

## بررسی اثر یک دوره باز توانی قلبی با تمرین ترکیبی بر نسبت بیان ژن VEGF به اندوستاتین در بیماران قلبی با سابقه عمل جراحی بای پس کرونری

### چکیده

**زمینه:** بیماری‌های عروق کرونر یکی از علل شایع مرگ و میر در جهان به شمار می‌روند. با افزایش نرخ ابتلا به این بیماری‌ها، مداخلات جراحی و غیر جراحی و به دنبال آن برنامه‌های باز توانی و توان بخشی قلبی-عروقی اهمیت بیشتری یافته اند. فرآیند رگ‌زایی (آنژیوژنز) و بهبود جریان خون به عنوان یکی از اهداف درمانی در این بیماران مطرح است که تحریک این فرآیند و بهبود جریان خون در بافت مجاور منطقه ایسکمیک باعث بهبود شرایط بیمار می‌شود. در میان عوامل متعدد متابولیکی اثرگذار بر این فرآیند، افزایش عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) به عنوان مهم‌ترین محرک و کاهش اندوستاتین به عنوان مهم‌ترین عامل مهارکننده این فرآیند به شمار می‌رود. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر یک دوره باز توانی قلبی با تمرین ترکیبی بر نسبت بیان ژن VEGF به اندوستاتین بیماران قلبی پس از عمل بای پس شریان کرونر (CABG) بود.

**روش کار:** تعداد ۳۰ نفر مرد میانسال که تحت CABG قرار گرفته بودند، به صورت نمونه هدفمند و بر اساس معیارهای ورود به پژوهش انتخاب شدند. شرکت‌کننده‌ها به صورت تصادفی به دو گروه ۱۵ نفری کنترل و تمرین ترکیبی تقسیم شدند. برنامه تمرین ترکیبی برای مدت هشت هفته با تواتر سه جلسه و زیر نظر متخصصین باز توانی قلبی انجام شد. اندازه‌گیری سطح بیان ژن VEGF و اندوستاتین با استفاده از روش Real time-PCR صورت گرفت. از آزمون t وابسته و مستقل برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

**یافته‌ها:** افزایش معنی‌داری به دنبال یک دوره تمرین ترکیبی در بیان ژن VEGF بیماران CABG مشاهده گردید ( $P=0/001$ ). اما این تغییرات در مورد بیان ژن اندوستاتین ( $P=0/38$ ) و نسبت VEGF به اندوستاتین معنادار نبود.

**نتیجه‌گیری:** بررسی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که یک دوره تمرین ترکیبی باز توانی قلب با پروتکل مورد استفاده در پژوهش حاضر، توانست بر شاخص بیان ژن VEGF تغییر معناداری ایجاد کند. اما تمرین ترکیبی نتوانست بر بیان ژن اندوستاتین تأثیرگذار باشد، همچنین تغییرات نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. بنابراین، می‌توان بیان کرد که افزایش بیان ژن VEGF از نتایج سازگاری با فعالیت ورزش ترکیبی مورد استفاده در این پژوهش بوده و به احتمال زیاد فعالیت بدنی یک عامل مهم و اثرگذار در فرآیند آنژیوژنز محسوب می‌گردد و می‌تواند نقش مهمی در پیشگیری از مشکلات قلبی داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** تمرین ترکیبی، عمل جراحی بای پس کرونری، اندوستاتین، VEGF، بیان ژن

سید عماد علوی نیا<sup>۱</sup>، امیر رشید لمیر<sup>۲\*</sup>، رامبد خواجه ای<sup>۳</sup>، آمنه برجسته یزدی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> پزشکی و دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور، ایران.

<sup>۲</sup> دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

<sup>۳</sup> استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور، ایران.

\* نشانی نویسنده مسنول:

دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

نشانی الکترونیک:

rashidlamir@um.ac.ir

## مقدمه

مجاور منطقه ایسکمیک باعث بهبود شرایط بیمار شده و می‌تواند به‌عنوان یکی از اهداف درمانی در این بیماران مطرح باشد (۹). در میان ده‌ها عامل متابولیکی اثرگذار بر این فرآیند، افزایش عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)<sup>۱</sup> به‌عنوان مهم‌ترین محرک و کاهش اندوستاتین<sup>۸</sup> به‌عنوان مهم‌ترین عامل مهارکننده توسعه عروقی ناشی از فعالیت شناخته‌شده‌اند. (۱۰). VEGF، گلیکوپروتئینی است که از سلول‌های اندوتلیال ترشح شده و از طریق اتصال به گیرنده‌های تیروزین کینازی نوع یک (VEGF-R1) و نوع دو (VEGF-R2)<sup>۱۱</sup> پیام‌دهی می‌کند. عوامل مختلفی بر میزان تولید VEGF تأثیرگذارند که شدت و مدت فعالیت ورزشی، انقباض و کشش عضله از مهم‌ترین آن‌ها هستند (۱۱).

اندوستاتین یک پپتید ۲۰ کیلو دالتونی است که منشا آن کلاژن ۱۸ است و با کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال و فعال‌سازی سایر عوامل آنژیواستاتیک سبب کاهش فرآیندهای اساسی در توسعه عروق می‌گردد. کاهش اندوستاتین با افزایش VEGF منجر به تغییر تعادل بین عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک شده و نسبت عروق به تار عضلانی را افزایش می‌دهد (۱۲).

