دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی

گروه آموزشی تربیت بدنی و علوم ورزشی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی دکتری

در رشته‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی گرایش فیزیولوژی ورزش ( قلب و عروق – تنفس)

**عنوان:**

# تعیین تاثیر تمرین هوازی و هیپوکسی بر میزان بیان عوامل آنژیوژنز عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

اساتید راهنما:

دکتر معرفت سیاه‌کوهیان – دکتر لطفعلی بلبلی

استاد مشاور:

دکتر پوران کریمی

پژوهشگر:

حسن فرهادی

زمستان ۱۳۹۵

نام خانوادگی دانشجو: فرهادی نام: حسن

عنوان پایان‌نامه: **تعیین تاثیر تمرین هوازی و هیپوکسی بر میزان بیان عوامل آنژیوژنز عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار**

اساتید راهنما: دکتر معرفت سیاه‌کوهیان – دکتر لطفعلی بلبلی

استاد مشاور: دکتر پوران کریمی

مقطع تحصیلی: دکتری رشته: تربیت بدنی و علوم ورزشی

گرایش: فیزیولوژی ورزشی (قلب و عروق – تنفس) دانشگاه: محقق اردبیلی

دانشکده: علوم تربیتی و روانشناسی تاریخ دفاع: ۹۵/۱۰/۲۸ تعداد صفحات: ۱۴۹


**چکیده:**

هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر تمرین هوازی و هیپوکسی متناوب بر محتوی پروتئین‌های مرتبط با آنژیوژنز در بافت قلبی موش‌های نر نژاد ویستار بود. تعداد ۴۰ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار (۳ ماهه) درمحدوده وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم استفاده گردید. موش‌های صحرایی به طور تصادفی در ۴ گروه ۱۰تایی: ۱)کنترل سالم (NC) ۲) هیپوکسی(H) ۳) تمرین هوازی (T) ۴) تمرین هوازی توام با هیپوکسی (TH) تقسیم‌بندی شدند. شرایط هیپوکسی، متناوب و ایزوباریک (فشار سهمی اکسیژن ۱۴درصد و فشار کلی ۷۶۰ میلی‌مترجیوه ) و شرایط تمرین هوازی سرعت۲۲-۲۶ متر در دقیقه بر روی شیب۶ درجه نوار گردان به تعداد دفعات ۵ جلسه در هفته طراحی شد. سپس میزان بیان پروتئین‌های مرتبط با آنژیوژنز شامل فاکتور القاء شده هیپوکسی(HIF1-a)، عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و فسفاتیدیل اینوزیتول تری‌کیناز (P-AKT) با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. بیان پروتئین‌های HIF1-a، VEGF و P-AKT در هر سه گروه تمرین، هیپوکسی و تمرین توام با هیپوکسی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P≤۰/۰۱). ولی بیان HIF در بین گروه‌های مداخله تفاوت معنی‌داری نداشت (P≤۰/۰۹). همچنین در مقایسه بین گروه‌ها غلظت پروتئینVEGF در گروه هیپوکسی، نسبت به گروه تمرین و تمرین توام با هیپوکسی افزایش بیشتری نشان داد (P≤۰/۰۳۴)؛ بالعکس، سطح بیانP-AKT در گروه‌های تمرین و تمرین توام با هیپوکسی نسبت به گروه هیپوکسی بیشتر بود (P≤۰/۰۰۱). ولی مقایسه بیان P-AKT بین گروه تمرین و تمرین توام با هیپوکسی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P≤۰/۰۷۶). نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی و هیپوکسی متوسط به طور متناوب به‌تنهایی و به طور توام منجر به فعال شدن مسیرهای آنژیوژنز قلبی در موش‌های صحرایی و فعال شدن مسیرP-AKT/AKT می‌گردند. به نظر می‌رسد که هیپوکسی برای القا آنژیوژنز و تمرین هوازی برای فعال سازی مسیر پیام رسانی P-AKT/AKT محرک بهتری می‌باشند نیز این دو عامل اثر هم افزایی نشان ندادند. برای تعیین دقیق مکانیسم‌های پایین دستی و بالا دستی این مسیرها نیاز به مطالعات بیشتری وجود دارد.

کلید واژه‌ها: هیپوکسی متناوب، تمرین هوازی ، آنژیوژنز ،VEGF, HIF-α, P-Akt

## فهرست مطالب

**عنوان** **صفحه**

## فصل اول: کلیات پژوهش


۱-۱ - مقدمه ..... ۲
۱-۲- بیان مسأله ..... ۳
۱-۳- اهمّیت و ضرورت تحقیق ..... ۷
۱-۴- فرضیه‌های تحقیق ..... ۹
۱-۵- اهداف تحقیق ..... ۹
۱-۵-۱- هدف کلی تحقیق ..... ۹
۱-۵-۲- اهداف اختصاصی ..... ۹
۱-۶- متغیرهای تحقیق ..... ۱۰
۱-۶-۱- متغیرهای مستقل ..... ۱۰
۱-۶-۲- متغیرهای وابسته ..... ۱۰
۱-۶-۳- متغیرهای کنترل ..... ۱۰
۱-۷- محدودیت های قابل کنترل و غیرقابل کنترل پژوهش ..... ۱۰
۱-۷-۱- محدودیت‌های قابل کنترل ..... ۱۰
۱-۷-۲- محدودیت‌های غیر قابل کنترل ..... ۱۰
۱-۸- تعریف واژه‌ها ..... ۱۰


## فصل دوم: مبانی نظری پژوهش


۲-۱- مقدمه ..... ۱۳
۲-۲- مبانی نظری تحقیق ..... ۱۳
۲-۲-۱- فرم های تشکیل عروق ..... ۱۳
۲-۲-۱-۱- واسکولوژنز ..... ۱۳
۲-۲-۱-۲- آرتریوژنز ..... ۱٤
۲-۲-۱- ۳- آنژیوژنز ..... ۱٤
۲-۲-۲- سازوکار مویرگ‌زایی ..... ۱۴
۲-۲-۲-۱- مویرگ‌زایی فیزیولوژیک و پاتولوژیک ..... ۱۵

۲-۲-۲-۲- عوامل موثر بر مویرگ‌زایی ..... ۱۶
۲-۲-۳- هایپوکسی ..... ۱۸
۲-۲-۳- ۱- درجات هیپوکسی..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۳-۲- هایپوکسی ناشی از ارتفاع و ورزش ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۴- HIF-1α ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۴- ۱- انواع HIF-1α..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۴-۲- نقش HIF-1α در آنژیوژنز ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۴-۳- هایپوکسی و HIF در آنژیوژنز ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۵- مسیر HIF-1 و حضور آن در عضله اسکلتی ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۶- هایپوکسی و آنژیوژنز..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۶-۱- هایپوکسی و آنژیوژنز ناشی از فعالیت ورزشی ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۷- تنظیم کننده کلیدی مویرگ‌زایی ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۸- گیرنده های VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۸-۱- پاسخ گیرنده‌های VEGF به ورزش و فعالیت بدنی ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۹- پیام دهی VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۹-۱- افزایش نفوذ پذیری عروقی ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۹-۲- بقای سلولهای اندوتلیال..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۹-۳- تکثیر سلول‌های اندوتلیال ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۹-۴- مهاجرت سلول‌های اندوتلیال ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۰- فعالیت های بیولوژیکی VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۰-۱- اعمال بیولوژیکی پیام‌دهی گیرنده VEGF اندوتلیال..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۱- تحریک و تنظیم بیان VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۲- هایپوکسی و ترشح VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۳- جمع بندی مطالب در رابطه با VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۴- تغییرات عروق خونی در پاسخ به فعالیت ورزشی..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۴-۱- آرتریوژنز و تغییرات آن در پاسخ به تمرینات ورزشی..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۴-۲- آنژیوژنز ناشی از ورزش ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۴-۳- بیولوژی تشکیل عروق درپاسخ به فعالیت ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۴-۴- افزایش مویرگ های عضله اسکلتی در پاسخ به ورزش ..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۵- فرایند آنژیوژنز در عضله قلبی در پاسخ به تمرینات ورزشی..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۵-۱- شدت تمرین..... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۵-۲- نوع انقباض (بروانگرا، درونگرا و ایزومتریک) و فرایند آنژیوژنز .... **Error! Bookmark not defined.**
۲-۲-۱۵-۳- آنژیوژنز، ورزش و پیری..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۳- پیشینه پژوهش ..... Error! Bookmark not defined.
۲-۳-۱- تحقیقات انجام شده در رابطه با مویرگ‌زایی ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۳-۳- مطالعات انجام شده در رابطه با هایپوکسی، آنژیوژنز و فعالیت ورزشی Error! Bookmark not defined.

