

Effect of Six Weeks of Interval Training on Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Male Rat High Fat Diet

Mina Marashi, Mohamad Galedari*

Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

Received: July 19, 2021; Accepted: April 24, 2022

Abstract

Background and Aim: VEGF is an important angiogenic factor whose expression and plasma levels are affected by obesity and its effects can be health-promoting or disease-inducing. The aim of the present study was to evaluate the effect of six weeks of interval training on vascular smooth muscle VEGF gene expression in male rats on a high-fat diet. In an experimental study, 40 male rats were randomly divided into four groups: 1) control (standard diet), 2) high fat diet 1 (eight weeks high fat diet), 3) high fat diet 2 (14 weeks high fat diet), and 4) High-fat diet and intermittent exercise. Animals in groups 2 to 5 first ate a high-fat diet (60% of calories from fat) for eight weeks. In the eighth week of the high-fat diet group 1, in order to determine the level of VEGF at the beginning of the training intervention, facilitation and sampling were performed. Periodic training consisted of 5 to 12 60-second runs of 24 to 32 meters per minute and light work intervals of 75 seconds for six weeks (to ensure oxidative compatibility with interval training) and five days a week. Real Time PCR technique was measured. Mann-Whitney test was run to compare the groups.

Results: The results of the present study showed that eight weeks of high-fat diet significantly increased the expression of VEGF gene in vascular smooth muscle of male rats compared to the control group ($P = 0.001$). VEGF gene expression was significantly lower after 14 weeks of high-fat diet ($P = 0.005$) compared with that in eight weeks. Also, VEGF gene expression after six weeks of interval training was significantly lower than that in eight weeks of high-fat diet ($P = 0.001$) and was not significantly different from the 14-week high-fat and control groups.

Conclusion: Interval training can possibly reduce angiogenesis by reducing VEGF expression in visceral adipose tissue vessels and thus preventing adipose tissue development.

Keywords: Interval training; High Fat Diet; VEGF; Angiogenesis

Please cite this article as: Marashi M, Galedari M. Effect of Six Weeks of Interval Training on Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Male Rat High Fat Diet. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2022;46(3):115-126.

*Corresponding Author: Mohamad Galedari; Email: m.galedari@iauahvaz.ac.ir



تأثیر شش هفته تمرین تناوبی بر بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در موش‌های صحرایی

نر تحت رژیم پر چرب

مینا مرعشی، محمد گله‌داری*

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴

خلاصه

سابقه و هدف: VEGF یکی از عوامل آنژیوژنیک مهم است که بیان و سطوح پلاسمایی آن تحت تأثیر چاقی قرار می‌گیرد و اثرات آن می‌تواند سلامتی بخش یا الفاکنده بیماری باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی بر بیان ژن VEGF عضله صاف عروقی در موش‌های صحرایی نر تحت رژیم پر چرب انجام شد.

روش کار: در یک مطالعه تجربی تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر بر اساس مطالعه پیشینه‌ها و با استفاده از نرم‌افزار جی‌پاور به صورت تصادفی به چهار گروه (۱) کنترل (رژیم غذایی استاندارد)، (۲) رژیم پرچرب ۱ (هشت هفته رژیم پرچرب)، (۳) رژیم پرچرب ۲ (۱۴ هفته رژیم پرچرب)، (۴) رژیم پرچرب و تمرین تناوبی) تقسیم شدند. حیوانات گروه‌های ۲ تا ۵ ابتدا به مدت هشت هفته رژیم پرچرب (۶۰ درصد کالری از چربی) مصرف کردند. در هفته هشتم گروه رژیم پرچرب ۱ به منظور تعیین سطح VEGF در شروع مداخله تمرینی آسان‌کشی و نمونه‌گیری از آن انجام شد. گروه رژیم پرچرب و تمرین از هفته نهم تا ۱۴ به مدت شش هفته تمرین تناوبی را انجام دادند. تمرین تناوبی شامل ۵ تا ۱۲ وهله ۶۰ ثانیه‌ای دویدن با شدت ۲۴ تا ۳۲ متر بر دقیقه و فواصل کار سبک ۷۵ ثانیه‌ای به مدت شش هفته (برای اطمینان از سازگاری‌های اکسایشی با تمرین تناوبی) و پنج روز در هفته بود. برای بررسی بیان ژن VEGF بافت عروقی از ناحیه چادرینه برداشته و با تکنیک PCR Real Time اندازه‌گیری شد. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون من ویتنی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته رژیم پرچرب بیان ژن VEGF در عضله صاف عروق موش‌های صحرایی نر را به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($P=0/001$) میزان بیان ژن VEGF پس از ۱۴ هفته رژیم پرچرب به طور معناداری پایین‌تر از هشت هفته بود ($P=0/005$) بیان ژن VEGF پس از شش هفته تمرین تناوبی به طور معناداری پایین‌تر از هشت هفته رژیم پرچرب بود ($P=0/001$) و تفاوت معناداری با گروه‌های ۱۴ هفته رژیم پرچرب و کنترل نداشت.

نتیجه‌گیری: احتمالاً تمرین تناوبی می‌تواند با کاهش بیان VEGF در عروق بافت چربی احشایی آنژیوژنز آن را کاهش و در نتیجه از توسعه بافت چربی جلوگیری کند.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی؛ رژیم پرچرب؛ VEGF؛ آنژیوژنز

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Marashi M, Galedari M. Effect of Six Weeks of Interval Training on Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Male Rat High Fat Diet. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2022;46(3):115-126.