تمرین ترکیبی یکی از شیوه‌های تمرینی شناخته‌شده در سال‌های اخیر است. بهبود توسعه استقامت قلبی-تنفسی و قدرت عضلانی از ویژگی‌های این روش تمرینی می‌باشد. در سال‌های اخیر توجه محققین به سازگاری‌های ناشی از تمرین ترکیبی در بیماران بالینی افزایش یافته است. در رابطه با بیماری‌های قلبی-عروقی نیز از اثر مثبت تمرین ترکیبی حمایت شده است (۱۳). شناخت مکانیسم‌های بالقوه تمرین ترکیبی سبب بهبود ارتقاء سطح کیفی جامعه بیماران قلبی-عروقی شده و باعث می‌شود برنامه‌های راهبردی به سمت جامعه سالم تغییر جهت دهند. اگرچه پژوهش‌های متعددی در خصوص اثرات برنامه‌های ورزشی ویژه بازتوانی صورت گرفته است، با این حال اتفاق نظر قابل توجهی درباره شدت، مدت و حتی نوع برنامه‌های بازتوانی وجود نداشته و محققین جهت دست یافتن به مزایای بیشتر و بهتر ورزش، پروتکل‌های مختلف ورزشی را با جزئیات بیشتری مورد مطالعه قرار می‌دهند (۱۴).

نظر به اینکه تاکنون توافقی قطعی در مورد تأثیر تمرین بر بیان ژن VEGF و اندوستاتین چه در افراد سالم و چه در بیماران وجود ندارد (۱۵، ۱۴)، و با توجه به این که براساس اطلاعات ما، تاکنون پژوهشی که بتواند ارتباط فعالیت بدنی بیماران قلبی را با سطح بیان ژن VEGF و اندوستاتین و نسبت این دو مورد سنجش قرار دهد انجام نشده است؛ به نظر می‌رسد مطالعه پیرامون این که تمرینات ترکیبی تا چه حد می‌تواند بر میزان سطح بیان ژن VEGF و اندوستاتین و نسبت این دو در بیماران قلبی اثرگذار باشد ضروری است. لذا هدف از انجام این

بیماری‌های ایسکمیک قلبی (IHDs)<sup>۱</sup>، گروهی از سندرم‌های مرتبط با هم هستند که به دلیل کاهش خون‌رسانی به میوکارد ایجاد می‌شوند. بروز این بیماری‌ها یکی از مهم‌ترین عوارض جهان امروزی می‌باشد که درصد زیادی از مرگ و میر ناگهانی را در اغلب کشورها به خود اختصاص داده است. از آنجایی که شایع‌ترین علت ایسکمی میوکارد، بیماری آترواسکلروز<sup>۲</sup> (انسداد) شریان کرونر<sup>۳</sup> است، این بیماری را معمولاً بیماری عروق کرونر<sup>۴</sup> می‌نامند (۱). بیماری عروق کرونر نتیجه رسوب تدریجی کلسترول و تجمع سلول‌های التهابی، سلول‌های عضلانی صاف و بافت همبند در دیواره رگ‌ها بوده که به مرور زمان باعث ایجاد پلاک و تنگی عروق کرونر شده و نتیجه آن تضعیف میوکارد و بروز نارسایی قلبی است (۲).

با افزایش بیماری‌های قلبی-عروقی؛ مداخلات جراحی و غیر جراحی و به دنبال آن برنامه‌های بازتوانی و توان‌بخشی قلبی-عروقی اهمیت بیشتری یافته‌اند. از جمله این مداخلات، عمل جراحی بای‌پس کرونری (CABG)<sup>۵</sup> و آنژیوپلاستی است که اغلب بیماران پس از انجام آن‌ها از کاهش ظرفیت عملکردی در انجام فعالیت‌های روزمره رنج می‌برند و این امر می‌تواند در اثر بی‌حرکی بعد از عمل باشد. تحقیقات مختلف از دهه ۱۹۷۰ به بعد نشان داده‌اند که شروع زودهنگام فعالیت بدنی بعد از عمل جراحی قلب، سبب ارتقاء روند بهبود وضعیت جسمانی و روانی بیمار و کاهش ناتوانی و مرگ‌ومیر ناشی از آن می‌گردد (۳). از طرفی کم‌حرکی و عدم انجام فعالیت‌های فیزیکی نیز خود زمینه‌ساز ابتلا به بیماری عروق کرونری است (۴). تمرین بدنی به‌عنوان رکن اصلی برنامه بازتوانی قلبی می‌تواند موجب کاهش گسترش آترواسکلروزیس شریان‌های کرونری شود (۵). محققین توصیه کرده‌اند که بهتر است برنامه‌های توان‌بخشی قلبی برای بیماران قلب و عروق در اولین زمان ممکن در بیمارستان آغاز شده و تا بازگشت کامل بیمار به وضعیت عادی به صورت پیوسته ادامه یابد (۶). در بیماران مبتلا به بیماری پیشرفته عروق کرونری، تمرینات بدنی موجب بروز وضعیتی شبیه به شرایط ایسکمی قلبی شده و این ایسکمی گذرای قلبی، موجب افزایش تحمل میوکارد به استرس طولانی‌تر ایسکمی و کاهش آسیب میوکاردی و کاهش بالقوه در آریتمی‌های بطنی کشنده می‌گردد (۷). همچنین تمرینات بدنی دارای تأثیرات مطلوب هموستاتیک نیز می‌باشند که می‌تواند خطر ایجاد لخته در عروق کرونری را کاهش دهد (۸).