## فصل سوم: مواد و روش پژوهش

۳-۱- مقدمه ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۲- روش تحقیق ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۳- جامعه آماری و نمونه تحقیق، روش و نحوه گزینش نمونه‌ها ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۴- ابزار جمع آوری داده ها ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۵- روشهای اجرایی و آزمایشگاهی ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۵-۱- تمرین هوازی ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۵-۲- هیپوکسی ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۵-۳- اندازه گیری محتوی غلظت پروتئین ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۶- وسترن بلاتینگ ..... Error! Bookmark not defined.
۳- ۶-۱- اساس آزمایش ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۶-۲- مواد لازم برای وسترن بلات ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۶-۳- استخراج پروتئین‌ها ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۶-۴- مینی الکتروفورز عمودی ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۶-۵- الکتروترانسفر ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۶-۶- روش کار الکترو ترانسفر ..... Error! Bookmark not defined.
۳-۷- آنالیز آماری ..... Error! Bookmark not defined.

## فصل چهارم: نتایج و یافته‌های پژوهش

۴-۱- مقدمه ..... Error! Bookmark not defined.
۴-۲- نتایج تحقیق ..... Error! Bookmark not defined.
۴-۳- آزمون فرضیه ها ..... Error! Bookmark not defined.
۴-۳-۱- آزمون فرضیه اول ..... Error! Bookmark not defined.
۴-۳-۲- آزمون فرضیه دوم ..... Error! Bookmark not defined.
۴-۳-۳- آزمون فرضیه سوم ..... Error! Bookmark not defined.
۴-۳-۴- آزمون فرضیه چهارم ..... Error! Bookmark not defined.
۴-۳-۵- آزمون فرضیه پنجم ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۳-۶- آزمون فرضیه ششم ..... **Error! Bookmark not defined.**
۴-۳-۷- آزمون فرضیه هفتم ..... **Error! Bookmark not defined.**
۴-۳-۸- آزمون فرضیه هشتم ..... **Error! Bookmark not defined.**
۴-۳-۹- آزمون فرضیه نهم ..... **Error! Bookmark not defined.**
۴-۴- جمع بندی آماری..... **Error! Bookmark not defined.**

## فصل پنجم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات

۵-۱- مقدمه..... **Error! Bookmark not defined.**
۵-۲- خلاصه تحقیق ..... **Error! Bookmark not defined.**
۵-۳- بحث و بررسی..... **Error! Bookmark not defined.**
۵-۳-۱- بحث و بررسی در رابطه با پاسخ HIF-1α موش‌های صحرایی به متغیرهای مستقل **Error! Bookmark not defined.**
۵-۳-۲- بحث و بررسی در رابطه با پاسخ VEGF موش‌های صحرایی به متغیرهای مستقل **Error! Bookmark not defined.**
۵-۳-۳- بحث و بررسی در رابطه با پاسخ P-AKT موش‌های صحرایی به متغیرهای مستقل **Error! Bookmark not defined.**
۵ - ۴- نتیجه گیری کلی..... **Error! Bookmark not defined.**
۵-۵- پیشنهادها..... **Error! Bookmark not defined.**
۵-۵-۱- پیشنهادهای کاربردی ..... **Error! Bookmark not defined.**
۵-۵-۲- پیشنهادهای پژوهشی ..... **Error! Bookmark not defined.**

# فهرست جداول

**عنوان** **صفحه**


جدول ۲-۱- عوامل محرک مویرگ‌زایی و آثار فیزیولوژیک آن‌ها ..... ۱۷

جدول ۲-۲- عوامل مهار کننده مویرگ‌زایی و آثار فیزیولوژیک آن‌ها..... ۱۸

جدول ۳-۲- فاکتورهای القا شده بوسیله HIF-1 در مراحل مختلف آنژیوژنز **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۳-۱- زمانبندی هفتگی تمرین موش‌ها..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۳-۲- زمان‌بندی قرار گرفتن موش‌های صحرایی در هیپوکسی..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۳-۳- لیست آنتی بادی‌های استفاده شده..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۳-۴- مواد لازم برای تهیه ژل وسترن بلاتینگ ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴- ۱- میانگین وزن و پروفایل لیپیدی گروه‌های تحقیق..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۲- خلاصه نتایج آزمون t مستقل برای HIF1-a در گروه کنترل و گروه تمرین هوازی **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۳- خلاصه نتایج آزمون t مستقل برای HIF1-a در گروه کنترل و گروه هیپوکسی **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۴- خلاصه نتایج آزمون تحلیل واریانس یک سویه برای مقایسه میانگین پروتئین HIF1-a میوکارد گروه‌ها ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۵- خلاصه نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه دو به دوی پروتئین HIF1-a میوکارد در گروه ها **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۶- خلاصه نتایج آزمون t مستقل برای VEGF در گروه کنترل و گروه تمرین هوازی **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۶- خلاصه نتایج آزمون t مستقل برای VEGF در گروه کنترل و گروه هیپوکسی **Error! Bookmark not defined.**

جدول۴-۷- خلاصه نتایج آزمون تحلیل واریانس یک سویه برای مقایسه میانگین پروتئینVEGF میوکارد گروه‌ها ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۸- خلاصه نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه دو به دوی پروتئینVEGF میوکارد در گروه ها **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۹- خلاصه نتایج آزمون t مستقل برای P-AKT در گروه کنترل و گروه تمرین هوازی **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۱۰- خلاصه نتایج آزمون t مستقل برای P-AKT در گروه کنترل و گروه هیپوکسی **Error! Bookmark not defined.**
جدول ۴-۱۱- خلاصه نتایج آزمون تحلیل واریانس یک سویه برای مقایسه میانگین پروتئین P-AKT میوکارد گروه‌ها **Error! Bookmark not defined.** .....
جدول ۴-۱۲- خلاصه نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه دو به دوی پروتئین P-AKT میوکارد در گروه ها **Error! Bookmark not defined.** .....

## فهرست اشکال

**عنوان** **صفحه**

شکل ۱-۱- مکانیسم عمل تراکم زمینه اتصال HIF-1a به HIF-1β و تشکیل کمپلکس HIF1 و نسخه‌برداری هسته‌ی ..... ۴
شکل ۲-۱- هیترودایمرهای HIF-1α و HIF-1β ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۲- انواع HIF ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۳- دایمرازسیون HIF-1β,HIF-1α ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۴- کواکتیویتورهای فعال کردن رونویسی از ژن‌ها ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۵- تجزیه و فعال سازی ترمینال های انواع -HIF ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۶- فعال‌سازی نسخه برداری HIF-1α توسط مسیر کینازAKT/ PI3K **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۷- پایداری و عملکرد ترانس اکتیواسیون HIF-1α ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۸- عملکردآنزیم پرولیل هیدروکسیلاز مرتبط با HIF در شرایط نورموکسی و هایپوکسی **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۹- فرایند آنژیوژنز و نقش HIF-1α در آن ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۰- مسیر تجزیه و فعال‌سازی ژن‌های مرتبط باHIF-1 ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۱- سطوح HIF-1 mRNA در هایپوکسی همراه با فعالیت استقامتی **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۲-۱۲- ساختار سه بعدی VEGF ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۳- ساختار خانواده VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۴- گیرنده های VEGF..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۵- مکانیسم بقای سلول‌های اندوتلیال..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۶- مکانیسم تکثیر سلول اندوتلیال ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل۲-۱۷- مهاجرت ، نفوذپذیری، ابقا و تکثیرسلول‌های اندوتلیال ..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۸- مکانیسم پیام دهی درگیر در تولید PGI2 و NO ناشی از VEGF **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۱۹- بیولوژی تشکیل عروق درپاسخ به فعالیت..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۲۰- شبکه تشکیل عروق..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۲-۲۱- مراحل تشکیل عروق..... **Error! Bookmark not defined.**
شکل ۳-۱- اتاقک هیپوکسی مخصوص حیوانات به ابعاد ارتفاع ۲ متر، عرض ۰,۵ متر و طول ۱ متر **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۱- بیان پروتئین HIF1-a در میوکارد گروه‌های تمرین و کنترل.... **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۲- بیان پروتئین HIF1-a در میوکارد گروه‌های هیپوکسی و کنترل **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۳- نشان دهنده افزایش بیان پروتئین فاکتور القاء شده هیپوکسی ( HIF1-a) درگروه‌های مداخله مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل..... **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۴- بیان پروتئین VEGF در میوکارد گروه‌های تمرین و کنترل ..... **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۵- بیان پروتئین VEGF در میوکارد گروه‌های هیپوکسی و کنترل**Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۶- نشان دهنده افزایش بیان پروتئین فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) درگروه‌های مداخله مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل..... **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۷- بیان پروتئین P-AKT در میوکارد گروههای تمرین و کنترل... **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۷- بیان پروتئین P-AKT در میوکارد گروههای تمرین و کنترل... **Error! Bookmark not defined.**
نمودار ۴-۹- نشان دهنده افزایش بیان پروتئین فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز P-AKT درگروه‌های مداخله مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل..... **Error! Bookmark not defined.**