*نویسنده مسئول مکاتبات: محمد گله‌داری؛ آدرس پست الکترونیکی: m.galedari@iauhvaz.ac.ir

مقدمه

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) یک سایتوکاین چند عملکردی است که نفوذپذیری عروق را افزایش می‌دهد و یک عامل میتوژنیک برای سلول‌های اندوتلیال است (۱، ۲، ۳). VEGF نه تنها یکی از عوامل بسیار مهم در آنژیوژنز است (۴)، در رشد تومور، ترمیم زخم، توسعه بافت چربی، تحلیل بافتی مرتبط با افزایش سن، روماتوئید آرتریت و رتینوپاتی دیابتی نیز نقش دارد (۱). اخیراً گزارش شده که VEGF در سبب‌شناسی چاقی و اختلال‌های مرتبط با آن از جمله مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲، آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی نقش دارد (۱، ۵). مطالعات نشان داده‌اند که رژیم غذایی پرچرب و عدم فعالیت بدنی مهم‌ترین عوامل ایجاد چاقی هستند (۶، ۷). افزایش مصرف چربی سبب القای هایپرتروفی سلول چربی و پروتئین‌های غیرجفتی میتوکندری شده و در نتیجه مصرف اکسیژن را کاهش می‌دهد. هایپوکسی ایجاد شده در طول مراحل اولیه چاقی ناشی از رژیم غذایی، فاکتور القای هایپوکسی را فعال کرده و آن نیز بیان VEGF را القا می‌کند. افزایش VEGF نفوذپذیری عروق را تغییر داده و سبب خروج ذرات اکسیژن فعال و سایتوکاین‌ها از عروق و القای آسیب‌های بافتی می‌شود (۵).

نقش VEGF در مسیرهای ملکولی آترواسکلروز مورد بحث است، برخی از مطالعات نشان داده‌اند که VEGF از ضخیم شدن حفره میانی رگ جلوگیری کرده و عملکرد اندوتلیال را بهبود می‌دهد. در مقابل مطالعات دیگر پیشنهاد کرده‌اند که VEGF از طریق ارتقای کموتاکسی مونوسیت‌ها و عروقی شدن پلاک آترواسکل (۸) آترواسکلروز را القا می‌کند (۹). بنابراین، VEGF در توسعه عروقی نرمال و پاتوژنیک نقش دارد. رگ‌زایی جدید پاتوژنیک نقش قابل توجهی در توسعه اختلالات مختلف از قبیل آترواسکلروز، رشد تومور و آرتریت روماتوئید دارد (۱۰). Shariat و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که سطوح سرمی VEGF در بیماران مبتلا به سندرم متابولیک بالاتر از افراد نرمال است و

رابطه مثبتی با سطوح LDL پلاسما دارد (۱۱) که نقش پاتوژنیک VEGF را تایید می‌کند. بافت چربی یک ارگان درون‌ریز است که به وسیله یک شبکه مویرگی احاطه شده و تولید هورمون‌ها، عوامل آنژیوژنیک و سایتوکاین‌ها را تنظیم می‌کند. بافت چربی شامل انواعی از ادیپوسایت‌ها با پوششی از سلول‌های بستر عروقی از جمله سلول‌های بنیادی، سلول‌های اندوتلیال و فیبروبلاست‌ها است. رابطه عملکردی بین سلول‌های اندوتلیال و ادیپوسایت‌ها به وسیله مسیرهای پاراکرین تنظیم و به آنژیوژنز کمک می‌کند (۴).

انتخاب شیوه زندگی فعال یکی از مهم‌ترین اجزای سبک زندگی است و انجام فعالیت‌های ورزشی یکی از راه‌های اصلاح سبک زندگی در جهت بهبود اختلالات متابولیک و کاهش اثرات مخرب اضافه وزن و چاقی است، به گونه‌ای که گزارش شده ۱۲ هفته تمرین هوازی ضخامت لایه داخلی دیواره شریان کاروتید را کاهش می‌دهد (۱۲). در مطالعه دیگری نیز Tomoto و همکاران گزارش کردند که یک دوره تمرین هوازی سختی عروق را کاهش می‌دهد (۱۳). همچنین مطالعات متعددی در زمینه تاثیر تمرین بر بیان و سطوح پلاسمایی VEGF انجام شده است. در مطالعه‌ای نشان داده شد که هشت هفته تمرین هوازی سطوح پلاسمایی VEGF در زنان غیرفعال را افزایش می‌دهد (۱۳). در پژوهش دیگری گزارش شد که ۱۰ هفته تمرین استقامتی بیان VEGF را در بافت قلب موش‌های دیابتی افزایش می‌دهد (۱۴). گروه دیگری تاثیر ۱۰ هفته تمرین تناوبی بر سطوح پلاسمایی VEGF مردان مبتلا به سرطان پروستات را مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که ۱۰ هفته تمرین تناوبی سبب افزایش سطوح پلاسمایی VEGF در این بیماران می‌شود (۱۵).

رژیم‌های غذایی پرکالری و سبک زندگی غیرفعال استعداد ابتلا به بیماری‌های متابولیک و مرگ و میر ناشی از آن را افزایش می‌دهند و با پیشرفت علم و انجام مطالعات مختلف روز به روز جنبه جدیدی از مکانیزم‌های مسئول این بیماری‌ها آشکار می‌شود. مطالعات جدید نقش دوگانه‌ای را برای VEGF پیشنهاد

در شروع مداخله تمرینی در چه حدی بوده است و مداخله تا چه میزان بیان آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این گروه در شروع مداخله آسان‌کشی و داده‌های آن برای مقایسه با گروه‌های دیگر استفاده شد.

رژیم پرچرب:

پس از یک هفته آشنایی حیوانات با محیط نگهداری، گروه‌های دوم تا چهارم تحت رژیم پرچرب قرار گرفتند. رژیم پرچرب شامل ۶۰ درصد چربی، ۱۹ درصد کربوهیدرات و ۲۱ درصد پروتئین بود (۱۶). حیوانات دسترسی آزاد به غذای پرچرب و آب داشتند و هشت هفته بدون هیچ مداخله دیگری رژیم غذایی پرچرب مصرف کردند. در پایان هفته هشتم برای بررسی وضعیت متابولیک حیوانات در نقطه شروع مداخله، گروه رژیم پرچرب ۱ آسان‌کشی و نمونه‌گیری از آنها انجام شد. گروه رژیم پرچرب ۲، رژیم پرچرب را تا هفته ۱۴ ادامه داد. گروه چهارم (رژیم پرچرب و تمرین تناوبی) نیز رژیم پرچرب را تا هفته چهاردهم ادامه داد، اما از هفته هشتم تا هفته چهاردهم به مدت شش هفته تمرین تناوبی را به صورت پنج روز در هفته اجرا کرد.

