

The effect of four weeks of interval training with electrical stimulation on the expression of VEGF and Endostatin genes in heart tissue in obese rats undergoing caloric restriction

Sara Hamed¹, Mohammad Malekipooya^{*2}

1. Master's student at Department of Exercise Physiology, A.C., Islamic Azad University, Arak, Iran.

*2. Assistant Professor at Department of Exercise Physiology, A.C., Islamic Azad University, Arak, Iran.

Extended Abstract

Background and Aim: Obesity is a major contributor to cardiovascular dysfunction and impaired angiogenesis (1). Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a key promoter of blood vessel formation, while endostatin serves as an endogenous inhibitor of angiogenesis (8,9,11). High-intensity interval training (HIIT) has been shown to improve vascular health and cardiac function (8,13,15), and when combined with electrical stimulation (ES), may further enhance these effects (28,45). Caloric restriction (CR) is another well-established intervention that improves metabolic and cardiovascular outcomes (16,5). However, the combined impact of HIIT, ES, and CR on the expression of genes related to angiogenesis in cardiac tissue remains unclear. This study aimed to investigate the effects of four weeks of HIIT combined with ES under CR conditions on the expression of VEGF and endostatin genes in the heart tissue of obese male rats. The findings may provide insight into non-pharmacological strategies for improving cardiac health in obesity-related conditions.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 35 male Wistar rats (8 weeks old, 200 ± 19 g), purchased from Baqiyatallah University, Iran. The animals were housed in transparent polycarbonate cages under controlled conditions: a temperature of 22 ± 2 °C, a humidity of $50 \pm 5\%$, and a 12-hour light/dark cycle. All rats had access to water and a specialized rodent diet. After a one-week acclimatization period, obesity was induced using a high-fat diet for 12 weeks, consisting of peanuts, milk chocolate, and sweet biscuits in a 3:1:1 ratio. The diet provided 20% protein, 60% fat, and 20% carbohydrates per 100 g (31,32). Following obesity induction, rats were randomly divided into five groups ($n = 7$ per group): 1- Obese control (CO), 2-Caloric restriction (CR), 3-CR + Electrical Stimulation (ES.CR), 4-CR + High-Intensity Interval Training (HIIT.CR), 5-CR + HIIT + Electrical Stimulation (HIIT.ES.CR). Caloric restriction was implemented using a time-restricted feeding model: 16 hours of food access followed by 8 hours of fasting daily. The standard diet used during this phase followed AIN-93 guidelines. HIIT was performed on a treadmill for four weeks, four sessions per week. Each session included alternating high-intensity intervals (25–30 m/min, 70–95% VO_{2max}) and low-intensity recovery intervals (21–23 m/min, 50–60% VO_{2max}), lasting 20–40 minutes. Warm-up and cool-down were performed at 10–12 m/min (30–50%

*Corresponding author, Address: Markazi Province, Arak, Islamic Azad University, Faculty of Education, Department of Sports Sciences, Phone: 9183636948, Email: Mo.malekipooya@iau.ac.ir

VO₂max) (34,35). Electrical stimulation was applied using an R12 stimulator (Parto Danesh Co., Iran) at 0.5 mA for 20 minutes, three times per week (36,37). Electrodes were placed on the hind limbs, and stimulation was synchronized with post-exercise recovery. Two days after the final intervention, rats were anesthetized with ketamine (75 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg), and cardiac tissue samples were collected. Samples were washed with phosphate-buffered saline (PBS), frozen in liquid nitrogen, and stored at -80 °C. Total RNA was extracted using standard protocols with LR buffer, β-mercaptoethanol, chloroform, and ethanol. cDNA synthesis was performed using reverse transcriptase (Fermentas, USA). Gene expression of VEGF and endostatin was quantified using real-time PCR (Kiagene, Iran), with GAPDH as the housekeeping gene. Primer sequences were designed based on NCBI data (36,37). Statistical analysis was conducted using GraphPad Prism (version 8). Normality was assessed with the Shapiro–Wilk test. One-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test was used to compare group means. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results: The results showed that the expression levels of the VEGF and Endostatin genes in the heart tissue of obese groups under calorie restriction combined with high-intensity interval training significantly decreased compared to the control group. The expression of the VEGF gene ($\bar{X}=0.05880$) in this group showed a significantly greater decrease compared to the expression of the Endostatin gene ($\bar{X}=0.07296$) ($p<0.0001$). Additionally, the expression of these two genes in obese groups under calorie restriction combined with electrical stimulation significantly decreased compared to the control group, and the expression of the VEGF gene ($\bar{X}=0.2718$) showed a significantly greater decrease compared to the expression of the Endostatin gene ($\bar{X}=0.3256$) in this group ($p<0.0001$). The combination of high-intensity interval training and electrical stimulation in obese individuals under calorie restriction resulted in a significant reduction in the expression of both VEGF and Endostatin genes compared to the control group. The expression of the VEGF gene ($\bar{X}=0.1260$) showed a significantly greater decrease compared to the expression of the Endostatin gene ($\bar{X}=0.3006$) in this group ($p<0.0001$).

Conclusion: It appears that high-intensity interval training (HIIT) and electrical stimulation, along with calorie restriction, can cause a significant decrease in the expression of endostatin and VEGF genes in the cardiac tissue of obese individuals. The reduction of endostatin may be associated with the regulation of angiogenesis and increased myocardial oxygenation, while the decrease of VEGF can prevent abnormal vessel growth. However, determining the precise consequences of these changes and finding the optimal balance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors requires further research.

Keywords: High-Intensity Interval Training, Electrical Stimulation, Obesity, Caloric Restriction, Angiogenesis

Ethical Considerations: This study was conducted according to ethical standards for biomedical research involving laboratory animals. All procedures were approved by the Ethics Committee of Islamic Azad University, Arak Branch (Ethics Code: IR.IAU.ARAK.REC.1403.293). Throughout the study, all efforts were made to minimize animal suffering and ensure humane treatment during housing, interventions, and sample collection.

Compliance with Ethical Guidelines: All experimental protocols were reviewed and approved by the institutional ethics board, and the study adhered to national and international guidelines for the care and use of laboratory animals.

Funding: This research did not receive any financial support from funding agencies or institutions.

Conflicts of Interest : The authors declare that there are no conflicts of interest associated with this study.

تأثیر چهار هفته تمرین تناوبی با شدت بالا به همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن های VEGF و اندو استاتین بافت قلب موش های صحرایی چاق با محدودیت کالری

سارا حامدی^۱، محمد ملکی پویا^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران.

۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: چاقی، یکی از عوامل اصلی بیماری های عروق قلب است، و می تواند به اختلالات متابولیکی منجر شود. لذا، پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید، همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن های فاکتور رشد اندوتلیال (VEGF) و اندو استاتین بافت قلب موش های صحرایی چاق با محدودیت کالری می باشد. **روش تحقیق:** در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر ویستار (هشت هفته ای با وزن 200 ± 19 گرم) پس از القای چاقی به طور تصادفی به پنج گروه هفت تایی تایی تقسیم شدند: چاق بدون محدودیت کالری (کنترل)، چاق تحت محدودیت کالری، محدودیت کالری - تمرین تناوبی شدید، محدودیت کالری - تحریک الکتریکی، و محدودیت کالری - تمرین تناوبی شدید - تحریک الکتریکی. گروه ها، تحت برنامه محدودیت کالری (۱۶ ساعت مصرف غذا، هشت ساعت عدم مصرف)، تمرین تناوبی چهار هفته (سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر بر دقیقه به مدت ۲۰ تا ۴۰ دقیقه)، و تحریک الکتریکی (۵/۰ میلی آمپر برای ۲۰ دقیقه) قرار گرفتند. پس از گذشت دو روز از مداخله ها، نمونه برداری بافت قلب انجام و بیان ژن ها با روش Real Time-PCR، اندازه گیری شد. برای تحلیل داده ها، آزمون تحلیل واریانس یک طرفه در سطح معنی داری $p < 0.05$ و نرم افزار گراف پد استفاده شد. **یافته ها:** نتایج نشان داد، سطوح بیان ژن VEGF و اندو استاتین، دریافت قلب گروه های چاق تحت محدودیت کالری همراه تمرین تناوبی شدید، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت و بیان ژن VEGF ($\bar{X} = 0.05880$) در این گروه نسبت به بیان ژن اندو استاتین ($\bar{X} = 0.07296$) کاهش معنادار بیشتری داشت ($p < 0.001$). همچنین، بیان این دو ژن در گروه های چاق تحت محدودیت کالری همراه تحریک الکتریکی، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت و بیان ژن VEGF ($\bar{X} = 0.2718$) نسبت به بیان ژن اندو استاتین ($\bar{X} = 0.3256$) در این گروه کاهش معنادار بیشتری داشت ($p < 0.001$). تلفیق تمرین تناوبی شدید و تحریک الکتریکی در گروه های چاق تحت محدودیت کالری منجر به کاهش معنی دار بیان دو ژن VEGF و اندو استاتین نسبت به گروه کنترل شد و بیان ژن VEGF ($\bar{X} = 0.1260$) نسبت به بیان ژن اندو استاتین ($\bar{X} = 0.3006$) در این گروه کاهش معنادار بیشتری داشت ($p < 0.001$). **نتیجه گیری:** به نظر می رسد، تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تحریک الکتریکی همراه محدودیت کالری، می تواند باعث کاهش معنی دار بیان ژن های اندو استاتین و VEGF بافت قلب در افراد چاق شود. کاهش اندو استاتین ممکن است با تنظیم آنژیوژنز و افزایش اکسیژن رسانی میوکارد همراه باشد، در حالی که کاهش VEGF می تواند از رشد عروق غیرطبیعی جلوگیری کند. اما، تعیین پیامدهای دقیق این تغییرات و یافتن تعادل مطلوب بین فاکتورهای پیش آنژیوژنیک و ضد آنژیوژنیک نیازمند تحقیقات بیشتری است.