# فصل اول:

# کلیات پژوهش

## ۱-۱ – مقدمه

تمرینات ورزشی استقامتی باعث به وجود آوردن تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در سطح سلولی مولکولی در بدن می‌شود که موجب افزایش برون‌ده قلب و افزایش ظرفیت اکسیداتیو عضله اسکلتی می‌شود. این تغییرات باعث افزایش کارایی تحویل اکسیژن به بافت‌ها و در نتیجه آن افزایش اختلاف اکسیژن خون سرخرگی _ سیاهرگی می‌شود (۱). افزایش در اختلاف اکسیژن خون سرخرگی-سیاهرگی با توجه به فرمول فیک[1] باعث افزایش در حداکثر اکسیژن مصرفی می‌شود که موجب به تعویق افتادن خستگی و امکان تداوم فعالیت با شدت بیشتر را میسر می‌سازد. توانایی سیستم گردش خون عضله قلبی نیز برای تحویل بیشتر اکسیژن و مواد غذایی به تارهای عضلانی به وسیله تمرینات ورزشی افزایش می‌یابد. این تغییرات ساختاری در شبکه عروقی عضله فعال، مسئول عملکرد بهتر عضله قلبی یا عضله اسکلتی فعال می‌باشد. بنابراین این تغییرات نشان دهنده این است که تغییرات سیستم خون‌رسانی بدن از جمله مهم‌ترین رویدادهایی هستند که در پاسخ به تمرینات ورزشی به وقوع می‌پیوندد و وجود آن‌ها برای افزایش ظرفیت عملکرد لازم وضروری است (۲).

تمرینات ورزشی بر ساختار و چگالی مویرگی عضلات اسکلتی فعال و عضله قلبی تأثیر می‌گذارند و موجب تغییرات ساختار فیزیولوژیکی عروق خونی می‌شوند (۳). عوامل مختلفی باعث عروقی شدن عضله اسکلتی و قلبی در هنگام فعالیت ورزشی می‌شوند. مهم‌ترین این عوامل هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها و اتساع کننده‌های عروق ، انقباض عضلانی و انواع کشش‌ها هستند (۴). با وجود تحقیقات وسیعی که صورت گرفته هنوز معلوم نیست که هر کدام از این عوامل چه سهمی را در فرایند عروقی شدن بافت فعال دارند و مکانیسم تأثیر گذاری این محرک‌ها چگونه است؟ با این توصیف، پژوهش حاضرتعیین تاثیر تمرین هوازی و هیپوکسی بر میزان بیان عوامل آنژیوژنز عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستارخواهد بود.

1. Fick

## ۱-۲- بیان مسأله

آنژیوژنز[2] یا مویرگ‌زایی به معنی افزایش چگالی مویرگ‌های عضله قلبی و اسکلتی‌است (۵) که به صورت جوانه زدن و یا تقسیم طولی از رگ قبلی بوجود می‌آید و در پاسخ به محرک‌هایی مانند هیپوکسی[3](۶)، نیروهای همودینامیک (۷)، (تنش برشی[4]،کشش مکانیکی بافت) و عوامل متابولیکی (۸) (شامل فاکتورهای رشدی) فعالیت خود را از سر می‌گیرد. از بین عوامل ذکر شده هیپوکسی نقش موثری را در آنژیوژنز دارد زیرا کاهش در سطوح اکسیژن، مجموعه‌ای از پاسخ‌های حاد و مزمن در بدن را موجب می‌شود که مکانیسم‌های تنظیم هموستاتیک در سیستم قلبی عروقی و تنفسی به سرعت برای حفظ اکسیژن در متابولیسم طبیعی وارد عمل می‌شود (۹). حفظ دقیق سطح اکسیژن بافت‌ها نیازمند همکاری سیستم‌های مختلف مانند گردش خون، تنفس و سیستم غددی- عصبی می باشد زیرا که افزایش یا کمبود سطح اکسیژن منجر به مرگ سلول، بافت و یا ارگانیسم می‌شود (۹). تمام سلول‌های هسته‌دار بدن کمبود اکسیژن را حس‌کرده و به آن پاسخ می‌دهند.

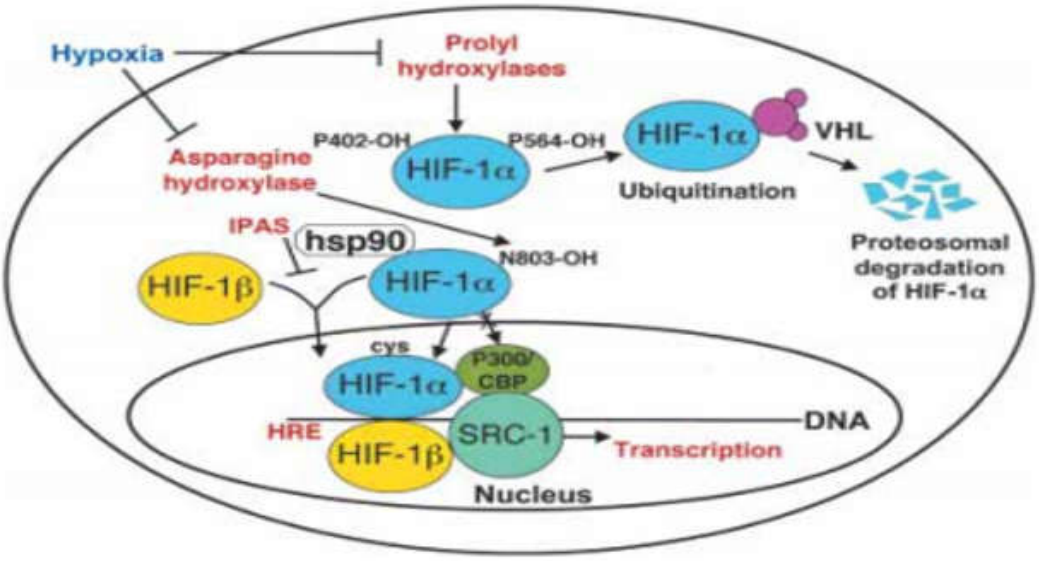
یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های حاصله درکمبود اکسیژن افزایش چگالی مویرگی یا آنژیوژنز است (۱۰) و موثرترین عامل در آنژیوژنز، عامل رشد اندوتلیال عروقی[5](VEGF) می‌باشد که قوی‌ترین میتوژن اندوتلیالی بوده و تکثیر سلول‌های اندوتلیالی را در شرایط هیپوکسی تحریک می‌کند و اغلب تحت فاکتور ناشی ازهیپوکسی[6] (HIF-1a) بیان می‌شود (۶). قرار گرفتن در یک محیط هیپوکسی، HIF-1a را فعال می‌کند. HIF-1a تنظیم کننده اصلی در بیان ژن‌های مرتبط با هیپوکسی 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 (۱۱).

در شرایط طبیعی HIF-1a تشکیل، ولی به سرعت توسط مسیر پروتئوزوم یوبیکیوتین $S_{28}$ تجزیه می‌شود. پرولین ۴۰۲ و ۵۶۴ فاکتور HIF-1a توسط پرولین هیدروکسیلاز، هیدروکسیله شده و در معرض اتصال به پروتئین ون هیپل لیندا[7](VH-L) قرار می‌گیرد و توسط یوبیکوئیتین لیگاز تجزیه می‌شود (۱۱). هیدروکسیلاسیون ریشه آسپارژین ۸۰۳ توسط فاکتور مهارکننده (FIH) در شرایط طبیعی، HIF-1a را با مهار تعامل با فعال‌کننده رونویسی خود یعنی CBP/p300، غیر فعال‌تر می‌کند (شکل۱-۱).

---

1. Angiogensis
2. Hypoxia
3. Shear Stress
4. Vascular Endothelial Growth factor
5. Hypoxia Inducible Factor – 1
6. Von Hippel-Lindau

در مقابل، HIF-1a در شرایط هیپوکسی انباشته می‌شود و این افزایش تراکم زمینه اتصال HIF-1a به‌HIF-1β و تشکیل کمپلکس HIF1 را فراهم می‌آورد. در نتیجه هیدروکسیلاسیون وتخریب آن توسط عامل بازدارنده هیپوکسی[8] (FIH) و پرولین هیدروکسیلاز وابسته به اکسیژن[9]، (PHD) جلوگیری شده و به CBP/p300 متصل شده و پس از هترودیمریزاسیون با HIF-1β به هسته می‌رود (۱۱). HIF-1 بعد از شکل‌گیری می‌تواند عناصر واکنش دهنده به هیپوکسی (HRE) که روی ژن های هدف در هسته قرار دارند را شناسایی‌کنند (۱۲) و نسخه‌برداری ژن‌های مختلف سازگار با هیپوکسی نظیر آنژیوژنز، گلیکولیز، اریتروپویتین و بیوسنتز کاتکولامین‌ها را شروع می‌کند (۱۳).