دستورالعمل تمرین تناوبی:

تمرین تناوبی شامل دویدن روی نوار گردان جوندگان با سرعت ۲۴ تا ۳۴ متر در دقیقه معادل ۷۵ تا ۱۰۰ درصد بیشینه اکسیژن مصرفی، شش روز در هفته به مدت شش هفته بود. از آنجا که مطالعات متعددی در گذشته گزارش کرده بودند که اجرای تمرینات تناوبی بین دو تا شش هفته سبب سازگاری‌هایی در ظرفیت اکسایشی عضله، بهبود حساسیت به انسولین و افزایش تعداد و اندازه میتوکندری‌ها می‌شود (۱۷)، در مطالعه حاضر از شش هفته تمرین تناوبی استفاده شد تا اطمینان حاصل شود که سازگاری‌های اکسایشی و حساسیت به انسولین با تمرین اینتروال حادث شده باشد و بررسی تغییرات بیان VEGF در چنین شرایطی انجام گیرد. این پروتکل بر مبنای مطالعه انسانی Little و همکاران (۱۸) طراحی شده است. علت انتخاب این پروتکل تمرین این بود که بسیار کم حجم بود. به دلیل اینکه حیوانات مطالعه حاضر چاق بودند، تمرین با شدت پایین‌تری نسبت به پروتکل اصلی شروع شد. پیش از شروع

کرده‌اند و آن را به عنوان یک فاکتور احتمالی در سبب‌شناسی آترواسکلروز مطرح کرده‌اند. از طرف دیگر مطالعات انجام شده در زمینه تاثیر تمرین بر VEGF عمدتاً در بافت قلب یا بافت چربی بوده و کمتر بیان آن در بافت عروقی بررسی شده است. از آنجا که در شرایط چاقی، بافت چربی دچار هایپوکسی شده و هایپوکسی محرک بیان VEGF است و همچنین رژیم پرچرب نیز تحریک‌کننده بیان آن است و VEGF به صورت پاراکرین نیز می‌تواند بافت چربی را تحت تاثیر قرار دهد، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر شش هفته تمرین تناوبی بر بیان ژن VEGF در بافت عروقی، عروق خون‌رسانی کننده به بافت چربی روده‌بند در موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب انجام شد.

روش کار

در یک کارآزمایی تجربی تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بر اساس مطالعه پیشینه‌ها و با استفاده از نرم‌افزار جی‌پاور به صورت تصادفی در سن ۱۰ هفتگی از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و به محل نگهداری حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز منتقل شدند. حجم نمونه با توجه به ماهیت مطالعه و تعداد گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار power G برآورد شد. حیوانات در شرایط دمایی 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد با چرخه تاریکی روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت (روشنایی از ساعت ۷ صبح) و رطوبت ۵۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات به مدت یک هفته برای سازگاری با محیط در قفس‌های پلی‌کربنات 25×50 سانتی‌متر با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد موش صحرایی تهیه شده از شرکت رویان اصفهان قرار داده شدند. بعد از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، حیوانات بر اساس وزن همسان‌سازی و به طور تصادفی به چهار گروه (۱) کنترل (رژیم غذایی استاندارد)؛ (۲) رژیم پرچرب ۱ (هشت هفته)؛ (۳) رژیم پرچرب ۲ (۱۴ هفته) و (۴) رژیم پرچرب و تمرین تناوبی تقسیم شدند. گروه رژیم پرچرب ۱ (هشت هفته) برای افزایش دقت مطالعه اضافه شد. زیرا پژوهشگران بدانند که سطح بیان VEGF

متر در دقیقه بر روی نوار گردان) اجرا کردند. تمامی جلسات تمرین با ۵ دقیقه گرم کردن (با سرعت ۵ متر در دقیقه) شروع و با ۵ دقیقه سرد کردن خاتمه یافتند.

دوره تمرین ابتدا حیوانات به مدت یک هفته، برای آشنایی و سازگار شدن با تمرین بر روی نوار گردان دویدند. به طور کلی در طی شش هفته، حیوانات ۱۲-۵ تکرار ۶۰ ثانیه‌ای با شدت ۲۴ تا ۳۴ متر در دقیقه با فواصل استراحت فعال ۷۵ ثانیه‌ای (راه رفتن با سرعت ۵

جدول ۱- مشخصات دستورالعمل تمرین تناوبی

هفته	کل مسافت طی شده در هفته (متر)				مدت زمان و شدت تمرین
	مجموع	سرد کردن	کارسبک	کارشدید	
هفته اول	۹۷۵	۱۲۵	۱۲۵	۶۰۰	۵×۱min (24m/min) ×75sec (5m/min)
هفته دوم	۱۳۷۵	۱۲۵	۱۲۵	۱۰۰۰	۸×۱min (24m/min) ×75sec (5m/min)
هفته سوم	۱۷۷۵	۱۲۵	۱۲۵	۱۴۰۰	۱۰×۱min (28m/min) ×75sec (5m/min)
هفته چهارم	۱۸۷۵	۱۲۵	۱۲۵	۱۵۰۰	۱۰×۱min (30m/min) ×75sec (5m/min)
هفته پنجم	۲۱۷۵	۱۲۵	۱۲۵	۱۸۰۰	۱۲×۱min (30m/min) ×75sec (5m/min)
هفته ششم	۲۴۱۵	۱۲۵	۱۲۵	۲۰۴۰	۱۲×۱min (34m/min) ×75sec (5m/min)

نمونه‌گیری بافتی:

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، حیوانات با تزریق کتامین (۱ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و زایلازین (۵/۰ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) بی‌هوش شدند. برای به حداقل رساندن تاثیر زمان روز و ریتم شبانه‌روزی، تمامی نمونه‌گیری‌ها بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح انجام شد. عروق خون‌رسانی‌کننده به روده‌بند به عنوان منبع اصلی چربی احشایی موش برداشته و پس از برداشتن بافت‌های اضافی مانند چربی با آب مقطر شسته و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تحلیل نگه‌داری شد. با توجه به ظرافت عروق، امکان جدا کردن عضله صاف دیواره عروق وجود نداشت و کل بافت عروقی برای اندازه‌گیری بیان ژن استفاده شد.