*نویسنده مسئول، آدرس: استان مرکزی، اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده تعلیم و تربیت، گروه علوم ورزشی، تلفن: ۹۱۸۳۶۳۶۹۴۸،

پست الکترونیک: Mo.malekipooya@iau.ac.ir



مقدمه

بر اساس تعریف سازمان بهداشت جهانی^۱ (WHO) چاقی یک بیماری مزمن پیچیده است، که با رسوبات بیش از حد چربی تعریف می‌شود و می‌تواند سلامت را مختل کند و خطر ابتلا به دیابت نوع II، بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های استخوانی، تولید مثل و ابتلا به برخی سرطان‌ها را افزایش دهد (۱). براساس گزارشات این سازمان، در سال ۲۰۲۲، از هر هشت نفر در جهان، یک نفر با چاقی زندگی می‌کرده است. چاقی بزرگسالان در سراسر جهان از سال ۱۹۹۰ تا سال ۲۰۲۲، بیش از دو برابر شده است و بیش از ۳۹۰ میلیون کودک و نوجوان پنج تا ۱۹ ساله در سال ۲۰۲۲ دارای اضافه وزن بودند، که ۱۶۰ میلیون نفر از آن‌ها با چاقی زندگی می‌کرده‌اند (۲). در ایران نیز گزارش شده است، چاقی و اضافه وزن تا سال ۲۰۱۵ به ترتیب نزدیک به ۱۱ و ۱۸ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار داده است. این رقم تا سال ۲۰۲۱ تقریباً ۲۱ درصد افزایش یافته است (۳). انجمن قلب آمریکا^۲ (AHA) و انجمن قلب اروپا^۳ (ESC) در زمینه چاقی و بیماری‌های قلبی-عروقی گزارش کرده‌اند، که چاقی یکی از عوامل اصلی بیماری‌های قلبی محسوب می‌شود (۴ و ۵). در ایران نیز بر اساس آمارهای رسمی وزارت بهداشت، بیش از ۴۶ درصد مرگ و میرها ناشی از بیماری‌های قلبی-عروقی است (۶). که این آمار بسیار نگران کننده می‌باشد، و با توجه به ارتباط تنگاتنگ چاقی با اختلالات عروقی قلبی و کمبود مطالعات، در زمینه تأثیر مداخلات غیرتهاجمی بر بیومارکرهای کلیدی آنژیوژنیز، این پژوهش به بررسی تأثیر این مداخلات بر دو بیومارکر زیستی، یعنی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی^۴ (VEGF) و اندوستاتین^۵، و تعادل آنژیوژنیز بافت قلبی می‌پردازد. بیومارکرهای VEGF و اندوستاتین نقش ویژه‌ای در سلامت قلب و عروق، به ویژه در افراد چاق، دارند (۷). علاوه بر این، عوامل گوناگونی از جمله گونه‌های فعال اکسیژن^۵ (ROS)، هایپوکسی^۶، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها، اتساع کننده‌های عروق، انقباض عضلانی، برخی سایتوکاین‌ها و انواع کشش، نیز بر امکان ایجاد عروق جدید در فرآیندی به نام آنژیوژنیز^۷ در بافت قلب، مؤثرند. آنژیوژنیز فرآیند تشکیل رگ‌های خونی جدید از رگ‌های موجود است و در این مسیر بیومارکرهای VEGF و اندوستاتین نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کنند (۸). چاقی نیز بر سطوح VEGF و اندوستاتین تأثیر می‌گذارد و منجر به افزایش نیاز به اکسیژن و مواد مغذی در بافت آدیپوز می‌شود (۹). مطالعات نشان می‌دهند که هایپوکسی ناشی از چاقی می‌تواند مسیر سلولی VEGF را در بافت قلب مختل کند و منجر به اختلال در تعادل آنژیوژنیز و ضدآنژیوژنیز شود. به طور خاص، اگرچه VEGF یک عامل کلیدی برای آنژیوژنیز و حفظ عملکرد طبیعی بافت قلب است، اما در شرایط چاقی، افزایش یا کاهش غیرطبیعی آن می‌تواند پیامدهای متابولیکی و عروقی نامطلوبی ایجاد کند. همچنین VEGF به عنوان مهم‌ترین بیومارکر آنژیوژنیز، با تحریک تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، تشکیل شبکه

^۱ World Health Organization^۲ American Heart Association^۳ European Society of Cardiology^۴ Vascular Endothelial Growth Factor^۵ Reactive Oxygen Species^۶ Hypoxia^۷ Angiogenesis

عروقی را تسهیل می‌کند، و تنظیم دقیق سطح آن برای حفظ تعادل بین آنژیوژنیز طبیعی و جلوگیری از رشد غیرطبیعی رگ‌ها ضروری است (۱۰). این گلیکوپروتئین، همودایمر اصلی متصل به هپارین با وزن مولکولی ۴۵۰۰ دالتون است، که برای تمایز سلول‌های آندوتلیال و جوانه زدن مویرگ‌های جدید از عروق قبلی، هنگام رشد و توسعه شبکه مویرگی ضروری است. در مقابل اندوستاتین یک پروتئین طبیعی و مهارکننده آنژیوژنیز است که از تجزیه کلاژن XVIII در ماتریکس خارج سلولی تولید می‌شود و می‌تواند تأثیرات مهمی بر فرآیند آنژیوژنیز در بافت چربی داشته باشد (۸). بر اساس برخی مطالعات سطح اندوستاتین در افراد چاق معمولاً بالاتر از افراد با وزن نرمال است، و کاهش سطح اندوستاتین ممکن است با کاهش مکانیسم‌های ضد-آنژیوژنیک و تعدیل فرآیند آنژیوژنیز به کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی کمک کند (۱۱). بنابراین یک ارزیابی جامع و با رویکرد چند رشته‌ای برای تعریف بهترین استراتژی جهت درمان چاقی پیشنهاد می‌شود. یک مرور سیستماتیک در سال ۲۰۲۴ نشان داده است، که فعالیت بدنی با کاهش ۲۱ درصدی خطر مرگ و میر کلی و ۲۴ درصدی خطر مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی-عروقی در بزرگسالان چاق همراه است (۱۲). به تازگی، تمرین تناوبی با شدت بالا^۱ (HIIT) به عنوان یک روش مؤثر جهت درمان چاقی و سازگاری‌های قلبی-عروقی و عضلانی مورد توجه قرار گرفته است، و باعث افزایش حداکثر اکسیژن مصرفی ($\dot{V}O_{2max}$)، افزایش عملکرد ورزشی، کاهش استفاده از کربوهیدرات و افزایش چربی سوزی نیز می‌شود (۸). علاوه بر این، HIIT به عنوان یک عامل مؤثر در فرآیند آنژیوژنیز قلبی نیز شناخته شده است و می‌تواند، بسته به نوع بافت و شرایط فیزیولوژیکی، هم اثر افزایشی و هم اثر کاهش‌ی بر فرآیند آنژیوژنیز داشته باشد. در همین راستا Inayat و دیگران (۲۰۲۲) به بررسی اثر HIIT بر غلظت VEGF و اندوستاتین پلاسما پرداختند و نتایج نشان داد HIIT به طور معناداری غلظت اندوستاتین را تا ۲ ساعت پس از تمرین افزایش می‌دهد و همچنین، باعث افزایش موقت غلظت VEGF نیز می‌شود (۱۳). همچنین یافته‌های یزدانیان و دیگران (۲۰۱۸) نیز نشان داده است که تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف می‌تواند بیان VEGF را در بافت قلبی تعدیل کند و این تغییرات بسته به نوع و شدت مداخله متفاوت است (۱۴) اما نتیجه پژوهش حبیبی ملکی و دیگران (۲۰۲۰)، به اثر کاهش‌ی تمرینات با شدت بالا بر بیان ژن VEGF در بافت چربی احشایی و زیرپوستی اشاره دارد (۱۵). علاوه بر فعالیت بدنی، تغذیه نیز نقش اساسی در پیشگیری از بیماری‌ها و ارتقای سلامتی دارد (۱۶) و میزان کالری دریافتی، زمان مصرف غذا (مانند زمان روزه داری) و برخی مواد غذایی، در پاتوژنز بیماری‌های مزمن مؤثر است (۱۷ و ۱۸). چنانچه مطالعات نشان می‌دهند همانند ورزش، محدودیت کالری نیز مجموعه‌ای از سازگاری‌های چند جانبه را ایجاد می‌کند، که باعث افزایش اکسیداسیون چربی در سلول‌های عضلانی شده و توده چربی و وزن بدن را کاهش می‌دهد (۱۹). هرچند، درباره سیگنال‌های متابولیکی ناشی از اثر محدودیت کالری، شناخت زیادی وجود ندارد، اما افزایش اکسیداسیون و کاهش سنتز اسیدهای چرب به عنوان دلایل اصلی کاهش توده چربی و کاهش ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی، معرفی شده است (۲۰ و ۲۱). به طور کلی محدودیت کالری، کاهش انرژی دریافتی روزانه ۲۰ تا ۴۰ درصد از نیازهای پایه می‌باشد (۲۲)، و با کاهش سطح VEGF در بافت چربی سفید، به ویژه در شرایط چاقی، به کاهش بافت چربی و بهبود عملکرد متابولیک کمک می‌کند (۲۳). مطالعات نشان داده، محدودیت کالری ۲۵-۲۰ درصد به مدت ۲۴ ماه منجر به کاهش وزن (حدود ۸ کیلوگرم)، کاهش چربی احشایی (۲۷ درصد) و بهبود فشار خون و پروفایل لیپیدی شده و با کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی و دیابت نوع