شکل ۱-۱- مکانیسم عمل تراکم زمینه اتصال HIF-1a به‌HIF-1β و تشکیل کمپلکس HIF1 و نسخه برداری هسته‌ی

علاوه‌براین، عواملی مانند ورزش حاد، اسیدوز، فشار اکسایشی وگرما بیان HIF-1a را مستقل از هیپوکسی تحریک می‌کند (۱۱).

تا به امروز بیش از ۱۰۰ رونویسی ژن‌های هدف، توسط HIF-1a مشخص شده است (۱۴). با این‌حال، بیش از دو درصد از تمام ژن‌های انسان به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم توسط HIF-1 در سلول‌های اندوتلیال سرخرگی تنظیم می‌شود (۱۵). از بین آنها عامل رشدی اندوتلیالی VEGF فعال‌ترین میتوژن اندوتلیالی است (۱۶). VEGF فراخوان موثر سلول‌های بنیادی جریان گردش خون بوده و به

1. Factor Inhibiting HIF
2. Oxygen-Dependent Proline Hydroxylases

عنوان آغازگر مویرگ‌زایی می‌باشد (۱۷) و دارای هفت ایزوفرم,A,B,C,D,E,F و PIGF[1] (عامل رشد جفتی) بوده و از نظر وزن مولکولی و خواص بیولوژیکی متفاوت عمل می‌کنند. VEGFA مهمترین ایزوفرم بوده و اعمال VEGF به آن نسبت داده می‌شود و اثر آنژیوژنیک قدرتمندتری را در بافت‌های مختلف موجب می‌شود و افزایش نفوذپذیری و گشاد شدن عروق را فراهم می‌کند (۱۸). VEGFA خود دارای زیر رده‌های ۱۲۱، ۱۴۵، ۱۶۵، ۱۸۹، ۲۰۵ می‌باشد که از نظر تعداد اسید آمینه‌ها متفاوت هستند و فراوان ترین آن ۱۶۵ بوده که اعمال میتوژنیکی و آنژیوژنیکی خود را با واسطه دوگیرنده‌ی تیروزین کینازی به نام‌های(VEGFR1 (Flt1) VEGFR2 (KDR/Flk-1 که بر روی سلول‌های اندوتلیال عروق قرار دارند اعمال می‌کند(۱۹). VEGF در مهاجرت، تکثیر، تجزیه ماتریکس سلول‌های اندوتلیال و همچنین در تشکیل شبکه عروقی نقش دارد (۲۰).

هیپوکسی، هیپوگلیسمی، تغییرات مکانیکی و برخی از سایتوکاین‌ها از مهم‌ترین عوامل تحریک‌کننده VEGF و گیرنده‌های آن هستند (۲۱).VEGF از طریق فعال سازی مسیر درون سلولیPI3K با گیرنده نوع دو، تحت پیام‌دهی پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) منجر به فعال شدن مسیر Akt/PKB می‌شود. این مسیر با کاهش فعالیت پروتئین‌های آپوپتوتیک و افزایش بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوز در نهایت افزایش بقای سلول‌های اندوتلیال را باعث می شود (۱۸).

اما بررسی تحقیقات در رابطه با مویرگ‌زایی نشان می‌دهد هانتر اولین‌کسی بود که درسال ۱۷۸۷برای اولین بار واژه مویرگ‌زایی یعنی تشکیل عروق جدید از عروق قبلی را بیان کرد و چندین سال پس از آن وانوتی و مگی دی اولین کسانی بودند که در سال ۱۹۳۴ افزایش مویرگ عضله را در پاسخ به فعالیت ورزشی گزارش کردند (۲۲).

از آن زمان به بعد تحقیقات مختلفی با پروتکل‌های متفاوت در رابطه با مویرگ‌زایی انجام شده است و نتیجه بیشتر تحقیقات، تمرینات استقامتی (دویدن، دوچرخه سواری، قایقرانی، شنا ، اسکی) و ماندن در ارتفاع را در افزایش تراکم مویرگی و میزان مویرگ در فیبرهای عضلات فعال درگیر نشان دادند و به این نتیجه رسیدند افزایش چگالی مویرگی موجب افزایش سطح انتشار می‌شود که به تبع آن زمان تبادل بین خون و بافت افزایش می‌یابد و مسافت انتشار اکسیژن کاهش یافته و موجب افزایش اختلاف اکسیژن سرخرگی و سیاهرگی و افزایش $Vo_{2max}$ می‌شود.

---

1. Placental Derive Growth Factor
2. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1
3. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2
4. Phpsphatidyl Inositol 3 Kinase
5. Protein Kinase B
6. Huntere

امروزه محقیقین به عوامل محرک آنژیوژنز (هیپوکسی، ایسکمی، نوع فعالیت ورزشی و..) و همچنین مولکول‌های پیام رسان سلولی و بیان برخی از ژن‌های مرتبط با آنژیوژنز (ترشح VEGF و بیان mRNAVEGF ، HIF-1 و..) متمرکز شده اند و تاثیر هیپوکسی را در بیان فاکتورهای آنژیوژنز موثر دانسته‌اند. در اغلب تحقیقات، دومکانیسم اصلی توسط هیپوکسی در افزایش بیانVEGF ذکر شده است. در شرایط هیپوکسی آدنوزین در عضله اسکلتی تجمع می‌یابد. آدنوزین از طریق فعال‌سازی گیرنده خود یعنی(A2 )، موجب بالا رفتن غلظت cAMP1 می‌شود که این عامل به نوبه خود باعث افزایش سطح mRNA پروتئین VEGFمی‌شود. تغییر عمده دیگر در شرایط هیپوکسی، کم اکسیژنی است که باعث تحریک HIF می‌شود. HIF در ادامه از طریق فعال‌سازی مسیر PI3K/Aktموجب القا و بیان ژنی پروتئین VEGF می‌شود.

از سوی دیگر، برخی محققین بر این باورند ترکیب تمرین با هیپوکسی موجب القای بیشتری در فاکتورهای آنژیوژنز می‌شود. هیپوکسی و فعالیت ورزشی به طور مستقل فشارهای متابولیکی زیادی اعمال می‌کنند. هیپوکسی حاد سطح اشباع اکسیژن را کاهش می‌دهد، درحالیکه فعالیت ورزشی مصرف اکسیژن را توسط عضلات فعال افزایش می‌دهد. بنابراین فعالیت ورزشی و هیپوکسی به طور قابل توجهی غلظت اکسیژن را در اندام‌های فعال کاهش می‌دهد، همزمان با کاهش تحویل اکسیژن، نیاز به اکسیژن در بافت‌های فعال افزایش می‌یابد. برای رفع این مشکل فراخوان فاکتورهای آنژیوژنز بیشتر می‌شود. به این دلیل ترکیب ورزش با هیپوکسی در مقایسه با ورزش به تنهایی در بیان فاکتورهای آنژیوژنز موثر می‌باشد (۲۳).

اما با بررسی نتایج تحقیقات ورزشی در این راستا، اختلاف نظرهای وجود دارد. برای مثال نورشاهی و همکاران در سال ۲۰۱۱ تحقیقی را در یک شرایط هیپوکسی با ارتفاع ۴۲۰۰ متر با ۱۲درصد هیپوکسی به مدت هشت هفته انجام دادند و نشان دادند ترکیب هیپوکسی و تمرین به افزایش۴۴ درصدی سطوح سرمی VEGFمنجر می‌شود در حالیکه در گروه نورموباریک افزایش ۱۷ درصدی را مشاهده کردند. با این حال، سوهر[۱۱] و همکاران در سال۲۰۰۷ تحقیقی روی دوچرخه سوران حرفه‌ای انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که ۹۰ دقیقه رکاب زدن به صورت متناوب با ۵۰ درصد $Vo_{2max}$ تاثیر معنی‌داری بر سطوح سرمی VEGF بلافاصله، نیم، یک و چهار ساعت متعاقب فعالیت ورزشی نداشت. این تناقضات بیشتر بسته به نوع پروتکل تمرینی، میزان آمادگی افراد، غلظت گلوکز خون، محیط تمرین، زمان و روش اندازه‌گیری فاکتورهای آنژیوژنز می باشد (۲۴, ۲۵).