یکی از مهمترین تغییراتی که هنگام تمرینات ورزشی در ساختار عروقی عضله اسکلتی رخ می‌دهد، رگ‌زایی یا آنژیوژنز<sup>۶</sup> است. در بیماری‌های ایسکمیک قلبی، تحریک فرآیند رگ‌زایی و بهبود جریان خون در بافت

1. Ischemic heart diseases
2. Atherosclerosis
3. Coronary artery
4. Coronary Artery Disease
5. Coronary artery bypass surgery
6. Angiogenesis

۷. Vascular endothelial growth factor
۸. Endostatin
۹. Vascular endothelium growth factor receptor1 (VEGF-R1)
۱۰. Vascular endothelium growth factor receptor2 (VEGF-R2)

استراحت کوتاهی (۵ تا ۱۰ دقیقه)، تمرینات مقاومتی برای بیماران انجام گردید. برنامه هوازی شامل سه جلسه تمرین در هر هشت هفته بود که در جلسات درمانی، برای گرم کردن در ابتدا و سرد کردن تدریجی در انتهای برنامه ورزشی، از تمرینات کششی استفاده شد. برنامه درمانی عبارت بود از راه رفتن روی تردمیل (۲۰ تا ۳۰ دقیقه)، رکاب زدن روی دوچرخه ثابت (۱۰ تا ۱۲ دقیقه) و استفاده از ارگومتر دست (هشت تا ده دقیقه). همه افراد این گروه تمرینات فوق را طی هر جلسه درمانی انجام دادند. شدت شروع فعالیت ورزشی روی نوار گردان (ترد میل) با توجه به درصد ضربان قلب ذخیره شده در تست ورزش بیماران و شدت ارگومتر دستی و دوچرخه ثابت از طریق مقاومت اعمال شده به دستگاهها بر اساس ۵۰ و ۲۵ درصد شدت نوار گردان با واحد وات تنظیم شد. ۶۰ درصد حداکثر ضربان قلب بیماران در زمان تست ورزش به عنوان ضربان قلب هدف در نظر گرفته شد و بر این اساس مدت زمان و شدت تمرینات تنظیم گردید. شدت و مدت زمان تمرینات به تدریج و بر اساس توانایی بیماران افزایش یافت به نحوی که در هفته انتهایی تمرین به ۸۰ درصد حداکثر ضربان قلب بیماران رسید (۱۶). برنامه تمرین مقاومتی نیز به مدت هشت هفته و هر هفته سه جلسه، با هفت تکرار در جلسات اولیه و افزایش تعداد و بار حرکات تا ۱۵ تکرار در جلسات بعدی انجام شد. حرکات شامل: (۱) اسکات با فیزیوبال، (۲) فلکشن شانه، (۳) ابداکشن شانه، (۴) فلکشن آرنج، (۵) فلکشن ران، (۶) ابداکشن ران، (۷) پلاننار فلکشن مچ پا و (۸) دورسی فلکشن مچ پا بود. حرکات در ابتدا بر اساس توانایی فرد و مبتنی بر وزن بدن یا اندام خود بیمار و به مرور با تراباند ضعیف و در نهایت با تراباندهای قوی تر انجام گردید (۱۷).

### نمونه گیری

باتوجه به نحوه طراحی پژوهش حاضر، خونگیری از ورید بازویی در دو مرحله پیش از آزمون (۲۴ ساعت قبل از شروع اولین جلسه تمرینی) و پس از آزمون (۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی) از تمامی آزمودنیها در حالت ناشتا توسط پزشک صورت گرفت.

### استخراج RNA تام و سنتز cDNA

از نمونههای خونی جمع آوری شده در لولههای آزمایش حاوی ضد انعقاد EDTA، جداسازی مونوسیتها با استفاده از فایکول انجام گردید. سپس تخلیص rRNA مونوسیتها با به کار بردن کیت RNeasy Mini Kit (QIAGEN) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. RNAهای به دست آمده تا انجام مراحل بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در مرحله بعد، سنتز DNA مکمل (cDNA) با استفاده از پرایمر اولیگو (dT) و کیت QuantiTect Reverse Transcription Kit cDNA synthesis (QIAGEN) بر اساس پروتکل موجود در کیت صورت گرفت.

پژوهش بررسی اثر یک دوره باز توانی قلبی مبتنی بر تمرین ترکیبی بر بهتر شدن عملکرد رگ زایی در بیماران قلبی با سابقه عمل جراحی بای پس کرونری، از طریق نسبت بیان ژن VEGF به اندوستاتین بود.