¹ High-Intensity Interval Training



II همراه بوده است (۲۴). از طرفی محدودیت کالری از طریق ایجاد تغییرات متابولیکی و مولکولی از جمله تنظیم بیومارکرهای آنژیوژنیک، کاهش عوامل التهابی، تغییرات ساختاری در بافت چربی، می‌تواند بر سلامت و عملکرد بدن به ویژه عملکرد قلبی-عروقی، تاثیر مثبت و حفاظتی بگذارد. تأثیر محدودیت کالری بر VEGF در بافت چربی پیچیده است و به عوامل مختلفی از جمله، شدت و مدت محدودیت کالری، و ویژگی‌های فردی بستگی دارد، و برخی مطالعات افزایش VEGF را تحت تأثیر محدودیت کالری گزارش کرده‌اند (۲۵)، در حالی که برخی دیگر کاهش آن را نشان داده‌اند (۲۶). لذا در پژوهش حاضر روزه‌داری و محدودیت کالری دریافتی به عنوان یک مداخله در افراد چاق که احتمال ابتلا به بیماری قلبی در آن‌ها بیشتر از افراد با وزن نرمال است به عنوان یک مسئله مورد بررسی قرار گرفته است. اخیراً تحریک الکتریکی عضلات^۱ (EMS) نیز به عنوان یک روش غیرتهاجمی و مؤثر برای بهبود ترکیب بدنی و کاهش ریسک ابتلا به بیماری‌های متابولیک، و تنظیم و بهینه‌سازی تولید و آزادسازی VEGF مورد استفاده قرار می‌گیرد. در همین راستا ملکی‌پویا و دیگران (۲۰۲۴) نشان دادند ES به همراه بازتوانی ورزشی باعث افزایش سطوح سرمی فاکتور رشد فیبروبلاستی^۲ (FGF-2) و کاهش اندوستاتین در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس قلبی می‌شود (۲۷). همچنین فرمانی و دیگران (۲۰۲۰)، نشان داده‌اند، تحریک الکتریکی، بازده تمایز سلول‌های بنیادی به کاردیومیوسیت‌ها (سلول‌های قلبی) را افزایش می‌دهد، که در ترمیم آسیب‌های قلبی ناشی از سکته مؤثر است. همچنین، تغییرات یونی ناشی از تحریک (مانند تنظیم کلسیم داخل سلولی) و فعالسازی مسیرهای سیگنالینگ مانند^۳ (EGFR)، بقا و عملکرد سلول‌های قلبی را بهبود می‌بخشد (۲۸). با توجه به مطالعات انجام شده انتظار می‌رود ES در کنار فعالیت بدنی بتواند به عنوان روش توانبخشی مؤثر در بیماران قلبی و چاق مورد استفاده قرار گیرد. اما مطالعات کمی اثر همزمان ES و HIIT بر بیومارکرهای آنژیوژنیز مانند VEGF و اندوستاتین به ویژه اندوستاتین را مورد بررسی قرار داده‌اند و با توجه به اهمیت موضوع و نیاز به روش‌های غیرتهاجمی در جهت کاهش چاقی و بهبود سلامت قلبی-عروقی، این مطالعه می‌تواند نقش مهمی در توسعه راه کارهای درمانی جدید و بهبود کیفیت زندگی افراد چاق ایفا کند. این مطالعه طبق مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک با کد اخلاق IR.IAU.ARAK.REC.1403.293 انجام شد.

روش تحقیق

نمونه‌ها و محیط پژوهش: در این پژوهش از ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار هشت هفته‌ای با میانگین وزنی 200 ± 19 گرم که از دانشگاه بقیه‌اله ایران خریداری شده بود استفاده گردید. این حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و در شرایط کنترل شده با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی کنترل شده با آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی نگهداری شدند. پس از انتقال حیوانات به محیط پژوهش به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط آزمایشگاه بدون مداخله‌ای در شرایط جدید نگهداری شدند. در ادامه پرتکل القا چاقی شروع شد و سپس موش‌های صحرایی چاق شده به‌طور تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی، ۱- محدودیت کالری چاق^۴ (CR)، ۲- محدودیت کالری چاق-تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT.CR)، ۳- محدودیت کالری چاق-تحریک الکتریکی (ES.CR)، ۴- محدودیت کالری چاق-تمرین تناوبی با شدت بالا-تحریک

¹ Electrical Muscle Stimulation

² Fibroblast Growth Factor -2

³ Epidermal Growth Factor Receptor

⁴ caloric restriction

الکتریکی (ES.HIIT.CR) و ۵-چاق (OB) بدون محدودیت کالری -کنترل^۱ (CO) تقسیم شدند. درجدول شماره یک، اطلاعات عمومی آزمودنی‌ها در گروه‌های مورد مطالعه در تحقیق ارائه شده است.

جدول ۱. اطلاعات عمومی آزمودنی‌ها در گروه‌های تحقیق

ردیف	گروه‌ها	تعداد	سن (هفته)
۱	کنترل- چاق بدون محدودیت کالری	۷	۸
۲	محدودیت کالری چاق	۷	۸
۳	محدودیت کالری چاق -تحریک الکتریکی	۷	۸
۴	تمرین تناوبی با شدت بالا- محدودیت کالری چاق	۷	۸
۵	تحریک الکتریکی - تمرین تناوبی با شدت بالا- محدودیت کالری چاق	۷	۸

برنامه القا چاقی: برای افزایش وزن موش‌های صحرایی، به مدت ۱۲ هفته از رژیم غذایی استاندارد پرچرب استفاده شد که شامل ترکیبی از بادام زمینی، شکلات شیری و بیسکویت‌های شیرین به نسبت وزنی سه به یک به یک بود. این ترکیب به منظور تأمین کالری بالا و افزایش سریع وزن حیوانات طراحی شده است. این رژیم حاوی ۲۰ گرم (۲۰ درصد) پروتئین، ۳۵ گرم (۶۰ درصد) چربی، ۲۰ گرم (۲۰ درصد) از کربوهیدرات، در هر ۱۰۰ گرم از وزن مواد در رژیم غذایی بوده است (۲۹). این رژیم غذایی به محض دریافت در کیسه‌های زیپ‌لاک تقسیم‌بندی و در بسته‌بندی‌های مهر و موم شده و مات که توسط تولیدکننده (خلاقان طب پویا) ارائه شده بود، ذخیره شد (۳۰). سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد. برای جلوگیری از چرخه‌های متعدد انجماد و ذوب، بخش‌های کوچکی از رژیم غذایی به اندازه نیاز از فریزر خارج شده و به مدت یک ساعت در دمای اتاق ذوب شدند تا به دمای اتاق برسند. این روش‌ها به منظور حفظ کیفیت رژیم غذایی و جلوگیری از اکسیداسیون و کاهش آب آن انجام شده‌اند.

برنامه غذایی با محدودیت کالری: پس از القای چاقی، کلیه گروه‌های پژوهشی (به‌جز گروه کنترل) تحت برنامه محدودیت غذایی ۱۶/۸ (۱۶ ساعت تغذیه آزاد و هشت ساعت محدودیت کالری) با رژیم استاندارد حاوی ۲۳ گرم پروتئین، ۴۹ گرم کربوهیدرات، چهار گرم چربی و پنج گرم فیبر در هر ۱۰۰ گرم قرار گرفتند. ترکیب این رژیم مطابق با دستورالعمل‌های AIN-93 (استاندارد انجمن تغذیه آمریکا برای جوندگان) و استانداردهای موسسه رازی طراحی شده است که به‌طور گسترده در مطالعات متابولیک و چاقی به‌کار می‌رود. این نسبت درشت مغذی‌ها، تعادل لازم برای القای چاقی و همزمانی با محدودیت کالری را فراهم می‌کند (۳۱). همچنین آب

¹ Control



مورد نیاز هر حیوان به صورت آزاد و در بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری، ویژه حیوانات آزمایشگاهی در ساعات غیر محدودیت کالری با رعایت دیگر پروتکل‌ها در اختیار حیوانات قرار گرفت. الگوی زمان‌بندی تغذیه نیز در این مطالعه با الهام از الگوی محدودیت کالری طراحی شده است که در آن حیوانات به مدت هشت ساعت محدودیت کالری بدون دسترسی به آب و غذا و ۱۶ ساعت دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. این مدل با استناد به مطالعات متعدد انتخاب شد که نشان می‌دهند محدودیت زمانی تغذیه^۱ (TRF) حتی بدون کاهش کالری کلی، می‌تواند موجب بهبود شاخص‌های متابولیک شود (۳۲). محدودیت کالری هم برای یک ماه در برنامه غذای حیوانات در نظر گرفته شد (۳۳).

آشنایی با تردمیل: مرحله آشناسازی موش‌های صحرایی با تردمیل در هفته دوم، به مدت یک هفته، هفته‌ای پنج روز، هر روز به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر/دقیقه انجام شد (۳۴). بررسی‌ها نشان داده است که این میزان تمرین در حدی نیست که منجر به تغییرات بارزی در ظرفیت هوازی نمونه‌های تحقیقی شود. برای دودیدن موش‌های صحرایی از طریق صدا و تحریک شرطی‌سازی استفاده شد تا از نزدیک شدن، استراحت و برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند.

برنامه تمرینی: پس از سازگاری، القا چاقی و آشناسازی با تردمیل، ابتدا به مدت پنج دقیقه، با سرعت ۱۰ متر/دقیقه و شدت ۲۰ تا ۳۰ درصد (VO_{2max}) و با شیب صفر درجه عمل گرم کردن انجام شد. تمرین تناوبی با شدت بالا روی نوارگردان برای چهار هفته، هر هفته چهار جلسه، هر جلسه به مدت ۲۰ تا ۴۰ دقیقه، با سرعت بالا ۲۵ تا ۳۰ متر/دقیقه و شدت بین ۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و سرعت پایین ۲۱ تا ۲۳ متر/دقیقه و شدت بین ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به صورت تناوبی انجام شد (جدول شماره دو). سرد کردن نیز همانند گرم کردن بعد از پایان تمرین با سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر/دقیقه و شدت بین ۳۰ تا ۵۰ درصد حد اکثر اکسیژن مصرفی انجام شد (۳۵).