1. Suhr, Frank, et al

اگرچه مشخص شده است تمرین ورزشی آنژیوژنز را از طریق مکانیسم‌های مختلف افزایش می‌دهد، بااین وجود، یک مطالعه تاکنون، آثار مداخله تمرین هوازی با هیپوکسی و نقش HIF-1a بر سلول‌های بنیادی اندوتلیال درگیر در آنژیوژنز را بررسی‌کرده است. وانگ جونگ شیان[۱۲] و همکاران (۲۰۱۴)، نقش تمرین هوازی و هیپوکسی را بر بیان سلول‌های بنیادی در گردش اندوتلیال[۱۳](CPCs) در افراد غیر فعال مورد مطالعه قرار دادند. این مطالعه نشان داد تمرین در شرایط هیپوکسی احتمالا بیان بیش تنظیمی فاکتور مشتق از سلول‌های بنیادی(SDF-1)، ماتریکس متالوپروتیناز[۱۴] (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 کند. بنابراین تمرین درشرایط هیپوکسی ممکن است همزمان عملکرد همودینامیک قلبی- عروقی را با فراخوان و تمایز سلول‌های بنیادی در گردش بویژه در بیماران نارسایی‌قلبی[۱۵]، (۲۶, ۲۷) انفارکتوس عضله قلبی[۱۶](۲۸) و بیماری سرخرگ محیطی[۱۷](۲۹) بهبود بخشد و این امر می تواند با آنژیوژنز قلبی ناشی از فعالیت ورزشی بوسیله‌ی تنظیم مستقیم مسیر VEGF و تنظیم غیر مستقیم اهداف آن مانند MAPK, PI3K/Akt/eNOS ارتباط داشته باشد (۲۳).

در نهایت با توجه به نتایج مطالعات پیشین به نظر می‌رسد بیانVEGF و گیرنده‌های آن در شرایط هیپوکسی افزایش می‌یابد و فعالیت ورزشی می‌تواند از راه افزایش HIF-1a، به بهبود عملکرد عروقی در قلب کمک کند. با وجود این ، مطالعه ای آثار همزمان مداخله تمرین ورزشی و هیپوکسی را برمیزان بیان HIF-1aو فاکتورهای درگیر در آنژیوژنز قلبی، در بافت قلب بررسی نکرده است. مطالعات صورت گرفته بیشر از سرم یا پلاسما بوده اند. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثر تمرین هوازی بر میزان بیان HIF-1a ، VEGFA وp-Akt در بافت قلبی موش‌های سالم انجام می‌شود تا به برخی از ابهامات موجود پاسخ دهد.

## ۱-۳- اهمّیت و ضرورت تحقیق

یکی از اصلی‌ترین معیارهای موفقیت در رشته‌های ورزشی استقامتی افزایش $Vo_{2max}$ است و یکی از علل افزایش $Vo_{2max}$ آنژیوژنز می‌باشد و عامل تشدید کننده آنژیوژنز ایسکمی و هیپوکسی است به این دلیل مربیان تمرین در ارتفاع را جهت اجرای عملکرد بهتر در نظر می‌گیرند (۳۰). سازگارهای عمده‌ای بر

1. Wang, Jong-Shyan, et al.
2. Circulating Progenitor Cells
3. Matrix Metalloproteinase-9
4. Heart Failure
5. Myocardial Infarction
6. Peripheral Arterial Disease

اثر تمرین در ارتفاع صورت می‌گیرد که این سازگاری‌ها نسبت به نوع تمرین، مدت زمان حضور در ارتفاع و میزان ارتفاع متفاوت می‌باشد (۳۱). کاهش فشار سهمی اکسیژن در ارتفاعات موجب پایین آمدن دسترسی بافت‌ها به اکسیژن می‌شود و متعاقب آن ترشح HIF در سلول‌های حساس به اکسیژن افزایش می‌یابد (۳۲). از سوی دیگر، تاثیر تمرینات استقامتی بر فعالیت مسیر HIF در عضله اسکلتی انسان در شرایط هیپوکسی بیشتر از شرایط نورموکسی مشخص شده است.

ترکیب تمرین با هیپوکسی موجب تولید ROS در زنجیره انتقال الکترون می‌گردد و ROS ایجاد شده مسیر پیام رسانی-p Akt را فعال می‌کند و فعال شدن این مسیر به بیان بیشتر پروتئین HIF-1a منجر می‌شود سپس HIF-1a بیان VEGF و گیرنده‌های آن را در شرایط هیپوکسی افزایش می‌دهد و به تبع آنVEGF قابلیت اتساع و ظرفیت نفوذپذیری مویرگ‌ها را با افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیالی بالا می‌برد. با فعال شدن این مسیر، عوامل ضدرگ زایی کاهش می‌یابد در نتیجه مقدار مویرگ‌زایی افزایش یافته و عملکرد اندوتلیال بهبود می‌یابد که این خود ممکن است از خطرهای بیماری های قلبی عروقی بکاهد با کاهش عوامل ضد مویرگ‌زایی، عوامل تحریک کننده در مویرگ‌زایی افزایش می‌یابد. در نتیجه جریان خون و انتقال اکسیژن به بافت هدف در هنگام فعالیت افزایش می‌یابد. با وجود این سازو کارهای مولکولی درگیر در این پدیده بویژه در بافت قلب به طور دقیق شناخته نشده‌اند و بررسی مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهد تحقیقی تا کنون تاثیر تمرین ورزشی، هیپوکسی، مداخله تمرین با هیپوکسی متناوب را به طور توأمان در بافت قلبی بر محتوی ,HIF1-aVEGFA وp-Akt بررسی نکرده است. لذا تحقیق حاضر سعی دارد تاثیر هر یک از روش‌های تمرین هوازی، هیپوکسی متناوب، و ترکیب آنها باهم بر محتوی ,HIF1-a VEGFA وp-Akt میوکارد موش‌های صحرایی را بررسی کند. تا در صورت مشاهده نتایج مثبت، فواید ناشی از تمرین در شرایط هیپوکسی را جایگزین تمرین در ارتفاعات برای مربیان و ورزشکاران پیشنهاد کند و همچنین راهکاری نوین درمان با هیپوکسی متناوب را به دلیل القا فعالیت HIF ، برای مصدومین رشته های ورزشی استقامتی و بیماران ایسکمیک عروق قلبی ارائه کند.

در نهایت با توجه به نتایج مطالعات پیشین می توان بیان کرد تمرینات ورزشی بویژه تمرینات استقامتی بر فاکتورهای آنژیوژنیک تاثیر مثبتی دارد و شرایط هیپوکسی محرک قوی در بیان فاکتورهای آنژیوژنیک می‌باشد و فعالیت ورزشی می‌تواند از راه افزایش HIF-1a، به بهبود عملکرد عروقی در قلب کمک کند. با این وجود، مرور مطالعات انجام داده شده مشخص می‌شود مطالعه ای تاکنون آثار همزمان مداخله تمرین ورزشی و هیپوکسی متناوب برمیزان بیان HIF-1a و فاکتورهای درگیر در آنژیوژنز قلبی، در بافت قلب بررسی نکرده‌است. بنابراین، دراین مطالعه به بررسی اثر تمرین هوازی بر میزان بیان HIF-1a ، VEGFA و p- Akt در بافت قلبی موش‌های سالم پرداخته می‌شود.

## ۱-۴- فرضیه‌های تحقیق

۱- تمرین هوازی بر محتوی پروتئین HIF1-a عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۲- هیپوکسی بر محتوی پروتئین HIF1-a عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۳- مداخله تمرین هوازی و هیپوکسی بر محتوی پروتئین HIF1-a عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۴- تمرین هوازی بر محتوی پروتئین VEGFA عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۵- هیپوکسی بر محتوی پروتئین VEGFA عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۶- مداخله تمرین هوازی و هیپوکسی بر محتوی پروتئین VEGFA عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۷- تمرین هوازی بر محتوی پروتئین p-Akt عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۸- هیپوکسی بر محتوی پروتئین p-Akt عضله قلبی موش‌های نر تاثیر معنی‌داری دارد.

۹- مداخله تمرین هوازی و هیپوکسی بر محتوی پروتئین p-Akt عضله قلبی موش‌های تاثیر معنی‌داری دارد.

## ۱-۵- اهداف تحقیق

### ۱-۵-۱- هدف کلی تحقیق

هدف کلی پژوهش حاضر تعیین تاثیر تمرین هوازی و هیپوکسی بر محتوی پروتئین HIF1- a ,p-Akt VEGFA عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار خواهد بود.

