مطالعات نوین در متابولیسم ورزش و فعالیت بدنی
سال ۱، شماره ۲، دوره ۱، تابستان ۱۴۰۲
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۸

تأثیر تمرینات استقامتی و داروی آدنوزین پس از آسیب ایسکمی رپرفیوژن مغزی بر بیان برخی ژن های آنژیوژنیک در هیپوکامپ رت های نر ویستار

محسن جعفری[۱]، ارسلان بهجتی[۲]، مهدی ضیغم جهانی[۳]، علیرضا داوودی کوشا[۴]

Doi: 10.30495/NSSEM.2023.1994712.1011

چکیده

مقدمه: درمان های افزاینده آنژیوژنز در کاهش آسیب عضوی ناشی از سکته مؤثر هستند. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی با و بدون مصرف آدنوزین بر بیان برخی ژن های آنژیوژنیک در هیپوکامپ رت های مبتلا به آسیب ایسکمی رپرفیوژن بود.

روش ها: پس از القای آسیب ایسکمی رپرفیوژن به ۳گروه ایسکمی (گروه۱)، ایسکمی با تمرین (گروه۲) و ایسکمی با تمرین ودارو (گروه۳) تقسیم شدند. گروه های تمرینی به مدت ۸هفته (۵جلسه در هفته) با شدت ۳۰ متر بر دقیقه به تمرینات استقامتی روی تردمیل پرداختند. دوز آدنوزین در گروه۳ معادل ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم بود. پس از تمرینات هیپوکامپ رت ها برای آنالیز بیان ژن جدا گردید.

یافته ها: بین گروه های ۱با۳ و ۲با۳ تفاوت معنی داری در بیان ژن HIF1α وجود داشت (P=0/000)؛ در مورد بیان ژن HIF2α، بین همه گروه ها تفاوت معنی داری وجود داشت (P=0/000)؛ بیان ژن R4 بین گروه های ۱با۲ و ۱با۳ متفاوت بود (P=0/004)؛ بیان ژن S2 بین همه گروه ها متفاوت بود (P=0/000)؛ بیان ژن HMGB1 بین گروه های ۱با۲ (P=0/011)، ۱با۳ (P=0/000) و ۲با۳ (P=0/000) متفاوت بود و نیز تفاوت معنی داری بین همه گروه ها در بیان ژن AP1 مشاهده شد (P=0/000).

نتیجه گیری: پس از آسیب ایسکمی رپرفیوژن، هشت هفته تمرین استقامتی از طریق افزایش بیان ژن های آنژیوژنیک HIF1α، HIF2α، S2، R4، HMGB1 و AP1 می تواند در توسعه روند آنژیوژنز مؤثر باشد و این اثر با مصرف آدنوزین تقویت می گردد.

کلمات کلیدی: تمرین هوازی، آدنوزین، آنژیوژنز، سکته مغزی.

۱. گروه علوم ورزشی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران
۲. گروه علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران
۳. گروه علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران
۴. واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

New Studies in Sport and Exercise Metabolism

Vol1, No2

Received: 2023/06/10 Accepted: 2023/09/09

Effect of Endurance Trainings and Adenosine Treatment After Brain Ischemia Reperfusion Injury on Some Angiogenic Genes Expression in Hippocampus of Male Wistar Rats

Mohsen Jafari[1], Arsalan Behjati[2], Mahdi Zeygham Jahani[3], Alireza Davoodi KooshaMeysam[4]

Doi: 10.30495/NSSEM.2023.1994712.1011

Abstract:

Introduction: Angiogenesis improvement treatments are effective in reduction of stroke induced organ injury. The aim of this study was to investigate the effects of an endurance training with and without adenosine consumption on some antigenic genes expression in hippocampus of male Wistar rats after ischemia reperfusion injury.

Methods: After induction of ischemia reperfusion injury, rats were divided into three groups of ischemia (group1), ischemia with exercise (group2) and ischemia with exercise and adenosine (group3). Exercise groups performed endurance trainings on treadmill for 8 weeks (5 sessions per week) with intensity of 30m per minute. Adenosine dosage in group3 was 0/4 mg per kg. Hippocampus of the rats were isolated for gene expression analysis after trainings.

Results: There was difference between groups 1&3 and 2&3 in HIF1α gene expression (P=0/000); in case of HIF2α, all groups were different (P=0/000); R4 gene expression was different between groups 1&2 and 1&3 (P=0/004); S2 gene expression was different in all groups (P=0/000); HMGB1 gene expression was different between groups 1&2 (P=0/011), 1&3 (P=0/000) and 2&3 (P=0/000) and significant difference was observed in all groups in AP1 gene expression (P=0/000).

Conclusion: After ischemia reperfusion injury, eight weeks' endurance training may be effective in improvement of angiogenesis through elevation of HIF1α, HIF2α, S2, R4, HMGB1 and AP1 genes expression and this effect is reinforced by adenosine treatment.

Keywords: Aerobic Exercise, Adenosine, Angiogenesis, Cerebral Stroke.

1. Department of Physical Education and Sport Science, shirvan Branch, Islamic Azad University, shirvan
2. Department of Physical Education and Sport Science, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd
3. Department of Physical Education and Sport Science, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd
4. neyshabor Branch, Islamic Azad University, neyshbor