جدول ۲. برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا

هفته	سرعت (متر/دقیقه)	شدت VO_{2Max} (درصد)	مدت (دقیقه)	روز	شیب
هفته اول (آشناسازی)	(۱۰ متر/دقیقه)	(۲۰٪-۳۰٪)	۱۰ دقیقه	۵ روز	۰
هفته دوم	(۲۵ تا ۳۰ متر/دقیقه) و (۲۱ تا ۲۳ متر/دقیقه)	(۷۰٪-۹۵٪) و (۵۰٪-۶۰٪)	(۴ ست ۵ دقیقه) + (۳ ست ۴ دقیقه)	۴ روز	۰
هفته سوم	(۲۵ تا ۳۰ متر/دقیقه) و (۲۱ تا ۲۳ متر/دقیقه)	(۷۰٪-۹۵٪) و (۵۰٪-۶۰٪)	(۴ ست ۵ دقیقه) + (۳ ست ۴ دقیقه)	۴ روز	۰

¹ Time-Restricted Feeding

•	۴ روز	(۴ست×۵دقیقه) + (۳ست×۴دقیقه)	(۷۰٪-۹۵٪) و (۵۰٪-۶۰٪)	(۲۵ تا ۳۰ متر/دقیقه) و (۲۱ تا ۲۳ متر/دقیقه)	هفته چهارم
•	۴ روز	(۴ست×۵دقیقه) + (۳ست×۴دقیقه)	(۷۰٪-۹۵٪) و (۵۰٪-۶۰٪)	(۲۵ تا ۳۰ متر/دقیقه) و (۲۱ تا ۲۳ متر/دقیقه)	هفته پنجم
•	۴ روز	۵ دقیقه	(۳۰٪-۵۰٪)	۱۰ تا ۱۲+۶ متر/دقیقه	گرم کردن و سرد کردن (هفته دوم تا پنجم)

برنامه تحریک الکتریکی: در این پژوهش، به منظور اعمال تحریک الکتریکی، از دستگاه استیمولیتور مدل^۱ R12 ساخت شرکت پرتو دانش استفاده شد. شدت جریان الکتریکی ۰/۵ میلی آمپر، به مدت ۲۰ دقیقه و سه روز در هفته بر روی موش‌های صحرایی چاق با محدودیت کالری اعمال گردید. جریان الکتریکی از دستگاه استیمولیتور تولید و به فوت شوک بعد از تمرین ورزشی وارد شد. موش‌های صحرایی که در داخل فوت شوک قرار گرفته بودند با روشن کردن دستگاه از ناحیه پا تحت تاثیر تحریک با پرتکل فوق قرار می‌گرفتند. تمامی پارامترهای تحریک الکتریکی بر اساس دفترچه راهنمای دستگاه و مطالعات پیشین تنظیم شد تا ایمنی و اثربخشی مداخله تضمین گردد (۳۶ و ۳۷).



شکل ۱- تحریک الکتریکی موش‌های صحرایی

استخراج بافت: موش‌ها دو روز پس از پایان پروتکل تمرین و تحریک با ترکیبی از کتامین (۷۵ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) به روش درون صفاقی بی‌هوش و قربانی شدند. در کلیه مراحل مختلف پژوهش ضمن رعایت مسائل اخلاقی سعی شد از هر گونه آزار جسمی و روش‌های غیر ضروری اجتناب شود. نمونه بافت تحقیقی از قلب موش‌های صحرایی برداشته و با استفاده

¹ Electromodule



از محلول بافر فسفات سالین^۱ (PBS) شستشو شد. سپس بلافاصله در ازلت مایع منجمد گردید و تا زمان استخراج RNA به فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد انتقال داده شد.

استخراج RNA: برای شروع ارزیابی مولکولی ابتدا بافت‌ها از فریزر خارج و کوبیده شد. به پودر ناشی از بافت هموژن ۷۰۰ میکرولیتر بافر محلول^۲ (LR) و ۳/۵ میکرولیتر محلول بتامرکاپتواتانول^۳ (β -ME مرک آلمان) اضافه و نمونه‌ها برای یک دقیقه^۴ ورتکس شدند. در ادامه به نمونه‌ها ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم^۵ (TCM مرک آلمان) اضافه گردید و ۳۰ ثانیه ورتکس مجدد انجام شد. سپس میکروتیوب‌های حاوی ترکیبات فوق برای سه دقیقه در دمای اتاق^۶ انکوبه و در سانتریفوژ (سیگما آمریکا) برای ۱۰ دقیقه با ۱۱ هزار دور/دقیقه قرار داده شد. در ادامه ۴۰۰ میکرولیتر از فاز رویی محلول به یک میکروتیوب جدید انتقال داده و با ۴۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق^۷ (EA مرک آلمان) میکس گردید و مجدد سانتریفوژ انجام شد. پس از خروج محلول داخلی کلکتور، عمل^۸ واشینگ برای دو بار تکرار گردید و سانتریفوژ شد. ستون استخراج شده به یک میکروتیوب جدید انتقال و با محلول ۵۰ میکرولیتر ایلوشن بافر^۹ (BS) سیگما الدریج آلمان) ترکیب گردید. محلول حاصل سانتریفوژ شده و سپس RNA استخراج و در یخچال برای مراحل دیگر نگهداری شد.

استخراج cDNA: مطابق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, K1622, USA) به‌ازای استخراج هر RNA یک میکروتیوب جدید در نظر گرفته شد. بر حسب میکروتیوب‌های حاوی RNA معادل یک نانوگرم ترکیب بافر ۱۰ میکرولیتر و دو میکرولیتر آنزیم رتروترانسکریپتاز (جهت تبدیل RNA به cDNA) اضافه گردید تا حجم نهایی با افزودن آب دیس^{۱۰} (DW) به ۲۰ میکرولیتر افزایش یابد. سپس میکروتیوب‌های حاوی ترکیبات فوق به مدت زمان ۱۰ دقیقه در ۲۵ درجه سانتی گراد، ۶۰ دقیقه در ۴۷ درجه سانتی گراد و در نهایت پنج دقیقه در ۸۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. در انتها نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ^{۱۱} (سونی ۲۰۴۸) از نظر کمی و کیفی بررسی و همچنین کیفیت DNA نمونه‌ها نیز بر روی ژل الکتروفورز لود و مورد بررسی قرار گرفت.

Real Time-PCR: بیان کمی نتایج ژن‌های بیومارکرهای VEGF و اندوستاتین با روش^{۱۲} ($\Delta\Delta Ct$) انجام شد. واکنش زنجیره پلی‌مرز PCR با استفاده از دستگاه لایو تکنولوژی آمریکا و مواد اولیه شرکت^{۱۳} کیاژن در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اراک انجام گردید. در همین راستا مقدار ۶/۵ میکرولیتر آب دیس، ۱۰ میکرولیتر^{۱۴} مسترمیکس، ۰/۵ میکرولیتر^{۱۴} روکس، دو میکرولیتر پرایمر پیش‌رو و معکوس

¹ Phosphate Buffered Saline

² Buffer Solution Laboratory Reagent

³ Beta Mercaptoethanol

⁴ Vortex

⁵ Chloroform or Trichloromethane

⁶ Incubation

⁷ Ethanol Absolute

⁸ Washing

⁹ Buffer Solution

¹⁰ DEPC Water

¹¹ Nanodrop

¹² Kiagene

¹³ Mastermix

¹⁴ Rox

با یک میکرولیتر cDNA ترکیب گردید تا یک محلول ۲۰ میکرولیتری تشکیل گردد. این ترکیب در دستگاه ریل تایم با دما و سیکل‌های متفاوت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای نرمال‌سازی داده‌ها، ژن‌های خانگی (HKG: Housekeeping Genes)، به‌عنوان کنترل داخلی انتخاب شدند، زیرا بیان پایدار آن‌ها در شرایط مختلف آزمایشگاهی امکان مقایسه دقیق بیان ژن هدف را فراهم می‌کند. توالی پرایمرها نیز از پایگاه داده‌های مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی^۱ (NCBI) تهیه و سپس طراحی پرایمرهای هر دو ژن با استفاده از برنامه پرایمر مورد بررسی قرار گرفت که، در جدول سه آمده است.

جدول ۳. پرایمرهای به‌کار رفته در PCR

VEGF	پیش‌رو	CCACTAATTCTGTCCCA
	معکوس	TCTCTTTTCTGCTCC
END	پیش‌رو	CCCTCTTGCCTGGA
	معکوس	AACAGTTCCTACGCACC
HKG ^۲	باز ۱۶	CCCAAGCCGCATTTT
	باز ۱۸	TCCGCTTTTCTTGTCAT

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری: بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها با توجه به اندازه نمونه توسط آزمون شاپیرو-ویلک^۳ تحت بررسی قرار گرفت. برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها، از تحلیل واریانس (آنووا) یک طرفه و آزمون تعقیبی

^۱ National Center for Biotechnology Information

^۲ Housekeeping Gen

^۳ Shapiro-Wilk

توکی^۱ استفاده شد. تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار آماری GraphPad (نسخه هشت) در سطح معنی داری ($p < 0/05$) و سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

یافته ها

آمار توصیفی و تحلیلی سطوح بیان ژن VEGF و اندوستاتین با توجه به مداخله تمرین تناوبی با شدت بالا و تحریک الکتریکی، در جداول شماره چهار و پنج ارائه شده است.