RT-PCR:

برای بررسی بیان ژن VEGF، در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک PCR Real Time استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل شد. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده بررسی شد. به منظور استخراج mRNA، از

Isol-RNA استفاده شد. تقریباً ۱۰۰ میلی‌گرم بافت مورد نظر با روش هاون کوبی پودر و در یک میلی‌لیتر Isol-RNA Lysis Reagent هموژن شد. سپس، محصول هموژن در دور ۱۲۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ، سوپرناتانت جدا و به میکروتیوب جدید منتقل شد. در مرحله بعدی، کلروفرم به میزان ۲۰۰ میکرولیتر به سوپرناتانت اضافه و ۱۵ ثانیه با شدت زیاد تکان داده شد. سپس، میکروتیوب‌ها در دور ۱۲۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد دوباره سانتریفیوژ شدند. فاز آبی نمونه‌ها برداشته و به آن ۶۰۰ μL ایزوپروپانول اضافه در ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ و total RNA استخراج شد. غلظت RNA و خلوص آن به وسیله کنترل نسبت OD_{۲۶۰}/OD_{۲۸۰} محاسبه و مقادیر بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان خلوص قابل قبول تعریف شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA شرکت تاکارا (TaKaRa) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. بیان ژن‌های مورد نظر با روش PCR، Real Time اندازه‌گیری شد و با روش $R = 2^{-\Delta\Delta CT}$ کمی‌سازی شدند. واکنش‌های PCR با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green High ROX ساخت شرکت امپلیکن

غیر نرمال از آزمون ناپارامتریک من ویتنی استفاده شد. سطح معناداری برای تمامی آزمون‌ها $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. تمامیت‌تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و کلیه نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 رسم شد.

یافته‌ها

وزن اولیه و تغییرات وزنی حیوانات در گروه‌های مختلف در جدول ۳ ارائه شده است:

بر اساس نتایج مطالعه هشت هفته رژیم پرچرب بیان ژن VEGF در عضله صاف عروق موش‌های صحرایی نر به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش داشت (0.0618 ± 0.324847 , $P=0.001$). میزان بیان ژن VEGF پس از ۱۴ هفته رژیم پرچرب به‌طور معناداری پایین‌تر از هشت هفته بود (0.0539 ± 0.113076 , $P=0.001$). بیان ژن VEGF پس از شش هفته تمرین تناوبی به‌طور معناداری پایین‌تر از هشت هفته رژیم پرچرب بود (0.0248 ± 0.33753 , $P=0.001$) و تفاوت معناداری با گروه‌های ۱۴ هفته رژیم پرچرب و کنترل نداشت. بنابراین، برای مشخص کردن محل اختلاف بین گروه‌ها از آزمون من ویتنی استفاده شد.

(AMPLIQON) انجام شد. برنامه Real Time PCR شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، ۴۰ سیکل شامل واسرشت در هر سیکل با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه انجام شد (۱۹).

جدول ۲- توالی پرایمر متغیر پژوهش

توالی پرایمرهای متغیرهای پژوهش	
r-VEGF-f	AGATGGTGAGAGAGATGGTGT
r-VEGF-r	AGATGGTTGATGGCTTAGATTAG

روش آماری:

در بخش آمار توصیفی از شاخص پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی برای تحلیل آماری داده‌ها ابتدا توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک بررسی شد. برای داده‌های دارای توزیع نرمال از آزمون پارامتریک آنالیز واریانس یک راهه (one-way ANOVA) و در برای داده‌های غیر نرمال از آزمون ناپارامتریک کروس-کالوالیس استفاده شد. در صورت معنادار بودن آزمون ANOVA برای مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی بون فرونی استفاده شد. برای مقایسه دو به دو گروه‌ها برای داده‌های

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار وزن و بیان VEGF mRNA در گروه‌های مورد مطالعه

منظور	گروه				
	کنترل	رژیم پرچرب ۱	رژیم پرچرب ۲	رژیم پرچرب و تمرین تناوبی	سطح معنی‌داری
وزن اولیه (گرم)	217/4 ± 3/9*	219/8 ± 6/2*	240/0 ± 5/10*	228/2 ± 0/70*	0/095
وزن هفته هشتم	345/0 ± 8/8	427/8 ± 26/7	434/0 ± 30/3	412/0 ± 19/5	0/0001
وزن نهایی	401/2 ± 30/2	-	572/4 ± 20/2	467/6 ± 22/8	0/0001
گلوکز پلاسما اولیه (mg/dl)	88/6 ± 9/9	90/4 ± 7/6*	89/8 ± 9/6*	90/2 ± 10/2*	0/974
گلوکز پلاسما هفته هشتم	92 ± 11/6	139/6 ± 9/8	144/6 ± 12/4	146/8 ± 80/9	0/0001
گلوکز پلاسما نهایی	96/6 ± 6/8	-	202/6 ± 16/9	164/2 ± 8/4	0/0001
VEGF	0/187449 ± 0/0267	0/324847 ± 0/0618	0/113076 ± 0/0539	0/033753 ± 0/0248	0/001

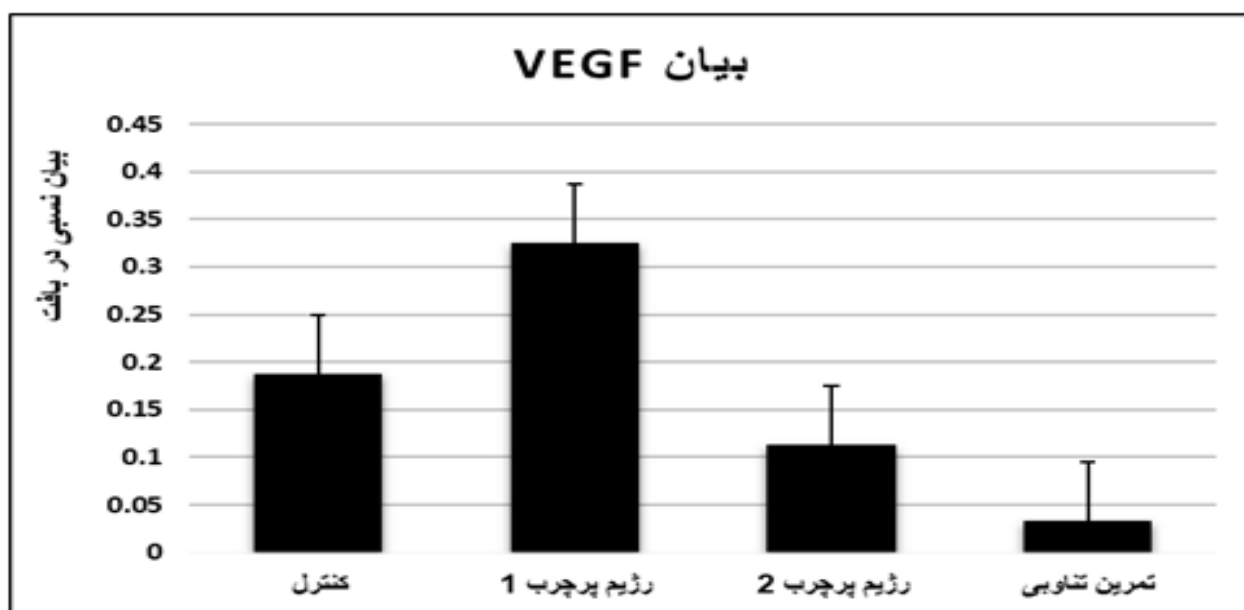
* تفاوت بین زمان اندازه‌گیری‌ها (سطرهای جدول) در گروه معنادار ($P=0.0001$);