مقدمه

حفظ دقیق سطح اکسیژن بافت ها، نیازمند همکاری سیستمهای مختلف نظیر گردش خون، تنفس و سیستم غددی-عصبی میباشد، زیرا که افزایش یا کمبود سطح اکسیژن ممکن است منجر به مرگ سلول، بافت، و یا ارگانیسم گردد. همه سلولهای هسته دار بدن هیپوکسی را حس کرده و به آن پاسخ می دهند. یکی از نخستین پاسخ های سلول ها به هیپوکسی آنژیوژنز است (۱). آنژیوژنز یکی از فرایندهای مهم برای افزایش جریان خون بافتی و تأمین مواد غذایی و اکسیژن سلول ها همراه با دفع مواد زاید و دی اکسید کربن از آنها و یک مکانیزم گسترده حمایتی در پاسخ به ایسکمی است. برای مثال سکته میوکاردی و ایسکمی عضوی می توانند آنژیوژنز اندوژن را در هر اندامی تحریک کنند و درمان های افزاینده آنژیوژنز در کاهش آسیب عضوی در این اختلالات کمک کننده هستند. همچنین در مغز پاسخ های آنژیوژنیک نقش مهمی را روی بازسازی مغزی[۱]بعد از آسیب ایسکمی ایفا می کنند. شواهد نشان می دهند که نقاط ایسکمی شده به شدت در معرض پاسخ های آنژیوژنیک قرار دارند (۲). چندین فاکتور آنژیوژنیک در آنژیوژنز مغزی درگیر هستند که HIF1α، HIF2α، جعبه۱ گروه پرتحرک (HMGB1)[۲]و آنژیوپویتین۱ (AP1)[۳]چهار مورد از آنها هستند. مطالعات اتوپسی نشان داده اند که ایسکمی و آسیب مغزی از طریق عامل۱ القای هیپوکسی (HIF1) آنژیوژنز را تحریک می کند. تکثیر سلول های اندوتلیال ۱۲ تا ۲۴ ساعت پس از رویدادهای ایسکمی آغاز می شود و تا چند هفته پس از آن ادامه دارد (۳). علیرغم نقش محوری عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)[۴]در آنژیوژنز، اخیرا توجه محققین به HMGB1 در بازسازی مغزی پس از سکته متمرکز شده است که یک پروتئین غیرهیستونی متصل به DNA است و در بیشتر سلول های یوکاریوت شامل سلول های عصبی انسانی بیان می شود (۴). HMGB1 عملکردهای مختلفی را بسته به مکان سلولی خود ایفا می نماید و می تواند توسط سلول های مصدوم به صورت غیرفعال و توسط سلول های تحریک شده به صورت فعال رها شود. رهایش HMGB1 پس از آسیب مغزی تروماتیک و سکته ایسکمی مشاهده شده است. در مدل های موشی انسداد سرخرگ مغزی میانی، سطوح HMGB1 در هسته ایسکمیک بلافاصله کاهش می یابد و HMGB1 سرمی به سرعت افزایش می یابد. سیگنالینگ HMGB1 می تواند فعال سازی و جوانه زدن اندوتلیال را توسعه دهد و در نرون ها بقا و رشد سلولی را افزایش

---

[۱] *Angiopoietin*

[۲] High Mobility Group Box 1

[۳] *Angiopoietin*

[۴] Vascular Endothelial Growth Factor

می دهد (۵). یکی از مسیرهای سیگنالی مهم در فرایند آنژیوژنز اسلیت (S)[۱]و گیرنده آن روبو (R)[۲]است. تحقیقات نشان داده‌اند که سیگنالینگ S-R در تنظیم آنژیوژنز و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال برای تشکیل سلول‌های جدید نقش دارد (۶).

تحقیقات نشان داده اند ورزش و فعالیت بدنی از طریق القای هیپوکسی بافتی می تواند باعث افزایش عوامل آنژیوژنیک شده و آنژیوژنز را توسعه دهد. نورشاهی و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که تمرین در شرایط هیپوکسی- نورموباریک به مدت ۸ هفته در افزایش سطوح VEGF مؤثر است (۷). کاکی و همکاران (۲۰۲۰) در تحقیقی ۴۰ موش نر ویستار را به ۴ گروه نروپاتی دیابت، نروپاتی دیابت تمرینی، سالم تمرینی و کنترل تقسیم نمودند. القای دیابت با تزریق استروپتوزوتوسین[۳] انجام شد. گروه های تمرین به مدت ۶ هفته تمرین هوازی با شدت ۱۵ متر بر دقیقه و مدت ۳۰ دقیقه در هر جلسه را اجرا نمودند. نتایج نشان داد که تمرین موجب کاهش HMGB1 و مالون دی آلدهید و افزایش سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شد (۸). ثاقب جو و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که ۲ساعت پس از تمرین شنای زیرآبی به مسافت ۲۰ متر (۱۰ تکرار و بین هر دو تکرار یک دقیقه استراحت) میزان HIF1α در شناگران مرد جوان کاهش پیدا کرد (۹).

یکی از مواردی که آنژیوژنز در آن بسیار مهم است هنگام سکته های قلبی و مغزی است، جایی که در اثر انسداد عروق، بافت مشروب شونده دچار نکروز شده و سکته رخ می دهد و آنژیوژنز در این محل می تواند با ایسکمی حاصل مقابله نماید و از سکته های مرگبار پیشگیری نماید (۱۰). امروزه عمده ناتوانی های بلندمدت و مرگ و میر در دنیا ناشی از سکته است که با تخریب جدی عصبی و نواقص جسمانی مداوم همراه است. در میان مداخلات بازتوانی سکته، تمرینات ورزشی در بازیافت عملکرد مغزی تأثیرات چشمگیری دارند و عملکرد حرمتی را تا حد زیادی بهبود می بخشند. عملکرد ورزش در حفاظت و بازیافت نرون های مغزی به طور گسترده ای مورد مطالعه و گزارش واقع شده است، اما مکانیزم های مربوطه هنوز ناشناخته هستند. بازساختاری عصبی عروقی یک مؤلفه اصلی بازیافت پس از سکته است، به طوری که آنژیوژنز مغزی نقشی اساسی در این مورد ایفا می کند. گزارشات نشان می دهند که آنژیوژنز موجب توسعه نروژنز می گردد و رشد مجدد ساختارهای عروقی می تواند حمایت مولکولی لازم برای بازیافت شبکه های عصبی را فراهم نماید (۱۱). مهار آنژیوژنز در بیماری هایی مثل سرطان موجب بهبود این بیماری می شود، ولی در مواردی چون ایسکمی های مغزی و قلبی منجر به سکته،

[۱] Slit

[۲] Robo

[۳] Streptozotocin

تحریک آنژیوژنز موجب درمان عارضه می گردد (۱۰). بنابراین در این تحقیق تأثیر تمرینات ورزشی بهمراه داروی آدنوزین بر ۶ عامل آنژیوژنیک (AP1، HIF1، HIF2α، HMGB1، S2 و R4) مورد بررسی قرار گرفت.