جدول ۴. میانگین و انحراف استاندارد بیان ژن های VEGF و اندوستاتین در گروه های مختلف

اندوستاتین	VEGF	گروه
$0/07 \pm 0/00$	$0/06 \pm 0/00$	چاق با محدودیت کالری + تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT.CR)
$0/30 \pm 0/00$	$0/13 \pm 0/01$	چاق با محدودیت کالری + تمرین تناوبی با شدت بالا + تحریک الکتریکی (HIIT.ES.CR)
$0/33 \pm 0/00$	$0/27 \pm 0/02$	چاق با محدودیت کالری + تحریک الکتریکی (ES.CR)
$0/13 \pm 0/00$	$0/39 \pm 0/01$	چاق با محدودیت کالری (CR)
$1/00 \pm 0/00$	$1/00 \pm 0/00$	چاق (CO)

جدول ۵. مقایسه متغیر VEGF و اندوستاتین در گروه های مختلف شرکت کننده در تحقیق

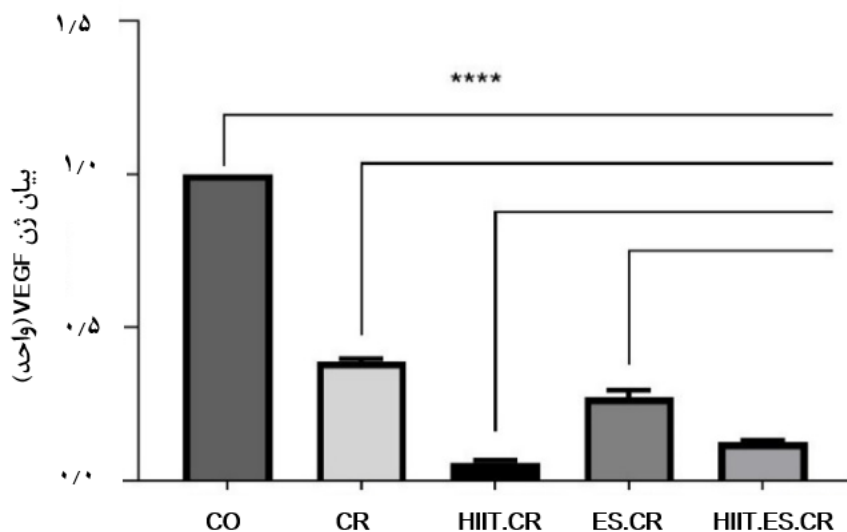
مقدار p	اختلاف میانگین	مقدار p	اختلاف میانگین	مقایسه گروهی
اندوستاتین	اندوستاتین	(VEGF)	(VEGF)	
$<0/001^{***}$	$-0/23$	$<0/001^{***}$	$-0/07$	HIIT.ES.CR در مقابل HIIT.CR
$<0/001^{***}$	$-0/25$	$<0/001^{***}$	$-0/21$	ES.CR در مقابل HIIT.CR
$<0/001^{***}$	$-0/06$	$<0/001^{***}$	$-0/33$	CR در مقابل HIIT.CR
$<0/001^{***}$	$-0/93$	$<0/001^{***}$	$-0/94$	CO در مقابل HIIT.CR
$<0/001^{***}$	$-0/03$	$<0/001^{***}$	$-0/15$	ES.CR در مقابل HIIT.ES.CR

¹ Tukey post hoc test

$<0/0001^{***}$	0/17	$<0/0001^{***}$	-0/26	CR در مقابل HIIT.ES.CR
$<0/0001^{***}$	-0/70	$<0/0001^{***}$	-0/87	CO در مقابل HIIT.ES.CR
$<0/0001^{***}$	0/20	$<0/0001^{***}$	-0/12	CR در مقابل ES.CR
$<0/0001^{***}$	-0/67	$<0/0001^{***}$	-0/73	CO در مقابل ES.CR
$<0/0001^{***}$	-0/87	$<0/0001^{***}$	-0/61	CO در مقابل CR

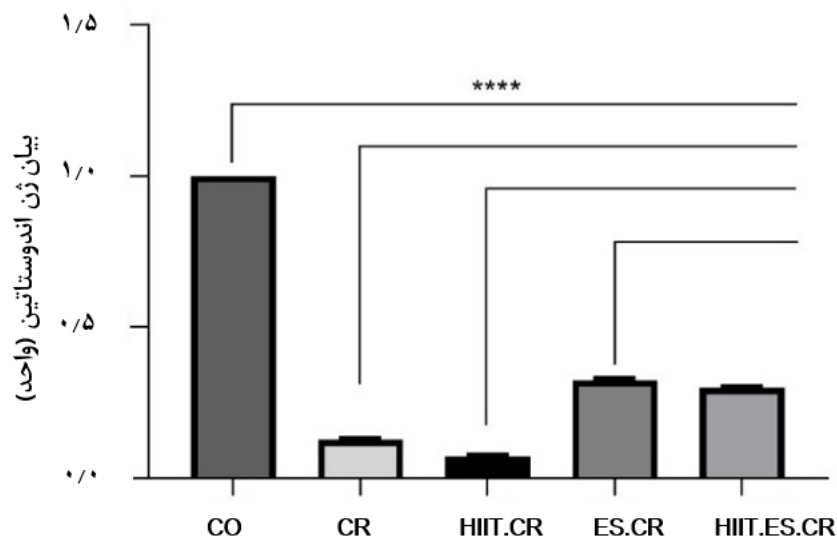
*** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها: CR: چاق با محدودیت کالری؛ HIIT-CR: فعالیت تناوبی با شدت بالا-محدودیت کالری؛ HIIT-ES-CR: فعالیت تناوبی با شدت بالا - تحریک الکتریکی-محدودیت کالری؛ ES-CR: تحریک الکتریکی- محدودیت کالری؛ CO: کنترل بدون محدودیت کالری؛ سطح معنی داری $p<0/0001$

بر اساس نتایج تحلیل واریانس دوراهه تفاوت معنی داری بین سطوح ژن بیومارکر VEGF در گروه های شرکت کننده در تحقیق مشاهده شد. گروه کنترل (CO) بالاترین میزان بیان ژن VEGF را دارد که این تفاوت نسبت به سایر گروه ها از نظر آماری معنادار است. گروه چاق با محدودیت کالری (CR) نیز بیان ژن VEGF آن، به طور معناداری کمتر از گروه کنترل است. گروه های ES.CR و HIIT.ES.CR، بیان ژن VEGF آن ها نیز نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری نشان می دهد. کمترین میزان بیان ژن VEGF مربوط به گروه HIIT.CR است که به طور معناداری کمتر از سایر گروه ها می باشد. سطح معنی داری ($p<0/0001$ ، شکل-دو).



شکل ۲- مقایسه بین گروه‌های شرکت کننده در تحقیق: **** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه: CR چاق - محدودیت کالری و سایر گروه‌ها: HIIT-CR: فعالیت تناوبی با شدت بالا - محدودیت کالری: HIIT-ES-CR: فعالیت تناوبی با شدت بالا - تحریر الکتریکی - محدودیت کالری: ES-CR: تحریر الکتریکی - محدودیت کالری: CO: کنترل بدون محدودیت کالری؛ سطح معنی داری $p < 0.0001$.

بر اساس نتایج تحلیل واریانس دو راهه تفاوت معنی داری بین سطوح ژن بیومارکر اندوستاتین در گروه‌های شرکت کننده در تحقیق مشاهده شد. بیان ژن اندوستاتین در همه گروه‌های مداخله CR، HIIT.CR، ES.CR، HIIT.ES.CR نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافته است. همچنین، بیان ژن اندوستاتین در گروه‌های HIIT.CR و CR نسبت به گروه‌های ES.CR و HIIT.ES.CR کمتر بوده و این اختلاف نیز معنادار است. مقایسه بین گروه‌های مداخله نشان داد، گروه‌های دریافت کننده تحریر الکتریکی (ES.CR) و (HIIT.ES.CR) نسبت به سایر گروه‌های تحت محدودیت کالری و بدون تحریر الکتریکی، بیان ژن اندوستاتین به طور معنادار بالاتر است، و گروه HIIT.CR، به طور معناداری کمترین میزان بیان ژن اندوستاتین را نسبت به سایر گروه‌ها داشت. سطح معنی داری ($p < 0.0001$)، شکل-سه).



شکل ۳- مقایسه بین گروه‌های شرکت کننده در تحقیق؛ **** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه CR: چاق - محدودیت کالری و سایر گروه‌ها؛ HIIT.CR: فعالیت تناوبی با شدت بالا - محدودیت کالری؛ CR-ES-HIIT: فعالیت تناوبی با شدت بالا - تحریر الکتریکی محدودیت کالری؛ ES- CR: تحریر الکتریکی با محدودیت کالری؛ CO: کنترل بدون محدودیت کالری؛ سطح معنی داری ($p < 0.0001$).