† پیش از شروع مطالعه; †† پس از هشت هفته رژیم پرچرب و پیش از شروع تمرین; ††† در پایان شش هفته مداخله; تمامی مقادیر انحراف استاندارد \pm میانگین.

با توجه به نرمال نبودن توزیع چهار گروه، برای آزمون فرضیه‌ها از آزمون کروسکال والیس استفاده شد ($K2=333/737$, $df=3$, $P=0/001$) که نتایج این آزمون نشان می‌دهد که تفاوت معناداری در میزان بیان ژن VEGF بین گروه‌های چهارگانه وجود دارد.

از دیگر نتایج این تحقیق این بود که شش هفته تمرین تناوبی سبب کاهش معنادار بیان VEGF در عضله صاف عروق موش‌های صحرایی نر مصرف کننده رژیم پرچرب شد (نمودار ۱).

نتایج آزمون من‌ویتنی نشان داد که هشت هفته رژیم پرچرب سبب افزایش معنادار سطح VEGF mRNA در عضله صاف عروق موش‌های صحرایی نر شد. اما ۱۴ هفته رژیم پرچرب سبب کاهش معنادار بیان VEGF در عضله صاف عروق موش‌های صحرایی شد. همچنین با مقایسه رژیم پرچرب ۱ (هشت هفته) و رژیم پرچرب ۲ (۱۴ هفته) مشخص شد که بیش بیانی VEGF پس از هشت هفته در هفته چهاردهم به‌طور معناداری کاهش یافته است.



نمودار ۱- بیان نسبی ژن VEGF گروه‌های مختلف

بحث

نسبت به هشت هفته رژیم پرچرب کاهش داد. یکی از نقاط قوت مطالعه حاضر وجود گروه هشت هفته رژیم پرچرب است که نشان دهد بیان VEGF آژمودنی‌ها در شروع مداخله چه میزان بوده است و این نکته به خوبی در این مطالعه مشخص شد که پاسخ VEGF به رژیم پرچرب می‌تواند وابسته به مدت زمان مصرف آن باشد. به‌طور جالب توجهی بیان VEGF در گروه تمرین تناوبی به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه‌های رژیم پرچرب بود که نشان می‌دهد تمرین تناوبی مانع از افزایش بیان VEGF ناشی از رژیم پرچرب شده است. آنژیوژنز تشکیل عروق خونی جدید از عروق موجود است که تحت شرایط فیزیولوژیکی و

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر شش هفته تمرین تناوبی بر بیان ژن VEGF در بافت عروقی، عروق خون‌رسانی‌کننده به بافت چربی روده‌بند در موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب انجام شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب سطوح VEGF mRNA را نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش داد. با این وجود میزان بیان VEGF پس از ۱۴ هفته رژیم پرچرب نسبت به گروه هشت هفته به‌طور معناداری کاهش یافت و پایین‌تر از گروه کنترل بود. شش هفته تمرین تناوبی میزان بیان VEGF را به‌طور معناداری

هشتم این بوده است که در این فاصله افزایش بافت چربی کمتر از هشت هفته بوده و بنابراین احتمالاً بافت چربی تا اندازه‌ای با هایپوکسی سازگار شده و میزان هایپوکسی آن کاهش یافته است، زیرا بیان VEGF به واسطه افزایش فاکتور القای هایپوکسی افزایش می‌یابد. کاهش بیان VEGF پس از شش هفته تمرین تناوبی را می‌توان به تأثیر تمرین تناوبی بر کاهش بافت چربی احشایی نسبت داد، زیرا گزارش شده که کاهش چربی احشایی سبب کاهش بیان VEGF می‌شود (۷). از طرف دیگر به دلیل این‌که تمرین تناوبی مستلزم انجام فعالیت‌های شدید و تناوب‌های استراحت فعال است، در هنگام اجرای کار شدید عضله داکسیژنه می‌شود و در فواصل استراحت دوباره اکسیژن‌رسانی افزایش می‌یابد که این مدل تمرین سبب کاهش هایپوکسی بافتی می‌شود و در نتیجه احتمال دارد که بیان VEGF را از این طریق کاهش دهد (۲۳). نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق Cheng و همکاران (۲۲)، Mahdavi و همکاران (۲۳)، Zaki و همکاران (۲۴)، Engin و همکاران (۲۵) و Gealekman و همکاران (۲۶) همسو و با نتایج Xu و همکاران (۲۷)، Kimura و همکاران (۹) ناهمسو است. چاقی یک مشکل عمده بهداشت عمومی در سراسر جهان است (۸). در مطالعات جدید نیز نشان داده شده که آنژیوژنز علاوه بر اینکه نقش واضحی در بیماری‌های بدخیم دارد، نقش مهمی در چاقی نیز ایفا می‌کند (۱۹، ۲۴). چاقی با گسترش بستر مویرگی در بافت‌های چربی همراه است (۲۲). بافت چربی حاوی سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های چربی و سلول‌های متعدد دیگری است که فاکتورهای آنژیوژنیک مانند VEGF را ترشح می‌کنند و می‌توانند به روش‌های اتوکراین و پاراکراین عمل کنند و در اندام‌های دیگر نقش غدد درون ریز را ایفا کنند (۱۸). Cheng و همکاران (۲۲) مطالعه‌ای را برای بررسی ارتباط بین شاخص توده بدن و غلظت سرمی فاکتورهای رشد عروقی در افراد انسانی انجام دادند. آنها نشان دادند که VEGF-A، VEGF-C، VEGF-D، sVEGF-R2، آنژیوپوئین-۲، آنژیوژنین و اندوستاتین در افراد چاق در مقایسه با افراد لاغر به طور قابل

پاتولوژیکی متعددی حادث می‌شود (۹). آنژیوژنز تحت تأثیر تعادل بین عوامل پروآنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک اتفاق می‌افتد. VEGF یکی از مهم‌ترین عوامل آنژیوژنیک است که توسط بافت‌های مختلفی بیان می‌شود (۹، ۲۰). گرچه در بسیاری از مطالعات تمرکز روی اثرات مفید VEGF و آنژیوژنز ناشی از آن است، اما مطالعات اخیر نشان داده‌اند که نقش VEGF می‌تواند دوگانه باشد. به گونه‌ای که افزایش آنژیوژنز می‌تواند از یک سو خون‌رسانی را افزایش دهد و از سوی دیگر سبب آترواسکلروز می‌شود (۷، ۹، ۲۱). در مطالعه حاضر بررسی بیان VEGF با تمرکز بر اثرات آن در چاقی انجام شد و پژوهشگران به دنبال این نکته بودند که آیا تغییرات ناشی از رژیم پرچرب در بیان VEGF تحت تأثیر تمرین کم حجم اینتروال که در مطالعات پیشین اثرات آن در افراد چاق و دیابتی مشاهده شد (۲۱)، قرار می‌گیرد؟ به نظر می‌رسد که افزایش VEGF در چاقی اثرات مخربی بر سلامت داشته باشد (۷، ۲۲) در شرایط چاقی هایپر تروفی و هایپرپلازی بافت چربی سبب وسیع‌تر شدن بافت چربی شده و با وسیع‌تر شدن آن میزان هایپوکسی در بستر بافت چربی افزایش می‌یابد که این خود سبب بیان و ترشح HIF-1 α و در نتیجه القای بیان VEGF می‌شود (۲۲، ۱۰). مطالعه حاضر هم‌راستا با مطالعات پیشین (۴) نشان داد که بیان VEGF با افزایش توده چربی به ویژه چربی احشایی مرتبط است. در همین راستا گزارش شده که بیان VEGF در میمون‌های چاق افزایش می‌یابد و تزریق مهارکننده VEGF سبب کاهش وزن می‌شود (۱۰). از آنجا که در مطالعه حاضر بیان VEGF با چاقی افزایش یافت و شش هفته تمرین اینتروال سبب کاهش بیان آن در بافت عروقی چربی احشایی شد، این مطالعات نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌کنند. نتایج این مطالعه نشان داد که هشت هفته رژیم پرچرب سبب افزایش بیان VEGF در بافت عروقی چربی احشایی شد و شش هفته تمرین تناوبی بیان آن را به طور معناداری کاهش داد. به طور جالب توجهی بیان VEGF از هفته هشتم تا هفته چهاردهم به طور معناداری کاهش یافت. احتمالاً دلیل کاهش بیان VEGF در هفته چهاردهم نسبت به هفته

توجهی بالاتر بودند (۲۲). آنها سرانجام مشخص کردند که غلظت سرم سایر اعضای خانواده VEGF از جمله VEGFC و VEGFD در گروه چاق به طور معناداری افزایش یافته و رابطه مثبت معناداری با BMI نشان می‌دهد. سایر اعضای خانواده VEGF از جمله VEGF-B، VEGF-C نیز با BMI ارتباط مثبتی داشته‌اند (۲۳، ۲۲). برخی تحقیقات نشان داده است که سلول‌های چربی منبع اصلی VEGF هستند که به عنوان یک عنصر زنده ماندن عروق عمل می‌کند. این نتیجه‌گیری از این مکانیسم پشتیبانی می‌کند که گسترش بافت چربی به تغییر مداوم، بلوغ و الگوی عروق نیاز دارد (۲۸). به طور خلاصه، این مطالعات سطح بالایی از مولکول‌ها را از خانواده VEGF در افراد چاق نشان داد، در حالی که ناحیه چربی احشایی مهم‌ترین عامل تعیین کننده غلظت VEGF است. VEGF به طور گسترده ای برای درگیری احتمالی در عوارض عروقی دیابتی ناشی از چاقی بررسی شده است (۲۹). از طرف دیگر تصلب شریانی از التهاب مزمن رگهای خونی که توسط بافت چربی احاطه می‌شوند، ناشی می‌شود. VEGF یک سیتوکین چند منظوره است که نفوذپذیری عروق را افزایش می‌دهد و برای سلول‌های اندوتلیال میتوژنیک است. نقش VEGF در مکانیسم مولکولی ضایعات آترواسکلروتیک قابل بحث است (۲۲). مشابه یافته‌های ما، در مطالعه‌ای تجربی که توسط Zhou و همکاران (۳۰) انجام شد، غلظت بالاتر سرمی VEGF در بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم گزارش شده است. همچنین، در مطالعه دیگر توسط Trape و همکاران (۳۱) ارتباط مثبتی بین VEGF و LDL در بیماران مبتلا به هایپرکلسترولمی گزارش کردند. تولید VEGF توسط LDL القا می‌شود LDL اکسید شده سبب تولید VEGF در سلول‌های عضلانی صاف و مونوسیت‌ها می‌شود، بنابراین مسدود کردن LDL اکسید شده در مونوسیت‌ها سبب کاهش انتشار VEGF می‌شود. بنابراین افزایش معنادار سطح mRNA-VEGF پس از هشت هفته رژیم پر چرب در تحقیق حاضر، می‌تواند توسط مکانیسم‌های جبرانی بدن پس از تجمع رادیکال‌های آزاد ناشی از ناهنجاری‌های متابولیکی توجیه شود،

در تحقیق حاضر مشاهده شد شش هفته تمرین تناوبی بیش بیانی VEGF در عضله صاف عروق موش‌های صحرایی نر تحت رژیم پرچرب را به طور معناداری کاهش داد و حتی به پایین‌تر از گروه کنترل رساند. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق Nourshahi و همکاران (۳۲)، Shabanpour Omali و همکاران (۳۳) و Ravasi و همکاران (۳۴) همسو و با نتایج Habibi Maleki و همکاران (۳۵) و Tsai و همکاران (۳۶) ناهمسو است. Tsai و همکاران (۳۶) افزایش مقدار VEGF را پس از تمرین تناوبی گزارش کردند. احتمالاً از دلایل ناهمخوانی تحقیق Tsai و همکاران (۳۳) با تحقیق حاضر، نوع آزمودنی (موش‌های دارای سرطان ریه در مقابل موش‌های تحت رژیم پر چرب) بوده است. Peeri و همکاران (۳۷) نشان دادند که تمرین تناوبی در مقایسه با تمرین تداومی سبب افزایش آدیپونکتین در زنان چاق می‌شود. از طرفی Kriketos و همکاران (۳۸) عنوان کردند که فعالیت حاد مقدار آدیپونکتین را افزایش می‌دهد. با توجه به دلایل ذکر شده احتمال دارد چنین روندی در بافت چربی احشایی نیز رخ داده باشد که به سبب آن شاهد کاهش VEGF پس از فعالیت تناوبی در پژوهش حاضر هستیم. از طرف دیگر، در چاقی توسعه سریع بافت چربی با تقلیل شبکه عروقی ممکن است به‌هایپوکسی و اختلال بافت چربی همراه با افزایش التهاب و در نهایت مقاومت به انسولین منجر شود. به نظر می‌رسد درجه اختلال بافت چربی با رگزایی بافت چربی مرتبط باشد که با چندین فاکتور آنژیوژنزی تنظیم می‌شود (۳۹). در پژوهش حاضر در مدل حیوانی نشان داده شد که فاکتور آنژیوژنزی VEGF بافت چربی، تحت تأثیر تمرین تناوبی قرار می‌گیرد که عوامل القای مقاومت به انسولین نظیر چاقی، دیابت و بیماری‌های قلبی-عروقی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۹). عمده مطالعات انجام شده در زمینه VEGF به دنبال سازگاری عروقی با تمرین در افراد یا حیوانات سالم بوده‌اند و به بررسی سطوح پلاسمایی آن یا بیان آن در بافت‌هایی مانند قلب پرداخته‌اند. اما در مطالعه حاضر تمرکز بر روی تاثیر دوگانه فیزیولوژیک و پاتولوژیک VEGF بوده و به نظر می‌رسد تمرین تناوبی کم حجم استفاده

قدردانی خود را از تمام افرادی که در پژوهش حاضر همکاری داشته‌اند اعلام می‌نماییم.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.AHVZ.REC.1400.058 است.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافی را گزارش نکرده‌اند.

شده توانسته بیان VEGF در بافت عروقی منتهی به چربی احشایی را کاهش دهد و از اثرات پاتولوژیک آن بکاهد. مطالعه حاضر جزو معدود مطالعاتی است که بیان VEGF را در بافت عروقی بررسی کرده تا تاثیر تمرین تناوبی به عنوان نوعی از تمرین که می‌تواند گردش خون را با تناوب شدت تمرین تحت فشار قرار دهد، بررسی کرده است. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر بسیاری از فاکتورهای درگیر، اندازه‌گیری نشده‌اند و همچنین حجم نمونه پایین است، نتایج باید با احتیاط تفسیر شوند. از طرف دیگر می‌توان چنین توصیه کرد که تمرین تناوبی بسیار کم حجم مطالعه حاضر می‌تواند مانع از افزایش بیان VEGF ناشی از چاقی ناشی از رژیم غذایی شود و از این طریق می‌تواند از بیماری‌های قلبی و دیابت پیشگیری کند. همچنین با توجه به اینکه اخیراً مطالعات توجه زیادی به جنبه پاتولوژیک VEGF دارند، توصیه می‌شود که سطوح پلاسمایی این فاکتور و همچنین بیان آن از بافت‌های مختلف را بررسی کرد تا درک بهتری از تغییرات آن با تمرین حاصل کرد.

نتیجه‌گیری

بطور خلاصه نتایج مطالعه ی حاضر نشان داد که چاقی ناشی از رژیم غذایی موجب افزایش بیان ژن VEGF در بافت عروقی چربی احشایی می‌شود. تمرین تناوبی بیش بیانی VEGF ناشی از رژیم پر کالری در بافت چربی احشایی را به طور معناداری کاهش داد. این نتایج نشان داد که یک دوره کوتاه تمرین تناوبی موجب کاهش بیان VEGF در بافت عروقی چربی احشایی می‌شود و احتمالاً می‌تواند از اثرات پاتولوژیک بیش بیانی آن جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز به شماره ۱۰۶۲۹۴۰۷۲۷۹۶۸۳۲۱۳۹۸۱۲۲۷۰۱ است. مراتب سپاس و

References

- Mazidi M, Rezaie P, Kengne AP, Stathopoulou MG, Azimi-Nezhad M, Siest S. VEGF, the underlying factor for metabolic syndrome; fact or fiction? *Diabetes Metab Syndr*. 2017; 11(1): 61-4.
- Doronzo G, Russo I, Mattiello L, Anfossi G, Bosia A, Trovati M. Insulin activates vascular endothelial growth factor in vascular smooth muscle cells: influence of nitric oxide and of insulin resistance. *Eur J Clin Invest*. 2004; 34(10):664-73.
- Zeinalian R, Farhangi MA, Shariat A, Saghafi-Asl M. The effects of *Spirulina Platensis* on anthropometric indices, appetite, lipid profile and serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in obese individuals: A randomized double blinded placebo controlled trial. *BMC Complement Altern Med*. 2017; 17(1):225.
- Nijhawans P, Behl T, Bhardwaj S. Angiogenesis in obesity. *Biomed Pharmacother*. 2020; 126:110103.
- Graupera M, Claret, M. Endothelial cells: New players in obesity and related metabolic disorders. *Trends Endocrinol Metab*. 2018; 29(11): 781-94.
- Hambrecht R, Adams V, Erbs S, Linke A, Krankel N, Shu Y, et al. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2003; 107(25): 3152-8.
- Jia B, Wang X, Kang A, Wang X, Wen Z, Yao W, Xie L. The effects of long term aerobic exercise on the hemorheology in rats fed with high-fat diet. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2012; 51(2):117-27.
- Organization WH. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. World Health Organization; 2000.
- Kimura K, Hashiguchi T, Deguchi T, Horinouchi S, Uto T, Oku H, et al. Serum VEGF-as a prognostic factor of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2007; 194(1): 182-8.
- Miyazawa-Hoshimoto S, Takahashi K, Bujo H, Hashimoto N, Saito Y. Elevated serum vascular endothelial growth factor is associated with visceral fat accumulation in human obese subjects. *Diabetologia*. 2003; 46(11): 1483-8.
- Shariat A, Farhangi MA, Zeinalian R. Association between serum levels of vascular endothelial growth factor, macrophage inhibitory cytokine and markers of oxidative stress, with the metabolic syndrome and its components in obese individuals. *Nutrition Clinique et Metabolisme*. 2018; 32(2): 95-101.
- Ahn N, Kim HS, Kim K. Exercise training-induced changes in metabolic syndrome parameters, carotid wall thickness, and thyroid function in middle-aged women with subclinical hypothyroidism. *Pflugers Arch*. 2019; 471(3): 479-489.
- Tomoto T, Liu J, Tseng BY, Pasha EP, Cardim D, Tarumi T, et al. One-Year aerobic exercise reduced carotid arterial stiffness and increased cerebral blood flow in amnesic mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*. 2021; 80(2):841-853.
- Shahavand H, Hosseinpour Delavar S, Behpoor N, Safikhani H, Azizi M. Effect of aerobic exercise on Vascular Endothelial Growth Factor-B (VEGF-B) gene expression and total Tissue Antioxidant Status (TAS) in diabetic rats. *Journal of Applied Exercise Physiology*. 2021; 17(33): 73-7.
- Fathollahi Shoorabeh F, Faramarzi M, Hemmati R. The effect of 10 weeks of high -intensity exercise training on resting levels of some angiogenesis and pulmonary function of men with prostate cancer. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 2018; 8(4): 1097-105.
- Sutherland LN, Capozzi LC, Turchinsky NJ, Bell RC, Wright DC. Time course of high-fat diet-induced reductions in adipose tissue mitochondrial proteins: potential mechanisms and the relationship to glucose intolerance. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2008; 295(5): 1076-83.
- MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of Physiology*. 2017; 595(9): 2915-30.
- Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: Potential mechanisms. *J Physiol*. 2010; 588(6):1011-22.
- Cook GA, Lavrentyev EN, Pham K, Park EA. Streptozotocin diabetes increases mRNA expression of ketogenic enzymes in the rat heart. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2017; 1861(2): 307-12.
- Dabravolski SA, Khotina VA, Omelchenko AV, Kalmykov VA, Orekhov AN. The role of the vegf family in atherosclerosis development and its potential as treatment targets. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(2): 931.
- Karaman S, Hollmén M, Robciuc MR, Alitalo A, Nurmi H, Morf B. Blockade of VEGF-C and VEGF-D modulates adipose tissue inflammation and improves metabolic parameters under high-fat diet. *Mol Metab* 2014; 4: 93-105.

22. Cheng R, Ma JX. Angiogenesis in diabetes and obesity. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;16(1):67-75.
23. Mahdaviani K, Chess D, Wu Y, Shirihai O, Aprahamian TR. Autocrine effect of vascular endothelial growth factor-A is essential for mitochondrial function in brown adipocytes. *Metabolism*. 2016; 65(1):26-35.
24. Zaki ME, Basha W, Yousef RN, Awad M. Serum vascular endothelial growth factor in egyptian obese women with insulin resistance. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019; 7(8):1330.
25. Engin A. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on preadipocytes and macrophages: Hypoxia hypothesis. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 305-26.
26. Gealekman O, Guseva N, Hartigan C, Apotheker S, Gorgoglione M, Gurav K, et al. Depot-specific differences and insufficient subcutaneous adipose tissue angiogenesis in human obesity. *Circulation*. 2011; 123(2):186-94.
27. Xu F, Du Y, Hang S, Chen A, Guo F, Xu T. Adipocytes regulate the bone marrow microenvironment in a mouse model of obesity. *Mol Med Rep*. 2013; 8(3): 823-8.
28. Aubin K. Caractérisation fonctionnelle des tissus adipeux humains endothélialisés reconstruits par génie tissulaire et influence du microenvironnement. M. Sc. Thesis, Maitrise en Biologie Cellulaire et Moléculaire, Québec, Canada; 2014.
29. Cao Y. Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. *J Clin Invest*. 2007; 117(9): 2362-8.
30. Zhou Z, Ju H, Sun M, Chen H. Serum vascular endothelial growth factor levels correlate with severity of retinopathy in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Dis Markers*. 2019; 2019: 9401628.
31. Trape J, Morales C, Molina R, Filella X, Marcos JM, Salinas R, Franquesa J. Vascular endothelial growth factor serum concentrations in hypercholesterolemia patients. *Scand J Clin Lab Invest*. 2006; 66(3): 261-7.
32. 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. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services*. 2019; 40(6): 74-80.
33. Shabanpour Omali J., Saqibjoo M., Fathi R., Gharari Arefi, R. The effect of 8 weeks of high-intensity circular resistance training on plasma lipids and insulin resistance index in male patients with type 2 diabetes. *Journal of Applied Sports Physiology*. 2014; 10(19): 135-142.
34. Ravasi AA, Pournemati P, Kordi MR, Hedayati M. The effects of resistance and endurance training on BDNF and cortisol levels in young male rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2013; 1(16): 49-78.
35. 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.
36. Tsai MS, Kuo ML, Chang CC, Wu YT. The effects of exercise training on levels of vascular endothelial growth factor in tumor-bearing mice. *Cancer Biomark*. 2013; 13(5): 307-13.
37. Peeri M. The Effect of exercise intensity on the response of some of adipocytokins and biochemical marker of bone in obese and overweight young female. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2015; 16(6): 425-32.
38. Kriketos AD, Gan SK, Poynten AM, Furler SM, Chisholm DJ, Campbell LV. Exercise increases adiponectin levels and insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care*. 2004; 27(2): 629-30.
39. Rad RS, Shirvani H, Hosseini HM, Shamsoddini A, Samadi M. Micro RNA-126 promoting angiogenesis in diabetic heart by VEGF/Spred-1/Raf-1 pathway: effects of high-intensity interval training. *J Diabetes Metab Disord*. 2020; 8: 1-8.