روش شناسی

این پژوهش تجربی مورد تأیید کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی با کد IR.SSRI.REC.1395.115 می باشد. با توجه به اینکه آزمودنی های گروه های مختلف این تحقیق را موش های صحرایی نر تشکیل می دادند که در یک محیط کنترل شده و در یک طرح پس آزمون تحت تاثیر متغیرهای مستقل (تمرین استقامتی) قرار گرفتند، لذا روش انجام اگر چه از نوع تحقیق تجربی بود؛ و به نحوی که فقط در شرایط آزمایشگاهی محض می باشد. بدین منظور موش های نر صحرایی نژاد ویستار از مرکز تحقیقات بنیادی علوم ورزشی و پزشکی مولکولی شهید میرغنی خریداری شدند. برای همه آن ها شرایط مناسب آزمایشگاهی و چرخه ی روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با میانگین دمای ۳±۲۲ درجه سانتیگراد فراهم شد. پس از گذشت یک هفته، جهت سازگاری با محیط جدید، تمامی رت ها تا رسیدن به میانگین سن ۸-۷هفته و وزن اولیه ۱۸۰ گرم از رژیم غذایی نرمال استفاده می کردند که پس از آن به گروه های ۱ (ایسکمی)، ۲ (ایسکمی + تمرین) و ۳ (ایسکمی + تمرین + دارو) (هر گروه ۵ موش) تقسیم شدند. هر ۴ سر موش در یک قفس و در شرایط کنترل شده دمایی (۲ ± ۲۲ درجه سانتی گراد) و چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری می شدند. وزن موش ها به وسیله ترازوی دیجیتالی با حساسیت ۰/۰۱ گرم (ساخت کمپانی Sartarias آلمان) هر هفته یک بار اندازه گیری می شد.

حیوانات مورد آزمایش در این پژوهش در قفس های پلی کربنات شفاف به طول ۳۰، عرض و ارتفاع ۱۵ سانتی متر ساخت شرکت رازی راد، در دمای محیطی با ۲±۲۲ درجه سانتیگراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوای ۵±۵۰ درصد با تهویه مناسب نگهداری می شدند. غذای آزمودنی ها، از شرکت خوراک دام به پرور کرج تهیه شد. در این پژوهش آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنها قرار داده شد. ابزار گردآوری اطلاعات شامل کیت های مخصوص آزمایشگاهی، تردمیل ۱۰ لاینه، دستگاه سانتریفیوژ، دماسنج جیوه ای(ساخت ایران)، رطوبت سنج ساخت آلمان، ترازو با حساسیت بالا، لوله های فالکون، و سایر دستگاه ها و وسایل ویژه آنالیز نمونه ها بودند.

ابتدا ۵ رت به صورت گروه مطالعه مقدماتی برنامه تمرینی را به مدت ۳ جلسه آشنا سازی و ۵ جلسه فعالیت اصلی اجرا کردند. مبنای شدت فعالیت ورزشی در این مطالعه سرعت ۳۰ متر در دقیقه معادل ۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی رت ها بود.

بنابراین در این مطالعه گروه های تمرینی به مدت۱ هفته برای ۳ روز متناوب به منظور آشنا سازی با فعالیت ورزشی و دستگاه تردمیل با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه (تقریباً ۴۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی) تمرین می کردند. بعد از یک روز استراحت پروتکل ۵ جلسه اجرا شد. با توجه به رعایت اصل افزیش تدریجی شدت و حجم تمرین، در تمامی رت های گروه های تمرین، پروتکل تمرین استقامتی را با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه و مدت ۲۰ دقیقه در هفته ی اول شروع را انجام می دادند و به تدریج به سرعت ۳۰ متر بر دقیقه و مدت ۵۰ دقیقه با شیب ۱۰ درجه در هفته ی ۸ می رسید که معادل ۷۰٪ حداکثر اکسیژن ارزیابی شده به عنوان شدت مورد نظر در گروه های تمرین استقامتی در نظر گرفته شد. مرحله ی گرم کردن شامل گرم کردن به مدت ۳ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه و بدنبال آن به مدت ۲ دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه در نظر گرفته شد و همچنین پس از اجرای تمرین اصلی در هر گروه، رت ها به مدت ۱ دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه و سپس مدت ۲ دقیقه با شدت ۱۰متر در دقیقه، به عنوان پروتکل سرد کردن انجام شد. مدت تمرینات ۸ هفته (۵ جلسه در هفته) بود (۱۲).

قبل از انجام جراحی اقدامات بهداشتی و ایمنی و رفتاری (حرکت طبیعی اندام ها) اجرا شد. سپس با توجه به پایلوت انجام شده در جهت بررسی مقدار آسیب دیدگی ناشی از مدت زمان انسداد شریان ها و نیز بواسطه ی بررسی بهتر و دقیق تر ورزش و دارو شریان های مشترک کاروتید به مدت پس از مشاهده و جدا شدن از عصب واگ با استفاده از گیره های میکرو سرحری به ۴۵ دقیقه مسدود شد و سپس پس از پایان زمان میکروسرجری ها برداشته شد و جریان خون شریان مشترک برقرار شد. به منظور بررسی میزان اسیب دیدگی در نتیجه ی ۴۵ دقیقه ایسکمی رپرفیوژن مغزی در اندام، از ازمون حسی حرکتی لدر[1]ساعت پس از ایسکمی انجام شد. برای تأمین داروی آدنوزین، این ماده از آزمایشگاه دانشکده پزشکی تهران خریداری شد. آدنوزین ۲۴ ساعت پس از القای ایسکمی رپرفیوژن به آزمودنی های گروه ۳ هر روز به مدت یک هفته با دوز ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق شد. این دوز بر اساس ۵۰٪ دوز کشنده بود (۱۳).

پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی نمونه گیری خون از موش ها در حالت ناشتایی و از ورید اجوف گرفته شد. موش ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین و زایلوزین بیهوش شدند. سپس هیپوکامپ رت ها برای آنالیز بیان ژن جدا شد. برای هموژن کردن بافت مراحل زیر انجام شد:

۱) بافت مورد نظر از فریزر خارج و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن کشی شد.

[1] Ladder Walking Test

۲) بافت داخل لوله آزمایش فالکون ۱۵ قرار داده خواهد شد و به نسبت هر ۰/۵گرم بافت مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول لیز کننده تک فازی روی آن ریخته شد.

۳) برای حفظ پروتئین های بافت، آپروتینین به آن اضافه گردید.

۴) با استفاده از هموژنایزر به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه بافت هموژن گردید.

۵) محلول بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید.

۶) محلول رویی توسط سمپلر به داخل میکروتیوب منتقل و رسوب باقیمانده دور ریخته شد.

برای بررسی بیان ژن های AP1، HIF1، HIF2α، HMGB1، S2 و R4 از تکنیک واکنش زنجیره پلیمراز[۱] (RTPCR)[۲]استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت ها استخراج[۳]گردید و به cDNA[۴] تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. این تکنیک دارای ۴ مرحله اساسی می باشد:

۱) RNA کل از سلول های جمع آوری شده در هر گروه استخراج گردید.

۲) با استفاده از آنزیم کپی برداری معکوس به cDNA تبدیل شد.

۳) cDNA حاصل جهت حذف DNA ژنومی با آنزیم DNase I تیمار شد.

۴) به روش Real time PCR تکثیر گردید.

اولین و مهم ترین مسئله در هنگام کار با RNA، دقت در جلوگیری از آلودگی با RNase است. آنزیم RNase، نوکلئازی است که در هنگام پاره شدن سلول ها در بافت خارج می شود و روی سطح پوست و درون مایعاتی همچون عرق و بزاق، به فراوانی موجود است. از طرفی، RNase به دلیل دارا بودن باند های دی سولفیدی درون زنجیره ای، در مقابل جوشاندن طولانی و دناتوراسیون ملایم به شدت مقاوم است. بنابراین بهترین راه جهت جلوگیری از بروز مشکل، اجتناب از آلودگی ظروف شیشه ای، لوله ها و سطوح، با این آنزیم است. دقت در ساخت و استفاده از بافر ها و پیپتور ها نیز یکی از راه های جلوگیری از بروز مشکل می باشد. در صورت آلودگی بافر ها با میکروارگانیسم، تنها راه، تعویض بافر است، زیرا RNase با اتوکلاو کردن از بین نمی رود. لذا هنگام کار با RNA رعایت نکات زیر ضروری است:

---

[۱] Abi Applied Biosystems, Real-Time Pcr Systems, Stepone™, Real-Time Pcr Systems

[۲] Real Time Polymerase Chain Reaction

[۳] Rna Extraction Was Performed Manually Using A Solution Of Trizol

[۴] Cdna Synthesis Kits - Thermo Scientific, Revert Aid First Strand Cdna Synthesis Kit

۱) تمامی ظروف و پیپت های مورد استفاده باید به ترتیب زیر عاری از آنزیم RNase شوند: ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و یا ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محلول ۰/۱ درصد DEPC قرار داده شدند تا DEPC از بین برود. وجود DEPC می تواند مانعی در روند بررسی و تجزیه و تحلیل RNA ایجاد کند.

۲) پوشیدن دستکش و زدن ماسک در تمامی مراحل کار با RNA الزامی است.

۳) تمام بافر ها و محلول ها باید در آب مقطر تیمار شده با DEPC تهیه شود.

۴) مراحل استخراج RNA زیر هود که نیم ساعت قبل از آن با UV استریل شده باشد انجام شود.

جهت بررسی های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت ها در همه گروه های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. ابتدا به تخمک ها ا ۳۰۰-۲۰۰ لاندا کیازول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت آن را در دمای ۸۰- قرار گرفت.

پس از ۲۴ ساعت پلاک موجود در کرایوتیوب را در حالت نیمه انجماد توسط سرسمپلر خرد کرده، سپس کمی آن را پیپتاژ گردید. سپس به نمونه حدود ۱۰۰ لاندا کلروفرم اضافه شد تا سلول ها لیز شود. این محلول حدود ۱ دقیقه باید با سلول ها در تماس بود. پس از ۱ دقیقه محلول را با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ محلول به سه فاز تقسیم شد:

۱) قسمت بالایی لوله که شفاف و حاوی RNA بود.

۲) قسمت وسطی لوله که سفید رنگ و محتوی بافت لیز شده بود.

۳) قسمت پایینی لوله که صورتی و حاوی کیازول بود.

مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود به آرامی برداشته و در یک میکروتیوب DEPC شده قرار داده شد. پس ۱ سی سی ایزوپروپانول را بر روی RNA شفاف ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه با دست به هم زده شد. ایزوپروپانول شفاف بوده و RNA نیز شفاف می باشد اما وقتی این دو با هم مخلوط شوند مایع کدری را به وجود می آورند. بهتر است این محلول به دست آمده یک شب در دمای ۸۰- قرار گیرد. پس از افزودن ایزوپروپانول نمونه ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از خارج کردن از سانتریفیوژ مایع رویی تخلیه و روی آن ۱ سی سی الکل ۷۰ اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. سپس مایع رویی با سمپلر تخلیه گردید و سپس پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد. به منظور حل کردن RNA به میزان ۲۰ لاندا آب مقطر

۶۰ درجه بر روی پلاک داخل میکروتیوب ریخته شد. سپس کمی با سرسمپلر پیپتاژ و به مدت ۵ دقیقه بر روی صفحه ی ۶۰ درجه قرار داده شد. RNA استخراج شده تا زمان استفاده در دمای ۸۰- قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری از روش انووای یک طرفه و تست تعقیبی ال اس دی استفاده شد.

یافته ها

مقادیر توصیفی متغیرهای وابسته در هر گروه در جدول۱ آمده است. نتایج انووای یک طرفه نشان داد که بین گروه ها در همه متغیرها تفاوت معنی دار وجود دارد (جدول۲). بنابراین براساس نتایج تست تعقیبی ال اس دی، در مورد HIF1α، بین گروه های ۱با۳ و ۲با۳ تفاوت معنی داری در بیان ژن این ماده وجود داشت (P=0/000)؛ در مورد بیان ژن HIF2α، بین همه گروه ها تفاوت معنی داری وجود داشت (P=0/000)؛ بیان ژن R4 بین گروه های ۱با۲ و ۱با۳ متفاوت بود (P=0/004)؛ بیان ژن S2 بین همه گروه ها متفاوت بود (P=0/000)؛ بیان ژن HMGB1 بین گروه های ۱با۲ (P=0/011)، ۱با۳ (P=0/000) و ۲با۳ (P=0/000) متفاوت بود و نیز تفاوت معنی داری بین همه گروه ها در بیان ژن AP1 مشاهده شد (P=0/000).

جدول ۱: نتایج آزمون انووای یک طرفه

متغیر	گروه۱ (ایسکمی)	گروه۲ (ایسکمی + تمرین)	گروه۳ (ایسکمی + تمرین + دارو)	P-value*
HIF1α	۰/۰۰۸۱۷۸۶۷۸۸ ± ۰/۰۰۴۵	۰/۰۱۰۶۲۳۲ ± ۰/۰۰۳	۰/۰۳۰۵۲۱۲۹۱۸ ± ۰/۰۰۸۸	۰/۰۰۰
HIF2α	۰/۰۰۰۰۲۱۷۷۱ ± ۰/۰۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۷۱۳۳۵۱ ± ۰/۰۰۰۰۰۶۵۶	۰/۰۰۰۲۰۹ ± ۰/۰۰۰۰۲۵۸۴۲۳	۰/۰۰۰
ROBO4	۰/۰۰۴۶۲۲۴۲۱۸ ± ۰/۰۰۲۸۲۸۴۶	۰/۰۰۹۸۳۳ ± ۰/۰۰۱۷۹۶۳۵۲۸	۰/۰۰۹۹۵۱۳۴۵۲ ± ۰/۰۰۲۳۴۱۴۷	۰/۰۰۵
SLIT2	۰/۰۰۰۳۴۵۹۳ ± ۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۱۵۱۴۶۲۲۸ ± ۰/۰۰۰۱۱۳۸	۰/۰۰۲۶۸۸۵۹۳۴ ± ۰/۰۰۰۵۲۹۳۳۶۴	۰/۰۰۰
HMGB1	۰/۰۸۳۹۲۳۸ ± ۰/۰۱۴۸۵۷	۰/۱۶۹۸۹ ± ۰/۰۲۴۵۲۴۸	۰/۳۴۳۸۵۲۹۹۳۸ ± ۰/۰۷۲۷۲۶	۰/۰۰۰
AP1	۰/۰۰۰۳۵۲۲۵۹۸ ± ۰/۰۰۰۰۸۵۶۶۶۸	۰/۰۰۵۸۱۷۹۳۵۲ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۰۹۳۱۹۴۳۶۶ ± ۰/۰۰۱۵۹۸۲۲۵۳	۰/۰۰۰

* تفاوت بین گروه ها براساس آزمون انووای یک طرفه

بحث و نتیجه گیری

هیچ تحقیق مشابهی بااین تحقیق که در آن اثر تعاملی تمرین استقامتی و داروی آدنوزین بر بیان چندین ژن آنژیوژنیک پس از آسیب ایسکمی رپرفیوژن مغزی موش ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته باشد یافت نشد. یکی از یافته های این تحقیق تفاوت معنی دار در بیان ژن HIF1α بین گروه های ۱با۳ و ۲با۳ بود که نشان می دهد بیان ژن این ماده بیشتر تحت تأثیر آدنوزین است تا تمرین به تنهایی، چرا که تفاوت معنی داری بین گروه ۱با۲ مشاهده نشد. همچنین میزان بیان ژن

HIF2α بین همه گروه ها متفاوت بود. میردار و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که ۳ هفته تمرین شنا (۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۶۰ دقیقه) موجب افزایش میزان HIF1α در موش های باردار شد (۱۴). وانگ و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که ۴ هفته (۶ جلسه در هفته، هر جلسه ۶۰ دقیقه) تمرین شنا با افزایش بیان ژن HIF1α موجب کاهش حجم ناحیه سکته زده پس از آسیب ایسکمی رپرفیوژن می گردد (۱۵). فلورا و همکاران (۲۰۱۶) اظهار نمودند که HIF1α و VEGF با یکدیگر همبستگی دارند و تمرینات بی هوازی موجب افزایش آنها می شود (۱۶). آنها در تحقیق دیگری نیز بیان کردند که تمرینات هوازی و بی هوازی موجب افزایش HIF1α و VEGF در میوکارد رت ها می شود (۱۷). در تحقیق سیلویانا و همکاران (۲۰۱۸) ۴ هفته تمرین شنا (۵جلسه در هفته، هر جلسه ۳۰ دقیقه) موجب افزایش بیان ژن هم فعال ساز۱ آلفای گیرنده گامای تکثیرشونده با پراکسیزوم (PGC1α)[۱]و کاهش بیان ژن HIF1α در عضله قلبی موش ها شد (۱۸).