جدول ۶. تغییرات وزن موش های صحرایی مورد مطالعه

گروه ها و نماد	وزن اولیه (گرم)	وزن بعد چاقی (گرم)	وزن نهایی (گرم)	قد (سانتی متر)	شاخص لی (گرم/سانتی متر)
چاق بدون محدودیت کالری (CO)	210±5	256±5	365±5	23	309
محدودیت کالری چاق (CR)	215±5	310±5	311±4	21/5	314
تحریر الکتریکی - محدودیت کالری چاق (ES.CR)	217±5	339±5	341±4	22	309
تمرین تناوبی با شدت بالا- محدودیت کالری چاق (HIIT.CR)	218±5	340±5	338±4	22/5	312
تمرین تناوبی با شدت بالا -تحریر الکتریکی محدودیت کالری چاق (HIIT.ES.CR)	220±5	320±5	323±4	22	310



بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین HIIT به همراه تحریک الکتریکی بر بیان ژن های VEGF و اندوستاتین در بافت قلب موش های صحرایی چاق، تحت محدودیت کالری بود. از یافته های مهم این پژوهش می توان به کاهش معنی دار سطوح ژن های VEGF و اندوستاتین در گروه های HIIT به همراه تحریک الکتریکی در بافت قلب موش های صحرایی چاق، تحت رژیم محدودیت کالری نسبت به گروه چاق اشاره کرد. چاقی با افزایش نیاز متابولیک بافت چربی، موجب تحریک فرآیندهای آنژیوژنیز و آرتیوژنیز می شود؛ فرآیندهایی که برای تشکیل و توسعه عروق خونی جدید ضروری هستند (۹). می توان گفت این ارتباط نزدیک بین آدیپوژن و آنژیوژنیز، می تواند به عنوان هدف درمانی برای کاهش وزن مورد توجه قرار گیرد (۳۸). در پژوهش حاضر افزایش وزن در گروه های تمرین و تحریک الکتریکی می تواند ناشی از سازگاری های فیزیولوژیکی مانند افزایش توده عضلانی، احتباس مایعات، و ذخیره سازی گلیکوژن و افزایش بیان فاکتورهای آنژیوژنیک و بهبود تغذیه سلولی باشد. یکی از بیومارکرها کلیدی در تنظیم آنژیوژنیز بافت های مختلف بدن از جمله بافت چربی و بافت قلب، VEGF است، که با تحریک سلول های اندوتلیال، و تشکیل رگ های خونی جدید، در شرایط فیزیولوژیک و درمانی نقش محافظتی دارد، اما در صورت مهار نادرست یا فعالیت بیش از حد در بیماران با زمینه های قلبی-عروقی می تواند عوارض خطرناکی ایجاد کند. در همین راستا، مطالعات Jensen و دیگران (۲۰۱۴) نشان داده اند که VEGF-B، نقش دوگانه ای در قلب دارد؛ به طوری که در شرایط فیزیولوژیک و کوتاه مدت باعث رشد عروق و بهبود عملکرد قلب می شود، اما افزایش مزمن و بیش از حد آن می تواند به تغییرات متابولیک و ساختاری منجر شود که زمینه ساز 'هایپرتروفی پاتولوژیک و نارسایی قلبی است. همچنین، Sultan و دیگران (۲۰۲۴) نشان دادند، بیان پاراکرین VEGF-B در قلب، موجب هایپرتروفی فیزیولوژیک و رشد عروق سالم و بیان آتوکرین آن منجر به هایپرتروفی پاتولوژیک و آسیب ساختاری قلب می گردد (۳۹). علاوه بر این Tirronen و دیگران (۲۰۲۲) در پژوهش خود نشان داده اند، بیان بیش از حد برخی ایزوفرم های VEGF در قلب، متابولیسم چربی را به سمت تجمع لیپیدهای سمی (مانند سرامیدها) سوق می دهد، و موجب آسیب میتوکندریایی و کاردیومیوپاتی و در نهایت زمینه ساز نارسایی قلبی می گردد (۴۰). اما بر خلاف مطالعات ذکر شده، صالحی و دیگران (۲۰۱۱) در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که، در شرایط بیماری مانند سرطان، دیابت و بیماری های قلبی-عروقی، تنظیم نامناسب و مهار بیش از حد VEGF می تواند منجر به اثرات منفی قلبی-عروقی شود، که اهمیت تنظیم دقیق این مسیر برای حفظ تعادل بین رشد عروق طبیعی و پاتولوژیک را برجسته می کند (۴۱). علاوه بر نقش کلیدی VEGF در آنژیوژنیز، اندوستاتین نیز به عنوان یکی از مهم ترین مهارکننده های آنژیوژنیز، شناخته می شود که با مهار رشد عروق جدید، تعادل فرآیند آنژیوژنیز را در بافت قلب حفظ می کند. در همین راستا ساریخانی و دیگران (۲۰۲۲) نشان دادند کاهش سطح اندوستاتین، به ویژه در بیماران قلبی، می تواند زمینه را برای افزایش ظرفیت آنژیوژنیز و بهبود خون رسانی فراهم کند (۴۲)، از سوی دیگر، کاهش همزمان VEGF و اندوستاتین را می توان نشانه بازگشت تعادل میان بیومارکرها آنژیوژنیک و آنتی آنژیوژنیک دانست. در شرایطی که هر دو بیومارکر کاهش می یابند، به ویژه پس از یک دوره

مداخله درمانی یا ورزشی، این تغییرات می‌تواند بازتابی از کاهش نیاز به آنژیوژنیز پاتولوژیک و تثبیت وضعیت عروقی باشد (۷). بنابراین، با توجه به این که در پژوهش حاضر، آزمودنی‌هایی که صرفاً تحت تاثیر HIIT بودند، بیشترین کاهش VEGF و اندوستاتین را میان سایر آزمودنی‌ها نسبت به گروه کنترل داشتند، لزوم بررسی اثر فعالیت ورزشی بر آنژیوژنیز بافت قلب، به ویژه در شرایط چاقی و بیماری‌های قلبی-عروقی، را نشان می‌دهد (۸). تمرین HIIT باعث ایجاد استرس مکانیکی و هیپوکسی در عضله شده و مسیرهای سیگنالی مانند PI3K/Akt و MAPK/ERK را فعال می‌کند که بیان ژن‌های HIF-1 α و eNOS را افزایش می‌دهد و در تنظیم آنژیوژنیز قلبی نقش دارد (۴۳). با این حال، تمرینات HIIT نیز می‌تواند با تنظیم منفی مسیرهای سیگنالی، سطح VEGF را کاهش دهد و منجر به کاهش آنژیوژنیز غیرطبیعی به ویژه در بافت چربی و بهبود وضعیت عروقی و چاقی شود (۴۴). همسو با نتایج تحقیق حاضر حبیبی ملکی و دیگران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ی خود نشان دادند، تمرینات HIIT با بهبود اکسیژن‌رسانی، کاهش التهاب و تنظیم فاکتورهای آنژیوژنیز مانند VEGF، PEDF و PAI-1، باعث کاهش رشد غیرطبیعی عروق و بهبود متابولیسم چربی در رت‌های دارای رژیم پرچرب می‌شود (۱۵). همچنین پژوهش نورشاهی و دیگران (۲۰۱۹) نیز نشان می‌دهد یک جلسه HIIT سطح VEGF را در چربی احشایی موش‌های چاق کاهش می‌دهد، که احتمالاً به دلیل کاهش خون‌رسانی موقت می‌باشد (۴۵). اما بر خلاف مطالعات اشاره شده خردمند و دیگران نشان دادند، پس از هشت هفته تمرین HIIT، بیان ژن VEGF در بافت بطن چپ قلب موش‌ها به طور معناداری نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین استقامتی افزایش یافته است (۴۶). این نتایج ممکن است به دلیل تفاوت در پروتکل‌های تمرینی، و شرایط آزمایشگاهی باشد. علاوه بر بیومارکر VEGF، اندوستاتین نیز به عنوان یکی از بیومارکرهای مهم در فرایند آنژیوژنیز تحت تاثیر فعالیت ورزشی قرار می‌گیرد، چنان‌چه همسو با نتیجه‌ی پژوهش حاضر در مطالعه‌ای که توسط Shiri و دیگران (۲۰۲۰) انجام گرفت، نشان داد، شش هفته فعالیت بدنی با شدت و مدت زمان متفاوت، بر زنان جوان سالم، بدلیل کاهش نیاز بدن به آنژیوژنیز فعال و کاهش دگرگونی ماتریکس خارج سلولی، موجب کاهش همزمان فاکتورهای محرک (VEGF) و مهارکننده (اندوستاتین) آنژیوژنیز می‌شود. این تعادل به تثبیت وضعیت عروقی و کاهش رشد غیرطبیعی عروق در نهایت موجب بهبود سلامت عروق می‌شود (۴۷). در همین راستا Jian-Wei Gu و دیگران (۲۰۰۴) نشان دادند که تمرین HIIT در بیماران دیابتی با افزایش NO، کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو، موجب کاهش اندوستاتین در بافت قلب و عضلات اسکلتی شده و در نتیجه عملکرد اندوتلیال و بازسازی عروقی را بهبود می‌بخشد (۴۸). همچنین شفیعی و دیگران (۲۰۲۳) تأثیر تمرینات بازتوانی MICT و HIIT را بر عوامل آنژیوژنیز در بیمارانی با جراحی بای پس عروق کرونر مورد بررسی قرار دادند، و نتایج این مطالعه نشان داد هر دو نوع تمرین بازتوانی، باعث بهبود عوامل آنژیوژنیز در بیماران می‌شوند، در حالی که تمرین HIIT به طور معناداری باعث کاهش سطح اندوستاتین در مقایسه با MICT نیز شد و علت آن می‌تواند اثر HIIT بر کاهش التهاب و فشارخون و استرس اکسیداتیو باشد (۴۹). علاوه بر این، محدودیت کالری در کنار فعالیت بدنی با بهبود متابولیسم قلب و کاهش التهاب، خطر بیماری‌های قلبی را کاهش می‌دهد (۱۹ و ۵۰). همچنین محدودیت کالری با افزایش بیان ژن‌های FATP1 و FATP4، انتقال و اکسیداسیون چربی را بهبود داده و تولید انرژی را افزایش می‌دهد (۵۱). علاوه بر این پژوهش‌ها نشان داده اند، محدودیت کالری می‌تواند با مهار آنژیوژنیز به عنوان روش درمانی مؤثر جهت جلوگیری از متاستاز سلول‌های سرطانی و پیشرفت بیماری‌های متابولیک مورد توجه قرار گیرد. در همین



راستا پژوهش De Lorenzo و دیگران (2011) نشان می دهد، به طور خاص، محدودیت کالری باعث تنظیم کاهشی مسیرهای پاسخ دهنده به مواد مغذی مانند $IGF-1^1$ ، $RAS/MAPK^2$ و $Akt/PI3K/mTOR^3$ می شود، این تغییرات موجب کاهش آنژیوژنیزس، التهاب و تنظیم پاسخ ایمنی شده و در نهایت رشد و متاستاز تومور را سرکوب می کنند (۵۲ و ۵۳)، و همچنین مطالعات نشان داده اند که التهاب مزمن با افزایش بیان VEGF همراه است. از آنجایی که تمرین HIIT و محدودیت کالری التهاب و استرس اکسیداتیو را کاهش می دهند، این ترکیب احتمالاً با کاهش بیان VEGF، تعادل آنژیوژنیزس و بهبود عملکرد قلب را به همراه دارد (۵۴)، و با توجه به شواهد موجود و نتایج مطالعات پیشین، کاهش همزمان VEGF و اندوستاتین پس از مداخله درمانی یا ورزشی ممکن است نشان دهنده تعادل آنژیوژنیک و تثبیت وضعیت عروقی باشد. به عبارت دیگر، کاهش اندوستاتین باعث می شود حتی با سطوح پایین تر VEGF، فرآیند آنژیوژنیزس کافی برای حفظ عملکرد عروقی و قلبی برقرار بماند و از آنژیوژنیزس بیش از حد یا غیرطبیعی (که خود می تواند مضر باشد) جلوگیری شود (۷). با این حال مطالعات در این زمینه بسیار محدود است، و اثرات آن ممکن است بسته به شرایط فردی، شرایط آزمایشگاهی، نوع بافت و وضعیت متابولیکی، متفاوت باشد و نیاز به ترکیب با سایر مداخلات برای دستیابی به نتایج مطلوب وجود داشته باشد. علاوه بر این برخی مطالعات مخالف با نتیجه پژوهش حاضر، از جمله بررسی بیرانوند (۲۰۲۲)، نشان داده اند، HIIT و محدودیت کالری، چه به صورت جداگانه و چه به صورت ترکیبی، ممکن است تأثیر معنی داری بر بیان ژن VEGF در بافت عضله قلبی موش های نر چاق نداشته باشد (۵۵) که لزوم انجام مطالعات بیشتر و پژوهش های جامع تر را در این زمینه نشان می دهند. اخیراً ES، با تحریک الکتریکی عضلات و اعصاب، علاوه بر بهبود ترکیب بدن و کاهش چربی های اضافی، می تواند نقش مهمی در بهبود عملکرد قلب و عروق ایفا کند (۵۶)؛ این روش با افزایش جریان خون، بهبود انقباض عضلات قلبی و کاهش التهاب، به بهبود سلامت سیستم قلبی-عروقی کمک می کند (۵۷). تلفیق تحریک الکتریکی عضلات با تمرین ورزشی موجب تعدیل آنژیوژنیزس از طریق فعال سازی مسیرهای سیگنالینگ مانند AMPK، و ارتقای سلامت قلب می شود (۵۸). در همین راستا Rodriguez و دیگران (۲۰۱۹) نشان دادند ES در گروه های عضلانی مختلف به طور همزمان می تواند به بهبود پارامترهای آنترپومتریک، قدرت عضلانی، و مصرف انرژی کمک کند (۵۹). همچنین بررسی های افشارنژاد و دیگران (۲۰۲۲) نشان دادند، با ارسال پالس های الکتریکی به عضلات، اثرات مشابه تمرینات فیزیکی مانند انقباض و افزایش مصرف انرژی و کاهش چربی بر روی عضلات می توان ایجاد کرد (۶۰). و پژوهش Chmiel و دیگران (۲۰۲۴) نشان داد تحریک الکتریکی مستقیم، از روی حجمه با ارسال پالس های الکتریکی به مغز، باعث ایجاد تغییر در فعالیت های الکتریکی و مسیرهای سیگنالینگ مغز و کاهش تمایل به خوردن و بهبود کنترل وزن نیز می شود (۶۱). تحریک الکتریکی عضلات (ES) علاوه بر افزایش آنژیوژنیزس، در شرایط خاص می تواند موجب کاهش آنژیوژنیزس شود. این کاهش ممکن است ناشی از تنظیم مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با کاهش نیاز خون رسانی در برخی بافت ها باشد. چنین تنظیمی می تواند به کاهش ریسک ابتلا به بیماری های متابولیک و قلبی کمک کند (۶۲ و ۳۷). با این حال، نتایج مطالعه ملکی پویا و همکارش (۲۰۲۴) نشان داده است که ES همراه با تمرینات افزایشی (incremental) می تواند باعث افزایش VEGF بافت قلب شود که احتمالاً ناشی از اثر تحریکی تمرین است (۳۷). و در مطالعه ی دیگر، ملکی پویا و دیگران (۲۰۲۴) چنین گزارش

¹ Insulin-Like Growth Factor 1

² mitogen-activated protein kinase

³ Protein Kinase B/ Phosphoinositide 3-Kinase/ Mechanistic Target of Rapamycin

کردند که بازتوانی حاد فعالیت بدنی به همراه ES باعث کاهش سطح اندوستاتین موش‌های انفارکته شده است که این تغییر می‌تواند ناشی از بهبود جریان خون و افزایش آنژیوژنیز برای ترمیم میوکارد باشد (۲۷). اما در شرایطی که استرس اکسیداتیو و التهاب مزمن افزایش یافته باشد، تحریک الکتریکی ممکن است با افزایش گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) منجر به مهار مسیرهای آنژیوژنیز شود (۲۸). نتایج پژوهش نشان داد تحریک الکتریکی به تنهایی باعث حفظ نسبی فاکتورهای کلیدی آنژیوژن مانند VEGF و اندوستاتین در بافت قلب می‌شود و کاهش این فاکتورها نسبت به سایر گروه‌ها کمتر است. اما ترکیب تحریک الکتریکی با HIIT منجر به کاهش بیشتر این فاکتورها می‌شود و این کاهش همزمان ممکن است، نشان‌دهنده یک مکانیسم تنظیمی محافظتی برای حفظ تعادل تحریک و مهار آنژیوژنیز باشد. این یافته اهمیت بررسی اثرات ترکیبی تحریک الکتریکی در شرایط فیزیولوژیک و متابولیک مختلف را برجسته می‌کند و نقش آن را در درمان بیماری‌های قلبی و متابولیک را بهتر نشان می‌دهد. همچنین، محدودیت‌های پژوهش مانند کاهش مدت محدودیت کالری از ۱۳ ساعت به هشت ساعت برای جلوگیری از آسیب به موش‌ها، ممکن است بر نتایج تأثیرگذار باشد و نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

نتیجه‌گیری

تمرین تناوبی با شدت بالا به همراه تحریک الکتریکی در حین محدودیت کالری با کاهش بیان ژن های VEGF و اندوستاتین در نمونه‌های چاق، در کاهش وزن و درمان بیماری‌های مرتبط با آن از جمله بیماری‌های قلبی عروقی می‌تواند مؤثر باشد. همچنین تلفیقی از تحریک الکتریکی و تمرین ورزشی نیز می‌تواند اثرات مثبتی بر این روند داشته باشد اما نیازمند مطالعات پیش‌تری می‌باشد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه نویسنده اول بوده و از همه افرادی که در این تحقیق مشارکت داشتند؛ تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Organization WH. Key facts about obesity. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. 2024.
2. Organization. WH. World Obesity Day 2022–Accelerating action to stop obesity. World Health Organization Geneva, Switzerland; 2022.
3. Abiri B, Ahmadi AR, Amini S, Akbari M, Hosseinpanah F, Madinehzad SA, et al. Prevalence of overweight and obesity among Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Health, Population and Nutrition*. 2023;42(1):70.



4. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation*. 2014;129(25_suppl_2):S102-S38.
5. Koskinas KC, Van Craenenbroeck EM, Antoniadou C, Blüher M, Gorter TM, Hanssen H, et al. Obesity and cardiovascular disease: an ESC clinical consensus statement. *European Heart Journal*. 2024;45(38):4063-98.
6. Esteki Ghashghaei F, Sadeghi M, Yazdekhesti S. A review of cardiac rehabilitation benefits on physiological aspects in patients with cardiovascular disease. *Journal of research in rehabilitation sciences*. 2012;7(5).
7. Dehghan E, Ravasi A, Nuri R, Gaeini AA. The effect of 8 weeks of discontinuous aerobic exercise on serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and endostatin in male rats with coronary artery disease. *Journal of Sport Biosciences*. 2023;15(3):5-17.
8. Gaeini AA, Kordi MR, Nuri R, Ghorbani P, Karbalaefar S. The effect of 6-week high intensity interval training on the VEGF/COL-18 ratio and some echocardiographic indices in rats with myocardial infarction. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences*. 2016;20(3).
9. Corvera S, Solivan-Rivera J, Yang Loureiro Z. Angiogenesis in adipose tissue and obesity. *Angiogenesis*. 2022;25(4):439-53.
10. Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*. 2005;438(7070):967-74.
11. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50–60 years. *British journal of sports medicine*. 2008;42(2):126-9.
12. Martínez-Vizcaino V, Fernández-Rodríguez R, Reina-Gutiérrez S, Rodríguez-Gutiérrez E, Garrido-Miguel M, Núñez de Arenas-Arroyo S, et al. Physical activity is associated with lower mortality in adults with obesity: a systematic review with meta-analysis. *BMC Public Health*. 2024;24(1):1867.
13. Shah I, Arif T, Ali I. The Effects of High Intensity Exercise to Exhaustion on the Concentrations of Endostatin and VEGF in Plasma: Effects of Exercise on Endostatin and VEGF concentrations. *Pakistan BioMedical Journal*. 2022:329-35.
14. Yazdani N, Asad MR, Rahimi M. The effect of high intensity interval training and moderate-intensity continuous training on PGC1 α and VEGF in heart muscle of male wistar rats. *Sport Physiology*. 2018;10(38):111-24.
15. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. The effect of 12 weeks of high intensity interval training and high intensity continuous training on vegf, pedf and pai-1 levels of visceral and subcutaneous adipose tissues in rats fed with high fat diet. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2020;12(1):101-20.
16. Rizza W, Veronese N, Fontana L. What are the roles of calorie restriction and diet quality in promoting healthy longevity? *Ageing research reviews*. 2014;13:38-45.
17. Mattson MP. Energy intake, meal frequency, and health: a neurobiological perspective. *Annu Rev Nutr*. 2005;25(1):237-60.
18. Fontana L. From Yeast to Humans— Extending Healthy Life Span. *science*. 2010;1172539(321):328.
19. Evans S, Messina M, Knight W, Parsons A, Overton JM. Long-Evans and Sprague-Dawley rats exhibit divergent responses to refeeding after caloric restriction. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2005;288(6):R1468-R76.
20. Bruss MD, Khambatta CF, Ruby MA, Aggarwal I, Hellerstein MK. Calorie restriction increases fatty acid synthesis and whole body fat oxidation rates. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2010;298(1):E108-E16.
21. Kelly T, Yang W, Chen C-S, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity*. 2008;32(9):1431-7.
22. Edinburgh RM, Koumanov F, Gonzalez JT. Impact of pre-exercise feeding status on metabolic adaptations to endurance-type exercise training. *The Journal of Physiology*. 2022;600(6):1327-38.
23. Wang X, McCormick K, Mick G. Nutritional regulation of white adipocyte vascular endothelial growth factor (VEGF). *Hormone and metabolic research*. 2003;35(04):211-6.

24. Kebbe M, Sparks JR, Flanagan EW, Redman LM. Beyond weight loss: current perspectives on the impact of calorie restriction on healthspan and lifespan. *Expert review of endocrinology & metabolism*. 2021;16(3):95-108.
25. Dogan S, Johannsen AC, Grande JP, Cleary MP. Effects of intermittent and chronic calorie restriction on mammalian target of rapamycin (mTOR) and IGF-I signaling pathways in mammary fat pad tissues and mammary tumors. *Nutrition and cancer*. 2011;63(3):389-401.
26. Jiang Y-S, Wang F-R. Caloric restriction reduces edema and prolongs survival in a mouse glioma model. *Journal of neuro-oncology*. 2013;114:25-32.
27. Malekipooya M. The response of fibroblast-derived factor and endostatin to acute rehabilitation of physical activity along with electrical stimulation in infarcted rats. *medical journal of mashhad university of medical sciences*. 2024;67(3).
28. Farmani A, Mohammad Salehi M, Mahdavezhad F, Kouhestani M, Mohammadi S, Af U. A Review of the Impact of Electrical Stimulation on the Stem Cells Fate and Its Application in Regenerative Medicine and Cancer Treatment. *Cell and Tissue Journal*. 2020;11(2):139-53.
29. Anuradha R, Srinivas M, Satyavani M, Suresh K, Muralidhar M, Rajender Rao K. Preconceptional paternal caloric restriction of high-fat diet-induced obesity in Wistar rats dysregulates the metabolism of their offspring via AMPK/SIRT1 pathway. *Lipids in Health and Disease*. 2024;23(1):174.
30. Co KTP. Laboratory Rat Feed. <https://www.khalaghantebpooyacom/product/lab-rat-feed/>. 2025.
31. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *The Journal of nutrition*. 1993;123(11):1939-51.
32. Shariatpanahi MV, Shariatpanahi ZV. Effect of Ramadan fasting on some components of metabolic syndrome. 2008.
33. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Do Nascimento CMO. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. 2004;20(2):218-24.
34. Amirsardari B, Saremi A, Malekipouya M. The Effect of an Incremental Training Rehabilitation Period on the Serum Levels of Pentraxin-3 and Osteoprotegerin in Rats With Myocardial Infarction. *Internal Medicine Today*. 2022;28(3):366-81.
35. Sherafati Moghadam M, Salesi M, Daryanoosh F, Hemati Nafar M, Fallahi A. The effect of 4 weeks of high intensity interval training on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in soleus skeletal muscle of rats with type 2 diabetes: An experimental study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 2018;17(9):843-54.
36. Co PD. R12 Stimulator [Apparatus manual]. <https://www.partodanesh.com>. 2023.
37. Malekipooya M. Response of acute incremental aerobic activity along with electrical stimulation on some markers of angiogenesis in Isoproterenol induced rats. *EBNESINA*. 2024;26(1):28-37.
38. Ghesmati Z, Rashid M, Fayezi S, Gieseler F, Alizadeh E, Darabi M. An update on the secretory functions of brown, white, and beige adipose tissue: Towards therapeutic applications. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2024;25(2):279-308.
39. Sultan I, Ramste M, Peletier P, Hemanthakumar KA, Ramanujam D, Tirronen A, et al. Contribution of VEGF-B-induced endocardial endothelial cell lineage in physiological versus pathological cardiac hypertrophy. *Circulation Research*. 2024;134(11):1465-82.
40. Tirronen A, Huusko J, Lehtonen M, Hamalainen W, Hokkanen K, Auriola S, et al. Overexpression of VEGF-B alters cardiac lipid metabolism and predisposes to heart failure. *European Heart Journal*. 2022;43(Supplement_2):ehac544. 753.
41. Salehi E, Amjadi FS. Angiogenesis in health and disease: role of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Journal of Isfahan medical school*. 2011;29(132).
42. Sarikhani N, Gholipour M, Malekipooya M. Effect of exercise activity with different intensity and volume on the expression of PDGF-B and FGF-2 genes in subcutaneous adipose tissue of Wistar rats. *Medical Journal of Mashhad university of Medical Sciences*. 2022;65(3):1259-67.
43. Zokaei A, Mohammadi Javid N. The Effect of eight weeks of high intensity interval training on genes expression of eNOS, HIF-1 and VEGF in myocardial infarction rats. *Report of Health Care*. 2017;3(4):31-7.

44. Marashi M, Galedari M. Effect of Six Weeks of Interval Training on Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Male Rat High Fat Diet. *Research in Medicine*. 2022;46(3):115-26.
45. Nourshahi M, Bagheri M, Hossaini HF. The effect of single bout of continuous and high intensity interval exercise on VEGF levels in adipose tissue in obese male wistar rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences*. 2019;40(6):74-80.
46. Kheradmand S, Asad MR, Mir Javadi R, Kheradmand N, Fashi M. Influence of Exercise Intensity on the Expression of Angiogenesis-Related Genes in the Hearts of Male Rats. *Journal of Basic Research in Medical Sciences*. 2023;10(4):43-53.
47. Shiri R, Nikbakht H, Gholami M, Ebrahim K. The effect of six weeks of resistance training with the Varying Time under Tension of muscle on vascular endothelial growth factor and endostatin serum levels in healthy young women. *Research in Sport Medicine and Technology*. 2020;18(19):69-79.
48. Gu J-W, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC physiology*. 2004;4:1-6.
49. Shafiee N, Kordi N, Gadrani K, SalehFard Z, Jung F, Heidari N. Cardiac rehabilitation in coronary artery bypass grafting patients: Effect of eight weeks of moderate-intensity continuous training versus high-intensity interval training. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2023;83(3):305-14.
50. Taffet GE, Pham TT, Hartley CJ. The age-associated alterations in late diastolic function in mice are improved by caloric restriction. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 1997;52(6):B285-B90.
51. Goli M, Mehrabani J, Mohebbi H. The effect of aerobic exercise and caloric restriction on skeletal muscle mitochondrial FATPs and visceral fat in diabetic male rats. *Journal of Sports and Biomotor Sciences*. 2024;16(31):1-12.
52. De Lorenzo MS, Baljinnyam E, Vatner DE, Abarzúa P, Vatner SF, Rabson AB. Caloric restriction reduces growth of mammary tumors and metastases. *Carcinogenesis*. 2011;32(9):1381-7.
53. Yosefian M, Taghian F, Sharifi G, Hosseini SA. Effect of eight weeks of high intensity interval training with and without caloric restriction on oxidative stress in the heart tissue of high-fat diet rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2021;9(19):90-100.
54. Rostami A, Khazaei M. Inflammation and angiogenesis: role of inflammatory cells and mediators. *Journal of Isfahan Medical School*. 2016;34(384):612-22.
55. Beyranvand S. Effects of High Intensity Interval Training and Intermittent Fasting on VEGF Gene Expression in the Cardiac Muscle Tissue of Obese Male Rats. *Journal of Nutrition, Fasting & Health*. 2022;10(1).
56. Karavidas A, Parissis J, Arapi S, Farmakis D, Korres D, Nikolaou M, et al. Effects of functional electrical stimulation on quality of life and emotional stress in patients with chronic heart failure secondary to ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy: A randomised, placebo-controlled trial. *European journal of heart failure*. 2008;10(7):709-13.
57. Nuhr MJ, Pette D, Berger R, Quittan M, Crevenna R, Huelsman M, et al. Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure. *European heart journal*. 2004;25(2):136-43.
58. Vepkhvadze TF, Vorotnikov AV, Popov DV. Electrical stimulation of cultured myotubes in vitro as a model of skeletal muscle activity: current state and future prospects. *Biochemistry (Moscow)*. 2021;86(5):597-610.
59. Pano-Rodríguez A, Beltran-Garrido JV, Hernández-González V, Reverter-Masia J. Effects of whole-body electromyostimulation on health and performance: A systematic review. *BMC complementary and alternative medicine*. 2019;19:1-14.
60. Afsharnezhad T, Soumader SY. The effects of resistance training with and without electrical muscle stimulation on body composition of obese women. *Iranian Journal of Health Sciences*. 2022;10(4):51-62.
61. Chmiel J, Kurpas D, Rybakowski F, Leszek J. The Effectiveness of Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) in Binge Eating Disorder (BED)—Review and Insight into the Mechanisms of Action. *Nutrients*. 2024;16(10):1521.
62. Zhao M, Bai H, Wang E, Forrester JV, McCaig CD. Electrical stimulation directly induces pre-angiogenic responses in vascular endothelial cells by signaling through VEGF receptors. *Journal of cell science*. 2004;117(3):397-405.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده