activation in Brain, Lung and Skeletal Muscle.*** Respiratory Physiology & Neurobiology 2010; 170(1): 16-22.

***31-*** Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Greenough WT. ***Learning Causes Synaptogenesis,***

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

***Whereas Motor Activity Causes Angiogenesis, in Cerebellar Cortex of Adult Rats.*** Proc Nat Acad Sci 1990; 87(14): 5568-72.

***32-*** Kleim JA, Cooper NR, VandenBerg PM. ***Exercise Induces Angiogenesis but does not Alter Movement Representations within Rat Motor Cortex***. Brain Res 2002; 934(1): 1-6.

***33-*** Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Black JE, Greenough WT. E***xercise and the Brain: Angiogenesis in the Adult Rat Cerebellum after Vigorous Physical Activity and Motor Skill Learning.*** J Cerebral Blood Flow & Metabolism 1992; 12(1): 110-9.

***34-*** Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. ***Exercise Preconditioning Against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Damage in Proteins of Rat Myocardium.*** Arch Biochem Biophys 2000; 376(2): 248-51.

***35-*** Millauer B, Wizigmann-Voos S, Schnürch H, Martinez R, Møller NPH, Risau W, et al. ***High Affinity VEGF Binding and Developmental Expression Suggest Flk-1 as a Major Regulator of Vasculogenesis and Angiogenesis.*** Cell 1993; 72(6): 835-46.

***36-*** Lambrechts D, Carmeliet P. ***VEGF At the Neurovascular Interface: Therapeutic Implications for Motor Neuron Disease***. Biochim Biophys Acta 2006; 1762(11-12): 1109-21.

***37-*** Pati S, Orsi SA, Moore AN, Dash PK. I***ntra-Hippocampal Administration of the Vegf Receptor Blocker Ptk787/Zk222584 Impairs Long-Term Memory***. Brain Res 2009; 1256: 85-91.

***38-*** Milosevic J, Maisel M, Wegner F, Leuchtenberger J ,Wenger RH, Gerlach M, et al. ***Lack of Hypoxia-Inducible Factor-1α Impairs Midbrain Neural Precursor Cells Involving Vascular Endothelial Growth Factor Signaling.*** J Neurosci 2007; 27(2): 412-21.

***39-*** Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. ***Exercise Builds Brain Health: Key Roles of Growth Factor Cascades and Inflammation***. Trends Neurosci 2007; 30(9): 464-72.

***40-*** Liang YZ, Zeng ZL, Hua LL, Li JF, Wang YL, Bi XZ. ***Expression And Significance of Angiostatin, Vascular Endothelial Growth Factor and Matrix Metalloproteinase-9 in Brain Tissue of Diabetic Rats with Ischemia Reperfusion.*** Asian Pacific J Trop Med 2016; 9(6): 587-91.

***41-*** Takahashi S, Shinya T, Sugiyama A. ***Angiostatin Inhibition of Vascular Endothelial Growthfactor–Stimulated Nitric Oxide Production in Endothelial Cells.*** J Pharmacological Sci 2010; 112(4): 432-7.

***42-*** Ranjbar K, Rahmani-Nia F, Shahabpour E. ***Aerobic Training and L-Arginine Supplementation Promotes Rat Heart and Hindleg Muscles Arteriogenesis after Myocardial Infarction***. J Physiol Biochem 2016; 72(3): 393-404.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 27| NO 11 | Feb 2020

Received: 8 Dec 2018
Accepted: 23 Feb 2019

# Effect of 8 weeks of Aerobic Training on Genes Expression of Hypoxia Inducible Factor HIF-1α, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Angiostatin in Hippocampus of Male Rats with Wistar Model

**Aliasghar Zarezadehmehrizi[1], Hamid Rajabi[*2], Reza Gharakhanlou[3], Naser Naghdi[4], Seyed Mohammad Ali Azimidokht[5]**

**Original Article**

**Introduction:** Many studies have been done about the effects of exercise on angiogenic inhibitor and stimulator factors in muscles, but few studies have examined the role of these factors in the brain especially the hippocampus. Therefore, the purpose of the current study was to investigate the effect of 8 weeks of aerobic training on gene expression of HIF-1α, VEGF and angiostatin in hippocampus of male rats.

**Methods:** 18 adult male Wistar rats (190±10 gr) were randomly divided into 3 groups: control, sham and aerobic training. Ratsin the training group performed 8 weeks of aerobic training (5 sessions per week) on a treadmill. 24 hours after the last session of exercise, rats were decapitated and the hippocampus were carefully removed and rapidly frozen in liquid nitrogen, then stored at -80°C for further analysis. Real-Time-PCR method was used to measure the expression of genes in the hippocampus. The data were analyzed by SPSS 18 software. Comparisons between groups were performed by one-way ANOVA and followed by post-hoc analysis Tukey test. All statistically significant was set at $P<0.05$.

**Results:** The results showed aerobic training significantly increased mRNA levels of HIF-1α ($P=0.001$) and VEGF ($P=0.001$), but there was no significant difference in the mRNA levels of angiostatin ($P=0.316$).

**Conclusion:** According to the results of this study and changes in the levels of HIF-1α and VEGF, it seems aerobic training has helpful effects on brain especially on the hippocampus and this type of training is recommended for individuals.

**Keywords:** Aerobic training, HIF-1α, VEGF, Angiostatin, Hippocampus.

**Citation:** Zare zadeh mehrizi AA, rajabi H, Gharakhanlou R,Naghdi N, Azimi dokht SMA. **Effect of 8 weeks of aerobic training on genes expression of Hypoxia inducible factor** HIF-**1α, vascular endothelial growth factor (**VEGF**) and angiostatin in hippocampus of male rats with Wistar model.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 27(11): 2063-75.

[1]Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2]Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[3]Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[4]Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
[5]Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
***Corresponding author: Tel:** 021-51212252, **email:**hassanpour@shahed.ac.ir



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25 ]

[ DOI: 10.18502/ssu.v27i11.2493 ]