بااینکه همه گروه های این تحقیق در بیان ژن HIF2α با یکدیگر متفاوت بودند، ولی در مورد HIF1α فقط گروه های ۱با۳ و ۲با۳ باهم متفاوت بودند، یعنی فقط گروهی که هم تمرین دیده بود و هم آدنوزین مصرف کرده بود، با گروه های دیگر متفاوت بود، بنابراین احتمالا آدنوزین تأثیر بیشتری بر HIF1α نسبت به HIF2α می گذارد که البته برای چنین نتیجه گیری نیاز به تحقیقات بیشتری است. البته محققان قبلی نیز نشان داده اند که آدنوزین باعث افزایش بیان ژن و فعالیت VEGF و HIF1α از طریق مکانیزم های مربوط به پروتئین کیناز فعال شونده با میتوژن (MAPK)[۲]می گردد (۱۹). هایپوکسی از طریق سازوکارهای MAPK موجب فعال شدن HIF1α می شود که این ماده نیز از طریق افزایش بیان ژن هایی چون VEGF، ناقل۱ گلوکز (Glut1)[۳]، فسفوفروکتوکیناز، اریتروپویتین و ... در تنظیم متابولیسم لیپید و کربوهیدرات و آنژیوژنز درگیر است. لازم به ذکر است که یکی از محرک های هایپوکسی تمرینات ورزشی هستند. همچنین پراکسیژنی از طریق آسپاراژینیل هیدروکسیلاز[۴]و پرولین هیدروکسیلاز وابسته به آهن[۵]باعث تثبیت HIF1α می گردد که متعاقبا توسط پروتئین هیپل لیندای سرکوبگر تومور (pVHL)[۶]تجزیه شده و فعالیت آن پایان می یابد. تمرینات ورزشی همچنین از طریق افزایش گونه های واکنشگر اکسیژن (ROS) موجب فعال شدن دو مسیر کیناز تنظیم شوند با سیگنال برون سلولی (ERK)[۷]

[۱] Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ Coactivator 1 Alpha

[۲] Mitogen Activated Protein Kinase

[۳] Glucose Transporter 1

[۴] Asparaginyl Hydroxylase

[۵] Fe^{2+} Dependent Proline Hydroxylase

[۶] Von Hippel Lindau Tumor Suppressor Protein

[۷] Extracellular Signal Regulated Kinase

و فسفاتیدیل اینوزیتول-۳-کیناز / پروتئین کیناز B (PI3K/Akt)[۱]می گردند که هر دو در فعال سازی HIF1α مؤثرند که این ماده هم در آنژیوژنز، بیوژنز میتوکندری و ... درگیر است (۲۰).

در این تحقیق، بااینکه بیان ژن S2 بین همه گروه ها متفاوت بود، ولی بیان ژن R4 فقط بین گروه های ۱با۲ و ۱با۳ متفاوت بود، بنابراین برعکس HIF1α، به نظر می رسد آدنوزین تأثیر کمتری بر بیان ژن R4 دارد. علیرغم اهمیت S2 و R4 در آنژیوژنز، هیچ تحقیقی که در آن تأثیر مداخلات ورزشی بر S2 ویا R4 مورد بررسی قرار گرفته باشد یافت نشد. چندین مسیر اصلی لیگاند سیگنالی لیگاند/گیرنده برای آنژوژنز وجود دارد که عبارتند از: VEGF/VEGFR، Jagged1/Notch، Wnt/Frizzled، Ephrin/Eph و S2/R4. سیگنالینگ S2/R4 یکی از جدیدترین مسیرهای شناخته شده در تنظیم مهاجرت سلول های اندوتلیال در طی تشکیل عروق جدید است. این ترکیب سیگنالی، در ابتدا به عنوان یک علامت برون سلولی در هدایت مسیر اکسون، توسعه انشعابات اکسونی و کنترل مهاجرت نرونی شناخته می شد. تحقیقات نشان داده اند این مسیر سیگنالی از طریق مکانیزم های مربوط به ERK، کیناز چسبان فوکال (FAK)[۲]و کیناز MAPK (MEK)[۳]موجب مهاجرت سلول های اندوتلیال و آنژیوژنز مغزی می گردد (۲۱،۲۲). با توجه به اهمیت سیگنالینگ S2/R4 در آنژیوزنز، نیاز به تحقیقات بیشتر در زمینه تأثیر تمرینات ورزشی بر این پروتئین هاست.

یکی دیگر از یافته های این تحقیق، تفاوت بیان ژن HMGB1 در همه گروه ها پس از پایان تمرینات بود. در مورد این ماده نیز به عنوان یک عامل آنژیوژنیک، تحقیقات ورزشی زیادی انجام نگرفته است. در تحقیق گاه و همکاران (۲۰۲۰) ۳ هفته تمرین موازی (هوازی + مقاومتی) موجب افزایش HMGB1 پلاسما شد (۲۳). تقی بیگی حسین آبادی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ۸ هفته تمرین هوازی باعث کاهش بیان ژن های HMGB1، ریج[۴] گیرنده۴ شبه گذرگاهی (TLR4)[۵]و عامل هسته ای کاپابی (NFκB)[۶]در بافت قلبی موش های صحرایی شد که موجب کاهش هایپرگلیسمی می شود (۲۴). در تحقیق کاکی و همکاران (۲۰۲۰) ۶ هفته تمرین تداومی روی تردمیل با شدت ۱۵ متر بر دقیقه باعث کاهش سطوح سرمی HMGB1 و مالون دی آلدهید و افزایش سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در موش های صحرایی مبتلا به

[۱] Phosphatidylinositol 3-Kinase/Protein Kinase B

[۲] *Focal Adhesion Kinase*

[۳] Mitogen Activated Protein *Kinase Kinase*

[۴] Rage

[۵] Toll-Like Receptor 4

[۶] Nuclear Factor Kappa B

نروپاتی دیابت شد (۸). در تحقیق گیالوریا و همکاران (۲۰۱۱) ۶ ماه بازتوانی قلبی پس از انفارکتوس میوکارد موجب کاهش سطوح HMGB1 در بیماران مربوطه شد (۲۵). آنها در تحقیق دیگری اظهار نمودند ۱۲ ماه تمرین ورزشی سطوح HMGB1 را در زنان مبتلا به سرطان پستان کاهش داد (۲۶).