### ۱-۵-۲-اهداف اختصاصی

۱- تعیین تاثیر تمرین هوازی بر محتوی پروتئین HIF1-a عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

۲- تعیین تاثیر هیپوکسی بر محتوی پروتئین HIF1-a عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

۳- تعیین تاثیر مداخله تمرین هوازی و هیپوکسی بر محتوی پروتئین HIF1-a عضله قلبی موش‌های نر

۴- تعیین تاثیر تمرین هوازی بر محتوی پروتئین VEGFA عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

۵- تعیین تاثیر هیپوکسی بر محتوی پروتئین VEGFA عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

۶- تعیین تاثیر مداخله تمرین هوازی و هیپوکسی بر محتوی پروتئین VEGFAعضله قلبی موش‌های نر

۷- تعیین تاثیر تمرین هوازی بر محتوی پروتئین p-Akt عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

۸- تعیین تاثیر هیپوکسی بر محتوی پروتئین p-Akt عضله قلبی موش‌های نر نژاد ویستار

۹- تعیین تاثیر مداخله تمرین هوازی و هیپوکسی بر محتوی پروتئین p-Akt عضله قلبی موش‌های نر

## ۱-۶- متغیرهای تحقیق

### ۱-۶-۱- متغیرهای مستقل

هیپوکسی، تمرین هوازی، ترکیب هیپوکسی با تمرین هوازی

### ۱-۶-۲- متغیرهای وابسته

محتوی پروتئین‌های HIF1a ، VEGFA و p-Akt میوکارد

### ۱-۶-۳- متغیرهای کنترل

وزن، شاخص های آنتی اکسیدانی و پروفایل لیپیدی، رژیم غذایی

## ۱-۷- محدودیت های قابل کنترل و غیرقابل کنترل پژوهش

### ۱-۷-۱- محدودیت های قابل کنترل

- نژاد موش‌های صحرایی استفاده شده
- جنس موش‌های استفاده شده(نر)
- نوع تمرین
- محدوده وزنی برای شروع تمرین (۲۲۰-۲۴۰ گرم)
- محدوده سنی (۲تا ۳ ماهگی)

### ۱-۷-۲- محدودیت های غیر قابل کنترل

محیط حیوان خانه: هر چند که در مدت اجرای پروتکل تمرینی، سعی بر ثابت نگه داشتن درمای ۲۲ درجه بود، لیکن این متغیر در دامنه ۲۰-۲۶ نوسان داشت.

## ۱-۸- تعریف واژه‌ها

- **تمرین هوازی:** تمرینی که با اجرای آن، کارایی دستگاه‌های تولید انرژی به روش هوازی (اکسایشی) افزایش یابد و سازگاری‌های حاصل از آن باعث افزایش استقامت قلبی- تنفسی شود (۱). در تحقیق حاضر منظور از تمرین هوازی، دویدن بر روی نوار گردان موتوردار به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته می‌باشد. در ابتدا، موش‌های صحرایی به مدت ۱۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب پایین تمرین خود را آغاز می‌کنند. سرعت و مدت تمرین به‌تدریج در طول ۲ هفته بعد افزایش می‌یابد تا اینکه مدت و شدت تمرین به ترتیب به ۱ ساعت در روز و ۲۶ متر در دقیقه و شیب ۶٪ برسد.

- **هیپوکسی:** هیپوکسی به کاهش دسترسی بدن به اکسیژن در یک حالت یا یک شرایط گفته می‌شود، که بیشتر در ارتفاعات بوجود می آید و یک حالت موقتی است (۱۱). در تحقیق حاضر هیپوکسی نوروموباریک با شدت ۱۴٪ و بصورت متناوب در اتاقک هیپوکسی به نمونه‌ها اعمال گردید که ارتفاع حدود ۳۳۰۰ تا ۳۴۰۰ متری را شبیه سازی می‌کند.

- **موش‌های صحرایی** (Rat): جوندگانی با اندازه متوسط و دمی بزرگ هستند که بعد از موش-های سوری رایج ترین حیوان آزمایشگاهی مهره‌دار است که مورد استفاده قرار می‌گیرد. رات عمدتا در تحقیقات پزشکی و دامپزشکی مثل دیابت و سرطان شناسی و ارزیابی داروها، تحقیقات مربوط به تغذیه، رفتارشناسی و مسمومیت بکار برده می‌شود (۷). که در این تحقیق منظور از موش‌های صحرایی، موش-های صحرایی نر نژاد ویستار با دامنه وزنی ۲۲۰ تا۲۴۰ می باشند.

- **آنژیوژنز:** آنژیوژنز یا مویرگ‌زایی به معنی افزایش چگالی مویرگ‌های عضله قلبی و اسکلتی‌است (۵) و در این تحقیق منظور از عوامل آنژیوژنز محتوی پروتئین HIF1a میوکارد، VEGFAو p-Aktمی‌باشد.

# فصل دوم:

# مبانی نظری پژوهش

## ۲-۱- مقدمه

در فصل اول این پژوهش، به بیان مسئله، ضرورت انجام پژوهش، اهداف و فرضیه‌های پژوهش پرداخته شد. ضمنا با بررسی‌های به عمل آمده مشخص می‌شود مطالعه‌ای تاکنون موضوع بررسی اثر تمرین هوازی و هایپوکسی بر میزان پروتینHIF-1a ، VEGFA و p-Akt در بافت قلبی موش‌های سالم بررسی نکرده است. بنابراین، با توجه به موارد ذکر شده و با توجه به نوپا بودن بحث نقش پروتین HIF-1a در آنژیوژنز در حیطه علوم ورزشی ، این مطالعه با هدف بررسی اثر تمرین هوازی و هایپوکسی بر میزان پروتین HIF-1a ، VEGFA و p-Akt در بافت قلبی موش‌های سالم انجام شد.

روشن شدن این فرایندهای تنظیمی به وسیله HIF-1a ، VEGFA و p-Aktکه به وسیله تمرین ورزشی تحت تاثیر قرار می‌گیرند، استراتژی بسیار با ارزشی است که می‌تواند به توسعه روش‌های تمرینی برای سازگاری‌های فیزیولوژیکی و درمانی برای بیماران ایسکمیک منجر شود.

در فصل دوم این مطالعه، ابتدا مبانی نظری عروق، آنژیوژنز و HIF-1a ، VEGFA و p-Akt ارائه شده و سپس به بررسی مطالعاتی که در مورد تاثیر تمرین ورزشی بر عوامل درگیر در آنژیوژنز در داخل و خارج از کشور انجام شده است، خواهد پرداخت.

## ۲-۲- مبانی نظری تحقیق

### ۲-۲-۱- فرم‌های تشکیل عروق

#### ۲-۲-۱-۱- واسکولوژنز

عملکرد بافت‌های مختلف به طور مستقیم به شبکه عروقی آن بافت وابسته است. لذا وقتی بافت جدایی تشکیل می‌شود، عروق خونی نیز بایستی توام با آن به وجود بیاید. به همین دلیل یکی از وقایع اولیه در امبریوژنز، پیدایش عروق خونی یا واسکولوژنز می‌باشد که با تمایز سلول‌های مزودرمی به همانژیوبلاست‌ها (که پیش‌ساز سلول‌های هماتوپوئتیک و سلول‌های اندوتلیال است) آغاز می‌گردد. با تمایز بیشتر، همانژیوبلاست‌ها به آنژیوبلاست تبدیل و با تجمع آنژیوبلاست‌ها جزایر خونی اولیه تشکیل می‌گردد. سپس این جزایر خونی با هم ادغام شده و شبکه اولیه عروقی که شامل مویرگ‌های نازک تشکیل شده توسط سلول‌های اندوتلیال است پدیدار می‌شود.

پدیده واسکولوژنز با تشکیل این شبکه و تغیر شکل آن در حین مویرگ‌زایی ادامه می‌یابد. اگرچه واسکولوژنز عمدتا در دوران جنینی روی می‌دهد، اما در بزرگسالان نیز واسکولوژنز اتفاق می‌افتد. ساز وکار فرایند واسکولوژنز در بزرگسالان به این صورت است که سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال از مغز استخوان وارد گردش خون محیطی شده و به مناطقی که عوامل محرک مویرگ‌زایی آزاد می‌کنند، جذب و در تشکیل عروق جدید مشارکت می‌کنند (۳۳).

۲-۲-۱-۲- آرتریوژنز[18]

شکل دیگری از تشکیل عروق است که به تغییر شکل آرتریول‌های جانبی که از قبل وجود داشته و شریان‌های هدایتی بزرگ اشاره دارد. این فرایند مستقل از پدیده ایسکیمی است، اما با التهاب و نیروهای تنشی افزایش یافته که خود نتیجه‌ای از افزایش جریان خون به علت انسداد عروق بزرگ است، مرتبط می‌باشد. البته در موارد ایسکیمی شدید مثل بیماری‌های شریانی آرتریوژنز و مویرگ‌زایی می‌توانند توام با هم اتفاق بیافتند. در این حالت عروق ضعیف و شکننده‌ای که در طی مویرگ‌زایی تشکیل شده‌اند طی فرایند آرتریوژنز تبدیل به عروق بالغ می‌شوند (۳۴).

۲-۲-۱- ۳- آنژیوژنز

آنژیوژنز فرایند زیستی جوانه زدن رگ‌های جدید از رگ‌های موجود در بافت می‌باشد. این فرایند به طور بارز در دوران جنینی، دوران پس از تولد و حتی در بالغین مشاهده می‌شود که می‌توان آن را در دو شکل فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی طبقه‌بندی کرد. آنژیوژنز فیزیولوژیکی که فرایندی به شدت تنظیم شده است در مواردی مثل ترمیم زخم، سیکل‌های قاعدگی، لانه گزینی جنین و تخمک گذاری اتفاق می‌افتد. درحالی‌که آنژیوژنز پاتوفیزیولوژیکی اشاره به تکثیر غیرقابل کنترل اندوتلیوم مویرگی دارد، در بیماری‌هایی مثل رتینوپاتی دیابتی، آترواسکلروز، رشد و متاستاز تومورها و همانژیوم‌ها، پسوریازیوس، اسکلرودرما، آرتریت روماتوئید و اندومتریوز دیده می‌شود. در حالت سلامت، آنژیوژنز به وسیله تعادل بین عوامل آنژیوژنیک و آنتی آنژیوزنیک تنظیم می‌گردد. وقتی مقدار عوامل رشد آنژیوژنیک بیشتر از مهارکننده‌های آن باشد تعادل به سمت رشد رگ‌های جدید جابه‌جا می‌شود، اما وقتی مقدار مهارکننده‌ها بیشتر شود، این فرایند متوقف می‌شود (۳۳).

### ۲-۲-۲- سازوکار مویرگ‌زایی

شکل‌گیری و تکامل عروق، بسیار پیچیده و هماهنگی مراحل آن بستگی به فعال شدن تعداد زیادی گیرنده و لیگاند دارد که باید به شدت تنظیم شود. به خصوص در زمان بلوغ که عوامل تحریک کننده و

18. Arteriogenesis

مهارکننده مویرگ‌زایی باید در حالت موازنه قرار گیرد. با توجه به پژوهش‌هایی که از حدود سه دهه قبل شروع شده است و هنوز نیز در حال انجام است، تا حد قابل توجهی مراحل مویرگ‌زایی شناسایی شده است (۳۵). روند مویرگ‌زایی با تخریب موضعی دیواره عروق موجود، فعال شدن سلول‌های اندوتلیال، تکثیر و مهاجرت آن‌ها شروع می‌شود. مهاجرت سلول‌های اندوتلیال به خارج از دیواره عروق باعث تشکیل ساختمان لوله مانندی در اطراف عروق مادری می‌شود و در ادامه با کامل شدن، این عروق جدید می‌توانند به مویرگ‌ها، شریان‌ها و وریدهای دیگر اتصال و ارتباط برقرار کنند (۳۶, ۳۷).

به طور کلی برای عروق دو گروه سلول اصلی را می‌توان در نظر گرفت که این دو گروه شامل سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های دیواره‌ای می‌باشد (۳۸). دیواره مویرگ‌ها نازک بوده و از یک لایه سلول تشکیل شده درحالی‌که دیواره شریان‌ها و وریدها از چند لایه سلول عضله صاف تشکیل شده است. سلول‌های دیواره‌ای منشا مزانشیمال دارند (۳۷) در افراد بالغ تشکیل و رشد عروق جدید به شدت کنترل شده و تنها در شرایط بسیار خاص مانند بهبود زخم و یا ایسکیمی فعال می‌شود، زیرا هرگونه افزایش و یا کاهش تشکیل عروق می‌تواند باعث بیماری‌های وخیمی‌شود. پدیده مویرگ‌زایی برای رشد تومورها نیز بسیار ضروری است چرا که تومورها نیز مانند سایر سلول‌های بدن برای رشد نیاز به تغذیه و اکسیژن دارد. در واقع هیچ توموری بدون مویرگ‌زایی و خون رسانی بیش از ۲-۳ میلی متر مکعب رشد نمی‌کند، زیرا سلول‌های توموری در اثر هایپوکسی از بین می‌روند. بنابراین برای رشد تومورها نیاز به فعال شدن مویرگ‌زایی و خون‌رسانی به سلول‌های جدید می‌باشد. این مسئله در مورد بهبود زخم‌ها و یا بهبود نواحی دچار ایسکیمی نیز صادق است. روند فعال شدن مویرگ‌زایی، سویچ مویرگ‌زایی نامیده شده است. در این حالت موازنه بین عوامل مهارکننده و تحریک کننده مویرگ‌زایی در یک ناحیه به هم خورده و موازنه به نفع عوامل تحریک کننده مویرگ‌زایی خواهد شد. در برخی از حالت‌های پاتولوژیک مویرگ‌زایی، نه تنها با افزایش تحریک کننده‌های مویرگ‌زایی، بلکه با کاهش عوامل مهارکننده مویرگ‌زایی نیز همراه است (۳۷, ۳۹).

### ۲-۲-۲-۱- مویرگ‌زایی فیزیولوژیک و پاتولوژیک

مویرگ‌زایی را می‌توان به دو نوع طبیعی یا فیزیولوژیک و غیر طبیعی یا پاتولوژیک تقسیم بندی کرد. تفاوت این دو نوع مویرگ‌زایی در تفاوت عروق القاء شده توسط این دو پدیده می‌باشد. مویرگ‌زایی فیزیولوژیک از تکامل جنین شروع شده، تا مرحله بعد از تولد هم ادامه پیدا می‌کند تا عروق طبیعی بافت‌های بالغ را ایجاد کند. عروق خونی نرمال، طبق یک قاعده منظم و فواصل منظم و به ترتیب به صورت شریان‌ها، شریانچه‌ها، مویرگ‌ها، ونول‌ها، وریدهای کوچک و بزرگ سازماندهی می‌شوند. برخلاف سازمان‌دهی مناسب ساختمانی و عملی در تشکیل عروق طبیعی در حالت فیزیولوژیک، عروقی که در زمان

مویرگ‌زایی پاتولوژیک مانند زمان شکل‌گیری تومورها، انفارکتوس قلبی و یا التهاب مزمن ایجاد می‌شوند، حالت غیر طبیعی دارند. این عروق توزیع یکنواختی نداشته، شاخه‌های آن‌ها نامنظم بوده، شانت شریانی و وریدی در آن‌ها زیاد بوده و فاقد الگوی ترتیبی مناسب مانند حالت طبیعی می‌باشند. این عروق بسیار منفذدار بوده و به پلاسما و پروتئین‌های پلاسما نفوذپذیری بالائی دارند (۳۶).

### ۲-۲-۲-۲- عوامل موثر بر مویرگ‌زایی

خاموش بودن سلول‌های اندوتلیال در عروق بالغ، احتمالا به علت ناکافی بودن محرک‌هایی مثل عوامل رشد و یا حضور مهارکننده‌ها می‌باشد (۴۰) اما این عروق می‌توانند در پاسخ به محرک‌هایی مانند هایپوکسی[۱۹](۶)، نیروهای همودینامیک (۲) (تنش برشی[۲۰]،کشش مکانیکی بافت) و عوامل متابولیکی (۸) (شامل فاکتورهای رشدی) فعالیت خود را از سر می‌گیرد. از بین عوامل ذکر شده هایپوکسی نقش موثری را در آنژیوژنز دارد زیرا کاهش در سطوح اکسیژن، مجموعه‌ای از پاسخ‌های حاد و مزمن در بدن را موجب می‌شود که مکانیسم‌های تنظیم هموستاتیک در سیستم قلبی عروقی و تنفسی به سرعت برای حفظ اکسیژن در متابولیسم طبیعی وارد عمل می‌شود (۹). حفظ دقیق سطح اکسیژن بافت‌ها نیازمند همکاری سیستم‌های مختلف مانند گردش خون، تنفس و سیستم غددی- عصبی می‌باشد زیرا که افزایش یا کمبود سطح اکسیژن منجر به مرگ سلول، بافت و یا ارگانیسم می‌شود (۹). تمام سلول‌های هسته‌دار بدن کمبود اکسیژن را حس‌کرده و به آن پاسخ می‌دهند.

عوامل موثر بر مویرگ‌زایی را می‌توان در دو گروه کلی مهارکننده و تحریک کننده طبقه‌بندی کرد. این عوامل به طور خلاصه در جدول ۲-۱ و ۲-۲ ارائه شده اند:

1. Hypoxia
2. Shear Stress
3. Vascular Endothelial Growth factor
4. Hypoxia Inducible Factor – 1
5. Von Hippel-Lindau

جدول ۲-۱- عوامل محرک مویرگ‌زایی و آثار فیزیولوژیک آن‌ها

| آثار بیولوژیک | نام | فاکتور |
|---|---|---|
| **مهاجرت، تکثیر سلول های اندوتلیال و تشکیل شبکه عروقی** | فاکتور رشد مشتق از اندوتلیوم | VEGF |
| **مهاجرت، تکثیر و تمایز سلول های اندوتلیال، پروتئولیز خارج سلولی** | فاکتور رشد فیبروبلاست | FGF |
| **کاهش آپوپتوز سلول های اندوتلیال، مجتمع ساختن میوسیت، ترمیم ماتریکس خارج سلولی** | فاکتور رشد هپاتوسیت | HGF |
| **مهار آپوپتوز سلول های اندوتلیال، تشکیل شبکه عروقی، پایداری عروق تازه تشکیل شده** | آنژیوپوئیتین ۱ | Angiopoietin1 |
| **تکثیر و مهاجرت سلول های اندوتلیال، تشکیل تیوب مویرگی** | اینترلوکین ۸ | IL-8 |
| **تکثیر و تمایز سلول های اندوتلیال** | اریتروپوئتین | Erythropoiethin |
| **مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال، القاء فعال کننده پلاسمینوژن** | آنژیوژنین | Angiogenin |
| **تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال** | فامتور رشد اپیدرمی | EGF |
| **تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال** | فاکتور رشد جفتی | PDGF |
| **تکثیر و مهاجرت سلول های اندوتلیال** | گرلین | Ghrelin |
| **تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال** | فاکتور رشد تغییر شکل دهنده آلفا | TGF-α |
| **تمایز سلول های اندوتلیال، مهار تکثیر سلول های اندوتلیال** | فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا | TGF-ß |
| **افزایش تراکم عروق، تسهیل اتصال VEGF و FGF به گیرنده های سلولی شان. افزایش مقدار NO** | هپارین | Heparin |
| **تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال** | استروژن ها | Oestrogens |
| **تکثیر سلول های اندوتلیال، افزایش بیان MMPs** | لپتین | Leptin |
| **تجزیه غشا پایه عروق قبلی، تهاجم و مهاجرت سلول های اندوتلیال** | ماتریکس متاوپروتئیناز | MMPs |
| **مهاجرت سلول های اندوتلیال، مهار آپوپتوز و افزایش پرولیفراسیون سلول های اندوتلیال** | نیتریک اکساید سینتاز | NOS |
| **تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال** | فاکتور رشد مشتق از پلاکت | PDGF |
| **تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال** | اینترلوکین ۳ | IL-3 |
| **تمایز سلول های اندوتلیال** | پروستوگلاندین | Prostoglandin |
| **مهاجرت و تمایز سلول های اندوتلیال** | سیکلواکسیژناز دو | Cox-2 |
| **مهاجرت سلول های اندوتلیال** | مولکول چسبنده به سلول عروقی | VCAM-1 |

جدول ۲-۲- عوامل مهار کننده مویرگ‌زایی و آثار فیزیولوژیک آن‌ها

| فاکتور | نام | آثار بیولوژیک |
|---|---|---|
| Angiostatin | آنژیواستاتین | **کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول های اندوتلیال** |
| Endostatin | اندوستاتین | **کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول های اندوتلیال** |
| TSP-1 | ترومبوسپوندین یک | **کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول های اندوتلیال** |
| Troponin I | تروپونین آی | **کاهش تکثیر سلول های اندوتلیال** |
| IL-4 | اینترلوکین ۴ | **کاهش مهاجرت سلول های اندوتلیال** |
| PEDF | فاکتور مشتق از اپی تلیوم رنگدانه دار | **کاهش مهاجرت سلول های اندوتلیال** |
| IFN-*f* | اینترفرون گاما | **کاهش تکثیر سلول های اندوتلیال** |
| Angiogenin-2 | آنژیوژنین ۲ | **کاهش بلوغ سلول های خونی، آنتاگونیزه کردن آنژیوژنین ۱** |
| IP-10 | پروتئین القاکننده اینترفرون گاما | **کاهش تکثیر سلول های اندوتلیال** |
| IL-12 | اینترلوکین ۱۲ | **افزایش اینترفرون گاما** |
| IFN-α | اینترفرون آلفا | **کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول های اندوتلیال** |
| TIMP-1,2 | مهارگر بافتی متالوپروتئیناز | **کاهش فعالیت MMPs** |
| VEGI | مهارگر رشد اندولیال عروقی | **کاهش تکثیر سلول های اندوتلیال** |
| 2-Methoxyoestradiol | ۲ متوکسی استرادیول | **کاهش تکثیر و مهاجرت سلول های اندوتلیال** |
| Prolactin | پرولاکتین | **کاهش FGFß القا کننده مویرگ‌زایی** |

## ۲-۲-۳- هایپوکسی

اکسیژن یک ماده ضروری است که به عنوان یک سوبسترای کلیدی در متابولیسم سلولی و فعالیت‌های زیستی عمل می‌کند. ارگانیسم‌ها در بسیاری از وضعیت‌های پاتولوژیکی و فیزیولوژیکی، از لحاظ دسترسی به اکسیژن، با اکسیژن ناکافی روبرو می‌شوند. (شرایطی که به آن هیپوکسی اطلاق می‌شود.) ارگانیسم‌های هوازی، برای تولید انرژی نیازمند اکسیژن هستند بنابراین محرومیت از اکسیژن، استرس عظیمی را در سلول‌های زنده ایجاد می‌کند. به همین دلیل، تحت شرایط اکسیژن اندک (هیپوکسی)، سلول‌ها تعدادی از پاسخ‌های سازگاری را برای برابر کردن مقدار اکسیژن با نیازهای

Family name: Farhadi Name: Hasan

Title of Thesis: The effects of aerobic training and hypoxia on expression angiogenic factors in cardiac male wistar rats.

Supervisors: Marfat Siahkouhian (Ph.D) and Loltfali Bolboli (Ph.D)
Advisor: Poran Karimi (Ph.D)

Graduate Degree **Ph.D**
Major: Sport Physiology Specialty: Cardiovascular and Respiratory
University: **Mohaghegh Ardabili** Faculty: Educational Sciences and Psychology
Graduation date: 17/1/2017 Number of pages: 149

**Abstract:**

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 and Isobaric hypoxia (total pressure PiO2≈760 mmHg, 14% oxygen for 8 weeks). And exercise group ran on a treadmill (22-26 meter per min) for 8weeks, 5 session/ week with. (HT)Group, after exercise, during the day were similar to hypoxia in the hypoxic chamber. then, relative protein density of HIF1a, VEGF and P-AKT 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 P-AKT compared to control group ($p \leq 0.001$). also, were not significantly different found among treatment groups in relative protein density of HIF1a ($p \leq 0.09$). however, significant increased relative protein density of VEGF in hypoxia group compared to exercise training+ hypoxia group ($p \leq 0.034$). Conversely, significant increases relative protein density of P-AKT in exercise training and exercise training+ hypoxia groups compared with hypoxia group ($p \leq 0.001$). but, no significant diferrence P-AKT between in exercise training and exercise training+ hypoxia groups ($p \leq 0.076$).

**Conclusion:**The results indicated 8 weeks exercise training, intermittent hypoxia and intervention of exercise training with hypoxia induced cardiac angiogenesis signaling pathway and activating the pathway P-AKT in male rats. It seems that hypoxia induced angiogenesis signaling pathway and exercise training is beter stimulation for activity of signaling pathway P-AKT/Akt. Also, not showed a synergistic effect of these two factors. However, according to a few studies conducted in this area, more research is needed To determine the exact mechanisms of downstream and upstream pathways.

**Keywords:** Intermittent Hypoxia, Angiogenesis, exercise training, HIF1a, VEGF, P-AKT

**University of Mohaghegh Ardabili**

**Faculty of Educational Sciences and Psychology**

**Department of Physical Education and Sport Science**


**Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Ph.D in In the course of Physical Education and Sport Science**

Title:

# The effect of aerobic training and intermitent hypoxia on expression angiogenic factors in cardiac male wistar rats.

Supervisors:

**Marfat Siahkouhian (Ph.D)**

**Loltfali Bolboli (Ph.D)**

Advisor:

**Poran Karimi (Ph.D)**

By:

**Hassan Farhadi**

**Septembr – 2016**