## روش کار طرح تحقیق و افراد

مطالعه حاضر از نوع نیمه تجربی است که به صورت طرح پیش آزمون و پس آزمون انجام گردید. جامعه آماری این پژوهش را مردانی که پس از ابتلا به بیماری انسداد عروق قلب در بیمارستان تخصصی قلب و عروق جوادالائمه (ع) مشهد تحت عمل جراحی بای پس کرونری قرار گرفته بودند، تشکیل می دادند. از بین این بیماران تعداد ۳۰ نفر پس از ارزیابی بالینی توسط پزشک متخصص و بر اساس معیارهای ورود به تحقیق و پر کردن فرم رضایت نامه وارد پژوهش شدند. نمونهها به طور تصادفی در دو گروه مساوی قرار گرفتند به نحوی که گروه کنترل شامل ۱۵ نفر بیمار بدون تمرین و گروه تمرین شامل ۱۵ فرد بیمار که تمرین ترکیبی (هوازی و مقاومتی) انجام می دادند، بود. معیارهای ورود به پژوهش حاضر عبارت بودند از: محدوده سنی ۴۰ الی ۶۰ سال، تمایل به شرکت در تحقیق، توانایی شرکت در تمرینات ورزشی مورد نظر، سلامت شناختی، بینایی و شنوایی، عدم ابتلا به بیماریهای حاد و پیشرفته که مانع انجام تمرینات می شوند، عدم استفاده از داروهای آرامبخش، عدم استفاده از وسایل کمکی برای راه رفتن نظیر عصا و واکر، نداشتن فشارخون سیستولیک بالاتر از ۱۶۰ mmHg و دیاستولیک بالاتر از ۱۰۰ mmHg، نداشتن برنامه تمرین ورزشی منظم طی یک سال اخیر، موافقت کتبی و امضای رضایت نامه جهت شرکت در مداخله حاضر و نداشتن محدودیت پزشکی برای شرکت در تمرینات ورزشی. از تمام شرکت کنندگان رضایت نامه کتبی جهت شرکت در مطالعه اخذ گردید. در صورت وجود موارد زیر آزمودنیها از پژوهش کنار گذاشته می شدند: بروز هرگونه مشکل بالینی یا تهدید سلامتی آزمودنی، بروز آریتمیهای بطنی، بالا رفتن یا افتادن قطعه ST در ECG بیمار در حین جلسات تمرین، بروز آنژین صدری ناپایدار، عدم شرکت منظم در برنامه تمرین ورزشی (بیش از دو جلسه)، عدم موافقت کامل با شرایط و عدم تمایل برای تداوم برنامه تمرینی.

این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.NEYSHABUR.REC.1399.009 به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی - واحد نیشابور رسیده است.

### پروتکل تمرینات ترکیبی

در این پژوهش که هشت هفته به طول انجامید، در هر جلسه به منظور انجام تمرینات ترکیبی ابتدا تمرینات هوازی و پس از

یافته‌های پژوهش با استفاده از آزمون t وابسته و مستقل برای بررسی تغییرات درون گروهی و بین گروهی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح معناداری معادل  $P \leq 0/05$  استفاده شد.

### یافته‌ها

تجزیه و تحلیل توصیفی ویژگی‌ها و متغیرهای آزمودنی‌های تحقیق نتایج آزمون شاپیروویک نشان می‌دهد که متغیرهای سن، قد، وزن و شاخص توده بدنی شرکت‌کنندگان و همچنین متغیر VEGF در هر دو گروه کنترل و تمرین ترکیبی در مراحل پیش‌آزمون و پس‌آزمون دارای توزیع نرمال می‌باشند (جدول ۲).

### نتایج درون‌گروهی و بین‌گروهی نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین در گروه‌های پژوهشی

ابتدا مقدار ژن VEGF را بر مقدار ژن اندوستاتین در دو گروه پیش‌آزمون و پس‌آزمون تقسیم کرده و سپس با توجه به نرمال بودن داده‌ها، از آزمون تی مستقل جهت آزمون تفاوت معنی‌دار نسبت ژن VEGF به اندوستاتین در گروه تجربی نسبت به کنترل استفاده گردید. با توجه به نتایج جدول فوق، مشخص گردید که تغییرات درون‌گروهی در گروه تجربی معنی‌دار ( $P=0/001$ ) و در گروه کنترل غیر معنی‌دار می‌باشد و برای رد یا قبول فرض صفر از آزمون تی مستقل استفاده گردید. جدول ۳ نشان می‌دهد که تغییرات نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود ( $P=0/62$ ). با وجود تأثیر افزایشی هشت هفته تمرین ترکیبی بر نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین در گروه تجربی، ولی این تغییرات در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری را نشان نداد.

### بحث و نتیجه‌گیری

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین ترکیبی در قالب یک دوره بازتوانی قلبی بر نسبت بیان ژن VEGF به اندوستاتین در بیماران قلبی با سابقه عمل جراحی بای پس کرونری بود.

### طراحی پرایمر و واکنش Real-Time PCR

تخلیص mRNA مونوسیت‌ها؛ مونوسیت‌ها را در نیتروژن مایع قرار داده و به‌صورت کامل توسط mortal and pestle خرد گردید و سپس برای به دست آوردن mRNA در بافر RLT هموژنیزه شد و سپس همراه با نیتروژن مایع، در تیوپ میکروسانتریفیوژ RNase free، ۲ میلی‌لیتر ریخته و اجازه داده شد تا نیتروژن مایع تبخیر شود ولی مونوسیت از حالت یخ‌زدگی خارج نشود. به میزان کافی بافر RLT اضافه شد. Lysate را مستقیماً به ستون QIAshredder که در تیوپ قرار داشت، منتقل و به مدت ۲ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. برای سنتز cDNA ۲۰۰ نانوگرم mRNA با استفاده از پرایمر اولیگو (dT) و کیت (Fermentas GmbH, St. Leon Rot-) ساخت کشور آلمان مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی بیان نسبی ژن اندوستاتین و VEGF و mRNA از روش Real-time - PCR استفاده شد. توالی پرایمرهایی که برای اندازه‌گیری اندوستاتین و VEGF مورد استفاده قرار گرفت در جدول ۱ نشان داده شده است. بررسی بیان ژن VEGF با روش PCR-qRT<sup>۱۲</sup> به وسیله دستگاه BIO RADC1000 TM Thermal Cycler و در پلیت‌های ۹۶ چاهکی با استفاده از روش  $\Delta\Delta CT$  انجام شد. مخلوط هر واکنش شامل ۵ میکرو لیتر SYBR - Green PCR Master Mix (QIAGEN)، ۱ میکرو لیتر از پرایمرهای مستقیم (Forward) و معکوس (Reverse) اختصاصی هر ژن، ۱ میکرو لیتر cDNA و ۲ میکرو لیتر آب RNase free به حجم نهایی ۱۰ میکرو لیتر بود. برنامه زمانی - گرمایی دستگاه در سه مرحله انجام شد. مرحله اول جهت دناتوره شدن مولکول‌های DNA و فعال شدن آنزیم پلی‌مرز به صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دوم جهت واکنش تکثیر ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای ۴۰ سیکل متوالی و مرحله نهایی جهت ترسیم منحنی تفکیک (Dissociation Curve) یا منحنی ذوب به صورت ۷۲ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۳۰ ثانیه صورت گرفت.

### آنالیز داده‌ها

پس از بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون شاپیروویک،

جدول ۱. توالی الیگو نوکلئوتیدی پرایمرها

نام ژن	نوع	توالی پرایمرها
VEGF	رفت	5'-GTAGCAAGAGCTCCAGAGAGAAGT-3'
	برگشت	5'-TGGACGAAAAGTTTCAGT GCGACG-3'
Endostatin	رفت	AGCGCTAGCTCACAGCCACCGCGACTTCCAGCCG
	برگشت	GTCGGCGCCGCGGTGGCTACTTGGAGGCAGTCA

جدول ۲. یافته‌های مربوط به ویژگی‌های جمعیت شناختی و آنتروپومتریکی شرکت‌کنندگان همراه با آزمون شاپیرو ویلک

متغیرها	گروه	پیش‌آزمون		پس‌آزمون	
		میانگین و انحراف معیار	معنی‌داری	میانگین و انحراف معیار	معنی‌داری
سن (سال)	کنترل	۵۶/۱۶±۷/۵	۳۶۴/۰۰	-	-
	تمرین ترکیبی	۵۴/۵۸±۶/۴۷	۰/۲۳۷	-	-
قد (سانتی‌متر)	کنترل	۳/۶۹±۱۷۳/۵	۴۸۵/۰۰	-	-
	تمرین ترکیبی	۳/۱۵±۱۷۳/۰۴	۰/۸۴۳	-	-
وزن (کیلوگرم)	کنترل	۵/۲۳±۷۶/۱۶	۰/۹۸۶	۴/۸۵±۷۵/۶۳	۰/۸۲۴
	تمرین ترکیبی	۶/۶±۷۴/۷۵	۰/۷۶۹	۶/۴۴±۷۳/۴۸	۰/۶۳۵
شاخص توده بدنی (کیلوگرم مترمربع)	کنترل	۱/۳۴±۲۵/۲۸	۰/۰۸۹	۱/۲۷±۲۵/۱۱	۰/۰۹۱
	تمرین ترکیبی	۱/۸±۲۴/۹۴	۰/۷۱۵	۱/۷۴±۲۴/۵۲	۰/۶۲۵
VEGF	کنترل	۱±۰	۰/۳۵۴	۰/۳۸۶±۱/۰۵۵	۰/۲۹۸
	تمرین ترکیبی	۱±۰	۰/۲۵۴	۰/۹۹±۵/۰۵۸	۰/۲۳۸
اندوستاتین	کنترل	۱±۰	۰/۵۳۲	۰/۵۱±۰/۹۵	۰/۵۸۵
	تمرین ترکیبی	۱±۰	۰/۳۲۴	۰/۲۴±۱/۰۸۹	۰/۳۰۱

جدول ۳. نتایج درون‌گروهی و بین‌گروهی نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین در گروه‌های پژوهشی

گروه	نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین		تغییرات درون‌گروهی			تغییرات بین‌گروهی	
	پیش‌آزمون انحراف معیار ± میانگین	پس‌آزمون انحراف معیار ± میانگین	T	درجات آزادی	سطح معناداری	اختلاف میانگین	t
تجربی	۱±۰/۰	۴/۷۸±۱/۵۲	۹/۱۵	۱۳	*۰/۰۰۱	۱/۰۳	۰/۷۹۴
کنترل	۱±۰/۰	۳/۸۴±۷/۰۶	۱/۳۹	۱۳	۰/۱۹	۰/۶۲	۰/۷۹۴

\* معنی‌داری تغییرات درون‌گروهی با استفاده از آزمون تی همبسته

ایسکمیک باعث بهبود شرایط بیمار شده و می‌تواند به‌عنوان یکی از اهداف درمانی در این بیماران مطرح باشد (۹). فعالیت ورزشی بر فرآیند رگ‌زایی مؤثر است و VEGF مهم‌ترین عامل موثر محرک در این فرآیند است. VEGF، گلیکوپروتئینی است که با واسطه دو رسپتور تیروزین کینازی (VEGFR-1 و VEGFR-2) که بر روی سلول‌های اندوتلیال عروق قرار دارند و به نام گیرنده‌های VEGF مشخص شده‌اند، وظایف آنژیوژنیک خود را اعمال می‌کند. در شرایط طبیعی، VEGF نفوذپذیری عروق را نیز تنظیم می‌کند که برای شروع رگ‌زایی ضروری است، به همین دلیل به آن فاکتور نفوذپذیری عروق هم گفته می‌شود و در این مورد ۵۰۰۰۰ بار قوی‌تر از هیستامین عمل می‌کند (۱۹). فاکتورهای زیادی بر میزان تولید VEGF ناشی از فعالیت ورزشی،

نتایج به دست آمده از این پژوهش بیانگر این بود که با توجه به افزایش معنی‌دار بیان ژن VEGF در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل (P=۰/۰۰۱). تغییر معنی‌داری در بیان ژن اندوستاتین بیماران CABG مشاهده نگردید (P=۰/۳۸) و هشت هفته تمرین ترکیبی منجر به تغییر معنی‌دار نسبت بیان ژن VEGF به اندوستاتین در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل در بیماران قلبی با سابقه CABG نگردید (P=۰/۶۲).

در حال حاضر شیوع بیماری‌های عروق کرونر و مرگ‌ومیر حاصل از آن رو به افزایش است به طوری که اولین علت مرگ‌ومیر در افراد بالای ۳۵ سال محسوب می‌شوند (۱۸). در بیماری‌های عروق کرونر، تحریک فرآیند رگ‌زایی و بهبود جریان خون در بافت مجاور منطقه

معنی‌دار باشد ( $P=0/38$ )، بنابراین تمرین ترکیبی نتوانست بر تغییرات بیان ژن اندوستاتین تأثیرگذار باشد و تمرینات ترکیبی موجب کاهش سطح اندوستاتین در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل نشده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تغییرات نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نیست ( $P=0/62$ ).

با وجود تأثیر افزایشی هشت هفته تمرین ترکیبی بر نسبت بیان ژن VEGF/اندوستاتین در گروه تجربی، ولی این تغییرات در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری را نشان نداد.

اطلاعاتی در زمینه تأثیر تمرین ورزشی و بخصوص تمرین ترکیبی بر بیان ژن‌های VEGF و اندوستاتین بیماران CABG و متعاقب آن تغییرات قلبی-عروقی در دسترس نیست. با این حال نتایج مطالعات گذشته در زمینه اثر فعالیت ورزشی بر تغییر مقادیر پلاسمایی و سرمی VEGF و اندوستاتین در چندین پژوهش گزارش شده است (۲۹-۲۵). از آنجاییکه بر اساس مطالعه پژوهشگر، پژوهشی در زمینه تغییرات بیان ژن متغیرهای مذکور یافت نشد، نتایج این پژوهش با پژوهش‌های انجام شده در زمینه تأثیر تمرین بر مقادیر پلاسمایی و یاسرمی متغیرهای مذکور انجام گردید.

نتایج پژوهش حاضر با نتایج ملاحسن‌زاده و همکاران (۱۱) و مطهری راد و همکاران (۱۲) همسو نیست. مطهری راد و همکاران در پژوهش خود نشان دادند که مصرف مکمل یک دوره ال-آرژنین توأم با انجام تمرینات تخصصی کشتی سبب تغییرات معنادار نسبت به VEGF اندوستاتین شده است.

در تحقیقی دیگر اثر شش هفته تمرین استقامتی بر نسبت VEGF به اندوستاتین بافت توموری موش‌های مبتلا به سرطان پستان مورد آزمایش قرار گرفت که نشان داده شد که این تمرینات موجب تغییرات معنادار VEGF به اندوستاتین شده است. نتایج تحقیقات گذشته نشان داده است که فعالیت بدنی و بیماری‌ها با تغییر شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی افراد باعث برهم خوردن تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیکی و آنژیواستاتیکی می‌شود (۱۲).

فرایند آنژیوژنز توسط تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک کنترل می‌شود و نسبت VEGF به اندوستاتین از این جهت ارزشمند است که VEGF به عنوان یکی از عوامل مهم آنژیوژنیک تلقی می‌شود و اندوستاتین به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل آنژیواستاتیک شناخته شده است. بنابراین تغییر این نسبت نشان‌دهنده تغییرات تعادل بین عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک هست؛ که اگر فاکتورهای آنژیوژنیک از جمله VEGF بر فاکتورهای آنژیواستاتیک مانند اندوستاتین غلبه کند موجب ساخت مویرگ جدید می‌شود و بالعکس زمانی که میزان فاکتورهای آنژیواستاتیک بیشتر از فاکتورهای آنژیوژنیک باشد تخریب مویرگ‌های بافتی روی می‌دهد (۱۱ و ۱۲).

اثرگذار هستند که شاخص‌ترین آن‌ها عبارت از هایپوکسی، فشار برشی (نیروی همودینامیکی ناشی از اصطکاک جریان خون با دیواره عروقی)، انقباض، کشش عضله و اختلال سوخت و ساز می‌باشند (۲۰ و ۱۱). از طرفی تمرینات ورزشی هوازی با شدت متوسط، به عنوان تنظیم‌کننده VEGF mRNA شناخته شده اند (۲۰). با توجه به این که افزایش چگالی مویرگی در عضلات اسکلتی و همین‌طور بافت عضله قلب، از مقدمات مهم توسعه توان هوازی و پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها به شمار می‌رود، شناخت روش‌های تمرینی مناسب و محیط‌های فعالیتی بهتر برای تحریک هرچه بیشتر فرآیندهای آنژیوژنز، برای بیماران قلبی اهمیت بسیاری دارد (۲۱).

اندوستاتین یک مهارکننده درون‌زای آنژیوژنز مشتق شده از پایانه C کلاژن ۱۸ است. این عامل آنژیواستاتیک، به وسیله سلول‌های اندوتلیال با فرایند آنژیوژنز از طریق جلوگیری از تکثیر، مهاجرت و تشکیل مجاری جدید مقابله می‌کند (۲۲). با توجه به نتایج مطالعاتی که به بررسی آثار بیولوژیکی اندوستاتین پرداخته‌اند، مشخص شده است که اندوستاتین در تداخل پیام‌القائه شده توسط 2-FGF، مهار تحریک سلول‌های اندوتلیال، تحریک آپوپتوز، توقف مرحله G1 در سلول‌های اندوتلیال از طریق مهار سیکلین D1، مهار پیام‌رسانی از طریق VEGF به وسیله برهم‌کنش مستقیم با گیرنده تیروزین کینازی VEGF-R در سلول‌های اندوتلیال و در نهایت سرکوب عامل نکروزه محرک نقش دارد. اندوستاتین می‌تواند از فعال شدن eNOS که ناشی از عملکرد VEGF می‌باشد، جلوگیری کند و مانع از تولید نیتریک اکساید شود (۲۳ و ۱۲). همچنین با اتصال اندوستاتین به گیرنده‌هایش، زنجیره‌ای از واکنش‌ها را ایجاد می‌کند که تغییرات گسترده ژنتیکی را ایجاد می‌کند، بطوریکه بیان بیش از ۱۲ درصد از ژنوم در سلول‌های اندوتلیوم عروقی تحت تأثیر اندوستاتین می‌باشد. در ۵۰ سال اخیر تعداد زیادی از تحقیقات کاهش میزان بروز بیماری عروق کرونری را در افراد فعال از نظر بدنی نشان داده‌اند (۲۴). تمرین ترکیبی یکی از شیوه‌های تمرینی شناخته شده در سال‌های اخیر است که توجه محققین به سازگاری‌های ناشی از آن در بیماران بالینی افزایش یافته است. در رابطه با بیماری‌های قلبی-عروقی نیز از اثر مثبت تمرین ترکیبی حمایت شده است (۱۲). نتایج پژوهش‌های انجام شده درباره تأثیر تمرینات ورزشی بر عوامل رگ‌زایی به‌ویژه VEGF حاکی از آن است که تغییرات این عامل بیوشیمیایی متعاقب فعالیت‌های ورزشی مختلف، متفاوت می‌باشد و تاکنون مکانیسم آن در پاسخ به انواع فعالیت‌ها به خوبی شناخته نشده است. بررسی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که یک دوره تمرین ترکیبی بازتوانی قلب نتوانست سبب افزایش معنادار شاخص بیان ژن VEGF شود. تجزیه اطلاعات آماری به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد در گروه تجربی، هشت هفته تمرین ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل، منجر به تغییرات اندک بیان ژن اندوستاتین گردید، ولی این تغییرات به اندازه‌ای نبود که از نظر آماری

- Schoen FJ, Levy RJ. Calcification of tissue heart valve substitutes: progress toward understanding and prevention. *Ann Thorac Surg* 2005;79(3):1072-80.
- Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Mann DL, Tomaselli GF. Braunwald's Heart Disease E-Book: A Textbook of Cardiovascular Medicine. Elsevier Health Sciences; 2018
- Gustafsson T, Knutsson A, Puntschart A, Kaijser L, Nordqvist AC, Sundberg CJ, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle in response to short-term one-legged exercise training. *Pflugers Arch* 2002;444(6):752-9.
- Esteki Ghashghaei F, Sadeghi M, Yazdekhesti S. The effect of cardiac rehabilitation on quality of life in patients with cardiovascular disease, *Research in Rehabilitation Sciences* 2012; 7(4); 516-524 .
- Razaghi A, Sadeghi H. Effect of Exercise-based Cardiac Rehabilitation on Coronary Artery Biomechanical Variables in Atherosclerotic Patients: A Systematic Review Study. *J Rehab Med* 2020;9(1):270-283.
- Leon AS, Franklin BA, Costa F, Balady GJ, Berra KA, Stewart KJ, et al. Cardiac rehabilitation and secondary prevention of coronary heart disease: an American Heart Association scientific statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity), in collaboration with the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. *Circulation* 2005;111(3):369-76.
- Grundy SM, Brewer Jr HB, Cleeman JI, Smith Jr SC, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109(3):433-8.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74(5):1124-36.
- Wu G, Rana JS, Wykrzykowska J, Du Z, Ke Q, Kang P, et al. Exercise-induced expression of VEGF and salvation of myocardium in the early stage of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296(2):H389-95.
- Bloor CM. Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 2005;8(3):263-71.
- Molla Hasanzadeh F, Bizheh N, Moazami M, Nourshahi M. The Effects of Eight Weeks Aerobic Training on Angiogenesis Factor and Body Composition in Overweight Women. *Physiology of Sport and Physical Activity* 2016; 9(2): 1365-74.
- Motahari RM, Attarzadeh HS. The Effect of Selected Wrestling Training With L-Arginine Supplementation on Angiogenic and Angiostatic Serum Markers in Elite Wrestlers. *Sport Physiology (Research on Sport Science)* 2016; 8(31): 153-70.
- Ramos AM, Senna GW, Scudese E, Dantas EH, Silva-Grigoletto ME, Fuqua JD, et al. Cardiovascular and strength adaptations in concurrent training in hypertensive women. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2019;25(5):367-71.
- Eftekhari Sadat B, Toofan Tabrizi M, Shakouri SK, Aalavi Milani S, Kazemi L. The effects of cardiac rehabilitation on physical tolerance in patients after coronary artery bypass graft. *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 2009;16(4):13-8.
- Ghroubi S, Elleuch W, Abid L, Abdenadher M, Kammoun S, Elleuch MH. Effects of a low-intensity dynamic-resistance training protocol using an isokinetic dynamometer on muscular strength and aerobic capacity after coronary artery bypass grafting. *Annals of physical and rehabilitation medicine* 2013;56(2):85-101.
- Sousa M, Duarte AM, Fernandes TR, Chaves SR, Pacheco A, Leão C, et al. Genome-wide identification of genes involved in the positive and negative regulation of acetic acid-induced programmed cell death in *Saccharomyces cerevisiae*. *BMC Genomics* 2013;14(1):838.
- Khajei R, Haghghi A H, Hamedinia MReza Rashid Lamir A. Effects of Eight Week Aerobic Training on Monocytes ABCG5 Gene Expression in Middle-Aged Men after Heart Bypass Surgery. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences* 2017; 24(1):79-88.
- Pollock ML, Franklin BA, Balady GJ, Chaitman BL, Fleg JL, Fletcher B, et al. AHA Science Advisory. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine. *Circulation* 2000;101(7):828-33.
- Rowell LB. Human cardiovascular adjustments to exercise and thermal stress. *Physiol Rev* 1974;54(1):75-159.
- Nourshahi M, Fayaz-Milani R, Gholamali M. Effects of acute eccentric exercise on serum vascular endothelial growth factor and endostatin concentration in male wistar rats. *J Sport Biomotor Sci* 2011;3(5):86-94.
- Ravasi A, Mehrialvar Y, Ahmadizade S, Hasanvand S. The effect of high intensity intermittent exercise (HIE) in Hypoxia and normoxia on response of Vascular Endothelial Growth Factor in non-athletic men. *Journal of Sport Biosciences* 2015;7(4):519-40.
- Hudlicka O, Brown MD. Adaptation of skeletal muscle microvasculature to increased or decreased blood flow: role of shear stress, nitric oxide and vascular endothelial growth factor. *Journal of vascular research* 2009;46(5):504-12.
- Nourshahi M, Taheri Chadomeshin H, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *Quarterly of the Horizon of Medical Sciences* 2013;18(5):286-96.
- Ades PA. Cardiac rehabilitation and secondary prevention of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2001;345(12):892-902.
- Vizvari E, Farzanegi P, Abaszade Sourati H. Effect of Moderate Aerobic Training on Serum Levels of Angiogenic and Angiostatic Factors in Women with Type 2 Diabetes. *scientific journal of ilam university of medical sciences* 2019;27(1):112-21.
- Bashiri J, Gaeini A, Hadi H. Endurance training affects muscular angiogenesis and serum VEGF concentration in diabetic rats. *Koomesh* 2015;17(1):123-32.
- Hadi H, Gaeini A, Mo'tamedi P, Rajabi H. The effect of aerobic training on VEGF expression in diabetic rats. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services* 2017;39(5):81-90.
- 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. *Br J Sports Med* 2008;42(2):126-9; discussion 129.
- Jensen L, Pilegaard H, Neufer PD, Hellsten Y. Effect of acute exercise and exercise training on VEGF splice variants in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287(2):R397-402.