HMGB1 یک پروتئین متصل به اسید دزوکسی ریبونوکلئیک (DNA) است که نقش مهمی در فرایندهای التهابی و آنژیوزنیک بازی می کند. این ماده پس از آسیب ایسکمی به سرعت از سلول ترشح می شود و تبدیل به میانجی فرایندهای التهابی از جمله ترشح سایتوکاین های پیش التهابی، مولکول های چسبان و احتمالا عوامل آنژیوژنیک می گردد (۲۵). مطالعات نشان داده اند افزایش فعالیت نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH)[1]اکسیداز و مکانیزم های مربوط به NFκB در افزایش بیان ژن HMGB1 مؤثرند (۲۴). استرس ناشی از مسمومیت با گلوکز موجب ترشح HMGB1 از اندوتلیوم، نرون ها، سلول های شوان و میکروگلیاها به فضای خارج سلولی می شود، سپس این ماده از طریق تعامل با گیرنده هایی چون ریج و TLR، NFκB را فعال نموده و متعاقبا بیان ژن های التهابی و احتمالا آنژیوژنیک را تحریک می نماید. همچنین اختلال در عملکرد HMGB1 می تواند از طریق عوارضی چون استرس اکسایشی، اختلال جریان خون نرونی، تجزیه میلین، کاهش نروتروفین ها و اختلال در نوزایش عصبی، موجب آتروفی آکسونی، اختلال هدایت عصبی و حساسیت نرون های حسی محیطی گردد (۸). پروتئین های شوک گرمایی مانند پروتئین ۷۰ شوک گرمایی (HSP70)[2] پروتئین۱ جذاب شیمیایی (MCP1)[3] فعالیت مونوسیتی، استرس اکسایشی، سایتوکاین های ضدالتهابی مانند اینترلوکین۱۰ و عامل۲ تنفسی هسته ای (NRF2) از عوامل مؤثر بر HMGB1 هستند (۸،۲۳). HMGB1 از طریق فعال سازی ریج، NFκB، AP1 و HIF1α موجب افزایش بیان ژن و ترشح VEGF و متعاقبا آنژیوژنز می گردد (۲۷).

آخرین یافته این تحقیق افزایش بیان ژن AP1 در گروه های ۲و۳ نسبت به گروه۱ بود. ژنگ و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که ۲ هفته تمرین تردمیل باعث افزایش بیان ژن AP1 و Tie2 در رت های نر شد (۱۱). احمدیان و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین استقامتی (۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۶۰ دقیقه) باعث افزایش بیان ژن AP1 در موش های سرطانی شد. AP1 با تحریک فسفوریلاسیون Tie2 باعث القای تشکیل مویرگ و عروق جدید می شود (۲۸). به طور کلی تحقیقات درباره تأثیر ورزش بر AP1 و دیگر متغیرهای وابسته در این تحقیق بسیار محدود است و همین موضوع تفسیر نتایج

[1] Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase

[2] 70 Kilo Dalton Heat Shock Protein

[3] Monocyte Chemoattractant Protein 1

را با مشکل مواجه می سازد. آنژیوژنز یک فرایند بسیار پیچیده است که شامل فعال سازی، مهاجرت و تکثیر سلول های اندوتلیال است. به غیر از AP1، بسیاری از عوامل آنژیوژنیک دیگر مانند عامل رشد فیبروبلاست و عامل رشد تبدیلی و عوامل آنتی آنژیوژنیک مانند اندوستاتین و آنژیوستاتین در آنژیوژنز درگیرند و هرگونه اثر محافظتی ورزش بر سکته مغزی از طریق آنژیوژنز از طریق تعامل این عوامل صورت می پذیرد (۱۱). بنابراین نیاز به تحقیقات گسترده ای درباره تأثیر انواع فعالیت های بدنی بر انواع عوامل آنژیوزنیک و آنتی آنژیوزنیک در جمعیت های مختلف می باشد.

به طور کلی یافته های این تحقیق نشان داد پس از آسیب ایسکمی رپرفیوژن، هشت هفته تمرین استقامتی از طریق افزایش بیان ژن های آنژیوژنیک HIF1α، HIF2α، S2، R4، HMGB1 و AP1 می تواند در افزایش جریان خون مغزی و بهبود نرون های آسیب دیده از سکته مؤثر باشد و چنانچه تمرینات همراه با مصرف آدنوزین باشد این اثر بیشتر خواهد بود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از پژوهشگاه شهید میرغنی بخصوص جناب آقای دکتر سید جواد میرغنی در عملیات آزمایشگاهی کمال تقدیر و تشکر را دارد.

منابع

1. Rostami A, Khazaei MA. Inflammation and angiogenesis: role of inflammatory cells and mediators. J Isfahan Med Sch. 2016;34(384):1-1.
2. He QW, Li Q, Jin HJ, Zhi F, Suraj B, Zhu YY, et al. MiR-150 regulates poststroke cerebral angiogenesis via vascular endothelial growth factor in rats. CNS Neurosci Ther. 2016;22(6):507-17.
3. Yan J, Xing J, Li T, Zheng L, Wang Y, Su J, et al. Downregulation of microRNA-519 promotes angiogenesis induced by cerebral ischemia via upregulating HIF-1α expression. Int J Clin Exp Pathol. 2016;9(10):9974-83.
4. Yang H, Wang H, Czura CJ, Tracey KJ. The cytokine activity of HMGB1. J Leukocyte Biol. 2005;78(1):1-8.
5. Qiu J, Nishimura M, Wang Y, Sims JR, Qiu S, Savitz SI, et al. Early release of HMGB-1 from neurons after the onset of brain ischemia. J Cerebr Blood F Met. 2008;28(5):927-38.
6. Ni W, Wang Hy, Liu T. Review of Recent Research of Slit/Robo Signal in Angiogenesis and Endothelial Cell Migration. Adv Cardiovas Dis. 2012;5.
7. Nourshahi M, Taheri Chadorneshin H, Pirouz M. Effect of endurance training in hypoxia-normobaric and normal conditions on serum VEGF concentration, hemoglobin and blood hematocrit. Horizon Med Sci. 2012;18(3):135-40.

8. Kaki A, Nikbakht M, Habibi A, Fathi MH. The effect of aerobic exercise on HMGB1 protein levels and some oxidative stress indices in rats with diabetic neuropathic pain. Danehvar Med. 2019;27(3):27-38.
9. Eidi Yusef Abad H, Nezamdoust Z. The response of serum levels of hypoxia inducible factor–1α, vascular endothelial growth factor and peripheral capillary oxygen saturation to one session of underwater swimming training (Apnea) in young men. J Appl Exerc Physiol. 2017;12(23):181-191.
10. Salehi E, Amjadi FS, Khazaei M. Angiogenesis in Health and Disease: Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). J Isfahan Med Sch. 2011;29(132).
11. Zheng Q, Zhu D, Bai Y, Wu Y, Jia J, Hu Y. Exercise improves recovery after ischemic brain injury by inducing the expression of angiopoietin-1 and Tie-2 in rats. Tohoku J Exp Med. 2011;224(3):221-8.
12. Mirghani SJ, Peeri M, Yekani OY, Zamani M, Feizolahi F, Nikbin S, et al. Role or synergistic interaction of adenosine and vitamin D3 alongside high-intensity interval training and isocaloric moderate intensity training on metabolic parameters: Protocol for an Experimental Study. JMIR Res Prot. 2019;8(1):e10753.
13. Jozaie A, Movahedi M, Khosravi M, Golab F. The effects of adenosine injection after of brain ischemia reperfusion injury on gene expression of NF-kB/p65 and activity level of ROS in hippocampus tissue of male wistar rats. Razi J Med Sci. 2019;26(2):74-84.
14. Mirdar S, Hedayati M, Hajizade A. The effect of endurance swimming exercise on hif-1 levels in livers of pregnant rats exposed to cadmium toxicity. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2014;12(11):919-28.
15. Wang L, Deng W, Yuan Q, Yang H. Exercise preconditioning reduces ischemia reperfusion-induced focal cerebral infarct volume through up-regulating the expression of HIF-1α. Pak J Pharm Sci. 2015;28(2 Suppl):791-8.
16. Flora R, Zulkarnain M, Sorena E, Deva ID, Widowati W. Correlation between hypoxia inducible factor-1α and vesicular endothelial growth factor in male Wistar rat brain tissue after anaerobic exercise. Trends Med Res. 2016;11(1):35-41.
17. Flora R, Freisleben HJ, Ferdinal F, Wanandi SI, Sadikin M. Correlation of hypoxia inducible factor-1α and vascular endothelium growth factor in rat myocardium during aerobic and anaerobic exercise. Med J Ind. 2012;21(3):133-40.
18. Sylviana N, Helja N, Qolbi HH, Goenawan H, Lesmana R, Syamsunarno MR, et al. Effect of Swimming Exercise to Cardiac PGC-1 α and HIF-1 α Gene Expression in Mice. Asian J Sports Med. 2018;9(4).
19. Merighi S, Benini A, Mirandola P, Gessi S, Varani K, Simioni C, et al. Caffeine inhibits adenosine-induced accumulation of hypoxia-inducible factor-1α, vascular endothelial growth factor, and interleukin-8 expression in hypoxic human colon cancer cells. Mol Pharmacol. 2007;72(2):395-406.
20. Ohno H, Shirato K, Sakurai T, Ogasawara J, Sumitani Y, Sato S, Imaizumi K, Ishida H, Kizaki T. Effect of exercise on HIF-1 and VEGF signaling. J Phys Fit Sports Med. 2012;1(1):5-16.
21. Tong M, Jun T, Nie Y, Hao J, Fan D. The role of the Slit/Robo signaling pathway. J Can. 2019;10(12):2694.
22. Fujiwara M, Ghazizadeh M, Kawanami O. Potential role of the Slit/Robo signal pathway in angiogenesis. Vasc Med. 2006;11(2):69-74.

23. Goh J, Hofmann P, Aw NH, Tan PL, Tschakert G, Mueller A, et al. Concurrent high-intensity aerobic and resistance exercise modulates systemic release of alarmins (HMGB1, S100A8/A9, HSP70) and inflammatory biomarkers in healthy young men: a pilot study. Trans Med Com. 2020;5(1):1-5.
24. Taghibeigi Hoseinabadi H, Esfarjani F, Marandi M, Karami H. Effects of Eight Weeks of Aerobic Training on Expression Levels of the HMGB1-RAGE/TLR4-NF-kB Proinflammatory Pathway in Cardiac Tissue of Male Rats with Hyperglycemia. Iran J Endocrinol Metab. 2019;20(5):246-52.
25. Giallauria F, Cirillo P, D'agostino M, Petrillo G, Vitelli A, Pacileo M, et al. Effects of exercise training on high-mobility group box-1 levels after acute myocardial infarction. J Card Fail. 2011;17(2):108-14.
26. Giallauria F, Gentile M, Chiodini P, Berrino F, Mattiello A, Maresca L, et al. Exercise training reduces high mobility group box-1 protein levels in women with breast cancer: findings from the DIANA-5 study. Mon Arch Chest Dis. 2014;82(2).
27. Talebi S, Bolhassani A, Mokhtari Azad T, Arashkia A, Modarressi MH. The roles of HMGB1 nuclear protein and its major domains in different biological fields. New Cell Mol Biotech J. 2018;8(29):9-22.
28. Ahmadian M, Azizbeigi K, Delfan M, Atashak S. Effects of 10-week continuous endurance training on angiopoietin-1 gene expression and the tie2 protein in mice with breast cancer. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019;41(1):7-13.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی